

· 研究论文 ·

番茄早疫病菌对异菌脲的敏感基线及其抗性突变体的生物学特性

任璐, 韩巨才*, 刘慧平

(山西农业大学 农学院, 山西 太谷 030801)

摘要:采用菌落直径法测定了山西省五寨县 42 株番茄早疫病菌 *Alternaria solani* 菌株对异菌脲的敏感性。结果表明,异菌脲对各菌株的 EC_{50} 值在 1.225 ~ 2.674 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,平均为 2.556 $\mu\text{g}/\text{mL}$,由于所有菌株均采自未使用过异菌脲的地区,该平均值可作为番茄早疫病菌对异菌脲的相对敏感基线。为了评价番茄早疫病菌对异菌脲的抗性风险,以敏感菌株为试材,通过紫外诱导和药剂驯化(10 代)的方法获得了 21 株抗性突变体,比较了敏感菌株和突变体的生物学特性。结果表明:异菌脲对突变体的 EC_{50} 值均大于 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,达到高抗性水平;突变体的抗药性稳定,在无药 PDA 平板上继代培养 10 次后抗性不丧失;突变体在生长速率及致病力方面较敏感菌株有所下降,产孢量及分生孢子萌发率与敏感菌株相比无显著差异,孢子的竞争能力明显弱于敏感菌株。

关键词:番茄早疫病菌;异菌脲;敏感基线;抗性风险

DOI:10.3969/j.issn.1008-7303.2010.02.07

中图分类号:S481.4;S482.2

文献标志码:A

文章编号:1008-7303(2010)02-0155-06

Baseline sensitivity of *Alternaria solani* to iprodione and characteristics of the resistant mutants

REN Lu, HAN Ju-cai*, LIU Hui-ping

(Agronomy College, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi Province, China)

Abstract: The sensitivity of 42 strains of *Alternaria solani* collected from Wuzhai in Shanxi Province to iprodione was measured. The results showed that EC_{50} values of different strains of *A. solani* varied from 1.225 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 2.674 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with the mean value of 2.556 $\mu\text{g}/\text{mL}$, which could be regarded as the baseline sensitivity of *A. solani* to iprodione because the 42 strains were collected from the field where iprodione were never applied. To evaluate the resistant risk of *A. solani* to iprodione, 21 iprodione-resistant mutants were induced by UV irradiation and 10 generation fungicide adaption in laboratory, and the characteristics of resistant mutants and sensitive strains were measured. The results showed that EC_{50} values of mutants were more than 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ which were high resistance level. And the resistance obtained was stable. Compared with sensitive strains, the mycelium growth and pathogenicity, especially the competition ability of the mutants were declined. However, the sporulation and germination were similar with that of the sensitive ones.

Key words: *Alternaria solani*; iprodione; baseline sensitivity; resistant risk

收稿日期:2009-12-10;修回日期:2010-02-24.

作者简介:任璐(1982-),女,山西太原人,博士研究生;* 通讯作者(Author for correspondence):韩巨才(1956-),男,山西孟县人,教授,博士生导师,主要从事农药毒理与生物农药研究,电话:0354-6288351, E-mail: sxndhjc@yahoo.com.cn

基金项目:山西省留学回国基金(2007061,2009043);山西省攻关项目(20070301039)

早疫病是番茄上的重要病害之一。近年来,由于一些地区大量推广种植抗病毒病而不抗早疫病的番茄品种,导致番茄早疫病的严重发生,对番茄产量影响很大^[1]。二甲酰亚胺类杀菌剂(Dicarboximide fungicides, DCFs)异菌脲(iprodione)是目前防治该类病害的有效药剂,具有保护和一定的治疗作用^[2],可防治多种真菌引起的植物病害。随着该类药剂使用时间的延长及施用量的增加,植物病原真菌对其的抗药性问题日益严重,目前已有链核盘菌 *Monilinia ruficicola*、核盘菌 *Sclerotinia homoeocarpa* 和白腐小核菌 *Sclerotium cepivorum* 等重要的植物病原真菌对其产生了田间抗性的报道^[3],因而其抗性菌株特性、抗药性监测治理等研究受到了广泛的重视,目前已取得较大进展^[4-11]。然而国内针对番茄早疫病菌抗药性的研究才刚刚开展,自异菌脲在我国用于防治番茄早疫病以来,迄今还未见有关田间产生抗药性的报道。笔者通过生物测定,建立了番茄早疫病菌对异菌脲的相对敏感基线,并通过室内诱导抗性突变体,比较了突变体和敏感菌株的基本生物学特性,评价了抗性突变体在自然条件下发展成为优势菌株的潜力,旨在为该类药物剂的抗性监测及科学使用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

