

白术黑斑病菌对甲基硫菌灵和腐霉利的抗性检测及对咪鲜胺敏感性基线的建立

戴德江^{1,2}, 刘亚慧¹, 沈瑶², 张传清^{*1}

(1. 浙江农林大学 农业与食品科学学院, 浙江 临安 311300; 2. 浙江省农药检定管理总站, 杭州 310020)

摘要: 黑斑病是影响白术种植的主要病害之一, 2015—2017年从浙江省磐安、天台、新昌和嵊州4地采集、分离得到137株白术黑斑病菌 *Alternaria alternata*, 采用菌丝生长速率法检测其对甲基硫菌灵和腐霉利的抗性。结果表明: 供试的黑斑病菌群体 ($n = 137$) 对甲基硫菌灵的高水平抗性频率为77.4%, 中等水平抗性频率为22.6%, 未检测到敏感菌株; 对腐霉利的抗性频率为20.4%, 含21株低水平抗性菌株和7株中等水平抗性菌株。7种杀菌剂的室内毒力测定结果表明: 咪鲜胺对白术黑斑病菌的活性最高, EC_{50} 值为0.15 mg/L。供试的137株白术黑斑病菌对咪鲜胺的 EC_{50} 值分布在0.05~0.87 mg/L之间, 平均 EC_{50} 值为 (0.29 ± 0.11) mg/L, 可作为敏感性基线。

关键词: 白术黑斑病菌; 甲基硫菌灵; 腐霉利; 抗药性; 咪鲜胺; 敏感性基线

中图分类号: S482.2

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2018)02-0192-05

Resistance of *Alternaria alternata* to thiophanate-methyl, procymidone and its baseline sensitivity to prochloraz

DAI Dejiang^{1,2}, LIU Yahui¹, SHEN Yao², ZHANG Chuanqing^{*1}

(1. College of Agriculture and Food Science, Zhejiang Agriculture & Forestry University, Lin'an 311300, Zhejiang Province, China;

2. Station for the Control of Agrochemicals Zhejiang Province, Hangzhou 310020, China)

Abstract: Black spot, caused by *Alternaria alternata*, is one of the main diseases of *Atractylodes macrocephala* in China. In this study, resistance of 137 *A. alternata* isolates to thiophanate-methyl and procymidone was evaluated using mycelial growth rate method. The isolates were collected from Pan'an, Tiantai, Xinchang and Shengzhou in Zhejiang Province from 2015 to 2017. Results showed that the frequency of *A. alternata* population ($n = 137$) with high-level and medium-level resistance to thiophanate-methyl was 77.4% and 22.6%, respectively, and no sensitive isolates were observed. The resistance frequency to procymidone was 20.4%, wherein 21 isolates have low-level resistance and 7 isolates have medium resistance. Prochloraz showed the strongest activity against the mycelial growth of *A. alternata* among the 7 tested fungicides with the EC_{50} value of 0.15 mg/L. Next, the baseline sensitivity of *A. alternata* to prochloraz was established. The EC_{50} values for the tested population ($n =$

收稿日期: 2017-09-01; 录用日期: 2018-02-28.

基金项目: 浙江省“三农六方”项目; 浙江公益技术应用研究计划 (2016C32002).

作者简介: 戴德江, 男, 硕士, 高级农艺师, 主要从事农药应用与管理研究, E-mail: 13958041692@163.com; *张传清, 通信作者 (Author for correspondence), 男, 博士, 教授, 主要从事植物病害治理及杀菌剂毒理学与抗药性研究, E-mail: cqzhang@zafu.edu.cn

137) to prochloraz varied from 0.05 to 0.87 mg/L, mean value is (0.29 ± 0.11) mg/L, and their mean EC_{50} value could be used as the sensitive baseline.

