

• 研究论文 •

烟草黑胫病菌抗甲霜灵突变体的诱导及其适合度研究

许学明¹, 王开运^{* 2}, 段海明², 林才华², 张文成²

(1 连云港职业技术学院, 江苏 连云港 222006; 2 山东农业大学 植物保护学院, 山东 泰安 271018)

摘要: 室内离体条件下采用药剂诱导法, 获得了 11 个烟草黑胫病菌抗甲霜灵突变体; 检测了所有抗药突变体的抗药稳定性及抗性水平; 比较了 3 个低抗和 1 个高抗突变体的适合度。结果表明: 在 2~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内, 抗药突变体的发生频率随甲霜灵诱导浓度的增加而提高; 所有抗药突变体的抗药性都能稳定遗传; 11 个抗药突变体中, 10 个为低抗突变体 (抗性水平 3.55~13.9 倍, 平均 8.60 倍), 1 个为高抗突变体 (抗性水平 510 倍); 低抗菌株 20M-001、10M-003、10M-006 和高抗菌株 10M-004 的适合度指数分别为 0.56、0.38、0.38 和 0.87, 抗药突变体的适合度指数与抗性水平不相关。

关键词: 烟草黑胫病菌; 抗甲霜灵; 抗药稳定性; 抗性水平; 适合度

中图分类号: S481.4

文献标志码: A

文章编号: 1008-7303(2008)01-0035-06

Studies on Induction and Fitness of Metalaxyl-resistant Mutants in *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*

XU Xue-ming¹, WANG Kai-yun^{* 2}, DUAN Hai-ming², LIN Cai-hua², ZHANG Wen-cheng²

(1 Lianyungang Technical College, Lianyungang 222006, Jiangsu Province, China;

2 College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong Province, China)

Abstract Eleven metalaxyl-resistant isolates were obtained from sensitive strain of *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae* on plates containing series concentration of metalaxyl. The stability and levels of resistance for all the resistant isolates were determined, the fitness of 3 low and 1 high level of resistant isolates was compared. The results showed that the occurrence frequency of the resistant isolates increased when metalaxyl concentration increased within the range from 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ to 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$; the resistance of all the resistant isolates could be maintained stably subculturing on OA plates; the mutants could be classified into two phenotypes of resistance: 10 low resistant isolates, whose resistance levels ranged from 3.55 to 13.9-fold with the average of 8.60 and 1 high resistant isolate, whose resistance level was 510-fold; the fitness index of the low resistant isolates of 20M-001, 10M-003, 10M-006 and the high resistant isolate of 10M-004 were 0.56, 0.38, 0.38 and 0.87, respectively; there was no correlation between the fitness index and the resistance level of the resistant isolates.

Key words *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae*; metalaxyl-resistant; stability of resistance; resistance level; fitness

收稿日期: 2007-08-09 修回日期: 2007-12-15

作者简介: 许学明 (1963-), 男, 江苏滨海人, 博士, 高级农艺师, E-mail: xuxueming4569@126.com; * 通讯作者 (Author for correspondence): 王开运 (1954-), 男, 山东滕州人, 教授, 博士生导师, 主要从事农药毒理及有害生物抗药性研究. 联系电话: 0538-8242345 E-mail: kywang@sdau.edu.cn

基金项目: 国家烟草专卖局重点项目 (国烟科 [2003] 579 号).

烟草黑胫病 (tobacco black shank) 是世界烟草生产中危害最严重的病害之一, 也是我国烟草的主要病害^[1]。目前对该病仍以化学防治为主, 且主要推广应用抑菌活性强、使用安全的甲霜灵。

甲霜灵 (metalaxyl) 属苯基酰胺类杀菌剂, 具有优良的保护、治疗和铲除作用, 尤其对卵菌纲中的霜霉属、疫霉属和腐霉属的病原菌具有很强的活性^[2], 被广泛用于由卵菌所致植物病害的防治^[3]。因甲霜灵具有低毒、高效和持效期长的特性, 故在同类杀菌剂中使用最为广泛^[4], 但由于其作用位点单一, 病菌易对其产生抗性^[5], 如许多疫霉属真菌已普遍对其产生了抗性^[6-9]。而有关烟草黑胫病菌对甲霜灵抗性的研究鲜有报道^[10]。

