



詹庆玲,屠涵舒,王梦琪,等.‘滁菊’叶部病害病原菌鉴定与化学防治[J].南京农业大学学报,2024,47(3):443-452.

ZHAN Qingling, TU Hanshu, WANG Mengqi, et al. Identification and chemical control of leaf disease pathogens in *Chrysanthemum morifolium* ‘Chuju’ [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2024, 47(3): 443-452.

‘滁菊’叶部病害病原菌鉴定与化学防治

詹庆玲¹,屠涵舒¹,王梦琪¹,史亚东²,刘晔¹,赵爽¹,王海滨¹,
陈发棣¹,房伟民¹,陈素梅¹,史燕²,管志勇^{1*}

(1.南京农业大学作物遗传与种质创新利用全国重点实验室/农业农村部景观设计重点实验室,江苏南京 210095;
2.安徽菊泰滁菊草本科技有限公司,安徽滁州 239000)

摘要:[目的]本文旨在明确‘滁菊’叶部病害致病菌并筛选出有效化学农药,以有效防治‘滁菊’病害的发生。[方法]采用组织分离法分离纯化病原菌,进行形态学鉴定、分子生物学鉴定与致病性测定,分析导致‘滁菊’叶部病害的主要病原菌,并采用平板毒力测定13种农药的抑菌效果,筛选有效药剂及防治浓度;采用叶片菌丝贴接法对盆栽‘滁菊’幼苗接种致病菌,进一步在盆栽活体幼苗上测定筛选药剂的防治效果。[结果]从‘滁菊’病害叶片分离的主要致病菌为交链格孢菌(*Alternaria alternata*)、长柄链格孢菌(*Alternaria longipes*)、细极链格孢菌(*Alternaria tenuissima*)。平板毒力测定结果表明,苯醚甲环唑·啞菌酯对链格孢菌(CJ31、CJ4-1)菌丝生长抑制效果最好,己唑醇对链格孢菌(CJ3-1、CJ37)菌丝生长抑制效果最好,异菌脲对链格孢菌(CJ30)菌丝生长抑制效果最好,且 EC_{50} 值均低于 $7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。盆栽药效测定表明,异菌脲500倍稀释液和己唑醇3000倍稀释液对链格孢菌具有较好防效。[结论]导致‘滁菊’中心产区叶部病害的主要病原菌为链格孢菌,引起‘滁菊’的黑斑病。推荐将异菌脲、己唑醇、苯醚甲环唑·啞菌酯作为‘滁菊’田间叶部病害防治的首选药剂。

关键词:滁菊;叶部病害;链格孢菌;药剂筛选;化学防治

中图分类号:S436.8

文献标志码:A

文章编号:1000-2030(2024)03-0443-10

Identification and chemical control of leaf disease pathogens in *Chrysanthemum morifolium* ‘Chuju’

ZHAN Qingling¹, TU Hanshu¹, WANG Mengqi¹, SHI Yadong², LIU Ye¹, ZHAO Shuang¹, WANG Haibin¹,
CHEN Fadi¹, FANG Weimin¹, CHEN Sumei¹, SHI Yan², GUAN Zhiyong^{1*}

(1.National Key Laboratory of Crop Genetics & Germplasm Enhancement and Utilization/Key Laboratory of Landscape Design,
Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;
2.Anhui Jutai Herbal Tea Technology Company, Chuzhou 239000, China)

Abstract:[Objectives] The paper aimed to clarify the pathogenic fungi of ‘Chuju’ leaf disease and screen the effective chemical pesticides for effective control of the occurrence of diseases in ‘Chuju’. [Methods] The pathogenic fungi were isolated and purified by tissue isolated method, and morphological identification, molecular biological identification and pathogenicity determination, and the primary pathogenic fungi that caused ‘Chuju’ leaf diseases were identified. The plate toxicity test was utilized to detect the antifungal effect of 13 fungicides and to screen for the effective drug and control concentration. The foliar mycelial adherence method was used to inoculate with pathogenic fungi in potted chrysanthemum seedlings, and the control effect of screening agents was further determined on live potted seedlings. [Results] The main pathogens fungi isolated from the diseased leaves of ‘Chuju’ were *Alternaria alternata*, *Alternaria longipes* and *Alternaria tenuissima*. The results of the plate toxicity test showed that difenoconazole·azoxystrobin had the best effect on mycelial growth inhibition of *Alternaria* (CJ31, CJ4-1), and hexaconazole had the best effect on mycelial growth inhibition of *Alternaria* (CJ3-1, CJ37), iprodione had the best inhibitory effect on mycelial growth of *Alternaria* (CJ30), and all EC_{50} values were below $7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. According to the efficacy test of the potted medicines, the control effect on *Alternaria* proved better with iprodione 500 times dilution solution and hexaconazole 3000 times dilution solution. [Conclusions] In the main production areas of ‘Chuju’, the main pathogen causing leaf diseases was *Alternaria*, which caused black spot disease of ‘Chuju’. Iprodione, hexaconazole and difenoconazole·azoxystrobin were recommended as the pesticides of choice for controlling leaf diseases in the field of ‘Chuju’.

Keywords: Chuju; leaf diseases; *Alternaria* sp.; fungicide screening; chemical control

收稿日期:2023-04-18

基金项目:国家重点研发计划项目(2020YFD1001105);江苏现代农业产业技术体系建设项目(JATS(2023)012)

*通信作者:管志勇,教授,主要从事菊花种质资源创新利用与遗传育种研究,E-mail:guanzy@njau.edu.cn.

‘滁菊’(*Chrysanthemum morifolium* ‘Chuju’)主产于安徽省滁州市,栽培历史已有600多年,是一种植物源饮料原料植物,也是国家地理标志农产品。‘滁菊’通常采用连作种植方式,病害易发,品质下降,严重时会出现大面积的减产^[1-2]。1989—1990年‘滁菊’黑斑病大规模发生,严重发病的地块病株率和病叶率达到100%,甚至基本绝收,经济损失严重。据统计,因病害而导致的年均‘滁菊’减产达到25%左右^[3]。由于‘滁菊’产量偏低,农民种植菊花的积极性不高,病害防治不科学,进一步阻碍了产业发展。菊农防治菊花病害存在盲目用药、频繁用药、过量用药的现象,既无法做到对症用药,又增加了花朵农残超标的风险。因此,明确‘滁菊’病害的病原菌种类,筛选有针对性防治黑斑病等的化学药剂,减少用药的盲目性,对于推动‘滁菊’产业健康发展有着迫切的现实需求。

‘滁菊’的黑斑病主要由链格孢属(*Alternaria*)真菌引起^[4]。链格孢菌属于真菌界子囊菌门座囊菌纲格孢菌亚纲格孢菌目格孢菌科,分布范围广^[5],可以寄生于植物的链格孢菌比例达95%以上,是许多农作物病害的主要致病菌^[6]。链格孢属的交链格孢菌(*Alternaria alternata*)引起的怀菊花黑斑病,可以导致‘怀菊花’的整片叶片坏死^[7]。‘滁菊’连作土壤内的尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)很可能是导致‘滁菊’病害减产的原因^[1]。目前对于‘滁菊’叶部病害的病原菌种类还认识不清,针对性防治药剂的筛选工作也未见报道,导致实际生产中缺少科学有效的化学防治方案。

