

# 一种新的豇豆根腐病原菌鉴定及室内药剂筛选

张河庆<sup>1,3,4</sup>, 席亚东<sup>1,3,4\*</sup>, 陈玲<sup>2\*</sup>, 向娟<sup>2</sup>, 韩帅<sup>1,3,4</sup>, 吴婕<sup>1,3,4</sup>

(1. 四川省农业科学院植物保护研究所, 成都 610066; 2. 四川省成都市农林科学院, 成都 611130; 3. 农业部西南作物有害生物综合治理重点实验室, 成都 610066; 4. 蔬菜种质与品种创新四川省重点实验室, 成都 610066)

**摘要** 本文对四川成都发生的豇豆根腐病原菌进行鉴定, 为豇豆根腐病的药剂防治提供依据。采集了成都市豇豆种植区豇豆根腐病病株, 经常规组织分离并纯化获得 116 株分离菌株, 对分离菌株进行致病性测定、形态学鉴定及 rDNA-ITS 序列分析。结果表明, 分离到的镰孢菌中有 10 株为 *Fusarium commune*, 分离频率为 8.62%。对该 10 株菌进行致病性测定, 均为致病菌株; 其中 MW4-11 菌株致病性最强。该致病菌株的最适生长温度为 25~30℃, 菌丝致死温度为 70℃。选用 7 种杀菌剂通过平皿培养法对 MW4-11 菌株进行室内毒力测定。结果表明, 75% 肟菌·戊唑醇水分散粒剂对该致病菌株的毒性最强, EC<sub>50</sub> 为 0.030 μg/mL。

**关键词** 豇豆; 根腐病; 镰孢菌; *Fusarium commune*

中图分类号: S 436.43 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2017221

## Identification of a new pathogen for cowpea root rot and fungicide screening

ZHANG Heqing<sup>1,3,4</sup>, XI Yadong<sup>1,3,4</sup>, CHEN Ling<sup>2</sup>,  
XIANG Juan<sup>2</sup>, HAN Shuai<sup>1,3,4</sup>, WU Jie<sup>1,3,4</sup>

(1. Institute of Plant Protection, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China; 2. Chengdu Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Chengdu 611130, China; 3. Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Southwest, Ministry of Agriculture, Chengdu 610066, China; 4. Vegetable Germplasm Innovation and Variety Improvement Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 610066, China)

**Abstract** This paper aims to identify the pathogen of cowpea root rot, and provide reference for the control of the disease. Totally 116 isolates collected from diseased plants in Chengdu City were identified based on pathogenicity test, morphological characteristics and ITS rDNA sequence analysis. Of which 10 isolates belong to *Fusarium commune*, accounting for 8.62%. Pathogenicity assays indicated that these *Fusarium commune* isolates were pathogenic to cowpea, and the most pathogenic strain was MW4-11. The mycelial growth test on MW4-11 indicated that the optimal temperature range for the mycelial growth was 25–30℃ and the lethal temperature was 70℃. Toxicities of 7 fungicides were tested by petri dish cultivation method. The results showed that trifloxystrobin · tebuconazole 75% WG had the highest toxicity to *F. commune* MW4-11, with the EC<sub>50</sub> values of 0.030 μg/mL.

**Key words** cowpea; root rot; *Fusarium*; *Fusarium commune*

豇豆 *Vigna unguiculata* (L.) Walp. 是我国普遍栽培的蔬菜之一, 全国常年栽培面积在 33 万 hm<sup>2</sup> 以上, 四川省栽培面积在 1 万 hm<sup>2</sup> 以上<sup>[1]</sup>。豇豆镰孢型根腐病是重要的土传病害之一, 在我国豇豆产区普遍发生, 田间病株率为 10%~100%。在田间可以与丝核菌根腐病、疫霉根腐病等形成病害复合

