

翡翠景天黑腐病菌山扁豆生棒孢生物学特性及室内药剂筛选

姚锦爱, 黄鹏, 张杰, 侯翔宇, 余德亿*

福建省作物有害生物监测与治理重点实验室/福建省农业科学院植物保护研究所/福建省作物有害生物绿色防控工程研究中心, 福建福州 350013

摘要: 为明确多肉植物翡翠景天黑腐病病原菌山扁豆生棒孢 (*Corynespora cassiicola*) 的生物学特性, 分别测定温度、pH、光照条件和碳、氮源对菌丝生长的影响, 以及通过测定 6 种杀菌剂对该病原菌的室内毒力, 筛选出高效安全的杀菌剂。结果表明: 该病原菌的菌丝生长最适温度为 30 °C, 最适 pH 为 7, 光照有利于菌丝生长, 最适碳、氮源分别为葡萄糖和蛋白胨。室内毒力测定结果表明, 6 种杀菌剂对翡翠景天黑腐病病原菌的毒力差异较大, 其中氯氟醚菌唑的毒力最强, EC₅₀ 为 0.0129 mg/L; 其次为咪鲜胺, EC₅₀ 为 0.0135 mg/L; 苯醚甲环唑和咯菌腈的 EC₅₀ 分别为 0.0273 mg/L 和 0.0296 mg/L; 吡唑醚菌酯的毒力一般, EC₅₀ 为 0.0768 mg/L; 多菌灵的毒力最弱, EC₅₀ 为 0.9353 mg/L。掌握山扁豆生棒孢的生物学特性和筛选出室内具有良好毒力效果的药剂, 可为多肉植物翡翠景天的栽培及其黑腐病的综合防治提供理论支撑和指导依据。

关键词: 翡翠景天; 山扁豆生棒孢; 生物学特性; 毒力测定

中图分类号: S436.8 文献标识码: A

Biological Characteristics and Fungicides Screening in Laboratory of *Corynespora cassiicola* Causing *Sedum morganianum* Black Rot

YAO Jin'ai, HUANG Peng, ZHANG Jie, HOU Xiangyu, YU Deyi*

Fujian Key Laboratory for Monitoring and Integrated Management of Crop Pests / Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Sciences / Fujian Engineering Research Center for Green Pest Management, Fuzhou, Fujian 350013, China

Abstract: In order to research the biological characteristics of the pathogen and fungicide screening for *Sedum morganianum* of *Corynespora cassiicola*, the effects of temperature, pH, light condition and different carbon and nitrogen sources on mycelial growth were studied with the mycelial growth rate method, and the toxicity measurement of six fungicides to *C. cassiicola* was determined. The results showed that the optimum temperature for the mycelial growth of the pathogen was 30 °C, the optimum pH for mycelial growth was 7, light was conducive to mycelial growth, the optimum carbon was glucose and nitrogen source was peptone. Toxicity measurement results showed that the six fungicides had different toxicity on the pathogen of *C. cassiicola*. Among them, the toxicity of mefenfluoconazole was the best, with EC₅₀ 0.0129 mg/L, followed prochloraz, with EC₅₀ 0.0135 mg/L. The toxicity of difenoconazole and fludioxonil were strong, with EC₅₀ 0.0273 mg/L and 0.0296 mg/L respectively. The toxicity of pyraclostrobin was mild, with EC₅₀ 0.0768 mg/L. The toxicity of carbendazim was the weakest, with EC₅₀ 0.9353 mg/L. The study could provide a theoretical basis and guidance for the cultivation of succulent plants and the comprehensive management of black rot.

Keywords: *Sedum morganianum*; *Corynespora cassiicola*; biological characteristics; toxicity measurement

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.04.015

收稿日期 2022-08-03; 修回日期 2022-08-29

基金项目 福建省农业科学院科技创新团队建设项目 (No. CXTD2021005-2); 福建省人民政府中国农业科学院农业高质量发展超越“5511”协同创新工程 (No. XTCXGC2021017, No. XTCXGC2021011)。

作者简介 姚锦爱 (1978—), 女, 硕士, 研究员, 研究方向: 植物有害生物防治。*通信作者 (Corresponding author): 余德亿 (YU Deyi), E-mail: yudy_2004@126.com。