Keywords: *Alternaria alternata*; thiophanate-methyl; procymidone; fungicide resistance; prochloraz; baseline sensitivity

白术 *Atractylodes macrocephala* Koidzz 又名贡术, 别名于术、浙术, 是菊科多年生草本植物, 根茎可入药, 具有健脾益气、燥湿利水、固表止汗、安胎等功效^[1]。白术是浙江地区主产的中药材, 为浙八味之一, 在全国分布广泛, 主要集中在浙江、安徽等省种植, 江苏、江西、湖南、重庆、贵州、陕西等省均有零星种植。浙江白术产量占全国的 1/2 以上, 而磐安县白术的产量占浙江全省产量的 1/2^[2]。在白术生产中有多种病害, 其中由细交链格孢 *Alternaria alternata* 引起的黑斑病发生普遍, 在白术全生育期均可发生, 重病株往往茎叶变黑枯死^[3-4]。目前生产上对白术黑斑病以化学防治为主, 常用药剂有石硫合剂、甲基硫菌灵和腐霉利等^[5-7]。由于使用时间长及使用不合理等原因, 一些杀菌剂在生产上时有反映防治效果下降甚至失效的现象^[8], 但目前尚未见有关白术黑斑病菌对常用杀菌剂抗性情况的研究报道。本研究检测了白术黑斑病菌对常用传统杀菌剂的抗性, 以期对白术黑斑病的防治及抗药性治理提供依据。

1 材料与方法

1.1 药剂

98.0% 甲基硫菌灵 (thiophanate-methyl)、98.0% 腐霉利 (procymidone)、95.0% 咪鲜胺 (prochloraz)、96.0% 丙硫菌唑 (prothioconazole)、97.5% 四氟醚唑 (tetraconazole)、96.0% 苯醚甲环唑 (difenoconazole)、97.6% 戊唑醇 (tebuconazole)、95.0% 啶酰菌胺 (boscalid) 和 96.0% 嘧菌酯 (azoxystrobin) 9 种原药由浙江农林大学植物病害防治与杀菌剂实验室保存, 均用丙酮等相应溶剂溶解, 配制成 10 000 mg/L 的母液备用。

1.2 供试菌株的采集、分离及鉴定

于 2015—2017 年间从浙江省磐安、天台、新昌和嵊州 4 地随机采集白术黑斑病病样, 进行常规组织分离。每个点采集分离 5~10 株。采样地区主要使用苯并咪唑类及二甲酰亚胺类等杀菌剂进行病害防治。分离所得 137 株黑斑病菌均保存于常规马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 斜面上。各菌株均

主要通过形态学结合真菌核糖体基因转录间隔区 (ITS) 分析进行鉴定^[9]。

1.3 白术黑斑病菌对甲基硫菌灵和腐霉利的抗性测定

采用菌丝生长速率法, 根据杀菌剂抗性行动委员会 (FRAC) 推荐的病原菌对苯并咪唑类杀菌剂测定方法, 设置区分剂量^[9-14]。甲基硫菌灵的有效剂量分别设为 0、5、50 和 100 mg/L, 以不含药剂的丙酮为对照 (CK), 每处理重复 3 次。在预培养 6 d 的各菌株同一圆周菌落上制取直径 0.5 cm 的菌碟, 将其转移至含有不同质量浓度药剂的 PDA 平板中央, 25 °C 下培养 7 d 后观察生长情况。其中: 不能在含 5 mg/L 甲基硫菌灵的 PDA 平板上生长的菌株为敏感菌株 (Thm S); 能在 5 mg/L 但不能在 50 mg/L 下生长的为低水平抗性菌株 (Thm LR); 能在 50 mg/L 但不能在 100 mg/L 下生长的为中等水平抗性菌株 (Thm MR); 能在 100 mg/L 下生长的为高水平抗性菌株 (Thm HR)。

腐霉利的有效剂量分别设为 0、5、20 和 100 mg/L, 以不含药剂的丙酮为对照 (CK), 每处理重复 3 次。根据菌株在不同剂量下的生长情况, 类似地将其确定为 Pro S、Pro LR、Pro MR 和 Pro HR^[9-11]。

