

引用格式: 武崇高, 朱桐, 崔云龙, 等. 月季枯枝病病原物鉴定、生物学特性与防治药剂筛选[J]. 浙江农林大学学报, 2026, 43(2): 361–369. WU Chonggao, ZHU Tong, CUI Yunlong, et al. Identification, characterization and fungicide screening of the causal pathogen of branch blight in *Rosa chinensis*[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2026, 43(2): 361–369.

月季枯枝病病原物鉴定、生物学特性与防治药剂筛选

武崇高¹, 朱桐¹, 崔云龙¹, 刘雪峰^{1,2}, 刘晴³, 刁桂萍^{1,2}

(1. 东北林业大学 林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学 东北亚生物多样性研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150040; 3. 辽宁省森林经营研究所, 辽宁 丹东 118000)

摘要: 【目的】明确辽宁省宽甸县月季 *Rosa chinensis* 枯枝病的病原菌种类, 研究病原菌的生物学特性与防治药剂, 为此病害的有效防控提供参考依据。【方法】利用组织分离法分离纯化病原菌, 依据柯赫氏法则对该病害开展致病性试验, 通过形态学观察与多基因系统发育学分析鉴定病原菌; 采用菌丝生长速率法测定不同碳氮源培养基、pH 和温度条件对病原菌生长的影响以及 5 种杀菌剂对病原菌菌丝生长的抑制作用。【结果】在烧伤接种处理下, 分离获得的纯菌株 R1007 使月季枝条发病, 并从发病枝条中再次分离到该菌株。R1007 形态学特征与榆生丛赤壳 *Nectria ulmicola* 基本一致, Blast 结果与系统发育分析中 R1007 与榆生丛赤壳的模式菌株 CFCC52117 表现出极高的亲缘性; 单因素试验表明: 菌株 R1007 在碳源为麦芽糖、氮源为酵母浸粉、pH 为 7.17 和温度为 25 °C 时菌丝生长速率最快; 供试药剂对病原菌均有不同程度的抑制作用, 其中多菌灵对病原菌的菌丝生长抑制效果最好, 其抑制中浓度 (EC₅₀) 为 0.338 8 mg·L⁻¹。【结论】引起月季枯枝病的病原菌为榆生丛赤壳, 该病原菌最适碳氮源分别为麦芽糖和酵母浸粉, 最佳生长 pH 为 7.17, 温度为 25 °C, 可用多菌灵作为防治月季枯枝病的潜在药剂。图 5 表 2 参 28

关键词: 月季枯枝病; 新病害; 生物学特性; 药剂筛选

中图分类号: S432.1 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2026)02-0361-09

Identification, characterization and fungicide screening of the causal pathogen of branch blight in *Rosa chinensis*

WU Chonggao¹, ZHU Tong¹, CUI Yunlong¹, LIU Xuefeng^{1,2}, LIU Qing³, DIAO Guiping^{1,2}

(1. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China; 2. Northeast Asia Biodiversity Research Center, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China; 3. Liaoning Forest Management Research Institute, Dandong 118000, Liaoning, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to identify the causal pathogen of branch blight in *Rosa chinensis*, characterize its biological properties, and evaluate effective fungicides to establish a scientific foundation for disease for disease control. [Method] The pathogen was isolated and purified using tissue isolation. The isolate was characterized morphologically and phylogenetically by multi-locus sequence analysis. Mycelial growth kinetics were assessed under varying carbon/nitrogen sources, pH values, and temperatures using the growth rate method. 5 fungicides were evaluated for inhibitory effects by poisoned medium technique. [Result] The purified strain R1007 induced disease symptoms upon wound inoculation, and the same strain was re-isolated from infected tissues. Morphological characteristics matched *Nectria ulmicola*, and Blast analysis with phylogenetic analysis confirmed high genetic similarity to the type strain CFCC52117 of *N. ulmicola*. Optimal

收稿日期: 2025-03-19; 修回日期: 2025-06-10

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (2572022DS07)

作者简介: 武崇高 (ORCID: 0009-0003-7140-8804), 从事植物病理学研究。E-mail: 3431686363@qq.com。通信作者: 刁桂萍 (ORCID: 0009-0004-5994-2569), 副教授, 博士, 从事植物病原学及植物抗病性机制研究。E-mail: dgp2003@126.com

growth conditions were maltose (carbon source), yeast extract (nitrogen source), pH 7.17, and 25 °C. Among tested fungicides, carbendazim showed the strongest inhibition ($EC_{50}=0.338\ 8\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). [Conclusion] The causal agent of *R. chinensis* branch blight was identified as *N. ulmicola*. The optimal growth conditions were maltose and yeast extract as carbon and nitrogen sources, pH 7.17, and 25 °C. Carbendazim shows promise as an effective fungicide for disease control. [Ch, 5 fig. 2 tab. 28 ref.]

Key words: *Rosa chinensis* branch blight; new disease; biological characterization; fungicide screening

月季 *Rosa chinensis* 在世界各地广泛种植, 花色艳丽, 香气浓郁, 适应性强, 且品种繁多, 目前已经成为城市绿化的生力军, 同时也是重要的切花材料; 其花、根和叶均可入药, 且含有多种营养物质, 具有较高的观赏价值、食用价值和药用价值^[1-3]。月季栽培产业是中国当前经济大环境中的朝阳产业之一, 取得了较大的经济和社会效益, 但随着其栽培和应用面积的不断扩大, 月季病害已经成为影响月季产业发展的重要因素。

