上海市草莓灰霉病菌对氟吡菌酰胺敏感性检测及抗性分子机制

高 萍[1], 高士刚[1], 成 玮[2], 曾 蓉[1], 徐丽慧[1],
宋志伟[1], 张 扬[3], 戴富明[1*]

(1. 上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201403; 2. 上海市农业技术推广服务中心, 上海 201103;
3. 上海晓明检测技术服务有限公司, 上海 200335)

摘要 为明确上海地区草莓灰霉病菌 *Botrytis cinerea* 对琥珀酸脱氢酶抑制剂类(succinate dehydrogenase inhibitors, SDHIs)杀菌剂氟吡菌酰胺的敏感性水平及抗性机制,本研究采用菌丝生长速率法测定了 2019 年上海市 5 个草莓主产区的 90 个灰葡萄孢菌株对氟吡菌酰胺的抗性,并分析了菌株的琥珀酸脱氢酶(SHD)亚基序列。结果显示:敏感性频率分布基线呈一个连续单峰曲线,符合正态分布,平均 EC_{50} 为(1.68±0.91)μg/mL,氟吡菌酰胺对上海地区草莓灰霉病菌菌丝生长的 EC_{50} 最低值为 0.09 μg/mL,最高值为 75.91 μg/mL。根据新建立的抗性划分标准,发现上海奉贤区已存在抗氟吡菌酰胺的菌系,抗性频率 72.77%,抗性菌株的最高抗性倍数为 45.18,其他地区抗性频率较低,浦东新区和嘉定区分别为 25.00%和 4.76%,崇明、青浦区菌株的抗性频率均为 0。已有抗性的菌群抗性突变位点在 *Sdh* B 亚基的 N230I 位和 P225F 位这二个位点,突变后分别导致低抗、中抗菌株的产生。

关键词 草莓; 灰葡萄孢; 氟吡菌酰胺; 抗性; 琥珀酸脱氢酶

中图分类号: S 481.4 **文献标识码**: A **DOI**: 10.16688/j.zwbh.2020555

Sensitivity and resistance molecular mechanism of *Botrytis cinerea* to fluopyram in strawberry in Shanghai

GAO Ping[1], GAO Shigang[1], CHENG Wei[2], ZENG Rong[1], XU Lihui[1],
SONG Zhiwei[1], ZHANG Yang[3], DAI Fuming[1*]

(1. *Institute of Eco-Environment Protection, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai* 201403, *China*;
2. *Shanghai Agricultural Technology Extension & Service Center, Shanghai* 201103, *China*;
3. *Shanghai Xiaoming Testing Technology Services Co. Ltd., Shanghai* 200335, *China*)

Abstract In order to evaluate the sensitivity and the resistant mechanism of *Botrytis cinerea* (the causal agent of gray mold disease) in strawberry to fluopyram, a total of 90 *B. cinerea* isolates collected from five districts in Shanghai during 2019 were tested by mycelial growth inhibition method and succinate dehydrogenase subunit (SHD) sequence. The results indicated that the curve of baseline sensitivity was unimodal and approximately normal distribution with a mean of EC_{50} value of (1.68±0.91)μg/mL. The lowest EC_{50} value of mycelial growth inhibition was 0.09 μg/mL, and the highest value was 75.91 μg/mL. A new resistance classification standard was established by EC_{50} value combined with mutation site. Fluopyram-resistant *B. cinerea* was found in Fengxian district, with the resistant frequency of 72.77%, and the resistant factor (RF) of the most resistant strains was 45.18. The resistance frequency was lower in other areas, 25.00% in Pudong new area, 4.76% in Jiading district, and 0 in Chongming and Qingpu district. Resistance mechanism analysis indicated that succinate dehydrogenase subunit B (*Sdh* B) N230I mutation could lead to low resistance and P225F mutation to medium resistance.

