

浙江省果蔬灰葡萄孢对啮酰菌胺的抗性

林泽松¹, 赵帅锋², 皇甫运红¹, 吴鉴艳¹, 王华弟³, 张传清^{*,1}

(1. 浙江农林大学 农业与食品科学学院, 杭州 311300; 2. 浙江省建德市植物保护站,
浙江 建德 311600; 3. 浙江省农药检定管理总站, 杭州 310004)

摘要: 以 2004—2006 年从浙江、江苏等地采集的灰葡萄孢对啮酰菌胺的敏感性基线[$EC_{50} = (1.07 \pm 0.11)$ mg/L]为依据, 采用菌丝生长速率法连续监测了浙江省果蔬灰葡萄孢群体对啮酰菌胺的敏感性变化。结果表明: 浙江省果蔬灰葡萄孢对啮酰菌胺的抗性发展迅速, 2012—2013 年和 2017—2018 年的平均 EC_{50} 值分别为 (5.23 ± 7.79) 和 (24.30 ± 49.33) mg/L。其中, 2012—2013 年的抗药性菌株频率为 15.3%, 且均为低水平抗性 (LR) 菌株; 而 2017—2018 年的抗药性频率上升至 53.2%, 并出现了 7.5% 的中等水平抗性 (MR) 菌株和 1.3% 的高水平抗性 (HR) 菌株。啮酰菌胺抗性菌株的菌丝生长速率、产孢量、产菌核数和致病力与敏感菌株相比均无显著差异。抗药性分子机制研究表明: 啮酰菌胺抗性菌株的琥珀酸脱氢酶 B 亚基 (SDH B) 均发生了点突变, 共包括 H272R、P225F 和 N230I 3 种类型, 其中 H272R 型突变占 88.5%; 其 SDH A 和 SDH D 均未发生点突变; 而 SDH C 的突变 (G85A + I93V + M158V + V168I) 与对药剂敏感性之间无明显联系。

关键词: 灰葡萄孢; 琥珀酸脱氢酶抑制剂; 啮酰菌胺; 抗药性监测; 抗药性机制

中图分类号: S481.4; S482.2; TQ450.13 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2018)06-0729-06

Resistance to boscalid in *Botrytis cinerea* in Zhejiang Province

LIN Zesong¹, ZHAO Shuaifeng², HUANGFU Yunhong¹, WU Jianyan¹,
WANG Huadi³, ZHANG Chuanqing^{*,1}

(1. College of Agriculture and Food Science, Zhejiang Agriculture & Forestry University, Hangzhou 311300, China; 2. Station of Plant Protection of Jiande of Zhejiang Province, Jiande 311600, Zhejiang Province, China; 3. Station for the Control of Agrochemicals of Zhejiang Province, Hangzhou 310004, China)

Abstract: Shift of sensitivity to boscalid in *Botrytis cinerea* collected from plastic tunnels growing fruits and vegetables in Zhejiang Province was monitored by the mycelial growth rate assay based on our previously reported sensitivity baseline, (1.07 ± 0.11) mg/L for the wild sensitive isolates collected from 2004 to 2006. The results showed that resistance to boscalid in *B. cinerea* was developed rapidly. The mean EC_{50} was (5.23 ± 7.79) and (24.30 ± 49.33) mg/L, respectively for isolates collected during 2012 to 2013 and during 2017 to 2018. The total resistance frequency during 2012 to 2013 was 15.3% and all resistant isolates were low-level resistant (LR). For the isolates collected from 2017 to 2018, the total resistance frequency was increased to 53.2%, including 7.5% MR isolates and 1.3% HR isolates.

收稿日期: 2018-08-25; 录用日期: 2018-09-28.

基金项目: 浙江省重点研发项目 (2015C02G1320008).

作者简介: 林泽松, 男, 硕士, 主要从事植物病害研究, E-mail: 345196552@qq.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

There was no significant difference in mycelial growth, sporulation, sclerotial production, and pathogenicity between boscalid resistant and sensitive isolates. No point mutation was detected in SDH A and SDH D. However, a single point mutation, H272R, P225, or N230I, was found in SDH B of all boscalid-resistant *B. cinerea*. Among them, 88.5% of resistant isolates were H272R. And no obvious association was found between boscalid-resistance and mutations (G85A + I93V + M158V + V168I) in SDH C.

