

· 研究论文 ·

小麦纹枯病菌对噻呋酰胺的敏感性及其抗药性突变体的主要生物学性状

齐永志, 李海燕, 苏媛, 甄文超*

(河北农业大学 植物保护学院, 河北 保定 071001)

摘要:采用菌丝生长速率法,分别测定了来自河北、山东和河南未使用过酰胺类药剂地区的166株小麦纹枯病菌 *Rhizoctonia cerealis* Van der Hoeven 对噻呋酰胺的敏感性,并对小麦纹枯病菌抗噻呋酰胺突变体的诱导方法及突变体的主要生物学性状进行了研究。结果表明:噻呋酰胺对166株小麦纹枯病菌的平均 EC_{50} 值为 $(0.072 \pm 0.022) \mu\text{g/mL}$,菌株频率呈连续单峰曲线分布,未发现敏感性明显下降的亚群体,因此可将该 EC_{50} 值作为小麦纹枯病菌对噻呋酰胺的敏感基线。通过紫外诱导加菌落角变的方法获得了5株抗噻呋酰胺突变体,其抗药性水平介于5.5~18.9倍之间;药剂驯化未能获得抗药性突变体。突变体在PSA平板上的生长速率与亲本菌株无显著性差异,但其菌丝干重、菌核形成数量和菌核干重均明显低于亲本菌株;除突变体HD7-7U对石新828的致病力未发生明显变化外,其他突变体对石新828和良星99的致病力均明显减弱;5株突变体的抗药性均不能稳定遗传;噻呋酰胺与戊唑醇、井冈霉素、咯菌腈、三唑酮、丙环唑和多菌灵之间无交互抗性关系。

关键词:小麦纹枯病菌;噻呋酰胺;敏感性;抗药性突变体;生物学性状

DOI:10.3969/j.issn.1008-7303.2014.03.05

中图分类号:S481.4

文献标志码:A

文章编号:1008-7303(2014)03-0271-10

Sensitivity to trifluzamide and main biological characteristics of resistant mutants of *Rhizoctonia cerealis*

QI Yongzhi, LI Haiyan, SU Yuan, ZHEN Wenchao*

(College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, Hebei Province, China)

Abstract: The sensitivity of 166 isolates of *R. cerealis* to trifluzamide collected from areas in Hebei, Henan, and Shandong provinces where no novel amides fungicides had been used before were determined by mycelial growth rate method. UV mutagenesis and fungicide adaptation test were conducted to acquire resistant mutants to trifluzamide and to clarify the biological characteristics of the resistant mutants. The results showed that the frequency of isolates with different sensitivity to trifluzamide distributed as a unimodal curve, and there was no sub-group with declining sensitivity. The mean EC_{50} value was $0.072 \pm 0.022 \mu\text{g/mL}$ and it could be considered as the sensitivity baseline. Five resistant mutants of *R. cerealis* to trifluzamide were obtained by UV mutagenesis with the

收稿日期:2014-02-12;修回日期:2014-03-11.

作者简介:齐永志,男,博士研究生,E-mail: qiyongzhi1981@163.com; *甄文超,通信作者(Author for correspondence),男,教授,主要从事植物生态病理学研究,E-mail: wenchao@hebau.edu.cn

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划课题(2011BAD16B08,2012BAD04B06,2013BAD07B05).

resistance levels ranging from 5.5 ~ 18.9 fold. There was no significant difference on the growth rate of mycelium on PSA between the mutants and the parent isolates, but the dry weight of mycelium, the number of sclerotium and the dry weight of sclerotium were significantly lower than that of the parent isolates. The virulence of five resistant mutants were significantly weakened to Shixin828 and Liangxing 99 than that of the parent isolates, except for the virulence of resistant mutant HD7-7U to Shixin 828, and the resistance of five mutants could not be inherited stably. No cross-resistance existed between trifluzamide and triadimefon, jinggangmycin, tebuconazole, fludioxonil, propiconazole and carbendazim.

Key words: *Rhizoctonia cerealis*; trifluzamide; sensitivity; resistant mutants; biological characteristics

小麦纹枯病(wheat sharp eyespot)又称小麦尖眼点病,主要是由禾谷丝核菌 *Rhizoctonia cerealis* Van der Hoeven 引起的一种土传真菌病害,该病在世界主要小麦产区均有发生^[1-2]。近年来,小麦纹枯病在我国呈现明显北移趋势,对北方冬麦区危害日益严重,已成为冬小麦优质高产的严重障碍之一^[3-4]。虽然已初步获得稳定的小麦纹枯病抗源,但尚无较好的抗病品种应用于生产^[5-6]。目前我国对该病的防治主要是采用三唑类杀菌剂拌种或喷施井冈霉素。由于长期大量使用单一或同类杀菌剂,小麦纹枯病菌已出现对药剂敏感性降低现象或产生了不同程度的抗药性,化学防治效果明显下降^[7-9]。

噻唑酰胺(trifluzamide),化学名称为2',6'-二溴-2-甲基-4'-三氟甲氧基-4-三氟甲基-1,3-噻二唑-5-羟酰苯胺,是由孟山都公司研制、陶氏益农公司开发的一种兼具保护和治疗作用的内吸性杀菌剂,可防治多种作物病害,特别是对担子菌门丝核菌属真菌引起的病害有很好的防治效果。目前,该药剂在我国登记主要用于防治水稻纹枯病^[10]。噻唑酰胺的主要作用机理是抑制病原菌三羧酸循环中的琥珀酸脱氢酶^[11]。关于噻唑酰胺防治小麦纹枯病的研究较少,仅有国内3篇文献报道该药剂对小麦纹枯病的防效优于井冈霉素或三唑类药剂^[12-14]。有关小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的抗药性风险尚未见报道。

本研究旨在建立小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的敏感基线,探究实验室条件下小麦纹枯病菌对噻唑酰胺产生抗药性突变的可能性及所获抗药性突变体的生物学性状,以评估小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的抗药性风险,为小麦纹枯病的科学防治提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

药剂:97%噻唑酰胺(trifluzamide)原药,上海江

莱化学科技有限公司;95%三唑酮(triadimefon)原药,山东大成农药工业股份公司;60%井冈霉素(jinggangmycin)原药,浙江钱江生物化学股份有限公司;97%戊唑醇(tebuconazole)原药和96.5%丙环唑(propiconazole)原药,山东华阳科技股份有限公司;95%咯菌腈(fludioxonil)原药和95%多菌灵(carbendazim)原药,由农业部农药检定所提供。