Key words strawberry; *Botrytis cinerea*; fluopyram; resistance; succinate dehydrogenase

收稿日期: 2020-10-21 **修订日期**: 2020-12-29
基金项目: 上海市瓜果产业技术体系建设(沪农科产字(2017)第 1 号);上海市农业科学院卓越团队项目(农科创 2018(B-01))
* 通信作者 E-mail:fumingdai@163.com

由灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 引起的灰霉病是一种难以防治的世界性的重要病害，可危害观赏植物、蔬菜、水果(例如草莓)等 230 余种作物[1]。灰霉病菌可危害植物果实、叶片、茎叶和花等[2]，该菌具有寄主范围广、产孢量大、遗传变异频繁、传播能力强等特点[3]，所以非常难防治，且极易产生抗药性。草莓灰霉病主要发生在采果期，采后果实常迅速腐烂，造成非常严重的损失。

氟吡菌酰胺是由德国拜耳公司研发的一种琥珀酸脱氢酶抑制剂类(succinate dehydrogenase inhibitors，SDHIs)杀菌剂，2012 年在我国获得登记。氟吡菌酰胺具有高效、广谱和持效久等特性，常用于防治霜霉病、灰霉病、白粉病和菌核病等[4]。其通过抑制病原菌内呼吸链中琥珀酸脱氢酶活性，阻碍线粒体呼吸作用，从而抑制病原菌孢子萌发、菌丝体生长，进而控制病害发展[5]。

上海市属亚热带海洋性季风气候，极适宜草莓灰霉病的发生，国内常用的酰胺类杀菌剂有啶酰菌胺，许多地区均已出现田间自然发生的灰霉病菌对啶酰菌胺产生抗性的报道[6-8]，但关于草莓灰霉病菌对氟吡菌酰胺的抗性研究鲜有报道。因此，本研究通过氟吡菌酰胺对上海 5 个区的草莓灰霉病的抗药性检测，建立敏感性基线，研究抗性分子机制以及了解抗性分布，为未来氟吡菌酰胺的合理使用提供数据支持，为推动农药减量提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

于 2019 年 1 月—3 月，从上海市 5 个地区(崇明区、嘉定区、青浦区、奉贤区及浦东新区)的草莓生产基地，随机采集已感染发病的灰霉病病果，参考刘欣等[6]的方法进行单孢分离、鉴定和保存，来源于同一病果的病菌保留 1 株，共获得 90 株单孢灰葡萄孢菌株。将所有菌株转接至 PDA 试管斜面，编号(地点缩写＋序号)，保存于 4℃备用。

1.2 药剂、试剂与培养基

98.8%氟吡菌酰胺原药，南通泰禾化工股份有限公司提供(自制)；丙酮，国药集团化学试剂有限公司；马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)，青岛高科技工业园海博生物技术有限公司，用于菌株培养以及毒力测定；PCR Easy*Taq* Super Mix，北京全式金生物技术有限公司；琼脂糖，上海翊圣生物科技有限公司。

1.3 菌丝生长抑制试验

采用菌丝生长速率法[9]进行测定。氟吡菌酰胺原药用丙酮溶解，配成 10 000 μg/mL 的母液，设置鉴别浓度分别为 0、0.25、0.5、1、2、4、8、16、32、64 μg/mL及 128 μg/mL。将待测菌株接入 PDA 平板活化，于(25±1)℃ 黑暗培养 72 h 后，在菌落边缘打取直径为 7 mm 的菌饼，接种到上述系列浓度的含药平板中央，以加入等量丙酮平板为对照，每处理重复 3 次，(25±1)℃黑暗倒置培养 72 h 后，用十字交叉法测量菌落直径。

$$\text{抑制率}=\frac{(\text{对照菌落直径}-\text{处理菌落直径})}{(\text{对照菌落直径}-7)}\times 100\%;$$