本研究以有效防治‘滁菊’叶部病害为目的,鉴定‘滁菊’叶部病害的病原菌,展开杀菌剂毒力检测以及盆栽苗药效测定,筛选出有效的农药及浓度,旨在为‘滁菊’病害的有效防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

病原菌分离自安徽省滁州市南谯区的乌衣镇‘滁菊’产区生产田发病株(表现为叶片黄化、有枯死病斑、萎蔫下垂),分离获得菌株保存于南京农业大学中国菊花遗传育种实验室,菌株编号为CJ3-1、CJ4-1、CJ25、CJ26、CJ28、CJ29、CJ30、CJ31、CJ36、CJ37、CJ38-1。

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基,马铃薯葡萄糖液体(PDB)培养基。

试剂:真菌DNA快速提取试剂盒由美国OMEGA BIOTEK公司提供,DNA Marker、dNTP、rDNA扩增通用引物由南京金斯瑞生物科技公司提供。

杀菌剂:二甲酰亚胺类:异菌脲可湿性粉剂(Iprodione,有效成分50%,苏州富美实植物保护剂有限公司);三唑类:戊唑醇悬浮剂(Tebuconazole,有效成分43%,拜尔股份有限公司)、己唑醇水分散粒剂(Hexaconazole,有效成分50%,江西禾益化股份有限公司)、苯醚甲环唑·丙环唑乳油(Difenoconazole·propiconazole,有效成分30%,先正达生物科技有限公司)、丙环唑乳油(Propiconazole,有效成分25%,苏州富美实植物保护剂有限公司)、氟硅唑乳油(Fluorsilazole,有效成分40%,江门市大光明农化新会有限公司)、苯醚甲环唑水分散粒剂(Difenoconazole,有效成分10%,先正达生物科技有限公司)、25%啞菌酯悬浮剂(Azoxystrobin,有效成分25%,先正达生物科技有限公司);生物源类:12%中生菌素可湿性粉剂(Zhongshengmycin,有效成分12%,凯立无细生物公司)、1%申嗉霉素悬浮剂(Shinazimycin,有效成分1%,上海农乐生物制品股份有限公司)、10%多抗霉素可湿性粉剂(Polymyxin,有效成分10%,日本科研制药株式会社);混合类:肟菌酯·戊唑醇水分散粒剂(Trifloxystrobin·tebuconazole,有效成分75%,拜耳股份公司)、苯醚甲环唑·啞菌酯悬浮剂(Difenoconazole·azoxystrobin,有效成分32.5%,先正达生物科技有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌分离与纯化 采用组织分离法分离病原菌。将病叶用无菌水冲洗5 min,叶片吹干,使用70%乙醇浸泡约20 s,15%(体积分数)的过氧化氢消毒10~15 min,无菌水清洗,灭菌滤纸吸干。在叶片的发病和健康交界处切取面积约为0.25 cm²组织,置于PDA培养基,25℃暗培养3 d^[8]。当可见菌落在组织周围生长时,用灭菌打孔器从单个菌落边缘取菌饼,转移至PDA培养基,25℃暗培养10~15 d,当菌落表面出现明显霉层时,将菌丝挑出,光学显微镜下观察并且挑取单个孢子进行纯化培养。从单孢菌落边缘取菌饼,于-80℃冷冻保存。

1.2.2 致病性测定 采用离体叶片接种法^[9]进行致病性检测。选用相同叶位的健康‘滁菊’叶片,清水冲洗后,浸入70%乙醇30 s,无菌水冲洗,晾干,叶柄处包裹湿润无菌脱脂棉,置于培养皿中。接种针刺伤叶片,在分离纯化的单一菌落边缘打孔,将菌丝一面贴附于叶片刺伤部位,对照接种空白PDA培养基。

25 ℃暗培养 48 h 后,16 h 光照/8 h 黑暗交替培养,每日观察发病状况,6 d 后采用十字交叉法统计叶片病斑直径。从发病部位重新分离出病原菌,分离方法同 1.2.1 节。通过菌株培养性状观察和显微镜观察^[10],确定分离菌株和接种菌株为同一病原菌。

1.2.3 病原菌鉴定 将纯化菌株在 PDA 平板上 25 ℃暗培养 7 d,记录各菌株的菌落形态、颜色、生长速度等特征;用无菌水冲洗菌落表面并轻轻刮取孢子,制作成切片,光学显微镜下观察菌株的分生孢子梗、分生孢子的形态和产生方式、是否有厚垣孢子及其产生方式等,参照文献中真菌形态的描述^[11-13]及《真菌鉴定手册》^[14]辅助鉴定。取培养 3 d 的病原菌,在菌落边缘取直径为 6 mm 的菌饼,置于 50 mL 的 PDB 培养基,25 ℃、200 r·min⁻¹振荡培养菌丝 4 d 后,用双层灭菌纱布过滤菌丝,自然烘干后用于提取 DNA。采用真菌 DNA 提取试剂盒提取菌株 DNA。扩增引物序列为 ITS-F:5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'和 ITS4:5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'。PCR 扩增步骤为:94 ℃ 3 min,98 ℃ 10 s,56 ℃ 30 s,68 ℃ 1 min,35 个循环;68 ℃ 5 min。反应完成后,电泳检测 PCR 产物。将 PCR 反应产物进一步纯化后委托思普金生物科技有限公司进行测序,将测序结果提交至 NCBI 官网进行 BLAST 比对。结合前期的形态学与生物学观察,对病原菌进行鉴定。

1.2.4 杀菌剂室内毒力测定 采用菌丝生长抑制法^[15]测定供试药剂抑菌效果。参考菌剂推荐稀释浓度,设置 3 个浓度,见表 1。精密称取菌剂,用无菌水配制成 100 倍母液,紫外灯下灭菌 1 h 待用。按药剂推荐浓度,进行药剂种类的初筛,获得抑菌效果较好的药剂种类。将病原菌置于含药培养基上暗培养 4 d 后,采用十字交叉法测量不同处理的菌落直径,每个处理 6 个重复。抑制率=(对照菌落增长直径-处理菌落增长直径)/对照菌落增长直径×100%。

表 1 供试杀菌剂的浓度梯度

Table 1 Concentration gradient of the tested fungicides

通用名称 Common names	稀释倍数 Dilution ratio		
	a	b	c
异菌脲可湿性粉剂 Iprodione	500	1 000	1 500
戊唑醇悬浮剂 Tebuconazole	1 500	2 000	2 500
己唑醇水分散粒剂 Hexaconazole	3 000	4 000	5 000
苯醚甲环唑·丙环唑乳油 Difenoconazole·propiconazole	2 000	2 500	3 000
丙环唑乳油 Propiconazole	6 000	8 000	10 000
氟硅唑乳油 Fluosilazole	500	1 000	1 500
苯醚甲环唑水分散粒剂 Difenoconazole	1 000	1 500	2 000
啞菌酯悬浮剂 Azoxystrobin	1 000	1 500	2 000
中生菌素可湿性粉剂 Zhongshengmycin	300	600	900
申嗪霉素悬浮剂 Shinazimycin	500	1 000	1 500
多抗霉素可湿性粉剂 Polymyxin	500	1 000	1 500
肟菌酯·戊唑醇水分散粒剂 Trifloxystrobin·tebuconazole	500	1 000	1 500
苯醚甲环唑·啞菌酯悬浮剂 Difenoconazole·azoxystrobin	2 000	4 000	5 000

注:a,b,c 均表示不同稀释倍数,其中 b 为推荐稀释倍数。

Note:a,b,c represent different dilution ratios,where b is the recommended dilution ratio.

