

内蒙古黄瓜靶斑病菌的鉴定及药剂敏感性测定

杨立辉¹, 陈鹏宇¹, 王有贤², 刘宝玉³, 白庆荣¹, 赵廷昌⁴

(1. 吉林农业大学植物保护学院 长春 130118; 2. 吉林省蛟河市农业综合行政执法大队 吉林蛟河 132500;
3. 巴彦淖尔市植保植检站 内蒙古巴彦淖尔 015000; 4. 中国农业科学院植物保护研究所 北京 100096)

摘要:对来自内蒙古自治区赤峰市宁城县五化镇山头村的黄瓜叶斑病标本进行组织分离, 纯化得到 20 株分离物, 经柯氏验证均为致病菌。结合病菌形态学特征和分子生物学相关序列分析, 确定该病原菌为多主棒孢菌 [*Corynespora cassiicola* (Berk & Curt) Wei]。采用菌丝生长速率法和孢子萌发法测定 *C. cassiicola* 对 26 种药剂的敏感性。结果表明, 代表菌株 HGBB-III 菌丝生长对 25% 咪鲜胺 EC、40% 肟菌·咪鲜胺 EW、40% 苯醚甲环唑 SC 和 10% 苯醚甲环唑 WG 的敏感性较高, $EC_{50} < 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 $430 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 戊唑醇 SC、50% 腐霉利 WP、50% 福美双 WP、50% 异菌脲 WP、75% 肟菌·戊唑醇 WG、40% 唑醚·戊唑醇 SC、32.5% 苯甲·啶菌酯 SC、30% 肟菌·戊唑醇 SC 的敏感性略低, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} < EC_{50} < 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。HGBB-III 的孢子萌发对 50% 福美双 WP 的敏感性最高, $EC_{50} < 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 对 42.4% 唑醚·氟酰胺 SC、200 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氟酰胺·苯甲唑 SC、40% 唑醚·戊唑醇 SC、12% 苯甲·氟酰胺 SC 的敏感性较低, $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} < EC_{50} < 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。上述药剂中, 50% 福美双 WP 对病原菌菌丝生长和孢子萌发的抑制效果均较好, 可以作为防治过程中的首选药剂。

关键词: 黄瓜靶斑病; 多主棒孢菌 (*Corynespora cassiicola*); 病原鉴定; 药剂筛选

中图分类号: S642.2 文献标志码: A 文章编号: 1673-2871(2022)12-020-07

Identification of *Corynespora cassiicola* on cucumber and determination of fungicides sensitivity to it in Inner Mongolia

YANG Lihui¹, CHEN Pengyu¹, WANG Youxian², LIU Baoyu³, BAI Qingrong¹, ZHAO Tingchang⁴

(1. School of Plant Protection, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China; 2. Agricultural Comprehensive Administrative Law Enforcement Brigade of Jiaohe City in Jilin Province, Jiaohe 132500, Jilin, China; 3. Plant Protection and Quarantine Station of Bayannur, Bayannur 015000, Inner Mongolia, China; 4. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100096, China)

Abstract: In this study, twenty isolates were purified from cucumber leaves showing spots from Chifeng City of Inner Mongolia, then verified by Koch's postulate. Combined with morphological characteristics and molecular biology-related sequence analysis, the pathogen was identified as *Corynespora cassiicola*. The sensitivity of *C. cassiicola* to 26 fungicides was determined by mycelium growth rate and spore germination methods. The results showed that the mycelial growth of the representative strain HGBB-III was more sensitive to 25% prochloraz EC, 40% trifloxystrobin prochloraz EW, 40% difenoconazole SC and 10% difenoconazole WG ($EC_{50} < 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$); followed by $430 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ tebuconazole SC, 50% procymidone WP, 50% thiram WP, 50% iprodione WP, 75% trifloxystrobin tebuconazole WG, 40% pyraclostrobin tebuconazole SC, 32.5% difenoconazole azoxystrobin SC, 30% trifloxystrobin tebuconazole SC ($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} < EC_{50} < 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). The spore germination of *C. cassiicola* was the most sensitive to 50% thiram WP ($EC_{50} < 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), low sensitive to 42.4% pyraclostrobin fluxapyroxad SC, 200 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ pydiflumetofen difenoconazole SC, 40% pyraclostrobin tebuconazole SC, 12% difenoconazole fluxapyroxad SC ($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} < EC_{50} < 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Of those, 50% thiram WP had good inhibitory effects on mycelial growth and spore germination of pathogenic fungus, which could be used as the preferred fungicide in the control programme.