多肉植物 (succulent plant) 具有肥厚的肉质根、茎或叶, 因此也称为“多浆植物”, 其形娇俏动人, 叶色丰富绮丽, 花期长, 适宜居家装饰, 深受人们喜爱, 是近年来热门的新兴观赏植物^[1]。其中景天科 (Crassulaceae) 是多肉植物中最重要的科之一, 在中国常见种属有景天属 (*Sedum*)、拟石莲属 (*Echeveria*)、长生草属 (*Sempervivum*)、莲花掌属 (*Aeonium*)、风车草属 (*Graptopetalia*) 等 10 属 242 种^[2]。翡翠景天 (*Sedum morganianum*) 是福建省主要种植品种之一, 受福建省亚热带气候影响, 多肉植物翡翠景天种植基地黑腐病发生严重。调查发现植株感病初期叶片或茎部出现黑褐色病斑, 随后病斑逐渐扩大呈水渍状, 直至叶片腐烂, 后期叶片大量脱落, 严重时导致植株死亡。据报道, 翡翠景天黑腐病的病原菌为山扁豆生棒孢 (*Corynespora cassiicola*)^[3]。山扁豆生棒孢是一种世界性的植物病原菌, 寄主范围广, 可侵染黄瓜、甜椒、番茄等作物, 具有症状类型多样的特点, 在湿热环境下扩展迅速, 常侵染植物叶片, 也可侵染寄主的花、果实、根茎^[4-5]。

近年由病原菌山扁豆生棒孢引起的翡翠景天黑腐病不断加重, 严重降低了翡翠景天的产量和观赏价值。目前, 关于该病原菌生物学特性的研究尚无报道。因此, 明确该病原菌的生物学特性, 为多肉植物翡翠景天的种植栽培提供指导; 筛选高效安全的杀菌剂, 可为翡翠景天黑腐病的综合防治提供理论支撑和指导依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试菌株: 翡翠景天黑腐病病原菌代表性菌株山扁豆生棒孢 (*Corynespora cassiicola*) FJSD-3, GenBank 登录号为 MG825181, 由福建省农业科学院植物保护研究所提供。

供试药剂: 97% 氯氟醚菌唑 (mefentrifluconazole, 异丙醇三唑类, 巴斯夫欧洲公司), 98% 咪鲜胺原药 (prochloraz, 咪唑类, 河北阿尔泰药业有限公司), 99% 苯醚甲环唑 (difenoconazole, 三唑类, 湖南腾联药业有限公司), 98% 吡唑醚菌酯原药 (pyraclostrobin, 甲氧基丙烯酸酯类, 合肥隆之升药业有限公司), 97% 多菌灵原药 (carbendazim, 苯并咪唑类, 上海昆森实业有限公司), 99.8% 咯菌腈原药 (fludioxonil, 吡咯类, 陕西恒润化学工业有限公司)。

1.2 方 法

1.2.1 病原菌生物学特性测定 (1) 温度对病原菌菌丝生长的影响。采用菌丝生长速率法测定^[6]。取新鲜的山扁豆生棒孢菌饼 ($d=5.0$ mm) 接种于 PDA 平板中央, 分别置于 10~40 °C 恒温培养箱中培养, 每 5 °C 为一梯度, 共 7 个梯度, 6 d 后采用十字交叉法测量菌落直径, 每处理 3 次重复。

(2) pH 对病原菌菌丝生长的影响。取新鲜的山扁豆生棒孢菌饼 ($d=5.0$ mm) 接种于 pH 分别为 4、5、6、7、8、9、10、11 的 PDA 平板中央, 在 30 °C 培养箱中培养, 6 d 后测量菌落直径, 测定方法同 1.2.1-(1), 每处理 3 次重复。

(3) 光照对病原菌菌丝生长的影响。取新鲜的山扁豆生棒孢菌饼 ($d=5.0$ mm) 接种于 PDA 平板中央, 依次放置在全光照、12 h 光照/12 h 黑暗和全黑暗的 30 °C 培养箱内培养, 6 d 后测量菌落直径, 测定方法同 1.2.1-(1), 每处理 3 次重复。

