

芹菜叶斑病原菌细极链格孢药剂筛选

张建强¹, Abdramane salah zene², 王江来², 李佳佳³,
张晓梦², 吴康莉², 田永强²

(1. 阿坝师范学院资源与环境学院, 四川阿坝 624000; 2. 兰州交通大学生物与制药工程学院, 兰州 730070;
3. 甘肃省植物源生物农药工程技术研究中心, 兰州 730070)

摘要:【目的】研究筛选对芹菜叶斑病(病菌为:细极链格孢 *Alternaria tenuissima*) 具有良好防治作用的药剂。【方法】采用菌丝生长速率法和琼脂片法分别用 14 种杀菌剂对细极链格孢(*A. tenuissima*) 菌丝和孢子萌发做室内毒力测定并进行田间药效试验。【结果】14 种杀菌剂中对病原菌菌丝抑制效果最好的分别为 3% 甲霜恶霉灵、5% 香芹酚、10% 苯醚甲环唑, 其 EC_{50} 分别为 10.8、19.9、26.2 $\mu\text{g/mL}$; 对孢子萌发抑制效果最好的分别为 3% 甲霜恶霉灵、25% 啞菌酯、43% 戊唑醇, 其 EC_{50} 分别为 15.7、29.5、38.7 $\mu\text{g/mL}$ 。只有 3% 甲霜恶霉灵具有最佳的防治效果。防效最好的药剂为 3% 甲霜恶霉灵和 5% 香芹酚, 其防效分别为 96.3% 和 83.9%。【结论】3% 甲霜恶霉灵最适用于田间芹菜叶斑病的防治。

关键词: 芹菜; 细极链格孢; 药剂筛选; 毒力测定

中图分类号: S482.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-4330(2022)07-1748-10

0 引言

【研究意义】芹菜(*Apium graveolens*) 属伞形科芹属。近年来, 甘肃地区芹菜种植因连年重茬, 使得芹菜病害加重, 尤其叶斑病发生严重, 芹菜产量和品质受到影响。芹菜叶斑病主要危害叶片, 也可危害茎。芹菜叶斑病发生高峰期在 7 月中旬, 此时正值高温季节, 防治难度加大。芹菜叶斑病的防治措施很多, 除了栽培抗性品种和生物防治, 目前种植过程当中主要以化学防治为主, 由于引起叶斑病的病原菌不同而给田间防治带来困难, 筛选出对特定病原菌有最佳效果的药剂对满足生产需求具有重要意义。【前人研究进展】引起叶斑病的致病菌种类很多, 不同病原菌对不同的药剂敏感性存在差异, 如引起芹菜叶斑病的病菌有芹菜尾孢菌(*Cercospora apii*)^[1], 链格孢(*Al-*

ternaria spp.)^[2], 芹菜壳针孢(*Septoria apiicola*)^[3] 和假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)^[4]。目前链格孢属引起的农作物病害的防治主要以化学农药为主, 如申玉香等^[5] 研究发现, 苯醚甲环唑可有效防治芹菜叶斑病; 冯连荣等^[6] 研究表明, 10% 的多抗霉素对链格孢菌(*Alternaria alternata*) 毒力最强, EC_{50} 值为 0.035 1 mg/mL; 王媛媛等^[7] 研究表明, 异菌脲对病菌的毒力作用最强, EC_{50} 值为 0.36 5 mg/L, 霜·锰锌、咪鲜胺锰盐等药剂对玉米链格孢病菌也具有较好的抑制效果。金程凡^[8] 以 10% 苯醚甲环唑和 40% 氟硅唑对芸薹链格孢(*A. brassicae*) 进行抑制试验, 其 EC_{50} 分别为 0.480 2 和 0.942 1 mg/L; 徐太东等^[9] 以 10% 苯醚甲环唑、40% 氟硅唑、50% 福美双、70% 代森锰锌对多隔链格孢菌进行防治, 其 EC_{50} 分别为 17.89、3.41、44.27、42.34 $\mu\text{g/mL}$, 用 50% 啞菌酯、43%

收稿日期(Received): 2021-09-21

基金项目: 甘肃省教育厅产业支撑项目(2022CYZC-39); 国家自然科学基金(21967015); 甘肃省科技重大专项(18ZD2NA005); 甘肃省省级引导科技创新发展竞争性项目专项(2018ZX-11)

作者简介: 张建强(1991-), 男, 甘肃定西人, 硕士研究生, 研究方向为生物防治病原菌, (E-mail)1556199273@qq.com

通信作者: 田永强(1972-), 男, 甘肃兰州人, 教授, 博士, 硕士生导师, 研究方向为拮抗微生物与农业生物药物, (E-mail)tian2918@

戊唑醇、40% 腈菌唑对瓜链格孢进行防治,其 EC_{50} 分别为 3.45、21.35、5.21 $\mu\text{g/mL}$; Chang Shu 等^[10]用乌索酸对链格孢的防治具有非常好的效果。【本研究切入点】叶斑病对芹菜生长的危害及造成的产量损失,是目前芹菜种植过程当中主要的问题之一。细极链格孢引起的芹菜叶斑病目前尚未有报道,在甘肃部分地区芹菜叶斑病的防治一些常见的老品种杀菌剂防治效果并不理想。研究筛选对芹菜叶斑病(病菌为:细极链格孢 *Alternaria tenuissima*) 具有良好防治作用的药剂。【拟解决的关键问题】采用菌丝生长速率法和琼脂片法分别用 14 种药剂,测定细极链格孢菌丝和孢子萌发做室内毒力,运用田间试验筛选出对细极链格孢引起的叶斑病防治效果最佳的杀菌剂,为芹菜叶斑病的科学防治提供依据。