$$\text{抗性水平(RF)}=\frac{\text{菌株 EC}_{50}}{\text{敏感基线 EC}_{50}}。$$

1.4 琥珀酸脱氢酶基因序列测定及比对

菌株菌丝 DNA 的提取采用改良的 CTAB 法[10]。根据灰葡萄孢琥珀酸脱氢酶基因(*Sdh* A，*Sdh* B，*Sdh* C 与 *Sdh* D)序列，采用刘欣等[6]的 4 对引物：SdhA-F：ATTTGGAAACGCCCTTGGAC，SdhA-R：CATTACCGAACAATCCCGCA；SdhB-F：ACCTACTCGCCCTATCCAAT，SdhB-R：AGACTTAGCAATAACCGCCC；SdhC-F：GCCAGATTTCCTTAGTCAG，SdhC-R：GCTGGACTCTGAATGTGAT；SdhD-F：AGCCAATCAAATCCGTTCCG，SdhD-R：CAAACTCCTCCCTGCCCTCT，对全部菌株的 4 条亚基编码基因进行 PCR 扩增。PCR 体系为 20 μL：包含 2× PCR Easy*Taq* Super Mix 10 μL、上下游引物各 0.5 μL(10 μmol/L)、DNA 模板 20 ng，最后用 ddH_2O 补足。PCR 程序：95℃预变性 3 min；95℃变性 20 s，55℃退火 20 s，72℃延伸 30 s，32 个循环；72℃延伸 5 min。

取 5 μL PCR 扩增产物于 2%琼脂糖凝胶进行电泳检测，凝胶成像系统对胶片进行拍照记录，有条带 PCR 产物送生工生物工程(上海)公司进行测序。

1.5 数据处理

利用 Microsoft Excel 软件计算药剂对菌丝生长的抑制率、有效抑制中浓度 EC_{50} 值；利用 SPSS 22.0 统计软件对试验数据进行分析，采用该软件描述统计模块进行 Shapiro-Wilk 法(W)法正态性检验，$P>0.05$ 则符合正态分布，反之则为非正态分布；最后根据整个测定种群的 EC_{50} 分布加以分析，绘制频率分布直方图及正态分布曲线。测序结果使用 DNA-

MAN 软件对敏感及抗性菌株的 SDH 亚基序列进行比对分析，并以 NCBI 网站（https://www.ncbi.nlm.nih.gov）数据库中相关序列作为参考。参考 GenBank 基因登记号：KR705916.1（*BcSdhA*）、KR866382.1（*BcSdhB*）、KR705923.1（*BcSdhC*）和 KR705930.1（*BcSdhD*）。

2　结果与分析

2.1　草莓灰霉病菌对氟吡菌酰胺的敏感性基线

在上海市 5 个地区，共采集并成功分离到 90 个草莓灰霉病菌菌株。敏感性测定结果显示：氟吡菌酰胺对 90 个菌株的 EC_{50} 介于 0.09～75.91 μg/mL，表明上海不同地区之间草莓灰霉病菌对氟吡菌酰胺的敏感性差异较大。经 Shapiro-Wilk 正态性检验，结果显示：EC_{50} 频次分布 $W=0.49$，$P<0.001$，呈非连续性分布（图 1），表明不同菌株对氟吡菌酰胺的敏感性出现了分化，已出现敏感性降低的亚群体甚至抗性菌株。其中，22 株菌株的 $EC_{50}\geqslant 6.54$ μg/mL，呈非连续性分布（图 1）；其余 68 株菌株的 EC_{50} 介于 0.09～4.80 μg/mL，呈连续性正态分布，其 $W=0.97$，$P=0.054>0.05$（图 2）。该 68 株菌株平均 EC_{50} 为（1.68±0.91）μg/mL，呈现一个连续单峰曲线，符合正态分布，故可作为敏感性基线参考值。

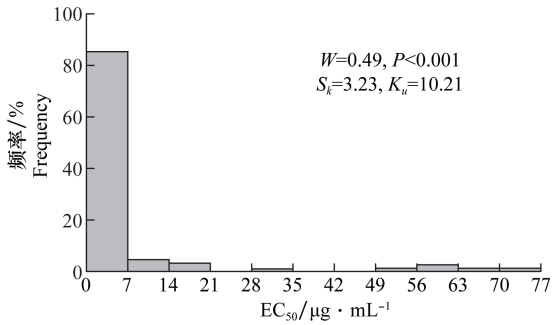


图 1　氟吡菌酰胺对供试 90 个草莓灰霉病菌菌株菌丝生长 EC_{50} 频率分布

Fig. 1　Frequency distribution of EC_{50} values of fluopyram for the mycelial growth of 90 *Botrytis cinerea* isolates