Key words: Cucumber target leaf spot; *Corynespora cassiicola*; Pathogen identification; Screening of the fungicides

收稿日期: 2022-09-08; 修回日期: 2022-10-23

基金项目: 科技兴蒙行动重点专项(NMKJXM202107-03); 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP); 新疆生产建设兵团农业领域兵团科技攻关计划项目(2022AB015)

作者简介: 杨立辉, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为植物病害综合治理。E-mail: 1239379706@qq.com

通信作者: 白庆荣, 女, 教授, 研究方向为植物病害综合治理。E-mail: bbbqqrrr@163.com

赵廷昌, 男, 研究员, 研究方向为瓜类病害防控。E-mail: zhaotcg@163.com

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)是葫芦科一年生蔓生或攀援草本植物^[1],口感爽脆,具有清火利尿、清热解毒的功效,富含蛋白质等多种营养成分,深受人们喜爱。黄瓜是世界十大蔬菜作物之一,在我国各地均有种植,栽培面积超过全国蔬菜栽培总面积的十分之一,栽培品种也逐渐丰富,具有极高的经济价值^[2]。

在黄瓜栽培过程中,病害问题比较突出。常见的叶部病害主要有霜霉病、炭疽病、白粉病、灰霉病、靶斑病、细菌性角斑病等。其中由多主棒孢菌 [*Corynespora cassiicola* (Berk & Kert) Wei] 引起的黄瓜靶斑病 (Cucumber target spot) 又被称为褐斑病、小黄点病等,是一种重要的气传性叶部病害^[3],成为近年来黄瓜生产上的重要病害之一。据统计,该病害的田间发生率一般是 10%~25%,防治不力可达 70%,甚至绝产,经济损失惨重^[4]。发病时被侵染的叶片会出现水浸状小点,后变为小型圆斑,病健交界明显,后期病斑继续扩大,呈黄褐色,边缘为深褐色,扩展受叶脉限制,呈不规则形,病叶易脱落^[5]。该病害在发病初期又与黄瓜细菌性角斑病、霜霉病和炭疽病初期症状极其相似,不易辨别,经常导致病害防治过程中不能精准用药,防效不佳。

2021年4月,在内蒙古自治区赤峰市宁城县五化镇山头村发现大量的黄瓜叶斑病,病害发生迅速,危害极其严重,重病棚内大部分植株枯死,损失惨重,但具体发病原因尚不明晰。笔者对上述地区发生的黄瓜叶斑病的病原菌进行分离纯化及致病性测定,通过对病原菌形态鉴定及分子生物学鉴定确定了病菌的分类地位,同时测定了代表菌株对 26 种杀菌剂的敏感性,以便筛选到高效低毒的药剂,为生产中该病害的科学防治奠定基础。

1 材料与方法

1.1 病样采集及症状观察

2021年4月,对内蒙古自治区赤峰市宁城县五化镇山头村的黄瓜病害标本的发病症状及特征进行拍照记录,蜡叶标本保存于吉林农业大学植物病理实验室。

1.2 试验主要仪器

DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱(上海申贤恒温设备厂)、GXZ 智能型培养箱(宁波江南仪器厂)、DYY-6C 型电泳仪(北京市六一仪器厂)、SW-CJ-2FD 洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司)、GI80DWS 高压蒸汽灭菌锅(上海言和)、光学

显微镜(ZEISS ImagerA.2)、超景深显微镜(VHS-600)、移液器(艾本德)、电子天平等。

1.3 病原菌的分离、纯化及致病性测定

2021年5月,在吉林农业大学植物病理实验室进行病原菌的分离、纯化及致病性测定。在超净工作台中将不锈钢剪刀用酒精灯外焰灼烧灭菌,剪取黄瓜罹病叶片病健交界处 4 mm×4 mm 大小的组织块,在 75%乙醇溶液中消毒 1 min 后用无菌水漂洗 3 次,风干 2.5 h,用灭菌的镊子将组织块转移到 PDA 平板培养基上,每个培养皿接种 4~5 块,置于 25 °C 恒温培养箱中培养。待菌落长出后,用灭菌的接种铲挑取菌落边缘菌丝块,菌丝面朝下移入新的 PDA 平板培养基上培养,连续转接 3 次进行纯化,菌种 4 °C 保存备用^[6]。

将分离得到的菌株在 PDA 培养基上培养,待其长出孢子后,用无菌水配制成浓度为 1×10^6 个·mL⁻¹ 的孢子悬液。采用常规喷雾法,在温室选取健康的黄瓜植株(硕宝,唐山恒丰种业有限公司)喷洒孢子悬浮液,以喷洒无菌水为对照。每个菌株随机选取 5 株黄瓜苗接种,试验设置 3 次重复,套塑料袋,保湿培养 48 h 后撤袋。接种后 3、5、7 d 观察发病情况并拍照记录。参照柯赫氏法则,选取发病的叶片再次对其进行组织分离,若分离物与接种菌株形态一致即可确认此分离物为该病害的致病菌^[7]。