药剂:95%的异菌脲(iprodione)原药,山东双星农药厂产品。将异菌脲原药溶于丙酮溶液中,配成 $1 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$ 的母液,以 0.2% 的体积分数加入乳化剂 Tween-80,于冰箱中 4 °C 下贮藏备用,使用时以无菌水稀释至适当浓度。

菌株:番茄早疫病菌 *Alternaria solani* 菌株采自山西省五寨县从未施用过异菌脲的番茄大田。取样后将所得各组织分别装入小袋隔离,用经过灭菌的接种刀刮取发病叶背表面霉层,接入 PDA 平板培养基表面,25 °C 下培养,待长出菌丝后,用灭菌的接种针挑取菌丝转入另一 PDA 平板上进行纯化。菌株均以“采样地点的大写拼音字头(声母)+序号”命名。

1.2 实验方法

1.2.1 番茄早疫病菌对异菌脲的敏感性测定 采用菌落直径法^[12]。将被测菌株在 PDA 平板上培养 72 h 后,自菌落边缘打取直径为 5 mm 的菌碟,在含梯度浓度药剂的平板上进行敏感性测定,以不加药者为对照,每处理重复 3 次。于 25 °C 培养 72 h 后,

采用十字交叉法测定菌落净生长量,分别计算各浓度药液对菌丝生长的抑制率,将药液质量浓度换算成对数值,为 x ,以抑制率的概率值为 y ,计算回归方程及 EC_{50} 值。

1.2.2 番茄早疫病菌对异菌脲的抗性诱导 紫外诱导^[13]:将 7 株敏感菌株接种于 PDA 平板上,25 °C 培养 48 h 后,将平板置于 25 W 紫外灯下 20 cm 处垂直照射。每照射 20 min 从菌落边缘分别打取 4 块直径 5 mm 的菌碟,移入含 2.0 $\mu\text{g/mL}$ 异菌脲的 PDA 平板上,25 °C 黑暗培养 3 d 后,选择能在含药平板上生长、形成扇形突变体者,从扇形角变区再打取直径为 5 mm 的菌碟,移入含 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 异菌脲的 PDA 平板上,能在其上生长者则为抗性突变体。紫外光连续照射 4 次。

药剂驯化^[14]:将供试菌株 WZ35 在 PDA 平板上培养 2 d 后,于边缘打取直径为 5 mm 的菌碟,移入含 2.0 $\mu\text{g/mL}$ 异菌脲的 PDA 平板上,连续继代培养,25 °C 下每隔 10 d 继代培养 1 代,逐步提高药剂浓度,直至获得能在含 500 $\mu\text{g/mL}$ 异菌脲的平板上生长的抗性突变体。

1.2.3 突变体的抗性水平测定 同 1.2.1 节,在含系列浓度药剂的 PDA 平板上测定各突变体对异菌脲的敏感性,按式(1)计算抗性倍数。若抗性倍数小于 5 则认为未产生抗性,在 5 到 20 之间为低抗菌株,20 到 100 之间为中抗菌株,大于 100 为高抗菌株^[12]。

$$\text{抗性倍数} = \frac{\text{抗性菌株 } EC_{50} \text{ 值}}{\text{亲本敏感菌株 } EC_{50} \text{ 值}} \quad (1)$$

1.2.4 遗传稳定性测定 将突变体在无药 PDA 平板上于 25 °C 黑暗条件下连续继代培养 10 次,每代培养 3 d,分别在第 1,3,5,7,10 代测其抗性水平。

1.2.5 生长速率及产孢量测定 将各供试菌株在 PDA 培养基上培养 3 d 后,在距菌落边缘相同的位置取直径 5 mm 的菌碟接种于 PDA 平板上,每株 3 次重复,于 25 °C 下黑暗培养,分别测量生长 1,2,3,4 和 5 d 后的菌落直径。另取一菌碟,用 20 mL 质量分数为 0.05% 的无菌吐温水洗下孢子^[15],充分振荡后用血球计数法测定生长 5 d 后的产孢量。

