

网络出版时间:2017-05-10 13:38
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20170510.1338.040.html

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2017.06.020

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

阮宏椿^{1,2},石妞妞^{1,2},甘 林^{1,2},杜宜新^{1,2},
杨秀娟^{1,2},陈福如^{1,2}

(1 福建省农业科学院 植物保护研究所,福建 福州 350013;
2 福建省作物有害生物监测与治理重点实验室,福建 福州 350001)

【摘 要】 【目的】建立稻曲病菌对戊唑醇的敏感基线并评估其抗药性风险。【方法】以 128 株采自福建省未使用过杀菌剂的水稻抗病性鉴定圃的稻曲病菌为材料,以“两优培九”水稻品种为受体,采用生长速率法测定该病菌对戊唑醇的敏感性。通过药剂驯化方法获得抗药突变体,并测定抗药突变体的抗性水平、致病力和生物学性状。【结果】128 株稻曲病菌对戊唑醇的 EC₅₀ 值为 0.020 9~0.203 9 μg/mL,敏感性频率分布呈单峰曲线,符合正态分布,稻曲病菌对戊唑醇的敏感基线为(0.087 3±0.045 9) μg/mL;通过药剂驯化方法获得 2 株抗药突变体 F338-M 和 F37-M,其抗性倍数分别为 13.38 和 8.21;抗药突变体继代培养 9 代后与亲本菌株相比抗性变化不明显;抗药突变体的菌落生长速率、菌丝干质量和产孢量都显著低于其亲本菌株,其中 F338-M 产孢量是其亲本菌株 F338 的 67.43%,F37-M 的产孢量仅为其亲本菌株 F37 的 41.93%;亲本菌株接种供试水稻品种“两优培九”的病穗率和穗平均病粒数均高于其突变菌株。【结论】稻曲病菌对戊唑醇的敏感基线为(0.087 3±0.045 9) μg/mL,抗药突变体的抗药性可以稳定遗传。抗药突变体与其亲本菌株相比自然竞争力低,稻曲病菌对戊唑醇具有较低的抗性风险。

【关键词】 稻曲病菌;戊唑醇;敏感基线;抗药突变体;生物学性状
【中图分类号】 S435.111.4⁺1 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-9387(2017)06-0148-07

Baseline sensitivity of *Ustilaginoidea virens* against tebuconazole and
biological characteristics of resistant mutants

RUAN Hongchun^{1,2},SHI Niuniu^{1,2},GAN Lin^{1,2},DU Yixin^{1,2},
YANG Xiujuan^{1,2},CHEN Furu^{1,2}

(1 Institute of Plant Protection,Fujian Academy of Agricultural Sciences,Fuzhou,Fujian 350013,China;
2 Fujian Key Laboratory for Monitoring and Integrated Management of Crop Pests,Fuzhou,Fujian 350001,China)

Abstract: 【Objective】 This study aimed to establish baseline susceptibility of *Ustilaginoidea virens* against tebuconazole and assess its resistant risk. 【Method】 The baseline susceptibility of *U. virens* against tebuconazole was determined by growth rate method using 128 *U. virens* strains isolated from rice without treatment of fungicides. Resistant mutants of *U. virens* to tebuconazole were obtained by domestication with tebuconazole. Then, the resistance level, pathogenicity and biological characteristics of the mutants were determined. 【Result】 The EC₅₀ values of the 128 isolates were 0.020 9—0.203 9 μg/mL, and the sensitivity frequency distribution showed a single peak curve following normal distribution. The baseline sus-

〔收稿日期〕 2016-12-09
〔基金项目〕 福建省自然科学基金项目(2015J01115,2013J01113)
〔作者简介〕 阮宏椿(1980—),女,福建福州人,助理研究员,硕士,主要从事水稻真菌病害及其防治研究。
〔通信作者〕 陈福如(1961—),男,福建福州人,研究员,硕士生导师,主要从事植物真菌病害及其防治研究。

ceptibility of *U. virens* against tebuconazole was $(0.087\ 3\pm0.045\ 9)\ \mu\text{g/mL}$. Compared with their parent strains,the resistance levels of two resistant mutants(F338-M and F37-M) were 13.38 and 8.21 fold,respectively. The resistant level did not change after the two mutants were sub-cultured for 9 generations. However,the growth speed,dry weight of hyphae,and sporulation amount of the two mutants were significantly lower than those of their parent strains. The sporulation amounts of mutants F338-M and F37-M were 67.43% and 41.93% of those of their parent strains F338 and F37,respectively. While the rates of diseased panicles and average numbers of diseased grains per panicle of the two mutants were significantly lower than those of their parent strains.【Conclusion】The baseline susceptibility of *U. virens* against tebuconazole was $(0.087\ 3\pm0.045\ 9)\ \mu\text{g/mL}$,and the resistant levels of tebuconazole resistant mutants can be inherited to their progeny. The natural competitiveness of the resistant mutants was lower than that of their parent strains, and the resistant risk of *U. virens* to tebuconazole was low.