1.4 病原菌的鉴定

1.4.1 病原菌的形态特征观察 观察病原菌在 PDA 培养基上的菌落形态、颜色及生长状况。使用光学显微镜(ZEISS ImagerA.2)观察分生孢子及产孢结构并拍照,超景深显微镜(VHS-600)测量病原菌的 100 个分生孢子大小。参照相关文献与所观察结果进行对比分析,初步鉴定病原菌的种类。

1.4.2 病原菌的分子生物学鉴定 采用 Biospin 真菌基因组 DNA 提取试剂盒(BSC14S1,杭州博日科技股份有限公司)提取病原菌 DNA。以总 DNA 为模板,利用通用引物 ITS1/ITS4 (5' - TCCGTAGGT-GAACCTGCGG- 3'/5' - TCCTCCGCTTATTGATAT-GC-3')进行 PCR 扩增^[8]。25 μL 的 PCR 反应体系如下: Premix Taq[RR901Q, 宝日医生生物技术(北京)有限公司]12.5 μL,上下游引物各 1 μL,模板 DNA 1 μL 以及 ddH₂O 9.5 μL; PCR 扩增程序如下: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 30 s, 57 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 90 s, 共 34 个循环, 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保存。

PCR 产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测,待出现

清晰条带后送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序,将所得序列在 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) 上与 GenBank 中相关序列进行同源性比对分析,确定病原菌的分类地位。

1.5 病原菌室内药剂敏感性测定

供试菌株:代表菌株 HGBB-III 由吉林农业大学植物病理实验室分离鉴定并保存。供试培养基:马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA),马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g、蒸馏水 1000 mL,于 115 °C 高压灭菌 30 min;水琼脂培养基(WA),琼脂 15 g、蒸馏水 1000 mL,于 115 °C 高压灭菌 30 min。供试药剂:

表 1 供试药剂

序号	有效成分及剂型	生产厂家
1	200 g·L ⁻¹ 氟吡啶·苯甲唑 SC	先正达南通作物保护有限公司
2	40%唑醚·戊唑醇 SC	江苏稼穡化学有限公司
3	6%寡糖·链蛋白 WP	河北中保绿农作物科技有限公司
4	40%肟菌·咪鲜胺 EW	陕西先农生物科技有限公司
5	38%唑醚·啶酰菌 SC	河北中保绿农作物科技有限公司
6	32.5%苯甲·嘧菌酯 SC	河北中保绿农作物科技有限公司
7	12%苯甲·氟酰胺 SC	巴斯夫(中国)有限公司
8	240 g·L ⁻¹ 氯氟醚·吡唑酯 EC	巴斯夫欧洲公司
9	400 g·L ⁻¹ 氯氟醚·吡唑酯 SC	巴斯夫欧洲公司
10	42.4%唑醚·氟酰胺 SC	巴斯夫植物保护(江苏)有限公司
11	43%唑醚·氟酰胺 SC	巴斯夫欧洲公司
12	30%肟菌·戊唑醇 SC	拜耳股份公司
13	75%肟菌·戊唑醇 WG	拜耳股份公司
14	35%氟菌·戊唑醇 SC	拜耳作物科学(中国)有限公司北京分公司
15	43%氟菌·肟菌酯 SC	拜耳作物科学(中国)有限公司北京分公司
16	40%苯醚甲环唑 SC	山东潍坊双星农药有限公司
17	10%苯醚甲环唑 WG	先正达南通作物保护有限公司
18	22.5%啶氧菌酯 SC	美国杜邦公司
19	50%多菌灵 WP	德州大成农药有限公司
20	50%异菌脲 WP	苏州富美实植物保护剂有限公司
21	70%甲基硫菌灵 WP	允发化工(上海)有限公司
22	50%腐霉利 WP	日本住友化学株式会社
23	50%福美双 WP	天津市施普乐农药技术发展有限公司
24	430 g·L ⁻¹ 戊唑醇 SC	拜耳作物科学(中国)有限公司
25	250 g·L ⁻¹ 嘧菌酯 SC	先正达南通作物保护有限公司
26	25%咪鲜胺 EC	江苏辉丰生物农业股份有限公司