1.2.5 盆栽药效测定 盆栽试验于 2022 年 5 至 6 月进行,以长势一致的健康‘滁菊’盆栽苗为试验材料。将分离到的链格孢属真菌混合放入 PDB 培养基,25 ℃振荡培养 1 d,研磨成菌丝浓浆后继续振荡培养 3 d。取 2 mL 菌丝液接种于‘滁菊’第 3 片真叶后覆膜保湿。设定温度 25~28 ℃,相对湿度 70%~90%,接种 5 d 后分别施用异菌脲可湿性粉剂、己唑醇水分散粒剂、苯醚甲环唑·啞菌酯悬浮剂等 3 种药剂(由室内毒力测定筛选结果确定),药剂浓度同表 1,每个处理 3 组,每组 10 株。

1.2.6 病情统计与药效调查 根据接种后叶片病斑的有无及其面积进行病情分级。0 级:刺伤部位发黑,没有可见病斑;1 级:刺伤部位发黑,叶片出现褪绿;2 级:叶片褪绿,病斑面积比例不超过 5%;3 级:病斑面积比例 5%~20%;4 级:病斑面积比例 20%~50%;5 级:病斑面积比例>50%。

分别于药剂处理前、药剂处理后 7 d 进行病情调查,统计叶片病斑面积,计算病情指数和防治效果。

病情指数 = $\left[\sum (\text{各级病叶数} \times \text{各级代表值}) / (\text{样本总数} \times \text{最高级代表值}) \right] \times 100\%$;

防治效果 = $\left[1 - (\text{施药前对照病情指数} \times \text{处理施药后病情指数}) / (\text{施药后对照病情指数}) \right] \times \text{处理施药前病情指数} \times 100$ 。

1.3 数据分析

使用 Excel 2019、SPSS 20.0、MEGA 7.0 软件处理试验数据;采用 Image J 软件统计病斑面积。

2 结果与分析

2.1 ‘滁菊’病叶病原菌形态学特征

从‘滁菊’病叶上分离到的菌株共 11 个,依据菌落形态学与生物学特征,将这 11 株菌株划分为 5 大类,分别用 V1、V2、V3、V4、V5 表示,各菌株在 PDA 培养基上的生长性状如表 2 所示。在 PDA 培养基上,CJ31、CJ30、CJ37、CJ3-1 生长性状相似,菌落初期为白色至浅灰色,菌落为圆形,边缘整齐,2 d 后菌落中心颜色逐渐变深,后期变为灰褐色至深褐色,部分菌株平板正背面有明显深色同心轮纹。菌丝发达,分隔,多分支。光学显微镜下观察发现,V1 类菌株的分生孢子为褐色或浅褐色,单生或短链生,倒棍棒形或倒梨形,少数近椭圆形,具纵横隔膜,大小为(7.2~13.8) μm ×(24.5~43.7) μm ($N=30$)。具有 1~6 个横隔膜,偶有 1~4 个纵(斜)隔膜。菌株 CJ31、CJ30、CJ37、CJ3-1、CJ4-1 初步判定为链格孢属真菌。菌株 CJ38-1、C29、CJ28 划分为 V2 类,生长性状相似,菌落初期为肉色至浅粉色,后期转为粉色至粉紫色,菌丝平整或有的呈凸起的絮状,结构致密,生长后期菌落中央菌丝较多,颜色较浅。孢子单孢呈卵形、椭圆形或肾形;多孢呈镰刀形,故菌株 CJ38-1、C29、CJ28 初步判定为镰刀菌属真菌。菌株 CJ37 和 CJ38-1 的形态特征见图 1。V3、V4、V5 与前述两类生长性状不同,需进一步通过分子鉴定其具体种属。

表 2 不同菌株的生长性状

Table 2 Growth character of different strains

分类 Type	菌株编号 Strain code	菌落形态 Colony morphology	菌落颜色 Colony color	菌丝分布 Mycelium distribution	培养基是否变色 Changes in medium color	平均生长速率/% Average growth rate
	CJ3-1	边缘整齐圆形 Neatly rounded edges	浅灰色转黄褐色 Light grey to yellowish brown	密集,平整 Dense, flat	否 No	13.82
	CJ4-1	边缘较整齐圆形 The edges are relatively neat and circular	乳黄色转灰绿色 Milk yellow to grayish green	密集,平整 Dense, flat	否 No	6.80
V1	CJ31	边缘整齐圆形 Neatly rounded edges	灰褐色 Taupe	平整 Flat	否 No	9.93
	CJ37	边缘整齐圆形 Neatly rounded edges	灰褐色 Taupe	平整 Flat	否 No	4.82
	CJ30	边缘整齐圆形 Neatly rounded edges	白色转灰褐色 White to grayish brown	密集,平整 Dense, flat	否 No	11.99
	CJ29	边缘不规则圆形 Irregularly rounded edge	白色转淡粉色 White to light pink	密集,不平整 Dense, uneven	否 No	5.25
V2	CJ28	边缘不规则圆形 Irregularly rounded edge	白色转淡粉色 White to light pink	密集,不平整 Dense, uneven	否 No	9.37
	CJ38-1	放射状圆形 Radial round	白色转淡粉色 White to light pink	平整 Flat	否 No	11.31
V3	CJ36	放射状圆形 Radial round	白色 White	平整 Flat	否 No	11.03
V4	CJ25	边缘整齐圆形 Neatly rounded edges	酒红色 Claret	平整 Flat	是 Yes	8.20
V5	CJ26	边缘整齐圆形 Neatly rounded edges	浅灰色 Light gray	平整 Flat	否 No	13.19

2.2 ‘滁菊’病叶病原菌致病性测定结果

用菌饼接种健康的‘滁菊’离体叶片 6 d 后,叶片均有明显的发病症状,具体表现为初期叶片发黄褪绿,后期病斑褐变扩大,湿度大时有白色霉层,严重时整片叶子腐烂。人工接种症状和田间自然发病的叶部症状基本一致(图 2)。从接种不同病原菌的病斑统计结果(表 3)可见,分离的链格孢属真菌是主要致病菌。根据柯赫氏法则,从接种部位重新分离出病原菌,与接种病原菌相同,而对照未分离出病原菌。

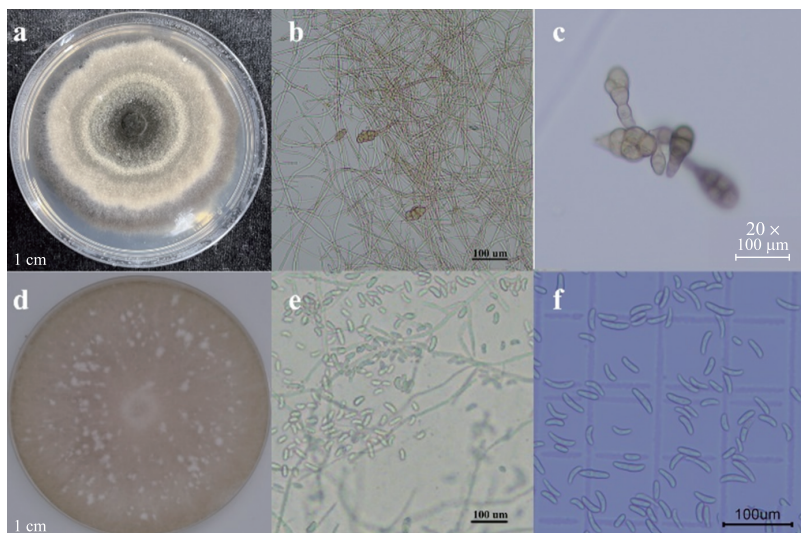


图 1 菌株 CJ37(a—c) 和 CJ38-1(d—f) 的形态学特征

Fig. 1 Morphological characteristics of the strains of CJ37(a—c) and CJ38-1(d—f)

