

薄壳山核桃叶斑病原菌生物学特性及室内药剂毒力测定

周洁璐¹, 吴天昊¹, 巨云为¹, 杨旭涛², 梁 甜¹, 朱海军³

(1. 南京林业大学 林学院 南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037; 2. 安徽省滁州市林业工作站, 安徽 滁州 239000; 3. 江苏省农业科学院 果树研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 【目的】对薄壳山核桃 *Carya illinoensis* 叶斑病 4 种病原菌, 包括共享镰孢菌 *Fusarium commune*、暗球腔菌属 *Phaeosphaeria* 1 种 *P. fuckelii*、茶蔗子葡萄座腔菌 *Botryosphaeria dothidea* 和灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 进行生物学特性测定和不同化学药剂的室内毒力测定, 探究其最适生长环境, 并筛选最佳防治药剂。【方法】采用菌丝生长速率法测量病原菌在不同培养条件下的生长速率以及不同化学药剂对病原菌的抑菌率, 用 DPS 计算抑制中浓度 (EC₅₀)。【结果】共享镰孢菌、*P. fuckelii*、茶蔗子葡萄座腔菌和灰葡萄孢最适生长温度分别是 25、25、30 和 20 °C; 最适 pH 值分别是 8.0、7.0、7.0 和 6.0; 最适碳源分别为葡萄糖、可溶性淀粉、蔗糖和可溶性淀粉; 最适氮源分别为硝酸钾、胰蛋白胨、尿素和胰蛋白胨。5 种杀菌剂中 450 g·L⁻¹ 咪鲜胺对共享镰孢菌、茶蔗子葡萄座腔菌和灰葡萄孢的毒力最强, EC₅₀ 分别为 0.010 8、0.091 5 和 0.021 0 mg·L⁻¹, 250 g·L⁻¹ 吡唑醚菌酯对 *P. fuckelii* 的毒力最强, EC₅₀ 值为 0.004 1 mg·L⁻¹。【结论】4 种病原菌在含葡萄糖和可溶性淀粉的碳源环境下以及含尿素、硝酸钾和胰蛋白胨的氮源环境下生长旺盛, 咪鲜胺与吡唑醚菌酯对该病具有很好的防治作用。图 4 表 2 参 31

关键词: 薄壳山核桃; 叶斑病病原; 生物学特性; 毒力测定

中图分类号: S763.1

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2023)05-1018-08

Biological characteristics and toxicity test of the pathogen of *Carya illinoensis* leaf spot

ZHOU Jielu¹, WU Tianhao¹, JU Yunwei¹, YANG Xutao², LIANG Tian¹, ZHU Haijun³

(1. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Forestry College, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China; 2. Forestry Workstation of Chuzhou City, Anhui Province, Chuzhou 239000, Anhui, China; 3. Fruit Tree Research Institute, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, Jiangsu, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to determine the biological characteristics and toxicity of four pathogens, namely *Fusarium commune*, *Phaeosphaeria fuckelii*, *Botryosphaeria dothidea*, and *Botrytis cinerea*, that cause leaf spot in *Carya illinoensis* and explore the optimal growth conditions for these pathogens and effective control agents. [Method] The mycelium growth rate method was utilized to measure the growth rates of the pathogens under different culture conditions and the inhibition rates of 5 chemical fungicides on the pathogens. The EC₅₀ was calculated using DPS. [Result] *F. commune* and *P. fuckelii* grew optimally at 25 °C, while *Botryosphaeria dothidea* and *Botrytis cinerea* grew optimally at 30 °C and 20 °C, respectively. The optimal pH for growth were 8.0, 7.0, 7.0, and 6.0 for *F. commune*, *P. fuckelii*, *Botryosphaeria dothidea* and

收稿日期: 2023-02-01; 修回日期: 2023-06-19

基金项目: 安徽省林业科技创新研究项目 (AHLYCX-2022-8); 江苏省林业科技创新与推广项目 (LYKJ〔2020〕25); 江苏省农业自主创新资金项目 [CX(22)2027]; 江苏省林业科技创新与推广项目 (LYKJ-丰县〔2021〕001)

作者简介: 周洁璐 (ORCID: 0009-0000-9098-9024), 从事病虫害防治研究。E-mail: 171549798@qq.com。通信作者: 巨云为 (ORCID: 0000-0003-1413-8775), 博士, 副教授, 从事昆虫生物学、生态学研究, E-mail: 656898633@qq.com

Botrytis cinerea, respectively. Glucose, soluble starch, sucrose, and soluble starch were the optimal carbon sources, respectively. Similarly, potassium nitrate, tryptone, urea, and tryptone were the optimal nitrogen sources for these four fungal species, respectively. Of the five fungicides tested, 450 g·L⁻¹ prochloraz exhibited the highest level of toxicity to *F. commune*, *Botryosphaeria dothidea*, and *Botrytis cinerea*, with EC₅₀ of 0.010 8, 0.091 5, and 0.021 0 mg·L⁻¹, respectively. Additionally, the 250 g·L⁻¹ pyrazolyl ester demonstrated the strongest toxicity to *P. fuckelii*, with EC₅₀ of 0.004 1 mg·L⁻¹. [Conclusion] The four types of pathogenic fungi grew well in carbon sources with elevated levels of glucose and soluble starch, as well as nitrogen sources that contain urea, potassium nitrate, and tryptone. Prochloraz and pyrazolyl ester can effectively control the disease. [Ch, 4 fig. 2 tab. 31 ref.]