菌株:2011—2013年,从山东潍坊、河南鹤壁和河北邯郸等市冬麦田采集小麦纹枯病株,采用组织分离法分离病原菌,将感病组织长出的菌丝进行单菌丝顶端分离纯化后转入马铃薯蔗糖琼脂(PSA)培养基上,于4℃冰箱中保存。分离获得的166株小麦纹枯病菌,经细胞核染色和菌丝融合群测定均为禾谷丝核菌 *R. cerealis*,且同属于AGD菌丝融合群。

小麦品种:石新828(冀审麦2005004)和良星99(国审麦2006016)均为感纹枯病品种,分别由河北省石家庄市小麦新品种新技术研究所和山东省德州市良星种子研究所选育。

培养基:PSA固体培养基(马铃薯200g,蔗糖20g,琼脂粉15g,蒸馏水1000mL);PS液体培养基(马铃薯200g,蔗糖20g,蒸馏水1000mL);WA培养基(琼脂粉10g,蒸馏水1000mL)。

1.2 研究方法

1.2.1 小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的敏感性测定

采用菌丝生长速率法^[15]。将各原药先溶于少量丙酮,再用0.1%的吐温-80无菌水配成500μg/mL的母液,继而稀释成10、5、2.5、1、0.5、0.25、0.1和0.05μg/mL系列浓度后,与PSA培养基按体积比1:9的比例混合,制成最终含农药量分别为1、0.5、0.25、0.1、0.05、0.025、0.01和0.005μg/mL的PSA平板。以加同体积无菌水的PSA平板为对照。

用打孔器在PSA平板上培养4d的各供试菌株

边缘打取直径为 5 mm 的菌饼,菌丝面向下接种到含不同浓度药剂的平板上,每皿接种 1 个菌饼,每处理浓度 3 次重复,于 25 ℃ 黑暗条件下倒置培养 4 d 后,采用十字交叉法测量各处理菌落直径(cm)。按(1)式计算各处理对菌丝生长的抑制率(%),并建立毒力回归方程,得到有效抑制中浓度(EC₅₀)值。

抑制率/% = [(对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 菌饼直径)] × 100 (1)

1.2.2 小麦纹枯病菌抗噻呋酰胺突变体的获得

1.2.2.1 亲本菌株的 MIC 值测定 根据小麦纹枯病菌对噻呋酰胺的敏感性,从邯郸(HD)、邢台(XT)、石家庄(SJ)、保定(BD)和潍坊(WF) 5 个麦区采集的菌株中,各随机选取 3 株相对敏感的纹枯病菌菌株,参考 1.2.1 节方法,将各菌株分别接种到含噻呋酰胺质量浓度分别为 0.3、0.2、0.15、0.1、0.08 和 0.06 μg/mL 的 PSA 平板上,以不含药剂的平板作对照。每处理 3 次重复,于 25 ℃ 下黑暗倒置培养 4 d 后,根据培养基上菌丝的生长情况,确定噻呋酰胺对所选亲本菌株的最低抑制质量浓度(MIC)值。

1.2.2.2 药剂连续选择驯化 将随机选取的 15 株小麦纹枯病菌敏感菌株(作为各菌株的亲本菌株)在 PSA 平板上、25 ℃ 黑暗培养 4 d 后,于菌落边缘打取直径为 5 mm 的菌饼,菌丝面朝下转接于含 0.01 μg/mL 噻呋酰胺的 PSA 平板上,3 d 后将该平板上生长相对较快的菌落再转移至含有相同剂量噻呋酰胺的 PSA 平板上。每菌株接种 24 皿,每皿 5 块。之后每隔 3 d 转接 1 次,并逐渐增加噻呋酰胺的质量浓度,直至抗药性突变体能够在含最低抑制质量浓度(MIC, 0.15 μg/mL)噻呋酰胺的 PSA 平板上较好地生长为止。在显微镜下切取单细胞菌丝进行纯化。以各亲本菌株为对照,分别按(2)和(3)式计算各抗药性突变体的抗药性水平和药剂驯化突变频率^[16]。

抗药性水平 = 抗药性突变体的 EC₅₀ / 亲本菌株的 EC₅₀ (2)

抗药性突变频率/% = (出现抗药性突变体的菌饼数 / 药剂驯化的菌饼总数) × 100 (3)

1.2.2.3 紫外线诱导 方法①:参照赵卫松等的方法^[17]进行,但为提高抗药性突变体紫外线诱导的成功率,改变了紫外线照射时间和照射距离。将 1.2.2.2 节中随机选取的 15 株小麦纹枯病菌敏感菌株在 25 ℃ 下培养 4 d,制成直径 5 mm 的菌饼,接入 PSA 平板上,置于已预热 15 min 的紫外灯

(20 W, 254 nm) 下方垂直距离 20 cm 处,分别照射 20、40、60、80、120 和 180 s,之后置于黑暗条件下培养 40 min(降低光修复)。切取约 8 mm × 8 mm 的菌丝块于红外灯(220 V, 15 W)下接种于含噻呋酰胺(MIC)的 PSA 平板上,每菌株接种 24 皿,每皿 5 块。用 Parafilm 封口膜封口后,置于 25 ℃、黑暗条件下培养。以未经紫外诱导的各亲本菌株作对照。3 d 后每天观察纹枯病菌各菌株菌丝块的生长状况,当菌株在含药平板上长出不规则的扇形角变后,再将角变区菌丝转接至 WA 培养基上,显微镜下切取单细胞菌丝进行纯化。将纯化后的菌丝再转接到含 MIC 噻呋酰胺的 PSA 平板上,能较好生长的菌株即为抗药性突变体,统计突变菌株数量并标记。以各纹枯病菌亲本为对照,按照(2)式测定并计算抗药性突变体的抗药性水平,并按(4)式计算抗药性突变频率。

抗药性突变频率/% = (出现角变的菌丝块数 / 药剂驯化的菌丝块总数) × 100 (4)

方法②:参考崔晓岚等的方法^[18]。将 15 株小麦纹枯病菌菌株在 PSA 平板上于 25 ℃ 下黑暗培养 4 d 后,置于紫外灯(20 W, 254 nm)下方垂直距离 20 cm 处,分别照射 5、10、15、20 和 30 min,并于黑暗条件下放置 45 min。随后打取直径 5 mm 的菌饼,菌丝面朝下转接于含 MIC 噻呋酰胺的 PSA 平板上。每亲本菌株接种 24 皿,每皿 6 个菌饼,于 25 ℃、黑暗条件下倒置培养。待产生扇形角变区后按照本节方法测定其抗药性水平,按(4)式计算抗药性突变频率。