本研究试图通过对烟草黑胫病菌进行药剂驯化, 获得抗甲霜灵的突变体, 检测抗药突变体的抗药稳定性及抗性水平, 明确突变体的适合度。旨在为延缓田间该病菌对甲霜灵的抗性发展和综合治理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 ZC002 采自山东省诸城市烟区的典型病株, 经分离纯化鉴定^[11]为烟草黑胫病菌 *Phytophthora nicotianae* var *nicotianae*, 对甲霜灵敏感。

1.1.2 供试药剂 98.0% 甲霜灵 (metalaxyl) 原粉, 由山东海利尔药业有限公司提供。

1.1.3 培养基 燕麦琼脂培养基 (OA): 称取燕麦片 50 g 加入 1 000 mL 去离子水, 在 60℃ 恒温水浴锅中加热 1 h, 经 4 层纱布过滤去渣, 滤液用去离子水定容至 1 000 mL。加入琼脂条 18 g 微波炉加热至琼脂条完全溶化后趁热分装, 121℃ 蒸汽湿热灭菌 30 min。

含药 OA: 参照王革^[12]的方法, 先将甲霜灵用

丙酮配制成有效成分质量分数为 10% 的母液, 置于 4℃ 冰箱中备用。测定时, 根据含药浓度与 OA 的用量, 用移液管吸取一定量的药剂母液稀释液加入融化并冷却至 60℃ 的培养基中, 充分摇匀。

1.2 试验方法

1.2.1 抗甲霜灵突变体的诱导及验证 参照 Chang 等^[7]的方法。打取敏感菌株 ZC002 (S) ϕ 7 mm 菌饼 4 × 40 枚, 分别移至含有 2.5、10、20 μ g/mL 甲霜灵的 OA 平板上, 于 (26 ± 0.5)℃ 下黑暗诱变培养。第 9 d 开始检查快速生长角变区发生情况, 每 2 d 检查 1 次, 至菌落长满平板为止。按诱变浓度和发现顺序对快速生长角变区编号, 并打取 ϕ 7 mm 菌饼 1 枚, 转接到相同浓度的含药 OA 平板上, 置于 (26 ± 0.5)℃ 黑暗培养。若能较好生长, 再转接培养 1 次。以 S 为对照, 重复 4 次, 每重复 1 皿。采用十字交叉法测量菌落直径, 计算菌落径向生长量, 并检验其差异显著性。若差异达到极显著, 则可确定上述已编号的快速生长角变区为抗甲霜灵突变体。

1.2.2 抗甲霜灵突变体的抗药稳定性测定 将各抗药突变体在 OA 平板上继代培养 8 次, 每次将培养好的菌株保存于 10℃ 冰箱中, 最终一并取出测定甲霜灵对各代菌株的菌落生长抑制率。打取 ϕ 7 mm 菌饼, 分别转接至含 20 μ g/mL (除 10M-004 以外的其他 10 个突变体) 和 200 μ g/mL (10M-004) 甲霜灵的 OA 平板中, 以 OA 平板为对照, 置于 (26 ± 0.5)℃ 下黑暗培养 78 h。每个突变体的 2、4、6 代均重复 3 次, 每重复 5 皿, 每皿 1 枚菌饼。测量菌落直径, 计算菌落生长抑制率, 并检验甲霜灵对突变体各代菌落生长抑制率的差异显著性。若无显著差异, 则说明各代的抗性未发生显著变化, 表明抗药突变体具有较高的抗药稳定性。

1.2.3 抗甲霜灵突变体抗性水平的测定 参照王革^[12]的方法, 测定甲霜灵对所有抗药突变株 (均为第 8 代) 的 EC_{50} 值, 以敏感菌株 ZC002 为对照。按下式计算各抗性突变体的抗性水平:

$$\text{抗性水平} = \frac{\text{抗性突变体的 } EC_{50} \text{ 值}}{\text{敏感菌株 ZC002 的 } EC_{50} \text{ 值}}$$