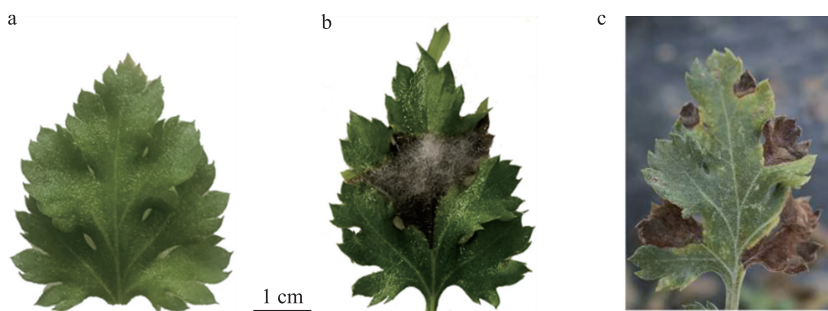


图 2 ‘滁菊’叶部病害人工接种发病症状以及田间发病症状

Fig. 2 Symptoms of artificial inoculation of diseases and natural onset of disease in the field of ‘Chuju’ leaf disease

a. 对照 Control; b. 人工接种发病症状 Symptoms after artificial inoculation; c. 田间自然发病症状 Symptoms of natural onset of disease.

表 3 ‘滁菊’离体叶片接种病原菌 6 d 后的发病情况

Table 3 Incidence of isolated leaves of ‘Chuju’ after inoculation with pathogenic fungi for 6 days

菌株名称 Strain name	菌株编号 Strain code	病斑面积/cm ² Lesion area	菌株名称 Strain name	菌株编号 Strain code	病斑面积/cm ² Lesion area
长柄链格孢菌 <i>Alternaria longipes</i>	CJ30	0.17±0.08 ^a	细极链格孢菌 <i>Alternaria tenuissima</i>	CJ37	0.11±0.01 ^{bc}
粪壳菌纲 <i>Sordariomycetes</i> sp.	CJ25	0.16±0.04 ^{ab}	长柄链格孢菌 <i>Alternaria longipes</i>	CJ31	0.10±0.05 ^{bc}
茄镰刀菌 <i>Fusarium solani</i>	CJ38-1	0.15±0.03 ^{ab}	木贼镰刀菌 <i>Fusarium equiseti</i>	CJ29	0.10±0.06 ^{bc}
交链格孢菌 <i>Alternaria alternata</i>	CJ3-1	0.12±0.04 ^b	亚隔孢壳菌 <i>Didymella</i> sp.	CJ26	0.08±0.01 ^c
交链格孢菌 <i>Alternaria alternata</i>	CJ4-1	0.12±0.05 ^b	镰刀菌 <i>Fusarium</i> sp.	CJ28	0.06±0.01 ^c
稻黑孢菌 <i>Nigrospora oryzae</i>	CJ36	0.12±0.05 ^b			

注:不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$).

Note: Different small letters indicate significant difference at 0.05 level.

2.3 ‘滁菊’病叶病原菌分子生物学鉴定

为明确病原菌的种属,对分离的菌株提取 DNA,以真菌的 18S rDNA-ITS 为模板对其进行分子生物学鉴定,病原菌的 18S rDNA 片段大小均为 600 bp 左右。委托思普金生物科技有限公司测序,将测序结果提交至 NCBI 官网进行 BLAST 比对分析,构建系统发育树。比对结果(图 3)显示: CJ37 与细极链格孢菌 (*Alternaria tenuissima*, 登录号: KX664408.1) 同源性达 99% 以上,且在系统发育树上聚为一支; 菌株 CJ3-1 与交链格孢菌 (*Alternaria alternata*) 同源性较高较近,但未与其他菌株聚为一支; CJ4-1 和交链格孢菌 (*Alternaria alternata*, 登录号: KY026586.1) 同源性达 99% 以上, CJ31 和 CJ30 两者亲缘关系近,在系统发育树上聚为一支,均与长柄链格孢菌 (*Alternaria longipes*, 登录号: MH712187.1) 同源性达 99% 以上; CJ26 与亚隔孢壳菌 (*Didymella* sp., 登录号: MH257391.1、MN612779.1) 相似性为 99.44%, CJ36 与稻黑孢菌 (*Nigrospora oryzae*, 登录号: MK530523.1) 同源性达 99% 以上, 菌株 CJ25 与粪壳菌纲 (*Sordariomycetes* sp., 登

录号:1063434.1) 同源率为 100%; 菌株 CJ38-1 同茄镰刀菌 (*Fusarium solani*, 登录号: ON597494.1) 相似性为 99.82%, 菌株 CJ28 和 CJ29 在亲缘关系上, 同木贼镰刀菌 (*Fusarium equiseti*) 与镰刀菌 (*Fusarium sp.*) 亲缘关系较近, 但在系统发育树上不具成一支, 具体种有待进一步确认。综合菌落形态、分生孢子形态以及分子生物学鉴定, 最终认定 CJ37 为细极链格孢菌, CJ3-1 和 CJ4-1 为交链格孢菌, CJ31 和 CJ30 为长柄链格孢菌, CJ36 为稻黑孢菌, CJ25 属粪壳菌纲, CJ38-1 为茄镰刀菌, CJ28 为镰刀菌, CJ29 为木贼镰刀菌。