1.2.3 抗药性突变体与其亲本菌株的主要生物学性状测定

1.2.3.1 抗药性突变体生长速率及菌核形成 将抗药性突变体及其亲本菌株在 PSA 培养基上于 25 ℃ 下黑暗培养 4 d 后,在靠近菌落边缘处打取直径 5 mm 的菌饼,接种到未含药的 PSA 培养基平板上,各菌株接种 4 皿,于相同条件下培养。每间隔 24 h 测定一次菌落直径,计算各皿菌落的平均直径,比较抗药性突变体与其亲本菌株菌丝生长速率的差异。继续培养 21 d 后记录每皿上抗药性突变体和亲本菌株形成菌核的数量。将各菌株菌核拣出后在 80 ℃ 烘箱烘干至恒重,称取每皿菌核干重^[19]。

分别将抗药性突变体及其亲本菌株接入到 100 mL PS 液体培养基中,每瓶接 5 个菌饼,振荡培养(25 ℃, 120 r/min) 7 d,菌丝经布氏漏斗过滤后于

80 °C烘箱内烘干,称量菌丝干重^[21]。各菌株重复3瓶。

1.2.3.2 抗药性突变体的致病力 采用温室苗期麦粒接种法^[22]测定抗药性突变体的致病力。将小麦籽粒煮熟后装入100 mL三角瓶中,每瓶40 g,高压灭菌(121 °C,2 h)并冷却后,分别接入活化的纹枯病菌亲本菌株及抗药性突变体,每瓶接种5个菌饼。置于25 °C培养箱中培养,每天振摇1次,以使病菌在籽粒上生长均匀并防止结块,14 d后得到小麦纹枯病菌接种体。

预接种的小麦种子先用1%的次氯酸钠表面消毒1 min,再用无菌水冲洗5次,置于25 °C培养箱中保温催芽,露白后播入装有1 kg灭菌土(120 °C,2 h)的营养钵中,每钵15粒,周围撒入8 g小麦纹枯病菌接种体,其后表面覆盖一层2 cm厚灭菌土。设无接种病菌载体为对照。每个菌株在小麦品种石新828和良星99上的接种处理均设3次重复,每菌株每重复接种3钵。将营养钵置于18~25 °C温室内培养(光照/黑暗=14 h/10 h),28 d后参考汪敏等的分级标准调查纹枯病发病情况^[22],按(5)式计算病情指数。小麦纹枯病苗期病情分级标准^[22]:0级,无症状;1级,外层叶鞘变褐或有明显的纹枯病斑,但病斑直径小于叶鞘周长的1/2;3级,外层叶鞘有明显的纹枯病斑,病斑直径大于叶鞘周长的1/2,但内层叶鞘无症状;5级,内层叶鞘变褐或有明显的纹枯病斑,但病斑直径小于叶鞘周长的1/2;7级,内层叶鞘有明显的纹枯病斑,病斑直径大于叶鞘周长的1/2,但不死苗;9级,死苗。

病情指数 = [\sum (各级病株数 × 相对级数值) / (调查总株数 × 9)] × 100 (5)

1.2.3.3 抗药性突变体的抗性遗传稳定性 将所获各抗药性突变体和各亲本菌株在不含噻唑酰胺的PSA平板上依次继代培养16代,原始亲本菌株记为F₀代,按菌丝生长速率法分别测定其F₀、F₄、F₈、F₁₂及F₁₆代对噻唑酰胺的敏感性。

1.2.3.4 噻唑酰胺与不同杀菌剂之间的交互抗性

按菌丝生长速率法分别测定所获抗噻唑酰胺突变体及其亲本菌株对噻唑酰胺、三唑酮、井冈霉素、戊唑醇、咯菌腈、丙环唑和多菌灵的敏感性。多菌灵原药先用0.1 mol/L的盐酸溶液溶解,其他原药先溶于少量丙酮,然后分别配制系列浓度药液并制成含不同原药质量浓度的PSA平板。将噻唑酰胺对纹枯病菌抗噻唑酰胺突变体及亲本菌株的EC₅₀值作

为x轴,其他6种药剂对抗噻唑酰胺突变体及亲本菌株的EC₅₀值为y轴,分别进行线性回归分析,求出线性回归方程 $y = bx + a$,根据决定系数(R^2)及P值,分析噻唑酰胺与其他药剂之间的交互抗性关系^[23]。

1.2.4 数据处理 采用DPS v6.55版软件的Duncan氏新复极差法对试验数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 小麦纹枯病菌对噻唑酰胺敏感基线的建立

噻唑酰胺对采自河北、河南和山东的166株小麦纹枯病菌的平均EC₅₀值为(0.072 ± 0.022) μg/mL,最大值和最小值分别为0.140和0.030 μg/mL,前者仅是后者的4.68倍。所有纹枯病菌菌株对噻唑酰胺的敏感性频率呈连续单峰曲线分布(图1),未出现敏感性明显下降的病原菌亚群体,总体接近正态分布,因此可将该群体的平均EC₅₀值(0.072 μg/mL ± 0.022 μg/mL)作为小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的敏感基线。

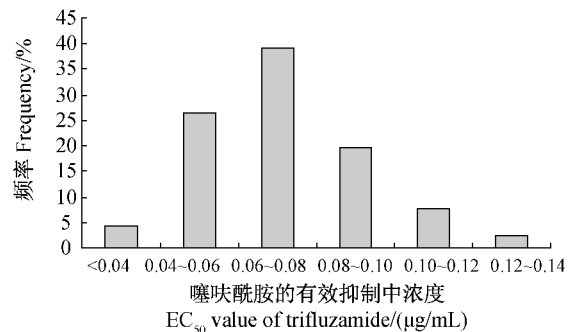


图1 166株小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的敏感性频率分布
Fig.1 Baseline sensitivity distribution of 166 isolates of *R. cerealis* to trifluzamide

2.2 不同地区小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的敏感性差异

在供试的166株小麦纹枯病菌菌株中,河北邯郸菌株间的EC₅₀最大值和最小值分别为0.034和0.140 μg/mL,差异倍数最大,为4.18倍;其次是山东潍坊,菌株间的EC₅₀最大值和最小值相差3.79倍;其他地区菌株间的EC₅₀值差异倍数在2.45~3.49倍之间。但在9个地区中,所有菌株的平均EC₅₀值在0.060~0.077 μg/mL之间,地区间小麦纹枯病菌菌株对噻唑酰胺的敏感性无显著差异(表1)。

表 1 不同地区小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的敏感性

Table 1 Sensitivity of *R. cerealis* isolates collected from different regions to trifluzamide