1.2.4 抗甲霜灵突变株的适合度测定 菌落生长速率: 打取抗性突变体 (R) 和敏感菌株 (S) ϕ 7 mm 菌饼, 分别转接到 OA 平板上, 置于 (26 ± 0.5)℃ 下黑暗培养 78 h。每菌株重复 4 次, 每重复 5 皿, 每皿 1 枚菌饼。测量菌落直径, 并计算日径向生长量。

孢子囊产生量: 参照郑小波^[11]的方法。在 OA

平板上 (26 ± 0.5) °C 黑暗培养 8 d 的 R 和 S 菌落上随机打取 ϕ 7 mm 菌饼, 移入含 15 mL 质量浓度为 0.2% 硝酸钾 (灭菌去离子水配制) 的灭菌培养皿中, 置于 (26 ± 0.5) °C 下黑暗诱导培养 6 d。每菌株重复 3 次, 每重复 1 皿, 每皿移入 5 个菌饼。将培养皿中的菌饼充分破碎混匀后, 每皿随机挑取 5 块菌丝体在 10×10 倍下对孢子囊镜检计数。

活体致病力: R 和 S 致病力的测定参照王革^[13]的方法并有所改进。沿 OA 平板 (26 ± 0.5) °C 下黑暗培养 7 d 的菌落边缘打取 ϕ 7 mm 菌饼, 接种 (5 号昆虫解剖针, 6 针束轻刺) 到 8 叶期红花大金元烟苗茎中部 (倒数第 3 叶叶柄基部对面), 束脱脂棉并滴加无菌水保湿 36 h, 置于 25~35 °C 的玻璃温室中培养。每菌株接种 4 株烟苗, 每株烟苗接 1 枚菌饼, 重复 3 次。接种后第 2 d 起逐日记

录每株烟苗的病斑长度和病情级别^[14], 计算病情指数^[15]和适合度指数。

病情级别划分标准: 0 级, 全株无病; 1 级, 茎部病斑不超过茎围的 1/2; 2 级, 茎部病斑超过茎围的 1/2; 3 级, 茎部病斑环绕茎围; 4 级, 病株枯死。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum (\text{发病级别} \times \text{各级别病株数})}{\text{样本总数} \times \text{最高分级级别}} \times 100$$

适合度指数是指综合适合度, 由菌落生长速率、孢子囊产生量、病斑长度和病情指数四方面的适合度复合构成, 且这四方面相互影响、密不可分。因此, 抗性突变株的适合度指数应为四个单项适合度指数的几何平均数。其计算公式如下:

$$\text{适合度指数} = \left[\frac{\text{R 的菌落生长速率}}{\text{S 的菌落生长速率}} \times \frac{\text{R 孢子囊产生量}}{\text{S 孢子囊产生量}} \times \frac{\text{R 病斑长度}}{\text{S 病斑长度}} \times \frac{\text{R 病情指数}}{\text{S 病情指数}} \right]^{1/4}$$

试验数据均由 Microsoft Excel 2003、DPS 数据处理工作平台进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 诱导药剂浓度对抗药突变体发生频率的影响

诱导结果 (图 1) 显示, 在 2~20 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 抗药突变体发生频率随甲霜灵浓度的增加而提高, 且突变频率与浓度正相关。

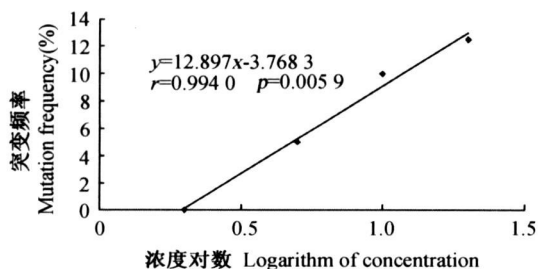


图 1 甲霜灵浓度与抗药突变体发生频率的相关性分析

Fig 1 Correlation analysis on metaxyl concentration and the frequency of mutation

2.2 抗药突变体的抗药稳定性

差异显著性检验结果 (表 1) 显示: 甲霜灵对 11 个抗药突变体不同世代的菌落生长抑制率, 有 6 株 (5M-001、10M-003、10M-006、20M-002、20M-003、20M-005) 在第 4 代至第 8 代之间无显著差异, 即 54.54% 突变体的抗药性从第 4 代开始才达