注:SC. 悬浮剂;WP. 可湿性粉剂;EW. 水乳剂;EC. 乳油;WG. 水分散粒剂。

化学药剂共 26 种,药剂名称、有效成分、剂型及生产厂家信息见表 1。

2021 年 6—8 月通过菌丝生长速率法测定病原菌菌丝生长对供试药剂的敏感性。将每种药剂用无菌水稀释成 1×10³、1×10²、1×10¹、1、1×10⁻¹、1×10⁻² μg·mL⁻¹ 6 个质量浓度,然后按 1:9 的体积比将药液与 PDA 培养基混合制成含药平板。每种药剂的各个浓度 3 次重复。对照组(CK)用等量的无菌水代替。代表菌株 HGBB-III 在 PDA 培养基上培养 7 d,用打孔器取 6 mm 直径的菌饼放置到混药平板上,在 25 °C 培养箱中恒温培养,待 CK 长至培养皿的 2/3 时,采用十字交叉法对菌落直径进行测量并记录数据。将所得数据通过 IBM SPSS Statistics 25 数据处理软件进行分析,计算 EC₅₀ 并建立毒力回归方程,比较不同药剂的敏感性^[9]。

抑菌率/%=(对照组菌落直径-处理组菌落直径)/(对照组菌落直径-菌饼原始直径)×100^[10]。

孢子萌发法测定病原菌孢子萌发对供试药剂的敏感性:制备病原菌代表菌株 HGBB-III 的孢子悬浮液,调整浓度为 1×10⁶ 个·mL⁻¹。混药平板的制作与菌丝生长速率法相同,但需要将 PDA 培养基换成 WA 培养基。微量加样器吸取 100 μL 孢子悬液,用涂布器均匀的涂在 WA 混药平板上,每个浓度 3 次重复,放置在 25 °C 培养箱中培养,以芽管长度超过孢子最大直径长度的一半、CK 萌发率达到 90%以上作为标准。每个重复观察 300 个孢子的萌发情况并记录,将所得数据通过 SPSS 数据处理软件进行分析,计算 EC₅₀ 并建立毒力回归方程,比较病原菌的孢子萌发对不同药剂的敏感性^[11]。

孢子萌发率/%=(萌发孢子总数/孢子总数)×100。

孢子萌发抑制率/%=(对照孢子萌发率-处理孢子萌发率)/对照孢子萌发率×100^[10]。

2 结果与分析

2.1 病害症状

由图 1 可知,病原菌以危害黄瓜叶片为主,正反面均可被侵染。发病初期为黄色水渍状斑点,后期扩散成圆形或不规则形,叶片正面病斑粗糙不平、病斑整体浅褐色、病健交界处明显、易穿孔,中后期多个病斑连接成片。

2.2 病原菌的分离、纯化与致病性测定

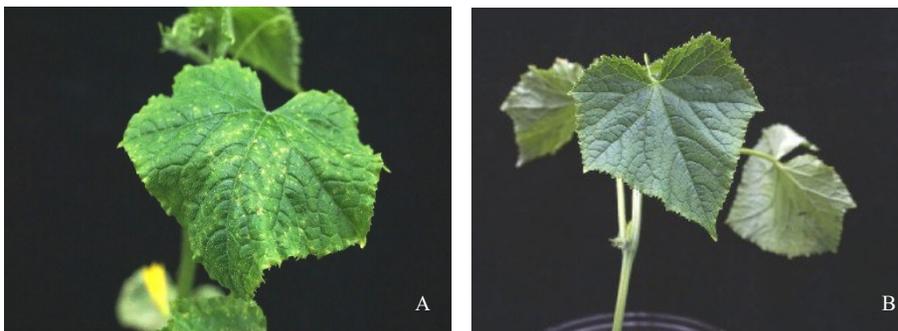
通过组织分离法对罹病叶片进行分离、纯化后获得 20 个菌落形态一致的菌株。采用孢子悬浮液