采集地 Sampling sites	测定株数 Tested isolates	频率 Frequency/%	有效抑制中浓度 EC ₅₀ /($\mu\text{g/mL}$)		
			范围 Ranges	EC ₅₀ (最大): EC ₅₀ (最小) EC ₅₀ (Max.): EC ₅₀ (Min.)	均值 \pm 标准差 Mean \pm SD
保定 Baoding	30	18.07	0.040 ~ 0.140	3.49	0.072 \pm 0.024 a
石家庄 Shijiazhuang	18	10.84	0.047 ~ 0.114	2.45	0.069 \pm 0.016 a
邢台 Xingtai	25	15.06	0.039 ~ 0.121	3.13	0.068 \pm 0.021 a
邯郸 Handan	30	18.07	0.034 ~ 0.140	4.18	0.077 \pm 0.025 a
唐山 Tangshan	5	3.01	0.030 ~ 0.092	3.08	0.060 \pm 0.028 a
衡水 Hengshui	22	13.25	0.036 ~ 0.117	3.30	0.073 \pm 0.020 a
沧州 Cangzhou	9	5.42	0.047 ~ 0.119	2.51	0.074 \pm 0.022 a
潍坊 Weifang	8	4.82	0.030 ~ 0.113	3.79	0.068 \pm 0.028 a
鹤壁 Hebi	19	11.45	0.037 ~ 0.116	3.16	0.073 \pm 0.022 a
小计 Total	166	100.00	0.030 ~ 0.140	4.68	0.072 \pm 0.022 a

注:同列数据后不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P=0.05$ 水平差异显著。

Note: The different letters in the same column show significant difference at $P=0.05$ level by Duncan's new multiple range tests.

2.3 小麦纹枯病菌抗噻唑酰胺突变体的获得及抗药性水平

通过紫外照射方法对随机选取的 15 株小麦纹枯病菌菌株进行诱导后,仅以亲本菌株 BD18、HD7-7、HD14 和 XT14 共获得了 5 株抗药性突变体,突变

频率为 1.26%;突变体分别编号为 BD18-4U、BD18-9U、HD7-7U、HD14-2U 和 XT14-4U,抗药性水平为 5.5 ~ 18.9 倍(表 2)。但是,采用药剂驯化法诱导纹枯病菌对噻唑酰胺的抗药性菌株,驯化 15 代后,15 株亲本菌株均未能获得抗噻唑酰胺的突变体。

表 2 小麦纹枯病菌抗药性突变体对噻唑酰胺的抗药性水平

Table 2 Resistance level of the resistant mutants of *R. cerealis* to trifluzamide

菌株 Isolates	毒力回归方程 Virulent regression equation	相关系数(r) Correlation coefficient	EC ₅₀ \pm SD/ ($\mu\text{g/mL}$)	抗药性水平 Resistance level
BD18	$y = 1.600 2x + 6.623 3$	0.980 1	0.097 \pm 0.031	-
BD18-9U	$y = 1.504 6x + 5.415 0$	0.988 6	0.530 \pm 0.107	5.5
BD18-4U	$y = 1.146 9x + 4.908 9$	0.991 8	1.201 \pm 0.269	12.4
HD7-7	$y = 1.842 4x + 7.046 6$	0.990 5	0.078 \pm 0.023	-
HD7-7U	$y = 0.850 6x + 5.044 1$	0.997 9	0.887 \pm 0.111	11.4
HD14	$y = 1.738 1x + 6.948 6$	0.992 2	0.076 \pm 0.018	-
HD14-2U	$y = 1.031 2x + 5.198 5$	0.990 4	0.642 \pm 0.198	8.4
XT14	$y = 1.835 7x + 7.405 2$	0.991 0	0.049 \pm 0.013	-
XT14-4U	$y = 0.973 5x + 5.031 5$	0.983 6	0.928 \pm 0.132	18.9

注:BD18、HD7-7、HD14 和 XT14 为亲本菌株,其余为抗药性突变体。

Note: BD18, HD7-7, HD14 and XT14 are parent isolates; others are resistant mutants to trifluzamide.

2.4 小麦纹枯病菌抗药性突变体主要生物学性状

2.4.1 菌丝生长速率和菌核生成能力 由小麦纹枯病菌抗药性突变体的生长情况(表 3)可知,24 h 内菌株 BD18-9U、BD18-4U 和 HD7-7U 的菌落直

径均显著小于各自亲本菌株,而菌株 HD14-2U 和 XT14-4U 与亲本菌株差异不明显;随着时间的延长,各突变体的菌落直径与各自亲本菌株间差异均不显著($P=0.05$)。5 株抗药性突变体的菌丝

干重均明显低于各自亲本菌株,各突变体菌丝干重减少量在 0.06~0.09 g/瓶之间。与各自亲本菌株相比,所有抗药性突变体的菌核生成数量和菌核干重均明显降低,其中 HD14-2U 菌核数量和干重降

幅最大,分别减少 13.0 个/皿和 8.7 mg/皿,其次是 BD18-9U,菌核数量和干重分别减少 11.3 个/皿和 7.8 mg/皿,HD7-7U 的降幅最小。

表 3 小麦纹枯病菌抗噻呋酰胺突变体生长情况

Table 3 Growth of the resistant mutants of *R. cerealis* to trifluzamide

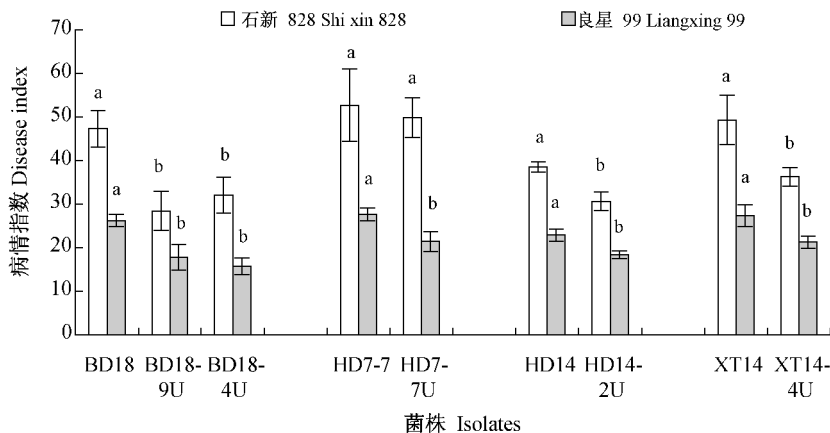
菌株 Isolates	菌落直径 Diameter of colony/cm			菌丝干重/(g/瓶)	菌核生成 Formation of sclerotium	
	24 h	48 h	72 h	Dry weight of mycelium /(g/bottle)	数量/(个/皿) Number/(No./dish)	干重/(mg/皿) Dry weight/(mg/dish)
BD18	2.2 ± 0.1 a	3.1 ± 0.1 b	4.2 ± 0.1 b	0.54 ± 0.03 d	29.3 ± 3.2 bc	19.8 ± 2.7 bc
BD18-9U	2.1 ± 0.0 bc	3.1 ± 0.0 b	4.2 ± 0.1 b	0.47 ± 0.04 e	18.0 ± 3.0 ef	12.0 ± 2.1 ef
BD18-4U	2.0 ± 0.1 c	3.0 ± 0.1 b	4.1 ± 0.1 b	0.46 ± 0.03 e	19.7 ± 3.2 def	13.4 ± 2.3 def
HD7-7	1.7 ± 0.1 d	2.9 ± 0.1 c	3.7 ± 0.1 c	0.37 ± 0.01 f	30.0 ± 4.4 b	20.4 ± 2.9 b
HD7-7U	1.5 ± 0.1 e	2.9 ± 0.1 c	3.7 ± 0.0 c	0.31 ± 0.01 g	24.0 ± 2.0 cd	16.3 ± 1.4 cd
HD14	2.2 ± 0.0 a	3.3 ± 0.1 a	4.4 ± 0.0 a	0.81 ± 0.06 a	37.0 ± 4.6 a	24.9 ± 3.1 a
HD14-2U	2.2 ± 0.1 ab	3.3 ± 0.1 a	4.4 ± 0.1 a	0.72 ± 0.02 b	24.0 ± 1.7 cd	16.2 ± 1.1 cd
XT14	2.1 ± 0.1 bc	3.3 ± 0.1 a	4.4 ± 0.0 a	0.64 ± 0.02 c	21.3 ± 2.5 de	14.4 ± 1.7 de
XT14-4U	2.2 ± 0.1 ab	3.4 ± 0.1 a	4.4 ± 0.1 a	0.57 ± 0.02 d	14.7 ± 1.5 f	9.8 ± 1.0 f