体, 造成更大的危害<sup>[2]</sup>。

豇豆根腐有镰孢型根腐、疫霉型根腐、腐霉型根腐、丝核菌型根腐等。吴仁峰等分离鉴定湖北武汉地区豇豆根腐病原菌为茄镰孢 *Fusarium solani*<sup>[3]</sup>; 杨玉洁等人认为江苏省如皋市豇豆根腐病原菌主要有茄镰孢 *F. solani*、尖镰孢 *F. oxysporum* 和立枯丝核菌

收稿日期: 2017-06-12

修订日期: 2017-08-07

基金项目: 现代生物技术及实用新技术集成研究与应用 (2016-XT00-00003-NC); 四川省农作物抗病虫害性鉴定技术创新与应用 (2016NYZ0053-1-7); 现代农业产业技术体系四川蔬菜创新团队 (nycytx-31); 四川省科技支撑计划 (2016NZ0032); 四川省“十三五”蔬菜育种攻关 (2016NYZ0033)

\* 通信作者 E-mail: xiyadong2002@126.com; nkschenling@126.com

*Rhizoctonia solani*<sup>[4]</sup>; 几内亚、印度、中非、尼日利亚等地的豇豆根腐病病原菌为瓜果腐霉 *Pythium aphanidermatum* 和立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*<sup>[5-8]</sup>; 印度豇豆根腐病病原菌主要为菜豆壳孢菌 *Macrophomina phaseolina*<sup>[9]</sup>。目前, 还未见 *Fusarium commune* 侵染豇豆引起根腐病的报道。镰孢菌能够以厚垣孢子的形式在土壤中存活 10 年以上, 在离开寄主的情况下也能存活 5~6 年<sup>[10]</sup>。因此, 对该病的防治非常困难。

本研究对引起成都地区豇豆根腐病的病原菌进行分离鉴定, 以明确引起成都豇豆根腐病的病原种类, 并针对该病菌进行室内防治药剂筛选, 旨在为成都地区豇豆根腐病的防治提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 样本来源与病原菌的分离纯化

病样于 2016 年采自成都市的豇豆主产区。病原真菌的分离方法参照方中达<sup>[11]</sup>的《植病研究方法》。选取新发病豇豆植株茎基部的根茎作为分离材料, 进行常规组织分离, 经单孢纯化、培养获得单孢菌株, 并于 4℃ 马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 斜面培养基上保存。

### 1.2 致病性测定

采用 Koch's Rules 进行分离菌株的致病性测定。将分离到的菌株用 PDA 培养基活化, 培养 5 d 后转接到马铃薯葡萄糖液体培养基 (PDB) 中, 于 28℃, 160 r/min 摇床上培养 3~5 d, 然后将病菌纯培养物(孢子)制成浓度为  $10^6 \sim 10^7$  个/mL 悬浮液。采用自然伤根浸根法接种。取生长良好的无病“赣蔬领袖”豇豆苗(江西金浩种业生产), 用清水将根部表面冲洗干净后将根部完全浸在孢子悬浮液中 30 min, 接种后的植株定植于装有无菌泥炭土的营养杯中。每个菌株接种 10 株苗, 以清水为对照。植株置于 25℃ 下植物培养箱中, 接种后每隔 1~2 d 观察 1 次。发病后, 从病斑处再次分离病原菌, 确认致病菌。

接种 15 d 后调查豇豆的发病率和病情指数, 所得数据用 Excel 进行汇总, 利用 SPSS 16.0 软件的 Duncan 法进行差异显著性分析。根据发病率和病情指数挑选致病性强的菌株进行后续试验。

豇豆根腐病分级方法参照国家标准 GB/

T17980.88-2004 农药田间药效试验准则(二)第 88 部分《杀菌剂防治大豆根腐病》。

0: 植株茎基部和主根均无病斑;

1: 茎基部和主根上有少量病斑;

3: 茎基部和主根上病斑较多, 病斑面积占茎和根总面积的 1/4~1/2;

