

· 研究论文 ·

江苏省水稻恶苗病菌对咪鲜胺和氰烯菌酯的敏感性

郑睿**^{1,2}, 聂亚锋**¹, 于俊杰¹, 黄磊^{1,2}, 俞咪娜¹,
尹小乐¹, 黄星², 王亚会¹, 郑梦婷^{1,2}, 刘永锋*¹

(1. 江苏省农业科学院 植物保护研究所, 南京 210014; 2. 南京农业大学 生命科学学院, 南京 210095)

摘要:对采自江苏省姜堰、靖江和常州 3 个地区的水稻恶苗病样品进行了病原菌的分离和鉴定, 利用菌丝生长速率法测定了病原菌对咪鲜胺和氰烯菌酯的敏感性。结果表明:分离得到 77 株水稻恶苗病菌 *Fusarium fujikuroi*; 咪鲜胺对水稻恶苗病菌的 EC₅₀ 值在 0.020 ~ 1.333 μg/mL 之间, 分离到的菌株对咪鲜胺均表现为中抗和高抗, 其中中抗菌株 18 株, 占 23.38%, 高抗菌株 59 株, 占 76.62%, 说明咪鲜胺高抗菌株已经成为江苏省的恶苗病菌优势群体。氰烯菌酯(JS399-19)对水稻恶苗病菌的 EC₅₀ 值在 0.012 ~ 2.040 μg/mL 之间, 菌株的敏感性频率近似正态分布, EC₅₀ 均值为 (0.684 ± 0.265) μg/mL, 建议将此值作为江苏省水稻恶苗病菌对氰烯菌酯的敏感性基线。

关键词:水稻恶苗病菌; 咪鲜胺; 氰烯菌酯; 抗药性; 敏感性基线

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2014.06.10

中图分类号: S481.4; S482.2 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2014)06-0693-06

Sensitivity of *Fusarium fujikuroi* to prochloraz and JS399-19 in Jiangsu Province

ZHENG Rui**^{1,2}, NIE Yafeng**¹, YU Junjie¹, HUANG Lei^{1,2},
YU Mina¹, YIN Xiaole¹, HUANG Xing², WANG Yahui¹,
ZHENG Mengting^{1,2}, LIU Yongfeng*¹

(1. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

2. College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Samples of rice bakanae disease were collected from Jiangyan, Jingjiang, Changzhou in Jiangsu Province. Seventy seven isolates of *Fusarium fujikuroi* were identified, and their sensitivity to prochloraz and JS399-19 were investigated using mycelium growth inhibition method. The results exhibited that the EC₅₀ values of prochloraz to *F. fujikuroi* isolates were from 0.020 to 1.333 μg/mL. Among the 77 *F. fujikuroi* isolates, 18 isolates exhibited medium level resistance to prochloraz, with a frequency of 23.38%; while 59 isolates showed high level resistance, with a frequency of 76.62%. The resistant population of *F. fujikuroi* to prochloraz was dominant in Jiangsu Province. The EC₅₀ values of JS399-19 to *F. fujikuroi* isolates were from 0.0124 to 2.040 μg/mL, and the sensitivity frequency of *F. fujikuroi* isolates to JS399-19 exhibited a Gaussian distribution, with mean EC₅₀ value

收稿日期: 2014-04-14; 修回日期: 2014-07-19.

作者简介: ** 郑睿, 男, 硕士研究生, E-mail: zhengrui8@126.com; ** 聂亚锋, 并列第一作者, 男, 助理研究员, E-mail: nyf1002@163.com; * 刘永锋, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 博士, 研究员, 主要从事水稻病害病理学及其生物防治技术研究, E-mail: liuyf@jaas.ac.cn
基金项目: 农业行业科技专项(201303023); 江苏省农业自主创新基金[CX(12)1003-10].

(0.684 ± 0.265) $\mu\text{g}/\text{mL}$, which could be considered as sensitivity baseline of *F. fujikuroi* to JS399-19 in Jiangsu Province.