注:BD18、HD7-7、HD14 和 XT14 为亲本菌株,其余为抗药性突变体。同列数据后不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P=0.05$ 水平差异显著。

Note: BD18, HD7-7, HD14 and XT14 are parent isolates; others are resistant mutants to trifluzamide. The different letters in the same column show significant difference at $P=0.05$ level by Duncan's new multiple range tests.

2.4.2 致病力 致病力测定结果(图 2)表明,与亲本菌株相比,仅有突变体 HD7-7U 对石新 828 的致病力没有明显降低,其余所得抗药性突变体对

石新 828 和良星 99 的致病力均明显下降,2 品种的病情指数下降范围分别在 2.9~18.9 和 4.5~10.5 之间。



注:BD18、HD7-7、HD14 和 XT14 为亲本菌株,其余为抗药性突变体。图中不同字母表示菌株亲本及其突变体对同一小麦品种的致病力经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P=0.05$ 水平差异显著。

Note: BD18, HD7-7, HD14 and XT14 are parent isolates; others are resistant mutants to trifluzamide. The different letters in the figure show the virulence of parent isolates and its resistant mutants to the same wheat cultivar was significant difference at $P=0.05$ level by Duncan's new multiple range tests.

图 2 小麦纹枯病菌抗噻呋酰胺突变体及亲本菌株对 2 个品种小麦苗期的致病力

Fig. 2 Virulence of resistant mutants and parent isolates on two wheat cultivars at seedling stage

2.5 小麦纹枯病菌抗噻唑酰胺突变体的抗药性遗传稳定性

在不含噻唑酰胺的 PSA 培养基上连续继代培养 16 代后,5 株抗药性突变体对噻唑酰胺的敏感性均呈明显上升趋势(表 4)。其中,突变体 BD18-9U、

HD7-7U 和 XT14-4U 的 F_{16} 代 EC_{50} 值均接近于各自亲本菌株(F_0),BD18-4U 和 HD14-2U 的 F_{16} 代 EC_{50} 值分别为 0.316 和 0.169 $\mu\text{g}/\text{mL}$,均明显低于各自亲本菌株。表明经紫外线照射诱导获得的 5 株抗噻唑酰胺突变体的抗药性均不能稳定遗传。

表 4 小麦纹枯病菌抗噻唑酰胺突变体的抗药性遗传稳定性

Table 4 Resistance stability of the resistant mutants of *R. cerealis* to trifluzamide

菌株 Isolates	有效抑制中浓度 $EC_{50} \pm SD/(\mu\text{g}/\text{mL})$				
	F_0	F_4	F_8	F_{12}	F_{16}
BD18	0.098 \pm 0.004 a	0.097 \pm 0.004 a	0.099 \pm 0.002 a	0.089 \pm 0.004 a	0.101 \pm 0.002 a
BD18-9U	0.532 \pm 0.022 a	0.490 \pm 0.021 b	0.382 \pm 0.020 c	0.107 \pm 0.005 d	0.096 \pm 0.005 d
BD18-4U	1.206 \pm 0.014 a	1.109 \pm 0.011 b	0.986 \pm 0.016 c	0.798 \pm 0.008 d	0.316 \pm 0.005 e
HD7-7	0.077 \pm 0.004 a	0.076 \pm 0.004 a	0.079 \pm 0.004 a	0.070 \pm 0.004 a	0.079 \pm 0.004 a
HD7-7U	0.871 \pm 0.014 a	0.801 \pm 0.013 b	0.714 \pm 0.012 c	0.177 \pm 0.003 d	0.079 \pm 0.005 e
HD14	0.076 \pm 0.001 a	0.075 \pm 0.001 a	0.078 \pm 0.001 a	0.069 \pm 0.001 a	0.080 \pm 0.001 a
HD14-2U	0.645 \pm 0.009 a	0.593 \pm 0.008 b	0.529 \pm 0.008 c	0.249 \pm 0.004 d	0.169 \pm 0.003 e
XT14	0.048 \pm 0.003 a	0.048 \pm 0.003 a	0.050 \pm 0.004 a	0.044 \pm 0.003 a	0.051 \pm 0.004 a
XT14-4U	0.924 \pm 0.012 a	0.848 \pm 0.009 b	0.389 \pm 0.006 c	0.102 \pm 0.001 d	0.047 \pm 0.001 e

注:BD18、HD7-7、HD14 和 XT14 为亲本菌株,其余为抗药性突变体。同列数据后不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P = 0.05$ 水平差异显著。

Note: BD18, HD7-7, HD14 and XT14 are parent isolates; others are resistant mutants to trifluzamide. The different letters in the same column show significant difference at $P = 0.05$ level by Duncan's new multiple range tests.