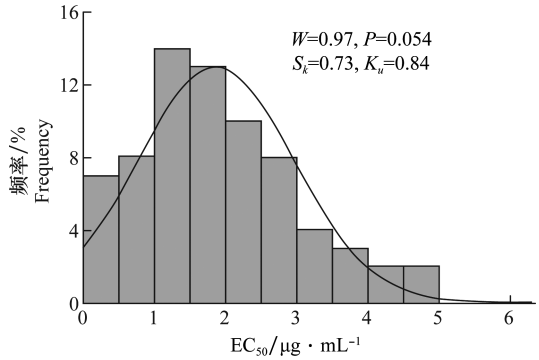


图 2　氟吡菌酰胺对 68 株草莓灰霉病菌菌株菌丝生长 EC_{50} 频率分布

Fig. 2　Frequency distribution of EC_{50} values of fluopyram for the mycelial growth of 68 *Botrytis cinerea* isolates

2.2　菌株序列对比分析

对全部 90 株菌株进行 *Sdh* A，*Sdh* B，*Sdh* C 与 *Sdh* D 基因测序。结果显示：全部菌株的 *Sdh* A、*Sdh* C 与 *Sdh* D 3 个基因均未发生突变（结果未展示）；*Sdh* B 基因：41 株菌株未发生突变，49 株菌发生突。41 株未突变的 EC_{50} 范围为 0.26～3.24 μg/mL，27 株 272 位组氨酸突变为精氨酸（CAC 突变为 CGC，H272R），菌株 EC_{50} 范围为 0.09～4.80 μg/mL，与未突变菌株的 EC_{50} 值存在交叉；14 株 230 位天冬酰胺突变为异亮氨酸（AAC 突变为 ATC，N230I），菌株 EC_{50} 范围为 6.54～16.45 μg/mL，8 株 225 位脯氨酸突变为苯丙氨酸（CCC 突变为 TTC，P225F），菌株 EC_{50} 范围为 22.98～75.91 μg/mL（表 1）。

2.3　上海地区草莓灰霉病菌对氟吡菌酰胺的抗性水平

参照表 1 的菌株突变类型、EC_{50} 和抗性水平范围，定义敏感性划分标准：RF<3 为敏感（S）；3≤RF<10 为低抗菌株（LR）；10≤RF<50 为中抗菌株（MR）；RF≥50 为高抗菌株（HG）。根据上述划分标准，灰霉病菌 *Sdh* B 亚基未发生突变和 272 位突变的菌株属于敏感菌株；230 位突变的菌株属于低抗菌株，225 位突变的菌株属于中抗菌株（表 1）。上海地区灰霉病菌菌株对氟吡菌酰胺的敏感性检测结果（表 2）

表 1　草莓灰霉病菌 Sdh B 亚基突变类型与抗性水平

Table 1　Mutation types in Sdh B subunit of 90 *Botrytis cinerea* isolates and range of resistance level

Sdh B 突变类型 Mutation type in *Sdh B*	菌株数/株 Number of strains	EC_{50} 范围/μg·mL^{-1} Range of EC_{50}	抗性倍数范围 RF range
—	41	0.26～3.24	0.15～1.93
H272R（CAC-CGC）	27	0.09～4.80	0.05～2.86
N230I（AAC-ATC）	14	6.54～16.45	3.81～9.85
P225F（CCC-TTC）	8	22.98～75.91	13.68～45.18

显示，全市抗性菌株频率 24.44%，不同地区菌株的抗性频率差异较大，奉贤区抗性菌株频率最高，为 77.27%，浦东新区和嘉定区分别为 25.00% 和 4.76%，崇明区和青浦区未检测到抗性菌株，抗性频率均为 0。不同地区菌株对氟吡菌酰胺的敏感性差异较大，奉贤区菌株出现最大 EC_{50} 为 75.91 μg/mL，而青浦区菌株出现最小 EC_{50} 为 0.09 μg/mL，两者之间相差 843 倍（表 2）。22 个抗性菌株中低抗菌株占 63.63%、中抗占 36.36%，其中抗性最高的菌株抗性倍数达 45.18（表 3）。