Keywords: *Botrytis cinerea*; succinate dehydrogenase inhibitor (SDHIs); boscalid; resistance monitoring; resistance mechanism

灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 可为害近 600 属 1 000 余种植物, 引起灰霉病, 严重影响田间及大棚设施蔬菜、水果等的产量和品质^[1]。在植物病原真菌危害评估中, 灰葡萄孢排在第 2 位, 仅次于稻瘟病菌^[2]。以草莓为例, 中国草莓的年产量和栽培面积均超过世界总量的 1/3, 稳居世界第一位, 浙江省则是草莓的主产区之一, 其中建德市还创新性地建起了“草莓小镇”。灰霉病可造成草莓花及果实腐烂, 低温、高湿天气发病更为严重, 一般可减产 30% 左右, 严重时可达 60% 以上^[3]。

化学防治是目前防治灰霉病的主要措施, 以啮酰菌胺 (boscalid) 为代表的琥珀酸脱氢酶抑制剂类 (SDHIs) 杀菌剂是近 10 年来生产上广泛应用的主要药剂类型之一。啮酰菌胺由德国巴斯夫公司于 1992 年发现其具有杀菌活性并申请专利, 现已在 50 多个国家获准登记, 用于防治 100 多种作物上包括灰霉病在内的 80 多种病害^[4-5]。灰葡萄孢具有繁殖和遗传变异快、再侵染频繁等特点, 很容易产生抗药性, 属于具有高抗药性风险的病原菌之一^[6]。本研究以笔者等于啮酰菌胺在中国灰霉病防治上大面积应用之前所建立的敏感性基线为依据^[7], 采用菌丝生长速率法, 连续监测了浙江省果蔬上灰葡萄孢对啮酰菌胺的敏感性变化, 并分析了相应的抗性分子机制, 以期生产中灰葡萄孢对啮酰菌胺的抗性研究和治理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试药剂

95% 啮酰菌胺 (boscalid) 原药, 由浙江来益生物技术有限公司提供, 用丙酮配制成 4×10^4 mg/L 的母液, 4 °C 下保存。

1.2 菌株的采集与分离

从浙江省杭州市、宁波市、嘉兴市及建德市

等 10 个地区的草莓、番茄、黄瓜和葡萄栽培大棚中随机采集已感染灰霉病的病果, 参考文献方法对灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 进行分离、鉴定和保存^[7]。来源于每一病果的病原菌保留 1 株, 每个采样大棚保留 5~7 株。所有菌株均在 4 °C 下保存于马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 斜面上。

1.3 抗药性监测

采用菌丝生长速率法^[7-8]。各菌株先在 PDA 平板上于 23 °C 下活化培养 3 d, 然后制取直径 5 mm 的菌丝块并接种到含系列浓度药剂的 PDA 平板中央, 以不含药剂者为对照 (CK), 每处理重复 2 次。药剂处理具体系列浓度根据不同菌株对啮酰菌胺的敏感性来确定。23 °C 下培养 3 d 后测量各处理的菌落直径 (cm), 取平均值计算抑制率 (%)。利用 DPS 软件, 通过浓度对数值 (x)-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 (EC₅₀)。以 2004—2006 年采集的果蔬灰葡萄孢对啮酰菌胺的敏感性基线^{[(1.07 ± 0.11) mg/L]^[7]}为依据, 计算抗性倍数 (RF) 值 (RF = 菌株 EC₅₀ 值/敏感性基线)。根据 RF 值, 参考赵建江等的方法^[9]确定各菌株的敏感性类型: RF < 10 为敏感菌株 (S); $10 \leq \text{RF} < 50$ 为低水平抗药性菌株 (LR); $50 \leq \text{RF} < 100$ 为中等水平抗药性菌株 (MR); RF ≥ 100 为高水平抗药性菌株 (HR)。

1.4 抗药性菌株适合度测定

随机选择啮酰菌胺抗性菌株和敏感菌株各 5 株, 参考文献^[8]的方法分别测定各菌株的生长速率、产孢量、产菌核数和致病力。各菌株分别在 PDA 平板上于 23 °C 预培养 3 d, 打取直径为 5 mm 的菌块, 接种于 PDA 平板中央, 每株菌接种 9 个平板。23 °C 培养 3 d 后采用十字交叉法随机测量其中 3 个平板的菌落直径, 用其平均值代表生长能力; 7 d 后向其中 3 个平板各加入 10 mL 无菌

水, 制成孢子悬浮液, 在血球计数板上统计各菌株的孢子悬浮液浓度, 以其平均值代表产孢能力; 15 d 后统计剩余 3 个平板上的产菌核数量。整个试验重复 3 次。