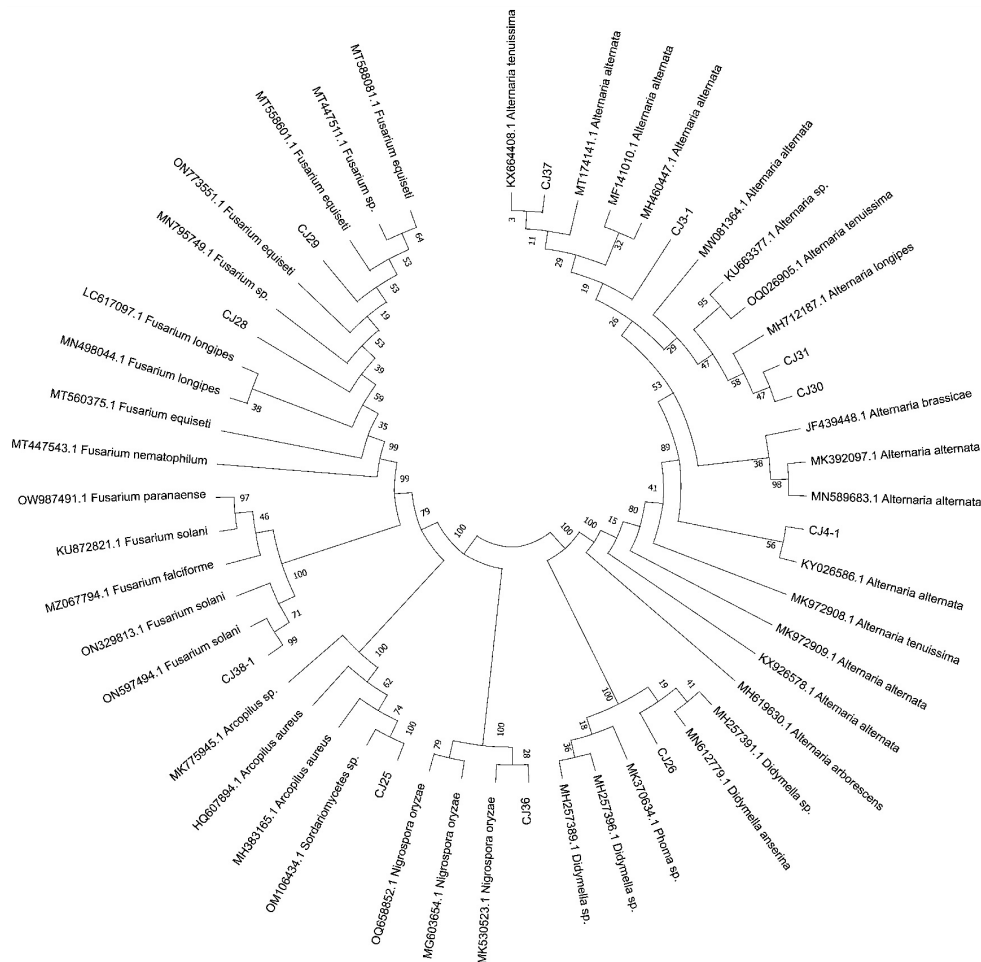


图 3 基于 18S rDNA-ITS PCR 序列构建的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on 18S rDNA-ITS PCR sequences

2.4 杀菌剂室内毒力

通过菌丝生长速率法, 测定 13 种待测药剂对‘滁菊’叶部分离的 11 株病原菌的抑制作用。在供试浓度范围内, 苯醚甲环唑·嘧菌酯对链格孢菌 CJ31、CJ4-1, 稻黑孢菌 CJ36 和亚隔孢壳菌 CJ26 菌丝生长抑制效果最好, 其抑制中浓度 (EC_{50}) 分别为 5.403、4.865、5.307、4.494 $mg \cdot L^{-1}$; 己唑醇对链格孢菌 CJ3-1、CJ37 和镰刀菌 CJ29、CJ28 菌丝生长抑制效果最好, 其 EC_{50} 分别为 5.303、2.774、3.234、4.360 $mg \cdot L^{-1}$; 异菌脲对链格孢菌 CJ30、镰刀菌 CJ38-1 和粪壳菌纲 CJ25 菌丝生长抑制效果最好, 其 EC_{50} 分别为 3.453、5.719、3.657 $mg \cdot L^{-1}$, 最高供试浓度下抑制率均达 90% 以上, 筛选出抑制效果较好的是三唑类和二甲酰亚胺类药物。通过一系列浓度值以及抑制率转化的概率值建立回归方程以及 EC_{50} 的结果 (表 4) 表明, 前期筛选出针对每种病原菌的药剂, 都有较好抑制作用。对于不同病原菌来说, 同一种杀菌剂的抑制效果差距并不显著。

2.5 ‘滁菊’叶部病害盆栽药效测定结果

由表 5 可见: 在防治链格孢菌侵染的 3 种药剂中, 异菌脲 500 倍和 1 000 倍稀释液的防治效果较好, 其防治效果分别为 12.57% 和 10.29%。苯醚甲环唑·嘧菌酯的防治效果均较差, 防治效果仅在 0.22% ~ 3.52%, 与前面所述的室内药剂防治效果存在差异。由于前期试验发现, 苯醚甲环唑·嘧菌酯对亚隔孢壳菌 (*Didymella sp.*) 的防治效果较好, 且该病原菌是引发‘杭白菊’叶枯病的致病菌^[16], 所以考虑今后田间试验可同步使用异菌脲、己唑醇及苯醚甲环唑·嘧菌酯这 3 种药剂用于防治菊花叶部病害。

表 4 不同杀菌剂对‘滁菊’病叶分离菌株的室内毒力

Table 4 Indoor virulence of different fungicides to strains isolated from ‘Chuju’ diseased leaves

菌株编号 Strains code	杀菌剂 Fungicides	毒力回归方程 Virulence regression equation	EC ₅₀ / (mg·L ⁻¹)	相关系数 Correlation coefficient
CJ30	异菌脲 Iprodione	$y = 0.013 5x + 3.385 6$	3.453	0.999
	己唑醇 Hexaconazole	$y = 0.019 0x + 5.167 4$	5.262	0.885
	苯醚甲环唑·丙环唑 Difenoconazole·propiconazole	$y = 0.017 0x + 4.297 0$	4.382	0.827
	苯醚甲环唑·啞菌酯 Difenoconazole·azoxystrobin	$y = 0.003 6x + 5.589 6$	5.608	0.916
CJ3-1	异菌脲 Iprodione	$y = 0.008 5x + 6.486 8$	6.529	0.819
	己唑醇 Hexaconazole	$y = 0.028 1x + 5.162 3$	5.303	0.999
	苯醚甲环唑·丙环唑 Difenoconazole·propiconazole	$y = 0.006 5x + 5.347 8$	5.380	0.962
	苯醚甲环唑·啞菌酯 Difenoconazole·azoxystrobin	$y = 0.003 2x + 5.695 8$	5.719	0.999
CJ4-1	异菌脲 Iprodione	$y = 0.010 1x + 6.272 6$	6.323	0.979
	己唑醇 Hexaconazole	$y = 0.010 6x + 4.912 2$	4.965	0.947
	苯醚甲环唑·丙环唑 Difenoconazole·propiconazole	$y = 0.001 7x + 4.900 0$	4.909	0.999
	苯醚甲环唑·啞菌酯 Difenoconazole·azoxystrobin	$y = 0.006 9x + 4.830 4$	4.865	0.969
CJ31	异菌脲 Iprodione	$y = 0.012 2x + 5.710 2$	5.771	0.938
	己唑醇 Hexaconazole	$y = 0.014 6x + 5.385 0$	5.458	0.912
	苯醚甲环唑·丙环唑 Difenoconazole·propiconazole	$y = 0.006 1x + 5.506 8$	5.537	0.819
	苯醚甲环唑·啞菌酯 Difenoconazole·azoxystrobin	$y = 0.004 2x + 5.382 0$	5.403	0.941
CJ37	异菌脲 Iprodione	$y = 0.007 0x + 6.833 6$	6.869	0.979
	己唑醇 Hexaconazole	$y = 0.133 9x + 2.104 5$	2.774	0.898
	苯醚甲环唑·丙环唑 Difenoconazole·propiconazole	$y = 0.001 0x + 4.687 3$	4.692	0.919
	苯醚甲环唑·啞菌酯 Difenoconazole·azoxystrobin	$y = 0.007 8x + 4.015 4$	4.054	0.951
CJ38-1	异菌脲 Iprodione	$y = 0.006 5x + 5.686 5$	5.719	0.933
	戊唑醇 Tebuconazole	$y = 0.004 0x + 5.755 2$	5.775	0.923
	啞菌酯·戊唑醇 Trifloxystrobin·tebuconazole	$y = 0.017 5x + 5.233 1$	5.321	0.857
CJ28	丙环唑 Propiconazole	$y = 0.010 0x + 4.266 6$	4.317	0.963
	己唑醇 Hexaconazole	$y = 0.042 9x + 4.145 5$	4.360	0.957
	啞菌酯 Azoxystrobin	$y = 0.001 8x + 4.466 7$	4.476	0.966
	啞菌酯·戊唑醇 Trifloxystrobin·tebuconazole	$y = 0.020 4x + 4.780 4$	4.882	0.980
CJ29	己唑醇 Hexaconazole	$y = 0.076 2x + 2.852 7$	3.234	0.956
	啞菌酯 Azoxystrobin	$y = 0.004 2x + 3.895 6$	3.917	0.992
	啞菌酯·戊唑醇 Trifloxystrobin·tebuconazole	$y = 0.008 8x + 4.652 4$	4.696	0.944
CJ36	异菌脲 Iprodione	$y = 0.002 1x + 6.194 6$	6.205	0.953
	啞菌酯·戊唑醇 Trifloxystrobin·tebuconazole	$y = 0.012 1x + 5.294 8$	5.355	0.997
	苯醚甲环唑·丙环唑 Difenoconazole·propiconazole	$y = 0.004 8x + 5.214 0$	5.238	0.982
	苯醚甲环唑·啞菌酯 Difenoconazole·azoxystrobin	$y = 0.002 3x + 5.295 6$	5.307	0.974
CJ25	异菌脲 Iprodione	$y = 0.007 8x + 3.618 3$	3.657	0.926
	丙环唑 Propiconazole	$y = 0.010 4x + 4.832 5$	4.885	0.949
	苯醚甲环唑·丙环唑 Difenoconazole·propiconazole	$y = 0.014 5x + 4.634 4$	4.707	0.992
CJ26	异菌脲 Iprodione	$y = 0.005 2x + 6.256 9$	6.283	0.874
	苯醚甲环唑·丙环唑 Difenoconazole·propiconazole	$y = 0.008 5x + 5.348 7$	5.391	0.995
	苯醚甲环唑·啞菌酯 Difenoconazole·azoxystrobin	$y = 0.019 4x + 5.044 8$	5.142	0.820
	苯醚甲环唑·啞菌酯 Difenoconazole·azoxystrobin	$y = 0.018 1x + 4.403 3$	4.494	0.959