1 材料与方

1.1 材

1.1.1 供试病原菌

2019 年 9 月采集甘肃省定西市栽培地典型染病芹菜叶片,经前期分离得到致病菌为细极链格孢(*A. tenuissima*)^[11]。

1.1.2 供试药剂

50% 多菌灵、43% 戊唑醇、25% 嘧菌酯、25% 腈菌唑、30% 琥胶肥酸铜、3% 甲霜恶霉灵、40% 嘧霉胺、66.5% 霜霉威盐酸盐、10% 苯醚甲环唑、72% 霜脲锰锌、22.5% 啉氧菌酯、52.5% 噁酮霜脲氰、30% 氟环咪鲜胺;14 种药剂进行室内毒力测定。表 1

1.1.3 培养基

培养基选用 PDA 培养基(马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 18 g);试验主要仪器为超净工作台、灭菌锅,恒温培养箱等。

表 1 供试药剂名称

Table 1 Name of the tested drug dosage form and manufacturer information

供试药剂 Fungicide	剂型 Dosage Form	推荐稀释倍数 Recommended dilution ratio	生产厂家 Manufacturer
50% 多菌灵 50% Carbendazim	可湿性粉剂	800	江苏蓝丰生物化工股份有限公司
43% 戊唑醇 43% Tebuconazole	悬浮剂	3 000	山东邹平农药有限公司
25% 嘧菌酯 25% Azoxystrobin	悬浮剂	1 000	英国先正达有限公司
25% 腈菌唑 25% Myclobutanil	油剂	1 000	中国农科院植保所廊坊农药中试厂
30% 氟环咪鲜胺 30% Fluoricomidine	微乳剂	3 000	中国农科院植保所廊坊农药中试厂
3% 甲霜恶霉灵 3% Metalaxyl	水剂	600	中国农科院植保所廊坊农药中试厂
72% 霜脲锰锌 72% Cream urea · manganese zinc	可湿性粉剂	1 000	中国农科院植保所廊坊农药中试厂
66.5% 霜霉威盐酸盐 66.5% Propamocarb hydrochloride	水剂	1 000	中国农科院植保所廊坊农药中试厂
10% 苯醚甲环唑 10% Difenoconazole	微乳剂	1 500	中国农科院植保所廊坊农药中试厂
52.5% 噁酮霜脲氰 52.5% Famox - Cymoxanil	水分散粒剂	2 000	美国杜邦公司
30% 琥胶肥酸铜 30% Cupric succinate	悬浮剂	500	中国农科院植保所廊坊农药中试厂
22.5% 啉氧菌酯 22.5% Picoxystrobin	悬浮剂	1 500	美国杜邦公司
40% 嘧霉胺 40% Pyrimethanil	悬浮剂	1 500	中国农科院植保所廊坊农药中试厂
5% 香芹酚 5% Carvacrol	水剂	1 000	兰州世创生物科技有限公司

1.2 方

1.2.1 14 种杀菌剂对芹菜叶斑病病原菌的毒力测定

采用菌丝生长速率法^[12]测定 14 种杀菌剂对芹菜叶斑病病原菌细极链格孢的抑菌情况;将芹菜叶斑病病菌置于 PDA 培养基上 25℃ 培养 7 d,用直径 8 mm 的打孔器打取菌饼备用;将灭菌后

的 PDA 培养基待冷却到 45℃ 时加入相应稀释倍数的杀菌剂的量,每种药剂分别设置 5 个浓度梯度,制成系列不同浓度的平板待平板冷凝后,将菌饼接种于含不同稀释倍数杀菌剂的 PDA 培养基中央,每处理设置 3 个重复,以不加药剂的 PDA 平板为对照,25℃ 恒温培养箱中培养,待空白对照

长满平板后,用十字交叉法^[13]测量菌落直径,并计算菌丝生长抑制率,抑菌率 = (对照组菌落直径 - 处理组菌落直径)/对照组菌落直径 × 100%。采用生物统计方法建立病原菌菌丝生长抑制率与药剂浓度对数的毒力回归方程。以杀菌剂浓度对数为横坐标(x),生长抑制率对应的几率值为纵坐标(y)绘制毒力回归曲线,求得毒力回归方程 $y = a + bx$,相关系数 r ,并以毒力回归方程计算 EC_{50} 。比较每种药剂毒力的大小,评价不同杀菌剂对芹菜叶斑病病原菌细极链格孢的抑制效果,筛选出抑制效果最好的杀菌剂^[14]。

1.2.2 14 种杀菌剂对细极链格孢孢子萌发的毒力测定

采用琼脂培养法^[15],并做改进,在洁净无菌的载玻片上滴加含有不同浓度杀菌剂的 1.5% 水琼脂培养基,待水琼脂凝成薄层后,将有琼脂培养基的一面朝上,平放在培养皿中的“U”形玻棒上,再吸取 10 μ L 浓度为 1.5×10^5 的细极链格孢分生孢子悬浮液均匀涂抹在水琼脂平面上,平板底部加浸水的滤纸片保温培养,置于 25℃ 温度下,培养 48 h,每个处理重复 3 次。并以不加杀菌剂为对照。在光学显微镜下观察,每次镜检 100 个孢子,统计细极链格孢孢子萌发情况。萌发抑制率 (%) = (对照萌发率 - 处理萌发率)/对照萌发率 × 100%^[16]。求得毒力回归方程 $y = a + bx$,相关系数 r ,并以毒力回归方程计算 EC_{50} 。