Key words: *Carya illinoensis*; pathogen of leaf spot; biological characteristics; virulence test

薄壳山核桃 *Carya illinoensis* 属于胡桃科 Juglandaceae 山核桃属 *Carya*, 原产于北美密西西比河流域^[1], 集坚果、油料、用材于一体, 树形高大挺秀, 株型紧凑^[2], 极具经济价值。中国引种薄壳山核桃的历史始于 19 世纪末^[3], 随着种植规模的不断扩大, 薄壳山核桃病害的发生越来越多, 已报道的约 21 种, 包括叶部病害 11 种, 其中, 薄壳山核桃黑斑病、褐斑病及白粉病^[4]等叶部病害较为严重, 影响薄壳山核桃产量和品质^[5]。薄壳山核桃叶部黑斑病及褐斑病病害统称为叶斑病^[6]。INGRAM^[7]认为: 炭疽菌 *Colletorichum* spp. 是引起薄壳山核桃黑斑病的主要菌种, 邓蕾等^[8]认为山核桃黑斑病病原为小孢拟盘多毛孢 *Pestalotiopsis microspora*, 2 种菌都被证实对叶片和果实具有侵染性。杨莉等^[9]对四川的核桃褐斑病进行柯赫氏法则的验证, 明确其病原为链格孢属的 *Alternaria alternata*。

前期从薄壳山核桃叶斑病组织中分离鉴定出 4 种病原菌分别是共享镰孢菌 *Fusarium commune*、暗球腔菌属 *Phaeosphaeria* 的 *P. fuckelii*、茶藨子葡萄座腔菌 *Botryosphaeria dothidea* 和灰葡萄孢 *Botrytis cinerea*^[6]。这 4 种菌已被确认为植物病原菌且寄主多样化, 共享镰孢菌有报道可引起龙牙百合 *Lilium brownii* var. *viridulum* 枯萎病^[10]和烟草 *Nicotiana tabacum* 根腐病^[11]; 暗球腔菌属 *Phaeosphaeria* spp. 对淡竹 *Phyllostachys glauca*、桂竹 *Phyllostachys reticulata* 和香蕉 *Musa* spp.^[12-13] 具有较大危害; 茶藨子葡萄座腔菌寄生性较广, 可以侵染山核桃 *Carya cathayensis*、杨树 *Populus* spp.、桉树 *Eucalyptus* spp. 等经济树种并对其造成严重危害^[14-15]; 灰葡萄孢可引起草莓灰霉病等^[16]。

目前这 4 种病原菌的相关生物学特性和农药毒力测定的研究较浅。由于同种病原不同菌株因环境差异而导致敏感性不同, 因此有必要对该 4 种致病菌株进行生物学测定。化学防治仍然是植物病害防治的主要手段, 合理使用农药可以降低病原菌的抗药性, 增加防治效果^[17]。本研究对 4 种病原菌的生物学特性进行研究, 并用 5 种化学试剂进行室内毒力测定, 旨在为薄壳山核桃叶斑病的防控提供可靠的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 薄壳山核桃叶斑病病原菌共享镰孢、*P. fuckelii*、茶藨子葡萄座腔菌和灰葡萄孢在南京六合区、镇江句容市、安徽省滁州市采集感病薄壳山核桃叶片分离纯化获得。

1.1.2 供试药剂 5 种供试药剂包括 250 g·L⁻¹ 吡唑醚菌酯悬浮剂(河北中保绿农作物科技有限公司)、450 g·L⁻¹ 咪鲜胺水乳剂(湖南新长山农业发展股份有限公司)、400 g·L⁻¹ 百菌清悬浮液(天津艾格福农药科技有限公司)、250 g·L⁻¹ 氰烯菌酯悬浮剂(江苏省农药研究所股份有限公司)、300 g·L⁻¹ 丙硫菌唑悬浮剂(安徽久易股份有限公司)。

1.2 薄壳山核桃叶斑病病原菌生物学测定

1.2.1 温度对菌丝生长速率的影响 将 4 种致病菌株用无菌打孔器打成直径 5 mm 的菌块, 接种至马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)培养基上, 设置 5、10、15、20、25、30、35 ℃ 等 7 个温度处理, 每个处理设置 3 次重复, 采用十字交叉法分别测量培养 7 和 14 d 的菌落直径, 计算生长速率。

1.2.2 pH对菌丝生长速率的影响 以马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)为基本培养基,用 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的HCl溶液和 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaOH溶液调整PDA培养基的pH值,设4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0等7个处理,将5 mm的菌块接入不同pH的培养基,27℃恒温培养,每个处理设置3次重复。除*P. fuckelii*分别于培养7和14 d测量直径外,其余3种分别于培养3和7 d时测量供试菌株直径,计算生长速率。

