

2 株不同地理来源的苹果树腐烂病菌对甾醇生物合成抑制剂类杀菌剂的交互抗药性及生物适合度分析

刘召阳,王 帅,高宇琪,黄丽丽*,冯 浩*

(西北农林科技大学 植物保护学院,旱区作物逆境生物学国家重点实验室,陕西 杨陵 712100)

摘 要:测定 2 株不同地理来源的苹果树腐烂病菌对甾醇生物合成抑制剂(SBIs)类杀菌剂的交互抗药性及生物适合度,为 SBIs 类杀菌剂在苹果树腐烂病的防控上提供理论依据。采用菌丝生长速率法分别测定 2 株不同地理来源的苹果树腐烂病菌对 3 种甾醇生物合成抑制剂类杀菌剂和 1 种苯并咪唑类杀菌剂的交互抗药性,通过繁殖体数量测定法、生物量测定法、离体枝条接种法测定其生物适合度。结果表明,2 株病菌(VM09 和 VM01)对 SBIs 类杀菌剂苯醚甲环唑、戊唑醇、抑霉唑的敏感性存在显著差异,苯醚甲环唑、戊唑醇、抑霉唑对 VM09 的 EC_{50} 值分别是 VM01 的 10.49、9.03、79.09 倍,表明腐烂病菌对检测药剂存在正交互抗药性;而对苯并咪唑类杀菌剂甲基硫菌灵无显著差异,不存在交互抗性。对 2 株病菌的生物适合度分析发现,其生长速率、繁殖体数量、菌丝干重以及对 NaCl 的渗透敏感性均存在显著差异,但致病力无显著差异。苹果树腐烂病菌菌株 VM09 对 SBIs 类杀菌剂存在正交互抗药性,且对 SBIs 类杀菌剂敏感性降低的菌株的生物适合度发生了明显变化,在一定程度上增加了其适生性。

关键词:苹果树腐烂病菌;抗药性;交互抗药性;生物适合度

中图分类号:S661.1 文献标志码:A 文章编号:1001-7461(2020)02-0119-06

The Cross-Resistance of Two Geographically Different *Valsa mali* Strains to SBIs Inhibitors and Their Biotic Fitness

LIU Zhao-yang, WANG Shuai, GAO Yu-qi, HUANG Li-li*, FENG Hao*

(State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: In order to provide a theoretical basis for the prevention and control of apple valsa canker by SBIs fungicides, the cross-resistance of two geographically different *Valsa mali* strains to sterol biosynthesis inhibitors and their biocompatibility were examined. The cross-resistances of the two strains to three types of sterol biosynthesis inhibitors and one benzimidazole fungicide were determined by mycelial growth rate method. The biocompatibility was determined by propagule mass measurement, biomass measurement, and *in vitro* twig inoculation. The two stains (VM09 and VM01) showed significant differences in sensitivity when they were treated with difenoconazole, tebuconazole, and imazalil. The EC_{50} values of VM09 were 10.49 t, 9.03, and 79.09 times that of VM01, respectively, indicating that *V. mali* may have positive cross-resistance to the tested agents. Howeve no significant differences were observed when they were treated by thiophanate-methyl, a kind of benzimidazole fungicides, i. e., no cross-resistance existed. The biocompatibility analysis of the two strains showed significant differences in growth rate, number of propagules, dry mass of hyphae

收稿日期:2019-05-05 修回日期:2019-08-19

基金项目:国家重点研发计划(2016YFD0201100)。

作者简介:刘召阳,男,硕士在读,研究方向:植物病理学。E-mail:liuzhaoyang@aliyun.com

* 通信作者:冯 浩,男,教授,硕士生导师,研究方向:植物病害综合治理。E-mail:xiaosong04005@163.com

黄丽丽,女,教授,硕士,博士生导师,研究方向:植物病害综合防治。E-mail:huanglili@nwsuaf.edu.cn

and osmotic sensitivity to NaCl, but there was no significant difference in pathogenicity. *V. mali* (VM09 strain) had positive cross-resistance to SBIs fungicides, and the biocompatibility of the strains with reduced sensitivity against SBIs fungicides changed significantly, lifting their biocompatibility in certain ways.