各菌株于 23 ℃ 培养箱中培养 3 d 后打取 5 mm 菌块, 接种至 2 叶期黄瓜叶片中央, 每张叶片接种 1 个菌块, 每株菌接种 5 张叶片, 于 23 ℃ 培养箱中保湿培养 3 d 后, 统计各叶片上病斑直径, 以

其平均值代表致病能力。试验重复 3 次。

1.5 抗药性分子机制分析

根据敏感性测定结果, 随机选取敏感性不同的部分菌株, 以其 DNA 为模板, 运用 4 对引物(表 1) 分别扩增琥珀酸脱氢酶 (SDH) 的 SDH A、SDH B、SDH C 和 SDH D 4 个亚基的 DNA 片段, 并对其进行测序, 结果采用 BIOXM 软件, 与 NCBI 中的 BLAST 进行序列比对分析及数据处理。

表 1 PCR 扩增所用引物
Table 1 Primers used for PCR reaction

基因名称 Gene name	引物名称 Primer	序列 Sequence (5'→3')	序列长度 Size/bp	退火温度 Annealing temperature/℃
SDH A	LzsSdhA-F	ATTTGGAACGCCCTTGGAC	3 065	54
	LzsSdhA-R	CATTACCGAACAAATCCCGCA		
SDH B	LzsSdhB-F	ACCTACTCGCCCTATCCAAT	1 077	54
	LzsSdhB-R	AGACTTAGCAATAACCGCCC		
SDH C	LzsSdhC-F	GCCAGATTTCCTTAGTCAG	1 208	52
	LzsSdhC-R	GCTGGACTCTGAATGTGAT		
SDH D	LzsSdhD-F	AGCCAATCAAATCCGTTCCG	854	56
	LzsSdhD-R	CAAACCTCCTCCCTGCCCTCT		

2 结果与分析

2.1 抗药性监测结果

2004—2006 年于浙江、江苏等地采集的果蔬灰葡萄孢对啮酰菌胺的敏感性基线 EC₅₀ 值为 (1.07±0.11) mg/L^[7]。2012—2013 年和 2017—2018 年分别采集、检测了 236 和 240 株果蔬灰葡萄孢, 结果表明, 浙江省果蔬灰葡萄孢对啮酰菌胺的敏感性呈现明显降低的趋势(表 2)。其中 2012—2013 年的 EC₅₀ 值在 0.11~32.05 mg/L 之间, 平均 EC₅₀

值为 (5.23±7.79) mg/L, 是敏感性基线的 4.9 倍; 2017—2018 的 EC₅₀ 值在 0.11~679.56 mg/L 之间, 平均 EC₅₀ 值为 (24.30±49.33) mg/L, 是敏感性基线的 22.7 倍。从抗药性菌株发生频率看, 2012—2013 年总的抗性频率为 15.3%, 且均为低水平抗性 (LR) 菌株; 而 2017—2018 年总的抗药性菌株频率上升至 53.2%, 且其中包括了 7.5% 的中等水平抗性 (MR) 菌株和 1.3% 的高水平抗性 (HR) 菌株。

表 2 浙江省果蔬灰葡萄孢对啮酰菌胺的敏感性变化

Table 2 Shift of sensitivity to boscalid in *B. cinerea* collected from fruits and vegetables in Zhejiang Province

采样年份 Sampled year	EC ₅₀ 值范围 EC ₅₀ range/(mg/L)	平均 EC ₅₀ 值 Mean EC ₅₀ value/(mg/L)	敏感性表型 Sensitive phenotype			
			敏感 S	低水平抗性 LR	中等水平抗性 MR	高水平抗性 HR
2004—2006	0.09~3.69	1.07±0.11	228 (100.0%) [*]	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
2012—2013	0.11~32.05	5.23±7.79	200 (84.7%)	36 (15.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
2017—2018	0.11~679.56	24.30±49.33	112 (46.7%)	107 (44.6%)	18 (7.5%)	3 (1.3%)

注: ^{*}菌株数 (频率)。
Note: ^{*}No. of isolates (Frequency).

