韭菜灰霉病菌对嘧霉胺和咯菌腈 抗性评价及抗性菌株适合度分析

张艳丽¹,陈 娟²,张艺潇¹,陈燕玲¹

(1.平凉市农产品质量安全与检验检测中心 甘肃平凉 744000; 2.甘肃省农业科学院 兰州 730000)

摘 要:为研究韭菜灰霉病菌对嘧霉胺和咯菌腈的抗性水平及抗性菌株适合度的影响,在甘肃不同区域采集并分离出 54 株韭菜灰霉病菌,采用抗药性 MIC 法(最低抑制浓度法)、菌丝生长速率法分别测定嘧霉胺和咯菌腈对灰霉病菌的最低抑制浓度及抗性菌株的敏感性,以此划分敏感菌株和抗性菌株,确定其抗性水平,分析抗性菌株的遗传稳定性及适合度。结果表明,嘧霉胺和咯菌腈对 54 株灰霉病病菌的最低抑制浓度分别为 4.80 和 0.15 µg·mL¹,抗性频率分别为 35.19%和 9.26%。灰霉病菌对嘧霉胺和咯菌腈的抗性分别表现为中抗、高抗和低抗水平;低抗菌株抗嘧霉胺特性不能稳定遗传,转代培养后有向敏感菌株发展的趋势。对嘧霉胺产生抗性的菌株,其适合度显著低于敏感菌株,在与敏感菌株的竞争中不占优势;对咯菌腈产生抗性的低抗菌株,其适合度与敏感菌株相当。

关键词:韭菜;灰霉病;嘧霉胺;咯菌腈;抗性评价;适合度

中图分类号: S633.3 文献标志码: A 文章编号: 1673-2871(2023)12-107-06

Evaluation of resistance of Chinese chive gray mold (*Botrytis cinerea*) against pyrimethanil and fludioxonil and the suitability of resistant strains

ZHANG Yanli¹, CHEN Juan², ZHANG Yixiao¹, CHEN Yanling¹

(1. Pingliang Agricultural Products Quality Safety and Inspection and Testing Center, Pingliang 744000, Gansu, China; 2. Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730000, Gansu, China)

Abstract: In order to clarify the sensitivity level of the pathogen of Chinese chiv gray mold to pyrimethanil and fludioxonil in different regions of Gansu province, fifty-four strains were collected and isolated from the disease plants in different regions. In order to divide the sensitive and resistant strains, the minimum inhibitory concentrations of pyrimethanil and fludioxonil were determined by the MIC method (minimum inhibitory concentration method). The susceptibility of resistant strains to pyrimethanil and fluxonil was determined by mycelium growth rate method, and their resistance levels to the two fungicides were also tested. The genetic stability and fitness of resistant strains were further analyzed. The minimum inhibitory concentrations of pyrimethanil and fludioxonil against fifty-four strains of *Botrytis cinerea* were 4.8, 0.15 μg·L¹, respectively. The resistance frequency was 35.19% and 9.26% respectively. The resistance of the pathogen of *B. cinerea* to pyrimethanil was medium and high, low resistance to fludioxonil. The low resistance strains against pyrimethanil can not be inherited stably. However, there was a trend towards greater sensitivity to pyrimethanil after subculture. The suitability of pyrimetrium-resistant strains was significantly lower than that of pyrimetrium sensitive strains. The pyrimetrium-resistant strains were not superior in competition with sensitive strains. The suitability of the fluroxonitrile resistant strains was similar to that of the fluroxonitrile sensitive strains.

Key words: Chinese chives; Gray mold; Pyrimethanil; Fludioxonil; Resistance evaluation; Fitness

韭菜是我国栽培区域最广泛的蔬菜之一。近年来,在韭菜种植过程中灰霉病时常发生,成为影响韭菜安全生产的重要因素之一。韭菜灰霉病是由灰葡萄孢菌(Botrytis cinerea)引起的一种病害^[1],

直接影响韭菜的产量和品质。防治韭菜灰霉病的登记农药有腐霉利、嘧霉胺和咯菌腈3种。腐霉利作为二甲酰亚胺类杀菌剂在我国有20~30年的使用历史,已表现出灰霉病菌对腐霉利的敏感性下