Key words: *Ustilaginoidea virens*;tebuconazole;baseline susceptibility;drug-resistant mutant;biological characteristics

稻曲病是由稻曲病菌(*Ustilaginoidea virens* (Cooke) Tak.)侵染引起的水稻穗部病害,该病广泛分布于亚洲、欧洲、非洲和南美洲等 40 多个国家的水稻主产区^[1]。近年来随着高产优质水稻品种的大面积推广以及氮肥水平不断提高等因素的影响,稻曲病在我国发生为害日趋严重,已成为危害水稻的主要病害^[2-3]。稻曲病发生区的产量损失约为 5%,严重地块可达 30%以上^[4]。此外,稻曲病菌的厚垣孢子含有微管蛋白抑制剂,能干扰细胞骨架形成,人畜进食此类产品会引起病变^[5-6]。因此,稻曲病不仅影响稻谷的外观品质和产量,而且影响稻米的食用安全^[7]。目前,尚未实现选育及利用抗病品种为主的稻曲病防治措施,化学防治仍是最主要的防治措施^[8]。戊唑醇是防治稻曲病最有效的甾醇脱甲基类抑制剂(DMIs)杀菌剂之一,其通过阻碍麦角甾醇的生物合成而影响真菌细胞壁的形成,从而控制真菌病害。但戊唑醇作用位点单一,病原菌易对其产生抗药性^[9-10]。Robbertse 等^[11]研究发现,大麦上连续施用戊唑醇 3 年后,大麦文纹病菌(*Rhynchosporium secalis*)对戊唑醇的敏感性显著降低;Leroux 等^[12]在田间监测到了葡萄灰霉病菌(*Botryotinia fuckeliana*)对戊唑醇的抗性菌株。目前,有关稻曲病菌对戊唑醇敏感性的研究尚未见报道。

为此,本研究建立了稻曲病菌对戊唑醇的敏感基线,通过药剂驯化的方法获得了其抗药突变体,并分析其突变体的遗传稳定性、致病力和生物学性状,旨在敏感基线基础上评估稻曲病菌对戊唑醇的抗药性风险,为戊唑醇在防治稻曲病上的合理使用提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌株 2011—2015 年从福建龙岩、三明、南平、漳州等地,选择近 20 年未使用杀菌剂的水稻抗病性鉴定圃采集水稻稻曲病样本,经分离纯化获得 128 株单孢菌株。

1.1.2 培养基 马铃薯蔗糖(PSA)培养基:马铃薯 200 g、蔗糖 20 g、琼脂粉 14 g、加水定容至 1 000 mL,高压蒸汽灭菌(121 ℃)30 min;马铃薯蔗糖(PS)培养液:马铃薯 200 g、蔗糖 20 g、加水定容至 1 000 mL,高压蒸汽灭菌(121 ℃)30 min。

1.1.3 供试水稻品种 供试水稻品种为两优培九,由福建省农业科学院水稻研究所惠赠。

1.1.4 供试药剂 供试药剂为 97.2%戊唑醇(tebuconazole)原药,江苏丰登农药有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 稻曲病菌对戊唑醇的敏感性测定 采用生长速率法^[13]测定稻曲病菌对戊唑醇的敏感性。具体操作为:用二甲亚砜作溶剂,将戊唑醇配制成质量浓度为 10 mg/mL 的母液,备用。用灭菌的 0.1% (体积分数)吐温 80 水溶液将戊唑醇母液配制成系列质量浓度的药液,根据预试验将药液和 PSA 培养基混匀,配成 0.01,0.02,0.04,0.08,0.16,0.32,0.64 $\mu\text{g/mL}$ 的含药平板,备用。将供试稻曲病菌接入 PSA 培养基中,28 ℃ 黑暗培养 14 d,用直径 5 mm 的灭菌打孔器在菌落边缘打取菌饼,将菌饼分别置于上述 7 个质量浓度的 PSA 培养基平板中央,菌丝面朝下,每皿放置 1 个菌饼,每处理 5 个重复,以不加药剂处理为对照。28 ℃ 黑暗培养 14 d,用十

字交叉法测量菌落直径。根据各处理的平均菌落直径净增长值,计算菌丝生长抑制率^[14],并计算戊唑醇对稻曲病菌的有效抑制中浓度 EC_{50} 。

抑制率 = $[(\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / (\text{对照菌落直径} - 5)] \times 100\%$ 。