1.4 供试杀菌剂离体抑菌活性的测定

随机选择 PA7、XA3 和 SA8 为供试菌株, 采用菌丝生长速率法^[15]测定其对供试药剂的敏感性。各药剂根据预试验结果设置 5~7 个处理浓度。各菌株先在 PDA 平板上培养 6 d 后, 在同一圆周上制取菌丝块 (直径 0.5 cm), 接种到含不同质量浓度供试药剂的 PDA 平板中央, 分别以不含药剂但含有相同体积有机溶剂的处理为对照 (CK), 每处理重复 3 次。25 °C 黑暗条件下培养 7 d 后测量各处理的菌落直径 (cm), 取平均值按 (1) 式计算抑制率 (%), 通过药剂质量浓度对数值 (x) 和抑制率几率值 (y) 之间的线性回归关系求出毒力回归方程和 EC_{50} 值。

$$\text{抑制率}/\% = \frac{\text{对照的菌落直径} - \text{处理的菌落直径}}{\text{对照的菌落直径} - 0.5} \times 100 \quad (1)$$

1.5 白术黑斑病菌对咪鲜胺的敏感性测定

咪鲜胺的质量浓度分别设为 0、0.05、0.1、0.2、0.4、0.8 和 1.6 mg/L。供试 137 株菌株在 PDA 平板上预培养 6 d 后，在同一圆周菌落上制取直径为 0.5 cm 的菌饼，将其转移到含有不同质量浓度药剂的平板中央及不含药剂的对照平板中央，每处理重复 4 次，于 25 °C 下黑暗培养。6 d 后测量各处理的菌落直径 (cm)，取平均值，按 (1) 式计算抑制率 (%)。利用 DPS 软件，通过药剂浓度对数值 (x) 和抑制率几率值 (y) 之间的线性回归关系，求出毒力回归方程及 EC_{50} 值。

1.6 白术黑斑病菌对咪鲜胺的敏感性分布图制作

将病原菌群体对供试药剂的敏感性 (EC_{50} 值) 从高到低分成约 10 个左右的区间，统计各区间菌

株在整个群体中出现的频率 (%)；同时以 EC_{50} 值为 X 轴，相应的频率 (%) 为 Y 轴，即得到病原菌群体对该种杀菌剂的敏感性分布图^[16]。

2 结果与分析

2.1 白术黑斑病菌对甲基硫菌灵的抗性情况

在供试的 137 株白术黑斑病菌菌株中没有检测到对甲基硫菌灵敏感 (Thm S) 和低抗 (Thm LR) 菌株，共检测到 31 株 Thm MR 和 106 株 Thm HR，频率分别为 22.6% 和 77.4%。从地区来看：在磐安的 91 株供试菌株中共检测到 75 株 Thm HR，Thm HR 频率最高 (82.4%)；其次为新昌 (78.6%)；嵊州和天台的 Thm HR 频率分别为 64.3% 和 61.1%(表 1)。

表 1 浙江省不同地区白术黑斑病菌对甲基硫菌灵的抗性水平及频率

Table 1 Resistance level and frequency of *A. alternata* isolates collected from different regions in Zhejiang Province to thiophanate-methyl

采集地 Collection region	菌株数 Number of isolates				抗性频率 Resistance frequency/%			
	敏感菌株 Thm S	低抗菌株 Thm LR	中抗菌株 Thm MR	高抗菌株 Thm HR	敏感菌株 Thm S	低抗菌株 Thm LR	中抗菌株 Thm MR	高抗菌株 Thm HR
磐安 Pan'an	0	0	16	75	0	0	17.6	82.4
天台 Tiantai	0	0	7	11	0	0	38.9	61.1
新昌 Xinchang	0	0	3	11	0	0	21.4	78.6
嵊州 Shengzhou	0	0	5	9	0	0	35.7	64.3
总计 Total	0	0	31	106	0	0	22.6	77.4

注：Thm = 甲基硫菌灵，S = 敏感，LR = 低水平抗性，MR = 中等水平抗性，HR = 高水平抗性。

Note: Thm, thiophanate-methyl; S, LR, MR, HR indicate strains that are sensitive to, moderately resistant to, and highly resistant to thiophanate-methyl, respectively.

