

抗咯菌腈禾谷镰刀菌的紫外诱导及其生物学特性

贾 娇, 苏前富, 孟玲敏, 张 伟, 李 红, 刘婉丽, 晋齐鸣*

(吉林省农业科学院植物保护研究所, 公主岭 136100)

摘要 为评估玉米茎腐病病原菌禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)对咯菌腈的室内抗药性风险,本研究通过室内紫外照射获得抗咯菌腈突变体,分析抗性突变体对咯菌腈的抗药性、遗传稳定性和生物学特性,及其对咯菌腈、戊唑醇、苯醚甲环唑、啉菌酯的交互抗性。结果表明,经紫外照射 5 min,获得 17 株抗咯菌腈突变体,其对咯菌腈的 EC_{50} 为 72.78~290.09 $\mu\text{g}/\text{mL}$,是亲本菌株的 4 000~17 000 倍;抗性突变频率为 1.7×10^{-6} ,可稳定遗传;最适生长温度均为 25 $^{\circ}\text{C}$,最适 pH 均为 8,与亲本菌株相同;菌落生长速度低于亲本菌株;在含有 0.9 mmol/L NaCl 的 PDA 培养基中培养的菌落形态与不含 NaCl 的 PDA 培养基中的相比,亲本菌株和 4 号抗性菌株色素沉积减少,而 1 号和 16 号抗性菌株色素沉积增加。推测禾谷镰刀菌对咯菌腈存在中等或高等的室内抗药性风险。室内抗药性测定表明抗性突变体对咯菌腈和苯醚甲环唑均产生了抗性。

关键词 咯菌腈; 禾谷镰刀菌; 交互抗性

中图分类号: S 481.4 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2016.04.006

Ultraviolet induction and characteristics of *Fusarium graminearum* resistant to fludioxonil

Jia Jiao, Su Qianfu, Meng Lingmin, Zhang Wei, Li Hong, Liu Wanli, Jin Qiming

(Institute of Plant Protection, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China)

Abstract To assess the resistance risk of *Fusarium graminearum* to fludioxonil in the laboratory, 17 UV-induced mutants resistant to fludioxonil were obtained. The resistance, stability and biological characteristics of the mutants were studied. Cross-resistance of the mutants to fludioxonil, tebuconazole, difenoconazole and azoxystrobin was tested. The results showed that EC_{50} values of the mutants to fludioxonil ranged from 72.78 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 290.09 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and the ratio of EC_{50} values of mutants resistant to fludioxonil, compared with that of its parental strains, was 4 000—17 000 times. The frequency of resistance mutation was 1.7×10^{-6} and the resistance obtained was stable. The optimum temperature for the colony growth was 25 $^{\circ}\text{C}$, and the optimum pH value was 8 for both resistant isolates and their parental strains. The growth rates of resistant mutants were lower than those of their parental strains. The pigment of parental strains and resistant isolate 4 in PDA containing 0.9 mmol/L NaCl was lower than that in PDA without NaCl, but the pigment of resistant isolates 1 and 16 was higher. Fludioxonil-resistant isolates of *F. graminearum* showed moderate or high risk and have developed resistance to azoxystrobin.

Key words fludioxonil; *Fusarium graminearum*; cross-resistance

玉米茎腐病(corn stalk rot)是世界玉米产区普遍发生的一种土传病害,一般年份发病率为 10%~30%,严重年份发病率达到 80%。它不仅造成玉米早衰、茎秆倒伏,而且其病原菌产生的真菌毒素危害人畜健康,是玉米生产上亟待研究解决的重要问题^[1-2]。该病害病原较为复杂,主要由镰刀菌(*Fu-*

sarium spp.)、腐霉(*Pythium* spp.)和赤霉(*Gibberella* spp.)等多种病菌单一或复合侵染发生^[3]。晋齐鸣、白金凯等的研究结果认为禾谷镰刀菌是我国东北春玉米区造成该病害发生的主要致病菌^[4-5]。有研究报道苯基吡咯类杀菌剂咯菌腈(fludioxonil)对禾谷镰刀菌具有较好的抑制作用^[6]。袁虹霞等^[7]

