

肖 婷, 陈 露, 张建华, 等. 江苏省句容市灰霉病菌对啮酰菌胺的抗药性[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(1): 50-55.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.01.007

江苏省句容市灰霉病菌对啮酰菌胺的抗药性

肖 婷, 陈 露, 张建华, 芮东明, 许 媛, 吉沐祥, 杨敬辉
(江苏丘陵地区镇江农业科学研究所, 江苏 句容 212400)

摘要: 为明确江苏省句容市灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*) 对啮酰菌胺的抗药性水平, 本研究 2 年间采集灰霉病菌 122 株, 采用区分计量法测定其对啮酰菌胺的敏感性, 并采用孢子萌发法测定菌株的抑制中浓度 (EC_{50}), 以确定菌株的抗药性表型, 通过对药剂靶标基因 (琥珀酸脱氢酶基因) *sdhB*、*sdhC* 和 *sdhD* 的序列分析, 确定抗药性分子机理。结果表明, 总抗性菌株占 42.60%, 不同取样点间灰霉病菌对啮酰菌胺的抗性频率有较大差异。本研究根据抗性菌株与敏感菌株 EC_{50} 的比值 (RF) 把菌株敏感性表型划分为敏感菌株 ($RF < 2$, S)、敏感性下降菌株 ($2 \leq RF < 3$, RS)、低抗菌株 ($3 \leq RF < 10$, LR)、中抗菌株 ($10 \leq RF < 100$, MR) 和高抗菌株 ($RF \geq 100$, HR), 其 EC_{50} 平均值分别为 0.044 8 mg/L、0.131 7 mg/L、0.326 1 mg/L、1.255 5 mg/L 和 11.170 7 mg/L。对 9 株敏感菌株和所有抗性菌株抗性靶标基因的测序结果进行比对, 在所测定的敏感菌株的 3 个亚基 (*sdhB*、*sdhC* 和 *sdhD*) 均未发现氨基酸取代, 与敏感菌株相比, 所有抗性菌株的 *sdhB* 基因在第 272 位密码子发现有 2 种类型的突变, 即 H272R 和 H272Y 突变, *sdhC* 和 *sdhD* 基因未发生突变。

关键词: 灰霉病菌; 啮酰菌胺; 抗药性

中图分类号: S482.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2018)01-0050-06

Boscalid resistance in field populations of *Botrytis cinerea* in Jurong city of Jiangsu province

XIAO Ting, CHEN Lu, ZHANG Jian-hua, RUI Dong-ming, XU Yuan, JI Mu-xiang, YANG Jing-hui
(Zhenjiang Institute of Agricultural Sciences of the Ning-Zhen Hilly District, Jurong 212400, China)

Abstract: To identify the resistance level of *Botrytis cinerea* on boscalid, 122 strains collected from different areas and plants in 2015 and 2016 were detected for the sensitivity to boscalid using the discriminatory dosage method and the resistance to boscalid represented by EC_{50} values using spore germination assay. Molecular mechanism of the resistance was identified by the sequence analysis of target genes (succinate dehydrogenase complex, *sdhB*, *sdhC*, *sdhD*). The results showed that resistance frequencies varied in different sampling sites and resistant strains accounted for 42.60%. Based on the RF values (EC_{50} value of sensitive isolates/ EC_{50} value of resistant isolates). Phenotype of *B. cinerea* isolates were divided into sensitive ($RF < 2$, S), reduced sensitive ($2 \leq RF < 3$, RS), low resistant ($3 \leq RF < 10$, LR), medium resistant ($10 \leq RF < 100$, MR) and high resistant ($RF \geq 100$, HR), with EC_{50} values of 0.044 8 mg/L, 0.131 7 mg/L, 0.326 1 mg/L, 1.255 5 mg/L and 11.170 7 mg/L, respectively.

No amino acid substitutions were found on the *sdhB*, *sdhC*, *sdhD* of the sensitive strains and *sdhC* and *sdhD* of the resistant ones. The resistant isolates presented two types of mutations at codon 272 of *sdhB* (H272R and H272Y).