1.2.3 田间药效试验

在定西市内官营镇芹菜种植基地进行,该种植区往年芹菜叶斑病发病较重。选择对病原菌菌丝和孢子抑制效果最好的 5 种药剂(3% 甲霜恶霉灵、5% 香芹酚、10% 苯醚甲环唑、25% 嘧菌酯、43% 戊唑醇)进行田间试验,药剂喷施按照厂家说明书,清水作为对照。试验小区采用随机区组设计,每小区重复 3 次,小区面积 30 m^2 ,于发病初期(6 月)喷药,共施药 3 次,间隔 10 d。第 3 次施药后 15 d 调查发病情况,并计算发病率、防效。计算公式为:

发病率 = 发病株数/调查总株数 × 100%;

防效 = (对照发病率 - 处理发病率)/对照发病率 × 100%。

1.3 数据处理

试验数据利用 Excel2003 和 DPS 7.05 数据处

理系统软件进行数据分析,并应用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 药剂对芹菜叶斑病病原菌菌丝的抑菌效果

研究表明,不同浓度梯度对芹菜叶斑病病原菌菌丝生长均有不同程度的抑制作用,浓度与抑制率呈正相关;14 种供试药剂中抑菌作用最差的为 25% 嘧菌酯和 50% 多菌灵,最高浓度下抑菌率分别为 9.9% 和 30.1%,其余 12 种药剂均有较好的抑制效果,其中 72% 霜脲锰锌抑菌效果最好,最高浓度下抑菌率为 85.6%,其次为 5% 香芹酚,最高浓度下抑菌率为 83.9%。表 2

2.2 14 种药剂对芹菜叶斑病病原菌的室内毒力

研究表明,抑菌率与质量浓度对数值的相关系数达显著水平,存在线性相关。14 种供试药剂对芹菜叶斑病病原菌菌丝生长抑制效果差别较大,抑制效果最好的依次为 3% 甲霜恶霉灵、5% 香芹酚、10% 苯醚甲环唑,其 EC_{50} 值分别为 10.8、19.9、26.2 μ g/mL;25% 嘧菌酯和 50% 多菌灵几乎对芹菜叶斑病病原菌无抑制效果,其 EC_{50} 值均大于 1 mg/L。表 3

2.3 14 种药剂对芹菜叶斑病病原菌孢子的抑菌效果

研究表明,不同浓度梯度对芹菜叶斑病病原菌孢子萌发均有不同程度的抑制作用,浓度与抑制率呈正相关;14 种供试药剂中抑菌作用最好的为 50% 多菌灵和 43% 戊唑醇,最高浓度下抑菌率分别为 98% 和 95.5%;抑菌作用最差的为 52.5% 噁酮霜脲氰和 30% 氟环咪鲜胺,最高浓度下抑菌率分别为 40.0% 和 37.4%。表 4

2.4 14 种药剂对芹菜叶斑病病原菌孢子的室内毒力

研究表明,抑菌率与药剂质量浓度对数值的相关系数达显著水平,存在线性相关。14 种供试药剂对芹菜叶斑病病原菌孢子萌发抑制效果差别较大,抑制效果最好的依次为 3% 甲霜恶霉灵、25% 嘧菌酯、43% 戊唑醇,其 EC_{50} 值分别为 15.7、29.5、38.7 μ g/mL;其中 5% 香芹酚、10% 苯醚甲环唑、30% 氟环咪鲜等也有较好的抑制效果,66.5% 霜霉威盐酸盐几乎对病原菌孢子无抑制效果,其 EC_{50} 值均大于 1 mg/L。表 5

表 2 不同浓度药剂下病原菌菌丝的抑制率变化

Table 2 Inhibition rates of different concentrations of agents on pathogenic hypha