Key words: *Fusarium fujikuroi*; prochloraz; JS399-19; resistance; sensitivity baseline

水稻恶苗病是一种常见种传真菌性病害,在世界各稻区均有发生,主要靠带菌种子传播,发病率高,对水稻生产威胁很大,一般可减产 10% ~ 20%,严重的达 50% 以上^[1]。Amatulli 等^[2]研究发现,藤仓赤霉复合种与水稻恶苗病有关,其中 *Fusarium fujikuroi* 被认为是主要致病菌。近年来,水稻恶苗病在江苏省的发病率快速上升,发生程度也呈加重趋势,尤以机插稻和旱田直播稻发病较重,重病田块病株率超过 35%。生产上主要采用咪鲜胺和氰烯菌酯浸种防治该病^[3]。咪鲜胺属于麦角甾醇生物合成抑制剂,用作水稻浸种剂防治水稻恶苗病已超过 20 a,检测其抗药性对保护我国粮食安全生产意义重大。赵志华等^[4]研究表明,水稻恶苗病菌对咪鲜胺具有潜在的抗性风险;刘永锋等^[5]研究表明,田间恶苗病菌对咪鲜胺已有一定的抗性;陈夕军等^[6]分离到了 8 株抗咪鲜胺的恶苗病菌,且具有很高的抗性水平。氰烯菌酯(JS3992-19)是由国家南方农药创制中心江苏基地首次报道的新型 2-氰基丙烯酸酯类杀菌剂,对镰刀菌属引起的病害防治效果良好,常用于防治小麦赤霉病、棉花枯萎病、香蕉枯萎病、水稻恶苗病和西瓜枯萎病等^[7]。研究发现,氰烯菌酯能很好地防治水稻恶苗病,且其与咪鲜胺无交互抗性^[8-10]。鉴于此,笔者测定了江苏省水稻恶苗病菌对咪鲜胺和氰烯菌酯抗药性,以期明确生产上恶苗病菌对咪鲜胺的抗性水平,并拟建立氰烯菌酯的敏感性基线,以便科学使用不同的浸种剂减缓恶苗病菌菌株抗性群体的产生。

1 材料与方法

1.1 供试药剂及样品

97% 咪鲜胺原药(prochloraz)和 91.2% 氰烯菌酯(JS399-19)均由江苏辉丰农化股份有限公司提供,均用甲醇配成 1.00×10^4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的母液,于 4 °C 冰箱贮存,备用。

供试水稻恶苗病病株采自江苏省靖江、常州和姜堰地区,共 91 份。采样水稻品种为武运粳 24、南粳 5055、南粳 44、宁 9108、扬粳 4038、南农粳 7 号、镇稻 14、宁 9108 和镇稻 681 等。采集地长期使用咪鲜胺及其制剂作为浸种剂,但未用过氰烯菌酯。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株的分离与鉴定 水稻恶苗病菌采用 PSA 培养基(马铃薯 200 g,琼脂 12 g,蔗糖 20 g)在 28 °C 条件下培养,单孢分离,得到的菌株按地区首字母缩写加数字进行编号^[11]。

将分离到的菌株置于摇床上于 28 °C 条件下培养 5 d,过滤获得菌丝。利用 CTAB 法提取菌株 DNA,以真菌通用引物^[12-13] ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 进行 PCR 扩增^[12]。总反应体系为 30 μL (1 μL 10 ~ 100 ng 的 DNA, 1 μL 10 pmol/mL 的 ITS1, 1 μL 10 pmol/mL 的 ITS4, 0.3 μL 5 U/ μL 的 DNA 聚合酶, 3 μL 10 \times buffer (+ Mg^{2+}), 2.4 μL 2.5 mmol/L 的 DNTPs, 21.3 μL 的无菌水)。扩增程序为:94 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 1 min, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 2 min, 共 35 个循环;最后 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测后,送英潍捷基贸易有限公司测序。登录 GenBank 将所得到的序列进行相似性比对,记录比对结果,利用 Mega 软件进行序列比对并统计分离到的水稻恶苗病菌菌株数量。