(4) 不同碳、氮源对病原菌菌丝生长的影响。以蔗糖、淀粉、麦芽糖、葡萄糖、乳糖为供试碳源, 以查氏培养基 (硝酸钠 3 g、磷酸氢二钾 1 g、硫酸镁 0.5 g、氯化钾 0.5 g、硫酸亚铁 0.01 g、蔗糖 30 g、琼脂粉 16 g、蒸馏水定容至 1000 mL) 为基础培养基, 以不加碳源培养基为对照, 以分别加入 30 g 供试碳源为处理组, 测定各碳源对病原菌菌丝生长的影响, 取新鲜的山扁豆生棒孢菌饼 ($d=5.0$ mm) 接种于各碳源平板中央, 在 30 °C 培养箱中培养, 6 d 后测量菌落直径, 测定方法同 1.2.1-(1), 每处理 3 次重复。以牛肉浸膏、酵母粉、硫酸铵、蛋白胨、硝酸钠为供试氮源, 以查氏培养基为基础培养基, 以不加氮源培养基为对照, 以分别加入 30 g 供试氮源为处理组, 测定各氮源对病原菌菌丝生长的影响, 取新鲜的山扁豆生棒孢菌饼 ($d=5.0$ mm) 接种于各氮源平板中央, 在 30 °C 培养箱中培养, 6 d 后测量菌落直径, 测定方法同 1.2.1-(1), 每处理 3 次重复。

1.2.2 6 种杀菌剂的室内毒力测定 用无菌水将 6 种供试药剂配置成浓度为 1 mg/L 的母液, 在 PDA 培养基内加入各药剂母液, 制成浓度为 0.002、0.01、0.05、0.25、1.25、6.25 mg/L 的含药 PDA 平板。取新鲜的山扁豆生棒孢菌饼 ($d=5.0$ mm) 接种于含药 PDA 平板中央, 以不含药剂的 PDA 平板为对照, 在 30 °C 培养箱中培养, 6 d 后测量菌落直径, 测定方法同 1.2.1-(1), 每处理 3 皿, 3 次重复, 计算抑制率。菌丝生长抑制

率=(对照组菌落直径-药剂处理组菌落直径)/(对照组菌落直径-菌饼直径)×100%。

1.3 数据处理

在 DPS 7.05 数据处理软件上, 利用 Duncan's 新复极差法对生物学特性(温度、pH、光照条件、碳氮源)进行显著性分析; 根据室内毒力测定抑制率计算 6 种杀菌剂对供试菌株的有效抑制中浓度(EC_{50})。

2 结果与分析

2.1 病原菌的生物学特性

2.1.1 温度对病原菌菌丝生长的影响 由图 1A 可知, 温度在 10~30 °C 时, 菌落直径随温度的升高而增大, 30 °C 时菌落直径最大, 为(64.33±1.15)mm, 当温度在 35 °C 以上时, 菌落直径随温度的升高而减小, 在 40 °C 时无法生长。结果表明, 翡翠景天黑腐病菌山扁豆生棒孢菌丝生长的最适温度为 30 °C, 且高温会抑制菌丝的生长。

2.1.2 pH 对病原菌菌丝生长的影响 由图 1B 可知, pH 为 4~11 时, 病原菌菌丝均可生长; 当 pH 为 4~7 时, 菌落直径随 pH 的升高而增大; 当 pH 为 7 时, 菌落直径最大, 为(68.67±1.15)mm; 当 pH 为 8~11 时, 菌落直径随 pH 的升高而减小。结果表明, 翡翠景天黑腐病菌山扁豆生棒孢菌丝生长的最适 pH 为 7, 整体喜好中性环境。