1.2.3 碳氮源对菌丝生长速率的影响 以基础培养基($0.25\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸镁, $0.30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾, $2.00\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸钾, $30.00\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖, $20.00\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂, 1 000 mL水)为供试培养基。保持其他试剂不变,分别以 $30.00\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、可溶性淀粉作为不同碳源,进行碳源试验;保持其他试剂不变,分别以 $2.00\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 硝酸钾、硫酸铵、尿素、牛肉浸膏、胰蛋白胨作为不同氮源,进行氮源试验。将5 mm菌块接入培养基,27℃恒温培养,每个处理设置3次重复,测量方法同1.2.2,计算生长速率。

1.3 药剂对病原菌菌丝生长的毒力测定

采用生长速率法测定不同杀菌剂对薄壳山核桃叶斑病病原菌的抑菌作用。将5种药剂加入无菌水中,按照一定比例稀释设置5个质量浓度梯度(表1),再将稀释后的制剂与融化的PDA培养基以体积比1:99混合均匀,配置出不同质量浓度的含药培养基并计算含药培养基中原药的质量浓度,含药培养基原药质量浓度=药剂体积×药剂中有效成分质量浓度/含药培养基体积。每种药剂每个质量浓度梯度设置3个重复,设置不含药剂的PDA培养基为空白对照。将5 mm的菌块移入培养基中,27℃恒温培养,每个处理3次重复,培养3~7 d后,采用十字交叉法测量供试菌株的菌落直径。抑制率=(对照菌落直径—处理菌落直径)/对照菌落直径×100%。将5种药剂5个质量浓度梯度下菌落生长的抑菌率的值换算成抑制几率值,作为因变量(y),药剂质量浓度的自然对数值作为自变量(x),利用最小二乘法建立“浓度对数—几率值”直线方程^[18]。用Excel和DPS软件求出相关系数(r)、抑制中浓度(EC_{50})及毒力回归方程($y=ax+b$),比较不同药剂对病原菌的毒力效果。

表1 药剂稀释质量浓度

Table 1 Dilution mass concentration of reagents

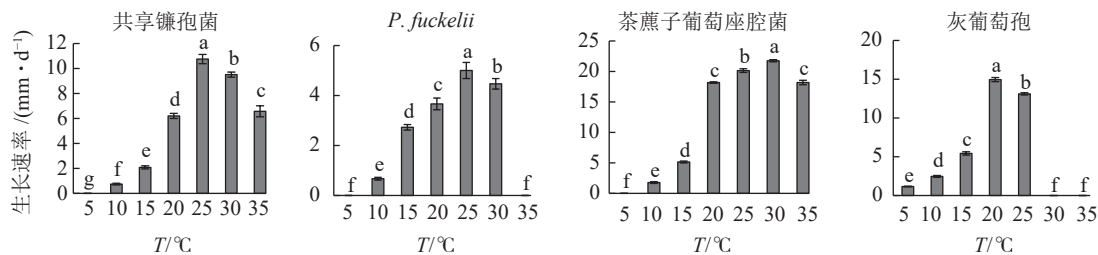
病菌	稀释质量浓度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)				
	吡唑醚菌酯	咪鲜胺	百菌清	氰烯菌酯	丙硫菌唑
共享镰孢菌	1 000.0、100.0、10.0、1.0、0.2	10.0、2.0、1.0、0.2、0.1	10.0、2.0、1.0、0.2、0.1	100.0、10.0、1.0、0.2、0.1	1 000、100、10、2、1
<i>P. fuckelii</i>	10 000、100、10、2、1	10.0、2.0、1.0、0.2、0.1	100、10、4、2、1	10 000、100、40、20、10	100、10、4、2、1
茶蔗子葡萄座腔菌	10 000、100、10、2、1	100.0、10.0、1.0、0.2、0.1	10 000、100、10、2、1	10 000、100、40、20、10	1 000、100、10、2、1
灰葡萄孢	10 000、1 000、400、200、100	1.00、0.20、0.10、0.02、0.01	10 000、100、10、2、1	10 000、100、40、20、10	1.00、0.20、0.10、0.02、0.01

2 结果与分析

2.1 病原菌生物学特性研究

2.1.1 温度对菌丝生长速率的影响 如图1所示:共享镰孢菌在10~35℃下均能生长,最适生长温度为25℃,菌落的生长速率为 $10.76\text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$,温度在10℃以下时,菌落受到抑制;*P. fuckelii*菌丝在10~30℃下均能生长,最适生长温度为25℃,菌落的生长速率为 $5.00\text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$,温度在5和35℃时生长速率为0;茶蔗子葡萄座腔菌在10~35℃下均能生长,最适生长温度为30℃,菌落的生长速率为 $21.76\text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$,温度在5℃及以下时生长受到抑制;灰葡萄孢在5~25℃下均能生长,最适生长温度为20℃,菌落的生长速率为 $14.95\text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$,温度在30℃及以上生长受到抑制。

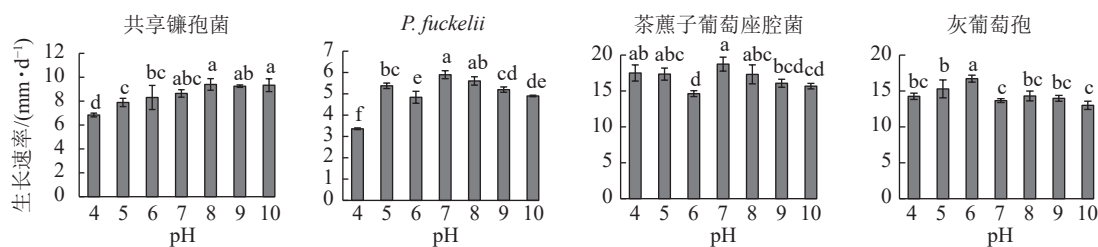
2.1.2 pH对菌丝生长速率的影响 如图2所示:共享镰孢菌在pH为4.0~10.0的条件下均可生长,最适宜菌丝生长的pH为8.0,菌丝生长速率为 $9.40\text{ mm}\cdot\text{d}^{-1}$,在pH 4.0的条件下,菌丝生长受限;*P.*