1.2.2 稻曲病菌抗戊唑醇突变体的获得及抗药性水平测定 参照顾春波等^[15]、乔桂双^[16]的方法,通过室内亚致死剂量药剂驯化水稻稻曲病菌对戊唑醇的敏感菌株,筛选抗药突变体。选取长势快、菌丝密集、产孢量大、敏感性高的 15 株稻曲病菌作为亲本菌株,进行抗药性选育。将供试亲本菌株在 PSA 培养基上 28 ℃ 黑暗培养 14 d,用直径 5 mm 灭菌打孔器在菌落边缘打取菌饼,菌丝面朝下,接种到含有 0.03 $\mu\text{g/mL}$ 戊唑醇的 PSA 培养基中,28 ℃ 黑暗培养 14 d;挑选菌丝生长最迅速的菌落,用直径 5 mm 灭菌打孔器在菌落的边缘打取菌饼,转入下一个含药 PSA 培养基中,选择压保持在抑制率 50%~60%,连续汰选 30 代。采用生长速率法^[13]测定戊唑醇对抗药突变体的抑制率,每处理 5 个重复,以戊唑醇质量浓度为自变量(x),以抑制率几率值为因变量(y),建立毒力回归方程,计算有效抑制中浓度 EC_{50} 、相关系数及 95% 置信限和抗性倍数。

抗性倍数 = 抗药突变体菌株 EC_{50} / 亲本菌株 EC_{50} 。

1.2.3 抗药突变体遗传稳定性的测定 将稻曲病菌抗药突变体在无药 PSA 培养基平板上每隔 7 d 转移 1 次,连续转移 8 次,按照 1.2.1 节中菌丝生长速率法分别测定抗药突变菌株第 1,3,5,7,9 代对戊唑醇的敏感性,计算抗性倍数^[17]。

1.2.4 抗药突变体与亲本菌株菌落生长速率、产孢量和菌丝干质量的测定 将供试的抗药突变体与其亲本菌株分别转入 PSA 培养基,28 ℃ 黑暗培养 14 d,用直径 5 mm 灭菌打孔器在菌落边缘打取菌饼,将菌饼分别置于 PSA 培养基平板中央,菌丝面朝下,每皿 1 个菌饼,每处理 5 个重复,28 ℃ 黑暗培养 14 d 后测量菌落直径,计算菌落生长速率。

菌落生长速率 = $(\text{菌落直径} - 5) / 14$ 。

另取 2 种菌饼接入装有 100 mL PS 培养液的三角瓶中,每瓶 3 个菌饼,每处理 5 个重复,于 28 ℃、150 r/min 振荡培养 7 d,摇匀后吸取菌液,每瓶吸取 5 次,每次吸取菌液观察 10 个视野,用血球计数法测定分生孢子数量,计算分生孢子浓度;14 d 后收集菌丝,真空抽滤后称量菌丝干质量。

1.2.5 抗药突变体致病力的测定 将抗药突变体

与其亲本菌株分别转入 PSA 培养基,28 ℃ 黑暗培养 14 d,用直径 5 mm 灭菌打孔器在菌落边缘打取菌饼,将菌饼分别接入装有 100 mL PS 培养液的三角瓶中,每瓶 3 个菌饼,于 28 ℃、150 r/min 振荡培养 7 d,吸取 0.5 mL 培养液移入新 PS 培养液中,再于 28 ℃、150 r/min 振荡培养 7 d,将培养液粉碎处理制成菌丝片段与分生孢子的混合液。用 PS 培养液将菌丝片段与分生孢子的混合液配制成含分生孢子约为 2×10^5 个/mL 的悬浮液作为接种体,备用^[18]。

采用注射法^[19]测定抗药突变体的致病力。将供试的感病水稻品种“两优培九”进行常规育苗,插秧于温室的水泥池(长×宽×高为 1.25 m×1 m×0.5 m)中,每池插秧 48 丛。待供试水稻长至剑叶到下一叶的叶耳距为 8~9 cm 时,于 16:00—18:00 进行 1 次注射接种,将 20 mL 注射器的针头向下倾斜与穗苞成 45° 夹角刺入水稻穗苞中部,将接种体注射入穗苞,每穗注射 5 mL,以注射 PS 培养液作为对照,在剑叶上做标记,每类菌株接种 20 穗,5 个重复^[20]。接种后控制室温在 25~28 ℃,并雾化喷淋保湿,于每天 09:00,10:00,11:00,12:00,12:30,13:00,13:30,14:00,15:00,16:00 各喷淋 1 次,每次喷淋 5 min。于水稻注射接种 25 d,割下所有的稻穗,调查稻穗的发病情况,以有稻曲球出现的稻穗为病穗,有稻曲球出现的谷粒为病粒,计算接种稻穗的病穗率和穗平均病粒数。