收稿日期: 2023-06-30; 修回日期: 2023-11-03

基金项目: 平凉市创新基地专项(018-1-05/1-7)

作者简介: 张艳丽, 女, 高级农艺师, 研究方向为农产品中农、兽药研究。 E-mail: zvanli114@163.com

通信作者: 陈燕玲, 女, 农艺师, 主要研究方向为植物营养。 E-mail: 254098395@qq.com

降四,且腐霉利在蔬菜中检出的农药残留频率最 高[3-4]。研究表明,其他蔬菜上灰霉病菌对嘧霉胺的 抗性频率已达到 43.64%[5],不同地区灰霉病菌对嘧 霉胺的抗性水平有差异,但其抗性菌株的适合度鲜 有报道。咯菌腈对灰霉病菌菌丝生长有较高的抑 制作用,在国内已有灰霉病病菌对咯菌腈产生抗性 的报道66。陈淑宁等17研究表明,在咯菌腈药剂条件下, 灰霉病菌敏感菌株可以在竞争中淘汰掉多重抗性菌 株。目前在甘肃省内还没有关于韭菜灰霉病菌对嘧 霉胺和咯菌腈抗药性的报道,且 GB 2763-2021^[8] 中还未规定嘧霉胺在韭菜中的最大残留限量值。 为此,笔者通过对甘肃省7个地州市(张掖、武威、 陇南、庆阳、平凉、兰州、白银)的韭菜灰霉病菌进行 分离及敏感性检测,并对其进行抗性评价,以期研究 抗性菌株的适合度,用于指导甘肃省境内田间韭菜 种植的科学用药和杀菌剂抗性管理。

1 材料与方法

1.1 供试材料

99.9%嘧霉胺、咯菌腈原液 1000 μg·mL¹,由北京莱铂锐科技有限公司提供。嘧霉胺、咯菌腈原液用丙酮配制成 100 μg·mL¹母液,冰箱冷藏保存。马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)^[9]用于韭菜灰霉病菌对咯菌腈的敏感性测定;L-asp 培养基^[10]用于韭菜灰霉病菌对嘧霉胺的敏感性测定。

试验于 2020 年 3-11 月在甘肃省陇中(兰州、白银),陇东(庆阳、平凉市),陇南和河西(张掖、武威市)等 7 个市的设施大棚内开展。采集韭菜灰霉病病叶,采用何烈干等□□的方法纯化分离菌株,得到54 株菌株,经形态学和分子生物学鉴定为灰葡萄孢菌(Botrytis cinerea)[12],所有菌株在 4 ℃下保存。菌株命名以"采样市州+序列号"表示。

1.2 敏感基线建立及抗性水平测定

采用抗药性鉴定 MIC 法(最低抑制浓度法),在 分离出的 54 株灰霉病菌菌落边缘打取直径 5 mm 的菌丝块,分别接种至含系列浓度的嘧霉胺和咯菌 腈的 L-asp、PDA 培养基上,每处理 3 次重复。在 25 ℃培养 12 d 后,不能或几乎不能在该培养基上 生长的药剂浓度为嘧霉胺和咯菌腈对韭菜灰霉病菌 的最低抑制浓度,以此划分敏感菌株和抗性菌株。

采用菌丝生长速率法^[11]分别测定韭菜灰霉病菌对嘧霉胺、咯菌腈的敏感性,对嘧霉胺敏感菌株浓度 (ρ) 设定分别为 0.05、0.1、0.5、1.0、2.0 $\mu g \cdot m L^{-1}$, 抗性菌株浓度设定分别为 1.0、2.0、3.0、5.0、10.0 $\mu g \cdot m L^{-1}$;

咯菌腈浓度设定分别为 0.01、0.05、0.1、0.2、0.3 μg·mL¹。 以不加药剂作为对照,将打取的菌饼(5 mm)接种于 平板培养基上,每处理 3 次重复,在 25 ℃恒温培养 6 d。采用十字交叉法测定菌落直径,利用 Graphpad prism 5.0 软件处理后得出 EC₅₀ 值。