表 2 不同地区草莓灰霉病菌菌株对氟吡菌酰胺敏感性

Table 2 Fluopyram sensitivity of *Botrytis cinerea* collected from different regions in Shanghai

采集地 Region	菌株总数/株 Total strains	EC_{50} 范围/μg·mL^{-1} Range of EC_{50}	EC_{50} 均值/μg·mL^{-1} Average of EC_{50}	敏感菌株数/株 Number of sensitive strains	抗性菌株数/株 Number of resistant strains	抗性频率/% Resistance frequency
崇明区 Chongming	16	0.26～3.01	1.58±0.89	16	0	0.00
奉贤区 Fengxian	22	1.31～75.91	23.08±22.68	5	17	77.27
嘉定区 Jiading	21	0.48～7.06	1.79±1.40	20	1	4.76
浦东新区 Pudong new area	16	0.34～30.41	4.21±7.53	12	4	25.00
青浦区 Qingpu	15	0.09～3.24	1.73±0.86	15	0	0.00
总计 Total	90	0.09～75.91	7.41±14.94	68	22	24.44

表 3 22 个草莓灰霉病菌抗性菌株的来源和抗性水平

Table 3 Origins and resistant levels of 22 fluopyram-resistant strains of *Botrytis cinerea*

抗性菌株 Resistant strain	来源 Source	EC_{50}/μg·mL^{-1}	抗性倍数 Resistant factor	*Sdh* B 突变类型 Mutation type in *Sdh* B	抗性表现型 Resistant type
PD1-3	浦东新区	6.54	3.89	N230I (AAC-ATC)	LR
JD1-2	嘉定区	7.06	4.20	N230I (AAC-ATC)	LR
FX1-1	奉贤区	7.38	4.39	N230I (AAC-ATC)	LR
PD1-1	浦东新区	7.50	4.46	N230I (AAC-ATC)	LR
PD3-2	浦东新区	7.74	4.61	N230I (AAC-ATC)	LR
FX1-6	奉贤区	8.31	4.95	N230I (AAC-ATC)	LR
FX4-11	奉贤区	8.39	4.99	N230I (AAC-ATC)	LR
FX1-3	奉贤区	9.08	5.40	N230I (AAC-ATC)	LR
FXJS3-10	奉贤区	9.46	5.63	N230I (AAC-ATC)	LR
FXZH17-1	奉贤区	12.33	7.34	N230I (AAC-ATC)	LR
FX1-10	奉贤区	13.16	7.83	N230I (AAC-ATC)	LR
FX1-9	奉贤区	14.91	8.87	N230I (AAC-ATC)	LR
FX1-13	奉贤区	16.37	9.74	N230I (AAC-ATC)	LR
FXZH17-4	奉贤区	16.45	9.79	N230I (AAC-ATC)	LR
FX1-15	奉贤区	22.98	13.68	P225F (CCC-TTC)	MR
PD1-7	浦东新区	30.41	18.10	P225F (CCC-TTC)	MR
FX1-7	奉贤区	31.05	18.48	P225F (CCC-TTC)	MR
FX1-11	奉贤区	51.48	30.64	P225F (CCC-TTC)	MR
FX1-8	奉贤区	60.44	35.98	P225F (CCC-TTC)	MR
FX1-12	奉贤区	61.58	36.65	P225F (CCC-TTC)	MR
FX1-2	奉贤区	66.54	39.61	P225F (CCC-TTC)	MR
FX1-4	奉贤区	75.91	45.18	P225F (CCC-TTC)	MR

3 结论与讨论

本研究采用菌丝生长速率法测定了 2019 年采自上海市 5 个草莓种植基地共计 90 株灰霉病菌株对氟吡菌酰胺的敏感性，其中的 68 株菌株 EC_{50} 符合正态分布，所得曲线呈现一个连续单峰，均值为（1.68±0.91）μg/mL，与张晓柯等[4]针对江苏省草莓灰霉病菌建立的菌丝生长敏感基线（1.94±1.55）μg/mL接近，故可作为草莓灰霉病菌对氟吡菌酰胺的敏感基线参考值评估田间整体抗性情况。此外，结合菌株 EC_{50} 和基因突变位点，对已报道的[4,11]草莓灰霉病菌对氟吡菌酰胺抗药性标准（RF＜2 为