1.2.2 水稻恶苗病菌对咪鲜胺的敏感性测定 根据菌丝生长速率法^[14]测定。分别在含咪鲜胺质量浓度为 0、0.01、0.1、1、5 和 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 PSA 平板中心处接种 4 mm 菌碟,每个处理重复 3 次。在 28 °C 下培养 5 d(以不加药剂的 PSA 平板为对照),用十字交叉法测量菌落直径,根据公式(1)计算抑制率,并计算 EC_{50} 值^[15]。

$$\text{抑制率}/\% = [(\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / (\text{对照菌落直径} - \text{菌碟直径})] \times 100 \quad (1)$$

依据陈夕军等^[6]的研究结果,确定病原菌对咪鲜胺的敏感性基线为 0.000 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。根据公式(2)计算抗性倍数。将菌株对咪鲜胺的抗性水平分为低抗: $5 <$ 抗性倍数 ≤ 10 ; 中抗: $10 <$ 抗性倍数 ≤ 100 ; 高抗: 抗性倍数 > 100 ^[6]。

$$\text{抗性倍数} = \text{测定菌株 } \text{EC}_{50} \text{ 值} / \text{敏感性基线} \quad (2)$$

1.2.3 水稻恶苗病菌对氰烯菌酯的敏感性测定

测定方法按 1.2.2 节进行。氰烯菌酯质量浓度为 0、0.01、0.1、1、10 和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。从氰烯菌酯

0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 开始,以0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 为截距,按照 EC_{50} 值将恶苗病菌分为6区间,统计每个区间菌株的个数和发生频率,绘制水稻恶苗病菌敏感性频率分布图,比较不同地区水稻恶苗病菌对氰烯菌酯敏感性水平^[16]。

2 结果与分析

2.1 菌株分离和鉴定

分离的菌株利用ITS通用引物经PCR扩增后,获得1段长约550 bp的DNA片段。将此片段在NCBI数据库进行序列对比和BLAST分析,经系统发育分析得到77株水稻恶苗病菌株*Fusarium fujikuroi*。其中,靖江15株,常州43株,姜堰19株,分别占分离菌株总数的19.48%、55.84%和24.68%。

2.2 水稻恶苗病菌对咪鲜胺的抗药性分布

结果(表1)表明:来自靖江的菌株对咪鲜胺的抗性水平最低,其 EC_{50} 值在0.025 5 ~ 0.736 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,平均为0.158 9 $\mu\text{g}/\text{mL}$;常州的菌株抗性水平最高, EC_{50} 值在0.019 6 ~ 1.332 9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,平均为0.252 9 $\mu\text{g}/\text{mL}$;姜堰的菌株介于两者之间, EC_{50} 值在0.023 0 ~ 0.639 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,平均为0.202 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。 EC_{50} 最小值(0.019 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$)与最大值(1.332 9 $\mu\text{g}/\text{mL}$)相差67倍。中抗菌株18株,占23.38%,高抗菌株59株,占76.62%。

表1 江苏省不同地区水稻恶苗病菌对咪鲜胺的抗性
Table 1 Resistance of *Fusarium fujikuroi* isolates to prochloraz from different areas in Jiangsu Province

| 来源 Origin | EC_{50} 值范围 Range of EC_{50} value/ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | EC_{50} 平均值 Average EC_{50} value/($\mu\text{g}/\text{mL}$) | 抗性倍数 Resistance ratio |
|--------------|---|---|-----------------------------|
| 靖江 Jingjiang | 0.026 ~ 0.737 | 0.159 | 34.0 ~ 982 |
| 常州 Changzhou | 0.020 ~ 1.333 | 0.253 | 26.1 ~ 1777 |
| 姜堰 Jiangyan | 0.023 ~ 0.640 | 0.202 | 30.7 ~ 852 |