分别选取嘧霉胺压力下 32 株和咯菌腈压力下 54 株菌株 EC₅₀ 值进行正态分布验证,以符合该正态分布所有菌株的平均 EC₅₀ 值为敏感基线,作为比较抗性有无和抗性水平高低的标准。根据抗性菌株与敏感基线 EC₅₀ 的比值确定抗性倍数^[13],1≤抗性倍数≤5 时,为低抗菌株(LR);5<抗性倍数≤10 时,为中抗菌株;抗性倍数>10 时,为高抗菌株。

1.3 抗性菌株稳定性测定

在嘧霉胺压力下,挑选菌株 PL-2(低抗)、BY-6(中抗)和 LZ-3(高抗);在咯菌腈压力下选取菌株 QY-6(低抗菌株)分别在 L-asp 和 PDA 无药培养基上连续转代培养 8 次后,分别测定第 2、4、6、8 代菌株对药剂的敏感性,比较继代前后菌株间抗药性水平(EC₅₀)差异。

1.4 抗性菌株适合度测定

1.4.1 杭/敏菌株菌丝生长速率及产孢量的测定选取菌株 ZY-3、PL-2、BY-6、LZ-3 和 PL-4、QY-6,在其菌落边缘打取直径 5 mm 菌饼,分别接种于L-asp、PDA 平板上,在 25 ℃下培养,分别测量生长12、24、48、72 和 96 h 后的菌落直径,计算菌株生长速率。将上述菌株继续培养 10 d 后,用 10 mL 无菌水冲洗孢子,尼龙纱布过滤,定容后采用血球计数板计数。每个菌株 3 次重复。

1.4.2 杭/敏菌株致病性测定 采用任璐等[14]的方法。将采集到的同叶位韭菜叶清洗消毒后,制成3 cm 的叶盘。分别配置嘧霉胺、咯菌腈最低抑制浓度溶液,将叶盘浸入药液2 min 后,晾干,以浸入无菌水为对照;将1.4.1 中制备的孢子液稀释至1×10⁴个•mL⁻¹,均匀喷洒于叶盘,放入无菌培养皿中,每皿4片,每处理3次重复,用透明坐标纸统计叶盘发病面积,按公式(1)计算发病率。

发病率/%=叶片发病面积/叶片总面积×100。

(1)

1.4.3 杭/敏菌株分生孢子竞争力测定 参照史晓晶等^[15]的方法,对嘧霉胺和咯菌腈的敏感菌株与抗性菌株孢子液按体积比 1:1 配置成不同的组合: Cp1 为 ZY-3+PL-2, Cp2 为 ZY-3+BY-6, Cp3 为 ZY-3+LZ-3, Cf4 为 PL-4+QY-6。将孢子混合液用毛笔涂抹于无菌韭菜叶片上,在 25 ℃培养, 发病后打

取 1 cm 病斑叶片悬浮于嘧霉胺、咯菌腈最低抑制浓度溶液中继续培养,记录病斑数量并观察病斑是否扩大,每个处理检测病斑数 50 个。按公式(2)计算抗性突变体频率。

抗性突变体频率/%=病斑扩大数量/病斑总数量×100。 (2)

1.5 数据处理

采用 Microsoft Office 2010 进行数据的整理与表格绘制;采用 Graphpad prism 5.0 软件进行数据处理和分析,数值采用"平均数±标准差"表示。

2 结果与分析

2.1 敏感基线建立及抗性水平测定

所测嘧霉胺、咯菌腈最低抑制浓度(MIC)分别为 4.80、0.15 μg·mL⁻¹。54 株菌株对嘧霉胺和咯菌

腈的 EC_{50} 值变化范围分别为 $0.280\sim6.280$ μg·mL·、 0.019 2 \sim 0.146 0 μg·mL·1。 采用 Graphpad prism 5.0 软件通过 KS normailty 验证,其中 32 株菌株对嘧霉胺和 54 株菌株对咯菌腈敏感性(EC_{50})均符合正态分布(p>0.01)(图 1),因此可将这 32 株灰霉病菌株对嘧霉胺的平均 EC_{50} 值(0.407 7 ±0.401 7)和 54 株灰霉病菌株对咯菌腈的平均 EC_{50} 值(0.085 9 ±0.312 1)作为敏感基线。