收稿日期: 2015-08-11 修订日期: 2015-10-23

基金项目: 国家现代农业(玉米)产业技术体系(CARS-02); 吉林省科技厅青年科技基金(20140520158JH)

* 通信作者 E-mail: qiming1956@163.com

的研究表明,咯菌腈对花生茎腐病病原具有很高的杀菌活性;郭宁等^[8]研究发现用咯菌腈做种衣剂防治玉米茎腐病也具有一定的作用;郝俊杰等^[9]报道咯菌腈处理玉米种子可较好地抑制禾谷镰刀菌的侵染。咯菌腈是先正达公司开发的一种非内吸性杀菌剂,对子囊菌、半知菌和担子菌具有很好的防效^[10],已作为农作物的拌种剂广泛使用。已有研究报道禾谷镰刀菌对戊唑醇、多菌灵和氰烯菌酯等化学药剂的抗药性具有中或高等风险^[11-13],但有关禾谷镰刀菌对咯菌腈的抗药性风险目前未见报道。因此,本研究通过室内紫外诱导获得禾谷镰刀菌抗咯菌腈的突变菌株,研究抗性突变菌株的生物学特性及其对其他化学药剂的抗性,为明确禾谷镰刀菌对该药剂产生的潜在抗药性风险及应用该药剂防治玉米茎腐病提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

供试菌株:禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)菌株来自吉林省农业科学院植物保护研究所病虫害综合防治研究室。

供试药剂:95%咯菌腈原药,杭州宇龙化工有限公司;甲醇,北京化工厂;10%苯醚甲环唑水分散颗粒剂,先正达中国投资有限公司;60 g/L 戊唑醇种子处理悬浮剂,拜尔作物科学有限公司;250 g/L 啞菌酯悬浮剂,河北威远生物化工股份有限公司。上述化学杀菌剂中制剂用灭菌蒸馏水、原药用甲醇分别溶解配制。

仪器:恒温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;8 W 紫外灯。

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA);马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g,加蒸馏水至 1 000 mL;CMC 培养基:羧甲基纤维素钠 15 g、硝酸铵 1 g、磷酸二氢钾 1 g、七水硫酸镁 0.5 g、酵母提取物 1 g、琼脂粉 15 g,加蒸馏水至 1 000 mL;SNA 培养基:磷酸二氢钾 1 g、硝酸钾 1 g、七水硫酸镁 0.5 g、氯化钾 0.5 g、葡萄糖 0.2 g、蔗糖 0.2 g,加蒸馏水至 1 000 mL;水琼脂培养基为 2%的琼脂培养基。所有培养基均经 121℃ 高压灭菌 20 min。

1.2 方法

1.2.1 咯菌腈对禾谷镰刀菌的毒力测定

采用菌丝生长速率法测定咯菌腈对禾谷镰刀菌

菌丝生长的抑制作用,咯菌腈的浓度设置为:0、3、1、0.5、0.125 和 0.062 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在禾谷镰刀菌菌落边缘打取直径为 5 mm 的菌盘,接种在含有咯菌腈的 PDA 培养基中央,以添加相应量甲醇为对照,25℃ 黑暗培养 5 d,十字交叉法测量菌落直径,每个处理重复 3 皿,试验重复 2 次。

1.2.2 禾谷镰刀菌抗咯菌腈突变体的紫外诱导

将禾谷镰刀菌接种在 CMC 培养基上,培养 7 d,待其大量产生分生孢子,将培养皿盖打开,放置在距离 8W 紫外灯 20 cm 处照射 5 min,经双层纱布过滤制备成 1×10^7 个/mL 的分生孢子悬浮液,取 200 μL 均匀涂布于含有 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 咯菌腈的培养基上,25℃ 黑暗培养 2 d,将萌发的抗性菌株在不含咯菌腈的 PDA 培养基上连续培养 5 代,并测定含有 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 咯菌腈的培养基上生长速度较快的突变体(同 1.2.1 方法)对咯菌腈的敏感性,计算抗性突变频率和抗性倍数。