5: 茎基部及主根上病斑多且大, 病斑面积占茎基部和根部总面积的 1/2 以上~3/4;

7: 茎基部或主根上病斑连片, 形成绕茎现象, 但根系并未死亡;

9: 根系坏死, 植株地上部分萎蔫或死亡。

病情指数 =  $\sum(\text{各级发病株数} \times \text{该级代表值}) \times 100 / (\text{调查总株数} \times \text{病情最高级代表值})$ ;

发病率 =  $(\text{发病株数} / \text{总株数}) \times 100\%$ 。

### 1.3 病原菌形态学鉴定

将供试的致病菌株接种到 PDA 培养基上, 25℃ 恒温黑暗培养, 72 h 后使用十字交叉法测定菌落的生长速率。7 d 后观察培养基上的菌落形态特征。在 SNA 培养基上观察分生孢子梗、大小分生孢子和厚垣孢子的特征, 并随机测量 20 个分生孢子的大小。

根据菌落形态、生长速度和色素颜色, 大、小型分生孢子的特征, 厚垣孢子有无和着生位置等特征, 参照 Skovgaard 等的报道<sup>[12]</sup>, 并结合 Leslie 等<sup>[13]</sup>的镰孢菌实验室手册进行病原菌种的形态学鉴定。

### 1.4 温度对致病菌株生长的影响

选取致病性强的菌株 MW4-11 于 PDA 培养基上 25℃ 培养 5 d, 用 7 mm 打孔器在菌落边缘打取菌饼, 接种在 PDA 培养基上, 分别置于 5、10、15、20、25、30、35 和 40℃ 培养箱中培养 3 d, 用十字交叉法测量菌落直径, 每个处理重复 4 次。

### 1.5 菌丝致死温度测定

选取致病性强的菌株 MW4-11 于 PDA 培养基上 25℃ 培养 5 d, 用 7 mm 打孔器在菌落边缘打取菌丝块并置于无菌试管中, 加入 2 mL 无菌水。分别在 35、40、45、50、55、60、65、70℃ 水浴锅中处理 10 min 后取出迅速冷却, 将菌丝块取出置于 PDA 平板上 25℃ 恒温培养, 5 d 后观察菌丝生长情况, 并用十字交叉法测量菌落直径, 每处理重复 4 次。

### 1.6 病原菌 rDNA-ITS 序列分析及系统发育分析

#### 1.6.1 菌丝制备

将保存的菌株接种到 PDA 培养基上, 每皿接种

一个菌丝块,于 25℃ 暗培养 7 d 后用灭菌的载玻片刮取菌丝,并用液氮冷冻研磨成粉,置于一 80℃ 保存,用于基因组 DNA 提取。

1.6.2 基因组 DNA 提取

基因组 DNA 采用改良的 CTAB 法提取<sup>[14]</sup>,然后用核糖体内转录间隔区(rDNA-ITS)的通用引物 ITS1: TCCGTAGGTGAACCTGCGG 和 ITS4: TCC-TCCGCTTATTGATATGC 进行 PCR 扩增,扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

所得扩增产物由上海生工生物工程技术服务有限公司进行双向测序,得到 ITS 序列,所得序列在 GenBank 数据库中通过 BLAST 功能搜索相似度较高的 ITS 序列。选择测序获得的序列以及 Gen-Bank 数据库中相关序列,运行 Clustal W 程序进行序列比对。再运用软件 MEGA 6.0,采用最大似然法(Maximum Likelihood)构建系统发育树。