2.3 不同地区水稻恶苗病菌对咪鲜胺的敏感性

在检测的3个地区,水稻恶苗病菌对咪鲜胺抗性差别较大,但高抗菌株比例均在60%以上。其中,常州35株,占81.40%;姜堰15株,占78.95%;靖江9株,占60.00%。说明水稻恶苗病菌对咪鲜胺产生了抗药性,与杨红福等的结果一致^[17]。

2.4 水稻恶苗病菌对氰烯菌酯的敏感性

结果(图1)表明:77株水稻恶苗病菌中有76株对氰烯菌酯的敏感性频率分布呈单峰曲线,近似正态分布。 EC_{50} 值最小为0.012 $\mu\text{g}/\text{mL}$,最大为2.040 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。 EC_{50} 值在0.65 ~ 0.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 间的菌株出现的频率最高。氰烯菌酯对76株水稻恶苗病菌的平均 EC_{50} 值为(0.684 \pm 0.265) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。参照FAO划分标准,抗性菌株的 EC_{50} 值比敏感菌株的高5 ~ 10倍^[18],本研究中虽然出现了一株对氰烯菌酯敏感性较低的菌株(CZ17),但是该菌株的 EC_{50} 值与敏感菌株比值为2.98,表明其仍对氰烯菌酯表现敏感。建议将其平均 EC_{50} 值作为江苏省水稻恶苗病菌对氰烯菌酯的敏感性基线。

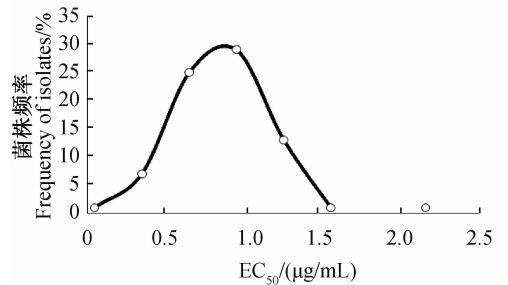


图1 水稻恶苗病菌对氰烯菌酯的敏感性频率分布
Fig. 1 Sensitivity frequency distribution of *Fusarium fujikuroi* to JS399-19

2.5 不同地区水稻恶苗病菌对氰烯菌酯的敏感性

3个地区水稻恶苗病菌对氰烯菌酯的敏感性差异不显著(表2),其 EC_{50} 平均值在0.651 ~ 0.727 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间。氰烯菌酯对姜堰菌株的平均 EC_{50} 值最低,为0.651 $\mu\text{g}/\text{mL}$;对于常州的菌株,氰烯菌酯的平均 EC_{50} 值最高,为0.727 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表2 江苏省不同地区水稻恶苗病菌对氰烯菌酯的敏感性
Table 2 Sensitivity of *Fusarium fujikuroi* to JS399-19 from different areas in Jiangsu Province

| 来源 Origin | EC_{50} 值范围 Range of EC_{50} value/ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) | EC_{50} 平均值 Average EC_{50} value/ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) |
|--------------|---|--|
| 靖江 Jingjiang | 0.235 ~ 1.142 | 0.677 a |
| 常州 Changzhou | 0.012 ~ 2.040 | 0.727 a |
| 姜堰 Jiangyan | 0.333 ~ 1.137 | 0.651 a |

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

Note: Data in the same column followed by different lowercase letters mean significantly different by Duncan's new multiple range test at $P < 0.05$ level.