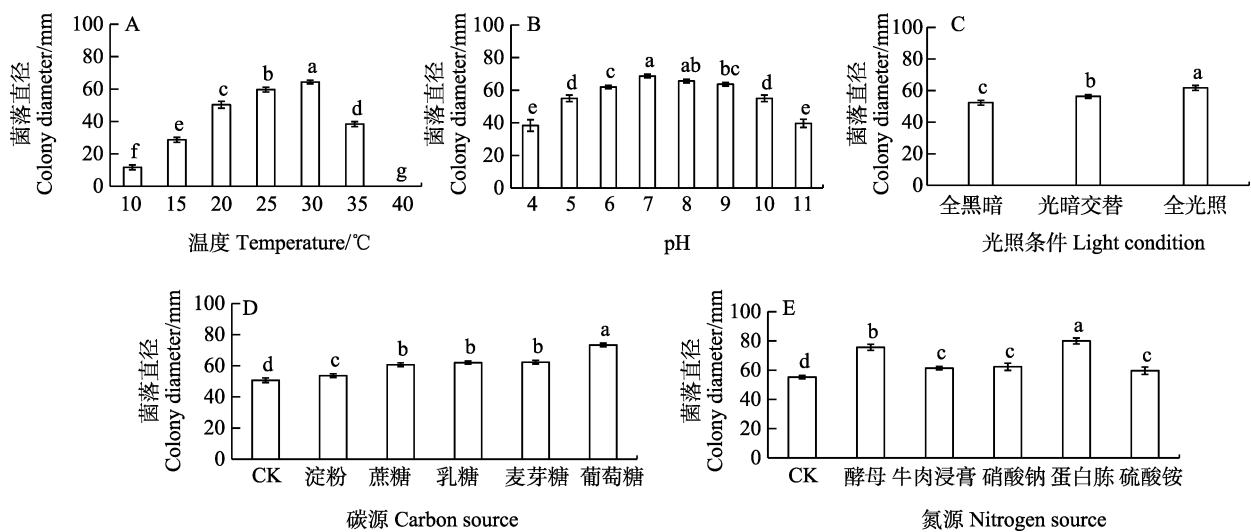
2.1.3 光照条件对病原菌菌丝生长的影响 由图 1C 可知, 在全黑暗、半光照和全光照 3 种条件下,

病原菌菌丝均能生长, 全光照和光暗交替条件下菌丝的生长速度显著高于全黑暗条件。结果表明, 光照有利于菌丝生长。

2.1.4 不同碳、氮源对病原菌菌丝生长的影响 翡翠景天黑腐病菌在含不同碳、氮源的平板上均能生长, 生长速度差异显著。碳源中蔗糖、乳糖、麦芽糖和葡萄糖的菌丝生长速度显著高于对照组(图 1D), 其中以葡萄糖为碳源的菌丝生长速度最快, 培养 6 d 后菌落直径为(73.33±1.15)mm; 氮源中牛肉浸膏、硫酸钠的菌丝生长速度慢于对照组(图 1E), 说明这 2 种氮源对翡翠景天黑腐病原菌菌丝的生长有一定抑制作用, 蛋白胨和酵母的菌丝生长速度显著高于对照组, 其中以蛋白胨为氮源的菌丝生长速度最快, 培养 6 d 后菌落直径为(80.00±2.00)mm。结果表明, 翡翠景天黑腐病原菌菌丝生长的最适碳、氮源分别为葡萄糖和蛋白胨。

2.2 6 种杀菌剂室内毒力测定

室内毒力测定结果表明, 供试的 6 种不同化学结构和作用机制的杀菌剂对翡翠景天黑腐病原菌均具有不同程度的抑制作用(表 1), 其中氯氟醚菌唑的毒力最强, EC_{50} 为 0.0129 mg/L; 其次为咪鲜胺, EC_{50} 为 0.0135 mg/L, 苯醚甲环唑和咯菌腈的 EC_{50} 分别为 0.0273、0.0296 mg/L; 吡唑醚菌酯的毒力一般, EC_{50} 为 0.0768 mg/L; 多菌灵的毒力最弱, EC_{50} 为 0.9353 mg/L。结果表明, 氯氟醚菌唑和咪鲜胺对翡翠景天黑腐病原菌山扁豆生棒孢的毒力最强, 而多菌灵对该病原菌的毒力弱。



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

图 1 翡翠景天黑腐病原菌山扁豆生棒孢的生物学特性

Fig. 1 Biological characteristics of *C. cassicola* causing *S. morganianum* black rot

表 1 6 种杀菌剂对翡翠景天黑腐病菌山扁豆生棒孢的室内毒力测定
Tab. 1 Toxicities of six fungicides against *C. cassiicola* causing *S. morganianum* black rot

药剂 Fungicide	毒力回归方程 Toxicity regression equation	EC ₅₀ (mg·L ⁻¹)	95% 置信区间 95% confidence interval/(mg·L ⁻¹)	r
氯氟醚菌唑	y=6.1893+0.6296x	0.0129	0.0096~0.0173	0.9963
咪鲜胺	y=6.1625+0.6213x	0.0135	0.0092~0.0197	0.9937
吡唑醚菌酯	y=5.7687+0.6896x	0.0768	0.0670~0.0880	0.9987
咯菌腈	y=5.9696+0.6343x	0.0296	0.0193~0.0453	0.9900
苯醚甲环唑	y=5.9260+0.5923x	0.0273	0.0230~0.0325	0.9984
多菌灵	y=5.0131+0.4525x	0.9353	0.7848~1.1147	0.9987