由表 1 可知,采集的 54 株韭菜灰霉病菌株,有 19 株对嘧霉胺产生抗性,抗性频率为 35.2%。各地区均已出现不同抗性的菌株,高抗菌株出现在陇中(兰州、白银)和河西(武威)地区,陇南地区抗性菌株均为低抗菌株。54 株灰霉病菌中仅有 5 株对咯菌腈产生抗性,均为低抗菌株,抗性频率为 9.3% (表 2)。

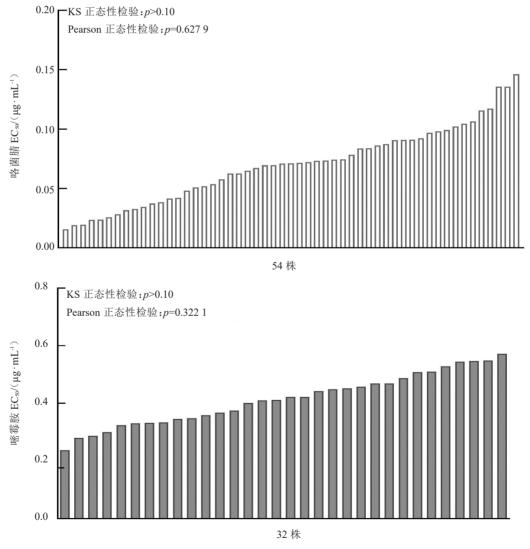


图 1 甘肃韭菜灰霉病菌对嘧霉胺和咯菌腈的敏感性

Fig. 1 Sensitivity to pyrimethanil and fludioxonil of Chinese chive gray mold in Gansu province

表 1 甘肃各地韭菜灰霉病菌抗嘧霉胺分布

Table 1 Distribution of pyrimethanil in chinese chiv gray mold in Gansu province

采集 地点	菌株 数	敏感菌 株数	低抗菌 株数	中抗菌 株数	高抗菌 株数	抗性频 率/%
兰州	9	6	0	1	2	33.30
白银	8	3	2	2	1	62.50
张掖	6	4	0	2	0	33.30
武威	7	6	0	0	1	14.28
陇南	10	7	3	0	0	30.00
庆阳	6	3	1	2	0	50.00
平凉	8	6	2	0	0	25.00
合计/平:	均 54	35	8	7	4	35.20

2.2 抗性菌株遗传稳定性

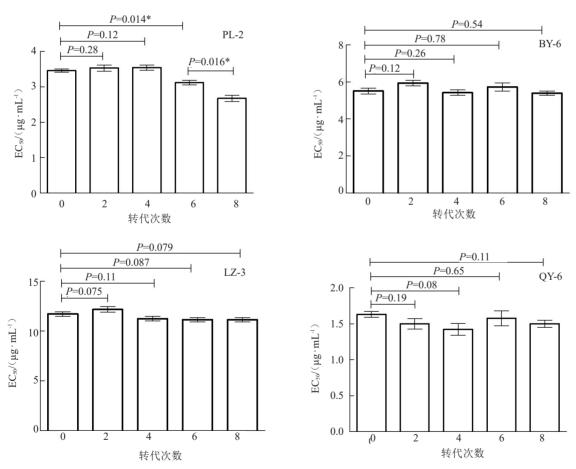
对嘧霉胺和咯菌腈的不同抗性菌株在连续转 接8代后,各EC50值通过Graphpad Prism 5.0系统 t 检测分析(图 2)。在嘧霉胺压力下,菌株 BY-6 和

表 2 甘肃各地韭菜灰霉病菌抗咯菌腈分布

Table 2 Distribution of fludioxonil in chinese chiv gray mold in Gansu province

			- · · · · · I			
采集 地点	菌株 数	敏感菌 株数	低抗菌 株数	中抗菌 株数	高抗菌 株数	抗性频 率/%
兰州	9	8	1	0	0	11.1
白银	8	7	1	0	0	12.5
张掖	6	4	2	0	0	33.3
武威	7	7	0	0	0	0.0
陇南	10	10	0	0	0	0.0
庆阳	6	5	1	0	0	16.7
平凉	8	8	0	0	0	0.0
合计/平均	54	49	5	0	0	9.3