2.6 噻唑酰胺与其他杀菌剂之间的交互抗性

试验测得抗噻唑酰胺突变体及其亲本菌株对其他 6 种供试杀菌剂的敏感性由强到弱依次为咯菌腈 > 戊唑醇 > 丙环唑 > 三唑酮 > 井冈霉素 > 多菌灵,其平均 EC_{50} 值依次为 0.010、0.028、0.081、0.250、0.508 和 1.147 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (表 5)。交互抗性分析结果

(表 6)显示:噻唑酰胺 EC_{50} 值与该 6 种杀菌剂的 EC_{50} 值之间的决定系数(R^2)分别为 0.006 8、0.013 1、0.006 2、0.035 3、0.040 7 和 0.086 1,相应的 F 检验 P 值均大于 0.001,表明噻唑酰胺与三唑酮、井冈霉素、戊唑醇、咯菌腈、丙环唑和多菌灵之间均无交互抗性。

表 5 小麦纹枯病菌抗噻唑酰胺突变体及亲本对不同杀菌剂的敏感性

Table 5 Sensitivity of the trifluzamide-resistant mutants of *R. cerealis* to different fungicides

菌株 Isolates	有效抑制中浓度 $EC_{50} \pm SD/(\mu\text{g}/\text{mL})$						
	噻唑酰胺 trifluzamide	三唑酮 triadimefon	井冈霉素 jinggangmycin	戊唑醇 tebuconazole	咯菌腈 fludioxonil	丙环唑 propiconazole	多菌灵 carbendazim
BD18	0.098 \pm 0.004	0.312 \pm 0.023	0.634 \pm 0.121	0.035 \pm 0.003	0.012 \pm 0.002	0.101 \pm 0.022	1.430 \pm 0.092
BD18-9U	0.532 \pm 0.022	0.252 \pm 0.031	0.512 \pm 0.056	0.028 \pm 0.004	0.010 \pm 0.003	0.081 \pm 0.017	0.919 \pm 0.063
BD18-4U	1.206 \pm 0.014	0.273 \pm 0.045	0.407 \pm 0.083	0.031 \pm 0.002	0.006 \pm 0.002	0.050 \pm 0.015	1.463 \pm 0.089
HD7-7	0.077 \pm 0.004	0.319 \pm 0.021	0.505 \pm 0.071	0.036 \pm 0.004	0.010 \pm 0.001	0.082 \pm 0.021	0.706 \pm 0.051
HD7-7U	0.871 \pm 0.014	0.249 \pm 0.015	0.649 \pm 0.061	0.028 \pm 0.001	0.012 \pm 0.001	0.103 \pm 0.011	1.127 \pm 0.132
HD14	0.076 \pm 0.001	0.246 \pm 0.023	0.500 \pm 0.113	0.028 \pm 0.002	0.009 \pm 0.002	0.080 \pm 0.002	1.253 \pm 0.034
HD14-2U	0.645 \pm 0.009	0.246 \pm 0.036	0.500 \pm 0.098	0.028 \pm 0.001	0.009 \pm 0.001	0.080 \pm 0.008	1.154 \pm 0.062
XT14	0.048 \pm 0.003	0.154 \pm 0.012	0.313 \pm 0.045	0.017 \pm 0.002	0.008 \pm 0.002	0.065 \pm 0.019	1.128 \pm 0.114
XT14-4U	0.924 \pm 0.012	0.200 \pm 0.034	0.555 \pm 0.103	0.022 \pm 0.004	0.011 \pm 0.001	0.088 \pm 0.013	1.140 \pm 0.047
均值 \pm 标准差 Mean \pm SD	0.497 \pm 0.442	0.250 \pm 0.051	0.508 \pm 0.104	0.028 \pm 0.006	0.010 \pm 0.002	0.081 \pm 0.016	1.147 \pm 0.234

注:BD18、HD7-7、HD14 和 XT14 为亲本菌株,其余为抗药性突变体。

Note: BD18, HD7-7, HD14 and XT14 are parent isolates; others are resistant mutants to trifluzamide.

表 6 小麦纹枯病菌对噻唑酰胺及其他 6 种杀菌剂的交互抗性

Table 6 Cross-resistance between trifluzamide and other six fungicides in *R. cerealis*

药剂 Fungicides	回归方程 Regression equation	R^2	P
三唑酮 triadimefon	$y = -0.009 5x + 0.254 8$	0.006 8	0.833 3
井冈霉素 jinggangmycin	$y = 0.026 9x + 0.494 9$	0.013 1	0.769 3
戊唑醇 tebuconazole	$y = -0.001 1x + 0.028 6$	0.006 2	0.839 9
咯菌腈 fludioxonil	$y = -0.000 8x + 0.010 1$	0.035 3	0.628 2
丙环唑 propiconazole	$y = -0.007 5x + 0.084 8$	0.040 7	0.602 6
多菌灵 carbendazim	$y = 0.155 4x + 1.069 4$	0.086 1	0.443 6

注: x 和 y 分别为噻唑酰胺和其他 1 种杀菌剂对同一菌株的 EC_{50} 值。

Note: x and y are the EC_{50} values of the same isolate to trifluzamide and other fungicide, respectively.

3 结论与讨论

本研究采用菌丝生长速率法测定了 166 株小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的敏感性。结果表明,供试小麦纹枯病菌对噻唑酰胺具有较高的敏感性,该群体的敏感性频率分布呈连续单峰曲线,平均 EC_{50} 值为 $(0.072 \pm 0.022) \mu\text{g}/\text{mL}$,可作为小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的敏感基线。该基线略高于 Chen 等^[20]建立的水稻纹枯病菌(立枯丝核菌)对噻唑酰胺的敏感基线 $[(0.058 \pm 0.012) \mu\text{g}/\text{mL}]$,这可能是不同病原菌之间的自然差异。不同地区间小麦纹枯病菌菌株的 EC_{50} 最大值和最小值相差 4.68 倍,其原因可能是来自于不同地区菌株间的自然差异。

在一定的选择压力或者逆境中,病原菌对不同杀菌剂均可能会产生抗药性。刘英华^[21]通过室内药剂连续抗药性选育,获得了小麦纹枯病菌抗戊唑醇、井冈霉素、丙环唑、醚唑和咯菌腈的突变菌系。夏晓明^[24]通过药剂筛选和紫外诱导获得了 3 株对戊唑醇具有不同抗药性水平的小麦纹枯病菌突变体。张骞等^[25]利用紫外线诱变获得了 40 个抗甲基立枯磷的小麦纹枯病菌突变菌株。本研究通过紫外诱导获得了 5 株小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的抗药性突变体;但通过药剂连续选择未获得抗噻唑酰胺突变体,可能与药剂自身的特性和诱导菌丝块的数量有关。

目前,杀菌剂抗性行动委员会(FRAC)已将琥珀酸脱氢酶抑制剂类(SDHIs)杀菌剂归为中度抗性风险杀菌剂。Keon 等^[26]和 Shima 等^[27]分别检测到了玉米瘤黑粉菌 *Ustilago maydis* 和米曲霉 *Aspergillus oryzae* 抗萎锈灵的抗性菌株。Roland 等^[28]、Wharton 等^[29]和陈风平等^[30]分别采集到了