Key words: *Botrytis cinerea*; boscalid; resistance

收稿日期: 2017-01-20

基金项目: 镇江市农业科技支撑项目 (NY2015019); 江苏省第五期“333 工程”培养基金资助项目 (BRA2017149)

作者简介: 肖 婷 (1982-), 女, 山东兖州人, 硕士, 副研究员, 主要从事植物保护研究。 (Tel) 0511-80978081; (E-mail) xiaoting826448@163.com

通讯作者: 杨敬辉, (E-mail) yjhnn32@126.com

灰霉病是由灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)引起的,该菌寄主范围广泛,可侵染多种水果、蔬菜和观赏植物的叶、茎、花以及果实,给生产造成严重损失。控制病害发展的化学常规用药以多菌灵、腐霉利、异菌脲、嘧霉胺、啮酰菌胺等杀菌剂为主打药剂^[1-3]。啮酰菌胺属于新型烟酰胺类杀菌剂^[4],主要用于防治腐烂病、白粉病和灰霉病等,该类药剂作为线粒体呼吸链中琥珀酸辅酶 Q 还原酶的抑制剂,对孢子萌发有很强的抑制能力,且与其他杀菌剂无交互抗性。近几年,啮酰菌胺在中国大量使用,但由于琥珀酸脱氢酶抑制剂(SDHIs)类杀菌剂属于单一作用位点类型,其抗性风险备受关注,与其相关的抗药性研究也已经有很多报道^[5-9],这些抗性菌株可能与靶标位点的改变或多药抗药性机制有关。田间最常见的灰葡萄孢菌(*B. cinerea*)对啮酰菌胺的抗性是由于 *Sdh* B 亚基上第 272 位上的氨基酸(H272Y/R)突变所致^[10],也有报道称 *Sdh* B 亚基上第 272 位点上组氨酸突变为亮氨酸(H272L)也会引起菌株的抗药性,但此类型发现较少^[11-12]。另外,*Sdh* B 亚基上第 225 位点由脯氨酸突变为苯丙氨酸(P225F)、苏氨酸

(P225T)或亮氨酸(P225L),第 230 位点天冬氨酸突变为异亮氨酸(N230I)都是引起菌株抗性的原因^[13-14]。

本研究拟结合本地区生产实际,连续 2 年采集设施葡萄和设施草莓的灰霉病菌,结合农户化学防治主打药剂,检测本地区灰霉病菌对啮酰菌胺的抗药性,分析抗药性的发展过程,并通过分子手段揭示抗性机理,明晰突变种类和分布,以期生产中科学用药提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

2015 年和 2016 年分别在江苏省句容市葡萄、草莓主产区随机采集灰霉病菌(*B. cinerea*),实验室分离获得单孢菌株(表 1),采用滤纸片法将其保存于-20℃冰箱中备用。

1.2 供试药剂

98.95%啮酰菌胺原药,由先正达公司提供。药剂均用丙酮配制成 10 000 mg/L 的母液,母液置于 4℃下保存备用。

表 1 菌株信息

Table 1 Information of *Botrytis cinerea* isolates collected in Jurong, Jiangsu province

菌株号	菌株数	作物	地点	时间
PTB16-2、PTB16-4、PTB16-5、PTB16-8、PTB16-9、PTB16-11、PTB16-12、PTB16-14、PTB16-15	9	葡萄	唐庄	2016
PTB16-17、PTB16-18、PTB16-19、PTB16-20	4	葡萄	兴发葡萄园	2016
PTB16-24、PTB16-25、PTB16-26、PTB16-28、PTB16-29、PTB16-36、PTB16-39	7	葡萄	柳埝	2016
PTB16-49、PTB16-50、PTB16-51、PTB16-52、PTB16-69、PTB16-70、PTB16-71、PTB16-72、PTB16-75、PTB16-79、PTB16-81、PTB16-82、PTB16-83、PTB16-84、PTB16-85、PTB16-88、PTB16-86、PTB16-87、PTB16-89	19	葡萄	白兔	2016
PTB16-58、PTB16-59、PTB16-60、PTB16-61	4	葡萄	倪塘	2016
PTB16-31、PTB16-32、PTB16-34	3	葡萄	华阳镇	2016
PTB16-93、PTB16-96、PTB16-101、PTB16-102、PTB16-107、PTB16-109	6	葡萄	茅山镇	2016
B15-11、B15-14、B15-15、B15-16、B15-19、B15-38、B15-39、B15-40、B15-52、B15-53、B15-54、B15-60	12	草莓	茅山镇	2015
B15-21、B15-26、B15-27、B15-61、B15-64、B15-65	6	草莓	后白镇	2015
B15-2、B15-8、B15-9、B15-10	4	草莓	天王镇	2015
B15-214、B15-217、B15-227、B15-216、B15-225	5	草莓	淳化镇	2015
B15-239、B15-250、B15-251、B15-249、B15-252、B15-253、B15-254	7	草莓	土桥镇	2015
B15-78、B15-82、B15-146、B15-147、B15-84、B15-148、B15-150	7	草莓	华阳镇	2015
B15-111、B15-113、B15-134、B15-139、B15-151、B15-152、B15-158、B15-176、B15-179、B15-187、B15-188、B15-189、B15-112、B15-116、B15-121、B15-123、B15-124、B15-125、B15-133、B15-137、B15-140、B15-156、B15-157、B15-159、B15-160、B15-180、B15-181、B15-190、B15-194	29	草莓	白兔镇	2015