2.2 抗药性菌株的适合度

结果(表 3) 表明, 5 株抗药性菌株及 5 株敏感菌株间菌丝生长速率、产孢量、产菌核数及致病力差异与其对啮酰菌胺的敏感性之间并无明显联

系, 表明抗药性菌株的适合度未出现明显下降。

2.3 抗药性分子机制分析

对随机选取的 38 株灰葡萄孢 (含 12 株 S、16 株 LR、8 株 MR 和 2 株 HR) SDH 4 个亚基的

表 3 灰葡萄孢对啶酰菌胺抗性和敏感菌株菌丝生长速率、产孢量、产菌核数及致病力比较

Table 3 Comparison in growth rate, sporulation, sclerotial production and pathogenicity between boscalid resistant and sensitive isolates of *B. cinerea*

菌株 Isolate	EC ₅₀ /(mg/L)	表型 Phenotype	菌落直径 Colony diameters/cm	产孢量 (×10 ⁶)/(个/mL) Sporulation capacity (×10 ⁶)/(spore/mL)	产菌核数 No. of sclerotial	病斑直径 Scab diameters/cm
X12-1	31.84	R	6.60 c	2.43 ab	57 e	3.47 e
X12-4	12.51	R	5.87 b	2.67 ab	59 e	3.27 de
Z13-8	12.05	R	5.53 a	2.50 ab	38 a	3.07 bcde
ZJ12-6	27.64	R	6.43 c	2.53 ab	47 d	2.97 cd
JD13-2	34.79	R	5.67 ab	2.57 ab	43 c	2.47 a
X13-2	0.45	S	5.57 ab	2.57 ab	58 e	3.13 bcde
B13-6	0.83	S	5.57 ab	2.37 a	39 ab	2.83 abc
Z12-1	0.98	S	5.87 b	2.37 a	46 d	3.37 de
BQ12-3	0.40	S	5.43 a	2.73 b	42 bc	3.33 de
GS13-6	1.13	S	6.30 c	2.70 b	57 e	2.77 ab

注：数据为平均值 (n = 3)，同列数据后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: Difference was analyzed among the three treatments of each site and different letters indicate significant differences among different treatments (Turkey's multiple comparison, *P* < 0.05).

序列进行了分析，结果 (表 4) 表明：敏感 (S) 菌株除 X17-22 外，其余菌株的 SDH B 均未发生突变。而啶酰菌胺不同抗性水平菌株的 SDH B 均发生了点突变，包括：272 位由组氨酸 (His) 突变为精氨酸 (Arg)，即 H272R；225 位由脯氨酸 (Pro) 突变为苯丙氨酸 (Phe)，即 P225F；230 位由天冬氨酸 (Asn) 突变为异亮氨酸 (Ile)，即 N230I。其中 H272R 型突变占绝大多数，共 23 株，P225F 和 N230I 型突变分别有 1 株和 2 株。所有菌株的 SDH A 和 SDH D 均未发现突变。在 SDH C 亚基序列分析中，抗、感菌株均有在 85、93、158 和 168 位同时发生 4 点突变的情况 (G85A + I93V + M158V + V168I)，即同时在 85 位由甘氨酸 (Gly) 突变为丙氨酸 (Ala)，93 位由异亮氨酸 (Ile) 突变为缬氨酸 (Val)，158 位由甲硫氨酸 (Met) 突变为缬氨酸 (Val)，以及 168 位由缬氨酸 (Val) 突变为异亮氨酸 (Ile)；而其中在 SDH C 亚基 80 位发生 I80H 点突变的菌株 [即由异亮氨酸 (Ile) 变为组氨酸 (His)] 均为抗性菌株。

3 结论与讨论

近几年的研究发现，生产中灰葡萄孢对啶酰菌胺已产生不同程度的抗性^[9-11]。本研究在前期建立的灰葡萄孢对啶酰菌胺的敏感性基线^[7]基础上，连续监测了病原菌群体对啶酰菌胺的敏感性变化。结果表明：浙江省果蔬灰葡萄孢对啶酰菌胺的抗性发展迅速，与 2004—2006 年相比，其抗药

性频率于 2012—2013 年上升至 15.3%，2017—2018 年高达 53.2%，抗性菌株已成为优势群体；不过大多数抗性菌株为低水平抗性 (LR)，中等 (MR) 及高水平抗性 (HR) 菌株发展相对较慢，2012—2013 年发生频率为 0，2017—2018 年为 8.8%。说明在加大施药剂量的前提下，啶酰菌胺在果蔬灰霉病防治上还有一定的应用价值。但是，生产上必须重视灰葡萄孢对啶酰菌胺抗性的延缓与治理，因此实际应用时最好在明确抗药性现状的基础上有针对性地用药。目前关于灰葡萄孢对多菌灵 (carbendazim)、嘧菌酯 (azoxystrobin) 等药剂抗性的快速检测技术已有报道^[1, 12]，而对于主要药剂之一啶酰菌胺抗性的现场快速检测技术还有待进一步研究开发。