到了高标准的遗传稳定, 5 株 (5M-007、10M-004、10M-005、20M-001、20M-004) 在第 6 代至第 8 代之间无显著差异, 即 45.45% 突变体的抗药性直到第 6 代才开始达到高标准的遗传稳定; 有两株 (5M-001、20M-003) 在第 2 代至第 8 代之间无极其显著差异, 即 18.18% 突变体的抗药性从第 2 代开始就达到了低标准的遗传稳定, 有 5 株 (10M-003、10M-006、20M-001、20M-002、20M-005) 在第 4 代至第 8 代之间无极其显著差异, 即 45.45% 突变体的抗药性从第 4 代开始就达到了低标准的遗传稳定, 4 株 (5M-007、10M-004、10M-005、20M-004) 则 在第 6 代至第 8 代之间无极其显著差异, 即 36.36% 突变体的抗药性直到第 6 代才开始达到低标准的遗传稳定。

尽管甲霜灵对 11 个抗药突变体不同世代间的菌落生长抑制率的变化趋势复杂, 但最后都从第 2 代、第 4 代或第 6 代开始稳定下来, 说明所有抗药突变体的抗药性都能稳定保持。

2.3 抗药突变体的抗性水平

测定结果 (表 2) 显示: 10M-004 的抗性水平最高, 达 510 倍; 其他 10 个抗药突变体抗性达 3.55~13.9 倍, 平均 8.60 倍。根据抗性水平的划分标准^[16]: 高抗 > 100 倍, 中抗 20~100 倍, 低抗 < 20 倍, 即 9.09% 的抗药突变体属高抗菌株, 90.91% 的抗药突变体属低抗菌株, 未出现中抗菌株。提示抗甲霜灵突变可能属于质量性状的突变, 这与目前公认的结论一致。

表 1 甲霜灵对抗药突变体不同世代的菌落生长抑制率

Table 1 Inhibition of metalaxyl on the colonial growth of different generations of the resistant isolates				
抗药突变体 Resistant isolate	菌落生长抑制率 Inhibition of colonial growth(%)			
	第 2代 2nd Generation	第 4代 4th Generation	第 6代 6th Generation	第 8代 8th Generation
5M-001	55.97 b A	72.15 a A	71.32 a A	70.78 a A
5M-007	66.00 b B	75.20 b AB	88.53 a A	85.74 a A
10M-003	86.89 a A	78.23 b B	81.24 b B	78.58 b B
10M-004	70.34 a A	49.95 b B	70.79 a A	72.62 a A
10M-005	60.99 b B	61.53 b B	83.36 a A	81.18 a A
10M-006	67.08 a A	55.17 b B	48.00 b B	47.22 b B
20M-001	79.90 c B	91.19 b A	92.76 ab A	95.37 a A
20M-002	48.64 b B	57.77 ab AB	62.98 ab AB	70.78 a A
20M-003	86.40 a A	79.86 b A	84.65 ab A	81.21 b A
20M-004	68.30 c C	76.15 b B	87.56 a A	83.42 a A
20M-005	63.65 b B	82.82 a A	84.94 a A	84.43 a A

注:表中同一行数据后标相同小写(大写)字母者表示经 Duncan 氏新复极差测验,在 $P_{0.05}(P_{0.01})$ 水平上差异不显著。
Note Data in a row followed by the same small (capital) letters are not significantly different at $P_{0.05}(P_{0.01})$ by Duncan's multiple range test respectively.

表 2 烟草黑胫病菌抗药突变体对甲霜灵的抗性水平

Table 2 Resistance levels of the resistant isolates of P. nicotianae var nicotianae to metalaxyl				
突变体 Isolate	毒力回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	EC ₅₀ 值 EC ₅₀ value /(μg/mL)	抗性水平 Resistance level
5M-001	Y = 4.5699 + 0.7778x	0.9719	3.573	11.3
5M-007	Y = 4.7673 + 0.8738x	0.9839	1.846	5.82
10M-003	Y = 4.6630 + 0.7040x	0.9894	3.011	9.50
10M-004	Y = -6.8316 + 5.3563x	0.9743	161.8	510
10M-005	Y = 4.6577 + 0.8524x	0.9876	2.521	7.95
10M-006	Y = 4.4695 + 0.8224x	0.9897	4.416	13.9
20M-001	Y = 4.9527 + 0.9193x	0.9973	1.126	3.55
20M-002	Y = 4.4697 + 0.9240x	0.9856	3.749	11.8
20M-003	Y = 4.6367 + 0.8623x	0.9796	2.638	8.32
20M-004	Y = 4.7388 + 0.8402x	0.9899	2.046	6.45
20M-005	Y = 4.6685 + 0.8970x	0.9880	2.342	7.38
ZC002	Y = 5.4818 + 0.9672x	0.9846	0.317	1.00