1.3 灰霉病菌对啉酰菌胺抗药性的检测

采用区分剂量法测定啉酰菌胺浓度为 1 mg/L^[15]时,灰霉病菌孢子的萌发生长是否正常。培养基为 YBA 培养基,制作药皿,设不加药剂的空白为对照。具体方法如下:事先培养病原菌并确保长出分生孢子,用灭菌牙签蘸取事先培养好的病菌孢子,点在药皿上,23 ℃ 培养 72 h 后观察。平板上病菌孢子正常萌发且菌丝正常生长的确定为抗性菌株,不能正常生长的确定为敏感菌株,重复 2 次。

1.4 灰霉病菌对啉酰菌胺的敏感性测定

采用孢子萌发法,挑取 9 株敏感菌株(事先在 PDA 平板上活化培养 7 d),用无菌水清洗灰霉孢子,稀释到 1 ml 1×10^6 个,取 100 μ l 加入到含啉酰菌胺系列质量浓度(0.003 mg/L、0.010 mg/L、0.030 mg/L、0.100 mg/L、0.300 mg/L 和 1.000 mg/L)的 YBA 平板表面,用三角涂布棒涂抹均匀。同样方法测定抗性菌株的敏感性,所不同的是药剂质量浓度设为 0.100 mg/L、0.300 mg/L、1.000 mg/L、3.000 mg/L、10.000 mg/L 和 30.000 mg/L,以不含药剂的平板为对照,每个处理重复 4 次,23 ℃ 培养 20 h 后镜检。采用五点取样法,量取一个视野中各孢子萌发的芽管长度,计算平均值,与对照比较,计算抑菌率。利用 DPS 软件,通过浓度对数值(x)与抑制率几率值(y)之间的线性回归关系,求出毒力回归方程和有效抑制中浓度(EC_{50}),根据各菌株的 EC_{50} 求得抗性菌株抗性因子的 RF 值(抗性菌株 EC_{50} /敏感菌株 EC_{50})。菌株敏感性表型按 RF 值大小划分如下:敏感菌株($RF < 2$, S)、敏感性下降菌株($2 \leq RF < 3$, RS)、低抗菌株($3 \leq RF < 10$, LR)、中抗菌株($10 \leq RF < 100$, MR)和高抗菌株($RF \geq 100$, HR)^[16]。

1.5 抗药性分子机制

选取 9 株敏感菌株和所有抗性菌株,按 DNA 试剂盒(OMEGA)法提取基因组 DNA。引物序列:IpB-cBeg (5'-CCACTCCTCCATAATGGCTGCTCTCCGC-3') + IpBcEnd2 (5'-CTCATCAAGCCCCCTCATTGATATC-3')^[17]。采用 50 μ l 反应体系,95 ℃ 预变性 3 min;95 ℃ 变性 30 s,60 ℃ 退火 30 s,68 ℃ 延伸 1 min,共进行 35 个循环,最后 68 ℃ 延伸 4 min。

PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测后由南京金斯瑞生物科技有限公司进行产物纯化和序列测定。抗性靶标基因序列比对分析用 NCBI 中的 BLAST 软