1.2.6 致病力测定 采用离体叶片法^[16]。取新鲜番茄叶片,用直径 1.5 cm 的打孔器制备叶碟,无菌水冲洗后于 75% 的乙醇中浸泡 2 min 进行表面消毒,再用无菌水冲洗,取出晾干后置于灭菌培养皿中。分别将 PDA 平板上黑暗条件下培养 72 h 的抗性和敏感菌株的分生孢子悬浮液(浓度为每 1 mL

含 1×10^5 个孢子)均匀喷洒在叶片表面,以用无菌水浸泡的叶片为对照。孢子悬浮液的制备参见文献[15]。在灭菌培养皿中保湿培养 5 d 后,测定叶片的发病面积并按式(2)计算病情指数。调查分级标准:0 级:叶片上无病斑;1 级:叶片上有个别病斑;2 级:病斑面积占叶片面积的 1/3 以下;3 级:病斑面积占叶片面积的 1/3 ~ 1/2;4 级:病斑面积占叶片面积的 1/2 以上。

$$\text{病情指数}/\% = \frac{\sum(\text{病级叶数} \times \text{该病级})}{\text{检查总叶数} \times \text{最高病级}} \times 100 \quad (2)$$

1.2.7 分生孢子萌发率测定 采用凹玻片法^[17]。分别将 100 μL 突变体和敏感菌株的分生孢子悬浮液置于凹玻片中央,将凹玻片放在保湿的大培养皿中,25 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下培养 7 ~ 8 h 后,于 100 倍显微镜下观察孢子萌发情况(镜检数量不少于 300 个)。按式(3)计算孢子萌发率。

$$\text{孢子萌发率}/\% = \frac{\text{分生孢子萌发数}}{\text{镜检孢子总数}} \times 100 \quad (3)$$

1.2.8 抗性突变体和敏感菌株孢子竞争能力测定 参照纪兆林等^[18]及 Schepers^[19]报道的竞争能力测定方法,采用孢子悬浮液接种。将抗性突变体和敏感菌株的分生孢子悬浮液配成相同浓度(每 1 mL 含 1×10^5 个孢子)后等比例(10:10,体积比)混合成不同组合——组合 1:WZ29 + WZ29R1;组合 2:WZ29 + WZ29R2;组合 3:WZ35 + WZ35R;组合 4:WZ38 + WZ38R1。用毛笔将分生孢子混合液涂抹于番茄叶片上,发病后挑选单个病斑,用打孔器打取病斑,漂浮在对敏感菌株为最低抑制浓度(即药剂可以抑制病原菌生长的最低质量浓度,10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的异菌脲药液中,光照培养 7 d,记录病斑数量并观察病斑扩展情况,至少检测 50 个病斑。按式(4)计算抗性突变体频率。

$$\text{抗性突变体频率}/\% = \frac{\text{扩大的病斑数量}}{\text{检测总病斑数}} \times 100 \quad (4)$$

1.2.9 数据分析 采用 DPS 统计软件计算毒力回归方程及 EC_{50} 值(以 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 表示);采用 Duncan 式新复极差检验法分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 番茄早疫病菌对异菌脲的敏感性及其敏感基线

结果见图 1。异菌脲对供试 42 株菌株的 EC_{50} 值在 1.225 ~ 2.674 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,平均 EC_{50} 值为 2.556 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。异菌脲对 42 株菌株的 EC_{50} 值呈现连续性变化,以其平均值 2.556 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作为番茄早疫病菌对异菌脲的相对敏感基线。

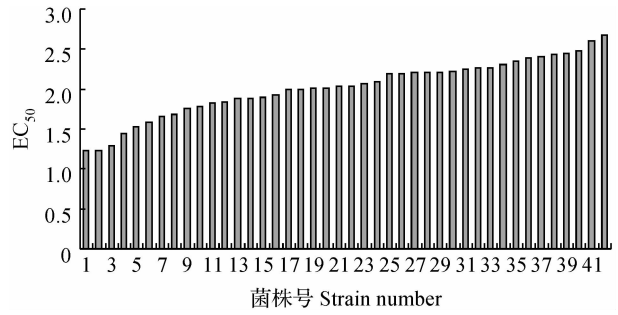


图 1 42 株番茄早疫病菌菌株对异菌脲的敏感性
Fig. 1 Sensitivity of forty-two strains of *A. solani* to iprodione