Key words: *Valsa mali*; cross-resistance; biotic fitness; sterol biosynthesis inhibitor

甾醇生物合成抑制剂类(SBIs)杀菌剂通过抑制病原真菌甾醇的自身合成,致使病原菌细胞膜功能被破坏,导致病原菌无法正常生长^[1]。因其具有持效长、残留低、内吸性强、广谱、高效等特点,被长期应用于植物真菌病害的防控。然而,随着该类杀菌剂的普遍使用,植物病原真菌对其抗药性风险逐渐提高。据报道,已有很多植物病原真菌对此类药剂产生了抗药性^[2-7]。

苹果树腐烂病是我国苹果产业中最具毁灭性的病害之一,它是由致病真菌 *Valsa mali* 侵染引起^[8-9]。长期以来,该病害的防控主要以化学防控为主,SBIs类杀菌剂(抑霉唑、戊唑醇、苯醚甲环唑)与苯并咪唑类杀菌剂(甲基硫菌灵)是主要的化学药剂^[10],抑霉唑、戊唑醇、苯醚甲环唑是一种 C-14 α -脱甲基酶抑制剂,其可与致病菌的甾醇 14 α -脱甲基酶 P450 中的血红素-铁活性中心结合,致使酶的活性受到抑制,进而阻断麦角甾醇的合成,致使细胞膜结构破坏和死亡^[11-13];苯并咪唑类杀菌剂能够特异的与菌体的 β -微管蛋白结合,干扰微管的功能,进而影响细胞的有丝分裂^[14]。为此,本研究从不同用药背景地区分离获得了 2 株苹果树腐烂病菌,分析了 2 株病菌对 SBIs 类杀菌剂与苯并咪唑类杀菌剂的交互抗药性及其生物适合度,为初步探究腐烂病菌对 SBIs 类杀菌剂的抗药性风险提供依据,并为此类杀菌剂的科学使用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 由西北农林科技大学果树病害病原生物学及综合治理研究室分离保存的苹果树腐烂病菌 (*Valsa mali*) VM01 (采自新疆野果林) 和 VM09 (采自山东果园)。将保存在 4℃ 的 2 株腐烂病菌活化在 PDA 培养基上,25℃ 培养 2 d 备用。

1.1.2 供试药剂 97.0%戊唑醇原药,江苏中旗科技股份有限公司提供;95.0%苯醚甲环唑原药,陕西西大华特科技实业有限公司提供;98.0%抑霉唑原药,安徽广信农化股份有限公司提供;97.0%甲基硫菌灵原药,安徽华星化工有限公司提供。

1.2 试验方法

1.2.1 交互抗药性测定 从 2 株腐烂病菌菌落边缘打取 $\Phi=5$ mm 的菌饼,分别将其转接到含有不同浓度梯度的 SBIs 类杀菌剂(苯醚甲环唑、戊唑醇和抑霉唑)及苯并咪唑类杀菌剂(甲基硫菌灵)的 PDA 平板上,在 25℃ 培养箱中倒置、黑暗培养 3 d 后,采用十字交叉法测量其菌落直径,并分析不同药剂浓度下的菌丝生长抑制率^[15-17]。每个浓度设置 3 个重复,试验重复 3 次。以各浓度对数值为 X 值,以相应的菌丝生长抑制率的机率值为 Y 值作回归分析,计算其 EC_{50} 值(表 1)。

菌丝生长抑制率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-菌饼直径) $\times 100\%$

1.2.2 菌落生长直径测定 从 2 株腐烂病菌菌落边缘打取 $\Phi=5$ mm 的菌饼,接种到 $\Phi=9$ cm 含 10 mL PDA 的平板上,25℃ 条件下培养,采用十字交叉法分别测量培养 12、24、36、48、60 h 的菌落直径。每个处理设置 3 个重复,试验重复 3 次。

1.2.3 菌丝干重测定 从 2 株腐烂病菌菌落边缘打取 $\Phi=5$ mm 的菌饼,在每个装有 100 mL PDB 的三角瓶中转接 5 个菌饼,置于 25℃ 震荡培养箱中、100 r/min、黑暗培养 3 d,用滤纸过滤并烘干菌丝,并称量其干重。每个处理 3 个重复,试验重复 3 次。

1.2.4 繁殖体数量测定 从 2 株腐烂病菌菌落边缘打取 $\Phi=5$ mm 的菌饼,25℃ 培养 3 d,室温见光培养 25 d 后,产生黑色凸起的繁殖体,观察并计数繁殖体数量。每个处理设置 3 个重复,试验重复 3 次。