丛赤壳属 *Nectria* 是从赤壳科 Nectriaceae 的模式属, 由 Rossman 在 1989 年建立, 无性型为瘤座孢属 *Tubercularia*。该属的真菌是广泛分布于北半球温带地区的典型木本植物病害病原菌, 还能侵染一些草本植物, 为害时在寄主植物枝条上形成近球形到球形、红色到暗红色的柔软肉质子实体^[4-6]。国内已报道的该属病害不多, 文献报道的有血红丛赤壳 *N. haematococca* 引起的大豆 *Glycine max* 茎腐病和黄槲 *Phellodendron amurense* 枝干腐烂病; 假毛丛赤壳 *N. pseudotrichia* 引起的草莓 *Fragaria ananassa* 茎腐病、山茶 *Camellia japonica* 溃疡病和香椿 *Toona sinensis* 溃疡病; 朱红丛赤壳 *N. cinnabarina* 引起的核桃 *Juglans regia* 枯枝病以及松丛赤壳菌 *N. cucurbitula* 引起的油松 *Pinus tabuliformis* 枯枝病^[7-13]。此外, 2015—2020 年, 国内学者报道了丛赤壳属的 3 个新物种, 即 *N. zangii*、榆生丛赤壳 *N. ulmicola* 和 *N. berberidis*^[5-6, 14]。结合现有资料, 丛赤壳属近 40 种真菌, 国内分布有 17 种^[5-6, 14-15]。

目前, 常见的月季真菌性病害有 *Calonectria blephiliae* 引起的月季丽赤壳褐斑病、灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* 引起的月季灰霉病、蔷薇拟日规壳 *Gnomoniopsis rosae* 引起的月季黑斑病以及毡毛单囊壳菌 *Podosphaera pannosa* 引起月季白粉病等, 病原菌侵染部位集中在叶片上, 部分病原菌同时会侵染花和嫩芽嫩梢^[3, 16-18]。对月季枝干病害研究较少, 目前已报道的病原菌有蔷薇盾壳霉 *Coniothyrium fuckelii* 等^[19]。在月季的栽培过程中, 枯枝病对月季的伤害是致命的, 病原菌多从枝梢或侧枝进行侵染致病后再从顶端逐渐向下蔓延到主干, 严重时导致全株死亡。

2023 年 9 月, 在辽宁省宽甸县的绿化带上发现一种月季枯枝病, 该病造成月季枝条干枯死亡, 表皮皱缩, 同时枝条上附着有橙色与黑色的扁球形子实体, 根据其形态, 初步认为由丛赤壳属真菌引起。鉴于该病害发病严重, 且目前对月季枯枝病相关研究较少, 本研究对该病害的病原物的种类进行了鉴定, 同时对病原物的生物学特性进行了探究, 并开展了药剂筛选试验, 以期为该病害的防治与月季的合理管护提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 病害标本采集与病原物分离、接种

从辽宁省宽甸县绿化带上采集病枝, 装入信封后带回实验室。采用组织分离法分离病原菌: 将带有分生孢子器的枝条在质量分数为 2% 次氯酸钠和体积分数为 75% 的酒精中分别浸泡 1 min, 然后用无菌水冲洗 5 min、再用吸水纸吸干表面残余水分, 最后将分生孢子器切开后用无菌针挑至马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA) 上, 切开面朝下, 置于培养箱中 28 °C 避光培养, 待形成菌落后, 在体视显微镜下挑取尖端菌丝纯化多次, 直至获得纯菌落^[20]。

月季 ‘香紫绒’ ‘Mirandy’ 扦插苗购于市场, 在实验室内栽培, 待萌发出新枝并开花后, 对其枝条消毒处理, 采用烧伤 (使用酒精灯外焰灼烧 2~3 s, 听到表皮破裂的响声为止)、刺伤 (使用昆虫针刺透枝干表皮, 刺孔 7~8 个) 和无伤 (健康) 3 种接种方式, 以培养 7 d 的病原菌 PDA 平板的菌落边缘菌饼为接种体进行致病性测验, 接种完成后将沾有无菌水的脱脂棉用封口膜缠绕在接种部位作保湿处理, 48

h 后除去。以空白 PDA 为对照，每处理 10 组重复^[20]。

1.2 病原物鉴定

1.2.1 形态学鉴定 在 OLYMPUS-SZX2-FOF 体视显微镜下随机选择 20 个分生孢子器观察特征并测量大小；将分生孢子器制成纵切片后在 OLYMPUS-BX51 显微镜下对分生孢子器内部形态、分生孢子梗和分生孢子进行观察和拍照，并随机选择 50 个孢子进行测量。对获得的纯菌落形态及产孢情况进行持续观察，记录菌落形态和颜色等特征以及产器和产色素情况。

1.2.2 分子生物学鉴定 以培养 7 d 的病原菌纯菌丝为材料，使用博迈德植物基因组提取试剂盒抽提病原菌 DNA 基因组，并使用引物对 *ITS1*(5'-CCGTAGGTGAACCTGCGG-3')/*ITS4*(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')、*LR0R*(5'-GTACCCGCTGAACTTAAGC-3')/*LR7*(5'-TACTACCACCAAGATCT-3')、*RPB2-b6F*(5'-TGGGGYATGGTNTGYCCYGC-3')/*RPB2-b7R*(5'-GAYTGRTTTRTGRTRCGGGA AVGG-3') 和 *EF1-728*(5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3')/*EF1-986*(5'-TACTTGAAGGAACCTTACC-3') 分别扩增病原菌的内转录间隔区基因 (*ITS*)、核糖体大亚基 (*LSU*)、RNA 聚合酶 II 第 2 亚基基因 (*RPB2*) 和转录延伸因子 (*Tef-1α*) 等 4 个基因片段^[20-22]。扩增反应体系和条件根据试剂说明书设置，所得产物经质量分数为 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测后送至上海生工公司进行测序。获得序列信息后进行 Blast 相似性检索，根据每个基因的 Blast 结果下载相关序列后备用 (表 1)。系统发育分析在 Phylosuite v1.2.3 中进行，在 MAFFT v7 中独立排序后使用 Gblocks 自动剪切并串联，并进行适当的手动调整；利用 ModelFinder v2.2.0 根据贝叶斯信息准则 (BIC) 选择贝叶斯推理系统发育和最大似然系统发育的最佳拟合模型；使用 MrBayes 3.2.6 进行贝叶斯推理系统发育分析，其中初始 25% 的采样数据被丢弃作为预模拟运行，每 1 000 代采样 4 个马尔可夫链 (MCMC)，直到分裂偏差频率小于 0.01；使用 IQ-TREE 进行最大似然系统发育分析，根据获得的最佳模型进行 5 000 次超快 bootstrap；获得的系统发育树文件使用 iTOL v7 进行可视化，并通过 Adobe