抗噻唑酰胺的灰霉病菌 *Botrytis cinerea*、马铃薯早疫病菌 *Alternaria solani* 和桃褐腐病菌 *Monilinia fructicola* 菌株。李良孔^[31]通过室内药剂筛选,获得了 3 株抗氟吡菌酰胺的黄瓜白粉病菌 *Podosphaera xanthii* 突变体,并发现其抗药性均能稳定遗传,且致病力与敏感菌株无显著差异,最终评估认为黄瓜白粉病菌对氟吡菌酰胺具有中等抗药性风险。Avenot 等^[32]发现不同抗噻唑酰胺的梨黑斑病菌 *Alternaria alternate* 突变体对吡噻唑酰胺均表现出了不同程度的抗药性。本研究发现,小麦纹枯病菌抗噻唑酰胺突变体的菌丝干重、菌核生成数量、菌核干重和致病力均明显低于亲本菌株,且其抗药性均不能稳定遗传。交互抗性研究表明,噻唑酰胺对生产上常用药剂三唑酮、井冈霉素、戊唑醇、咯菌腈、丙环唑和多菌灵之间均无交互抗性。据此推测小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的抗药性风险属于低至中等。

夏晓明^[24]研究发现,与敏感菌株相比,小麦纹枯病菌对戊唑醇高抗和中抗菌株的 *CYP51* 基因片段在 8,593,670,673 位的核苷酸分别由 T、A、T、A 突变为 C、G、C、T,同时高抗菌株和敏感、中抗菌株之间在核苷酸上有数十个碱基存在明显不同,且不是连续的。刘西莉等^[33]发现,水稻纹枯病菌抗噻唑酰胺突变体的琥珀酸脱氢酶(Sdh)基因核苷酸位点与敏感菌株存在差异。本研究所得抗药性菌株的核苷酸片段序列与亲本或敏感菌株的差异需要作进一步研究。

鉴于小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的室内抗药性风险属于低至中等水平,为延长噻唑酰胺的使用寿命,建议在生产中应与现有杀菌剂交替使用,同时应加强田间小麦纹枯病菌对噻唑酰胺的抗药性监测,以及时了解田间病原菌对该药剂的敏感性变化。

参考文献 (Reference):

- [1] BOEREMA G H, VERHOEVEN A A. Check-list for scientific names of common parasitic fungi. Series 2b: Fungi on field crops: Cereals and grasses[J]. *Neth J Plant Pathol*, 1977, 83 (5): 165 - 204.
- [2] 贾廷祥, 吴桂本, 刘传德. 我国小麦根腐性病害研究现状及防治对策[J]. *中国农业科学*, 1995, 28(3): 41 - 48.
JIA Tingxiang, WU Guiben, LIU Chuande. The present research situation and control countermeasure of root rots in wheat[J]. *Scientia Agric Sinica*, 1995, 28(3): 41 - 48. (in Chinese)
- [3] 檀根甲, 季伯衡. 小麦纹枯病的研究进展[J]. *安徽农业大学学报*, 1998, 25(1): 70 - 75.
TAN Genjia, JI Boheng. Research progress of wheat sharp eyespot[J]. *J Anhui Agric Univ*, 1998, 25(1): 70 - 75. (in Chinese)
- [4] 陈健华, 张炽昌, 徐东方, 等. 小麦纹枯病的研究进展[J]. *现代农业科技*, 2011(1): 169 - 170.
CHEN Jianhua, ZHANG Chichang, XU Dongfang, et al. Research progress of wheat sharp eyespot[J]. *Modern Agric Sci Tech*, 2011(1): 169 - 170. (in Chinese)
- [5] 王金凤, 杜丽璞, 李钊, 等. 抗纹枯病、根腐病的转 *SM1* 基因小麦的获得与鉴定[J]. *作物学报*, 2012, 38(5): 773 - 779.
WANG Jinfeng, DU Lipu, LI Zhao, et al. Development and characterization of *SM1* transgenic wheat plants with enhanced resistance to *Rhizoctonia cerealis* and *Bipolaris sorokiniana*[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38(5): 773 - 779. (in Chinese)
- [6] 刘朝晖, 张旭, 陆维忠. 小麦纹枯病的研究进展和对策[J]. *江苏农业学报*, 2000, 16(3): 185 - 190.
LIU Chaohui, ZHANG Xu, LU Weizhong. Research advances in wheat sharp eyespot and further control strategies[J]. *Jiangsu J Agric Sci*, 2000, 16(3): 185 - 190. (in Chinese)
- [7] 王怀训, 王开运, 蔡春菊, 等. 立克秀防治小麦纹枯病的药效评价[J]. *农药*, 2000, 39(12): 31 - 32.
WANG Huaixun, WANG Kaiyun, CAI Chunju, et al. The evaluation of tebuconazole control wheat sharp eyespot[J]. *Pesticides*, 2000, 39(12): 31 - 32. (in Chinese)
- [8] 李山东, 于金凤, 彭迪, 等. 枯草芽孢杆菌 NJ18 和氟酰胺联合拌种防治小麦纹枯病研究[J]. *农药学报*, 2013, 15(4): 427 - 433.
LI Shandong, YU Jinfeng, PENG Di, et al. Co-utilization of *Bacillus subtilis* and flutolanil in controlling sharp eyespot of wheat by seed dressing[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2013, 15(4): 427 - 433. (in Chinese)
- [9] 胡燕, 王怀训, 夏晓明, 等. 四地区小麦纹枯病菌对 6 种杀菌剂的抗性比较[J]. *植物保护学报*, 2006, 33(4): 423 - 427.
HU Yan, WANG Huaixun, XIA Xiaoming, et al. Susceptibility of *Rhizoctonia cerealis* to six fungicides in four wheat areas[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2006, 33(4): 423 - 427. (in Chinese)
- [10] PRASANNA KUMAR M K, SIDDE GOWDA D K, PANDURANGE GOWDA K T, et al. A new carboxynilide group fungicide against paddy sheath blight[J]. *Res J Agric Sci*, 2012, 3(2): 500 - 505.
- [11] 吉沐祥, 陈宏州, 吴祥, 等. 噻呋酰胺与氟环唑及其混配水稻纹枯病菌抑菌作用[J]. *农学学报*, 2014, 4(1): 15 - 18.
JI Muxiang, CHEN Hongzhou, WU Xiang, et al. The bacteriostatic action of thifluzamide, epoxiconazole and their mixtures on rice sheath blight[J]. *J Agric*, 2014, 4(1): 15 - 18. (in Chinese)
- [12] 孙春来, 陈怀谷, 吉用铨, 等. 噻呋酰胺等杀菌剂防治小麦纹枯田间试验[J]. *现代农药*, 2012, 11(6): 42 - 44.
SUN Chunlai, CHEN Huaigu, JI Yongquan, et al. Field trials of seven fungicides including thifluzamide against wheat sharp eyespot[J]. *Modern Agrochem*, 2012, 11(6): 42 - 44. (in Chinese)
- [13] 陈香华, 赵桂东, 李茹, 等. 不同药剂处理对小麦纹枯病防治效果的研究[J]. *金陵科技学院学报*, 2012, 28(4): 50 - 52.
CHEN Xianghua, ZHAO Guidong, LI Ru, et al. The control effect of different medicament treatment on wheat sharp eyespot[J]. *J Jinling Inst Technol*, 2012, 28(4): 50 - 52. (in Chinese)
- [14] 关立松. 240 g/L 满穗悬浮剂防治小麦纹枯病药效研究[J]. *现代农业科技*, 2013(8): 94, 99.
GUAN Lisong. Study on the control effect of 240 g/L thifluzamide SC on wheat sharp eyespot[J]. *Modern Agric Sci Tech*, 2013(8): 94, 99. (in Chinese)
- [15] GORGOLOUS S G, DEKKER J. Detection and measurement of fungicide resistance general principles[J]. *FAO Plant Prot Bull*, 1982, 30(2): 39 - 71.
- [16] MENG Qingxiao, CUI Xiaolan, BI Yang, et al. Study on the resistance risk and resistance inheritance of *Phytophthora capsici* to flumorph[J]. *Phytopathology*, 2008, 98(Suppl.): 128.
- [17] 赵卫松, 韩秀英, 齐永志, 等. 辣椒疫霉对双炔酰菌胺的敏感性测定及其抗药突变体生物学性状研究[J]. *农药学报*, 2011, 13(1): 21 - 27.
ZHAO Weisong, HAN Xiuying, QI Yongzhi, et al. Study on the sensitivity of *Phytophthora capsici* to mandipropamid and biological characteristics of resistant mutants[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2011, 13(1): 21 - 27. (in Chinese)
- [18] 崔晓岚, 孟庆晓, 毕扬, 等. 辣椒疫霉对烯酰吗啉的敏感性基线及室内抗药突变体研究[J]. *植物病理学报*, 2009, 39(6): 630 - 637.
CUI Xiaolan, MENG Qingxiao, BI Yang, et al. Baseline sensitivity and laboratory mutants of *Phytophthora capsici* resistant to dimethomorph[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2009, 39(6): 630 - 637. (in Chinese)
- [19] 王育水. 环境因素对禾谷丝核菌菌核形成的影响[J]. *麦类作物学报*, 2008, 28(1): 160 - 164.
WANG Yushui. Influences of environmental factors on the Sclerotium formation of *Rhizoctonia cerealis* Vander Hoeven[J]. *J Triticeae Crops*, 2008, 28(1): 160 - 164. (in Chinese)
- [20] CHEN Y, ZHANG A F, WANG W X, et al. Baseline sensitivity and efficacy of thifluzamide in *Rhizoctonia solani*[J].