表 1 苹果树腐烂病菌对各杀菌剂敏感性测定
Table 1 The sensitivity of to *Valsa mali* to fungicides

| 杀 菌 剂 | 浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) | |
|-------|---|---------------------------|
| | VM01 | VM09 |
| 戊唑醇 | 0.005,0.01,0.02,0.04,0.08 | 0.05,0.1,0.2,0.4,0.8 |
| 苯醚甲环唑 | 0.002,0.004,0.006,0.008,0.016,0.032 | 0.015,0.03,0.06,0.12,0.24 |
| 抑霉唑 | 0.025,0.05,0.1,0.2,0.4 | 2,4,8,16,32 |
| 甲基硫菌灵 | 40,60,80,120,240 | 40,60,80,120,240 |

1.2.5 渗透敏感性测定 从 2 株腐烂病菌菌落边缘打取 $\Phi=5\text{ mm}$ 的菌饼,分别转接在含有 0.1、0.2、0.3 mol/L NaCl 的 PDA 平板上,在 25℃ 培养 3 d,测量其菌落直径,计算含不同浓度的 NaCl 培养基对菌丝生长的抑制率。每个浓度设置 3 个重复,试验重复 3 次。对比其渗透压敏感性的差异。

菌丝生长抑制率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-菌饼直径) $\times 100\%$

1.2.6 致病力测定 采用离体枝条测定不同敏感性腐烂病菌的致病力,参考臧睿等^[18]方法。采取长势一致的 1 年生富士苹果枝条,去掉叶片,在枝条顶部剪取粗细均匀 30 cm 左右的苹果枝条,用蒸馏水洗净并用 0.6% 次氯酸钠浸泡 15 min,再用灭菌水洗涤至无次氯酸钠气味,晾干后在顶部和底部封蜡以减少水分的散失。将打孔器($\Phi=5\text{ mm}$)用酒精灯烧烫在枝条表面打孔至木质部形成伤口,每个枝条打 3 个孔,每个菌株接 3 根枝条,共接 9 个点。从 2 株腐烂病菌菌落边缘打取 $\Phi=5\text{ mm}$ 的菌饼,菌丝面接在伤口处,25℃ 黑暗、保湿培养 5 d 后,刮除病

部表面皮层并测量病斑长度。

2 结果与分析

2.1 交互抗药性分析

通过菌丝生长速率法分别测定了 SBI 类杀菌剂(苯醚甲环唑、抑霉唑、戊唑醇)对苹果树腐烂病菌 VM01 和 VM09 的 EC_{50} (表 2)。3 种药剂对苹果树腐烂病菌的菌丝生长均有很好的抑制作用,苯醚甲环唑的效果高于戊唑醇和抑霉唑。同时,3 种药剂对 2 株来源不同的病菌的菌丝生长的抑制作用存在显著差异。由图 1 可知,苯醚甲环唑、戊唑醇、抑霉唑对菌株 VM09 的 EC_{50} 值分别是菌株 VM01 的 10.49、9.03、79.09 倍;甲基硫菌灵对两菌株的抑制作用无显著差异。表明采自山东果区的 VM09 菌株已经对甾醇生物合成抑制剂类药剂(苯醚甲环唑、戊唑醇、抑霉唑)的敏感性降低,且对该类药剂之间存在交互抗药性;但对苯并咪唑类杀菌剂甲基硫菌灵未产生交互抗性。

表 2 2 株苹果树腐烂病菌对不同药剂的敏感性

Table 2 Sensitivity of the two isolates of *V. mali* to different agents

| 药剂 | 菌株 | 回归方程 | EC_{50} 值/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ | 相关系数 R^2 |
|-------|------|------------------------|---|------------|
| 苯醚甲环唑 | VM01 | $Y=2.303\ 7X+10.243$ | 0.005 3a | 0.988 6 |
| | VM09 | $Y=2.570\ 5X+8.224\ 9$ | 0.055 7b | 0.984 0 |
| 戊唑醇 | VM01 | $Y=3.378X+11.063$ | 0.016 1a | 0.984 9 |
| | VM09 | $Y=2.496\ 5X+7.092\ 2$ | 0.145 2b | 0.974 5 |
| 抑霉唑 | VM01 | $Y=2.442X+7.646\ 5$ | 0.082 5a | 0.991 3 |
| | VM09 | $Y=2.542X+2.929\ 9$ | 6.522 3b | 0.964 5 |
| 甲基硫菌灵 | VM01 | $Y=2.329\ 6X+0.993\ 6$ | 52.541 2a | 0.980 2 |
| | VM09 | $Y=2.342\ 6X+1.081\ 1$ | 47.141 1a | 0.997 6 |