不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 1 不同温度对菌株菌丝生长速率的影响

Figure 1 Effect of different temperature on mycelial growth rate of strains



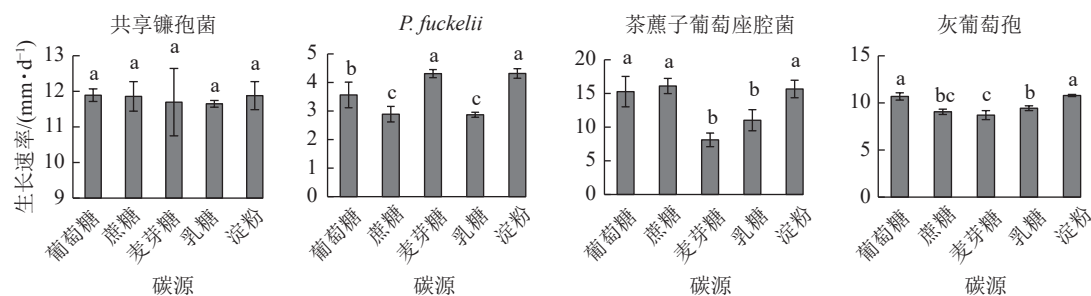
不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 2 不同 pH 对菌株菌丝生长速率的影响

Figure 2 Effect of different pH on mycelial growth rate of strains

fuckelii 在 pH 4.0~10.0 的条件下均可生长, 最适宜菌丝生长的 pH 为 7.0, 菌丝生长速率为 $5.90 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$, 在 pH 4.0 的条件下, 菌丝生长受限; 茶蔗子葡萄座腔菌在 pH 4.0~10.0 的条件下均可生长, 最适宜菌丝生长的 pH 为 7.0, 该病原菌适于中性环境下生长, 菌丝生长速率为 $18.74 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$, 茶蔗子葡萄座腔菌在 pH 4.0~10.0 的条件下无明显被抑制的现象, pH 的波动对其生长影响不大; 灰葡萄孢在 pH 4.0~10.0 的条件下均可生长, 最适宜菌丝生长的 pH 为 6.0, 菌丝生长速率为 $10.69 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

2.1.3 碳源对菌丝生长速率的影响 如图 3 所示: 共享镰孢菌在含葡萄糖的培养基上菌丝生长最快, 生长速率为 $11.89 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$, 但共享镰孢菌对这 5 种碳源的利用效果差异不显著; *P. fuckelii* 对可溶性淀粉的碳源利用效果最好, 菌丝生长速率为 $4.32 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$, *P. fuckelii* 利用效果最差的碳源为乳糖, 菌丝生长速率为 $2.87 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$; 茶蔗子葡萄座腔菌利用效果最差的碳源为麦芽糖, 菌丝生长速率为 $8.11 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$; 灰葡萄孢对可溶性淀粉的碳源利用效果最好, 菌丝生长速率为 $10.79 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$, 灰葡萄孢利用效果最差的碳源为麦芽糖, 菌丝生长速率为 $8.7 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ 。



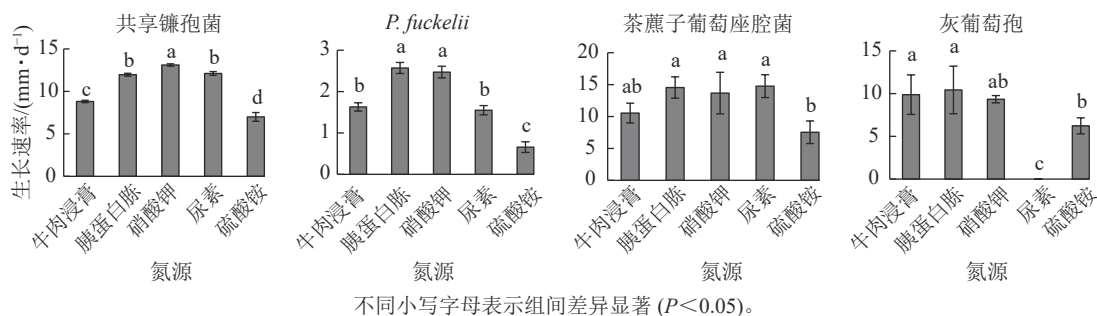
不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 3 不同碳源对菌株菌丝生长速率的影响