敏感;2≤RF<10 为低抗;10≤RF<50 为中抗;RF≥50 为高抗)进行了优化,新定义了更适用的草莓灰霉病菌对氟吡菌酰胺抗性划分标准(RF<3 为敏感;3≤RF<10 为低抗;10≤RF<50 为中抗;RF≥50 为高抗)。

研究表明,上海市 5 个区灰霉病菌对氟吡菌酰胺的敏感性已产生分化,全市灰霉病菌抗性菌株频率 24.44%,但是以低、中抗为主,而奉贤区抗性菌株频率已达较高水平,崇明、嘉定、浦东以及青浦草莓生产区草莓灰霉病对氟吡菌酰胺抗性频率较低,甚至为 0,变异系数较小,说明这 4 个区对氟吡菌酰胺目前还处在敏感水平,未发现敏感性下降的群体。因此,在上海奉贤地区草莓灰霉病防治,应及时调整施药方案,减少氟吡菌酰胺的用药频次,建议优先选用其他作用机制或类型的新型杀菌剂,如与咯菌腈等[2]轮换使用,并密切监测病原菌对氟吡菌酰胺的敏感性变化动态,以避免防治失败。

本研究通过对供试菌株 *SDH* 基因的核苷酸序列的对比分析,发现 *Sdh* A、*Sdh* C 与 *Sdh* D 3 个基因均未发生突变,而 *Sdh* B 亚基 272 位密码子 CAC 突变为 CGC,引起组氨酸(H)突变为精氨酸(R),但并不影响菌株的敏感性,这一结论与张晓柯等[4]报道的抗性可能主要是由 B 亚基的 272 位突变引起不一致;230 位密码子 AAC 突变为 ATC,引起天冬酰胺(N)突变为异亮氨酸(I),菌株表现为低抗;225 位密码子 CCC 突变为 TTC,引起脯氨酸(P)突变为苯丙氨酸(F),菌株表现为中抗,这一结论与 Amiri 等[11]的一致,Hu 等[12]和 Fernandez 等[13]也报道草莓灰霉病菌株 *Sdh* B 的 N230I 和 P225F 突变导致其对氟吡菌酰胺产生抗性。

琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂作用靶标为线粒体复合体Ⅱ(三羧酸循环过程中的关键复合体),通过完全或者部分占据底物泛醌的位点,抑制电子从琥珀酸传递到辅酶 Q(泛醌),干扰呼吸链上复合体Ⅱ电子传递,阻断其能量代谢,最终导致病原菌死亡[14-15]。结构包括 3 部分:酸片段(A)、胺片段(B)和酰胺键链接部分(C)(图 3),C 部分是固定基团,A 和 B 部分为活性基团[16]。啶酰菌胺和氟吡菌酰胺同为琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂,具有不同的活性基团(图 4)。许多研究发现灰霉菌 *Sdh* B 亚基的 H272R 突变可产生对啶酰菌胺的抗性[6,11,17-18],本研究发现 H272R 突变的灰霉菌株对氟吡菌酰胺仍旧敏感,两种杀菌剂对灰霉菌 *Sdh* B 亚基 H272R 突变表现出不同的生物活性。SDH 杀菌剂的抑菌活性主要取决于它们与靶标位点的对接能力和亲和力,这种亲和力受到杀菌剂化学结构的高度影响[11]。已有报道,氟吡菌酰胺的活性基团 3-氯-5-三氟甲基-2-吡啶基被 2-氯-4-三氟甲基-2-苯基取代时,导致其抗子囊菌活性显著下降,而被正交苯基取代时,抗担子菌活性增强[19]。