2.4 抗药突变体的适合度

2.4.1 抗药突变体与敏感菌株菌落生长速率及孢子囊产生量的比较 测定结果(表 3)显示:菌落生长速率由高到低依次为: ZC002、20M-001、10M-006、10M-003、10M-004、ZC002 与 10M-004 差异显著;孢子囊产生量由大到小依次为: ZC002、10M-004、20M-001、10M-006、10M-003,前两者与后 3 者差异极显著, ZC002 与 10M-004 差异显著。

2.4.2 抗药突变体与敏感菌株病斑长度及病情指数的比较 测定结果(表 3)显示:接种后 5 d 的

病斑长度由长到短依次为: ZC002、10M-004、20M-001、10M-003、10M-006,前两者与后 3 者差异极显著, 20M-001 与 10M-006 差异显著;接种后 5 d 的病情指数由高到低依次为: ZC002 和 10M-004、20M-001、10M-006、10M-003,前两者与后 3 者差异极显著, 20M-001 与最后两者差异显著。

2.4.3 抗药突变体的适合度 分析结果(表 3)显示,适合度指数由高到低依次为: ZC002、10M-004、20M-001、10M-003 和 10M-006,且适合度指数与抗性水平不相关。

表 3 烟草黑胫病菌抗药突变体的适合度

Table 3 Fitness of the resistant isolates of *P. nicotianae* var *nicotianae*

突变体 Iso late	菌落生长 / (mm / d) Colonial growth	孢子囊数 (/ scope) Sporangium number	病斑长度 (/ mm, 5 d) Length of disease spot	病情指数 / 5 d Disease index	适合度指数 fitness index	抗性水平 Resistance level
20M-001	18. 7 ab AB	44. 0 c B	48. 1 b B	44. 4 b B	0. 56	3. 55
10M-003	17. 4 ab AB	25. 5 c B	38. 5 bc B	22. 9 c B	0. 38	9. 50
10M-006	18. 1 ab AB	31. 0 c B	25. 8 c B	27. 1 c B	0. 38	13. 9
10M-004	16. 3 b B	74. 0 b A	118. 6 a A	75. 0 a A	0. 87	510
ZC002	20. 0 a A	95. 7 a A	128. 7 a A	75. 0 a A	1. 00	1. 00

注: 表中同一列数据后标相同小写 (大写) 字母者表示经 Duncan 氏新复极差测验, 在 $P_{0.05}$ ($P_{0.01}$) 水平上差异不显著。

Note: Data in a column followed by the same small (capital) letters are not significantly different at $P_{0.05}$ ($P_{0.01}$) by Duncan's multiple range test, respectively.

3 讨论

王文桥等^[17]认为, 烟草黑胫病菌具有世代短、产孢量大等特点, 所以容易产生抗药性。本研究通过药剂诱导, 获得了 11 个具有不同抗性水平的抗甲霜灵烟草黑胫病菌突变体, 且在试验浓度范围 (2~ 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 内, 抗药突变体发生的频率随浓度的增加而提高, 突变频率与浓度正相关。表明在一定的选择压力或者逆境中, 烟草黑胫病菌容易对甲霜灵产生抗性, 其抗性频率可以随着药剂选择压力的加大而不断提高, 具有累加效应。这与许多研究^[6, 7, 18]的结论一致。

对抗药突变体的抗药稳定性测定结果表明, 所有抗药突变体的抗药性都能稳定保持。这与 Chang 等^[7]、祝明亮等^[10]及马国胜^[19]的研究结果一致。在所获得的 11 个抗药突变体中, 有 90. 9% 属低抗菌株, 仅 9. 1% 属高抗菌株, 没有出现中抗菌株, 提示烟草黑胫病菌抗甲霜灵突变可能属于质量性状的突变。这也与许多研究^[2, 7, 20~ 24]的结果相似。