表 1 系统发育树参考序列

Table 1 Sequences in the phylogenetic tree

| 病原菌 | 菌株 | 登录号 | | | |
|-------------------------------|---------------|------------|------------|-------------|---------------|
| | | <i>ITS</i> | <i>LSU</i> | <i>RPB2</i> | <i>Tef-1α</i> |
| <i>N. antarctica</i> | CBS115033 | HM484556 | HM484560 | — | HM484516 |
| <i>N. asiatica</i> | MAFF 241439 | HM484701 | HM484563 | JQ014140 | — |
| <i>N. berberidicola</i> | 10779 | KY498619 | KY498621 | — | — |
| <i>N. berberidicola</i> | CBS 128669 | JF832662 | JF832712 | — | JF832538 |
| <i>N. berberidis</i> | XJAU 3355-1-2 | OM701869 | OM701965 | — | OM891361 |
| <i>N. cinnabarina</i> | CBS 125165 | HM484548 | HM484562 | — | HM484527 |
| <i>N. dematiosa</i> | CBS 126570 | HM484557 | HM484561 | JQ014144 | HM484534 |
| <i>N. dematiosa</i> | CBS 125125 | HM484676 | HM484717 | — | HM484645 |
| <i>N. eustomatica</i> | CBS 121896 | HM534896 | HM534896 | HM534886 | HM534875 |
| <i>N. magnispora</i> | CBS 129361 | JF832664 | JF832685 | — | JF832540 |
| <i>N. magnispora</i> | CBS 129362 | MH865276 | MH876720 | — | — |
| <i>N. mariae</i> | CBS 125294 | JF832629 | JF832684 | — | JF832542 |
| <i>N. nigrescens</i> | CBS 125148 | HM484707 | HM484720 | JQ014123 | HM484672 |
| <i>N. polythalamia</i> | CBS 128672 | JF832638 | JF832695 | — | JF832523 |
| <i>N. pseudocinnabarina</i> | CBS 129366 | JF832642 | JF832697 | — | JF832533 |
| <i>N. pseudotrichia</i> | CFCC 52122 | MG231953 | MG231974 | MG231995 | MG232016 |
| <i>N. tibetensis</i> | 10849 | KY797280 | KY797283 | — | KY797291 |
| <i>N. triseptata</i> | HAMS252485 | KM026503 | KM026504 | — | KM026506 |
| <i>N. ulmicola</i> | CFCC 52117 | MG231959 | MG231980 | MG232001 | MG232022 |
| <i>N. ulmicola</i> | CFCC 52118 | MG231960 | MG231981 | MG232002 | MG232023 |
| <i>Allantonectria miltina</i> | A.R.4391 | HM484547 | HM484572 | — | HM484524 |

说明：朱红丛赤壳 *N. cinnabarina*；假毛丛赤壳 *N. pseudotrichia*；榆生丛赤壳 *N. ulmicola*。

Illustrator 2024 进行处理^[23-25]。此外, 鉴于部分参考菌株缺失 *RPB2* 和 (或) *Tef-1a* 序列, 因此根据以上方法构建一棵基于 *ITS-LSU* 片段的二基因树, 进一步佐证结果的可靠性。最后结合系统发育与形态学结果将序列上传至美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 数据库。

1.3 病原菌生物学特性研究

以查氏培养基为基础培养基, 以相同摩尔碳质量的蔗糖、葡萄糖、乳糖、果糖、麦芽糖和可溶性淀粉替换碳源, 相同摩尔氮质量的酵母浸粉、蛋白胨、磷酸氢二铵、硫酸铵、硝酸钠和氯化铵替换氮源, 制作不同碳氮源培养基, 且分别以无碳无氮源为对照; 把 PDA 培养基的 pH 分别调整至 5.11、6.31、7.17、8.33 和 9.36 制作不同 pH 培养基。在以上各种培养基中接种培养 7 d 的 5 mm 病原菌菌饼后, 在 25 °C 全黑暗培养, 每组 3 次重复, 每隔 2 d 采用十字交叉法测量菌落直径。并在培养箱中设置 12、20、25、30 和 35 °C 的培养温度, 使用 PDA 平板, 其余同上, 通过以上处理筛选病原菌的最适碳氮源、pH 和温度^[20, 26]。

1.4 室内药剂筛选

以质量分数 50% 多菌灵悬浮剂 (安徽广信农化)、75% 百菌清可湿性粉剂 (山东百农思达)、40% 五氯硝基苯可湿性粉剂 (山东鑫星)、80% 代森锰锌可湿性粉剂 (四川国光) 和 70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂 (日本曹达) 等 5 种杀菌剂作为供试药剂, 使用二甲基亚砜 (DMSO) 溶解后加入熔融的 PDA 中, 制作带药平板, 以添加 DMSO 为对照。首先进行初筛, 将其有效成分质量浓度分别调整为 0.01、0.10、1.00、10.00 和 100.00 mg·L⁻¹, 接种病原菌菌饼后在 25 °C 全黑暗下培养, 每组 3 次重复。待对照满板后用十字交叉法测定菌落直径, 计算菌丝生长抑制率, 明确 5 种杀菌剂对病原菌菌丝的生长抑制作用, 再根据初筛结果设置质量浓度同初筛方法进行复筛。数据用 Excel 2019 进行处理, 计算毒力回归方程与抑制中浓度 (EC₅₀)^[26]。菌丝生长抑制率=(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-5 mm)×100%。

1.5 数据分析

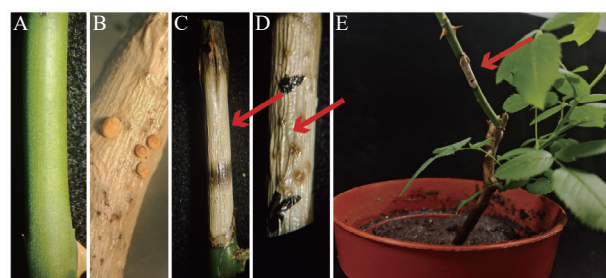
通过 SPSS 24.0 单因素方差分析进行数据统计及差异显著性分析, 显著性水平为 0.05; 使用 Origin 2022 绘图。