LZ-3 转代后的 EC。与转代前相比差异不显著: 菌 株 PL-2 转接第 6 代的 ECso 与转代前比较差异显 著,且第8代与第6代差异显著。在咯菌腈压力 下,菌株 QY-6 转代前后的 EC50 无显著差异。



注:P 为样本在实际总体中出现的概率,*表示不同转代次数在 0.05 水平差异显著。

图 2 韭菜灰霉病菌对嘧霉胺及咯菌腈抗性遗传稳定性

Fig. 2 Genetic stability of resistance to pyrimethanil and fludioxonil in Chinese chive gray mold

2.3 抗性菌株适合度测定

抗/敏菌株菌丝生长速率及产孢量的测定 由表 3 可见,对嘧霉胺敏感性而言,不同菌株的菌

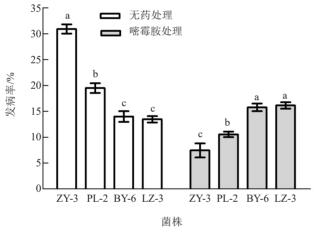
丝生长速率有所差异,敏感菌株 ZY-3 的生长速率 最快, 抗性菌株 PL-2 和 BY-6 的生长速率显著高于 LZ-3;在产孢量方面,LZ-3 和 BY-6 间无显著性差 异,但 LZ-3 显著高于 ZY-3 和 PL-2,BY-6 显著高于 ZY-3。对咯菌腈敏感性而言,敏感菌株 PL-4 和抗性菌株 QY-6 的生长速率无显著差异,但产孢量 PL-4 显著高于 OY-6。

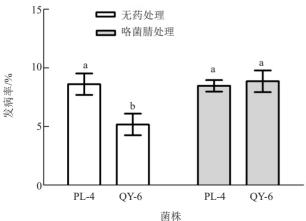
表 3 抗/敏菌株的生长速率及产孢量
Table 3 The growth rate and spore production of resistant and sensitive strains

药剂	菌株	抗性	生长速率/	产孢量/
23713	Edilik	水平	$(cm \cdot d^{-1})$	$(\times 10^{10} \uparrow \bullet mL^{-1})$
嘧霉胺	ZY-3	S	1.56±0.95 a	4.73±2.54 c
	PL-2	L	1.25±0.73 b	5.93±1.31 b
	BY-6	M	1.31±0.29 b	6.69±2.81 ab
	LZ-3	R	1.01±0.50 c	6.71 ± 0.98 a
咯菌腈	PL-4	S	1.72±0.52 a	5.37±0.41 a
	QY-6	L	1.69±1.20 a	3.55±1.56 b

注:S、L、M、R 分别表示敏感、低抗、中抗、高抗水平;同种药剂内同列数据不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。

2.3.2 杭/敏菌株致病性测定 由图 3 可知,在无密霉胺药剂处理的叶盘上,各抗性菌株的发病率均显





注:同色柱不同小写字母表示不同菌株在 0.05 水平差异显著。

图 3 抗/敏菌株发病率

Fig. 3 Pathogenic frequency of resistant and sensitive strains

著低于敏感菌株 ZY-3,菌株发病率从高到低依次为: ZY-3>PL-2>BY-6>LZ-3;在嘧霉胺处理的叶盘上,各抗性菌株发病率均显著高于敏感菌株 ZY-3,其中菌株 PL-2 发病率显著低于 BY-6 和 LZ-3。在无咯菌腈药剂处理的叶盘上,低抗菌株 QY-6 的发病率显著低于敏感菌株 PL-4,在咯菌腈处理的叶盘上两者的发病率无显著差异。

2.3.3 杭/敏菌株分生孢子竞争力测定 由图 4 可知,组合 Cp1、Cp2、Cp3 及 Cf4 中,敏感菌株侵染所致的病斑频率均高于抗性菌株,说明敏感菌株孢子竞争力强于抗性菌株。在组合 Cp1~Cp3 间,组合 Cp3 中的抗性菌株孢子竞争力最大。在组合 Cf4中,抗性菌株孢子竞争力达到了 48%,几乎与敏感菌株持平。