适合度研究结果表明, 烟草黑胫病菌的所有抗药突变体的适合度指数均低于敏感菌株。高抗菌株 10M-004 的适合度指数 (0. 87) 最高, 与抗甲霜灵黄瓜疫霉菌^[25]的适合度相近。本研究采用针刺接种法进行致病力测定, 可能扩大了敏感菌株与抗性菌株之间的致病力差异, 低估了抗药突变体的适合度。抗药突变体的适合度是影响病原菌抗药群体建立的主要因素之一^[26]。综合抗药突变体的发生频率、抗药稳定性、抗性水平以及适合度的研究结果, 尤其本研究中“双高” (高抗性水平、高适合度) 突变体 10M-004 的获得, 表明烟草黑胫病菌对甲霜灵存在较高的抗性风险。这与祝明亮

等^[10]的研究结论一致。

目前, 我国在烟草黑胫病的化学防治上单一使用甲霜灵的情况比较普遍, 这非常有利于抗甲霜灵烟草黑胫病群体的建立。在明确烟草黑胫病菌抗甲霜灵突变体对其他高效、安全杀菌剂的交互抗性情况^[27]的基础上, 应该交替使用及混用具负交互抗性和无交互抗性的其他杀菌剂, 以延缓烟草黑胫病菌对甲霜灵抗性的发生, 延长甲霜灵的使用寿命。

参考文献:

- [1] KONG Fan-yu (孔凡玉), ZHU Xian-chao (朱贤朝), SHI Jin-kai (石金开), et al. 我国烟草侵染性病害发生趋势原因及防治对策 [J]. Tobacco of China (中国烟草), 1995 (1): 31-34
- [2] GISIU, COHEN Y. Resistance to Phenylamide Fungicides: A Case Study with *Phytophthora infestans* Involving Mating Type and Race Structure [J]. Annual Review Phytopathology, 1996, 34: 549-572
- [3] SHIN ai-guo (司乃国), LIU Jun-li (刘君丽), MA Xue-ming (马学明). 卵菌病害的化学防治现状与防治策略 [J]. Chin J Pestic (农药), 2000, 39 (2): 7-10
- [4] CHW INN F J, URECH P A. Advances and Practical Applications ACS Symposium Series 304 [C] // Fungicide Chemistry. Washington D. C.: American Chemical Soc, 1986: 89-106
- [5] CHEN Fang-xin (陈方新). Examination and Heredity on Resistance to Metaxyl of *Phytophthora boehmeriae* in Anhui (安徽省棉铃疫病菌对甲霜灵抗性监测及遗传研究) [D]. Hefei (合肥): Anhui Agricultural University (安徽农业大学), 2001.
- [6] SHEW H. D. Response of *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* to Metaxyl Exposure [J]. Plant Disease, 1985, 69: 559-562
- [7] CHANG T. T., KO W. H. Resistance to Fungicides and Antibiotics in *Phytophthora parasitica*: Genetic Nature and Use in Hybrid Determination [J]. Phytopathology, 1990, 80: 1414-