2 结果与分析

2.1 病原物分离与致病性验证

通过持续观察病原菌分生孢子器在 PDA 平板上的生长情况, 不断纯化培养后最终获得 1 株纯菌落菌株, 且该菌株培养至后期产生的分生孢子器与受害枝条上的分生孢子器相似, 将其转入斜面培养基保存, 编号为 R1007。

依据科赫氏法则开展致病性测验 (图 1), 无伤 (健康) 接种与刺伤接种处理未发病, 而烧伤处理组接种 27 d 后, 接种位置表面出现颗粒状隆起且迅速扩展, 后续逐渐转变为橙色, 且相比于对照组, 接菌组的烧伤部位表皮皱缩情况明显加剧。从发病部位再次分离出的病原菌形态学特征与病原菌 R1007 一致, 以形成的分生孢子器为材料提取 DNA 进行分子验证, 其 *ITS* 序列与 R1007 的 *ITS* 序列相似性达 100%, 结合形态学与分子证据可知 R1007 为月季枯枝病的病原菌。



A. 健康月季枝条; B. 自然发病枝; C. 烧伤对照; D. 烧伤接种; E. 发病植株。

图 1 致病性验证

Figure 1 Pathogenicity assay results

2.2 病原物鉴定

2.2.1 形态学鉴定 病原菌分生孢子器半埋生于寄主树枝表皮下, 近圆形至不规则形, 橙红色, 老后转变为黑色, 直径为 240~630 μm (n=30), 表面光滑, 单生, 内部脑状 (图 2A~C)。分生孢子梗无色透明, 顶端具有小梗, 不分叉 (图 2D)。分生孢子大小为 (4.75~7.25) μm×(1.25~2.25) μm, 平均为 5.5 μm×2.0 μm (n=50), 单孢, 椭圆形, 部分微弯曲, 无隔 (图 2E)。未发现有性型。菌落在 PDA 培养基上呈辐射状生

长，绒毛状，最初为纯白色，后期稍显污白色，质地均匀，边缘波浪状或平整，25℃全黑暗培养条件下最快 6 d 可以长满 PDA 培养基，之后经光照刺激，14 d 即可产生橙色的分生孢子器，菌落背面逐渐产生橙红色色素(图 2F~J)。

2.2.2 分子生物学鉴定 测序分别获得 582 bp (*ITS*/PQ573830)、793 bp (*LSU*/PQ573831)、758 bp (*RPB2*/PQ589804) 和 437 bp (*Tef-1α*/PQ615445) 的基因序列，Blast 检索结果显示：与上述 4 条序列相似性最高的物种均为 *N. ulmicola*。其中，*ITS* 序列与其他序列相似性最高为 100.00% (MG231959/*N. ulmicola*)，得分最高为 1 040 分 (OK090962/*N. ulmicola*)；*LSU* 序列与其他序列相似最高为 99.75% (MG231980/*N. ulmicola*)，得分最高为 1 445 分 (MG231980/*N. ulmicola*)；*RPB2* 序列与其他序列相似最高为 99.86% (MG232001/*N. ulmicola*)，得分最高为 1 362 分 (MG232001/*N. ulmicola*)；*Tef-1α* 序列与其他序列相似最高为 99.77% (MG232022/*N. ulmicola*)，得分最高为 795 分 (MG232022/*N. ulmicola*)。2 个数据集各自构建的贝叶斯树与最大似然树拓扑结构一致，因此仅分析贝叶斯树。菌株 R1007 与榆生丛赤壳的模式菌株 CFCC52117 以及 CFCC52118 聚为一支，且得到了充分的支持(图 3)(BS/PP=100/1.00)；二基因树的拓扑结构与四基因树在拓扑结构和支持率上具有一定差异(图 4)，但 R1007 仍与 CFCC52117 和 CFCC52118 形成一个稳定分支 (BS/PP=91/0.92)。综上，结合形态学特征、Blast 检索结果以及系统发育推断，确定本研究中引起月季枯枝病的病原菌为榆生丛赤壳。

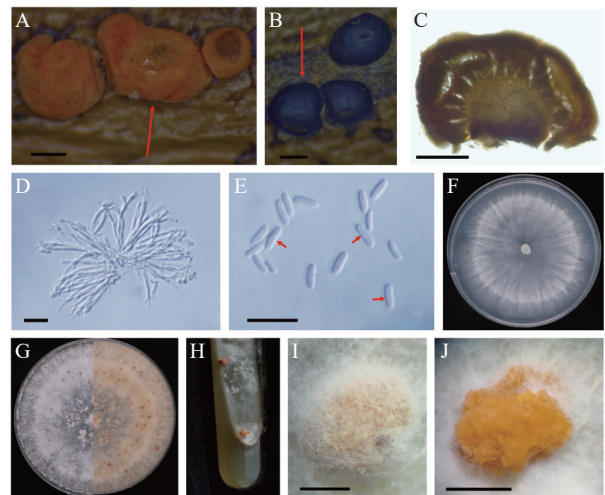
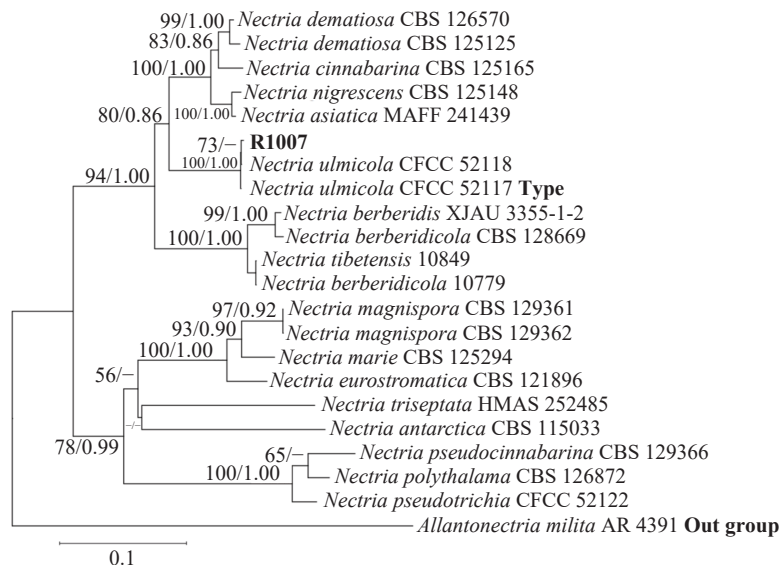