抗性突变频率 = 抗性突变菌株数 / 涂板的分生孢子总数量;

抗性倍数 = 抗性突变体的 EC_{50} 值 / 亲本菌株的 EC_{50} 值。

1.2.3 抗性遗传稳定性测定

随机选取 5 株紫外诱变获得的抗性突变体进行测定。将 5 株抗性突变体在 PDA 培养基上继代培养 9 代,25℃ 黑暗培养 5 d,通过测量菌落直径法测定咯菌腈对抗性菌株后代的 EC_{50} ,计算其抗性倍数,并根据抗性菌株的生长速度确定其遗传稳定性。

1.2.4 抗性突变菌株的生物学特性研究

1.2.4.1 温度对抗性突变菌株的影响

选取 5 株能稳定遗传的抗性突变菌株及其亲本菌株,于 25℃ 培养 3 d,自菌落边缘打取直径 5 mm 的菌饼,接种在不含咯菌腈的 PDA 培养基上,分别于 5、15、20、25 和 32℃ 培养箱中培养 3 d,用十字交叉法测量菌落直径,每个处理重复 3 次,试验重复 2 次。

1.2.4.2 pH 对抗性突变菌株的影响

用盐酸或氢氧化钠溶液调节不含咯菌腈的 PDA 培养基的 pH 分别为 4、6、7、8 和 10,分别接种直径 5 mm 的预培养菌落边缘菌饼,于 25℃ 培养 3 d 后用十字交叉法测量菌落直径,每个处理重复 3 次,试验重复 2 次。

1.2.4.3 NaCl 对抗性突变菌株的影响

将直径 5 mm 的咯菌腈抗药突变体和亲本菌株

的菌碟接种在含 0、0.1、0.3、0.7 和 0.9 mmol/L NaCl 的 PDA 平板上, 25℃ 黑暗培养 5 d, 测量菌落直径, 观察菌落形态。

1.2.5 抗性突变体对其他药剂的敏感性测定

采用菌丝生长速率法, 分别测定出发菌株和 7 株抗咯菌腈的突变菌株对戊唑醇、苯醚甲环唑和啞菌酯的敏感性, 并利用 DPS 软件计算亲本菌株及抗性菌株对其他药剂的 EC_{50} 。

1.3 数据分析

采用 DPS 7.0 统计软件进行数据处理, 计算药剂的毒力回归方程及 EC_{50} 。

2 结果与分析

2.1 紫外诱导抗药性

研究发现咯菌腈对禾谷镰刀菌菌丝生长的抑制作用回归方程为 $y=0.946+1.087x$, EC_{50} 为 $0.016 \mu\text{g}/\text{mL}$, EC_{95} 为 $0.529 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。通过紫外线诱导获得 17 株抗性菌株, 抗药性分析发现抗性菌株对咯菌腈的抗性倍数为 4 000~17 000 倍(表 1), 当咯菌腈的浓度为 $500 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 对抗性突变菌株的抑制率为 52.2%~83.1%, 表明野生型菌株经紫外线诱导可产生对咯菌腈高抗突变菌株, 抗性突变频率为 1.7×10^{-6} 。

表 1 紫外诱变禾谷镰刀菌获得的抗咯菌腈突变体

Table 1 The resistant mutants of *Fusarium graminearum* to fludioxonil obtained by ultraviolet irradiation