注:VM01 和 VM09 为田间采集的野生菌株。利用 SPSS 20.0 的 Duncan's 新复极差法在 $P=0.05$ 水平上分析,同列数据后字母不同表示两者间存在显著差异。下同。

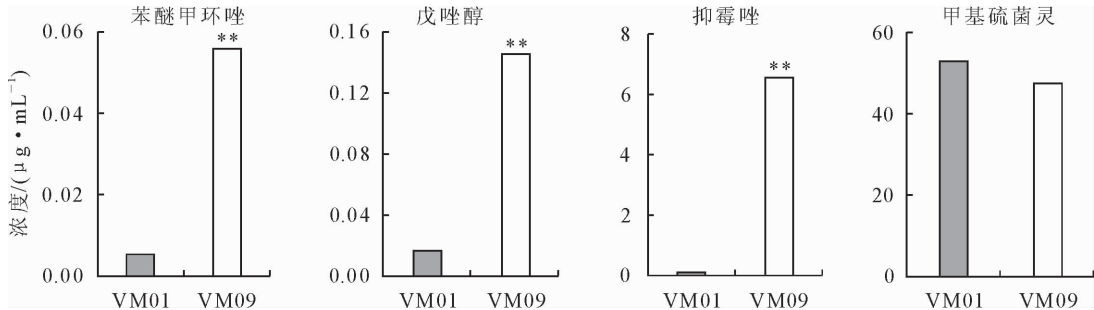


图 1 2 株苹果树腐烂病菌对不同药剂的 EC_{50}

Fig. 1 EC_{50} of the two isolates of *Valsa mali* to different agents

2.2 菌落生长直径测定

采用十字交叉法分别测量 12、24、36、48、60 h 的菌落直径。结果表明,菌株 VM09 在各个时间段的菌落直径均大于菌株 VM01,其中培养 60 h 时,菌株 VM09 与菌株 VM01 的菌落直径分别为 78.6、

72.2 mm。两者存在明显差异(表 3)。

2.3 菌丝干重测定

将在 100 mL PDB 培养液中振荡培养 3 d 的菌丝体过滤、烘干并称重(表 4)。VM01 的平均菌丝干重为 0.307 g,VM09 的平均菌丝干重为 0.313 g,

由 SPSS 20.0 软件分析结果表明,2 株腐烂病菌的菌丝干重存在显著差异。

表 3 培养不同时间后的菌落直径

| Table 3 Colony diameter of the strains after culture at different times | | | | | |
|---|---------|-------|-------|-------|---------|
| 菌株 | 菌落直径/mm | | | | |
| | 12 h | 24 h | 36 h | 48 h | 60 h |
| VM01 | 10. 6 | 23. 2 | 39 | 55. 2 | 72. 2 a |
| VM09 | 13. 9 | 29. 1 | 46. 4 | 63 | 78. 6 b |

表 4 苹果树腐烂病菌菌丝干重

| Table 4 Dry weight of <i>V. mali</i> | | | | | | |
|--------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|----------|
| 菌株 | 质量/g | | | | | 平均值/g |
| VM01 | 0. 317 | 0. 309 | 0. 303 | 0. 308 | 0. 300 | 0. 307 b |
| | 0. 313 | 0. 306 | 0. 303 | 0. 305 | — | |
| VM09 | 0. 314 | 0. 318 | 0. 306 | 0. 300 | 0. 31 | 0. 313 a |
| | 0. 312 | 0. 307 | 0. 325 | 0. 324 | — | |

2.4 繁殖体数量测定

将 VM01 与 VM09 于 25℃培养 3 d 后,置于室温见光继续培养 25 d,观察并将繁殖体数量计数。如图 2 所示,菌株 VM09 的繁殖体数量明显比 VM01 密集。计数分析发现,菌株 VM09 的平均繁殖体数量为 311. 1,菌株 VM01 的平均繁殖体数量为 267. 8,2 株腐烂病菌的繁殖体数量存在显著差异(表 5)。