2.2 抗性突变体的获得及抗性水平

经过紫外诱导和 10 代药剂驯化,共获得 20 株紫外诱导抗性突变体和 1 株药剂驯化抗性突变体 WZ35R。在含系列浓度异菌脲的 PDA 平板上测定突变体的敏感性,结果表明,紫外诱导和药剂驯化的抗性菌株的 EC_{50} 值都大于 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$,抗性倍数超过 100,其中 WZ29R2 的 EC_{50} 值达 392.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (见表 1),其抗性倍数达 178.3。

表 1 突变菌株对异菌脲的敏感性

Table 1 Sensitivity of the mutants strain of *A. solani* to iprodione

菌株 Strain	毒力回归方程 Toxicity regressive equation ($Y =$)	相关系数 Relative coefficient (R^2)	95% 置信限 95% FL/ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	EC_{50} / ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	抗性倍数 Resistant ratio	抗性水平 Resistant level
WZ29R1	0.738 + 1.647x	0.996	353.3 ~ 423.3	384.6	174.8	高 High
WZ29R2	0.210 + 1.847x	0.991	357.7 ~ 428.7	392.3	178.3	高 High
WZ29R3	0.626 + 1.701x	0.972	346.4 ~ 400.9	379.8	172.6	高 High
WZ29R4	2.883 + 0.822x	0.997	341.8 ~ 414.4	373.7	169.9	高 High
WZ38R1	2.184 + 1.126x	0.991	269.1 ~ 371.8	319.7	133.2	高 High
WZ38R2	0.055 + 1.972x	0.970	315.9 ~ 369.0	342.3	142.6	高 High
WZ35R	2.151 + 1.116x	0.989	293.8 ~ 435.8	367.8	159.9	高 High

2.3 遗传稳定性

比较突变体各代的抗性倍数(见表2),结果表明其抗药性稳定,经无性繁殖多代后抗性不丧失。

说明番茄早疫病菌一旦对异菌脲产生了抗性,即使长期脱离该药剂,其抗药性也可稳定遗传,很难丧失。

表2 突变菌株的遗传稳定性测定

Table 2 Stability of resistance of the mutants strain of *A. solani* to iprodione

菌株 Strain	抗性倍数 Resistance ratio				
	第1代 First generation	第3代 Third generation	第5代 Fifth generation	第7代 Seventh generation	第10代 Tenth generation
WZ29R1	176.9	179.3	172.2	170.5	176.2
WZ29R2	178.2	175.4	177.3	174.7	177.4
WZ38R1	135.2	130.4	133.6	132.4	135.3
WZ35R	155.8	158.7	157.6	158.4	160.6
WZ29R3	172.5	168.3	171.9	172.5	173.2
WZ38R2	142.4	145.2	137.6	139.6	143.2

2.4 生长速率及产孢量

结果表明,突变体的菌丝生长速率显著低于敏感菌株,可见,番茄早疫病菌对异菌脲产生抗性突

变后,其生长能力有所下降;突变体的产孢量与亲本菌株无显著差异,说明与亲本菌株相比,抗性突变体的繁殖能力没有明显降低(表3)。

表3 突变体与敏感菌株的生长速率及产孢量

Table 3 Mycelial growth and sporulation capacity of mutants and sensitive strains of *A. solani*