3 讨论

多肉植物翡翠景天黑腐病菌山扁豆生棒孢(*C. cassiicola*)是一种危害严重的病原真菌,通过测定其生物学特性,表明该病原菌菌丝生长的最适温度为 30 ℃,与田守波等^[7]在番茄上发现的山扁豆生棒孢的最适温度一致;菌落生长的最适 pH 为 7,与张笛等^[8]在黄瓜上发现的山扁豆生棒孢的最适 pH 一致;光照有利于菌丝的生长,这与孙会杰等^[9]在芝麻上发现的山扁豆生棒孢一致;碳、氮源筛选试验结果表明,翡翠景天黑腐病菌菌丝生长的最适碳、氮源分别为葡萄糖和蛋白胨,其中最适碳源与王晓宇等^[10]在莲藕上发现的山扁豆生棒孢一致,但最适氮源与其不同,这可能是由于不同寄主的病原菌在生理特性上,抑或是 2 种作物的生长环境存在差异导致的。

目前,化学防治仍是该病原真菌的主要防治手段,筛选高效安全的杀菌剂对于田间科学用药具有一定的指导作用。室内毒力试验结果表明,氯氟醚菌唑、咪鲜胺、苯醚甲环唑和咯菌腈对翡翠景天黑腐病病原菌具有较强毒力,EC₅₀分别为 0.0129、0.0135、0.0273、0.0296 mg/L。这些杀菌剂对其他寄主植物的山扁豆生棒孢病原菌也具有较强毒力。李秀环^[11]对黄瓜靶斑病菌的研究表明,氯氟醚菌唑对我国不同地区的 92 株黄瓜靶斑病菌均有较强毒力,EC₅₀范围为 0.001~1.370 mg/L。温浩等^[12]对草莓棒孢叶斑病原菌的敏感性研究表明,咪鲜胺和苯醚甲环唑具有较好的毒力效果。禾丽菲等^[13]对黄瓜靶斑病菌的室内毒力试验结果表明,咯菌腈和苯醚甲环唑的毒力效果较好。而本研究的室内毒力结果并不能代表其田间实际防效,因为寄主植物的生长特性、病原菌及环境等条件的差异会影响其田间防效^[14]。因此,后续可对药剂的田间应用、药剂残留和对非靶标生物的影响等方面开展研究,研究结果将为翡翠景天

黑腐病的有效防治提供科学指导。

参考文献

- [1] GRIFFITHS H, MALES J. Succulent plants[J]. *Current Biology*, 2017, 27(17): 890-896.
- [2] 王芳, 周叶萍, 杨晶晶, 刘元, 蒋亚华, 韩浩章. 景天科多肉植物抗黑腐病品种筛选及药剂防治[J]. *安徽农学通报*, 2021, 27(22): 97-99.
WANG F, ZHOU Y P, YANG J J, LIU Y, JIANG Y H, HAN H Z. Screening of black rot resistant varieties and fungicide control of Crassulaceae succulent plants[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2021, 27(22): 97-99. (in Chinese)
- [3] 姚锦爱, 黄鹏, 陈汉鑫, 余德亿. 多肉植物翡翠景天黑腐病病原菌[J]. *菌物学报*, 2020, 39(2): 452-456.
YAO J A, HUANG P, CHEN H X, YU D Y. Black rot pathogen of succulent plant *Sedum morganianum*[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(2): 452-456. (in Chinese)
- [4] SHIMOMOTO Y, SATO T, HOJO H, MORITA Y, TAKEUCHI S, MIZUMOTO H, KIBA A, HIKICHI Y. Pathogenic and genetic variation among isolates of *Corynespora cassiicola* in Japan[J]. *Plant Pathology*, 2011, 60(2): 253-260.
- [5] 张广荣, 白滨, 何苏琴, 荆卓琼, 文朝慧, 申培增. 日光温室嫁接黄瓜枯死(茎疫病)病原鉴定[J]. *青海大学学报(自然科学版)*, 2015, 33(6): 8-12, 35.
ZHANG G R, BAI B, HE S Q, JING Z Q, WEN C H, SHEN P Z. The pathogen identification of grafting cucumber stem blight at sunlight greenhouse in Baiyin area of Gansu[J]. *Journal of Qinghai University (Natural Science)*, 2015, 33(6): 8-12, 35. (in Chinese)
- [6] 中华人民共和国农业部. 农药室内生物测定试验准则 杀菌剂第 2 部分: 抑制病原真菌菌丝生长试验皿皿法: NY/T 1156.2—2006[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
Ministry of Agriculture, the People's Republic of China. Pesticides guidelines for laboratory bioactivity tests Part 2: petri plate test for determining fungicide inhibition of myce-