另外，本研究依据 RF 值，参考赵建江等的方法^[9]来确定菌株是否具有抗药性，该方法根据 FAO 推荐的常规抗药性检测方法，以 RF ≥ 10 作为抗药性菌株的判定标准^[13]。除了 RF 值，国内外也有研究采用区分剂量法来检测灰葡萄孢对啶酰菌胺的抗性^[14]。

已有研究表明，灰葡萄孢对啶酰菌胺的抗性是由琥珀酸脱氢酶 B 亚基的突变引起的，但相关的突变类型较多，其中以 P225L/F/T 和 H272Y/R/L 较为常见^[15]。本研究未发现 SDH A、SDH C 和 SDH D 亚基存在和对啶酰菌胺抗性相关的突变，而抗药性菌株的 SDH B 则均发生了点突变，包括 H272R、P225F 和 N230I 3 种类型，其中 H272R 型

表 4 啮酰菌胺抗性及敏感菌株中 SDH 上 4 个亚基序列比对分析

Table 4 Comparison of boscalid-sensitive and resistant isolates of *B. cinerea* in four subunits of SDH, including SDH A, SDH B, SDH C and SDH D

菌株 Isolate	啮酰菌胺敏感性 Sensitivity to boscalid		SDH 突变情况 Mutations in SDH			
	EC ₅₀ /(mg/L)	表型 Phenotype	SDH A	SDH B	SDH C	SDH D
XB17-05	78.29	MR	—	P225F	—	—
LB17-04	34.83	LR	—	N230I	—	—
LB12-17	67.76	MR	—	N230I	—	—
XB17-01	1.232	S	—	—	—	—
LB17-22	0.616	S	—	—	—	—
LB17-06	1.247	S	—	—	—	—
AB17-01	3.187	S	—	—	—	—
LB13-07	2.062	S	—	—	—	—
LB17-18	1.784	S	—	—	—	—
SB17-26	0.112	S	—	—	—	—
AB13-08	0.392	S	—	—	—	—
JB17-19	1.534	S	—	—	—	—
JB17-38	41.07	LR	—	H272R	—	—
SB12-18	43.84	LR	—	H272R	—	—
XB17-02	45.65	LR	—	H272R	—	—
SB17-31	26.49	LR	—	H272R	—	—
LB17-19	50.13	LR	—	H272R	I80H	—
LB13-36	48.34	LR	—	H272R	I80H	—
LB17-40	65.28	MR	—	H272R	I80H	—
QB12-37	26.64	LR	—	H272R	—	—
HB17-39	69.63	MR	—	H272R	—	—
B17-07	233.7	HR	—	H272R	—	—
QB13-22	22.83	LR	—	H272R	—	—
B17-10	59.10	MR	—	H272R	—	—
SB12-14	80.13	MR	—	H272R	—	—
B17-29	31.51	LR	—	H272R	—	—
X17-03	57.42	MR	—	H272R	—	—
QB13-01	17.99	LR	—	H272R	G85A, I93V, M158V, V168I	—
X17-22	1.752	S	—	H272R	G85A, I93V, M158V, V168I	—
SB12-17	97.38	MR	—	H272R	G85A, I93V, M158V, V168I	—
JB17-30	679.56	HR	—	H272R	G85A, I93V, M158V, V168I	—
SB12-02	30.37	LR	—	H272R	G85A, I93V, M158V, V168I	—
B17-03	47.38	LR	—	H272R	G85A, I93V, M158V, V168I	—
SB13-10	32.66	LR	—	H272R	G85A, I93V, M158V, V168I	—
SB17-11	20.99	LR	—	H272R	G85A, I93V, M158V, V168I	—
JB12-08	53.45	LR	—	H272R	G85A, I93V, M158V, V168I	—
PB17-01	0.684	S	—	—	G85A, I93V, M158V, V168I	—
TB13-09	0.758	S	—	—	G85A, I93V, M158V, V168I	—

注：— 表示未发生突变。
Note: — mean that none mutation was found.