菌株 Isolate	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	$EC_{50}/$ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	抗性倍数 Resistance rate	菌株 Isolate	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	$EC_{50}/$ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	抗性倍数 Resistance rate
1	$y=1.588x+1.537$	0.942	151.5	9 469	10	$y=1.544x+1.521$	0.951	179.1	11 194
2	$y=1.209x+2.700$	0.923	80.2	5 011	11	$y=1.441x+1.834$	0.941	157.6	9 849
3	$y=1.362x+2.464$	0.973	72.8	4 549	12	$y=1.388x+1.812$	0.903	198.4	12 402
4	$y=1.754x+1.217$	0.975	143.5	8 968	13	$y=1.572x+1.410$	0.908	192.2	12 014
5	$y=2.112x+0.165$	0.991	194.5	12 156	14	$y=1.219x+2.413$	0.936	132.9	8 304
6	$y=1.499x+1.970$	0.951	105.1	6 566	15	$y=1.548x+1.239$	0.980	268.8	16 802
7	$y=2.301x-0.451$	0.984	235.4	14 712	16	$y=1.576x+1.120$	0.904	290.0	18 128
8	$y=1.698x+1.243$	0.925	163.4	10 210	17	$y=1.462x+1.571$	0.896	221.9	13 868
9	$y=1.256x+2.356$	0.943	127.4	7 961					

2.2 抗性菌株的遗传稳定性

由表 2 可知, 经紫外诱导的 5 株抗性突变体在无药的 PDA 培养基上继代培养 9 代后, 第 1 代和

第 9 代的菌落生长速度无明显差异, 对咯菌腈的 EC_{50} 也无明显变化, 表明室内紫外诱导获得的抗咯菌腈突变体可稳定遗传。

表 2 抗咯菌腈突变体的抗性遗传稳定性

Table 2 Resistance hereditary stability of resistant mutants to fludioxonil

菌株 Isolate	菌落直径/mm Colony diameter		抗性倍数 Resistance rate			
	第 1 代 1st generation	第 9 代 9th generation	第 1 代 1st generation	第 1 代 1st generation	第 9 代 9th generation	第 9 代 9th generation
1	7.5	7.3	$>9 \times 10^3$		$>9 \times 10^3$	
4	7.5	7.7	$>8 \times 10^3$		$>8 \times 10^3$	
5	7.4	7.0	$>10^4$		$>10^4$	
16	6.2	6.2	$>10^4$		$>10^4$	
17	6.6	6.6	$>10^4$		$>10^4$	

2.3 抗性突变菌株的生物学特性

2.3.1 温度对抗性突变菌株的影响

由图 1 可见, 亲本菌株和抗性突变菌株在不同温度条件下培养 3 d 菌丝生长速率变化趋势一致; 最适温度均为 25℃; 在 4℃ 和 32℃ 条件下, 亲本菌株和抗性突变菌株几乎不能生长; 在相同温度下, 抗性突变菌株菌丝生长速率均慢于亲本菌株。表明抗性

突变菌株对温度的敏感性与亲本菌株相同。

2.3.2 pH 对抗性突变菌株的影响

分析不同 pH 的 PDA 培养基对亲本菌株和抗性突变菌株菌丝生长速率的影响, 结果发现, 亲本菌株和抗性突变菌株在不同 pH 的 PDA 培养基中的生长速率变化趋势是一致的; 最适 pH 均为 8; 在相同 pH 的条件下, 抗性突变菌株菌丝生长速率均小于亲

本菌株;4号突变菌株的菌丝生长速率在 pH 4 和 6 时,明显慢于亲本菌株,pH 为 7 和 8 时与亲本菌株相近(图 2)。表明抗性突变菌株对 pH 的适应性性与亲本菌株相似,4 号突变菌株对 pH 的适应性略有增强。

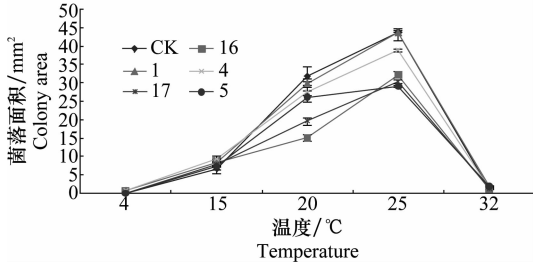


图 1 温度对亲本菌株和抗性菌株菌丝生长的影响
Fig. 1 Effects of temperature on colony area of parental isolates and resistant mutants