件进行,序列编辑用 DNASRRAR 软件进行。

2 结果与分析

2.1 灰霉病菌对啉酰菌胺的抗药性

在含有 1 mg/L 啉酰菌胺的 YBA 平板上,灰霉病菌孢子正常萌发生长的判定为抗性菌株,不能正常萌发生长的菌株判定为敏感菌株。供测的 122 株菌株中,抗性菌株 52 株(42.6%),敏感菌株 70 株(57.4%)。其中葡萄灰霉病菌抗性菌株 31 株,占有葡萄灰霉病菌菌株的 53.85%,草莓灰霉病菌抗性菌株 21 株,占有草莓灰霉病菌菌株的 32.86%。由此可见,本地区灰霉病菌种群中已形成了抗啉酰菌胺的稳定种群。从取样作物来看,葡萄果实上取样的灰霉病菌种群抗性频率远大于草莓果实上取样的灰霉病菌种群。从地区分布来看,不同地区用药水平不同,抗性频率亦不同,葡萄和草莓主产区白兔镇所采集的样品对啉酰菌胺的抗性频率最高(53.42%),其次为石狮镇(41.67%)、华阳镇(40%)、茅山镇(16.67%),在新兴草莓种植地区(天王镇和后白镇)的样品中没有检测到抗性菌株(图 1)。

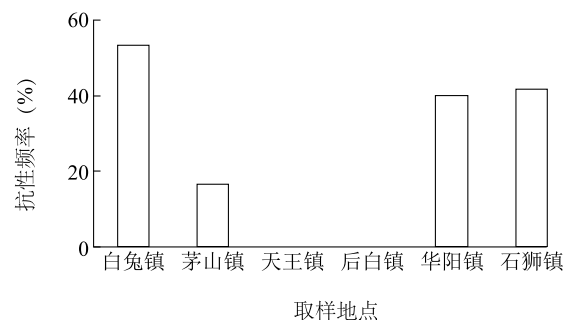


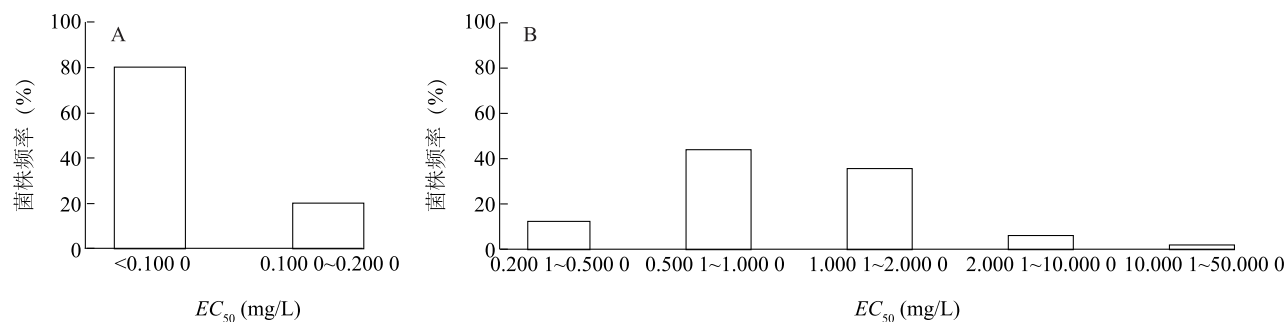
图 1 灰霉病菌对啉酰菌胺的抗药性

Fig.1 Percentage of resistant isolates of *Botrytis cinerea* collected from different sites

2.2 灰霉病菌对啉酰菌胺的敏感性表型

9 株对啉酰菌胺敏感的灰霉病菌菌株 EC_{50} 平均值为 0.035 3 mg/L,其中 8 株敏感菌株的 EC_{50} 值小于 0.100 0 mg/L(88.89%)(图 2A)。抗性菌株 EC_{50} 值主要集中在 0.500 1~2.000 0 mg/L(79.17%)(图 2B)。根据抗性菌株与敏感菌株 EC_{50} 比值(RF)的大小,可将菌株的敏感性表型进行划分。本研究敏感性表型 S(8 株)、RS(1 株)、LR(8 株)、MR(42