图1 黄瓜靶斑病发病症状

喷雾法将所得到的20个菌株配成孢子悬浮液,喷洒到健康黄瓜叶片上进行致病性测定,3d后经过孢子悬浮液处理后的叶片出现黄色点状病斑(代表

菌株接种情况见图2),与田间发病初期症状基本相同;喷洒无菌水的对照组叶片无发病症状。将发病叶片重新进行组织分离,所得分离物的培养特征、



注:A. 接种发病情况;B. 空白对照。

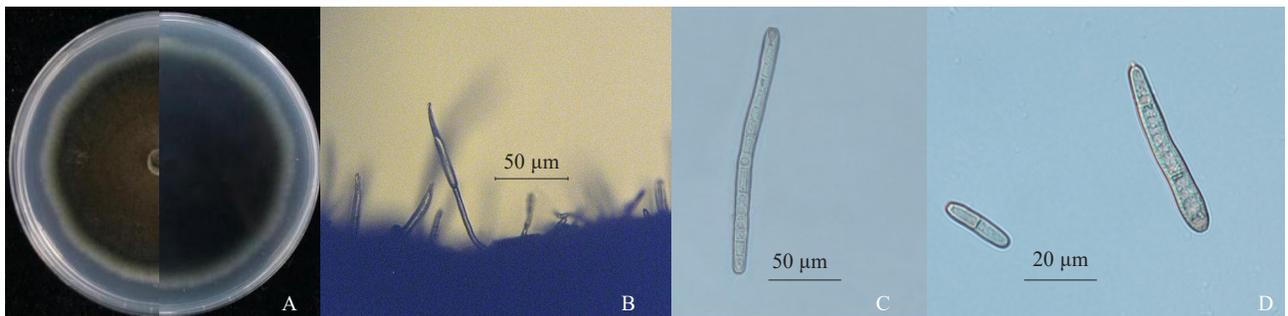
图2 代表菌株 HGBB-III致病性测定结果

孢子形态与接种菌株一致,因此可以确定分离得到的20株菌均为黄瓜靶斑病的致病菌。

2.3 病原菌的鉴定

2.3.1 病原菌形态学特征 病原菌在PDA培养基上培养7d后,菌落近圆形,边缘整齐,菌落中心呈

灰绿色,边缘呈白色散射状,致密,有轮纹(图3-A)。分生孢子梗直立或弯曲、多单生、有分隔、无分支(图3-B)。分生孢子呈圆柱形,近倒棍棒状,浅褐色,孢子大小为(17.52~174.20) μm×(2.48~6.63) μm,有油球,具有1个或多个隔膜(图3-C、D)。经查阅相



注:A. 菌落照片;B. 分生孢子梗;C、D. 分生孢子。

图3 病原菌 HGBB-III的形态特征

关文献,对比形态特征发现该病原菌与 *Corynespora cassiicola* 的形态极其相似。

2.3.2 病原菌分子生物学鉴定 以获得菌株的基因组 DNA 为模板,用真菌通用引物 ITS1/ITS4 进行 PCR 扩增,测序结果在 GenBank 数据库中进行 BLAST 同源性比较并提交序列,获得登录号为 OM943959。结果显示,所测菌株的 ITS 序列与 GenBank 中 *Corynespora cassiicola* (Accession No. JQ595296) 序列的一致性为 100%,进一步确定该致病菌为多主棒孢菌 [*Corynespora cassiicola* (Berk & Curt) Wei]。

2.4 病原菌室内药剂敏感性测定

2.4.1 病原菌菌丝生长对供试药剂的敏感性测定结果 由表 2 可知,代表菌株 HGBB-III 对 26 种药剂的敏感程度不同。病原菌菌丝生长对 25%咪鲜胺 EC、40%脲菌·咪鲜胺 EW、40%苯醚

甲环唑 SC 和 10%苯醚甲环唑 WG 的敏感性最高, $EC_{50} < 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 $430 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 戊唑醇 SC、50%腐霉利 WP、50%福美双 WP、50%异菌脲 WP、75%脲菌·戊唑醇 WG、40%唑醚·戊唑醇 SC、32.5%苯甲·嘧菌酯 SC、30%脲菌·戊唑醇 SC 的敏感性略低, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} < EC_{50} < 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 12%苯甲·氟酰胺 SC 等 14 种杀菌剂的敏感性较差, $EC_{50} > 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 70%甲基硫菌灵 WP 对抑制黄瓜靶斑病多主棒孢菌菌丝生长基本无效。

2.4.2 病原菌孢子萌发对 26 种药剂的敏感性 由表 3 可知,代表菌株 *C. cassiicola* HGBB-III 的孢子萌发对供试药剂的敏感性不同。对 50%福美双 WP 的敏感性最高, EC_{50} 为 $0.039 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 42.4%唑醚·氟酰胺 SC、200 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氟酰胺·苯甲唑 SC、40%唑醚·戊唑醇 SC、12%苯甲·氟酰胺 SC 的敏感性较低, $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} < EC_{50} < 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 对 40%脲菌·咪