病穗率 = $(\text{病穗数} / \text{调查总稻穗数}) \times 100\%$ ^[21];

穗平均病粒数 = 总病粒数 / 调查总病穗数^[22]。

1.3 数据分析

将供试菌株群体对戊唑醇的 EC_{50} 值划分为不同区间,统计 EC_{50} 值各区间的菌株出现频率。以 EC_{50} 值作为横坐标,相应的菌株出现频率为纵坐标,利用 Microsoft Excel 2007 建立稻曲病菌对戊唑醇的敏感性频率分布图;用 SPSS 16.0 软件 K-S 法检验稻曲病菌对戊唑醇敏感性频率分布的正态性,当近似相伴概率值(P)大于显著水平值 $\alpha(0.05)$ 时,检验符合正态分布,反之不符合正态分布。采用 DPS 7.05 软件 Duncan 氏新复极差法进行处理间的差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 稻曲病菌对戊唑醇敏感基线的建立

戊唑醇对供试 128 株水稻稻曲病菌的 EC_{50} 值最低为 0.020 9 $\mu\text{g/mL}$,最高为 0.203 9 $\mu\text{g/mL}$,

EC₅₀ 最高值为最低值的 9.76 倍,EC₅₀ 平均值为 (0.087 3±0.045 9) μg/mL(图 1),其敏感性频率分布呈单峰曲线。采用 SPSS 16.0 软件 K-S 法检验供试菌株对戊唑醇的敏感性频率分布,结果为 $P=0.342$ (大于 0.05),表明供试稻曲病菌对戊唑醇的敏感性频率符合正态分布,未出现敏感性下降的亚群体,因此可将 EC₅₀ 值 (0.087 3±0.045 9) μg/mL 作为稻曲病菌对戊唑醇的敏感基线。

2.2 稻曲病菌抗药突变体的抗药性水平

供试 15 株稻曲病菌经药剂驯化获得 2 株抗药突变体,分别为 F338-M 和 F37-M。亲本菌株 F338、F37 及抗药突变体 F338-M、F37-M 对戊唑醇的抗药性水平测定结果如表 1 所示。由表 1 可见,亲本菌株 F338、F37 及抗药突变体 F338-M、F37-M 的 EC₅₀ 分别为 0.033 0,0.033 2,0.441 4,0.272 5 μg/mL。抗药突变体 F338-M 抗性倍数为 13.38,抗

药突变体 F37-M 抗性倍数为 8.21。

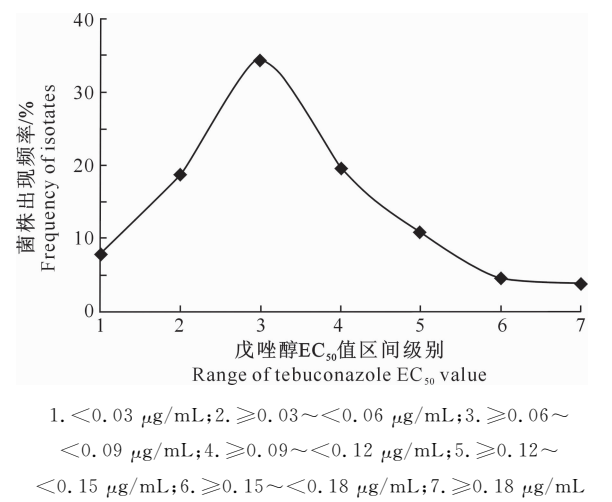


图 1 128 株稻曲病菌对戊唑醇的敏感性频率分布
Fig.1 Sensitivity frequency of 128 isolates of *Ustilaginoidea virens* against tebuconazole

表 1 稻曲病菌抗药突变体及其亲本菌株的抗药性水平

Table 1 Resistance levels of parental isolates and resistant mutants of <i>Ustilaginoidea virens</i> to tebuconazole					
菌株 Strains	毒力回归方程 Regression equation ($y=a+bx$)	相关系数 Correlation coefficient	95%置信限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 95%FL	有效抑制中浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) EC ₅₀	抗性倍数 Resistant ratio
F338	$y=7.098\ 3+1.415\ 8x$	0.993 7	0.018 2~0.052 2	0.033 0	—
F338-M	$y=5.405\ 0+1.140\ 3x$	0.996 7	0.381 0~0.507 4	0.441 4	13.38
F37	$y=7.646\ 0+1.789\ 3x$	0.995 3	0.021 2~0.048 0	0.033 2	—
F37-M	$y=6.187\ 0+2.102\ 4x$	0.979 5	0.189 6~0.361 5	0.272 5	8.21