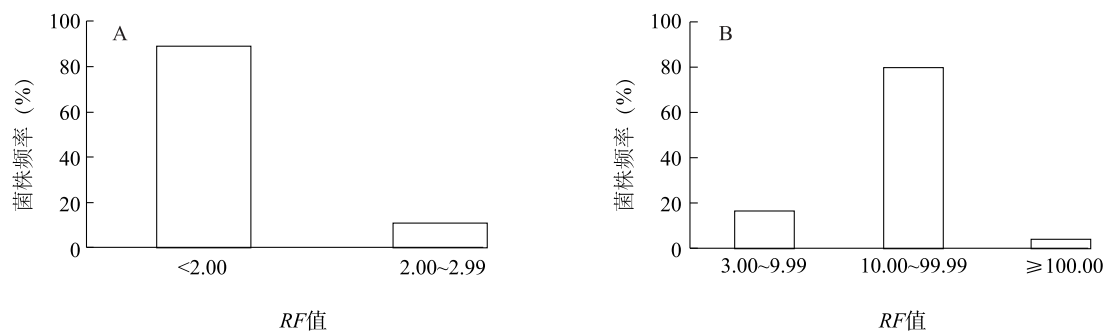
株)和 HR(2 株)菌株的 EC_{50} 平均值分别为 0.044 8 和 11.170 7 mg/L(图 3A、图 3B)。
mg/L、0.131 7 mg/L、0.326 1 mg/L、1.255 5 mg/L



A: 敏感菌株; B: 抗性菌株。

图 2 灰霉病菌对啉酰菌胺的 EC_{50} 分布频率

Fig.2 Effective concentration resulting in 50% mycelial growth inhibition (EC_{50}) for nine boscalid-sensitive isolates (A) and 52 boscalid-resistant isolates (B) of *B. cinerea*



A: 敏感菌株; B: 抗性菌株。

图 3 灰霉病菌对啉酰菌胺的 RF 值分布频率

Fig.3 Resistance factors (RF) for nine boscalid-sensitive isolates (A) and 52 boscalid-resistant isolates (B) of *B. cinerea*

2.3 灰霉病菌对啉酰菌胺的抗药性分子机理

对 9 株敏感菌株和所有抗性菌株的抗性靶标基因 (*sdhB*、*sdhC* 和 *sdhD*) 进行测序分析, 结果(表 2)表明, 敏感菌株 *sdhB*、*sdhC* 和 *sdhD* 3 个亚基上均未发现氨基酸的取代, 与敏感菌株相比, 27 株葡萄灰霉病菌抗性菌株和 21 株草莓灰霉病菌抗性菌株 *sdhB* 基因第 272 位密码子由 CAC (编码组氨酸, H) 突变成为 CGC (编码精氨酸, R), 即 H272R 突变。1 株葡萄灰霉病菌抗性菌株 *sdhB* 基因第 272 位密码子由 CAC (编码组氨酸, H) 突变成为 CGT (编码精氨酸, R), 即 H272R 突变。3 株葡萄灰霉病菌抗性菌株 *sdhB* 基因第 272 位密码子由 CAC (编码组氨酸, H) 突变成为 TAC (编码酪氨酸, Y), 即 H272Y 突变,

未检测到在 *sdhC* 和 *sdhD* 亚基上发生突变的抗性菌株。

3 讨论

琥珀酸脱氢酶抑制剂包括啉酰菌胺、氟吡菌酰胺、吡噻菌胺等 23 种药剂^[18], 是目前较为畅销的杀菌剂。该类药剂的作用位点在线粒体呼吸链细胞色素 b_{560} 的琥珀酸脱氢酶(琥珀酸泛醌氧化还原酶)复合体 II 亚基上(该酶复合体是线粒体电子传递通路和三羧酸循环的重要组成部分, 催化琥珀酸氧化为延胡索酸以及醌的还原), 并阻碍细胞能量和细胞基本组成物质的产生, 干扰细胞的分裂和生长, SDHIs 类药剂与现有其他种类药剂间不存在交互抗性^[19]。

表 2 灰霉病菌 *sdhB* 基因突变及敏感性表型检测结果Table 2 Mutations in subunit *sdhB* and corresponding phenotypes of *B. cinerea* isolates