2.2 白术黑斑病菌对腐霉利的抗性情况

白术黑斑病菌对腐霉利也产生了抗性，4 地共检测到 28 株抗性菌株，总的抗性频率为 20.4%，其中含 21 株 Pro LR 和 7 株 Pro MR，未检测到 Pro HR 菌株。从地区来看：天台、新昌、嵊州和磐安总的抗性频率分别为 44.4%、28.6%、21.4% 和 14.3%；上述 4 地分别检测到 2、0、1 和 4 株 Pro MR 菌株，频率分别为 11.1%、0%、7.1% 和 4.4%(表 2)。

2.3 7 种供试杀菌剂对白术黑斑病菌的抑菌活性

室内毒力测定结果表明：咪鲜胺对白术黑斑病菌的抑菌活性最高， EC_{50} 值为 0.15 mg/L；苯醚甲环唑和戊唑醇对其的抑菌活性也较高， EC_{50} 值分别为 0.27 mg/L 和 0.50 mg/L，而啶酰菌胺、四氟醚唑和丙硫菌唑的抑菌活性显著低于上述 3 种药

剂；啞菌酯的活性最差， EC_{50} 值为 9.4 mg/L(图 1)。

2.4 白术黑斑病菌对咪鲜胺的敏感性基线

供试 137 株白术黑斑病菌对咪鲜胺的敏感性分布见图 2，其中最高 EC_{50} 值 0.87 mg/L 是最低 EC_{50} 值 0.05 mg/L 的 17.4 倍，平均 EC_{50} 值为 (0.29 ± 0.11) mg/L。从敏感性分布图上看，供试白术黑斑病菌群体对咪鲜胺的敏感性呈连续性分布，其频率分布为近似正态的单峰曲线，因此可将其平均 EC_{50} 值 (0.29 ± 11) mg/L 作为其敏感性基线的参考值，用于监测田间抗药性的演化。

3 小结与讨论

化学防治一直是中药材植物病害防治中的主要方法，但迄今几乎未见有关中药材植物病原菌抗药性的相关研究报道^[8]。苯并咪唑类和二甲酰亚

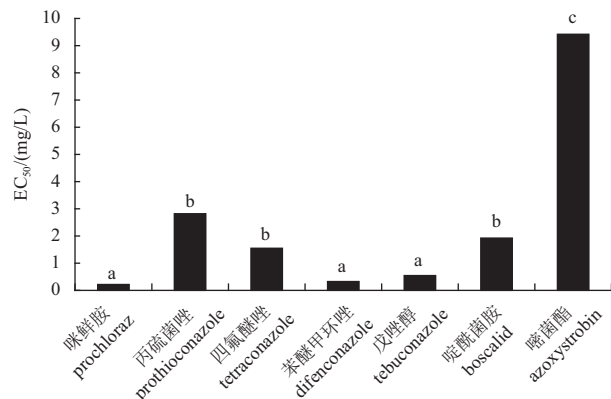
表 2 浙江省不同地区白术黑斑病菌对腐霉利的抗性水平及频率

Table 2 Resistance level and frequency of *A. alternata* isolates from different regions in Zhejiang Province to procymidone

采集地 Collection region	菌株数 Number of isolates				抗性频率 Resistance frequency/%			
	敏感 Pro S	低抗 Pro LR	中抗 Pro MR	高抗 Pro HR	敏感 Pro S	低抗 Pro LR	中抗 Pro MR	高抗 Pro HR
磐安 Pan'an	78	9	4	0	85.7	9.9	4.4	0
天台 Tiantai	10	6	2	0	55.6	33.3	11.1	0
新昌 Xinchang	10	4	0	0	71.4	28.6	0	0
嵊州 Shengzhou	11	2	1	0	78.6	14.3	7.1	0
总计 Total	109	21	7	0	79.6	15.3	5.1	0

注: Pro = 腐霉利, S = 敏感, LR = 低水平抗性, MR = 中等水平抗性, HR = 高水平抗性。

Note: Pro, procymidone; S, LR, MR, HR indicate strains that are sensitive to, moderately resistant to, and highly resistant to procymidone, respectively.