- 1421.
- [8] LI Bao-du (李宝笃), SHEN Chong-yao (沈崇尧). 植物病原真菌对杀菌剂的抗性及其对策 [J]. *Acta Phytopathologica Sinica* (植物病理学报), 1996, 26 (4): 294-296
- [9] LI Wei (李炜), ZHANG Zhi-ming (张志铭), LI Chuan (李川), et al 马铃薯晚疫病菌对瑞毒霉抗性的测定 [J]. *J Hebei Agric Univ* (河北农业大学学报), 1998, 21 (2): 63-65
- [10] ZHU Ming-liang (祝明亮), LIM eiyun (李梅云), BAI Jiang-lan (白江兰), et al 烟草黑胫病菌对甲霜灵抗性风险研究 [J]. *Tobacco Agricultural Science* (烟草农业科学), 2006, 2 (2): 151-155.
- [11] ZHENG Xiao-bo (郑小波). *Phytophthora and Research Techniques of Phytophthora* (疫霉菌及其研究技术) [M]. Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 1997: 10-21.
- [12] WANG Ge (王革), ZHENG Xiao-bo (郑小波), LU Jia-yun (陆家云), et al 云南省烟草黑胫病菌对甲霜灵抗性的检测 [J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 1997, 20 (4): 105-107.
- [13] WANG Ge (王革), ZHENG Xiao-bo (郑小波), LU Jia-yun (陆家云), et al 云南省烟草黑胫病菌致病力分化的研究 [J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 1997, 20 (4): 30-35
- [14] CHEN Rui-tai (陈瑞泰), ZHU Xian-chao (朱贤朝), WANG Zhi-fa (王智发), et al 全国 16 个主产烟省(区)烟草侵染性病害调研报告 [J]. *China Tobacco Science* (中国烟草科学), 1997, 1 (4): 1-7.
- [15] MU Li-yi (慕立义). *Research Methods on Plant Chemical Protection* (植物化学保护研究方法) [M]. Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 1994: 219.
- [16] WANG Mei-qin (王美琴), LIU Hui-ping (刘慧平), HAN Jue-cai (韩巨才), et al Detection of Resistance of *Fulvia fulva* on Tomato to Carbendazim, Dithofencarb and Mancozeb (番茄叶霉病菌对多菌灵、乙霉威及代森锰锌抗性检测) [J]. *Chin J Pestic Sci* (农药学报), 2003, 5 (4): 30-36.
- [17] WANG Wen-qiao (王文桥), LIU Guo-rong (刘国容). 卵菌对内吸性杀菌剂的抗药性及对策 [J]. *Acta Phytopathologica Sinica* (植物病理学报), 1996, 26 (4): 294-296.
- [18] ZHOU Ming-guo (周明国). 浅谈杀菌剂抗性治理对策 [J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 1996, 19 (Suppl): 155-159
- [19] MA Guo-sheng (马国胜). *Physiological Characteristic Examination and Heredity on Resistance to Metalaxyl of Phytophthora nicotianae var nicotianae* (烟草黑胫病菌生理生态及对甲霜灵抗性监测与遗传研究) [D]. Hefei (合肥): Anhui Agricultural University (安徽农业大学), 2002
- [20] LUO He-rong (罗赫荣), XIE Bing-yan (谢丙炎), MA Feng-hai (马凤海), et al 辣椒疫霉对甲霜灵和霜脲菌抗药性遗传的研究 [J]. *J Hunan Agric Univ* (湖南农业大学学报), 1999, 25 (1): 52-56.
- [21] SHATTOCK R C. Studies on the Inheritance of Resistance to Metalaxyl in *Phytophthora infestans* [J]. *Plant Pathology*, 1988, 37 (1): 4-11
- [22] BHAT R G, MC BLAIN B A, SCHMITTHENNER A F. The Inheritance of Resistance to Metalaxyl and to Fluorophenylamine in Matings of Homothallic *Phytophthora sojae* [J]. *Mycol Res*, 1993, 97 (7): 865-870
- [23] LEE T Y, FRY W E. Genetic Analysis of Metalaxyl Resistance in *Phytophthora infestans* [J]. *Phytopathology*, 1997, 87: 57
- [24] VORBEVA Y V, SHEMYAKINA V P, KVASNYUK N Y. Inheritance of Ridomyl Tolerance by Sexual Reproduction of *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary [J]. *Genetika Moskva*, 1992, 28 (7): 99-106
- [25] YE Zheng-he (叶正和), WANG Wen-xiang (王文相), ZHANG Ai-fang (张爱芳), et al 我国卵菌病害化学防治概况 [J]. *Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2000, 28 (4): 530-533.
- [26] ZHOU Ming-guo (周明国). Resistance to Pesticide of Pathogen (病原物抗药性) [M] // *Chinese Agricultural Cyclopaedia Volume of Phytopathology* (中国农业百科全书·植物病理学卷), Beijing (北京): China Agriculture Press (中国农业出版社), 1996: 48-49
- [27] XU Xue-ming (许学明), WANG Kai-yun (王开运), DUAN Hai-ming (段海明), et al 抗甲霜灵烟草黑胫病菌突变株的交互抗药性研究 [J]. *J Lianyungang Tech College* (连云港职业技术学院学报), 2007, 20 (3): 14-17.

(Ed JN SH)