供试药剂 Fungicide	稀释倍数 Dilution ratio	浓度 Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	病原菌菌落直径 Diameter of pathogen colony(mm)	抑菌率 Antibacterial rate (%)
25% 嘧菌酯 25% Azoxystrobin	500	500	81.1 $\pm$ 1	9.9 ^a
	1 000	250	84.8 $\pm$ 1.2	5.1 ^b
	1 500	166.7	87.2 $\pm$ 1.1	3.1 ^b ^c
	2 000	125	88.5 $\pm$ 1.3	1.6 ^c
	2 500	100	89 $\pm$ 0	1.1 ^c
50% 多菌灵 50% Carbendazim	100	5 000	62.9 $\pm$ 0.7	30.1 ^a
	200	2 500	82.3 $\pm$ 0.8	8.6 ^b
	400	1 250	86.8 $\pm$ 1.1	3.6 ^b
	800	625	88 $\pm$ 1.2	2.2 ^b ^c
	1 000	500	89.8 $\pm$ 1	0.2 ^c
43% 戊唑醇 43% Tebuconazole	1 000	430	42.75 $\pm$ 1.3	52.5 ^a
	2 000	215	49.95 $\pm$ 1.1	44.5 ^b
	3 000	143	54.9 $\pm$ 0.9	39 ^c
	4 000	107.5	56.1 $\pm$ 0.6	37.7 ^c
	5 000	86	60 $\pm$ 1	33.3 ^d
25% 腈菌唑 25% Myclobutanil	800	312.5	20 $\pm$ 1	77.8 ^a
	1 000	250	25 $\pm$ 1.5	72.2 ^b
	1 200	208.3	26.64 $\pm$ 1.6	70.4 ^b
	1 400	178.6	29.34 $\pm$ 1.1	67.4 ^c
	1 600	166.7	31.68 $\pm$ 1.3	64.8 ^c
30% 氟环咪唑啉 30% Fluoricomidine	4 000	75	18 $\pm$ 0.4	78.9 ^a
	4 500	66.67	22.3 $\pm$ 0.3	73.9 ^b
	5 000	60	26.7 $\pm$ 0.6	68.7 ^c
	5 500	54.55	34 $\pm$ 0.2	60.1 ^d
	6 000	50	39.7 $\pm$ 0.9	53.5 ^e
3% 甲霜恶霉灵 3% Metalaxyl	1 500	20	26 $\pm$ 1	69.5 ^a
	2 000	15	35 $\pm$ 1.2	59.0 ^b
	2 500	12	40 $\pm$ 0.4	53.1 ^c
	3 000	10	44.6 $\pm$ 0.6	47.7 ^d
	3 500	8.57	48.7 $\pm$ 0.8	42.9 ^e
72% 霜脲锰锌 72% Cream urea · manganese zinc	3 000	240	12.3 $\pm$ 1.1	85.6 ^a
	3 500	205.7	18.7 $\pm$ 1.5	78.1 ^b
	4 000	180	24.7 $\pm$ 0.5	71.0 ^c
	4 500	160	32.7 $\pm$ 0.3	61.7 ^d
	5 000	144	40.3 $\pm$ 1.2	52.8 ^e
66.5% 霜霉威盐酸盐 66.5% Propamocarb hydrochloride	400	1 662.5	40 $\pm$ 0	53.1 ^a
	600	1 108.3	55.2 $\pm$ 0.5	35.3 ^b
	800	831.25	61 $\pm$ 1	28.5 ^c
	1 000	665	67.3 $\pm$ 1.2	21.1 ^d
	1 200	554.17	74 $\pm$ 0	13.2 ^e
10% 苯醚甲环唑 10% Difenoconazole	2 000	50	15 $\pm$ 0	82.4 ^a
	2 500	40	23.3 $\pm$ 0.4	72.7 ^b
	3 000	33.33	29 $\pm$ 0.7	66.0 ^c
	3 500	28.57	38.2 $\pm$ 0.3	55.2 ^d
	4 000	25	46.2 $\pm$ 0.5	45.8 ^e
52.5% 噁酮霜脲氰 52.5% Famox – Cymoxanil	2 000	262.5	19 $\pm$ 0.3	77.7 ^a
	2 500	210	22.7 $\pm$ 0.9	73.4 ^a
	3 000	175	29.3 $\pm$ 0.5	65.7 ^b
	3 500	150	35 $\pm$ 0	59.0 ^c
	4 000	131.25	40.7 $\pm$ 0.5	52.3 ^d

续表 2 不同浓度药剂下病原菌菌丝的抑制率变化

Table 2 Inhibition rates of different concentrations of agents on pathogenic hypha

供试药剂 Fungicide	稀释倍数 Dilution ratio	浓度 Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	病原菌菌落直径 Diameter of pathogen colony(mm)	抑菌率 Antibacterial rate (%)
30% 琥胶肥酸铜 30% Cupric succinate	100	3 000	18 $\pm$ 0	78.9 ^a
	300	1 000	34 $\pm$ 0	60.1 ^b
	500	600	38.2 $\pm$ 0.2	54.0 ^c
	700	428.57	46 $\pm$ 0	43.7 ^d
	900	333.33	71.2 $\pm$ 0.7	29.7 ^e
22.5% 啉氧菌酯 22.5% Picoxystrobin	1 000	225	16.7 $\pm$ 0.6	80.4 ^a
	1 500	150	23.3 $\pm$ 1.1	72.7 ^b
	2 000	112.5	29.3 $\pm$ 1.5	65.7 ^c
	2 500	90	33 $\pm$ 1.2	61.3 ^c
	3 000	75	38.3 $\pm$ 1.1	55.1 ^d
40% 嘧霉胺 40% Pyrimethanil	1 200	333.33	14 $\pm$ 1.4	83.6 ^a
	1 400	285.71	25.3 $\pm$ 1.5	70.3 ^b
	1 600	250	37.7 $\pm$ 1.1	55.8 ^c
	1 800	222.22	42.3 $\pm$ 1.6	50.4 ^d
	2 000	200	53.7 $\pm$ 0.9	37.0 ^e
5% 香芹酚 5% Carvacrol	1 000	50	13.7 $\pm$ 0.5	83.9 ^a
	1 500	33.33	28 $\pm$ 1.3	67.2 ^b
	2 000	25	33.7 $\pm$ 1.8	60.5 ^c
	2 500	20	43 $\pm$ 1.5	49.6 ^d
	3 000	16.7	48 $\pm$ 1.9	43.7 ^e