2.3.3 渗透压对抗性突变体的影响

试验表明,亲本菌株和抗性突变体在含有高浓度 NaCl 的 PDA 培养基中生长没有受到抑制。在

0.9 mmol/L 的 NaCl 渗透压条件下,亲本菌株和 4 号抗性突变体的菌落形态无明显变化,但 1 号和 16 号抗性突变体培养基中红色素的沉积明显增加。说明亲本菌株和对咯菌腈抗性较低的突变体在增加渗透胁迫条件下生长受到抑制,而抗性较强的突变菌株对渗透胁迫不敏感。

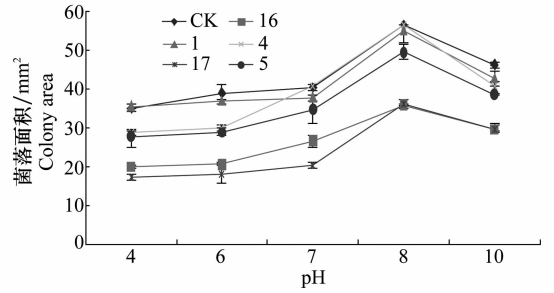


图 2 pH 对亲本菌株和抗性突变菌株菌丝生长的影响
Fig. 2 Effects of pH value on colony diameter of parental isolates and resistant mutants

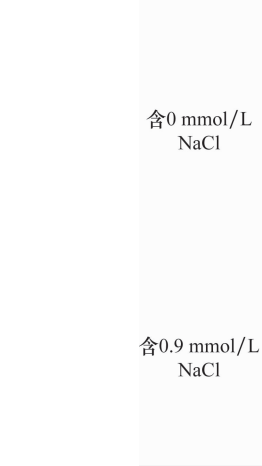


图 3 0.9 mmol/L 的 NaCl 对亲本菌株和抗性突变菌株菌丝生长的影响

Fig. 3 Effects of 0.9 mmol/L NaCl on colony diameter of parental isolates and resistant mutants

2.4 禾谷镰刀菌对其他药剂的抗药性

紫外诱变获得的 7 株抗咯菌腈突变菌株对苯醚甲环唑的抗性明显低于亲本菌株,对戊唑醇和嘧菌酯的抗性高于亲本菌株,表明紫外诱导禾谷镰刀菌突变不仅对咯菌腈抗性增强,对嘧菌酯的抗性也增强,紫外诱导禾谷镰刀菌突变可导致多重抗药性发生(表 3)。

3 讨论

咯菌腈是一种通过抑制丝裂原活化蛋白激酶/组氨酸激酶磷酸化导致病菌死亡的杀菌剂,已广泛应用于防治农业生产中的真菌病害^[14-15]。有关该药

剂的抗药性问题也有大量报道,如核盘菌抗性菌株对咯菌腈的抗药性达到敏感菌株的 2 000 倍以上,具有较高的抗性风险^[16];番茄灰霉病菌对咯菌腈的抗药性是亲本菌株的 310 倍以上,抗性风险较低^[17];马铃薯早疫病菌对咯菌腈高度敏感,但不同地区的马铃薯早疫病菌对咯菌腈的 EC₅₀ 相差 34.87 倍^[18],以上研究结果表明,不同病原菌对咯菌腈的敏感性不同,且抗性风险也不相同。本研究发现禾谷镰刀菌对咯菌腈具有高度的敏感性,EC₅₀ 仅为 0.016 μg/mL,通过紫外诱导获得 17 株突变体对咯菌腈表现了较强的抗药性,表明紫外照射可诱导禾谷镰刀菌产生对

咯菌腈抗性增强的突变体。李恒奎等^[13]研究发现紫外诱导禾谷镰刀菌产生抗氰烯菌酯的突变体, 继代培养 8 代后其抗药性可稳定遗传; 周明国等^[19]研究发现禾谷镰刀菌对多菌灵的抗性可稳定遗传。