图 2 病原菌的形态学特征
Figure 2 Morphological characteristics of the pathogen

图 3 病原菌的形态学特征
Figure 2 Morphological characteristics of the pathogen



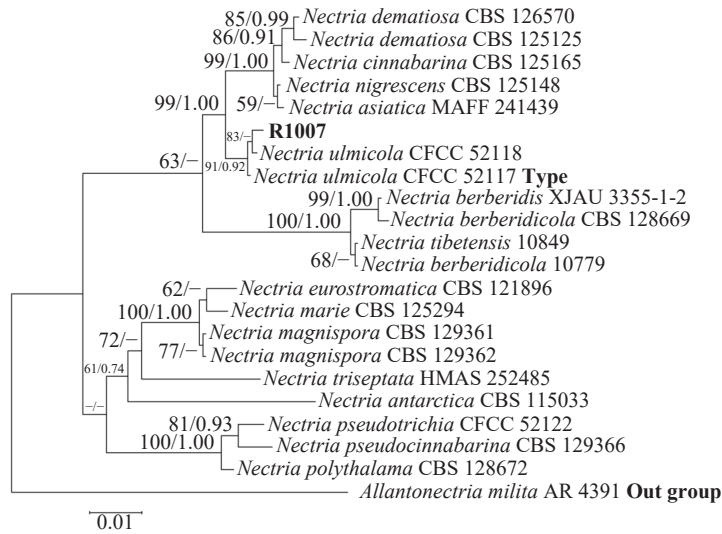
图分支上的数值显示自检值 $\geq 50\%$ (左)和后验概率 ≥ 0.70 (右)，反之用“—”表示。研究标本加粗显示。

图 3 基于 *ITS-LSU-RPB2-Tef-1α* 的四基因系统发育树

Figure 3 A four-gene phylogenetic tree based on *ITS-LSU-RPB2-Tef-1α*

2.3 病原菌生物学特性研究

2.3.1 病原菌的最适碳源 由图 5A 可见：病原菌对碳源利用广泛，单糖、二糖、多糖都能利用。碳源为麦芽糖时病原菌长势最好，其菌丝生长速率为 $9.7 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ ，生长第 8 天即可以布满整个平板。对可溶性淀粉的利用能力次之，对葡萄糖、乳糖和果糖的利用效果相近，菌丝生长速率分别为 8.4 、 8.3 和 $8.4 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ ，对蔗糖的利用能力最差，生长速率为 $6.4 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ 。综上，麦芽糖更适合病原菌的生长。