2.6 不同地区水稻恶苗病菌对氰烯菌酯敏感性水平的系统聚类分析

聚类分析结果(图2)表明:氰烯菌酯对77株水稻恶苗病菌的EC₅₀值可分为5组,其中4组均包含不同地区的菌株,说明水稻恶苗病菌对氰烯菌酯的敏感性差异与菌株来源的地理位置无明显相关性,

这与邓肯氏新复极差法的分析结果一致。采自常州地区的对氰烯菌酯敏感性较低的菌株 CZ17 的 EC₅₀ 值聚类自成一组。

3 讨论

镰刀菌在自然界中分布广泛、种类多样,种内的

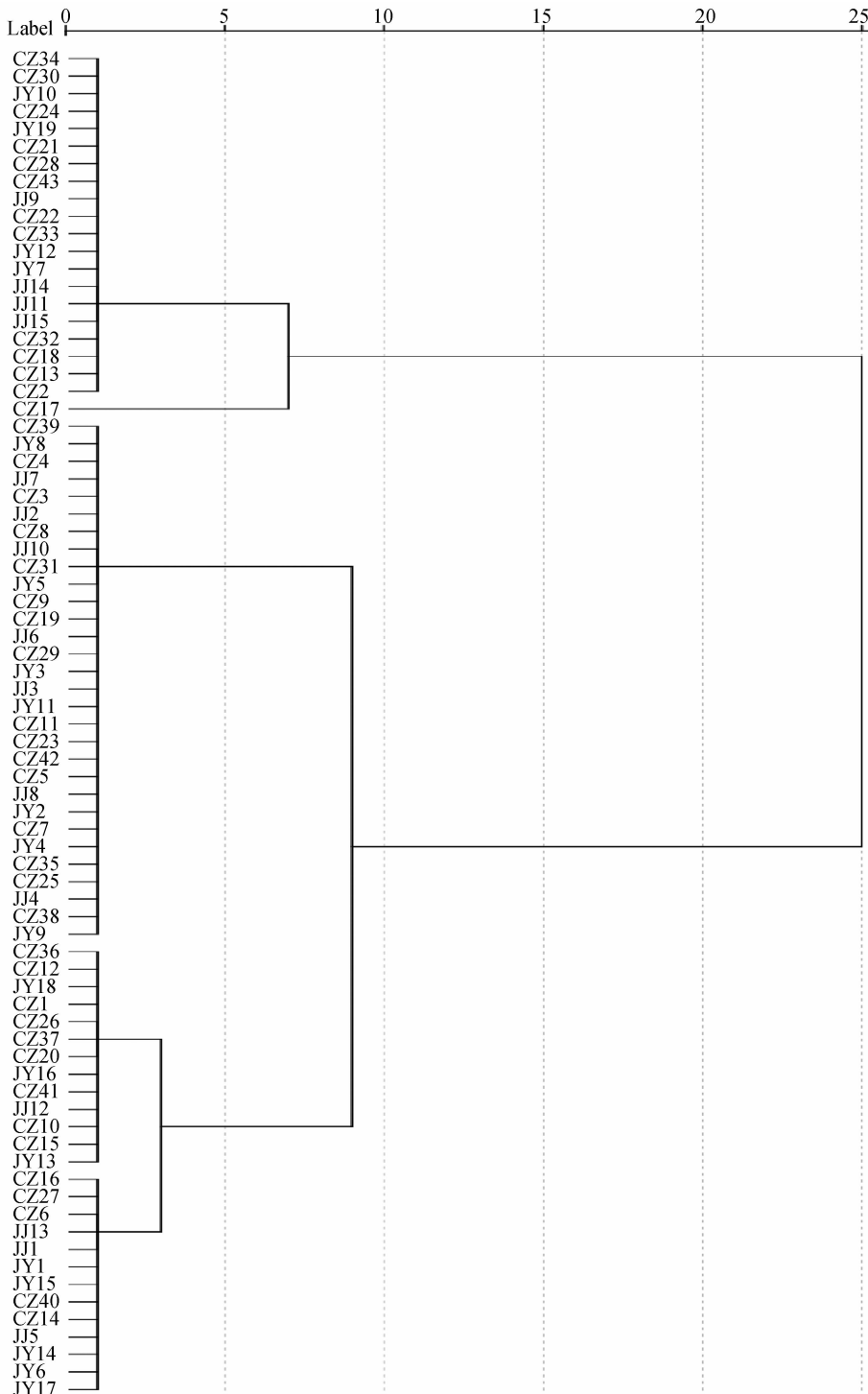


图2 氰烯菌酯对水稻恶苗病菌 EC₅₀值的系统聚类结果

Fig. 2 System clustering analysis on EC₅₀ values of JS399-19 to *Fusarium fujikuroi*