表 5 不同供试药剂对‘滁菊’叶部病害的盆栽防治效果

Table 5 The efficacy of different test fungicides on the leaf diseases of ‘Chuju’ in pots

杀菌剂 Fungicides	稀释倍数 Dilution ratio	药剂终浓度/(mg·L ⁻¹) Final concentration of fungicides	初始区病情指数 Initial area disease index	防治区病情指数 Disease index in control area	防效/% Control efficiency
异菌脲 Iprodione	500	200	0.59	0.56	12.57±3.23 ^a
	1 000	100	0.66	0.64	10.29±2.12 ^{ab}
	1 500	67	0.58	0.57	9.54±2.34 ^{ab}
己唑醇 Hexaconazole	3 000	30	0.73	0.74	7.41±0.98 ^{ab}
	4 000	25	0.60	0.60	7.07±1.11 ^{ab}
	5 000	20	0.59	0.63	2.86±0.23 ^c
苯醚甲环唑·啞菌酯 Difenoconazole·azoxystrobin	500	200	0.69	0.72	3.52±0.14 ^c
	1 000	100	0.58	0.61	2.72±0.21 ^c
	1 500	67	0.58	0.63	0.22±0.08 ^d

3 讨论与结论

在‘滁菊’产区,滁州6—10月温暖多雨,温、湿度总体易于‘滁菊’病害的发生,植株发病可以一直持续到鲜花采收期。本试验以从田间自然发病的‘滁菊’病株叶片上分离筛选出的致病菌进行回接叶片致病力检测,确定了导致‘滁菊’叶部病害的主要病原菌为链格孢菌。借助分子生物学方法鉴定病原菌为交链格孢菌(*Alternaria alternata*)、长柄链格孢菌(*Alternaria longipes*)、细极链格孢菌(*Alternaria tenuissima*)。此外,分离得到的尖孢镰刀菌通常是菊花枯萎病的致病菌^[17],尖孢镰刀菌从根部入侵,破坏维管束,导致叶片黄化萎蔫,在樱桃^[18]、刺葡萄^[19]、水稻^[20]等物种的叶部病害病原菌鉴定上也同样得出多种病菌共存的结论。

杀菌剂是防治病害的最常用手段。目前,对于黑斑病的药剂防治已经取得了一定成果^[21-22],但在茶用菊黑斑病上鲜见报道。本研究通过菌丝生长速率法,比较了13种杀菌剂对11种‘滁菊’叶部病害分离病原菌的室内毒力,结果表明三唑类药物及其复合药剂和二甲酰亚胺类药物对病原菌的抑制作用最强,而嘧菌酯等抑制效果较差,这与王义等^[23]和毕秋艳等^[24]的结果基本一致。根据作用方式农药被分为保护剂、治疗剂、免疫剂和内吸杀菌剂4类^[25]。己唑醇和苯醚甲环唑·丙环唑属于一类新型的内吸性广谱三唑类杀菌剂,兼有保护和治疗作用,持效时间长、防治速度快,且可以与许多常见药剂配制成复合药剂等优点。

研究表明,己唑醇和戊唑醇属于易降解农药,在水稻植株上安全性较高^[26-27];戊唑醇可以有效防治苹果斑点落叶病和苹果轮纹病,且不产生抗药性^[28-29]。异菌脲为二甲酰胺类内吸性药剂,对此类杀菌剂抗性的相关报道中,均未检测到高抗菌株产生^[30],同时异菌脲属于易降解药剂,不易污染土壤与地下水^[31]。嘧菌酯是甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,兼具保护、内吸和治疗作用,对白粉病、锈病、霜霉病等有较好的防治效果^[32]。但也有研究发现草莓枯萎病原菌^[33]对戊唑醇产生抗药性;草地叶斑病原菌^[34]和草莓灰霉病原菌^[35]对异菌脲产生抗药性的案例。本研究筛选出的候选药剂在实际防治时要注意不同药剂的轮换施用。

防治时期对病害的防治效果有着较大的影响^[36]。在发病初期即病原菌扩展的主要关键时期施用内吸剂能够有效控制病情的发展^[37]。此外,不同病原菌的生长和入侵作物的形式有所不同,有时单独侵染植株,有时会以组合和伴生的形式出现^[38]。因此在进行田间防治时,需要根据不同病原的发生时期及其感病抗病情况,结合田间具体的发病状况以及当地的地理和气候条件,选择适用药剂,在发病初期进行针对性的防治。若是使用保护性药剂,应该在出现病情之前施用,本试验筛选出的均为内吸剂,为进一步保证田间防治效率,需要明确病害的发生特别是初发时期,把握住防治的黄金窗口期。根据田间调查,一般在6月上旬‘滁菊’开始初现轻微病状,直至9—10月气温略微下降且湿度增加时,病害发生已发展到严重^[2]。本研究中,从‘滁菊’病叶上分离的链格孢菌适宜繁殖的温度为20~30℃,湿度大时更加严重。因此,建议在春夏交际、气温回升之前重视田间巡查,一旦发现病害初发,便轮换使用本研究筛选出的药剂,可以获得最佳的防控效果。