菌株号	菌株数	EC_{50}	作物	敏感性表型	<i>sdhB</i> 突变位点	RF 值
B15-8、B15-9、B15-10、B15-14、B15-53、B15-64、B15-124、B15-180	8	0.044 8	草莓	S	—	—
B15-26	1	0.131 7	草莓	RS	—	—
PTB16-9、PTB16-21、PTB16-69	3	0.303 1	葡萄	LR	H272R	4.03~7.78
B15-134、B15-189、B15-194、B15-251、B15-254	5	0.340 0	草莓	LR	H272R	2.63~9.51
B15-11、B15-39、B15-60、B15-78、B15-113、B15-137、B15-147、B15-151、B15-158、B15-160、B15-188、B15-216、B15-225、B15-250	14	1.094 2	草莓	MR	H272R	10.18~35.14
PTB16-5、PTB16-8、PTB16-11、PTB16-12、PTB16-14、PTB16-15、PTB16-18、PTB16-19、PTB16-20、PTB16-26、PTB16-28、PTB16-31、PTB16-35、PTB16-39、PTB16-70、PTB16-71、PTB16-72、PTB16-75、PTB16-79、PTB16-81、PTB16-83、PTB16-86、PTB16-87、PTB16-89、PTB16-109	25	1.322 0	葡萄	MR	H272R	10.06~77.65
B15-225、B15-239	2	11.170 7	草莓	HR	H272R	151.43~259.15
PTB16-73、PTB16-78、PTB16-82	3	1.455 2	葡萄	MR	H272Y	26.27

—: 未检测到突变; S: 敏感; RS: 敏感性下降; LR: 低抗; MR: 中抗; HR: 高抗。

江苏丘陵句容地区采用啉酰菌胺防治灰霉病已超 8 年, 近几年拜耳公司研制的氟吡菌酰胺和肟菌酯的复配制剂(露娜森)也开始在草莓上使用。随着使用时间和频次的增加, 病菌对啉酰菌胺的抗药性也逐渐显露。鉴于此, 本研究在 2015 年和 2016 年采集不同作物(草莓、葡萄)灰霉病菌, 采用区分计量法测定其抗药性水平, 发现本地区啉酰菌胺抗性菌株频率均值已达 42.60%, 但不同地区不同作物抗药性频率间存在显著差异。句容市天王镇和后白镇均未发现抗性菌株, 主要是因为这 2 个乡镇草莓和葡萄的种植时间较短, 而白兔镇、石狮镇和华阳镇草莓种植已有 20 多年, 检测到灰霉病菌种群的抗药性频率较高, 分别达 53.42%、41.67% 和 40.00%。此外, 葡萄果实灰霉病菌种群的抗性菌株频率还略高于草莓果实灰霉病菌种群, 这是因为啉酰菌胺是葡萄灰霉病防治的主打药剂。以上结果充分说明, 在草莓和葡萄园里灰霉病菌抗啉酰菌胺种群已经稳定存在。

灰霉病菌对啉酰菌胺敏感性的测定结果表明, 本地区灰霉病菌对啉酰菌胺的抗药性以中抗菌株为主。对所有抗性菌株靶标基因(*sdhB*、*sdhC* 和 *sdhD*)进行测序分析, 结果表明, 所有抗性菌株的突变都只发生在 *sdhB* 基因的第 272 位, 且只发现 H272R 和 H272Y 2 种突变类型。以上研究结果与 Veloukas 等^[16]报道的结果相似, 所不同的是本研究中未检测到 H272L、P225F 和 N230I 等突变类型。综上所述,

灰霉病菌 *sdhB* 基因不同的突变类型与药剂敏感性之间有相关性。

有研究将灰霉病菌 *sdhB* 基因突变中 H272L 和 P225F 类型的菌株用于草莓果实离体防治试验中, 啉酰菌胺对其失去防效^[16], 鉴于此, 为了及时提供抗药性信息, 需持续监测本地灰霉病菌种群对啉酰菌胺抗药性的动态变化, 特别是明确是否还有其他新的突变类型。

在室内培养条件下, 灰霉病菌敏感菌株和抗性菌株对温度的敏感性、菌丝生长速度、产孢能力和孢子萌发能力等无显著差异^[18,20]。在田间条件下, 用杀菌剂防治灰霉病菌利于抗性菌株获得有利的选择优势, 在持续的药剂选择压力下, 抗性菌群会逐渐成为主导种群。因此, 利用抗药性监测的结果, 因地制宜指导各地农户合理使用不同作用机制的农药, 不但能有效遏制植物病原菌抗性种群的发展, 延长药剂的使用寿命, 还能为各地农药的减量使用提供理论依据。

参考文献:

- [1] LI Q, YAN L Y, TONG Y F, et al. Occurrence of iprodione-resistant *Botrytis cinerea* strain from strawberry in Zhejiang and possible molecular mechanism[J]. Journal of Fruit Science, 2007, 24: 344-348.
- [2] 刘波, 刘经芬, 叶钟音, 等. 药剂诱导灰葡萄孢产生速克灵抗性菌株的研究[J]. 植物病理学报, 1993, 23(1): 79-80.
- [3] 焦子伟, 孙清花, 张娜, 等. 新疆伊犁温室有机番茄病虫害发

- 生及综合防治[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(10): 77-80.
- [4] 亦 冰. 新颖杀菌剂—啮酰菌胺[J]. 世界农药, 2006, 28(5): 51-53.
- [5] AVENOT H F, SELAM A, KARAOGLANIDIS G, et al. Characterization of mutations in the iron-sulphur subunit of succinate dehydrogenase correlating with boscalid resistance in *Alternaria alternata* from California pistachio[J]. Phytopathology, 2008, 98(6): 736-742.
- [6] AVENOT H, SELAM A, MICHAILIDES T. Characterization of mutations in the membrane-anchored subunits AaSDHC and AaSDHD of succinate dehydrogenase from *Alternaria alternata* isolates conferring field resistance to the fungicide boscalid[J]. Plant Pathology, 2009, 58(6): 1134-1143.
- [7] ITO Y, MURAGUCHI H, SESHIME Y, et al. Flutolanil and carboxin resistance in *Coprinus cinereus* conferred by a mutation in the cytochrome b₅₆₀ subunit of succinate dehydrogenase complex (complex II) [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2004, 272(3): 328-335.
- [8] KEON J P R, WHITE G A, HARGREAVES J A. Isolation, characterization and sequence of a gene conferring resistance to the systemic fungicide carboxin from the maize smut pathogen, *Ustilago maydis*[J]. Current Genetics, 1991, 19(6): 475-481.
- [9] MIYAMOTO T, ISHII H, STAMMLER G, et al. Distribution and molecular characterization of *Corynespora cassiicola* isolates resistant to boscalid[J]. Plant Pathology, 2010, 59(5): 873-881.
- [10] STAMMLER G, BRIK H D, GLÄTTLI A, et al. Biological properties of the carboxamide boscalid including recent studies on its mode of action[M]. Alton: British Crop Protection Council Publications, 2007: 40-45.
- [11] LEROUX P, GREDT M, LEROCH M, et al. Exploring mechanisms of resistance to respiratory inhibitors in field strains of *Botrytis cinerea*, the causal agent of gray mold[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(19): 6615-6630.
- [12] MATSSON M, HEDERSTEDT L. The carboxin-binding site on *Paracoccus denitrificans* succinate: quinone reductase identified by mutations[J]. Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 2001, 33(2): 99-105.
- [13] STAMMLER G, BRIK H D, NAVE B, et al. Studies on the biological performance of boscalid and its mode of action [M]. Friedrichroda: Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, 2008: 45-51.
- [14] VELOUKAS T, LEROCH M, HAHN M, et al. Detection and molecular characterization of boscalid-resistant *Botrytis cinerea* isolates from strawberry[J]. Plant Disease, 2011, 95(10): 1302-1307.
- [15] LATORRE B A, TORRES R. Prevalence of isolates of *Botrytis cinerea* resistant to multiple fungicides in Chilean vineyards [J]. Crop Protection, 2012, 40: 49-52.
- [16] VELOUKAS T, MARKOGLU A N, KARAOGLANIDIS G S. Differential effect of *sdhB* gene mutations on the sensitivity to SDHI fungicides in *Botrytis cinerea*[J]. Plant Disease, 2013, 97(1): 118-122.
- [17] HU M J, FERNÁNDEZ-ORTUÑO D, SCHNABEL G. Monitoring resistance to SDHI fungicides in *Botrytis cinerea* from strawberry fields[J]. Plant Disease, 2016, 100(5): 959-965.
- [18] 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, 2011, 50(3): 165-169.
- [19] 颜范勇, 刘冬青, 司马利锋, 等. 新型啮酰菌胺类杀菌剂—啮酰菌胺[J]. 农药, 2008, 47(2): 132-135.
- [20] 尹大芳. 浙江省草莓灰霉病菌抗药性检测及抗性机制的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.

(责任编辑: 王 妮)