菌株 Strain	生长速率 Growth speed/(mm/d)					平均生长速率 Growth speed in everage/ (mm/d)	产孢量 Spore numbers/ ($\times 10^6$)
	1	2	3	4	5		
WZ35	9.5	9.6	9.2	9.7	9.9	9.58 aA	4.78 aA
WZ38	9.2	9.3	9.5	9.3	9.7	9.40 aA	5.65 aA
WZ29	9.3	9.7	9.7	9.7	9.8	9.63 aA	5.40 aA
WZ35R	7.6	8.5	8.2	8.9	8.4	8.29 bcC	4.80 aA
WZ29R3	7.2	8.3	8.2	8.2	8.3	8.03 cC	6.15 aA
WZ38R1	8.5	8.4	9.1	8.6	8.6	8.61 bcBC	4.45 aA
WZ29R2	8.4	8.8	8.9	8.9	8.9	8.79 bABC	5.72 aA
WZ29R1	6.5	8.7	8.9	8.8	8.9	8.37 bcC	4.12 aA
WZ38R2	6.3	8.8	8.9	8.9	8.9	8.35 bcC	5.34 aA

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

Note: Data in a column followed by the different small letters are significant differences at $P_{0.05}$, the different capital letters are significant differences at $P_{0.01}$.

2.5 抗性突变体的致病力

结果见表4。敏感菌株接种后在无药情况下发病严重,接种5 d后叶片几乎全部发病,发病叶片呈深褐色,其致病力最强。无论是紫外光诱导,还是药剂驯化,所产生的抗性突变体接种后在无药条件下都较敏感菌株发病轻,病情指数小。差异显著性比较显示,突变体与其亲本菌株之间致病力水平达到了显著或极显著水平,说明抗性突变体在无药情况下其致病力比敏感菌株弱。

2.6 抗性突变体与敏感菌株孢子萌发率

结果(见表4)表明,抗性突变体与敏感菌株的孢子萌发率均大于20%,且突变体的孢子萌发能力与敏感菌株相比无显著差异。

2.7 敏感菌株和抗性突变体孢子的竞争能力

用紫外诱导和药剂驯化方法获得的高抗菌株及其原始敏感菌株之间孢子竞争力测定结果(见图2)表明,组合1~4接种后的病斑中,敏感菌株的频率均高于突变体,其中,抗性菌株频率最高的组

合3中也只达到39.6%,而最低的组合4中仅为19.3%。说明敏感菌株孢子的竞争能力强于抗性突变体。

表4 突变体与敏感菌株致病力及孢子萌发率比较

Table 4 Pathogenicity and spore germination of mutants and sensitive strains of *A. solani*

菌株 Strain	类型 Types	病情指数 Disease index	孢子萌发率 Germination/%
WZ29	S	89.6 bB	20.38 aA
WZ29R1	R	64.2 eE	21.94 aA
WZ29R3	R	65.9 eE	21.85 aA
WZ35	S	95.4 aA	22.40 aA
WZ35R	R	71.4 dD	22.40 aA
WZ38	S	96.5 aA	21.56 aA
WZ38R1	R	77.3 cC	22.63 aA
WZ38R2	R	69.4 dD	20.44 aA

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

Note: Data in a column followed by the different small letters are significant differences at $P_{0.05}$, the different capital letters are significant differences at $P_{0.01}$.

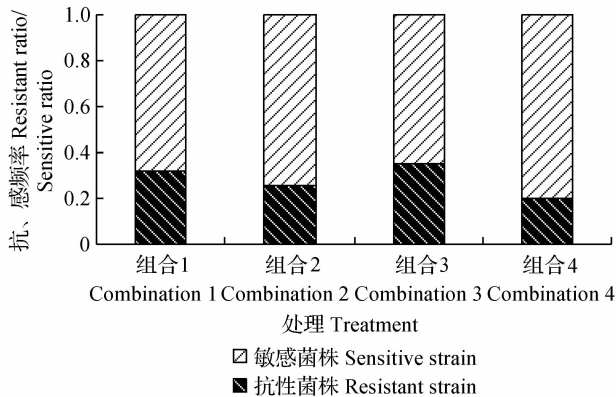


图2 番茄早疫病菌抗性突变体和敏感菌株孢子的竞争能力比较

Fig. 2 Competition ability of the spore of *A. solani* between strains that resistant and sensitive to iprodione

3 讨论

建立敏感基线是进行抗药性鉴别和监测的基础。本研究以采自山西省五寨县未使用过二甲酰亚胺类杀菌剂的42株番茄早疫病菌菌株对异菌脲的平均 EC_{50} 值($2.556 \mu\text{g}/\text{mL}$)作为其敏感基线。由于异菌脲在生产上已使用多年,采集标准野生敏感菌株很难,因此本研究建立的敏感基线严格意义上应该称之为“相对敏感基线”。尽管如此,该敏感