注: 柱上不同字母表示不同处理间差异显著 (Turkey 氏多重比较, $P < 0.05$)。

Note: different letters indicate significant differences among different treatments (Turkey's multiple comparison, $P < 0.05$).

图 1 7 种杀菌剂对白术黑斑病菌的抑菌活性

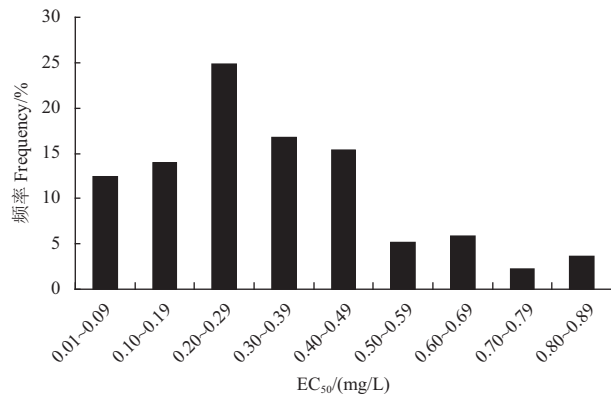
Fig. 1 Inhibitory effects of 7 fungicides against *A. alternata*

图 2 白术黑斑病菌对咪鲜胺的敏感性频率分布

Fig. 2 Distribution of sensitivity frequency of *A. alternata* to prochloraz

胺类杀菌剂是生产上白术黑斑病防治的主要药剂^[5-7]。本研究检测了白术主产省浙江省的天台、新昌、嵊州和磐安 4 地白术黑斑病菌群体 ($n = 137$) 的抗药性发生现状。结果表明, 白术黑斑病菌对甲基

硫菌灵已具有极其严重的抗性, MR 和 HR 的频率分别为 22.6% 和 77.4%。说明苯并咪唑类药剂在白术黑斑病的防治上已无实际应用价值, 应该停止使用^[13,17]。本研究只是从生产实际出发借鉴其他病菌的鉴别剂量法^[10,18]检测了白术黑斑病菌对甲基硫菌灵的抗药性。尽管苯并咪唑类杀菌剂已被推荐用于防治一些作物上的链格孢菌病害, 但实际上, 这类杀菌剂对敏感的灰霉病菌等真菌具有很好的抑菌活性, 而对链格孢菌的活性比较低^[19], 因而并不能高效地防治这类病害。白术黑斑病菌对腐霉利也产生了抗性 (其中 LR 15.3%, MR 5.1%)。从地区来看, 天台的抗性较为严重, 总的抗性频率和中等抗性频率分别为 44.4% 和 11.1%, 均明显高于新昌、嵊州和磐安, 具体原因有待进一步分析。以往研究报道对二甲酰亚胺类杀菌剂产生抗性的病菌的适合度往往会降低, 田间一般检测不到高抗菌株^[19-21]。因此, 如果能采取合理的抗药性治理措施如与其他类型的杀菌剂混用或轮用, 腐霉利等二甲酰亚胺类杀菌剂仍可作为白术黑斑病防治的骨干药剂之一。

本研究表明, 在供试的 7 种杀菌剂中, 咪鲜胺对细交链格孢菌的抑制活性最高。而啶菌酯对白术黑斑病菌菌丝生长的活性最差, 可能与测定时未添加旁路氧化酶抑制剂有关^[19,22]。咪鲜胺属于麦角甾醇生物合成抑制剂 (EBIs), 与其他类型杀菌剂无交互抗性^[23]。过去一般认为 EBIs 类杀菌剂抗药性风险较低, 但近些年也有研究表明, 部分病原菌对 EBIs 类杀菌剂的某些品种也会出现较严重的抗性^[23], 所以病原菌对咪鲜胺的敏感性变化仍需要监测^[24]。本研究结果表明, 白术黑斑病可以通过采用咪鲜胺与腐霉利等杀菌剂混用或