本研究发现抗性突变体继代培养 9 代对咯菌腈的抗性水平未发生明显变化, 可稳定遗传, 推测禾谷镰刀菌若突变为抗性菌株对多种化学药剂的抗性均可稳定遗传。

表 3 禾谷镰刀菌抗咯菌腈突变体及其亲本菌株对 4 种药剂的敏感性¹⁾

Table 3 Susceptibility of fludioxonil-resistant mutants and their parental isolates of *Fusarium graminearum* to four fungicides

菌株 Isolate	EC ₅₀ /μg · mL ⁻¹			
	咯菌腈 Fludioxonil	戊唑醇 Tebuconazole	苯醚甲环唑 Difenoconazole	啞菌酯 Azoxystrobin
CK	(0.016±0.004)h	(0.361±0.102)c	(0.435±0.139)a	(0.062±0.202)g
3	(72.900±0.253)g	(0.167±0.168)d	(0.066±0.162)a	(0.126±0.043)g
7	(235.400±0.312)c	(0.565±0.091)ab	(0.229±0.175)a	(5.900±0.037)e
11	(179.100±0.277)e	(0.461±0.150)bc	(0.139±0.196)a	(3.800±0.314)f
12	(157.600±0.200)f	(0.536±0.037)ab	(0.112±0.238)a	(20.300±0.121)c
13	(198.400±0.294)d	(0.552±0.045)ab	(0.085±0.267)a	(15.200±0.267)d
15	(268.900±0.316)b	(0.498±0.014)abc	(0.068±0.325)a	(47.900±0.231)a
16	(290.000±0.324)a	(0.660±0.063)a	(0.359±0.170)a	(31.700±0.059)b

1) 表中数据为平均值±标准差。根据 Duncan's 差异显著性测定, 同列中不同字母表示抗性菌株与其亲本菌株之间差异显著 ($P < 0.05$)。Data in the table are mean±SD. Values within a column followed by different letters indicate significant variation between strains according to Duncan's test ($P < 0.05$).

然而美国分离的 112 株禾谷镰刀菌中对咯菌腈的敏感性差异非常大, 100 μg/mL 的咯菌腈对抗性菌株的抑制率小于 20%, 且抗性菌株的致病力没有减弱, 表明在美国田地中已经存在抗咯菌腈菌株^[20]。本研究经室内诱变获得了高抗咯菌腈的突变菌株, 表明禾谷镰刀菌经紫外照射后会产生对咯菌腈抗性增强的突变菌株。然而在我国田地中高抗咯菌腈的禾谷镰刀菌是否已经出现尚需要采集我国不同地区的禾谷镰刀菌进行药剂敏感性测定。

杀菌剂的大量、连续、广泛使用不仅会造成田间植物病原菌对其产生抗药性^[21], 还会导致突变菌株对其他药剂的抗性增强, 研究报道戊唑醇与百菌清复配可增加对禾谷镰刀菌的抑制效果; 戊唑醇与多菌灵复配可破坏禾谷镰刀菌抗性菌株细胞的渗透性^[22-23]。然而关于禾谷镰刀菌对多菌灵、戊唑醇和氰烯菌酯的抗性报道较多^[11, 13, 19], 对两种或多种药剂的抗性未见报道。本研究发现紫外诱导禾谷镰刀菌突变不仅对咯菌腈抗性增强, 对啞菌酯的抗性也增强, 表明紫外诱导禾谷镰刀菌突变可导致多重抗药性发生。潘以楼等研究发现草莓灰霉病菌对多菌灵、腐霉利和乙霉威等药剂产生多重抗药性^[24], 然而紫外照射导致禾谷镰刀菌多重抗药性出现的机理有待进一步研究。

参考文献

[1] 张超冲, 李锦茂. 玉米镰刀菌茎腐病发生规律及防治试验[J].

植物保护学报, 1990, 17(8): 257-261.