2.3 稻曲病菌抗药突变体的遗传稳定性

稻曲病菌抗药突变体在不含戊唑醇的 PSA 培养基上连续培养 9 代后,采用生长速率法测定抗药突变体第 1,3,5,7,9 代对戊唑醇的敏感性,结果如表 2 所示。由表 2 可知,抗药突变体对戊唑醇的敏感性无显著变化,其中 F338-M 的 EC₅₀ 在第 3,5,7,

9 代时,其抗性倍数分别为 13.31,13.26,13.25,13.21,与第 1 代无显著差异($P>0.05$);F37-M 的 EC₅₀ 在第 3,5,7,9 代时,其抗性倍数分别为 8.11,8.03,7.96,7.89,与第 1 代也无显著差异($P>0.05$),表明水稻稻曲病菌一旦对戊唑醇产生抗性,即使脱离药剂培养,其抗性也可以稳定遗传。

表 2 稻曲病菌抗药突变体的遗传稳定性

Table 2 Resistance genetic stability of resistant mutants of <i>Ustilaginoidea virens</i> against tebuconazole										
菌株 Strains	各世代 EC ₅₀ /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) EC ₅₀ of each generation					各世代抗性倍数 Resistant rate of each generation				
	1	3	5	7	9	1	3	5	7	9
F338-M	0.441 4	0.439 3	0.437 7	0.437 4	0.435 9	13.38 aA	13.31 aA	13.26 aA	13.25 aA	13.21 aA
F37-M	0.272 5	0.269 1	0.266 6	0.264 4	0.261 8	8.21 aA	8.11 aA	8.03 aA	7.96 aA	7.89 aA

注:同行数据后不同小写字母表示差异显著($P=0.05$);不同大写字母表示差异极显著($P=0.01$)。
Note: Different lowercase letters in each row show significant difference between strains ($P=0.05$); and different capital letters in each row show extremely significant difference between strains ($P=0.01$).

2.4 稻曲病菌抗药突变体的生物学性状

由表 3 可知,抗药突变体 F338-M 的菌落生长速率为 1.91 mm/d,显著低于亲本菌株 F338($P<0.05$);菌丝干质量和产孢量分别为 2.03 mg/mL 和 2.65×10^5 个/mL,极显著低于亲本菌株 F338($P<0.01$)。抗药突变体 F37-M 的菌落生长速率、菌丝干质量和产孢量分别为 1.75 mm/d、1.65 mg/mL

和 1.61×10^5 个/mL,极显著低于其亲本菌株 F37。抗药突变体 F338-M 和 F37-M 的菌落生长速率为其亲本菌株的 88.43%和 82.94%,菌丝干质量为其亲本菌株的 92.69%和 85.94%,表明抗药突变体的生长能力有所下降;抗药突变体 F338-M 和 F37-M 的产孢量仅为其亲本菌株的 67.43%和 41.93%,表明抗药突变体的繁殖能力显著降低。可见,与亲本

菌株相比抗药突变体的竞争力降低。

表 3 稻曲病菌抗药突变体的生长情况

Table 3 Growth of the resistant mutants of *Ustilaginoidea virens* against tebuconazole

菌株 Strains	生长速率/ (mm · d ⁻¹) Growth speed	菌丝干质量/ (mg · mL ⁻¹) Dry mass of mycelium	产孢量/ (×10 ⁵ 个 · mL ⁻¹) Sporulation capacity
F338	2.16 aA	2.19 aA	3.93 aA
F338-M	1.91 bA	2.03 bB	2.65 bB
F37	2.11 aA	1.92 aA	3.84 aA
F37-M	1.75 bB	1.65 bB	1.61 bB

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P=0.05$);不同大写字母表示差异极显著($P=0.01$)。下表同。

Note: Different lowercase letters in each column show significant difference between strains ($P=0.05$); and different capital letters in each column show extremely significant difference between strains ($P=0.01$). The same below.

2.5 稻曲病菌抗药突变体的致病力

稻曲病菌抗药突变体的致病力测定结果如表 4 所示。由表 4 可见,抗药突变体 F338-M 和亲本菌株 F338 对“两优培九”的病穗率分别为 63.00%和 75.00%,差异达显著水平;穗平均病粒数分别为 3.19 和 3.56,差异不显著。稻曲病菌抗药突变体 F37-M 和亲本菌株 F37 对“两优培九”的病穗率分别为 54.00%和 76.00%,差异达极显著水平;穗平均病粒数分别为 3.26 和 3.62,差异不显著。这说明抗药突变体 F338-M 和 F37-M 的致病力均低于其亲本菌株。

表 4 稻曲病菌抗药性突变菌株与其亲本菌株的致病力比较

Table 4 Pathogenicity comparison of parental isolates and resistant mutants of *Ustilaginoidea virens*