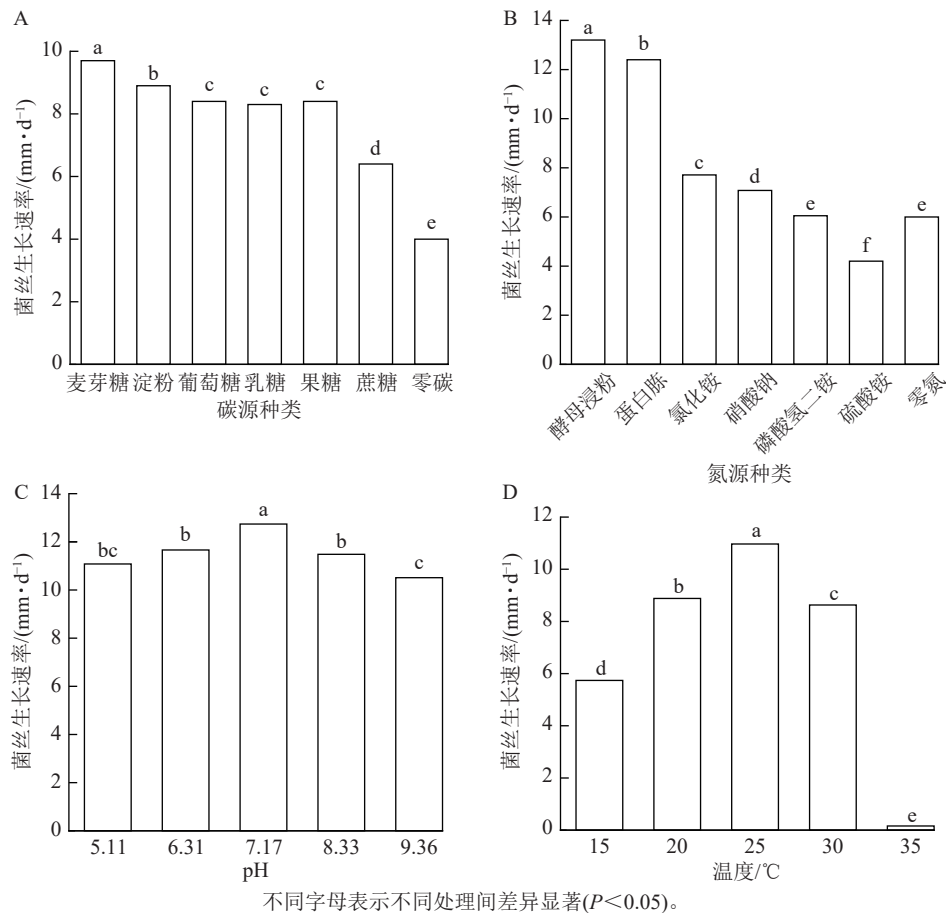


树分支上的数值显示自检值 $\geq 50\%$ (左)和后验概率 ≥ 0.70 (右), 反之用“-”表示。研究标本加粗显示。

图4 基于ITS-LSU的二基因系统发育树

Figure 4 A two-gene phylogenetic tree based on ITS-LSU

2.3.2 病原菌的最适氮源 由图5B可见: 不同氮源对病原菌菌丝的生长影响区别明显。在以酵母浸粉为氮源时菌丝生长速率可以达 $13.2 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$, 6 d即可长满整个平板。蛋白胨的促进效果稍弱, 菌丝的生长速率为 $12.4 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ 。对其他几种无机氮源的利用效果较差, 菌丝生长速率为 $4.2 \sim 7.7 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$, 氮源为硫酸铵时甚至次于无氮处理。综上, 酵母浸粉对病原菌的促进效果最佳, 且病原菌对有机氮源表现出明显的偏好性。



不同字母表示不同处理间差异显著($P < 0.05$)。

图5 不同碳源(A)、氮源(B)、pH(C)和温度(D)条件下菌丝生长速率

Figure 5 Mycelial growth rate under different conditions of carbon sources (A), nitrogen sources (B), pH (C), and temperature (D)

2.3.3 病原菌的最适 pH 由图 5C 可见：在 pH 为 5.24~9.36 的范围内，病原菌菌丝均能正常生长，且长势良好。pH=7.17 时，菌丝的生长速率最快，为 $12.7 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ ，不同处理下菌丝生长速率均超过 $10 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ ，pH 波动对病原菌的生长影响不大，可以看出病原菌对酸碱度适应能力较强，但偏好微碱性环境。

2.3.4 病原菌的最适温度 由图 5D 可见：在 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 时，菌丝生长速率最快，生长速率达 $10.97 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ ，显著高于其他温度处理。虽然病原菌在 $15\sim 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内均能生长，但在 $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下生长速率极低，生长速率为 $0.16 \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$ ，几乎没有生长。综上，病原菌最适生长温度为 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ， $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 接近其致死温度。

2.4 病原菌防治药剂筛选

供试的 5 种不同药剂对病原菌菌丝的生长均有抑制效果 (表 2)。其中抑菌效果最好的是 50% 多菌灵，其 EC_{50} 为 $0.338 8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，其次是 75% 百菌清和 40% 五氯硝基苯， EC_{50} 分别为 8.820 0、9.200 3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，70% 甲基硫菌灵抑菌效果最差， EC_{50} 高达 $373.594 0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 2 5 种杀菌剂对月季枯枝病原菌的抑制作用

Table 2 Inhibitory effect of 5 fungicides for R1007

| 杀菌剂 | 毒力回归方程 | 相关系数(R^2) | 抑制中浓度(EC_{50})/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) |
|----------|--------------------------|---------------|---|
| 75%百菌清 | $y = 1.238 2x + 3.828 8$ | 0.973 1 | 8.820 0 |
| 50%多菌灵 | $y = 4.442 2x + 7.088 2$ | 0.988 5 | 0.338 8 |
| 70%甲基硫菌灵 | $y = 0.740 4x + 3.095 4$ | 0.993 1 | 373.594 0 |
| 80%代森锰锌 | $y = 1.730 6x + 2.634 7$ | 0.932 6 | 23.270 2 |
| 40%五氯硝基苯 | $y = 2.305 5x + 2.778 0$ | 0.991 0 | 9.200 3 |

说明：杀菌剂前百分比为有效成分的质量分数。 y 为抑制率， x 为杀菌剂质量浓度的对数值。

3 讨论

月季具有重要的应用价值，本研究结合形态学特征、多基因系统发育以及致病性测定，将发生于辽宁省宽甸县的月季枯枝病原菌鉴定为榆生丛赤壳；单因素试验表明：榆生丛赤壳的最佳碳氮源分别为麦芽糖和酵母浸粉，病原菌喜好 pH 为 7.17 的弱碱性环境，最适生长温度为 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ；多菌灵对榆生丛赤壳菌丝生长抑制效果最强，且 EC_{50} 较低，可用于该病害的防治。榆生丛赤壳是中国学者分离自榆树 *Ulmus pumila* 枝干上的一个新物种^[5]。由于寄主和个体间的差异，形态学特征与原文描述稍有不同，病原菌孢子平均大小略小，但其他分类学特征与分子生物学结果支持 R1007 为榆生丛赤壳这一结论，特别是 R1007 与榆生丛赤壳模式菌株 CFCC52117 的 ITS 序列相似性为 100%^[5]。在致病性测验中只有烧伤处理组发病结果与病原菌的致病性和寄主植物的抗病性有直接关系。丛赤壳属真菌为弱致病菌，难以直接穿透表皮或通过气孔进行侵染，因此无伤接种条件下接种失败。在刺伤处理下植株并未发病，原因除病原菌致病性较弱外，还可能是由于枝条遭到创伤之后产生的应激响应，触发系统获得性抗性进一步增强了植株抗病能力，且除去保湿棉后将接种材料直接暴露于室内，给植株补充水分时直接浇至盆中，接种部位一直处于干燥状态使得病原菌无法正常定殖甚至快速死亡，从而导致接种失败^[27]。而在烧伤处理下植株发病且病原菌很快产生分生孢子器，这可能是烧伤引发植物细胞的广泛死亡，导致大量的营养物质释放供病原菌生长与繁殖，且因为细胞严重受损，植物的天然免疫反应也不再有效。另外，推测榆生丛赤壳腐生性极强，侵入受伤组织后定殖成功并逐渐适应，产生大量的毒素、分解酶等物质，进一步扩展至健康组织，最终导致枝条干枯，这是植物病原真菌经长期进化而发展出的侵染宿主策略之一，从而克服和规避宿主的防御反应，以此促进自身的繁殖和侵染^[28]。这也说明了在园林作业中合理的管护至关重要，通过科学的管理措施最大程度地减少物理性伤害的发生，从而提高植株的健康水平和抗病能力。在油松枯枝病的研究中接种材料在保湿室内培养，香椿溃疡病接种时在人工气候箱内培养，病原菌可以保持较高的侵染能力，同时后者直接移除香椿枝干表皮，造成植株抗性极大下降^[11, 13]。