基线仍具有重要的参考价值:所采用的菌株均来自敏感群体,且使用42个菌株建立敏感基线,菌株数 ≥ 30 ,符合统计学对样本容量的要求,从而保证了该敏感基线的可靠性。

通过室内紫外诱导和药剂驯化的方法获得了番茄早疫病菌对异菌脲的抗性突变体。该突变体抗性稳定,经离体继代培养10次依然能保持较高水平的抗性。在不施药的情况下,突变体孢子萌发率和产孢量与敏感菌株无明显差异,可以推断病菌一旦产生抗药性后存活概率较大,利于形成异菌脲抗性群体。多数研究者认为,抗药性菌株的自然适合度低、竞争力弱^[20],无药条件下抗性菌株的致病力明显低于敏感菌株^[21-22]。本试验结果则表明,突变体在生长速率和致病力方面虽然较原始敏感菌株有所下降,但在药剂存在的情况下生长旺盛。由此可以推断,番茄早疫病菌对异菌脲产生抗药性后,在药剂选择压下,抗性菌株较敏感菌株存活概率大,这对于形成异菌脲抗性群体也是有利的。

实际生产中抗药性能否产生还与病原菌抗性突变体的竞争能力有关。田间多种原因均可导致抗性突变体的产生,如果突变体生命力弱,不能与敏感菌株在田间进行竞争,则不能在田间形成优势亚群体,抗性问题就不易出现^[23]。本研究中,以异菌脲抗性突变体和敏感菌株分生孢子组合接种,在无药情况下培养,所形成病斑的数量是敏感菌株高于抗性突变体,说明突变体较敏感菌株的竞争力弱,在选择压力降低的情况下,番茄早疫病菌对异菌脲的抗性有可能丧失。

上述结果表明,番茄早疫病菌在药剂选择压力存在的条件下容易对异菌脲产生抗药性,但抗性菌株适合度低,竞争力弱。因此,在田间通过轮换使用不同作用机制的药剂,使得番茄早疫病菌对异菌脲始终保持在低抗性频率阶段,就能在很大程度上避免或延缓该菌抗药性的产生。在农业生产中,针对高效药剂建立敏感基线并加强田间抗性监测,根据突变体环境适应性及出现频率制定科学的用药策略,对于延长农药的使用寿命,减少损失是非常必要的。

参考文献:

- [1] ZHU Sheng-jie (朱圣杰), ZHAO Ya-lan (赵亚兰), REN Su-ying (任素樱). 番茄早疫病的综合防治[J]. *Inner Mongolia Agric Sci Techn* (内蒙古农业科技), 2009, 37(1): 123-124.
- [2] YANG Qian (杨谦). *Molecular Biology of Plant Pathogen*