表 5 苹果树腐烂病菌繁殖体数量统计

| Table 5 Propagules number of <i>V. mali</i> | | | | | | |
|---|-------|-----|-----|-----|-----|----------|
| 菌株 | 繁殖体数量 | | | | | 平均值 |
| VM01 | 286 | 266 | 257 | 280 | 272 | 267. 8 a |
| | 259 | 258 | 269 | 263 | — | |
| VM09 | 300 | 310 | 305 | 325 | 303 | 311. 1 b |
| | 308 | 318 | 318 | 313 | — | |

2.5 渗透敏感性测定

通过菌丝生长速率法分别测定了含 0. 1、0. 2、0. 3 mol/L NaCl 的培养基对菌株 VM01 和 VM09 的抑制率,NaCl 对 VM09 的抑制率分别为 34. 97%、72. 09%、86. 86%,对菌株 VM01 的抑制率分别为 25. 05%、51. 43%、77. 42%。由 SPSS 20. 0 软件分析得,2 株腐烂病菌对 NaCl 的敏感性存在显著差异。如表 6 所示,抗药性菌株 VM09 对 NaCl 更敏感。

2.6 致病力测定

使用离体枝条测定抗药性菌株和敏感菌株致病力。将离体枝条黑暗、保湿培养 5 d 后刮除枝条表皮层,并测量病斑长度,VM01 的平均病斑长度为 40. 33 mm,VM09 的平均病斑长度为 36. 5 mm。由 SPSS 20. 0 软件分析得,2 株腐烂病菌致病力无显著差异,如表 7、图 3 所示。

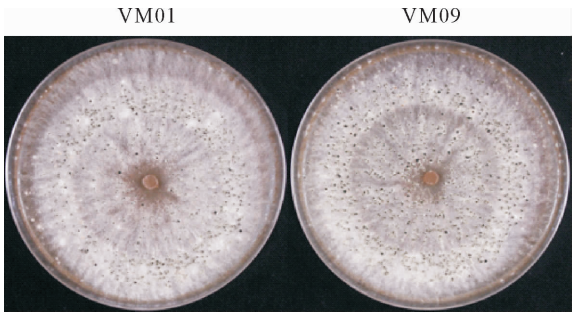


图 2 苹果树腐烂病菌繁殖体数量

Fig. 2 Propagules number of *V. mali*

表 6 NaCl 对 VM01 和 VM09 菌丝生长的抑制率

| Table 6 The inhibition affects of NaCl to VM01 and VM09 | | | |
|---|-----------------------------|---------|---------|
| 菌株 | 浓度/(mol · L ⁻¹) | | |
| | 0. 1 | 0. 2 | 0. 3 |
| VM01 | 25. 05a | 51. 43a | 77. 42a |
| VM09 | 34. 97b | 72. 09b | 86. 86b |

表 7 苹果树腐烂病菌致病力测定

| Table 7 Pathogenicity test of <i>V. mali</i> | |
|--|----------|
| 菌落 | 平均长度/mm |
| VM01 | 40. 33 a |
| VM09 | 36. 50 a |



图 3 苹果树腐烂病菌致病力测定

Fig. 3 Pathogenicity test of *V. mali*

3 结论与讨论

目前,苹果树腐烂病的防控主要以化学药剂为主,特别是苯醚甲环唑、戊唑醇、抑霉唑等 SBI 类杀菌剂已经成为防治该病害的常用药剂。且此类杀菌剂主要通过阻碍病原菌甾醇生物合成中不同酶的活性,致使病原菌甾醇合成被干扰或阻断,从而发挥抑菌作用。然而,长期单一使用某一类杀菌剂,病原菌可能会产生抗药性^[19-21]。本研究分析了来自不同用药背景的 2 株苹果树腐烂病菌对 3 种 SBI 类杀菌剂和 1 种苯并咪唑类杀菌剂的敏感性,发现 VM09

对戊唑醇、苯醚甲环唑及抑霉唑产生了正交互抗药性,而对甲基硫菌灵未产生交互抗性。VM09 采自山东牟平,SBIs 类药剂使用频繁,且用量大,推测其可能已经自然驯化出抗药性。同时,甲基硫菌灵为苯并咪唑类杀菌剂,作用机制不同于 SBIs 类杀菌剂,表明 VM09 的抗药性并不具有普遍性,两类杀菌剂之间不存在交互抗性。研究表明,CYP51 蛋白基因和 ABC 及 MFS 运输蛋白基因的改变及表达是致使病原真菌对 SBIs 类杀菌剂抗性提高的主要分子机制。CYP51 蛋白是甾醇生物合成抑制剂的作用位点,该基因的突变致使与药剂亲和力和下降以及该基因的超表达均会导致病原真菌抗药性的产生;ABC 转运蛋白及 MFS 运输蛋白均具有外排作用,能将外源化学物质等排出细胞体外,其外排能力的提高有助于病原菌的抗性产生。本研究表明,腐烂病菌 VM09 已对 SBIs 类杀菌剂产生了抗性,然而其抗药性分子机制还需进一步研究。