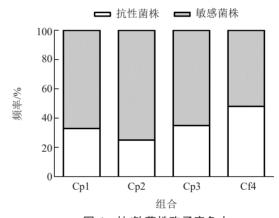


图 4 抗/敏菌株孢子竞争力

Fig. 4 Spore competitiveness between resistant and sensitive isolate

3 讨论与结论

在甘肃省境内采集分离得到的 54 株韭菜灰霉病菌,对嘧霉胺的抗性表现为中抗、高抗水平,且具有地域性特点,高抗菌株出现在陇中(兰州、白银)和河西地区(武威),陇东地区(庆阳、平凉)以中、低抗菌株为主,陇南均为低抗菌株。甘肃省境内韭菜灰霉病菌对嘧霉胺的敏感性处于下降趋势,这与贾晓华[10]、Shattock[16]、纪明山等[17]研究结果相符。嘧霉胺属于苯氨基嘧啶类杀菌剂,但是苯氨基嘧啶类杀菌剂作用靶点单一,容易产生抗药性[17],在农药压力选择下,中、高抗菌株将占据有利的选择优势,逐渐成为主导菌株,不利于韭菜灰霉病菌的防治。采集的 5 株韭菜灰霉病菌经检测对咯菌腈产生了低抗药性,与普继雄等[3]研究一致。相关研究表明,灰霉病菌对咯菌腈抗性适合度低于野生菌株,优势种群不易形成[18-19],这也可能是抗性菌株比率较低的

原因。对不同抗性菌株进行遗传稳定性分析,结果表明,转代培养8次后,低抗菌株对嘧霉胺的敏感性差异显著,有向敏感菌株转变的趋势;中、高抗菌株敏感性无显著变化,抗性水平可稳定遗传。韭菜灰霉病菌对嘧霉胺产生低抗药性初期,应加强田间菌株敏感性动态变化及抗药性监测,及时掌握其抗性水平的动态变化,适时调整用药策略,可避免抗性菌株向中、高抗性发展。对咯菌腈产生低抗药性的菌株转接8代后抗性水平可稳定遗传。

在抗性风险评价中,营养生长、繁殖能力、抗 性菌株致病性等适合度参数是评价抗性风险的 重要指标,特别是营养生长和繁殖能力,能够快 速生长繁殖就意味着适合度更高[20]。 当韭菜灰霉病 菌对嘧霉胺和咯菌腈产生抗性后,抗性菌株适合 度的群体变化会在田间有所体现。通过对适合度 研究,表明对嘧霉胺、咯菌腈产生抗性的菌株其 菌丝生长速率均低于其敏感菌株,但是产孢量却 高于敏感菌株,这与史晓晶等[15]研究结果一致。任 璐等[14]的研究表明,在相同生长环境中,抗性菌株 菌丝生长速率、产孢量、致病力等适合度指标均低 于敏感菌株,笔者的研究在产孢量方面与其不一 致。有研究表明,适合度与环境条件有密切关系[21], 这可能是因为室内培养为抗性菌株提供了充足养 分、适宜温度等条件,有利于抗性菌株孢子产生,因 此特定环境对适和度的影响还有待进一步研究。 对嘧霉胺产生抗性的菌株,环境适合度下降,特别 是中、高抗菌株,适合度显著低于低抗菌株,与敏感 菌株不具有竞争优势,在田间不易形成优势群体。 对咯菌腈产生抗性的低抗菌株致病性低于敏感菌 株,但是孢子竞争力几乎与敏感菌株保持相当水 平。这表明对咯菌腈产生抗性的低抗菌株有一定 的生存能力,有必要重视可能发展成为优势菌群的 风险。

甘肃省部分区域韭菜灰霉病菌对嘧霉胺已经产生了中、高水平抗药性,但是抗性菌株适合度指标均下降,生存能力下降,在与敏感群体生存竞争中不占优势。韭菜灰霉病菌对咯菌腈的抗性水平较低,但低抗菌株表现一定的适合度,生产中应避免单一使用该药剂,防止抗性菌株成为田间优势菌群。同时应加强田间抗性监测,根据不同区域韭菜灰霉病菌对药剂的抗性水平,科学制定防治策略以期达到缓解韭菜灰霉病菌对嘧霉胺和咯菌腈的抗药性压力,有望延长此类药剂的使用年限。