表 2 病原菌 HGBB-III 菌丝生长对 26 种杀菌剂的敏感性

药剂名称	毒力回归方程	相关系数	EC_{50} / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
25%咪鲜胺 EC	$y=1.350+0.866x$	0.965 9	0.028
40%脲菌·咪鲜胺 EW	$y=1.042+0.983x$	0.975 7	0.087
40%苯醚甲环唑 SC	$y=0.148+1.197x$	0.998 0	0.752
10%苯醚甲环唑 WG	$y=0.039+0.768x$	0.979 3	0.890
$430 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 戊唑醇 SC	$y=-0.122+0.982x$	0.924 7	1.331
50%腐霉利 WP	$y=-0.200+0.924x$	0.986 9	1.645
50%福美双 WP	$y=-0.226+0.973x$	0.948 7	1.708
50%异菌脲 WP	$y=-0.672+1.025x$	0.969 5	4.520
75%脲菌·戊唑醇 WG	$y=-0.908+1.328x$	0.988 9	4.832
40%唑醚·戊唑醇 SC	$y=-0.991+1.446x$	0.982 3	4.847
32.5%苯甲·嘧菌酯 SC	$y=-1.194+1.246x$	0.989 4	9.084
30%脲菌·戊唑醇 SC	$y=-1.369+1.378x$	0.949 7	9.845
12%苯甲·氟酰胺 SC	$y=-1.239+1.166x$	0.984 9	11.536
35%氟菌·戊唑醇 SC	$y=-1.597+1.218x$	0.994 0	20.505
50%多菌灵 WP	$y=-1.614+0.914x$	0.941 3	58.424
200 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氟酰胺·苯甲唑 SC	$y=-2.260+1.235x$	0.981 3	67.530
42.4%唑醚·氟酰胺 SC	$y=-1.367+0.702x$	0.970 6	88.634
250 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 嘧菌酯 SC	$y=-0.450+0.211x$	0.978 8	135.521
22.5%啶氧菌酯 SC	$y=-0.639+0.294x$	0.945 5	149.062
240 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯氟醚·吡唑酯 EC	$y=-1.517+0.676x$	0.978 3	176.289
400 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯氟醚·吡唑酯 SC	$y=-1.994+0.776x$	0.991 5	370.471
38%唑醚·啶酰菌 SC	$y=-3.346+1.286x$	0.998 0	398.625
6%寡糖·链蛋白 WP	$y=-3.749+1.325x$	0.931 1	674.217
43%唑醚·氟酰胺 SC	$y=-2.992+1.056x$	0.995 0	680.995
43%氟菌·脲菌酯 SC	$y=-3.405+0.898x$	0.998 5	6 201.718
70%甲基硫菌灵 WP	$y=-1.981+0.296x$	0.947 6	4 869 328.031

表 3 病原菌 HGBB-III 孢子萌发对 26 种杀菌剂的敏感性

药剂名称	毒力回归方程	相关系数	EC_{50} / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
50%福美双 WP	$y=1.450+1.028x$	0.933 8	0.039
42.4%唑醚·氟酰胺 SC	$y=-2.718+1.783x$	0.942 9	33.466
200 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氟酰胺·苯甲唑 SC	$y=-2.004+1.256x$	0.974 7	39.425
40%唑醚·戊唑醇 SC	$y=-1.007+0.553x$	0.995 5	66.498
12%苯甲·氟酰胺 SC	$y=-3.870+2.032x$	0.927 4	80.325
40%脲菌·咪鲜胺 EW	$y=-4.399+2.033x$	0.947 6	145.798
50%多菌灵 WP	$y=-2.240+1.019x$	0.985 4	157.679
250 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 嘧菌酯 SC	$y=-1.440+0.645x$	0.972 6	170.644
50%异菌脲 WP	$y=-2.137+0.956x$	0.959 2	172.085
25%咪鲜胺 EC	$y=-1.983+0.850x$	0.963 3	216.178
32.5%苯甲·嘧菌酯 SC	$y=-4.116+1.712x$	0.915 4	253.734
38%唑醚·啶酰菌 SC	$y=-6.400+2.397x$	0.972 6	467.848
50%腐霉利 WP	$y=-1.448+0.529x$	0.927 9	545.669
43%氟菌·脲菌酯 SC	$y=-2.883+0.988x$	0.965 9	829.408
10%苯醚甲环唑 WG	$y=-1.765+0.602x$	0.989 4	851.607
430 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 戊唑醇 SC	$y=-1.390+0.449x$	0.919 8	1 251.717
30%脲菌·戊唑醇 SC	$y=-21.971+7.038x$	0.996 5	1 323.444
75%脲菌·戊唑醇 WG	$y=-48.899+15.550x$	0.919 8	1 395.390
40%苯醚甲环唑 SC	$y=-15.264+4.765x$	0.997 5	1 597.215
70%甲基硫菌灵 WP	$y=-17.115+5.297x$	0.946 0	1 703.529
35%氟菌·戊唑醇 SC	$y=-16.178+4.786x$	0.993 5	2 399.562
6%寡糖·链蛋白 WP	$y=-3.922+1.143x$	0.953 4	2 702.780
22.5%啶氧菌酯 SC	$y=-14.696+4.229x$	0.966 4	2 983.157
400 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯氟醚·吡唑酯 SC	$y=-13.587+3.691x$	0.901 1	4 801.614
240 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯氟醚·吡唑酯 EC	$y=-2.072+0.549x$	0.967 0	5 950.188
43%唑醚·氟酰胺 SC	$y=-3.440+0.847x$	0.928 4	11 494.171