表 1 供试药剂浓度  
Table 1 Concentration of the tested fungicides

| 药剂<br>Fungicide                                     | 处理浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Concentration |        |       |      |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------|-------|------|
|                                                     | 1                                                      | 2      | 3     | 4    |
| 22.5%啮氧菌酯 SC    picoxystrobin 22.5% SC              | 1 250.00                                               | 125.00 | 12.50 | 1.25 |
| 100 g/L 氰霜唑 SC    cyazofamid 100 g/L SC             | 2 000.00                                               | 200.00 | 20.00 | 2.00 |
| 30%噁霉灵 AS    hymexazol 30% AS                       | 666.67                                                 | 66.67  | 6.67  | 0.67 |
| 75%腈菌·戊唑醇 WG    trifloxystrobin·tebuconazole 75% WG | 250.00                                                 | 25.00  | 2.50  | 0.25 |
| 50%烯酰吗啉 WG    dimethomorph 50% WG                   | 1 000.00                                               | 100.00 | 10.00 | 1.00 |
| 50%醚菌酯 WG    kresoxim-methyl 50% WG                 | 500.00                                                 | 50.00  | 5.00  | 0.50 |
| 16%二氰·吡唑酯 WG    dithianon·pyraclostrobin 16% WG     | 2 000.00                                               | 200.00 | 20.00 | 2.00 |

1.7.3 测定方法

用打孔器在培养 5 d 的病原菌菌落边缘打取直径 5 mm 的菌丝块,分别放在不同药剂平板中央,菌丝面朝下,以加入等量无菌水的培养基作为空白对照;在 25℃ 的恒温培养箱中倒置培养,6 d 后用十字交叉法测量菌落直径,计算杀菌剂对菌丝生长的抑制率,并用 DPS 数据分析软件求  $EC_{50}$ ,比较供试药剂的毒力大小。

抑制率 = (空白对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (空白对照菌落直径 - 菌饼直径) × 100%。

2 结果与分析

2.1 病原菌的分离与培养

从采自成都市豇豆产区的豇豆根腐病样品中共分离到 116 株镰孢菌,其中有 10 株初步定为 *F. commune* (菌株编号为: MW4-11, MW4-12, MW1-12, MS1-

1.7 不同杀菌剂对豇豆根腐病原菌的室内毒力

1.7.1 供试药剂

75%腈菌·戊唑醇水分散粒剂,德国拜耳作物科学公司;50%醚菌酯水分散粒剂,巴斯夫欧洲公司;50%烯酰吗啉水分散粒剂,北京达世丰生物科技有限公司;16%二氰·吡唑酯水分散粒剂,巴斯夫欧洲公司;22.5%啮氧菌酯悬浮剂,美国杜邦公司;100 g/L 氰霜唑悬浮剂,日本石原产业株式会社;30%噁霉灵水剂,四川国光农化股份有限公司。

1.7.2 含药平板制备

各供试药剂的浓度梯度见表 1。浓度 1 为厂家推荐浓度。先将供试药剂稀释成相应系列浓度的 10 倍,然后按药液与培养基 1:9 的比例,将药液加入到熔化的培养基中,制成含药平板,每个浓度设置 4 个重复。

31, MS1-32, CY28411, CY28412, CY28413, PZ10.11, PZ10.12),分离频率为 8.62%。

2.2 致病性测定

用 2.1 初步确定的 10 株 *F. commune* 的分生孢子悬浮液接种自然伤根的豇豆植株,结果表明,接种后豇豆植株均能发病。发病初期,植株叶片没有明显变化,植株生长缓慢;发病中期植株出现倒伏萎焉,叶脉黄化,拔出植株,可见其根部自根尖开始发生病变,由侧根延及主根,致整个根系坏死腐烂,并可延及根茎部,对照均不发病(图 1)。从病斑处再次分离得到的菌株其性状均与原菌株相同。致病性测定表明(表 2)10 株 *F. commune* 均为致病病原菌,其中 MW4-11 菌株接种后植株易发病,致病性最强,植株发病率为 100%,病情指数为  $84.57 \pm 0.62$ ,显著高于其他分离菌株,因此选取 MW4-11 菌株作为后续试验菌株。