综上,本研究结果表明,导致‘滁菊’中心产区叶部病害的主要病原菌为链格孢属真菌,引起‘滁菊’的黑斑病。本研究从13种待测药剂中筛选出异菌脲、己唑醇和苯醚甲环唑·嘧菌酯3种抑菌效果优秀的抑菌剂,这些药剂具有低毒、广谱的特点,建议在易发病的6月上旬加强田间巡查,并于‘滁菊’叶部病害发生前期交替使用异菌脲、戊唑醇和苯醚甲环唑·嘧菌酯,抑制病害的同时避免抗药性的产生。在实际的防治过程中,应该将农业防治、物理防治等与化学防治进行科学结合,如抓住病害前期防治的关键时期,及时拔除和清理发病植株、按时清园,铲除越冬病原菌等。以最准确的施药时间,最少的施药次数和最合适的施药浓度,达到最有效预防和降低‘滁菊’叶部病害的目的。

参考文献 References:

- [1] 汪建飞,肖新,李孝良,等. 滁菊连作对土壤酶活性的影响[C]//中国土壤学会. 面向未来的土壤科学(下册)——中国土壤学会第十二次全国会员代表大会暨第九届海峡两岸土壤肥料学术交流研讨会论文集. 成都:电子科技大学出版社,2012:344-350.
Wang J F, Xiao X, Li X L, et al. Influence of continuous cropping years on soil enzyme activities of Chuju[C]//Soil Society of China. Soil Science Facing the Future(Volume 2):Proceedings of the Twelfth National Member Congress of the Soil Society of China and the Ninth Cross-strait Soil and Fertilizer Academic Exchange Symposium. Chengdu:University of Electronic Science and Technology of China Press,2012:344-

- 350(in Chinese with English abstract).
- [2] 钟祖虎,袁克伍,任德海,等. 滁菊主要虫害的发生与防治[J]. 现代农业科技,2010(6):162-163.
Zhong Z H, Yuan K W, Ren D H, et al. Occurrence and control of main insect pests of Chuju [J]. Modern Agricultural Sciences and Technology, 2010(6):162-163(in Chinese).
- [3] 王霞,刘轩武. 滁菊主要病虫害发生特点及绿色防控技术[J]. 农业工程技术,2017,37(5):31.
Wang X, Liu X W. Occurrence characteristics and green prevention and control techniques of main pests and disease of Chuju[J]. Agricultural Engineering Technology, 2017,37(5):31(in Chinese).
- [4] 刘轩武. 滁菊主要病害的发生特点及综合防治措施[J]. 现代农业科技,2013(24):151-152.
Liu X W. Occurrence characteristics and comprehensive control measures of main diseases of Chuju [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2013(24):151-152(in Chinese).
- [5] Rotem J. The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology, and Pathogenicity [M]. Saint Paul, Minnesota: American Phytopathological Society Press, 1994.
- [6] Yu K L, Maria M Y, Zarema G K, et al. Phylogenetic study of *Alternaria* potato and tomato pathogens in Russia [J]. Diversity, 2022, 14(8):685.
- [7] 赵喜亭,王苗,王添乐,等. 怀黄菊黑斑病原菌的分离及鉴定[J]. 园艺学报,2015,42(1):174-182.
Zhao X T, Wang M, Wang T L, et al. Isolation and identification of pathogen causing black spot disease of *Chrysanthemum morifolium* ‘Huaihuang’ [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2015, 42(1):174-182(in Chinese with English abstract).
- [8] 李亚,吕佳芮,朱玲,等. 福建省柑橘褐斑病菌的分离、鉴定和系统进化分析[J]. 植物保护学报,2019,46(6):1243-1251.
Li Y, Lü J R, Zhu L, et al. Isolation, identification and phylogenetic analysis of citrus brown spot pathogens in Fujian Province [J]. Journal of Plant Protection, 2019, 46(6):1243-1251(in Chinese with English abstract).
- [9] 崔晓霞,束红梅,蒋璐,等. 甜叶菊褐斑病的病原菌鉴定及 MeJA 的抗病作用[J]. 中国农业科学,2018,51(18):3520-3530.
Cui X X, Shu H M, Jiang L, et al. Identification of pathogens causing brown spot and the role of MeJA in disease resistance in *Stevia rebaudiana* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(18):3520-3530(in Chinese with English abstract).
- [10] 杨顺超,刘晔,蒋甲福,等. 菊花菌核病病原菌鉴定、抗性筛选与防治[J]. 核农学报,2022,36(1):24-33.
Yang S C, Liu Y, Jiang J F, et al. Pathogen identification, resistance screening and control of chrysanthemum *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2022, 36(1):24-33(in Chinese with English abstract).
- [11] 张天宇. 中国真菌志:链格孢属 [M]. 北京:科学出版社,2003.
Zhang T Y. Flora Fungorum Sinicorum: *Alternaria* [M]. Beijing: Science Press, 2003(in Chinese).
- [12] Lawrence D P, Rondono F, Gannibal P B. Biodiversity and taxonomy of the pleomorphic genus *Alternaria* [J]. Mycological Progress, 2016, 15(1):3.
- [13] 陈鸿逵,王拱辰. 浙江镰刀菌志 [M]. 杭州:浙江科学技术出版社,1991:1-72.
Chen H K, Wang G C. *Fusarium* records of Zhejiang Province [M]. Hangzhou: Zhejiang Science & Technology Press, 1992:1-72(in Chinese).
- [14] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海:上海科学技术文献出版社,1979:2-15.
Wei J C. Handbook of Fungal Identification [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technological Literature Press, 1979:2-15(in Chinese).
- [15] 柳丽娜,刘晔,李媛媛,等. 38 个茶用菊品种苗期对黑斑病的抗性鉴定[J]. 南京农业大学学报,2021,44(1):68-77. DOI: 10.7685/jnau.202004012.
Liu L N, Liu Y, Li Y Y, et al. Resistance identification to black spot disease of 38 cultivars of *Chrysanthemum* for tea at seedling stage [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2021, 44(1):68-77(in Chinese with English abstract).
- [16] 方丽,周建松,缪悦啸,等. 杭白菊叶斑病菌的生物学特性[J]. 浙江农业科学,2021,62(2):355-358.
Fang L, Zhou J S, Miao Y X, et al. Biology characteristics of pathogen causing *Chrysanthemum morifolium* leaf blight [J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2021, 62(2):355-358(in Chinese with English abstract).
- [17] 李媛媛,刘晔,柳丽娜,等. 茶用菊苗期枯萎病抗性鉴定技术研究[J]. 核农学报,2020,34(8):1666-1673.
Li Y Y, Liu Y, Liu L N, et al. Study on identification techniques of resistance to *Fusarium oxysporum* at seedling stage of *Chrysanthemum* for tea [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2020, 34(8):1666-1673(in Chinese with English abstract).
- [18] 刘俏,宁楠楠,马永强,等. 青海省樱桃叶斑病原菌的分离与鉴定[J]. 植物保护,2020,46(2):48-55,71.
Liu Q, Ning N N, Ma Y Q, et al. Isolation and identification of the pathogen causing leaf spot on cherry in Qinghai Province [J]. Plant Protection, 2020, 46(2):48-55, 71(in Chinese with English abstract).
- [19] 唐鑫彪,倪玉洁,胡玉慈,等. 刺葡萄棒状拟盘多毛孢叶斑病原菌的分离鉴定及其防治药剂筛选[J]. 植物保护,2020,46(4):110-115,154.
Tang X B, Ni Y J, Hu Y C, et al. Identification of the fungal pathogen causing *Vitis davidii* leaf spot and screening of fungicides for control of the disease [J]. Plant Protection, 2020, 46(4):110-115, 154(in Chinese with English abstract).
- [20] 张俊华,杨松润,彭莉莉,等. 水稻立枯病原菌尖孢镰孢菌致病力降低 T-DNA 突变体的筛选与插入位点鉴定[J]. 东北农业大学学报,2022,53(11):10-18.
Zhang J H, Yang S R, Peng L L, et al. Screening and insertion site identification of T-DNA mutants with reduced pathogenicity of *Fusarium oxysporum* Schelcht [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2022, 53(11):10-18(in Chinese with English abstract).
- [21] 冯宝珍,李培谦. 月季黑斑病原菌鉴定及室内药剂初步筛选[J]. 植物保护学报,2019,46(5):1147-1154.