病原菌的生物学特性与病害的发生与流行密切相关，明确病原菌的生物学特性在探索病原菌致病机制和筛选生防菌等方面具有关键意义^[20]。多数丛赤壳属病害研究仅鉴定了病原物，对该属病原菌生物学

特性的研究尚属空白,防治研究也少^[8-12]。已知 *N. asiatica*、*N. cinnabarina* 和 *N. nigrescens* 在 PDA 上的最佳生长温度为 25 ℃,多菌灵是对油松枯枝病病原菌 *N. cucurbitula* 抑制效果最好的杀菌剂之一,上述结果与本研究类似^[4, 13]。

4 结论

引起辽宁省宽甸县的月季枯枝病病原菌为榆生丛赤壳;该病原菌的最佳碳氮源分别为麦芽糖和酵母浸粉,喜好弱碱性环境,最适生长温度为 25 ℃,推荐将多菌灵应用于该病害的防治。本研究是国内首次报道由榆生丛赤壳引起的月季枯枝病,同时也是第一次对丛赤壳属真菌引起的病害进行系统研究,对掌握该属病害发生和传播的季节、区域以及病原菌与环境之间的关系等具有一定的参考意义。

5 参考文献

- [1] 王君妍,王峰,龚瑶,等.月季 P450 基因家族及其参与月季花香形成基因的鉴定[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2025,51(1):54-66. WANG Junyan, WANG Feng, GONG Yao, et al. Identification of the P450 gene family and genes involved in the formation of floral fragrance in *Rosa chinensis*[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2025, 51(1): 54-66. DOI: 10.3785/j.issn.1008-9209.2024.10.091.
- [2] 刘政,胡孙田,沈晓飞,等.外源褪黑素处理对月季幼苗盐胁迫的缓解效应[J].浙江农林大学学报,2020,37(5):957-962. LIU Zheng, HU Suntian, SHEN Xiaofei, et al. Alleviation of exogenous melatonin on rose seedlings under salt stress[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2020, 37(5): 957-962. DOI: 10.11833/j.issn.2095-0756.20190604.
- [3] 贾静怡,孙倩,张玮,等.北京市月季丽赤壳褐斑病病原菌鉴定[J].植物病理学报,2021,51(3):446-450. JIA Jingyi, SUN Qian, ZHANG Wei, et al. Identification of pathogen causing *Calonectria* leaf spot on *Rosa chinensis* in Beijing[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2021, 51(3): 446-450. DOI: 10.13926/j.cnki.apps.000525.
- [4] HIROOKA Y, ROSSMAN A Y, CHAVERRI P. A morphological and phylogenetic revision of the *Nectria cinnabarina* species complex[J]. *Studies in Mycology*, 2011, 68(22): 35-56. DOI: 10.3114/sim.2011.68.02.
- [5] YANG Qin, DU Zhuo, LIANG Yingmei, et al. Molecular phylogeny of *Nectria* species associated with dieback and canker diseases in China, with a new species described[J]. *Phytotaxa*, 2018, 356(3): 199. DOI: 10.11646/phytotaxa.356.3.2.
- [6] ZENG Zhaoqing, ZHUANG Wenying. A new species of *Nectria* on *Populus* from China[J]. *Mycotaxon*, 2012, 120(1): 67-73. DOI: 10.5248/120.67.
- [7] GAI Y, PAN R, XU D, et al. First report of *Nectria haematococca* causing stem rot of soybean in China[J]. *Plant Disease*, 2012, 96(3): 457. DOI: 10.1094/PDIS-07-11-0626.
- [8] LI Shujiang, CUI Yuting, FANG Xinmei, et al. First report of *Nectria haematococca* as the causal agent of canker rot in *Phellodendron amurense* in China[J]. *Plant Disease*, 2018, 102(5): 103. DOI: 10.1094/pdis-10-17-1542-pdn.
- [9] ZHANG Liqing, DUAN Ke, GAO Qinghua, et al. First report of *Nectria pseudotrichia* causing crown rot of strawberry in China[J]. *Plant Disease*, 2018, 102(8): 1655-1656. DOI: 10.1094/PDIS-08-17-1335-PDN.
- [10] GENG Xiansheng, LIU Ying, LI Jiyuan, et al. Identification and characterization of *Nectria pseudotrichia* associated with *Camellia* canker disease in China[J]. *Forests*, 2022, 13(1): 29. DOI: 10.3390/f13010029.
- [11] 耿显胜,舒金平,刘莹,等.浙江省香椿溃疡病病原菌的分离和鉴定[J].林业科学,2024,60(5):151-157. GENG Xiansheng, SHU Jinping, LIU Ying, et al. Isolation and identification of the pathogen causing canker disease of *Toona sinensis* in Zhejiang Province[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2024, 60(5): 151-157. DOI: 10.11707/j.1001-7488.LYKX20220459.
- [12] 赵玉美,赵宁,冯小飞,等.云南核桃感病枝干真菌多样性初步研究[J].中国森林病虫,2017,36(4):11-16. ZHAO Yumei, ZHAO Ning, FENG Xiaofei, et al. Preliminary study on the fungi diversity from the diseased walnut branches in Yunnan province[J]. *Forest Pest and Disease*, 2017, 36(4): 11-16. DOI: 10.3969/j.issn.1671-0886.2017.04.004.
- [13] 王允.沈阳地区油松枝枯病病原鉴定及化学防治药剂筛选[D].沈阳:沈阳农业大学,2012. WANG Yun. *Identification on the Pathogen of Pinus tobulaeformis Die-back and the Screening Chemical Germicide for Protection*[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2012.
- [14] MA Rong, LI Shengnan, ZHAO Ying, et al. New species of *Nectria* and *Thyronectria* from Xinjiang, China[J]. *Phytotaxa*, 2020, 433(4): 253-264. DOI: 10.11646/phytotaxa.433.4.1.