- Resistance(植物病原菌抗药性分子生物学)[M]. Beijing(北京):Science Press(科学出版社),2003:62-63.
- [3] QI Zhi-qiu(祁之秋), WANG Jian-xin(王建新), CHEN Chang-ju(陈长军), *et al.* 现代杀菌剂抗性研究进展[J]. *Agrochemicals(农药)*,2006,45(10):655-659.
- [4] LIU Bo(刘波), YE Zhong-yin(叶钟音), LIU Jing-fen(刘经芬), *et al.* 速克灵抗灰霉病菌株性质的研究[J]. *Acta Phytomycol Sinica(植物保护学报)*, 1992, 19(4):297-302.
- [5] FRAILE A, ALONSO A, SAGASTA E M. Some characteristics of *Botrytis cinerea* isolates tolerant to procymidone[J]. *Plant Pathol*,1986,35(2):82-85.
- [6] Ji Zhao-lin(纪兆林), TONG Yun-hui(童蕴慧), ZHANG Jian-jun(张建军), *et al.* 灰葡萄孢对速克灵抗性的研究[J]. *J Yangzhou Univ: Agric Life Sci Ed(扬州大学学报:农业与生命科学版)*,2003,24(3):60-63.
- [7] POTT G B, MILLER T K, BARTLETT J A, *et al.* The isolation of FOS-1 gene encoding a putative two-component histidine kinase from *Aspergillus fumigatus*[J]. *Fungal Genet Biol*,2000,31(1):55-67.
- [8] IACOMI-VASILESCU B, AUENOT H, VATAILLE-SIMONEAU N, *et al.* *In vitro* fungicide sensitivity of *Alternaria* species pathogenic to crucifers and identification of *Alternaria brassicola* field isolates highly resistant to both dicarboximides and phenylpyrroles[J]. *Crop Prot*,2004,23(6):481-488.
- [9] KATAN K. Resistance to 3,5-dichloro phenyl-*N*-cyclicimide (dicarboximide) fungicides in the grey mould pathogen *Botrytis cinerea* on protected crops[J]. *Plant Pathol*, 1982, 31(3):133-141.
- [10] LOCKER T, FLETCHER J T. Incidence of benomyl and iprodione resistance of *Botrytis cinerea* in tomato crops in England and Wales[J]. *Plant Pathol*,1986,37(4):381-384.
- [11] DING Zhong(丁中), LIU Feng(刘峰), WANG Hui-li(王会利), *et al.* 番茄灰霉菌的多重抗药性研究[J]. *J Shandong Agric Univ(山东农业大学学报)*,2001,32(4):452-456.
- [12] FANG Zhong-da(方中达). Research Methods of Plant Pathology(植病研究法)[M]. Beijing(北京):China Agriculture Press(中国农业出版社),1998:124.
- [13] Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences(中国科学院微生物研究所). Microorganism Mutation Breeding(微生物诱变育种)[M]. Beijing(北京):Science Press(科学出版社),1973:39.
- [14] ZHANG Yu-jun(张宇君), LI Jun(李俊), ZHAO Wei(赵伟), *et al.* 水稻白叶枯病对拌种灵抗药性分子机制研究[J]. *Scientia Agricultura Sinica(中国农业科学)*, 2005, 35(1):64-69.
- [15] Ji Ming-shan(纪明山), CHENG Gen-wu(程根武), ZHANG Yi-xian(张益先). 灰霉病菌对多菌灵和乙霉威抗性研究[J]. *J Shenyang Agric Univ(沈阳农业大学学报)*, 1998, 29(3):213-216.
- [16] GORGOLOUS S G, DEKKER J. Detection and measurement of fungicide resistance general principles[J]. *FAO Pl Prot Bull*, 1982, 30(2):39-42.
- [17] CHEN Xin-jian(陈新建), YE Zhong-yin(叶钟音). 芦笋茎枯病菌对甲基托布津的抗药性初步研究[J]. *J Nanjing Agric Univ(南京农业大学学报)*, 1999, 22(1):25-31.
- [18] Ji Zhao-lin(纪兆林), ZHANG Jian-jun(张建军), XU Jing-you(徐敬友), *et al.* 抗腐霉利的灰葡萄孢菌株特性及其竞争能力[J]. *J Yangzhou Univ(扬州大学学报)*, 2007, 28(2):65-68.
- [19] SCHEPERS H T A M. Fitness of isolates of *sphaerotheca fuliginea* resistant or sensitive to fungicides which inhibit ergosterol biosynthesis[J]. *Netherlands J Plant Pathol*, 1985, 91(2):65-76.
- [20] HISADA Y. Fitness of procymidone-resistant *Botrytis cinerea* strains developed *in vitro*[J]. *Netherlands J Plant Pathol*, 1981, 87(3):243-244.
- [21] MORGEN W M. The effect of night temperature and glasshouse ventilation on the incidence of in a late-planted tomato crop[J]. *Crop Prot*, 1984, 3(3):243-251.
- [22] LIU Bo(刘波), MIAO Rong(苗蓉), LIU Jing-fen(刘经芬), *et al.* 灰霉病菌对二甲酰亚胺类药剂的田间抗药性检测[J]. *J Laiyang Agric College(莱阳农学院学报)*, 1997, 14(1):47-51.
- [23] WANG Mei-qin(王美琴), LIU Hui-ping(刘慧平), HAN Ju-cai(韩巨才), *et al.* 番茄叶霉病菌对多菌灵抗药性的诱导及抗性菌株特性研究[J]. *Plant Prot(植物保护)*, 2004, 30(5):55-59.

(责任编辑:唐 静)