- Feng B Z, Li P Q. Identification of the pathogen causing black spot of Chinese rose and fungicide screening for the disease control[J]. Journal of Plant Protection, 2019, 46(5): 1147-1154 (in Chinese with English abstract).
- [22] 彭辉, 杨梦飞, 葛鑫涛, 等. 茭白叶黑斑病的病原鉴定和防治药剂筛选[J]. 植物病理学报, 2022, 52(5): 857-862.
Peng H, Yang M F, Ge X T, et al. Pathogen identification and control fungicides screening of leaf black spot of *Zizania latifolia* [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2022, 52(5): 857-862 (in Chinese with English abstract).
- [23] 王义, 胡美姣, 李敏, 等. 草海桐链格孢叶斑病菌生物学特性及杀菌剂的室内筛选[J]. 热带作物学报, 2020, 41(8): 1634-1641.
Wang Y, Hu M J, Li M, et al. Biological characteristics of *Alternaria* leaf blight of *Scaevola taccada* and screening of fungicides *in vitro* [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 41(8): 1634-1641 (in Chinese with English abstract).
- [24] 毕秋艳, 党志红, 朱伟旗, 等. 河北省大豆主要病原真菌鉴定及防治药剂筛选[J]. 中国农业科学, 2021, 54(1): 71-85.
Bi Q Y, Dang Z H, Zhu W Q, et al. Identification of major pathogenic fungi of soybean in Hebei Province and screening of control fungicides [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2021, 54(1): 71-85 (in Chinese with English abstract).
- [25] 毕璋友. 农药应用与管理[M]. 重庆: 重庆大学出版社, 2009.
Bi Z Y. Application and Management of Pesticides [M]. Chongqing: Chongqing University Press, 2009 (in Chinese).
- [26] 李佳, 龚道新, 易丽君, 等. 25%己唑醇·三环唑悬浮剂在水稻植株上的残留与消解动态[J]. 农药, 2010, 49(8): 590-592.
Li J, Gong D X, Yi L J, et al. Residue and degradation of hexaconazole tricyclazole 25% SC in rice plant [J]. Agrochemicals, 2010, 49(8): 590-592 (in Chinese with English abstract).
- [27] 张昌朋, 赵华, 蔡晓明, 等. 戊唑醇在水稻中的残留分析方法及消解动态[J]. 农药, 2012, 51(9): 675-677.
Zhang C P, Zhao H, Cai X M, et al. Residue analysis and degradation dynamics of tebuconazole in rice [J]. Agrochemicals, 2012, 51(9): 675-677 (in Chinese with English abstract).
- [28] 任璐, 史晓晶, 姚众, 等. 苹果斑点落叶病菌对戊唑醇敏感基线建立及抗性突变体适合度[J]. 植物病理学报, 2017, 47(3): 380-388.
Ren L, Shi X J, Yao Z, et al. Baseline sensitivity of *Alternaria alternata* f. sp. mali to tebuconazole and fitness of resistant mutants [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2017, 47(3): 380-388 (in Chinese with English abstract).
- [29] 范昆, 曲健禄, 李林光, 等. 苹果轮纹病菌对戊唑醇的敏感基线及其室内抗药突变体研究[J]. 果树学报, 2013, 30(4): 650-656.
Fan K, Qu J L, Li L G, et al. Study on baseline-sensitivity of *Botryosphaeria dothidea* to tebuconazole and the Biological characteristics of tebuconazole-resistant mutants [J]. Journal of Fruit Science, 2013, 30(4): 650-656 (in Chinese with English abstract).
- [30] 程冰峰, 杨倩文, 束兆林, 等. 异菌脲在土壤中的降解和移动性研究[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(6): 304-310.
Cheng B F, Yang Q W, Shu Z L, et al. Studies on the degradation and mobility of iprodione in soil [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(6): 304-310 (in Chinese with English abstract).
- [31] 周明国. 中国植物病害化学防治研究[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2002: 42-49.
Zhou M G. Chemical Control of Plant Diseases in China [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2002: 42-49 (in Chinese).
- [32] 孙克. 全球十大杀菌剂的市场与展望[J]. 农药, 2013, 52(7): 469-475.
Sun K. Market and outlook of the top ten fungicides in the world [J]. Agrochemicals, 2013, 52(7): 469-475 (in Chinese).
- [33] 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 (in Chinese with English abstract).
- [34] 胡健, 杨静雅, 李婕, 等. 草坪草币斑病菌对甲基硫菌灵、异菌脲和丙环唑的敏感性[J]. 农药学报, 2017, 19(6): 694-700.
Hu J, Yang J Y, Li J, et al. Sensitivity of *Sclerotinia homoeocarpa* from turfgrass to thiophanate-methyl, iprodione and propiconazole [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2017, 19(6): 694-700 (in Chinese with English abstract).
- [35] 陈帅民, 芦帆, 张璨, 等. 北京地区草莓灰霉病菌对异菌脲的抗性及其抗性分子机制[J]. 植物保护, 2015, 41(5): 100-104.
Chen S M, Lu F, Zhang C, et al. Iprodione-resistance of *Botrytis cinerea* isolates from strawberry in Beijing area and molecular mechanism [J]. Plant Protection, 2015, 41(5): 100-104 (in Chinese with English abstract).
- [36] Paul P A, Bradley C A, Madden L V, et al. Effects of pre- and post-anthesis applications of demethylation inhibitor fungicides on *Fusarium* head blight and deoxynivalenol in spring and winter wheat [J]. Plant Disease, 2018, 102(12): 2500-2510.
- [37] 徐飞, 宋玉立, 杨共强, 等. 戊唑醇不同防治时间对小麦赤霉病发生和籽粒中 DON 毒素积累的影响[J]. 植物保护, 2018, 44(1): 179-185.
Xu F, Song Y L, Yang G Q, et al. Effect of tebuconazole application time on *Fusarium* head blight and the accumulation of deoxynivalenol in winter wheat [J]. Plant Protection, 2018, 44(1): 179-185 (in Chinese with English abstract).
- [38] Gao L L, Zhang Q, Sun X Y, et al. Etiology of moldy core, core browning, and core rot of Fuji apple in China [J]. Plant Disease, 2013, 97(4): 510-516.