生理分化非常明显,形态学分类很难科学地反映其系统发育和亲缘关系^[19]。通过分子生物学方法减少了鉴定过程中主观因素的影响,使鉴定结果更准确^[20]。在发育过程中 ITS 片段具有很好的适应性,能经受更多的变异位点,具有序列多态性的特点,其序列不同可以用来对近缘的种属加以鉴别^[21]。在本研究中,经过 ITS 序列比对和系统发育分析得到 77 株水稻恶苗病菌 *Fusarium fujikuroi*。江苏省从 1995 年开始使用咪鲜胺制剂取代多菌灵,用于防治水稻恶苗病。随着水稻种植面积的迅速扩大以及早育秧技术的推广,加重了水稻恶苗病的发病趋势,因此咪鲜胺类药剂浸种得到了大规模应用^[2,22]。本研究发现,常州和姜堰地区的高抗菌株占本地区分离菌株的 80% 左右,高于靖江地区的(60%),未发现敏感和低抗菌株,全部是中高抗性的菌株,这说明对咪鲜胺产生抗性的水稻恶苗病菌已经成为优势种群,利用咪鲜胺浸种防控恶苗病存在很大风险。杨红福等^[17]在江苏和上海的水稻上分离到 33 株水稻恶苗病菌,其对咪鲜胺的抗性频率达 82.14%,这也是江苏省 2012 年水稻恶苗病大爆发的重要原因之一。

本研究中,通过离体测定江苏省未使用过氰烯菌酯的水稻种植区的 77 株水稻恶苗病菌对氰烯菌酯的敏感性,发现恶苗病菌对氰烯菌酯敏感性较高,且不同地区间差异不显著,但氰烯菌酯对不同水稻恶苗病菌的 EC₅₀ 值跨度较大,这可能与病原菌自身差异性以及群体组成的多样性有关。刁亚梅等^[23]和祝燕丽等^[8]推荐使用 25% 氰烯菌酯悬浮剂浸种防治水稻恶苗病,王龙根等^[6]也认为氰烯菌酯对水稻恶苗病菌具有较好的抑制作用。鉴于本研究中咪鲜胺抗性菌株均对氰烯菌酯表现敏感,且与李恒奎等的研究结果一致^[10],建议在恶苗病菌对咪鲜胺抗性水平较高的地区使用氰烯菌酯替代咪鲜胺防治水稻恶苗病,以达到较好的防治效果。

参考文献(Reference):

[1] 郑镐燮,吕彬,吴润植. 水稻恶苗病病原菌及其生物学特性的研究现状[J]. 黑龙江农业科学, 1992, (6): 41-44.
ZHENE Gaoxie, LÜ Bin, WU Runzhi. Research status of rice bakanae disease pathogen and its biological characteristics[J]. *Heilongjiang Agric Sci*, 1992, (6): 41-44. (in Chinese)

[2] AMATULLI M T, SPADARO D, GULLINO M L, et al. Conventional and real-time PCR for the identification of *Fusarium fujikuroi* and *Fusarium proliferatum* from diseased rice tissues and seeds[J]. *Eur J Plant Pathol*, 2012, 134(2):

401-408.