注:小写字母不同在 0.05 水平上差异显著

Note: Lowercase letters are significantly different at the 0.05 level

表 3 不同杀菌剂下芹菜病原菌菌丝的室内毒力变化

Table 3 Indoor toxicity of different fungicides to celery pathogens hypha

供试药剂 Fungicide	毒力回归方程 Toxicity regression equation	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 Related coefficient (r^2)
25% 啉菌酯 25% Azoxystrobin	$y = 1.4414x - 0.1355$	3 654.7	0.9836
50% 多菌灵 50% Carbendazim	$y = 2.1207x - 3.4252$	9 393.8	0.9684
43% 戊唑醇 43% Tebuconazole	$y = 0.6821x + 3.2674$	346.8	0.9877
25% 腈菌唑 25% Myclobutanil	$y = 1.3072x + 2.4891$	83.33	0.9746
30% 氟环唑 30% Fluoricomidine	$y = 4.1055x - 1.8635$	47	0.9864
3% 甲霜恶霉灵 3% Metalaxyl	$y = 1.8356x + 3.1005$	10.8	0.9945
72% 霜脲锰锌 72% Cream urea · manganese zinc	$y = 4.4396x - 4.4917$	137.4	0.9973
66.5% 霜霉威盐酸盐 66.5% Propamocarb hydrochloride	$y = 2.3722x - 2.5572$	1 533.7	0.9837
10% 苯醚甲环唑 10% Difenoconazole	$y = 3.3787x + 0.2064$	26.2	0.9916
52.5% 噁唑霜脲胍 52.5% Famox - Cymoxanil	$y = 2.3628x + 0.1055$	117.9	0.9475
30% 琥胶肥酸铜 30% Cupric succinate	$y = 1.2959x + 1.3388$	668.7	0.965
22.5% 啉氧菌酯 22.5% Picoxystrobin	$y = 1.4789x + 2.3972$	57.5	0.9757
40% 嘧霉胺 40% Pyrimethanil	$y = 5.7086x - 8.4616$	228.1	0.9859
5% 香芹酚 5% Carvacrol	$y = 2.3658x + 1.927$	19.9	0.9865

表 4 不同浓度药剂下病原菌孢子的抑制率变化

Table 4 Inhibition rate of different concentrations of agents on pathogen spores

供试药剂 Fungicide	稀释倍数 Dilution ratio	浓度 Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	孢子萌发数(平均值) Number of spore germination(average)	萌发抑制率 Germination inhibition(%)
25% 嘧菌酯 25% Azoxystrobin	500	500	10.5 $\pm$ 0.55	89.3 ^a
	1 000	250	15.2 $\pm$ 1.11	84.5 ^a
	1 500	166.7	20.5 $\pm$ 1.12	79.1 ^b
	2 000	125	24.7 $\pm$ 2.31	74.8 ^b
	2 500	100	30.9 $\pm$ 3.1	69.2 ^c
50% 多菌灵 50% Carbendazim	100	5 000	2.0 $\pm$ 0.44	98 ^a
	200	2 500	7.3 $\pm$ 0.52	92.6 ^b
	400	1 250	13.6 $\pm$ 0.71	86.1 ^c
	800	625	22.4 $\pm$ 2.13	77.1 ^d
	1 000	500	29.9 $\pm$ 2.53	69.5 ^e
43% 戊唑醇 43% Tebuconazole	1 000	430	4.4 $\pm$ 0.55	95.5 ^a
	2 000	215	10.6 $\pm$ 0.92	89.2 ^b
	3 000	143	15.3 $\pm$ 1.21	84.4 ^b
	4 000	107.5	22.9 $\pm$ 2.74	76.6 ^c
	5 000	86	29.5 $\pm$ 2.94	69.9 ^d
25% 腈菌唑 25% Myclobutanil	800	312.5	54.1 $\pm$ 3.68	44.8 ^a
	1 000	250	61.5 $\pm$ 3.35	37.2 ^b
	1 200	208.3	67.2 $\pm$ 3.67	31.4 ^{b,c}
	1 400	178.6	72.1 $\pm$ 3.41	26.4 ^c
	1 600	166.7	76.6 $\pm$ 4.32	21.8 ^c
30% 氟环咪唑啉 30% Fluoricomidine	4 000	75	61.3 $\pm$ 3.86	37.4 ^a
	4 500	66.67	69.7 $\pm$ 3.94	28.9 ^b
	5 000	60	76.1 $\pm$ 4.56	22.3 ^c
	5 500	54.55	82.6 $\pm$ 5.25	15.7 ^d
	6 000	50	89.3 $\pm$ 5.47	8.9 ^e
3% 甲霜恶霉灵 3% Metalaxyl	1 500	20	42.3 $\pm$ 2.13	56.8 ^a
	2 000	15	49.1 $\pm$ 2.39	49.9 ^b
	2 500	12	56.5 $\pm$ 3.12	42.3 ^c
	3 000	10	63.5 $\pm$ 3.45	35.2 ^d
	3 500	8.57	68.5 $\pm$ 3.92	30.1 ^d
72% 霜脲锰锌 72% Cream urea · manganese zinc	3 000	240	57.6 $\pm$ 4.34	41.2 ^a
	3 500	205.7	65.2 $\pm$ 4.11	33.5 ^b
	4 000	180	72.7 $\pm$ 5.81	25.8 ^c
	4 500	160	78.3 $\pm$ 5.78	20.1 ^d
	5 000	144	83.7 $\pm$ 5.89	14.6 ^d
66.5% 霜霉威盐酸盐 66.5% Propamocarb hydrochloride	400	1 662.5	33.6 $\pm$ 3.34	65.7 ^a
	600	1 108.3	45.0 $\pm$ 4.21	54.1 ^b
	800	831.25	54.5 $\pm$ 4.45	44.4 ^c
	1 000	665	64.8 $\pm$ 4.13	33.9 ^d
	1 200	554.17	75.3 $\pm$ 4.52	23.2 ^e
10% 苯醚甲环唑 10% Difenoconazole	2 000	50	51.6 $\pm$ 2.87	47.3 ^a
	2 500	40	63.9 $\pm$ 3.56	34.8 ^b
	3 000	33.33	72.6 $\pm$ 4.23	25.9 ^c
	3 500	28.57	81.5 $\pm$ 4.56	16.8 ^d
	4 000	25	88.1 $\pm$ 5.24	10.1 ^e
52.5% 噁酮霜脲氰 52.5% Famox – Cymoxanil	2 000	262.5	58.8 $\pm$ 4.83	40.0 ^a
	2 500	210	77.3 $\pm$ 4.94	21.1 ^b
	3 000	175	86.9 $\pm$ 5.87	11.3 ^c
	3 500	150	92.9 $\pm$ 6.68	5.2 ^{c,d}
	4 000	131.25	96.9 $\pm$ 6.77	1.1 ^d