- [15] YANG Qin, CHEN Wenyan, JIANG Ning, *et al.* *Nectria*-related fungi causing dieback and canker diseases in China, with *Neothyronectriacitri* sp. nov. described[J]. *MycoKeys*, 2019, **56**: 49–66. DOI: [10.3897/mycokeys.56.36079](https://doi.org/10.3897/mycokeys.56.36079).
- [16] 李焱, 蔡世熊, 张肇鹏, 等. 设施栽培条件下月季灰霉病预测模型的建立及应用[J]. *中国农业大学学报*, 2024, **29**(4): 184–194. LI Yao, CAI Shixiong, ZHANG Zhaopeng, *et al.* Establishment and application of a prediction model for gray mold disease in protected cultivation of cut rose[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, **29**(4): 184–194. DOI: [10.11841/j.issn.1007-4333.2024.04.16](https://doi.org/10.11841/j.issn.1007-4333.2024.04.16).
- [17] 李艳杰, 普梅英, 吴红芝, 等. 云南省月季黑斑病病原菌分离鉴定[J]. *植物病理学报*, 2024, **54**(4): 862–865. LI Yanjie, PU Meiyong, WU Hongzhi, *et al.* Identification of pathogen from black spot on *Rosa chinensis* in Yunnan[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2024, **54**(4): 862–865. DOI: [10.13926/j.cnki.apps.000890](https://doi.org/10.13926/j.cnki.apps.000890).
- [18] FONSECA W L, CARDOSO J E, LIMA C S, *et al.* First report of *Podosphaera pannosa* causing powdery mildew on *Rosa chinensis* in Brazil[J]. *Journal of Plant Pathology*, 2020, **102**(3): 933. DOI: [10.1007/s42161-020-00513-6](https://doi.org/10.1007/s42161-020-00513-6).
- [19] 王俊娜. 三门峡月季枯枝病病原菌生物学特性探析[J]. *陕西农业科学*, 2023, **69**(11): 59–62. WANG Junna. Biological characteristics of rose blight pathogen in Sanmenxia[J]. *Shaanxi Journal of Agricultural Sciences*, 2023, **69**(11): 59–62. DOI: [10.3969/j.issn.0488-5368.2023.11.012](https://doi.org/10.3969/j.issn.0488-5368.2023.11.012).
- [20] 武崇高, 朱桐, 贾宁, 等. 红端木烂皮病病原鉴定及生物学特性[J]. *东北林业大学学报*, 2024, **52**(10): 124–130, 141. WU Chonggao, ZHU Tong, JIA Ning, *et al.* Pathogen identification and biological characteristics of *Cornus alba* bark rot disease[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2024, **52**(10): 124–130, 141. DOI: [10.3969/j.issn.1000-5382.2024.10.018](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-5382.2024.10.018).
- [21] 吴皆宁, 桂思琦, 曹佳佳, 等. 西红花茎腐病致病真菌的分离与鉴定[J]. *浙江农林大学学报*, 2022, **39**(5): 1080–1086. WU Jiening, GUI Siqi, CAO Jijia, *et al.* Isolation and identification of pathogenic fungi of stem rot in *Crocus sativus*[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2022, **39**(5): 1080–1086. DOI: [10.11833/j.issn.2095-0756.20210768](https://doi.org/10.11833/j.issn.2095-0756.20210768).
- [22] O'DONNELL K, SARVER B A J, BRANDT M, *et al.* Phylogenetic diversity and microsphere array-based genotyping of human pathogenic *Fusaria*, including isolates from the multistate contact lens-associated U. S. keratitis outbreaks of 2005 and 2006[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, **45**(7): 2235–2248. DOI: [10.1128/JCM.00533-07](https://doi.org/10.1128/JCM.00533-07).
- [23] ZHANG Dong, GAO Fangluan, JAKOVLIC I, *et al.* PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2020, **20**(1): 348–355. DOI: [10.1111/1755-0998.13096](https://doi.org/10.1111/1755-0998.13096).
- [24] NGUYEN L T, SCHMIDT H A, von HAESELER A, *et al.* IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2015, **32**(1): 268–274. DOI: [10.1093/molbev/msu300](https://doi.org/10.1093/molbev/msu300).
- [25] RONQUIST F, TESLENKO M, van der MARK P, *et al.* MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space[J]. *Systematic Biology*, 2012, **61**(3): 539–542. DOI: [10.1093/sysbio/sys029](https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029).
- [26] 周洁璐, 吴天昊, 巨云为, 等. 薄壳山核桃叶斑病病原菌生物学特性及室内药剂毒力测定[J]. *浙江农林大学学报*, 2023, **40**(5): 1018–1025. ZHOU Jielu, WU Tianhao, JU Yunwei, *et al.* Biological characteristics and toxicity test of the pathogen of *Carya illinoensis* leaf spot[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2023, **40**(5): 1018–1025. DOI: [10.11833/j.issn.2095-0756.20230029](https://doi.org/10.11833/j.issn.2095-0756.20230029).
- [27] 周仪, 刁辰, 贾含琪, 等. 树锦鸡儿枯枝病病原菌的分离鉴定[J]. *森林工程*, 2018, **34**(6): 7–12, 19. ZHOU Yi, DIAO Chen, JIA Hanqi, *et al.* Isolation and identification of the pathogen of *Caragana arborescens* (Amm.) Lam. branch blight[J]. *Forest Engineering*, 2018, **34**(6): 7–12, 19. DOI: [10.3969/j.issn.1006-8023.2018.06.002](https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-8023.2018.06.002).
- [28] 孙子越, 陶增. 表观遗传调控在植物病原真菌发育和致病过程中的作用与分子机制[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2024, **50**(3): 469–480. SUN Ziyue, TAO Zeng. Role and molecular mechanism of epigenetic regulation during the development and pathogenesis of plant pathogenic fungi[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2024, **50**(3): 469–480. DOI: [10.3785/j.issn.1008-9209.2023.11.201](https://doi.org/10.3785/j.issn.1008-9209.2023.11.201).