Figure 3 Effect of different carbon source on mycelial growth rate of strains

2.1.4 氮源对菌丝生长速率的影响 如图 4 所示: 共享镰孢菌在 5 种不同氮源上均可以生长, 其中利用效果最好的是硝酸钾, 菌丝生长速率为 $13.11 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$, 与其他氮源差异显著, 在硫酸铵中生长最慢, 菌丝生长速率为 $7.00 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$; *P. fuckelii* 氮源利用效果最好的是胰蛋白胨, 其菌丝生长速率为 $2.57 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$, 在硫酸铵中生长最慢, 生长速率为 $0.66 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$; 茶蔗子葡萄座腔菌氮源利用效果最好的是尿素, 其菌丝生长速率为 $14.77 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$, 利用效果最差的氮源为硫酸铵, 菌丝生长速率为 $7.54 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$; 灰

葡萄孢在除尿素外的4种不同氮源上均可以生长,其中该病原菌利用效果最好的是胰蛋白胨,其菌丝生长速率为 $10.43 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$,与其他氮源差异显著,在尿素中该菌不生长。



不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

图4 不同氮源对菌株菌丝生长速率的影响

Figure 4 Effect of different nitrogen source on mycelial growth rate of strains

2.2 5种杀菌剂对病原菌的室内毒力测定

由表2可知:5种杀菌剂对共享镰孢菌的 EC_{50} 由小到大依次为咪鲜胺、氰烯菌酯、百菌清、丙硫菌唑、吡唑醚菌酯。因此,咪鲜胺对共享镰孢菌室内毒力最强,氰烯菌酯次之,吡唑醚菌酯最弱。5种杀菌剂对 *P. fuckelii* 的 EC_{50} 由小到大依次为吡唑醚菌酯、咪鲜胺、丙硫菌唑、百菌清、氰烯菌酯。因此,吡唑醚菌酯对 *P. fuckelii* 室内毒力最强,咪鲜胺次之,氰烯菌酯最弱。5种杀菌剂对茶蔗子葡萄座腔菌的 EC_{50} 由小到大依次为咪鲜胺、吡唑醚菌酯、百菌清、丙硫菌唑、氰烯菌酯。因此,咪鲜胺对茶蔗子葡萄座腔室内毒力最强,吡唑醚菌酯次之,氰烯菌酯最弱。5种杀菌剂对灰葡萄孢的 EC_{50} 由小到大依次为咪鲜胺、丙硫菌唑、百菌清、氰烯菌酯、吡唑醚菌酯。因此,咪鲜胺对灰葡萄孢室内毒力最强,丙硫菌唑次之,吡唑醚菌酯最弱。

表2 5种药剂对4个病菌的室内毒力测定

Table 2 Toxicity test of 5 chemicals against 4 pathogens

药剂	共享镰孢菌			<i>P. fuckelii</i>			茶蔗子葡萄座腔菌			灰葡萄孢		
	毒力回归方程	r	$EC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	毒力回归方程	r	$EC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	毒力回归方程	r	$EC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	毒力回归方程	r	$EC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
吡唑醚菌酯	$y=0.15x+4.76$	0.97	39.222 9	$y=0.14x+5.34$	0.99	0.004 1	$y=0.47x+5.20$	0.90	0.367 5	$y=0.45x+3.91$	0.93	275.052 7
咪鲜胺	$y=0.68x+6.34$	0.97	0.010 8	$y=0.47x+6.12$	0.97	0.004 3	$y=0.69x+5.72$	0.87	0.091 5	$y=0.64x+6.07$	0.97	0.021 0
百菌清	$y=0.55x+4.96$	0.99	1.178 9	$y=0.57x+4.96$	0.96	1.167 6	$y=0.57x+5.00$	0.96	0.990 4	$y=0.28x+4.74$	0.98	8.238 0
氰烯菌酯	$y=0.72x+5.38$	0.75	0.294 7	$y=0.88x+3.40$	0.92	65.705 9	$y=0.79x+3.66$	0.94	50.702 6	$y=0.80x+3.34$	0.95	118.136 7
丙硫菌唑	$y=0.73x+4.00$	0.97	23.363 3	$y=0.31x+5.14$	0.95	0.358 2	$y=0.60x+4.43$	0.97	8.845 4	$y=0.73x+5.64$	0.98	0.134 1

说明: y 为抑制几率值, x 为药剂质量浓度的对数值。

3 讨论

本研究对共享镰孢菌、*P. fuckelii*、茶蔗子葡萄座腔菌和灰葡萄孢进行生物学特性测定和室内药剂的毒力测定,探究其最适生长环境,筛选最佳防治药剂。共享镰孢菌对温度、pH 等适应范围广,在 $10 \sim 35$ $^{\circ}\text{C}$, pH 4.0~10.0 时菌丝均能生长,其中最适温度为 25 $^{\circ}\text{C}$,在 pH 8 时菌丝生长最快,此结论与曾莉莎等^[19]研究结果相似。其最适碳源为葡萄糖,最适氮源为硝酸钾,与李润根等^[10]的研究结果差异较大,这可能与共享镰孢菌所侵染的寄主不同有关^[20]。目前对 *P. fuckelii* 生物学特性的研究尚且未见报道,本研究中 *P. fuckelii* 最适生长温度为 25 $^{\circ}\text{C}$ 和最适生长 pH 为 7.0, *P. fuckelii* 适宜在较温暖且酸碱度呈中性的环境中生长。最适碳源为可溶性淀粉,最适氮源为胰蛋白胨。茶蔗子葡萄座腔菌菌丝生长温度范围为 $10 \sim 35$ $^{\circ}\text{C}$,最适生长温度为 30 $^{\circ}\text{C}$,最适 pH 为 7,在 pH 4.0~10.0 生长速率差别不大,与刘琪等^[21]的研究结果一致。最适碳源为蔗糖,与李诚等^[22]的研究结果相似,最适氮源为尿素,与何靖柳等^[23]的研究结果差别较大,其原因可能在于菌株取自不同植物寄主,其对营养物质的利用方式略有差异。灰葡萄孢菌丝生