续表 4 不同浓度药剂下病原菌孢子的抑制率变化

Table 4 Inhibition rate of different concentrations of agents on pathogen spores

供试药剂 Fungicide	稀释倍数 Dilution ratio	浓度 Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	孢子萌发数(平均值) Number of spore germination(average)	萌发抑制率 Germination inhibition(%)
30% 琥胶肥酸铜 30% Cupric succinate	100	3 000	23.7 $\pm$ 2.12	75.8 ^a
	300	1 000	43.9 $\pm$ 4.36	55.2 ^b
	500	600	58.4 $\pm$ 4.51	40.4 ^b
	700	428.57	69.4 $\pm$ 5.13	29.1 ^c
	900	333.33	78.7 $\pm$ 5.16	19.1 ^d
22.5% 啉氧菌酯 22.5% Picoxystrobin	1 000	225	44.2 $\pm$ 3.7	54.2 ^a
	1 500	150	57.5 $\pm$ 4.25	44.3 ^b
	2 000	112.5	70.5 $\pm$ 4.738	34.0 ^c
	2 500	90	82.2 $\pm$ 6.49	27.4 ^c
	3 000	75	91.0 $\pm$ 6.84	20.3 ^d
40% 嘧霉胺 40% Pyrimethanil	1 200	333.33	48.2 $\pm$ 3.78	54.9 ^a
	1 400	285.71	54.0 $\pm$ 4.62	41.3 ^b
	1 600	250	66.4 $\pm$ 5.12	28.0 ^c
	1 800	222.22	73.0 $\pm$ 5.65	16.1 ^d
	2 000	200	80.2 $\pm$ 6.74	7.2 ^e
5% 香芹酚 5% Carvacrol	1 000	50	48.2 $\pm$ 2.58	50.8 ^a
	1 500	33.33	54.0 $\pm$ 3.35	44.9 ^a
	2 000	25	66.4 $\pm$ 4.8	32.2 ^b
	2 500	20	72.9 $\pm$ 4.53	25.6 ^c
	3 000	16.7	80.5 $\pm$ 5.29	18.1 ^d

注:小写字母不同在 0.05 水平上差异显著

Note: Different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level

表 5 不同杀菌剂下芹菜病原菌孢子的室内毒力变化

Table 5 Indoor toxicity of different fungicides to the spores of celery pathogen

供试药剂 Fungicide	毒力回归方程 Toxicity regression equation	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 Related coefficient (r^2)
25% 啉菌酯 25% Azoxystrobin	$y = 1.0411x + 3.4705$	29.5	0.9785
50% 多菌灵 50% Carbendazim	$y = 1.4519x + 1.6118$	215.9	0.986
43% 戊唑醇 43% Tebuconazole	$y = 1.6479x + 2.3841$	38.7	0.9891
25% 腈菌唑 25% Myclobutanil	$y = 2.2615x - 0.7555$	350.7	0.9828
30% 氟环咪唑啉 30% Fluorimidone	$y = 5.6471x - 5.8651$	83.9	0.9775
3% 甲霜恶霉灵 3% Metalaxyl	$y = 1.9098x + 2.718$	15.7	0.9893
72% 霜脲锰锌 72% Cream urea · manganese zinc	$y = 3.7328x - 4.0825$	271.1	0.9945
66.5% 霜霉威盐酸盐 66.5% Propamocarb hydrochloride	$y = 2.4988x - 2.5085$	1 008.7	0.9841
10% 苯醚甲环唑 10% Difenoconazole	$y = 3.9481x - 1.731$	50.7	0.9866
52.5% 啉啉霜脲胍 52.5% Famox - Cymoxanil	$y = 6.4562x - 10.8$	280.1	0.9753
30% 琥胶肥酸铜 30% Cupric succinate	$y = 1.5797x + 0.2843$	966.5	0.973
22.5% 啉氧菌酯 22.5% Picoxystrobin	$y = 1.9421x + 0.5827$	188.1	0.9838
40% 嘧霉胺 40% Pyrimethanil	$y = 7.0509x - 12.583$	311.7	0.9807
5% 香芹酚 5% Carvacrol	$y = 1.8363x + 1.9092$	48.2	0.9769

2.5 田间防效

研究表明,5 种供试药剂对芹菜叶斑病均具

一定防效,但是其防治效果差异明显,其中,3% 甲霜恶霉灵水剂 250 g/667m² 处理的防效最高,为

96.3%;其次是5%香芹酚水剂100 mL/667m²处理和10%苯醚甲环唑微乳剂80 mL/667m²处理,防效分别为83.9%和78.9%,其余2个处理防效间无显著差异,防效显著低于甲霜恶霉灵处理。

表 6 5 种杀菌剂下芹菜叶斑病的防效
Table 6 Control effects of 5 fungicides on celery leaf spot disease