- [2] Wang Jianhua, Zhang Jingbo, Li Heping, et al. Molecular identification, mycotoxin production and comparative pathogenicity of *Fusarium temperatum* isolated from maize in China [J]. Journal of Phytopathology, 2014, 162(3): 147-157.
- [3] 邹庆道, 陈捷, 张子君. 玉米镰孢菌穗、茎腐病侵染循环的相互关系[J]. 植物保护学报, 2003, 30(4): 435-436.
- [4] 晋齐鸣, 潘顺法, 姜晶春, 等. 玉米茎腐病原菌致病性及侵染规律的研究[J]. 玉米科学, 1995, 3(2): 74-78.
- [5] 白金凯, 尹志, 胡吉成. 东北玉米茎腐病病原的研究[J]. 植物保护学报, 1988, 15(2): 93-98.
- [6] 张丹丹, 闵辉辉, 袁红霞, 等. 9 种化学药剂对玉米茎腐病菌的毒力测定及田间药效[J]. 河南农业科学, 2010(8): 90-92.
- [7] 袁虹霞, 李洪连, 汤丰收, 等. 药剂处理种子对花生茎腐病防治效果[J]. 植物保护, 2006, 32(2): 73-75.
- [8] 郭宁, 石洁. 不同种农剂对玉米茎腐病的防治效果[J]. 河北农业科学, 2010, 14(8): 117-118.
- [9] 郝俊杰, 刘佳中, 孙静, 等. 杀菌剂种子处理对镰孢菌侵染玉米的影响[J]. 玉米科学, 2013, 21(5): 120-126.
- [10] Schirra M, D'Aquino S, Palma A, et al. Residue level, persistence, and storage performance of citrus fruit treated with fludioxonil [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(17): 6718-6724.
- [11] 叶滔, 马志强, 王文桥, 等. 禾谷镰孢菌对戊唑醇抗药性的诱导及抗性菌株特性研究[J]. 农药学报, 2011, 13(3): 261-266.
- [12] Zhang Yanjun, Yu Junjie, Zhang Yannan, et al. Effect of carbendazim resistance on trichothecene production and aggressiveness of *Fusarium graminearum* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2009, 22(9): 1143-1150.

(下转 63 页)

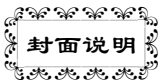
- [J]. 植物保护, 2011, 37(5): 110 - 114.
- [11] 李飞, 王相晶, 吴青君, 等. 三种药剂喷雾和灌根施药方式对西花蓟马的残留毒力[J]. 植物保护, 2013, 39(3): 173 - 177.
- [12] 王双双, 何雄奎, 宋坚利, 等. 农用喷头雾化粒径测试方法比较及分布函数拟合[J]. 农业工程学报, 2014, 30(20): 34 - 42.
- [13] Krishnan P, Evans T, Ballal K. Scanning electron microscopic studies of new and used fan nozzles for agricultural sprayers [J]. Applied Engineering in Agriculture, 2004, 20(2): 133 - 137.
- [14] 毛益进, 王秀, 马伟. 农药喷洒雾滴粒径分布数值分析方法[J]. 农业工程学报, 2009, 25(S2): 78 - 82.
- [15] 史春建, 邱白晶, 汤伯敏, 等. 基于高速图像的雾滴尺寸分布统计与运动分析[J]. 农业机械学报, 2006, 37(5): 63 - 66.
- [16] Santangelo P E. Characterization of high-pressure water-mist sprays: experimental analysis of droplet size and dispersion [J]. Experimental Thermal and Fluid Science, 2010, 34(8): 1353 - 1366.
- [17] 胡桂琴, 许林云, 周宏平, 等. 影响空心圆锥雾喷头雾滴粒径的多因素分析[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2014, 38(2): 133 - 136.
- [18] Santangelo P E. Characterization of high-pressure water-mist sprays: experimental analysis of droplet size and dispersion [J]. Experimental Thermal and Fluid Science, 2010, 34(8): 1353 - 1366.
- [19] 何雄奎. 改变我国植保机械和施药技术严重落后的现状[J]. 农业工程学报, 2004, 20(1): 13 - 15.
- [20] 洪添胜, 杨洲, 宋淑然, 等. 柑橘生产机械化研究[J]. 农业机械学报, 2010, 41(12): 105 - 110.
- [21] 代秋芳, 洪添胜, 宋淑然, 等. 基于 PSTN 和 PLMN 的果园泵房智能监控系统[J]. 农业机械学报, 2012, 43(4): 162 - 167.
- [22] 宋淑然, 阮耀灿, 洪添胜, 等. 果园管道喷雾系统药液压力的自整定模糊 PID 控制[J]. 农业工程学报, 2011, 27(6): 157 - 161.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 47 页)