长温度范围为 5~25 ℃, 最适温度为 20 ℃, 最适 pH 为 6.0, 与殷辉等^[24]的研究结果相同。在本研究中, 灰葡萄孢菌丝生长最适碳源为可溶性淀粉, 最适氮源为胰蛋白胨, 与来自其他寄主的灰葡萄孢生物学特性基本相同^[25]。4 种致病菌在以硫酸铵为氮源的培养基上生长缓慢且菌丝稀疏, 生产种植上可选择用硫酸铵作为氮肥, 以达到减缓病害发生的目的。

本研究 5 种药剂对 4 种致病菌抑菌效果和室内毒力作用存在差异, 其中, 咪鲜胺对共享镰刀菌抑菌效果最好, 与周鑫钰等^[26]研究结果相似。咪鲜胺作为一种咪唑类杀菌剂, 其作用机制在于抑制生物体麦角甾醇的合成, 破坏细胞膜功能^[27], 对包括镰孢属 *Fusarium* 等多种子囊菌和半知菌有显著的作用^[28]; 对 *P. fuckelii* 来说, 吡唑醚菌酯抑菌效果最好, 据周英等^[29]报道, 25% 咪鲜胺对葡萄座腔菌抑菌效果较好, 其 EC_{50} 为 $0.08 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 与本研究结论相似; 姜莉莉等^[16]在对草莓灰霉病病原菌灰葡萄孢的室内药剂毒力测定中发现咪鲜胺的 EC_{50} 为 $0.99 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 毒力作用较强, 本研究得出的结论与前者相似, 咪鲜胺对灰葡萄孢抑菌效果最好, 吡唑醚菌酯最弱。田间的药剂防治效果受多种因素影响, 需后期进一步田间试验证实。目前有研究报道复配药剂比单剂防治效果更佳^[30-31]。本研究的 5 种杀菌剂复配是否具有增效作用有待后续研究。

4 结论

综上, 对这 4 种病原菌来说, 在室内温度为 20~30 ℃, pH 6.0~8.0 的环境中都可以生长得较好。这 4 种病原菌在以葡萄糖和可溶性淀粉为碳源, 以尿素、硝酸钾和胰蛋白胨为氮源的环境下生长旺盛。咪鲜胺的杀菌效果在 5 种杀菌剂中最好, EC_{50} 均在 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下, 对病原菌具有很强的毒力作用, 因此咪鲜胺是防治薄壳山核桃叶斑病的首选药剂, 另外, 吡唑醚菌酯也具有较好的抑菌作用。在今后的薄壳山核桃叶斑病防治中, 为了防止长期使用单一药剂产生抗药性, 可交替或混合使用咪鲜胺与吡唑醚菌酯, 以达到良好的防治效果。

5 参考文献

- [1] 莫正海, 张计育, 翟敏, 等. 薄壳山核桃在南京的开花物候期观察和比较[J]. 植物资源与环境学报, 2013, 22(1): 57–62. MO Zhenghai, ZHANG Jiyu, ZHAI Min, et al. Observation and comparison of flowering phenology of *Carya illinoensis* in Nanjing [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2013, 22(1): 57–62.
- [2] 张计育, 王刚, 王涛, 等. 96份薄壳山核桃种质资源青果表型性状遗传多样性分析[J]. 中国南方果树, 2023, 52(1): 125–128, 133. ZHANG Jiyu, WANG Gang, WANG Tao, et al. Genetic diversity analysis of green fruit phenotypic traits of 96 pecan germplasm resources [J]. *South China Fruits*, 2023, 52(1): 125–128, 133.
- [3] 陈鑫林, 朱灿灿, 张仕杰, 等. 黑斑病胁迫下不同抗性薄壳山核桃品种光合作用的研究[J]. 北方园艺, 2023(7): 34–40. CHEN Xinlin, ZHU Cancan, ZHANG Shijie, et al. Study on photosynthesis of the pecan under the stress of black spot diseases [J]. *Northern Horticulture*, 2023(7): 34–40.
- [4] 巨云为, 赵盼盼, 黄麟, 等. 薄壳山核桃主要病害发生规律及防控[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2015, 39(4): 31–36. JU Yunwei, ZHAO Panpan, HUANG Lin, et al. Analysis of *Carya illinoensis* main diseases occurrence and control [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2015, 39(4): 31–36.
- [5] 朱倩丽. 国内薄壳山核桃黑斑病原的分离和鉴定[D]. 南京: 南京农业大学, 2019. ZHU Qianli. *Isolation and Identification from Pecan Black Spot in China* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019.
- [6] 吴天昊, 翟敏, 胡龙娇, 等. 薄壳山核桃叶斑病原鉴定[J]. 中国森林病虫, 2022, 41(2): 16–23. WU Tianhao, ZHAI Min, HU Longjiao, et al. Pathogen identification of leaf spot of *Carya illinoensis* [J]. *Forest Pest and Disease*, 2022, 41(2): 16–23.
- [7] INGRAM T W. *The Genetic Diversity, Epidemiology, and Chemical Control of the Causal Agent of Pecan Anthracnose, Colletotrichum* [D]. Athens: University of Georgia, 2013.
- [8] 邓蕾, 冯丹丹, 汪祖鹏, 等. 农杆菌介导的小孢拟盘多毛孢遗传转化及突变体筛选[J]. 菌物学报, 2021, 40(9): 2355–

2363.