突变占 88.5%。但也存在个别例外情况，如敏感菌株 X17-22 的 SDH B 亚基虽然也发生了 H272R 突变，却依然对啮酰菌胺敏感，其具体调控机制

还有待进一步研究。
本研究表明，在浙江省果蔬田间，目前可考虑通过检测 H272R 突变实现对大多数啮酰菌胺抗

性灰葡萄孢菌株的快速检测，以指导灰霉病的科学合理防治，但同时还需密切关注其他突变类型的发生及发展情况，以保证检测结果的科学性和准确性。

参考文献 (Reference):

[1] HU X R, DAI D J, WANG H D, et al. Rapid on-site evaluation of the development of resistance to quinone outside inhibitors in *Botrytis cinerea*[J]. [Sci Rep](#), 2017, 7(1): 13861.

[2] DEAN R, VAN KAN J A L, PRETORIUS Z A, et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology[J]. [Mol Plant Pathol](#), 2012, 13(4): 414-430.

[3] WILLIAMSON B, TUDZYNSKI B, TUDZYNSKI P, et al. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease[J]. [Mol Plant Pathol](#), 2007, 8(5): 561-580.

[4] 张一宾. 芳酰胺类杀菌剂的沿革：从萎锈灵、灭锈胺、氟酰胺到吡噻菌胺、啉酰菌胺[J]. [世界农药](#), 2007, 29(1): 1-7.

ZHANG Y B. History of carboxamide fungicides: from benodanil, mepronil and flutolanil to penthiopyrad and boscalid[J]. [World Pestic](#), 2007, 29(1): 1-7.

[5] 何秀玲, 张一宾. 甲氧基丙烯酸酯类和酰胺类杀菌剂品种市场和抗性发展情况[J]. [世界农药](#), 2013, 35(3): 14-19.

HE X L, ZHANG Y B. Market and resistance of strobilurin and carboxamide fungicides[J]. [World Pestic](#), 2013, 35(3): 14-19.

[6] KRETSCHMER M, LEROCH M, MOSBACH A, et al. Fungicide-driven evolution and molecular basis of multidrug resistance in field populations of the grey mould fungus *Botrytis cinerea*[J]. [PLoS Pathog](#), 2009, 5(12): e1000696.

[7] ZHANG C Q, YUAN S K, SUN H Y, et al. Sensitivity of *Botrytis cinerea* from vegetable greenhouses to boscalid[J]. [Plant Pathol](#), 2007, 56(4): 646-653.

[8] 皇甫运红, 戴德江, 时浩杰, 等. 浙江省果蔬灰霉病菌对啉菌酯的抗

药性研究[J]. [农药学学报](#), 2013, 15(5): 504-510.

HUANGFU Y H, DAI D J, SHI H J, et al. Study on resistance of *Botrytis cinerea* to azoxystrobin collected from fruits and vegetables in Zhejiang Province[J]. [Chin J Pestic Sci](#), 2013, 15(5): 504-510.

[9] 赵建江, 路粉, 吴杰, 等. 河北省设施番茄灰霉病菌对啉酰菌胺和咯菌腈的敏感性[J/OL]. [植物病理学报](#), (2017-12-05) [2018-08-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2184.S.20171205.1639.001.html>.

ZHAO J J, LU F, WU J, et al. Sensitivity of *Botrytis cinerea* from greenhouses in Hebei Province to boscalid and fludioxonil[J/OL]. [Acta Phytopathologica Sinica](#), (2017-12-05) [2018-08-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2184.S.20171205.1639.001.html>.

[10] LEROUX P. Chemical control of botrytis and its resistance to chemical fungicides[M]//ELAD Y, WILLIAMSON B, TUDZYNSKI P, et al. *Botrytis*: Biology, Pathology and Control. Dordrecht: Springer, 2007: 195-222.

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

[12] DUAN Y B, GE C Y, ZHANG X K, et al. Development and evaluation of a novel and rapid detection assay for *Botrytis cinerea* based on loop-mediated isothermal amplification[J]. [PLoS One](#), 2014, 9(10): e111094.

[13] F AO. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides[J]. [FAO Plant Prot Bul](#), 1982, 30(2): 30-36.

[14] HU M J, FERNÁNDEZ-ORTUÑO D, SCHNABEL G, et al. Monitoring resistance to SDHI fungicides in *Botrytis cinerea* from strawberry fields[J]. [Plant Dis](#), 2016, 100(5): 959-965.

[15] BARDAS G A, VELOUKAS T, KOUTITA O, et al. Multiple resistance of *Botrytis cinerea* from kiwifruit to SDHIs, QoIs and fungicides of other chemical groups[J]. [Pest Manag Sci](#), 2010, 66(9): 967-973.

(责任编辑: 唐 静)