菌株 Strains	平均病穗数 Number of diseased panicles	病穗率/% Incidence of diseased panicles	穗平均病粒数 Number of smut balls per panicle
F338	15.00	75.00 aA	3.56 aA
F338-M	12.60	63.00 bA	3.19 aA
F37	15.20	76.00 aA	3.62 aA
F37-M	10.80	54.00 bB	3.26 aA

3 结论与讨论

建立作物病原菌群体对杀菌剂的敏感基线是研究杀菌剂抗药性产生与发展的基础。戊唑醇是甾醇脱甲基类抑制剂(DMIs)杀菌剂,由于其杀菌的广谱性和高效性被用于多种作物病害的防治,在水稻上已登记用于防治水稻稻曲病、稻瘟病、纹枯病等多种病害,使用频率高^[23]。本研究中供试稻曲病菌对戊唑醇的 EC₅₀ 为(0.087 3±0.045 9) μg/mL,其敏感性频率分布呈连续的单峰曲线,符合正态分布,表明

可将(0.087 3±0.045 9) μg/mL 作为戊唑醇敏感基线用于稻曲病菌的抗药性监测。

植物病原菌对杀菌剂的抗药性风险除了与杀菌剂的作用机制有关外,与杀菌剂的选择压力和突变体的竞争力也密切相关,因此通过分析抗药突变体的抗药稳定性和竞争力可评价杀菌剂的抗药性风险。本研究通过药剂驯化的方法获得了稻曲病菌戊唑醇抗药突变体 F338-M 和 F37-M,其抗性倍数分别为 13.38 和 8.21,根据 FAO 的抗性程度划分标准^[24],F338-M 和 F37-M 分别为中抗和低抗突变体。抗药突变体 F338-M 和 F37-M 继代培养第 9 代后对戊唑醇的敏感性与第 1 代差异不显著,说明抗药突变体的抗药性可以稳定遗传,也就是说,当田间水稻稻曲病菌对戊唑醇产生抗性后,即使停止使用戊唑醇,其抗药菌群仍可能会保持抗性。本研究获得的 2 株抗药突变体与亲本菌株相比,其竞争力低、致病力弱。这一结果与多数研究报道^[15,25]相一致,但与王菲^[26]通过紫外诱变方法获得的 1 株稻曲病菌对戊唑醇低抗突变体 UV10th 的生物学性状存在差异,抗药性突变体 UV10th 的生长速率、产孢量和孢子萌发率与亲本菌株差异均不显著,但其致病力是否变化尚不明确,这可能与紫外诱变突变体复杂的抗性机理密切相关。王菲^[26]研究表明,抗性突变体 Y137H 的点突变与抗药性明显相关。本研究获得的抗药突变体的抗性机理还需进一步研究。通常抗药性病原物自然竞争力的高低,会影响其在自然界种群中的分布比例。当抗药性菌株的竞争力较强时,抗药性菌株在自然种群中的比例容易上升,成为优势群体,从而产生抗药性;反之,抗药性菌株在自然群体中的比例不断下降,不易产生抗药性^[27]。本研究通过药剂驯化获得的抗药突变体自然竞争力较低,且一般一季水稻仅于破口前及齐穗期施用 2 次杀菌剂防治稻曲病,由此推测将戊唑醇用于防治稻曲病具有较低的抗性风险。因此,戊唑醇仍可用于防治水稻稻曲病,同时建议在水稻病害防治中应将戊唑醇与不同作用机制的杀菌剂轮换使用,以避免或延缓稻曲病菌对戊唑醇产生抗药性,同时也要加强田间稻曲病菌对戊唑醇的抗药性监测。

[参考文献]

[1] Roy A K. Records of heavy attacks of hunts and false smut of rice [J]. International Rice Research Newsletter, 1980, 5(6): 5-6.
[2] 俞咪娜,陈志谊,于俊杰,等. 来源于同一穗不同稻曲球的稻曲病菌的致病性及遗传多样性 [J]. 植物病理学报, 2013, 43(6):