DENG Lei, FENG Dandan, WANG Zupeng, *et al.* Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of *Pestalotiopsis microspora* and screening of the mutants [J]. *Mycosystema*, 2021, **40**(9): 2355 – 2363.

- [9] 杨莉, 杨双昱, 麻文建, 等. 核桃褐斑病病原菌的分离鉴定和发病规律的调查[J]. 林业科学研究, 2017, **30**(6): 1004 – 1008.

YANG Li, YANG Shuangyu, MA Wenjian, *et al.* Identification of pathogen of walnut brown spot and investigation of the disease occurrence [J]. *Forest Research*, 2017, **30**(6): 1004 – 1008.

- [10] 李润根, 曾慧兰, 卢其能, 等. 百合枯萎病菌 *Fusarium commune* 的鉴定及其对杀菌剂敏感性研究[J]. 园艺学报, 2021, **48**(1): 162 – 172.

LI Rungen, ZENG Huilan, LU Qineng, *et al.* Identification, partial biological characteristics and sensitivity to fungicides of *Fusarium commune* causing bulb rot on lily [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2021, **48**(1): 162 – 172.

- [11] 吴安忠, 程崖芝, 巫升鑫, 等. 烟草镰刀菌根腐病的病原鉴定[J]. 中国烟草学报, 2018, **24**(2): 135 – 140.

WU Anzhong, CHENG Yazhi, WU Shengxin, *et al.* Identification of tobacco *Fusarium* root rot pathogen [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2018, **24**(2): 135 – 140.

- [12] 王国芬, 黄俊生, 谢艺贤, 等. 香蕉叶斑病的研究进展[J]. 果树学报, 2006, **23**(1): 96 – 101.

WANG Guofen, HUANG Junsheng, XIE Yixian, *et al.* Advances in research on sigatoka disease of banana [J]. *Journal of Fruit Science*, 2006, **23**(1): 96 – 101.

- [13] 朱熙樵, 王新荣. 竹叶枯型丛枝病的研究[J]. 竹子研究汇刊, 1995, **14**(2): 68 – 77.

ZHU Xiqiao, WANG Xinrong. A study on the bamboo leaf blight type brooming disease [J]. *Journal of Bamboo Research*, 1995, **14**(2): 68 – 77.

- [14] 程燕林, 梁军, 吕全, 等. 葡萄座腔菌科研究进展: 鉴定, 系统发育学和分子生态学[J]. 生态学报, 2011, **31**(11): 3197 – 3207.

CHENG Yanlin, LIANG Jun, LÜ Quan, *et al.* Advances in botryosphaeriaceae: identification, phylogeny and molecular ecology [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, **31**(11): 3197 – 3207.

- [15] 童琪, 张佳星, 张宇, 等. 山核桃干腐病菌环介导等温扩增技术(LAMP)快速检测体系的建立[J]. 河北农业大学学报, 2018, **41**(4): 87 – 91, 100.

TONG Qi, ZHANG Jiaxing, ZHANG Yu, *et al.* Establishment of loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of botryosphaeria dothidea causing carya tree canker [J]. *Journal of Hebei Agricultural University*, 2018, **41**(4): 87 – 91, 100.

- [16] 姜莉莉, 田中一久, 孙瑞红, 等. 草莓灰霉病病原菌的分离鉴定及室内毒力测定[J]. 山东农业科学, 2021, **53**(8): 102 – 106.

JIANG Lili, TANAKA K, SUN Ruihong, *et al.* Isolation and Identification of strawberry grey mould pathogen and indoor toxicity measurement [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2021, **53**(8): 102 – 106.

- [17] 刘西莉, 苗建强, 张灿. 植物病原菌抗药性及其抗性治理策略[J]. 农药学学报, 2022, **24**(5): 921 – 936.

LIU Xili, MIAO Jianqiang, ZHANG Can. Fungicide resistance and the management strategies [J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2022, **24**(5): 921 – 936.

- [18] 孙雁征, 帅良, 罗冬兰, 等. 百香果果腐病病原菌的分离鉴定及防治药剂毒力测定[J]. 中国果树, 2023, **234**(4): 73 – 77, 143.

SUN Yanzheng, SHUAL Liang, LUO Donglan, *et al.* Isolation and identification of pathogenic bacteria of passion fruit rot and toxicity of fungicides to the pathogen [J]. *China Fruits*, 2023, **234**(4): 73 – 77, 143.

- [19] 曾莉莎, 吕顺, 郑芝波, 等. 不同地区荷花腐败病菌生物学特性及IGS序列分析[J]. 热带作物学报, 2017, **38**(1): 136 – 143.