轮用的方式进行防治。本研究中,白术黑斑病菌群体 ($n = 137$) 对咪鲜胺的敏感性呈近似正态分布,该结果能够反映自然情况下病原菌对该杀菌剂的敏感性特征,因而其平均 EC_{50} 值 (1.21 ± 0.12) mg/L 可作为基线敏感性参考值用于其抗药性监测。

参考文献 (Reference):

- [1] 杨娥, 钟艳梅, 冯毅凡. 白术化学成分和药理作用的研究进展[J]. 广东药学院学报, 2012, 28(2): 218-221.
YANG E, ZHONG Y M, FENG Y F. Advance on the chemical constituents and pharmacological effects of *Atractylodes macrocephala* Koidz[J]. J Guangdong Pharmace Univ, 2012, 28(2): 218-221.
- [2] 谭国印, 杨志玲, 袁志林, 等. 白术真菌病害的分离鉴定[J]. 浙江农业学报, 2013, 25(5): 1050-1055.
TAN G Y, YANG Z L, YUAN Z L, et al. Isolation and identification of fungal pathogens of *Atractylodes macrocephala*[J]. Acta Agri Zhejiangensis, 2013, 25(5): 1050-1055.
- [3] 张礼维, 韦鑫, 曾桂萍, 等. 贵州省2011—2013年白术病虫害种类调查及防治措施[J]. 耕作与栽培, 2014(6): 32-34.
ZHANG L W, WEI X, ZENG G P, et al. Investigation and integrated control measure of main diseases and pests on *Atractylodes macrocephala* in Guizhou province from the year of 2011 to 2013[J]. Tillag Cultivat, 2014(6): 32-34.
- [4] 赵来顺, 杨彦杰, 马耀辉. 白术黑斑病研究初报[J]. 植物病理学报, 1990, 20(3): 178.
ZHAO L S, YANG Y J, MAO Y H. Preliminary report on the study of black spot [*Alternaria alternata* (FR.) Keissler] on *Atractylodes macrocephala* Koidz[J]. Acta Phytopathol Sin, 1990, 20(3): 178.
- [5] 潘兰兰, 郑永利, 吕先真. 白术主要病害的发生及综合治理[J]. 浙江农业科学, 2006, 1(3): 315-318.
PAN L L, ZHENG Y L, LV X Z. Occurrence of main diseases of *Atractylodes macrocephala* and comprehensive control[J]. Zhejiang Agric Sci, 2006, 1(3): 315-318.
- [6] 桑维钧, 练启仙, 宋宝安, 等. 贵州省白术真菌病害种类调查及防治[J]. 贵州农业科学, 2006, 34(3): 40-41.
SANG W J, LIAN Q X, SONG B A, et al. Investigation of kinds of fungus diseases for *Atractylodes macrocephala* Koidz and their control measures in Guizhou[J]. Guizhou Agric Sci, 2006, 34(3): 40-41.
- [7] 臧少先, 卢伟红, 王桂英, 等. 白术黑斑病的发病规律和防治[J]. 河北科技师范学院学报, 2005, 19(2): 46-49, 61.
ZANG S X, LU W H, WANG G Y, et al. Study on the occurrence and control of black spot on *Atractylodes macrocephala* Koidz[J]. J Hebei Normal Univ Sci Technol, 2005, 19(2): 46-49, 61.
- [8] 高微微, 张西梅, 田给林, 等. 探索中前行—中药材病害研究概况与思考[J]. 植物保护, 2016, 42(5): 15-23.
GAO W W, ZHANG X M, TIAN G L, et al. Plant diseases of traditional Chinese medicines: 20 years of progress in research on understanding and management[J]. Plant Protect, 2016, 42(5): 15-23.
- [9] 刘亚慧, 戴德江, 沈瑶, 等. 梨黑斑病菌抗药性检测及其对啉酰菌胺的敏感性基线[J]. 农药学学报, 2015, 17(3): 274-278.
LIU Y H, DAI D J, SHEN Y, et al. Detection of resistance of *Alternaria kikuchiana* causing pear black spot to fungicides and baseline sensitivity of *A. kikuchiana* to boscalid[J]. Chin J Pesti Sci, 2015, 17(3): 274-278.