已有研究表明,病原菌产生抗药性后其生物适合度会因分子变异而产生差异,从而使其在自然环境中与其他同种致病菌的竞争力受到影响^[22-25]。因此生物适合度被认为是影响田间抗药病原菌群体形成的重要因素^[26-27]。已有研究发现抗腐霉利的灰葡萄孢菌分生孢子产生能力较敏感菌株显著下降,并对高盐、糖渗透压更为敏感^[28];对戊唑醇具有抗性的苹果轮纹病菌菌株的菌丝干重较敏感菌株显著下降^[29]。本研究发现对 SBIs 类杀菌剂敏感性降低的菌株 VM09,其生长速率与繁殖体数量明显提高,这可能在一定程度上直接增强了抗性菌系的适生能力,但其渗透压敏感性更为敏感,利弊尚需深入研究。

参考文献:

[1] 刁春玲,刘芳,宋宝安. 农用杀菌剂作用机理的研究进展[J]. 农药,2006,45(6):374-377.

[2] 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.

[3] 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.

YE T, MA Z Q, BI Q Y, *et al.* Research advances on the resistance of plant pathogenic fungi to SBIs fungicides[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2012, 14(1): 1-16. (in Chinese)

[4] 任璐,姚众,赵晓军,等. 苹果斑点落叶病菌抗戊唑醇突变体细胞膜透性及麦角甾醇含量研究[J]. 山西农业大学学报:自然科学版,2015,35(3):253-257.

REN L, YAO Z, ZHAO X J, *et al.* Characteristic of cytomembrane and determination of ergosterol in resistant *Alternaria alternaria* mutants to tebuconazole[J]. J. Shanxi Agric. Univ. : Natural Science Edition, 2015, 35(3): 253-257. (in Chinese)

[5] 贾广成. 苹果轮纹病菌对戊唑醇抗性的遗传稳定性研究[D].

兰州:甘肃农业大学,2013.

[6] 陈聘,时浩杰,吴慧明,等. 浙江省葡萄炭疽菌对甲基硫菌灵和戊唑醇的抗药性研究[J]. 果树学报,2013,30(4):665-668.

CHEN D, SHI H J, WU H M, *et al.* Resistance of *Colletotrichum gloeosporioides* causing grape ripe rot to thiophanate-methyl and tebuconazole in Zhejiang[J]. Journal of Fruit Science, 2013, 30(4): 665-668. (in Chinese)

[7] AVENOT H F, MICHAILIDES T J. Detection of isolates of *Alternaria alternata* with multiple-resistance to fludioxonil, cyprodinil, boscalid and pyraclostrobin in California pistachio orchards[J]. Crop Protection , 2015, 78(4): 214-221.

[8] 牛军强,马明,刘兴禄,尹晓宁,等. 甘肃陇东苹果树腐烂病的发生规律与防治技术[J]. 中国果树,2011,(2):53-55.

[9] 李正鹏,高小宁,杜成涛,等. 陕西渭北地区苹果树腐烂病发生情况调查[J]. 西北农业学报,2013,22(1):174-178.

LI Z P, GAO X N, DU Z T, *et al.* Survey of apple valsa canker in Weiwei area of Shaanxi Province[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2013, 22(1): 174-178. (in Chinese)

[10] 周建波,任璐,殷辉,等. 苹果树腐烂病菌对甲基硫菌灵、苯醚甲环唑和啉菌酯的敏感性及其交互抗性[J]. 农药,2016(11):77-81.

ZHOU J B, REN L, YIN H, *et al.* Sensitivity and cross-resistance to thiophana-methyl, azoxystrobin and difenoconazole in *Valsa mali*[J]. Agrochemicals, 2016(11): 77-81. (in Chinese)

[11] ABE F, USUI K, HIRAKI T. Fluconazole modulates membrane rigidity, heterogeneity, and water penetration into the plasma membrane in, *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Biochemistry, 2009, 48(36): 8494-8504.