供试药剂 Fungicide	制剂用量 Preparation dosage (mL、g/667m ²)	发病率 Incidence rate (%)	防效 Field control effect (%)
25% 嘧菌酯 25% Azoxystrobin	70	9.5	70.5 ^d
43% 戊唑醇 43% Tebuconazole	80	8.7	73.0 ^d
3% 甲霜恶霉灵 3% Metalaxyl	250	1.2	96.3 ^a
10% 苯醚甲环唑 10% Difenoconazole	80	6.8	78.9 ^c
5% 香芹酚 5% Carvacrol	100	5.2	83.9 ^b
水 Water	—	32.2	—

注:小写字母不同在 0.05 水平上差异显著
Note: Different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level

3 讨论

蔬菜链格孢叶斑病原菌多样性研究表明^[17],全国14个省份蔬菜主产区进行病害调查发现,链格孢属的8个种能够侵染包括茄科、葫芦科、十字花科和百合科的32种寄主,具有非常广泛的寄主。

近年来,芹菜在甘肃种植地区分布范围较广、规模较大、播种重茬多,再加上大棚的高温高湿环境,发病率也有所上升,导致芹菜的产量与品质受到了严重的影响。在芹菜种植中对叶斑病的防治目前主要以化学农药为主,但对细极链格孢引起的叶斑病防治未有报道,目前仅有张铮等^[18]对三叶木通叶斑病原菌细极链格孢进行过研究,药剂筛选表明戊唑醇对该病原菌菌丝生长和孢子萌发的抑制力最强。申玉香等^[5]药剂筛选表明苯醚甲环唑可有效防治芹菜叶斑病,防效随着用量的增加而提高,但是未能说明引起叶斑病的具体病菌。

4 结论

14种杀菌剂中对病原菌菌丝抑制效果最好的分别为3%甲霜恶霉灵、5%香芹酚、10%苯醚甲环唑、其EC₅₀分别为10.8、19.9、26.2 μg/mL。对孢子萌发抑制效果最好的分别为3%甲霜恶霉灵、25%嘧菌酯、43%戊唑醇,其EC₅₀分别为15.7、29.5、38.7 μg/mL。只有3%甲霜恶霉灵对菌丝和孢子同时具有最佳的防治效果,不仅能抑制菌丝的生长还能抑制孢子进一步对植物的扩大侵染。3%甲霜恶霉灵田间防治效果最佳,防效高达96.3%。

参考文献 (References)

[1] 宋加伟. 主要叶类蔬菜新病害发现及常见真菌病害调查研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2017.
SONG Jiawei. *Discovery of New Diseases and Survey of Fungal Diseases on Main Leafy Vegetables* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017.

[2] 宋加伟, 王莹莹, 石延霞, 等. 芹菜链格孢叶斑病的鉴定与防治[J]. 中国蔬菜, 2015, 8(1): 68–69.
SONG Jiawei, WANG Yingying, SHI Yanxia, et al. Identification and control of leaf spot of celery spore [J]. *China Vegetables*, 2015, 8(1): 68–69.

[3] 陈雪, 李宝聚, 傅俊范, 等. 芹菜斑枯病和叶斑病的识别与防治[J]. 中国蔬菜, 2007, (9): 53–54.
CHEN Xue, LI Baoju, FU Junfan, et al. Identification and control of spot and leaf spot of celery [J]. *Chinese Vegetables*, 2007, (9): 53–54.

[4] 张爱香, 刘会清, 张红杰, 等. 张家口坝上地区芹菜叶斑病的综合防治[J]. 中国蔬菜, 2006, (6): 53.
ZHANG Aixiang, LIU Huiqing, ZHANG Hongjie, et al. Integrated control of celery leaf spot in Bashang area of Zhangjiakou [J]. *Chinese Vegetables*, 2006, (6): 53.

[5] 申玉香, 李洪山, 乔华. 芹菜叶斑病的发生特点及其化学防治[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(33): 10760–10761.
SHEN Yuxiang, LI Hongshan, QIAO Hu. Occurrence Characteristic of Celery Leaf Spot and its Chemical Control [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007, 35(33): 10760–10761.

[6] 冯连荣, 彭儒胜, 周宏民, 等. 杨树上一株链格孢菌的分离、鉴定及室内防治药剂筛选[J]. 西部林业科学, 2018, 47(6): 106–111.
FENG Lianrong, PENG Rusheng, ZHOU Hongmin, et al. Tian Y F. Isolation and Identification of a Strain of *Alternaria alternata* on *Populus russki* and Screening of Fungicides [J]. *Journal of West China Forestry Science*, 2108, 47(6): 106–111.