鲜胺 EW 等 21 种杀菌剂的敏感性较差, $EC_{50} > 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3 讨论与结论

多主棒孢菌 [*Corynespora cassiicola* (Berk & M. A. Curtis) C. T. Wei] 是棒孢属内寄主最广、发现最早的种, 为模式菌种; 最早由我国真菌分类学家魏景超于 1950 年定名为多主棒孢菌^[12-13]。该病菌主要侵染黄瓜, 王爽等^[14]和李俊香等^[15]发现, 海南省三亚市和广西壮族自治区武鸣县的甜瓜也可受到侵染; 除此之外还能侵染 380 属 530 余种植物, 如番茄、大豆、橡胶、棉花等^[16]。由该病菌侵染所引起的黄瓜靶斑病于 1906 年^[17]在欧洲首次报道, 1960 年^[18]在中国首次发现, 目前在辽宁^[19]、山东^[20]、宁夏^[21]、广东^[7]等多个省、自治区均有发生, 但并未见内蒙古自治区由多主棒孢菌 (*C. cassiicola*) 侵染引起黄瓜靶斑病发生与危害的报道。因此, 笔者的研究对防控内蒙古自治区此病害具有重大意义。

笔者发现 *C. cassiicola* 菌丝生长对 25% 咪鲜胺 EC 的敏感性最高, EC_{50} 为 $0.028 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 与徐丽慧等^[22]、迟晓红等^[23]的研究结果一致; 对 40% 苯醚甲环唑 SC、10% 苯醚甲环唑 WG 和 430 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 戊唑醇 SC 的敏感性也较高, EC_{50} 分别为 0.752、0.890 和 $1.331 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 并且代表菌株对 75% 肟菌·戊唑醇 WG 也较为敏感, 与 2020 年吴仁锋等^[24]报道 75% 肟菌·戊唑醇 WG 对黄瓜靶斑病的田间防效可达 86.5% 相吻合。而张乃楼等^[25]曾测定了辽宁省黄瓜靶斑病菌对 97.3% 苯醚甲环唑和 98% 戊唑醇原药的敏感性, 平均 EC_{50} 为 $(7.109 \pm 4.578) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(9.398 \pm 4.944) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。笔者的研究中 50% 福美双 WP (天津市施普乐农药技术发展有限公司) 对 *C. cassiicola* 代表菌株孢子萌发的抑制作用最高, EC_{50} 为 $0.039 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 同时对菌丝生长的抑制效果也较好, EC_{50} 为 $1.708 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 祁之秋等^[26]发现 50% 福美双 WP 对靶斑病菌孢子萌发的抑制作用略为明显, EC_{50} 为 $6.62 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 阚琳娜等^[27]发现, 50% 福美双 WP 对黄瓜靶斑病的田间防效可达 89.16%。综合上述研究结果, 福美双可作为防控黄瓜靶斑病的首选药剂。

福美双在中国农药信息网 (<http://www.icama.org.cn/hysj/index.jhtml>) 上登记主要用于防治黄瓜白粉病、霜霉病, 也有复配制剂用于防治黄瓜炭疽病和黑星病^[28]。笔者的研究结果表明, 该药剂不仅可以用于防治上述病害, 在黄瓜靶斑病的防治上也具

有非常大的优势。近年来, 在生产中发现黄瓜靶斑病防治难度加大, 很多药剂并不能取得较好的防治效果, 病原菌田间抗药性问题也日趋严重, 通过病原菌对药剂敏感性的测定, 筛选出一些抑菌活性较高的药剂进行混用或者交替使用是防治病害的有效途径, 也是延缓病菌抗药性产生的有效措施, 对生产中病害的防控具有重要意义。

笔者对来自于内蒙古自治区赤峰市宁城县五化镇山头村的黄瓜病害标本进行组织分离, 共获得菌株 20 株, 经柯赫氏法则验证、形态及分子生物学鉴定, 该 20 株菌均为致病菌 *Corynespora cassiicola*, 所引起的病害为黄瓜靶斑病。选取 26 种化学药剂同时采用菌丝生长速率法和孢子萌发法进行室内药剂敏感性测定, 结果显示, 代表菌株 HGBB-III 孢子萌发对 50% 福美双 WP 最为敏感, 可用于黄瓜靶斑病的预防; 菌丝生长对 25% 咪鲜胺 EC、40% 肟菌·咪鲜胺 EW、40% 苯醚甲环唑 SC 和 10% 苯醚甲环唑 WG 4 种药剂敏感性较高, 病害发生后的治疗过程可用 50% 福美双 WP 与上述 4 种药剂进行混配使用, 具体防治效果有待于进一步试验验证。