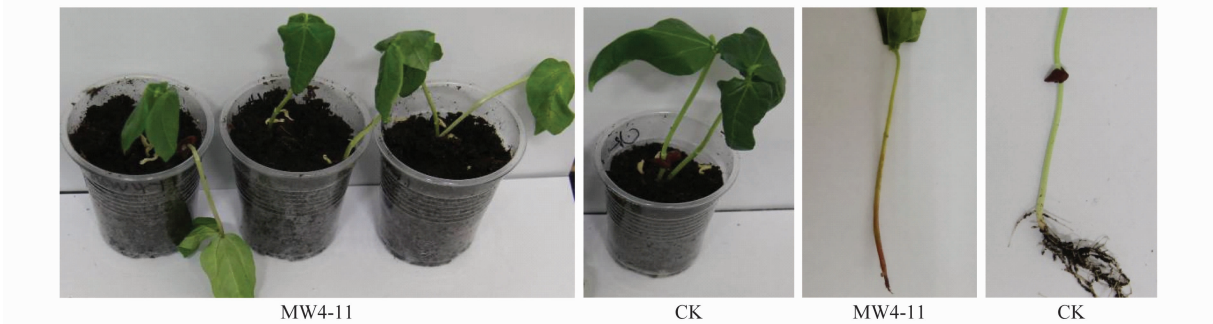


图 1 接种 MW4-11 菌株后豇豆发病症状

Fig. 1 Symptom of cowpea plant after inoculation with MW4-11 strain

表 2 分离菌株的致病力

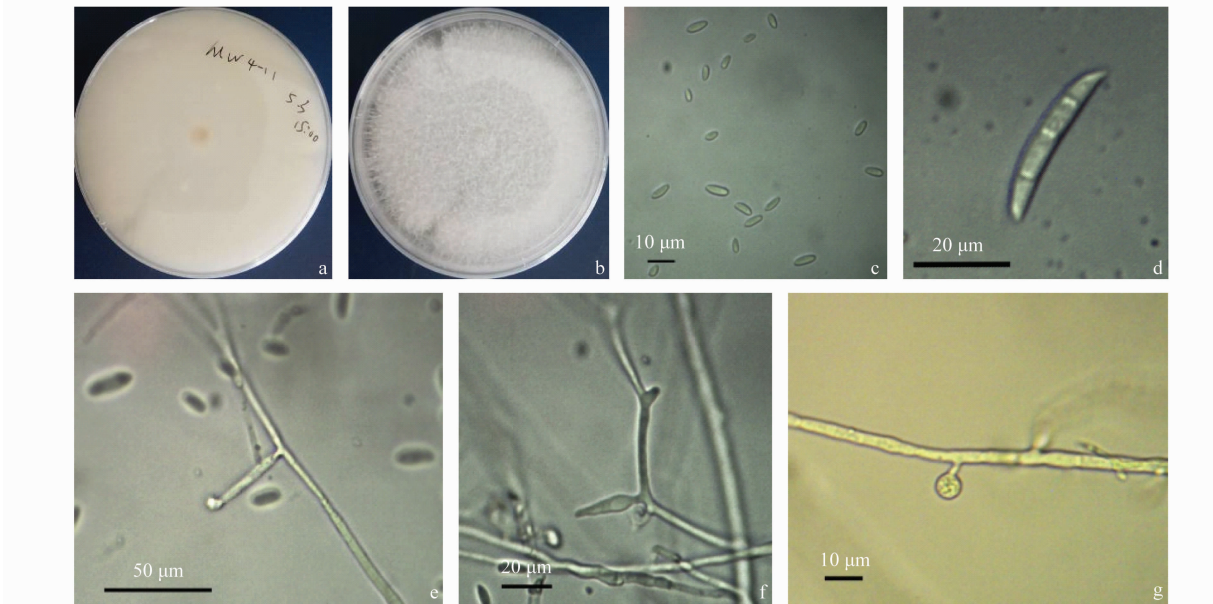
Table 2 Pathogenicity of the isolates

| 菌株名称<br>Strain | 发病率/%<br>Incidence rate | 病情指数<br>Disease index |
|----------------|-------------------------|-----------------------|
| CY28411        | 100                     | (64.81±2.83)def       |
| PZ10.11        | 100                     | (68.52±2.83)bcde      |
| MS1-31         | 100                     | (58.02±2.47)f         |
| MW4-11         | 100                     | (84.57±0.62)a         |
| MW1-12         | 100                     | (61.73±3.27)ef        |
| MW4-12         | 100                     | (66.67±2.14)cde       |
| MS1-32         | 100                     | (70.99±0.62)bcd       |
| CY28412        | 100                     | (75.93±1.85)b         |
| CY28413        | 100                     | (73.46±2.23)bc        |
| PZ10.12        | 90                      | (62.65±4.01)ef        |

2.3 病原菌形态特征