- [10] 张传清, 张雅, 魏方林, 等. 设施蔬菜灰霉病菌对不同类型杀菌剂的抗性检测[J]. 农药学学报, 2006, 8(3): 245-249.
ZHANG C Q, ZHANG Y, WEI F L, et al. Detection of resistance of *Botryotinia fuckeliana* from protected vegetables to different classes of fungicides[J]. Chin J Pesti Sci, 2006, 8(3): 245-249.
- [11] ZHANG C Q, ZHU J W, WEI F L, et al. Sensitivity of *Botrytis cinerea* from greenhouse vegetables to DMIs and fenhexamid[J]. Phytoparasitica, 2007, 35(2): 300-313.
- [12] BARDAS G A, THOMS V, OLGA K, et al. Multiple resistance of *Botrytis cinerea* from kiwifruit to SDHIs, QoIs and fungicides of other chemical groups[J]. Pest Managem Sci, 2010, 66(9): 967-973.
- [13] STEHMANN C, DE WAARD M A. Sensitivity of populations of *Botrytis cinerea* to triazoles, benomyl and vinclozolin[J]. Eur J Plant Pathol, 1996, 102(2): 171-180.
- [14] SMITH C M, TRIVELLAS A E, JOHSON L E B, et al. Methods for monitoring the sensitivity of a range of fungal pathogens to benzimidazole fungicides[J]. Eppo Bull, 2010, 21(2): 336-341.
- [15] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1991: 1-270.
CHEN N C. Pesticide bioassay technology[M]. Beijing: Beijing Agricultural University Press, 1991: 1-270.
- [16] SMITH F D, PARKER D M, KOLLER W. Sensitivity distribution of *Venturia inaequalis* to the sterol demethylation inhibitor flusilazole: baseline sensitivity and implications for resistance monitoring[J]. Phytopathology, 1991, 81(4): 392-396.
- [17] BRENT K J, HOLLOMAN D W. Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed?[M]. FRAC Monograph No 1. 2nd ed. Brussels: FRAC, 2007.
- [18] FAB Z, YANG J H, FAN F, et al. Fitness and competitive ability of *Alternaria alternata* field isolates with resistance to SDHI, QoI, and MBC fungicides[J]. Plant Dis, 2015, 99(12): 1744-1750.
- [19] MA Z H, MICHAIDES T J. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes of phytopathogenic fungi[J]. Crop Prot, 2005, 24(10): 853-863.
- [20] GRABKE A, FERNÁNDEZ-ORTUÑO D, AMIRI A, et al. Characterization of procymidone resistance in *Botrytis cinerea* from strawberry and blackberry[J]. Phytopathology, 2014, 104(4): 396-402.
- [21] FAIRCHILD K L, MILES T D, WHARTON P S. Assessing fungicide resistance in populations of *Alternaria* in Idaho potato fields[J]. Crop Prot, 2013, 49: 31-39.
- [22] 张雅, 李红叶, 张传清, 等. 旁路氧化与设施蔬菜灰葡萄孢霉菌菌丝生长对啉酰菌胺敏感性的关系[J]. 农药学学报, 2006, 8(4): 306-312.
ZHANG Y, LI H Y, ZHANG C Q, et al. Relationship between alternative respiration and sensitivity of growth rate in *Botrytis cinerea* collected from vegetable greenhouses to azoxystrobin[J]. Chin J Pesti Sci, 2006, 8(4): 306-312.
- [23] NENAD T, MILOSAVLJEVIĆ A, STANISAVLJEVIĆ R, et al. Occurrence of *Cercospora beticola* populations resistant to benzimidazoles and demethylation-inhibiting fungicides in Serbia and their impact on disease management[J]. Crop Prot, 2015, 75: 80-87.
- [24] BRENT K J, HOLLOMAN D W. Fungicide resistance: the assessment of risk[M]. 2nd ed. FRAC Monograph No 2, Brussels: FRAC, 2007.