参考文献

- [1] 牛红杰. 黄瓜枯萎病生防放线菌的分离筛选及其发酵工艺研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- [2] 包越. 黄瓜细菌性软腐病拮抗菌的筛选、鉴定及其生防特性研究[D]. 海口: 海南大学, 2020.
- [3] 朱发娣. 黄瓜多主棒孢菌 (*Corynespora cassiicola*) 对啶酰菌胺的抗性及其机理研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018.
- [4] 杨双娟, 顾兴芳, 张圣平, 等. 黄瓜棒孢叶斑病 (*Corynespora cassiicola*) 的研究概况[J]. 中国蔬菜, 2012(4): 1-9.
- [5] 侯明生, 黄俊斌. 农业植物病理学[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2014.
- [6] 方中达. 植物研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [7] 蓝国兵, 谭耀华, 何自福, 等. 黄瓜褐斑病 (*Corynespora cassiicola*) 在广东首次报道[J]. 植物保护, 2012, 38(5): 197-200.
- [8] 孙蕾, 白雪, 白庆荣, 等. 甜瓜青霉果腐病的病原鉴定及药剂筛选[J]. 北方园艺, 2019(18): 52-57.
- [9] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [10] 姜苏月, 王大川, 陈悦, 等. 君子兰种球腐烂病原鉴定及药剂敏感性[J]. 东北林业大学学报, 2019, 47(9): 96-101.
- [11] 张佳星, 李玲, 戴德江, 等. 白木枯斑病原鉴定、生物学特性及其对不同药剂的敏感性研究[J]. 植物病理学报, 2018, 48(5): 682-692.
- [12] 张自心, 谢学文, 傅俊范, 等. 黄瓜棒孢叶斑病原学和抗性基因研究进展[J]. 生物技术进展, 2016, 6(3): 169-173.
- [13] WEI C. Notes on *Corynespora*[J]. Mycological Papers, 1950, 34: 10.
- [14] 王爽, 黄贵修, 李博勋, 等. 甜瓜棒孢叶斑病原菌鉴定及其生

- 物学特性研究[J]. 热带作物学报, 2013, 34(12): 2446-2452.
- [15] 李俊香, 洪霓, 古勤生. 甜瓜靶斑病病原菌的生物学特性[J]. 中国瓜菜, 2019, 32(10): 11-17.
- [16] 李秀环. 黄瓜靶斑病菌对吡唑醚菌酯的抗性监测及两种新型杀菌剂的抗性分子机制研究[D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2021.
- [17] GUSSOW H T. Uber eine neue krankheit an gurken in England (*Corynespora mazei gussow gen. et spec. nov.*) [J]. Ztschsb Pflanzenkr, 1906, 16: 10-13.
- [18] 戚佩坤, 白金恺, 朱桂香. 吉林省栽培植物真菌病害志[M]. 北京: 科学出版社, 1966.
- [19] 房德纯, 傅俊范. 黄瓜褐斑病病原与发病情况调查研究初报[J]. 植物保护, 1994, 20(3): 23-24.
- [20] 李长松, 张眉, 李林, 等. 山东省黄瓜棒孢叶斑病(褐斑病)病原菌鉴定和防治[J]. 中国蔬菜, 2009(18): 29-33.
- [21] 查仙芳, 朱猛蒙, 王国珍, 等. 宁夏首次发现黄瓜靶斑病[J]. 宁夏农林科技, 2009, 50(2): 40.
- [22] 徐丽慧, 高士刚, 曾蓉, 等. 黄瓜靶斑病菌致病性鉴定及药剂筛选[J]. 上海农业学报, 2016, 32(4): 116-121.
- [23] 迟晓红, 盖辛, 李卉梓, 等. 不同杀菌剂对黄瓜靶斑病菌室内药效测定[J]. 吉林农业科学, 2013, 38(5): 54-55.
- [24] 吴仁锋, 谢标洪. 武汉市黄瓜病害高效低毒防治药剂的筛选[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(18): 67-70.
- [25] 张乃楼, 李亚美, 康文强, 等. 辽宁省黄瓜靶斑病菌对苯醚甲环唑和戊唑醇的敏感性[J]. 农药学报, 2014, 16(4): 452-456.
- [26] 祁之秋, 纪明山, 陆田, 等. 黄瓜褐斑病防治药剂的离体活性筛选[J]. 植物保护, 2009, 35(2): 140-143.
- [27] 阚琳娜, 李宝聚, 纪明山, 等. 黄瓜褐斑病防治药剂的活体筛选[J]. 中国蔬菜, 2007(4): 22-24.
- [28] 中国农药信息网. 数据库/农药登记数据 [DB/OL]. (2021-10-06)[2022-09-08]. <http://www.icama.org.cn/hysj/index.jhtml>.