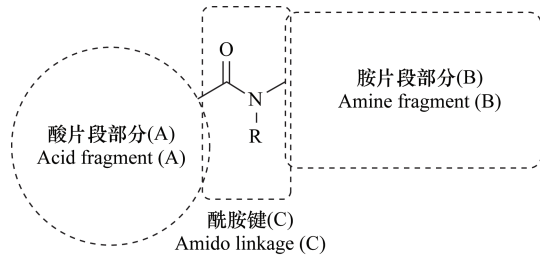


图 3　琥珀酸脱氢酶抑制剂类(SDHIs)杀菌剂的结构通式

Fig. 3　General chemical structure of succinic acid dehydrogenase inhibitors fungicide

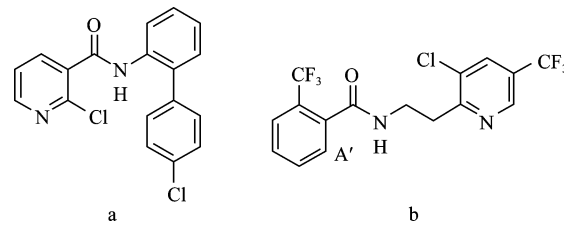


图 4　啶酰菌胺(a)与氟吡菌酰胺(b)化学结构式

Fig. 4　Chemical structural formula of boscalid (a) and fluopyram (b)

病原菌对 SDHIs 的抗性主要由琥珀酸脱氢酶复合体亚基上氨基酸突变所致,氨基酸突变,改变了药剂与药靶的亲和力,进而影响病菌的抗药性[16]。*Sdh* B 亚基 230 位点的天冬酰胺是亲水性的,异亮氨酸是高度疏水性,蛋白质疏水性的改变是否会影响琥珀酸脱氢酶的形成或氧化还原电位,从而有利于与其他氨基酸的对接形成 Q 位点(琥珀酸脱氢酶泛醌结合位点,quinone-binding sites)还有待进一步研究[11]。同样,*Sdh* B 亚基 225 位点的脯氨酸被体积较大的苯丙氨酸替代,使得 225 位点附近的空间构型发生改变,从而降低了杀菌剂结合 Q 位点的亲和性[20-21]。本研究发现 *Sdh* B 亚基 N230I 和 P225F 突变与氟吡菌酰胺抗性程度高低具有相关性,为将来草莓灰霉病菌对氟吡菌酰胺的抗性检测技术的研究奠定了

一定的理论基础。此外，由于本研究抗性菌株群体数量的局限性，上海市草莓灰霉病病菌抗氟吡菌酰胺的菌群是否还存在其他基因突变类型，以及氟吡菌酰胺与其他药剂交互抗性关联性等方面有待进一步研究。

参考文献

[1] JARVIS W R. *Botryotinia* and *Botrytis* species: taxonomy, physiology, and pathogenicity [M]. Harrow, Canada: Research Branch Canada Department of Agriculture, 1977.

[2] 陈帅民，芦帆，张璨，等. 北京地区草莓灰霉病菌对异菌脲的抗性及抗性分子机制[J]. 植物保护，2015，41(5)：100－104.

[3] ROSSLENBROICH H J, STUEBLER D. *Botrytis cinerea*—history of chemical control and novel fungicides for its management [J]. Crop Protection, 2000, 19(8/10): 557－561.

[4] 张晓柯，韩絮，马薇薇，等. 江苏省草莓灰霉病菌对氟吡菌酰胺敏感性基线的建立及抗性风险评估[J]. 南京农业大学学报，2015，38(5)：810－815.

[5] 李今朝. 滴灌施用氟吡菌酰胺防治茄子根结线虫的初步研究[D]. 南宁：广西大学，2019.

[6] 刘欣，吴雁，成玮，等. 上海地区草莓灰霉病菌对啶酰菌胺的敏感性检测及抗性机制分析[J]. 农药学学报，2018，20(4)：452－458.

[7] 冯宝珍，李培谦. 山西运城温室番茄灰葡萄孢对啶酰菌胺的抗性[J]. 西北农业学报，2019，28(8)：1351－1357.

[8] 肖婷，陈露，张建华，等. 江苏省句容市灰霉病菌对啶酰菌胺的抗药性[J]. 江苏农业学报，2018，34(1)：50－55.