[12] 高淑敏. 两种杀菌剂对长江流域小麦赤霉病菌的毒力测定和抗性诱导[D]. 泰安:山东农业大学,2017.

[13] 雷飞斌. 烟草赤星病菌的抗药性及替代药剂的研究[D]. 浙江农业大学,2016.

[14] 詹家绥,吴娥娇,刘西莉,等. 植物病原真菌对几类重要单位点杀菌剂的抗药性分子机制[J]. 中国农业科学,2014,47(17):3392-3404.

ZHAN J S, WU E J, LIU X L, *et al.* Molecular basis of resistance of phytopathogenic fungi to several site-specific fungicides[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014, 47 (17): 3392-3404. (in Chinese)

[15] 高智辉,宋晓斌,王云果,等. 樟树烂皮病调查及病原菌生物学特性研究[J]. 陕西林业科技,2008,23(2):122-125.

GAO Z H, SONG X B, WANG Y G, *et al.* The *Cinnamomum camphora* bark rot investigates and the cause germ biology characteristic[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2008, 23(6): 122-125. (in Chinese)

[16] 王帅,刘召阳,高小宁,等. 10 种生物源杀菌剂对苹果树腐烂病菌的室内活性评价[J]. 西北林学院学报,2019,34(1):156-162.

WANG S, LIU Z Y, GAO X N, *et al.* Antifungal activity of 10 biological fungicides against *Valsa mali*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2019, 34(1): 156-162. (in Chinese)

[17] 陈军,高国平,张伟,等. 6 种杀菌剂及其混配剂对香栓孔菌的室内毒力测定[J]. 西北林学院学报,2012,27(1):129-131.

CHEN J, GAO G P, ZHANG W, *et al.* Toxicity test of six fungicides and their mixtures to *Trametes suaveolens* in labo-

ratory[J]. Journal of Northwest Forestry University,2012,27(1):129-131. (in Chinese)

[18] 臧睿,黄丽丽,康振生,等. 陕西苹果树腐烂病菌(*Cytospora* spp.)不同分离株的生物学特性与致病性研究[J]. 植物病理学报,2007,37(4):343-351.

ZANG R,HUANG L L,KANG Z S,*et al.* Biological characteristics and pathogenicity of different isolates of *Cytospora* spp. isolated from apple trees in Shaanxi Province[J]. Acta Phytopathologica Sinica,2007,37(4):343-351. (in Chinese)

[19] 齐永志,李海燕,苏媛,等. 小麦纹枯病菌对噻呋酰胺的敏感性 及抗药性突变体的主要生物学性状[J]. 农药学报,2014,(3):271-280.

[20] 郑媛萍,周连柱,孔繁芳,等. 山东蓬莱葡萄灰霉菌对 7 种杀菌 剂的抗药性检测[J]. 植物保护,2019,45(1):164-169.

[21] 张亚,王翀,刘双清,等. 湖南省草莓灰霉病菌对 4 种杀菌剂的 抗药性检测[J]. 植物保护,2016,42(5):181-187.

[22] 徐建强,赵建江,胡雪涵,等. 小麦纹枯病菌对三唑酮不同敏感 性菌株的生物学特性及对不同杀菌剂的敏感性[J]. 植物保护 学报,2018,45(2):359-366.

XU J Q,ZHAO J J,HU X H,*et al.* Biological characteristics of *Rhizoctonia cerealis* isolates with different sensitivities to triadimefon and their sensitivity to different fungicides[J]. Journal of Plant Protection,2018,45(2):359-366. (in Chi- nese)

[23] 阮宏椿,石姐姐,甘林,等. 稻曲病菌对戊唑醇的敏感基线及抗 药突变体的生物学性状[J]. 西北农林科技大学学报:自然科 学版,2017,45(6):148-154.

RUAN H C,SHI N N,GAN L,*et al.* Baseline sensitivity of *Ustilaginoidea virens* against tebuconazole and iological char- acteristics of resistant mutant[J]. Journal of Northwest A&F University:Nat. Sci. Edi. ,2017,45(6):148-154. (in Chinese)

[24] 任璐,赵彬彬,韩巨才,等. 黄瓜白粉病菌对甲基硫菌灵的敏感 性及室内抗性突变体生物学性状[J]. 植物保护学报,2015,42 (2):176-181.