ZENG Lisha, LÜ Shun, ZHENG Zhibo, *et al.* Biological characteristics and lgs sequence analysis of pathogen strains causing lotus rhizome rot (*Fusarium commune*) from different regions [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2017, **38**(1): 136 – 143.

- [20] 敬雪敏, 罗英花, 秦忠成, 等. 尖孢镰刀菌生物学特性及杀菌剂毒力测定[J]. 中国草地学报, 2019, **41**(5): 144 – 151.

JING Xuemin, LUO Yinghua, QIN Zhongcheng, *et al.* Biological characteristics and fungicide toxicity determination of

- Fusarium oxysporum* [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2019, **41**(5): 144 – 151.
- [21] 刘琪, 何朝辉, 黄丹敏, 等. 李树流胶病原特性及发病规律研究[J]. 植物保护, 2003, **29**(1): 39 – 42.
LIU Qi, HE Zhaohui, HUANG Danmin, *et al.* Study on pathogen characteristics and incidence regularity of plum gummy disease [J]. *Plant Protection*, 2003, **29**(1): 39 – 42.
- [22] 李诚, 王禄, 蒋军喜, 等. 猕猴桃果实熟腐病菌生物学特性及其寄主抗病性鉴定研究[J]. 江西农业大学学报, 2014, **36**(5): 1061 – 1065, 1151.
LI Cheng, WANG Lu, JIANG Junxi, *et al.* Biological characteristics of the main pathogenic fungi causing fruit ripe rot of kiwifruit and disease resistance of kiwifruit cultivars [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2014, **36**(5): 1061 – 1065, 1151.
- [23] 何靖柳, 秦文, 刘晓燕, 等. 红阳猕猴桃中葡萄座腔菌的生物学特性及致病性研究[J]. 食品与机械, 2017, **33**(12): 115 – 119, 124.
HE Jingliu, QIN Wen, LIU Xiaoyan, *et al.* Biological characteristics and pathogenicity of *Botryosphaeria parva* isolated from ‘Hongyang’ kiwifruit [J]. *Food and Machinery*, 2017, **33**(12): 115 – 119, 124.
- [24] 殷辉, 陈亚蕾, 秦楠, 等. 藜麦灰霉病病原菌鉴定及环境因子对其菌丝生长和分生孢子萌发的影响[J]. 植物保护学报, 2022, **49**(3): 899 – 908.
YIN Hui, CHEN Yalei, QIN Nan, *et al.* Identification of the pathogen causing quinoa gray mold and effects of environmental factors on its mycelial growth and conidial germination [J]. *Journal of Plant Protection*, 2022, **49**(3): 899 – 908.
- [25] 高智谋, 李艳梅, 李喜玲, 等. 源自不同寄主的灰葡萄孢生物学特性的比较研究[J]. 菌物学报, 2009, **28**(3): 370 – 377.
GAO Zhimou, LI Yanmei, LI Xiling, *et al.* Comparison of the biological characteristics of *Botrytis cinerea* isolates from different hosts [J]. *Mycosystema*, 2009, **28**(3): 370 – 377.
- [26] 周鑫钰, 刘双, 李昌欣, 等. 蓝莓根腐病原菌的分离鉴定与室内药剂毒力测定[J]. 分子植物育种, 2020, **18**(14): 4687 – 4691.
ZHOU Xinyu, LIU Shuang, LI Changxin, *et al.* Isolation and identification of the pathogens causing blueberry root rot and toxicity measurement [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, **18**(14): 4687 – 4691.
- [27] 白亮, 马超, 赵宜君, 等. 40%肟菌酯·咪鲜胺水乳剂高效液相色谱分析[J]. 农药, 2023, **62**(4): 260 – 262.
BAI Liang, MA Chao, ZHAO Yijun, *et al.* HPLC analysis of prochloraz·trifloxystrobin 40% EW [J]. *Agrochemicals*, 2023, **62**(4): 260 – 262.
- [28] VINGGAARD A M, HASS U, DSLGAARD M, *et al.* Prochloraz: an imidazole fungicide with multiple mechanisms of action [J]. *International Journal of Andrology*, 2006, **29**(1): 186 – 192.
- [29] 周英, 欧阳慧, 蒋军喜, 等. 10种杀菌剂对葡萄座腔菌的室内毒力测定[J]. 中国南方果树, 2016, **45**(6): 124 – 125, 130.
ZHOU Ying, OUYANG Hui, JIANG Junxi, *et al.* Toxicity measurement of ten different fungicides to *Botryosphaeria dothidea* [J]. *South China Fruits*, 2016, **45**(6): 124 – 125, 130.
- [30] 雒富春, 袁庆华, 王瑜. 不同杀菌剂及复配对苜蓿锈病的防治研究[J]. 草地学报, 2016, **24**(1): 165 – 170.
LUO Fuchun, YUAN Qinghua, WANG Yu. Toxicity test of different fungicides and compound formulations to alfalfa rust [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2016, **24**(1): 165 – 170.
- [31] 谢瑾卉, 林英, 臧超群, 等. 花生网斑病化学防治药剂及复配增效配方的筛选[J]. 中国农学通报, 2021, **37**(23): 101 – 105.
XIE Jinhui, LIN Ying, ZANG Chaoqun, *et al.* Peanut net spot disease: selection of chemical control agents and compound synergistic formulas [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, **37**(23): 101 – 105.