[3] 刁亚梅,朱桂梅,潘以楼,等. 氰烯菌酯(JS399-19)防治水稻恶苗病的研究[J]. 现代农药, 2006, 5(1): 14-16.
DIAO Yamei, ZHU Guimei, PAN Yilou, et al. Study of JS399-19 on the control of rice bakanae disease [J]. *Modern Agrochemicals*, 2006, 5(1): 14-16. (in Chinese)

[4] 赵志华,张锡明,范洁茹,等. 咪鲜胺对水稻恶苗病菌及其抗药突变体生长发育的影响[J]. 农药学报, 2007, 9(3): 251-256.
ZHAO Zhihua, ZHANG Ximing, FAN Jieru, et al. Effect of prochloraz on growth and development of prochloraz-sensitive strain and its resistant mutants in *Fusarium fujikuroi*[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2007, 9(3): 251-256. (in Chinese)

[5] 刘永锋,陈志谊,周保华,等. 江苏省部分稻区恶苗病菌对水稻浸种剂的抗药性检测[J]. 江苏农业学报, 2002, 18(3): 190-192.
LIU Yongfeng, CHEN Zhiyi, ZHOU Baohua, et al. Monitoring for resistance of *Fusarium moniliforme* shed to rice seed dressing agent in part area of Jiangsu Province[J]. *Jiangsu J Agric Sci*, 2002, 18(3): 190-192. (in Chinese)

[6] 陈夕军,卢国童,董蕴慧,等. 水稻恶苗病菌对三种浸种剂的抗性及其抗药菌株的竞争能力[J]. 植物保护学报, 2007, 34(4): 425-430.
CHEN Xijun, LU Guoxin, TONG Yunhui, et al. Resistance of *Fusarium moniliforme* rice bakanae disease pathogen to 3 fungicides for seed-treatment and competition ability of resistant strains[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2007, 34(4): 425-430. (in Chinese)

[7] 王龙根,倪珏萍,王风云,等. 新杀菌剂 JS399-19 的生物活性研究[J]. 农药, 2004, 43(8): 380-383.
WANG Longgen, NI Jueping, WANG Fengyun, et al. The research on biological activities of new fungicide JS399-19[J]. *Chin J Pest*, 2004, 43(8): 380-383 (in Chinese)

[8] 祝燕丽,黄劲松,董涛海. 25% 氰烯菌酯(劲护)悬浮剂浸种对稻种安全性及防病效果研究[J]. 现代农业科技, 2012, (24): 141.
ZHU Yanli, HUANG Jinsong, DONG Taohai. Study of 25% JS399-19 (Jin Hu) suspension on rice safety and disease control [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2012, (24): 141. (in Chinese)

[9] 平永林. 不同药剂浸种预防水稻恶苗病效果研究[J]. 园艺与种苗, 2013, (10): 45-46.
PING Yonglin. Study on preventive effect of different agents soaking on bakanae disease of rice[J]. *Hortic & Seed*, 2013, (10): 45-46. (in Chinese)

[10] 李恒奎,陈长军,王建新,等. 禾谷镰孢菌对氰烯菌酯的敏感性基线及室内抗药性风险初步评估[J]. 植物病理学报, 2006, 36(3): 273-278.
LI Hengkui, CHEN Changjun, WANG Jianxin, et al. Study on baseline-sensitivity of *Fusarium graminearum* to JS399-19 and assessment of the risk of resistance *in vitro* [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2006, 36(3): 273-278. (in Chinese)