[25] ZIOGAS B N,MARKOGLOU A N,MALANDRAKIS A A. Studies on the inherent resistance risk to fenhexamid in *Bot- rytis cinerea*[J]. European Journal of Plant Pathology,2003, 109(4):311-317.

[26] BI Y,CUI X,LU X,*et al.* Baseline sensitivity of natural popu- lation and resistance of mutants in *Phytophthora capsici* to zoxamide[J]. Phytopathology,2011,101(9):1104-1111.

[27] ZHANG X,WU D,DUAN Y,*et al.* Biological characteristics and resistance analysis of the novel fungicide SYP-1620 a- gainst *Botrytis cinerea*[J]. Pesticide Biochemistry & Physiol- ogy,2014,114(1):72-78.

[28] 王艳. 灰葡萄孢对腐霉利的抗性及其机制研究[D]. 扬州:扬 州大学,2007.

[29] 范昆,曲健禄,李林光,等. 苹果轮纹病菌对戊唑醇的敏感基线 及其室内抗药突变体研究[J]. 果树学报,2013,30(4):650- 656.

FAN K,QU J L,LI L G,*et al.* Study on baseline-sensitivity of *Botryosphaeria dothidea* to tebuconazole and the biological characteristics of tebuconazole-resistant mutants[J]. Journal of Fruit Science,2013,30(4):650-656. (in Chinese)

(上接第 113 页)

[22] 曾彦军,王彦荣. 几种生态因子对红砂和霸王种子萌发与幼苗 生长的影响[J]. 草业学报,2005,14(5):24-31.

ZENG Y J,WANG Y R. Study on the effects of soil tempera- ture,soil moisture content,sowing depth,and sand cover on seed germination and seedling growth of *Reaumuria soongori- ca* and *Zygophyllumxanthoxylum* [J]. Acta Pratac Ultrae Sinica,2005,14(5):24-31. (in Chinese)

[23] 王方琳,柴成武,魏小红,等. 荒漠区药用植物黑果枸杞的组织 培养[J]. 干旱区资源与环境,2016,30(10):104-109.

WANG F L,CHAI C W,WEI X H,*et al.* Tissue culture of medicinal plants *Lycium ruthenicum* in arid desert[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment,2016,30(10):104- 109. (in Chinese)

[24] 王方琳,徐先英,尉秋实,等. 强旱生濒危植物霸王的组织培养 [J]. 干旱区资源与环境,2014,28(2):114-118.

WANG F L,XU X Y,WEI Q S,*et al.* Tissue culture of the strong xerophytes and endangered plant of *Zygophyllum xanthoxylum*[J]. Journal of Arid Land Resources and Envi- ronment,2014,28(2):114-118. (in Chinese)

[25] 杨鑫光,傅华,张洪荣,等. 水分胁迫对霸王苗期叶水势和生物 量的影响[J]. 草业学报,2006,15(2):37-41.

YANG X G,FU H,ZHANG H R,*et al.* Effect of soil water stress on leaf water potential and biomass of *Zygophyllum xanthoxylum* during seedling stag [J]. Acta Pratac Ultrae Sinica,2006,15(2):37-41. (in Chinese)

[26] 董雪,高永,杨永华,等. 平茬措施对天然沙冬青生理特性的影 响[J]. 植物科学学报,2015,33(3):388-395.

DONG X,GAO Y,YANG Y H,*et al.* Effects of stubble measures on physiological characteristics of *Ammopi pthanthus mongolicus*[J]. Journal of Plant Sciences,2015,33(3):388- 395. (in Chinese)

[27] 李玲. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京:科学出版社, 2009:78-82.

[28] HAMMOND D S,BROWN V K. Seed mass of woody plants in relation to disturbance,dispersal,soil type in wet neotropi- cal forestes[J]. Ecology,1995,76:2544-2561.

[29] KOLLER D. Germination regulating mechanissms in some desert seeds-Ⅲ [J]. Calligonum Comsum, Ecology, 1956, 37 (3):430-433.

[30] 陈文,王桔红,朱慧,等. 沙埋对河西走廊 4 种旱生植物种子萌 发和幼苗生长的影响[J]. 中国沙漠,2015,35(6):1532-1537.

CHEN W,WANG J H,ZHU H,*et al.* Effects of sand burial on seed germination and seedling growth of four xerophytes in hexi corridor[J]. Chinese Journal of Ecology, 2015, 35 (6): 1532-1537. (in Chinese)