- 561-573.
- Yu M N, Chen Z Y, Yu J J, et al. Genetic diversity and pathogenicity of *Ustilaginoidea virens* isolated from different rice false smut balls of a diseased spike [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2013, 43(6): 561-573.
- [3] 陈前武, 钟莉, 王芳, 等. 75% 腈菌酯·戊唑醇(NATIVO)防治稻曲病田间试验 [J]. 江西农业学报, 2009, 21(5): 92-93.
- Chen Q W, Zhong L, Wang F, et al. Field experiment in control of rice false smut by fungicide 75% NATIVO [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2009, 21(5): 92-93.
- [4] 王疏, 秦姝, 刘明霞, 等. 不同栽培方式对稻曲病发生程度的影响 [J]. 植物保护, 2010, 36(6): 165-167.
- Wang S, Qin S, Liu M X, et al. Effects of different cultivation modes on the occurrence degree of the rice false smut [J]. Plant Protection, 2010, 36(6): 165-167.
- [5] Li P X, Evans C D, Wu Y Z, et al. Evolution of the total syntheses of ustiloxin natural products and their analogues [J]. Journal of the American Chemical Society, 2008, 130(7): 2351-2364.
- [6] Ludena R F, Roach M C, Prosad V, et al. Interaction of ustiloxin with bovine brain tubulin [J]. Biochemical Pharmacology, 1994, 47(9): 1593-1599.
- [7] 杨秀娟, 林廷邦, 阮宏椿, 等. 稻曲病对水稻产量的影响及水稻新品种抗病性测定 [J]. 热带作物学报, 2013, 34(7): 1309-1313.
- Yang X J, Lin T B, Ruan H C, et al. Effect of false smut on yield of rice and disease resistance detection of new rice varieties [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(7): 1309-1313.
- [8] 周永力, 樊金娟, 曾超珍, 等. 稻曲病菌遗传多样性与群体结构的初步分析 [J]. 植物病理学报, 2004, 34(5): 442-448.
- Zhou Y L, Fan J J, Zeng C Z, et al. Preliminary analysis of genetic diversity and population structure of *Ustilaginoidea virens* [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2004, 34(5): 442-448.
- [9] 罗华池, 王会福, 符海. 75% 腈菌·戊唑醇 WG(拿敌稳)防治稻瘟病效果及应用技术 [J]. 生物灾害科学, 2013, 36(3): 295-297.
- Luo H C, Wang H F, Fu H. A preliminary report of trifloxystrobin-tebuconazole in rice false smut control and its application technology [J]. Biological Disaster Science, 2013, 36(3): 295-297.
- [10] 李富根, 吴新平, 刘乃炽. 戊唑醇的作用特点及其应用概况 [J]. 农药科学与管理, 2001, 22(3): 40-41.
- Li F G, Wu X P, Liu N C. Action characteristics and application of tebuconazole [J]. Pesticide Science and Administration, 2001, 22(3): 40-41.
- [11] Robbertse B, Van Der Rijst M, Van Aarde I M R, et al. DMI sensitivity and cross-resistance patterns of *Rhynchosporium secalis* isolates from South Africa [J]. Crop Protection, 2001, 20(2): 97-102.
- [12] Leroux P, Chapel A F, Desbrosses D, et al. Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards [J]. Crop Protection, 1999, 18(10): 687-697.
- [13] 黄国洋. 农药试验技术与评价方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- Huang G Y. Pesticide testing technology and evaluation method [M]. Beijing, China Agricultural Press, 2000.
- [14] 韩秀英, 赵卫松, 齐永志, 等. 辣椒疫霉对双炔酰菌胺敏感性及其对其它杀菌剂的交互抗性 [J]. 植物保护学报, 2011, 38(2): 173-177.
- Han X Y, Zhao W S, Qi Y Z, et al. Sensitivity of *Phytophthora capsici* to mandipropamid and its cross resistance with other fungicides [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2011, 38(2): 173-177.
- [15] 顾春波, 姜莉莉, 王开运, 等. 抗戊唑醇草莓枯萎病菌 ZY-W 的诱导及其生物学特性 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(14): 2897-2904.
- Gu C B, Jiang L L, Wang K Y, et al. Induction and characteristics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* ZY-W resistant to tebuconazole [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(14): 2897-2904.
- [16] 乔桂双. 五种 Strobilurin 类杀菌剂对黄瓜霜霉病菌生物活性及其抗性风险 [D]. 河北保定: 河北农业大学, 2009.
- Qiao G S. Biological activity of five novel strobilurins fungicides against *Pseudoperonospora cubensis* and its resistance risk [D]. Baoding, Hebei: Agricultural University of Hebei, 2009.
- [17] 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其室内抗性突变体生物学性状 [J]. 植物保护学报, 2015, 42(2): 176-181.
- Ren L, Zhao B B, Han J C, et al. Sensitivity of *Podosphaera xanthii* to thiophanate-methyl and characteristics of resistant mutants [J]. Journal of Plant Protection, 2015, 42(2): 176-181.
- [18] 张君成, 陈志谊, 张炳欣, 等. 稻曲病的接种技术研究 [J]. 植物病理学报, 2004, 34(5): 463-467.
- Zhang J C, Chen Z Y, Zhang B X, et al. Inoculation techniques used for inducing rice false smut efficiently [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2004, 34(5): 463-467.
- [19] 李余生, 杨娟, 黄胜东, 等. 水稻对稻曲病致病菌株 Pi-1 抗病位点检测及效应分析 [J]. 华北农学报, 2014, 29(5): 1-4.
- Li Y S, Yang J, Huang S D, et al. Analysis of quantitative trait loci for pathogenic strain Pi-1 of resistance to rice false smut in rice [J]. Acta Agriculturae Boreali Sinica, 2014, 29(5): 1-4.
- [20] 杨秀娟, 王舒婷, 阮宏椿, 等. 水稻稻曲病室内人工接种技术 [J]. 植物保护学报, 2011, 38(5): 395-400.
- Yang X J, Wang S T, Ruan H C, et al. Artificial inoculation techniques of rice false smut in greenhouse [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2011, 38(5): 395-400.
- [21] 张爱芳, 陈雨, 王春林, 等. 安徽省水稻区试品种(系)对稻曲病的抗性鉴定及评价 [J]. 植物保护, 2013, 39(1): 151-153.
- Zhang A F, Chen Y, Wang C L, et al. Identification and evaluation of resistance in rice varieties to false smut in Anhui