- [13] 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.
- [14] 赵建江, 张小风, 马志强, 等. 番茄灰霉病菌对咯菌腈的敏感性基线及其与不同杀菌剂的交互抗性[J]. 农药, 2013, 52(9): 684 - 685.
- [15] 胡伟群, 宋会鸣, 朱卫刚, 等. 噁唑酰胺与咯菌腈复配对水稻纹枯病的增效作用及田间防效[J]. 农药, 2014, 53(9): 683 - 684.
- [16] Kuang Jing, Hou Yiping, Wang Jianxin, et al. Sensitivity of *Sclerotinia sclerotiorum* to fludioxonil: *In vitro* determination of baseline sensitivity and resistance risk [J]. Crop Protection, 2011, 30(7): 876 - 882.
- [17] 纪军建, 张小风, 王文桥. 番茄灰霉病菌对咯菌腈的抗性诱变及抗药突变体的生物学特性[J]. 农药学报, 2012, 14(5): 497 - 502.
- [18] 范子耀, 孟润杰, 韩秀英, 等. 马铃薯早疫病菌对咯菌腈的敏感性基线及其对不同药剂的交互抗性[J]. 植物保护学报, 2012, 39(2): 153 - 158.
- [19] 周明国, 王建新. 禾谷镰孢菌对多菌灵的敏感性基线及抗药性菌株生物学性质研究[J]. 植物病理学报, 2001, 31(4): 365 - 370.
- [20] Broders K D, Lipps P E, Paul P A, et al. Evaluation of *Fusarium graminearum* associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio [J]. Plant Disease, 2007, 91(9): 1155 - 1160.
- [21] 叶滔, 马志强, 毕秋艳, 等. 植物病原真菌对甾醇生物合成抑制剂类(SBIs)杀菌剂的抗药性研究进展[J]. 农药学报, 2012, 14(1): 1 - 16.
- [22] 叶滔, 马志强, 牛坊胜, 等. 戊唑醇、百菌清及其复配对禾谷镰孢菌的生物活性[J]. 农药, 2012, 51(3): 225 - 227.
- [23] 毕秋艳, 马志强, 张小风, 等. 多菌灵 / 戊唑醇复配对小麦赤霉病菌抗药性菌株的活性增效作用[J]. 植物保护, 2010, 36(2): 119 - 122.
- [24] 潘以楼, 朱桂梅, 郭建. 江苏草莓灰霉病菌对 5 种杀菌剂的抗药性[J]. 江苏农业学报, 2013, 29(2): 299 - 304.

(责任编辑: 田 喆)



桑树花叶型萎缩病

桑树花叶型萎缩病(mulberry mosaic dwarf disease, MMDD)是一种困扰桑树生产长达半个多世纪以上的重要病害,其病原长时间众说纷纭,没有定论。感病桑树植株矮小,叶片呈现黄绿相间的花叶,叶缘卷曲,叶脉上有突起等症状,严重影响桑蚕产业的发展。

中国农业科学院植物保护研究所经济作物病毒病害研究组利用高通量测序结合传统的病毒学研究方法从感病桑树样品中分离到一种双生病毒,其检出率高达 92.4%,据此推测该双生病毒与花叶型萎缩病具有极大的相关关系,因此将其命名为桑花叶型萎缩病相关病毒(Mulberry mosaic dwarf associated virus, MMDaV)。

封面照片为感病桑树(a. 鲁诱 3 号, b. 陕桑 305)的症状图,2014 年 6 月拍摄于陕西省安康市。

马宇欣,李世访

(中国农业科学院植物保护研究所,北京 100193)