- lial growth: NY/T 1156.2—2006[S]. Beijing: Standards Press of China, 2006. (in Chinese)
- [7] 田守波, 朱为民, 朱龙英, 杨学东, 张迎迎, 张辉, 刘娜. 番茄棒孢叶斑病原鉴定及生物学特性研究[J]. 植物保护, 2020, 46(3): 157-162, 166.
TIAN S B, ZHU W M, ZHU L Y, YANG X D, ZHANG Y Y, ZHANG H, LIU N. Identification of the pathogen from *Corynespora* leaf spot of tomato and research on its biological characteristics[J]. Plant Protection, 2020, 46(3): 157-162, 166. (in Chinese)
- [8] 张笛, 刘齐月, 刘东, 陶磊, 王春龙, 张艳菊. 黑龙江省黄瓜棒孢叶斑病分布及病菌生物学特性[J]. 北方园艺, 2020(21): 7-14.
ZHANG D, LIU Q Y, LIU D, TAO L, WANG C L, ZHANG Y J. Investigation on the incidence of cucumber leaf spot disease and its biological characteristics in Heilongjiang province[J]. Northern Horticulture, 2020(21): 7-14. (in Chinese)
- [9] 孙会杰, 高德学, 程洪森, 那艳斌, 孙敏杰, 张晓波. 芝麻棒孢根腐病原菌生物学特性研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2020, 51(4): 506-511.
SUN H J, GAO D X, CHENG H S, NA Y B, SUN M J, ZHANG X B. Biological characteristics of root rot caused by *Corynespora cassiicola* on sesame in China[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2020, 51(4): 506-511. (in Chinese)
- [10] 王晓宇, 李增平, 郑志淋, 张宇, 吴如慧. 莲藕棒孢霉叶斑病原鉴定及其生物学特性测定[J]. 热带作物学报, 2019, 40(4): 734-740.
WANG X Y, LI Z P, ZHENG Z L, ZHANG Y, WU R H. Identification and biological characteristics of *Corynespora cassiicola* causing *Corynespora* leaf spot on *Nelumbo nucifera*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(4): 734-740. (in Chinese)
- [11] 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]. 泰安: 山东农业大学, 2021.
LI X H. Resistance monitoring of *Corynespora cassiicola* to pyraclostrobin and molecular mechanisms of resistant to two new fungicides[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2021. (in Chinese)
- [12] 温浩, 张桂军, 毕扬, 闫哲. 草莓棒孢叶斑病的病原菌鉴定及其对9种杀菌剂的敏感性[J]. 农药学报, 2019, 21(3): 279-284.
WEN H, ZHANG G J, BI Y, YAN Z. Pathogen identification of *Corynespora* leaf spot on strawberry and its sensitivity to nine fungicides[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2019, 21(3): 279-284. (in Chinese)
- [13] 禾丽菲, 李晓旭, 朱佳美, 慕卫, 刘峰. 不同杀菌剂对黄瓜靶斑病菌的毒力作用特性比较[J]. 农药学报, 2018, 20(1): 25-32.
HE L F, LI X X, ZHU J M, MU W, LIU F. Comparison of toxicity properties of different types of fungicides against *Corynespora cassiicola* on cucumber[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2018, 20(1): 25-32. (in Chinese)
- [14] 蒋妮, 宋利沙, 陈乾平, 冯世鑫, 张占江, 蒋水元, 黄夕洋. 罗汉果斑枯病菌主要生物学特性及防治药剂筛选[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(24): 78-81.
JIANG N, SONG L S, CHEN Q P, FENG S X, ZHANG Z J, JIANG S Y, HUANG X Y. Main biological characteristics and screening of fungicides against spot blight of *Siraitia grosvenorii*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(24): 78-81. (in Chinese)