[7] 王媛媛, 刘彬, 周园园, 等. 玉米链格孢病菌生物学特性及防治药剂离体活性筛选[J]. 沈阳农业大学学报, 2015, 46

- (5):538-542.
- WANG Yuanyuan, LIU Bin, ZHOU Yuanyuan, et al. Biological Characteristics and Screening of Fungicides of Maize *Alternaria tenuissima* [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2015, 46(5): 538-542.
- [8] 金程凡. 油菜上链格孢菌的分离、鉴定、致病力比较及药剂筛选[D]. 长沙:湖南农业大学, 2014.
- JIN Chengfan. Studies on Isolation, Identification, Virulence Comparison and Fungicide Screening of Pathogenic *Alternaria* on Rapeseed [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2014.
- [9] 徐太东, 梁巧兰, 吴琼, 等. 甜瓜叶斑病原鉴定及室内药剂筛选[J]. 中国农学通报, 2019, 35(20): 104-111.
- XU Taidong, LIANG Qiaolan, WU Qiong, et al. Identifying Pathogen of Melon Leaf Spot Disease and Screening Its Fungicides in Laboratory [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2019, 35(20): 104-111.
- [10] Chang, Shu, Handong, et al. Antifungal efficacy of ursolic acid in control of *Alternaria alternata* causing black spot rot on apple fruit and possible mechanisms involved - ScienceDirect [J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 256:108636-108636.
- [11] Zhang J, Wu K, Zhang X, et al. First Report of *Alternaria tenuissima* Causing Leaf Spot of Celery (*Apium graveolens*) in China [J]. *Plant Disease*, 2020, 105(4).
- [12] 李波涛, 吴隆起, 倪笑霞, 等. 水稻稻瘟病菌对烯酰菌胺的抗性风险评估及抗性机制初探[J]. 植物病理学报, 2014, 44(1): 80-87.
- LI Botao, WU Longqi, NI Xiaoxia, et al. Risk assessment and molecular mechanism of the resistance of *Magnaporthe oryzae* from rice to SYP-1620 [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2014, 44(1): 80-87.
- [13] 石延霞, 孟姗姗, 陈璐, 等. 芹菜根腐类病害的病原菌鉴定及新型防治技术[J]. 中国蔬菜, 2014, 11(6): 71-73.
- SHI Yanxia, MENG Shanshan, CHEN Lu, et al. Identification of pathogenic bacteria of celery root rot and new control technology [J]. *China Vegetables*, 2014, 11(6): 71-73.
- [14] 晋知文, 谢学文, 马墨, 等. 蔬菜细菌性软腐病防治药剂活体组织筛选技术[J]. 植物保护学报, 2017, 44(2): 269-275.
- JIN Zhiwen, XIE Xuewen, MA Mo, et al. Investigation on screening fungicide technique in vivo for controlling bacterial soft rot of vegetables [J]. *Chinese Journal of Plant Protection*, 2017, 44(2): 269-275.
- [15] 乔镜澄, 刘宇, 马敬昊, 等. 番茄黑斑病原菌的鉴定及生物学特性研究[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(10): 94-97.
- QIAO Jingcheng, LIU Yu, MA Jinghao, et al. Identification and biological characteristics of pathogen of tomato black spot disease [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, 45(10): 94-97.
- [16] 王鹏飞. 室内大豆锈病发病条件研究及防治药剂筛选[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
- WANG Pengfei. Study on indoor morbidity condition of soybean rust and screening of its control agents [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2018.
- [17] 王莹莹. 中国蔬菜链格孢叶斑病原菌鉴定及多样性研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- WANG Yingying. Identification and variety of leaf spot caused by *Alternaria* on vegetables in China [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2016.
- [18] 张铮, 刘昱锋, 杨晴, 等. 三叶木通叶斑病防治药剂的室内筛选[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版) 2019, 47(3): 91-94.
- ZHANG Zheng, LIU Yufeng, YANG Qing, et al. Laboratory screening of drug for *Akebia trifoliata* leaf spot prevention [J]. *Journal of Shannxi Normal University (Natural Science)*, 2019, 47(3): 91-94.

Selection of Agents for *Alternaria tenuissima* of Pathogen of Celery Leaf Spot

ZHANG Jianqiang¹, Abdramane Salah Zene², WANG Jianglai², LI Jiajia³,

ZHANG Xiaomeng², WU Kangli², TIAN Yongqinang²

(1. College of Resources and Environment, Aba Teachers University, Aba Sichuan 624000, China; 2. College of Chemical and Biological Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China; 3. Gansu Plant Provenance Biological Engineering Technology Research Center, Lanzhou 730070, China)

Abstract: **[Objective]** This study aims to screen out the agents that have a good control effect on celery leaf spot (the pathogen was: *Alternaria tenuissima*). **[Method]** The toxicity of 14 fungicides to the mycelia and spore germination of *A. tenuissima* were measured in laboratory and the field efficacy test was carried out. **[Result]** Among the 14 fungicides, the best inhibition effect on pathogen mycelia was 3% Metalaxyl hymexazol, 5% Carvacrol, 10% difenoconazole, and the EC_{50} was 10.8, 19.9, 26.2 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The best inhibition effect on spore germination was 3% Metalaxyl hymexazol, 25% Azoxystrobin, 43% Tebuconazole, and the EC_{50} was 15.7, 29.5, 38.7 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The inhibition test on mycelia and spores showed that only 3% Metalaxyl hymexazol had the best control effect. And the field efficacy test verified the best control effect of the agent was 3% Metalaxyl hymexazol and 5% Carvacrol, its control effect was 96.3% and 83.9%, respectively. **[Conclusion]** 3% alopectyl was most suitable for the prevention and treatment of celery leaf spot in the field.

Key words: celery; *Alternaria tenuissima*; fungicide screening; toxicity test

Fund project: School of Biological and Pharmaceutical Engineering (2022CYZC-39); National Natural Science Foundation of China (21967015); Major Science and Technology Special Project of Gansu Province (18ZD2NA005); Gansu Provincial Competitive Project of Leading Science and Technology Innovation Development (2018ZX-11)

Correspondence author: TIAN Yongqiang (1972-), male, native place: Lanzhou, Gansu PhD, professor, Master Instructor, research field: antagonistic microorganisms and agricultural biological drugs, (E-mail) tian2918@163.com