参考文献

- [1] 高皓杰,张兰云,李桐桐,等.韭菜灰霉病防治烟剂的筛选与评价[J].农药学学报,2022,24(2):315-325.
- [2] 温雅君,肖志勇,马啸,等.韭菜中农药残留状况调查与分析[J]. 食品安全质量检测学报,2020,11(13):4231-4235.
- [3] 普继雄,周宗山,王娜,等.弥勒市葡萄灰霉病菌对4种杀菌剂的抗药性检测[J].果树学报,2021,38(7):1147-1152.
- [4] 吕冰峰,刘敏,邢书霞.2018 年蔬菜国家食品安全监督抽检结果分析[J].食品安全质量检测学报,2019,10(17):5715-5721.
- [5] 余正军,刘慧平.山西省蔬菜灰霉病菌对嘧霉胺的抗性监测[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2012,32(1):9-11.
- [6] 李亚萌.北京地区番茄灰霉病病菌对咯菌腈的抗性风险评估[D].北京:北京农学院,2020.
- [7] 陈淑宁,罗朝喜,袁会珠.灰葡萄孢多重抗药性菌株的适合度和竞争力[C]//中国植物保护学会第十二次全国会员代表大会暨学术年会论文集,2017:292.
- [8] 中华人民共和国国家健康委员会,中华人民共和国农业农村部,国家市场监督管理总局.食品安全国家标准食品中农药最大残留限量:GB 2763—2021[S].北京:中国标准出版社,2021
- [9] 张江兆,徐重新,沈燕,等.腐霉利和咯菌腈混用对黄瓜灰霉病菌的联合毒力及药剂残留动态[J].农药学学报,2022,24(4):851-858.
- [10] 贾晓华.番茄灰霉病菌和油菜菌核病菌对嘧霉胺的敏感性基 线及番茄灰霉病菌抗药性研究[D].南京:南京农业大学,2004.
- [11] 何烈干,邹芬,李湘民,等.江西省番茄绵疫病菌对嘧菌酯的敏感性检测及抗性风险分析[J].农药学学报,2021,23(1):117-123.
- [12] 高玉亮,李葵花.病原真菌单孢子显微镜下分离技巧[J].植物保护,1999(6):48.
- [13] 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.
- [14] 任璐,史晓晶,姚众,等.苹果斑点落叶病菌对戊唑醇敏感基线 建立及抗性突变体适合度[J].植物病理学报,2017,47(3): 380-388.
- [15] 史晓晶,王华杰,石瑞,等.番茄早疫病菌啶菌噁唑抗性菌株的适合度[J].云南农业大学学报(自然科学),2022,37(4):553-558.
- [16] SHATTOCK R C. Studies on the inheritance of resistance to metalaxyl in *Phyophthora infestans*[J]. Plant Pathology, 1988, 37(1):4-11.
- [17] 纪明山,祁之秋,王英姿,等.番茄灰霉病菌对嘧霉胺的抗药性[J].植物保护学报,2003,30(4):396-400.
- [18] LEROUX P, FRITZ R, DEBIEU D, et al. Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*[J]. Pest Management Science, 2002, 58(9):876-888.
- [19] LIU S M, HAI F, JIANG J. Sensitivity to fludioxonil of *Botrytis cinerea* isolates from tomato in Henan province of China and characterizations of fludioxonil resistant mutants[J]. Journal of Phytopathology, 2017, 165(2):98-104.
- [20] LIU S N, SONG X L, HU Y H, et al. Fitness of hybrids between two types of transgenic rice and six *Japonica* and *Indica* weed rice acessions[J]. Crop Science, 2016, 56(5):2751-2765.
- [21] YANG X, XIA H, WANG W, et al. Transgenes for insect resistance reduce herbivory and enhance fecundity in advanced generations of crop-weed hybrids of rice[J]. Evolutionary Applications, 2011, 4(5):672-684.