- [11] 邱小燕, 汤智鹏, 张敏, 等. 一种适用于多数植物病原真菌的单孢分离方法[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(9): 5263 - 5264.
 QIU Xiaoyan, TANG Zhipeng, ZHANG Min, *et al.* Research on the isolation method of single spore of most plant pathogenic fungi[J]. *J Anhui Agric Sci*, 2011, 39(9): 5263 - 5264. (in Chinese)
- [12] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [J]. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, 1990, 18: 315 - 322.
- [13] STEWART Jr C N, VIA L E. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications[J]. *Biotechniques*, 1993, 14(5): 748 - 750.
- [14] 肖炎农, 程瑜, 王明祖, 等. 假单胞杆菌 B301 对稻瘟病菌的拮抗性[J]. 植物保护学报, 2000, 27(3): 227 - 230.
 XIAO Yannong, CHENG Yu, WANG Mingzu, *et al.* The antagonistic of *Pseudomonas* B301 to blast Fungus[J]. *J Plant Prot*, 2000, 27(3): 227 - 230. (in Chinese)
- [15] 檀根甲, 祝建平. 杀菌剂生物测定计算方法及应用[J]. 安徽农学通报, 1998, 4(1): 27 - 28.
 TAN Genjia, ZHU Jianping. Fungicide Bioassay calculation and application of antiseptic[J]. *Anhui Agric Sci Bull*, 1998, 4(1): 27 - 28. (in Chinese)
- [16] 祁之秋, 鞠雪娇, 纪明山, 等. 辽宁省稻瘟病菌对咪鲜胺敏感基线的建立[J]. 农药学报, 2012, 14(6): 673 - 676.
 QI Zhiqiu, JU Xuejiao, JI Mingshan, *et al.* Sensitive baseline of *Magnaporthe grisea* to prochloraz in Liaoning Province [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2012, 14(6): 673 - 676. (in Chinese)
- [17] 杨红福, 吉沐祥, 姚克兵, 等. 水稻恶苗病菌对咪鲜胺的抗性研究及治理[J]. 江西农业学报, 2013, 25(6): 94 - 96.
 YANG Hongfu, JI Muxiang, YAO Kebing, *et al.* Study on resistance of *Fusarium monilifore* to prochloraz and its management [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2013, 25(6): 94 - 96. (in Chinese)
- [18] FAO. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides [J]. *FAO Plant Prot Bull*, 1982, 30(2): 30 - 36.
- [19] 李蕊倩, 何瑞, 张跃兵, 等. 镰刀菌 ISSR 标记体系的建立及遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(9): 3139 - 3146.
 LI Ruiqian, HE Rui, ZHANG Yuebing, *et al.* Establishment of ISSR reaction system of *Fusarium* and ITS analysis of genetic diversity [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(9): 3139 - 3146. (in Chinese)
- [20] 陈玉玺, 张利平, 吕志堂. 10 株镰刀菌 rDNA 内转录间隔区 (ITS) 序列分析[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(12): 4886 - 4887.
 CHEN Yuxi, ZHANG Liping, LÜ Zhitang. Analysis of the internal transcribed spacer (ITS) sequences in rDNA of 10 strains of *Fusarium* spp. [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2008, 36(12): 4886 - 4887. (in Chinese)
- [21] 李依韦, 银玲. rDNA-ITS 序列分析在植物病原真菌分类鉴定中的应用[J]. 内蒙古民族大学学报, 2012, 27(1): 66 - 67.
 LI Yiwei, YIN Ling. Application of rDNA-ITS sequences in plant disease fungi classification and identification [J]. *J Inner Mongolia Univ Natl*, 2012, 27(1): 66 - 67. (in Chinese)
- [22] 吉沐祥, 杨红福, 姚友华, 等. 江苏省水稻种子处理剂利用现状与使用技术[J]. 江苏农业科学, 2006, (2): 8 - 10.
 JI Muxiang, YANG Hongfu, YAO Youhua *et al.* Utilization progress and application techniques of rice seed treatment agent in Jiangsu Province [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2006, (2): 8 - 10. (in Chinese)
- [23] 刁亚梅, 倪瑛萍, 马亚芳, 等. 创制杀菌剂氰烯菌酯的应用研究[J]. 植物保护, 2007, 33(4): 121 - 123.
 DIAO Yamei, NI Yuping, MA Yafang, *et al.* Study on the applications of novel fungicide JS399-19 [J]. *Plant Prot*, 2007, 33(4): 121 - 123. (in Chinese)

(责任编辑: 曲来娥)