Province [J]. Plant Protection, 2013, 39(1): 151-153.

[22] 王舒婷. 水稻稻曲病人工接种技术及病菌遗传多样性研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2012.

Wang S T. Artificial inoculation techniques of rice false smut and analysis of genetic diversity of *Ustilaginoidea virens* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2012.

[23] 齐素贞. 戊唑醇对映异构体对大型溞的毒性差异及双酰胺类杀虫剂结合位点的选择性研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2014.

Qi S Z. Differences of the tebuconazole enantiomers toxicity to *Daphnia magna* and selective studies of binding sites of diamide insecticides [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014.

[24] Georgopoulos S G D J. Detection and measurement of fungicide resistance [J]. FAO Plant Protection Bulletin, 1982, 2: 39-42.

[25] 崔晓岚, 孟庆晓, 毕 扬, 等. 辣椒疫霉对烯酰吗啉的敏感性基线及室内抗药突变体研究 [J]. 植物病理学报, 2009, 39(6): 630-637.

Cui X L, Meng Q X, Bi Y, et al. Baseline sensitivity and laboratory mutants of *Phytophthora capsici* resistant to dimethomorph [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2009, 39(6): 630-637.

[26] 王 菲. 水稻稻曲病菌遗传多样性及其抗 DMI 类杀菌剂分子机理的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2015.

Wang F. Study on genetic diversity and DMI fungicide resistance molecular mechanism of *Villosiclava virens* [D]. Wuhan: Huazhong Agriculture University, 2015.

[27] 刘英华. 小麦纹枯病菌抗戊唑醇菌系生物学特性及其抗性机理研究 [D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2003.

Liu Y H. Studies on biological characters and resistance mechanism of *Rhizoctonia cerealis* to tebuconazole [D]. Tai'an, Shandong: Shandong Agricultural University, 2003.

(上接第 147 页)

[16] Kokoza V, Ahmed A, Cho W L, et al. Engineering blood meal-activated systemic immunity in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2000, 97(16): 9144-9149.

[17] Lazareva A A, Roman G, Mattox W, et al. A role for the adult fat body in *Drosophila* male courtship behavior [J]. PLoS Genet, 2007, 3(1): e16.

[18] Abraham W M, Bourdelais A J, Ahmed A, et al. Effects of inhaled brevetoxins in allergic airways: toxin-allergen interactions and pharmacologic intervention [J]. Environmental Health Perspectives, 2005, 113(5): 632-637.

[19] Ito T, Ieki H, Ozaki K. Simultaneous detection of six citrus viroids and apple stem grooving virus from citrus plants by multiplex reverse transcription polymerase chain reaction [J]. Journal of Virological Methods, 2002, 106(2): 235-239.

[20] Zhang K, Yu S, Su J, et al. Identification and characterization of three novel hemocyte-specific promoters in silkworm *Bombyx mori* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 461(1): 102-108.

[21] Sila A, Nasri R, Jridi M, et al. Characterisation of trypsin purified from the viscera of Tunisian barbel (*Barbus callensis*) and its application for recovery of caroteno proteins from shrimp wastes [J]. Food Chemistry, 2012, 132(3): 1287-1295.

[22] 于 洁. 家蚕组织蛋白酶 D 基因启动子相关功能序列的分析 [D]. 江苏镇江: 江苏科技大学, 2013.

Yu J. Functional analysis of the cathepsin D gene promoter of *Bombyx mori* [D]. Zhenjiang, Jiangsu: Jiangsu University of Science and Technology, 2013.