- Ann Appl Bio*, 2012, 161(3): 247–254.
- [21] 刘英华. 小麦纹枯病菌抗戊唑醇菌系生物学特性及其抗性机制研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2003.
LIU Yinghua. Studies on biological characters and resistance mechanism of *Rhizoctonia cerealis* to tebuconazole [D]. Tai'an: Shangdong Agricultural University, 2003. (in Chinese)
- [22] 汪敏, 吕柏林, 邢小萍, 等. 河南省小麦纹枯病菌的群体组成及其致病力分化研究[J]. 植物病理学报, 2011, 41(5): 556–560.
WANG Min, LÜ Bolin, XING Xiaoping, *et al.* Composition and virulence variation of the pathogen of wheat sharp eyespot from Henan province[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2011, 41(5): 556–560. (in Chinese)
- [23] WONG F P, WILCOX W F. Sensitivity to azoxystrobin among isolates of *Uncinula necator*: baseline distribution and relationship to myclobutanil sensitivity[J]. *Plant Dis*, 2002, 86(4): 394–404.
- [24] 夏晓明. 禾谷丝核菌(*Rhizoctonia cerealis*)对戊唑醇的抗性机制研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006.
XIA Xiaoming. Studies on the resistance mechanism of *Rhizoctonia cerealis* to tebuconazole [D]. Tai'an: Shangdong Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- [25] 张骞, 周明国, 叶钟音. 植物病原真菌对甲基立枯磷的抗药性及风险研究[J]. 农药学报, 2000, 2(2): 22–28.
ZHANG Qian, ZHOU Mingguo, YE Zhongyin. Resistance risk of plant pathogenic fungi to tolclofos-methyl[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2000, 2(2): 22–28. (in Chinese)
- [26] KEON J P R, WHITE G A, HARGREAVES J A. Isolation, characterization and sequence of a gene conferring resistance to the systemic fungicide carboxin from the maize smut pathogen, *Ustilago maydis*[J]. *Curr Genet*, 1991, 19(6): 475–481.
- [27] SHIMA Y, ITO Y, KANEKO S, *et al.* Identification of three mutant loci conferring carboxin-resistance and development of a novel transformation system in *Aspergillus oryzae* [J]. *Fungal Genet Biol*, 2009, 46(1): 67–76.
- [28] WEBER R W S. Resistance of *Botrytis cinerea* to multiple fungicides in northern German small-fruit production [J]. *Plant Dis*, 2011, 95(10): 1263–1269.
- [29] WHARTON P, FAIRCHILD K, BELCHER A, *et al.* First report of in-vitro boscalid-resistant isolates of *Alternaria solani* causing early blight of potato in Idaho [J]. *Plant Dis*, 2012, 96(3): 454.
- [30] CHEN F, LIU X, CHEN S, *et al.* Characterization of *Monilinia fructicola* strains resistant to both propiconazole and boscalid [J]. *Plant Dis*, 2013, 97(5): 645–651.
- [31] 李良孔. 黄瓜白粉病菌对氟吡菌酰胺敏感基线的建立及其抗药性风险评估[D]. 长春: 吉林大学, 2011.
LI Liangkong. Baseline sensitivity of *Podosphaera xanthii* to fluopyram and its resistance risk assessment [D]. Changchun: Jilin University, 2011. (in Chinese)
- [32] AVENOT H F, MICHAELIDES I T J. Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi [J]. *Crop Prot*, 2010, 29: 643–651.
- [33] 刘西莉, 牟文君, 李波涛, 等. 一种鉴定水稻纹枯病菌 Sdh 基因核苷酸点突变及其对噁唑酰胺抗药性的方法: 中国, 201210281520. 5 [P]. 2013-01-09.
LIU Xili, MOU Wenjun, LI Botao, *et al.* A method for identification on Sdh nucleotide point mutation of *Rhizoctonia solani* and its resistance to trifluzamide: China, 201210281520. 5 [P]. 2013-01-09. (in Chinese)

(责任编辑: 金淑惠)