[9] 中华人民共和国农业部. 农药室内生物测定试验准则 杀菌剂 第2部分：抑制病原真菌菌丝生长试验 平皿法：NY/T 1156.2—2006[S]. 北京：中国农业出版社，2006.

[10] 张颖慧，魏东盛，邢来君，等. 一种改进的丝状真菌DNA提取方法[J]. 微生物学通报，2008，35(3)：466－469.

[11] AMIRI A, HEATH S M, PERES N A. Resistance to fluopyram, fluxapyroxad, and penthiopyrad in *Botrytis cinerea* from strawberry [J]. Plant Disease, 2014, 98(4): 532－539.

[12] HU Mengjun, DOLORES F O, GUIDO S. Monitoring resistance to SDHI fungicides in *Botrytis cinerea* from strawberry fields [J]. Plant Disease, 2016, 100(5): 959－965.

[13] FERNANDEZ-ORTUNO D, PEREZ-GARCIA A, CHAMORRO M, et al. Resistance to the SDHI fungicides boscalid, fluopyram, fluxapyroxad, and penthiopyrad in *Botrytis cinerea* from commercial strawberry fields in Spain [J]. Plant Disease, 2017, 101(7): 1306－1313.

[14] 张一宾. 近年新上市或开发的新农药系列及品种[J]. 农药科学与管理，2015，36(9)：1－7.

[15] 李良孔，袁善奎，潘洪玉，等. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类(SDHIs)杀菌剂及其抗性研究进展[J]. 农药，2018，48(5)：9－13.

[16] 党铭铭，刘民华，柳爱平，等. 琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂的最新研究进展[J]. 农药，2020，59(6)：4－9.

[17] VELOUKAS T, KARAOGLANIDIS G S. Biological activity of the succinate dehydrogenase inhibitor fluopyram against *Botrytis cinerea* and fungal baseline sensitivity [J]. Pest Management Science, 2012, 68(6): 858－864.

[18] VELOUKAS T, MARKOGLOU A N, KARAOGLANIDIS G S. Differential effect of *Sdh* B gene mutations on the sensitivity to SDHI fungicides in *Botrytis cinerea* [J]. Plant Disease, 2013, 97(1): 118－122.

[19] RHEINHEIMER J, RIECK H, COQUERON P Y. Succinate dehydrogenase inhibitors [M]. Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. Weinheim, 2012: 627－687.

[20] SCALLIET G, BOEHLER M, BOWLER J, et al. SDHIs and the fungal succinate dehydrogenase. Modern fungicides and antifungal compounds VI [D]. Braunschweig: Deutsche Phytomedizinische Gesellschafte. V. Verlag, 2011: 171－178.

[21] 刘欣，曾蓉，徐丽慧，等. 草莓灰霉病菌对啶酰菌胺抗性及其Sdh B基因序列差异的分子检测[J]. 园艺学报，2019，46(11)：2155－2163.

(责任编辑：田 喆)

(上接202页)

参考文献

[1] 孙爻，邹亚飞，张礼生. 解析创新工程引领农业院所的科技跃升效应[J]. 农业科研经济管理，2020(2)：15－18.

[2] 中国植物保护学会. 植物保护学学科发展报告(2010—2011)[M]. 北京：中国科学技术出版社，2011.

[3] 邹亚飞，查静，余向阳，等. 2013—2015年国家自然科学基金对植物保护学科资助情况分析[J]. 植物保护，2016，42(2)：6－13.

[4] 中国科学技术协会. 2016—2017植物保护学学科发展报告[M]. 北京：中国科学技术出版社，2018.

[5] 季雪婧，寇远涛，张礼生. 基于文献计量学的国际生物防治研究发展态势分析[J]. 中国生物防治学报，2019，35(1)：120－126.

[6] 何晓燕，王 婧，张芳英，等. 2020年我国中文科技期刊发展盘点[J]. 中国学术期刊，2021(3)：67－77.

[7] 本报评论员. 根除“唯论文”顽疾 树立正确评价导向[N]. 科技日报，2020－02－24(4).

[8] 余和军. 杜绝为争ESI排名热捧论文 分学科推行改革或是好点子[N]. 科技日报，2019－12－06(5).

(责任编辑：田 喆)