选取致病性最强的菌株 MW4-11 在 PDA 培养基

上培养,25℃恒温黑暗培养 72 h 菌落直径为 4.3 cm。菌落生长较快,气生菌丝发达,为白色绒毛状,培养基背面的色素从无色到乳白色,之后颜色随培养时间的延长变为淡黄色,(图 2a~b)。在 SNA 培养基上,小型分生孢子数量较多,椭圆形至棍棒形,通常无隔膜,大小为(3.5~10.1)μm×(2.2~3.5)μm(图 2c);大型分生孢子较少,细长,梭形两端略弯,有 1~3 个分隔,3 个分隔居多,顶细胞弯曲或收缩变尖,足细胞足形或收缩呈点,大小(22.1~39)μm×(3.5~3.8)μm(图 2d);产孢细胞为短单瓶梗(图 2f),偶有较长的单瓶梗(图 2e);厚垣孢子单生(图 2g)。参照 Skovgaard 等<sup>[12]</sup>的报道,结合 Leslie 等<sup>[13]</sup>的分类系统,将该菌鉴定为 *Fusarium commune*。



a~b: 菌株MW4-11在PDA培养基上的形态特征; c: 小分生孢子; d: 大分生孢子; e: 长单瓶梗; f: 短单瓶梗; g: 厚垣孢子  
a-b: Morphology of MW4-11 on PDA; c: Microconidial; d: Macroconidial; e: Long monophialides; f: Short monophialides; g: Chlamydospores

图 2 菌株 MW4-11 的形态特征

Fig. 2 Morphology of MW4-11

2.4 温度对 MW4-11 菌株生长的影响

图 3 为 MW4-11 致病菌株在不同温度条件下培养 3 d 的生长情况,表明菌丝最适生长温度为 20~25℃;在 10~35℃条件下均可生长,在 5℃和 40℃条件下几乎不能生长。

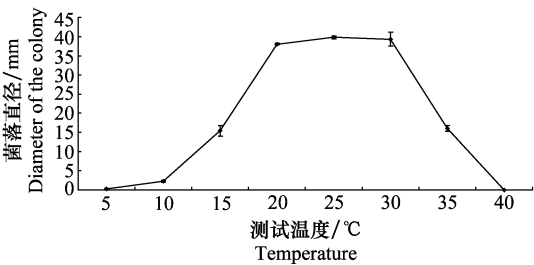


图 3 温度对 MW4-11 菌株生长的影响  
Fig. 3 Growth rate of MW4-11 strain under different temperatures

2.5 MW4-11 致病菌株的致死温度

由菌丝致死温度的测定结果(图 4)可知,菌落直径随处理温度升高有降低趋势。65℃及以下水浴处理 10 min 后的菌丝均能在 PDA 培养基上再生长,而 70℃水浴处理 10 min 后所有重复处理均无菌丝生长。说明 MW4-11 菌株致死温度为 70℃(10 min)。

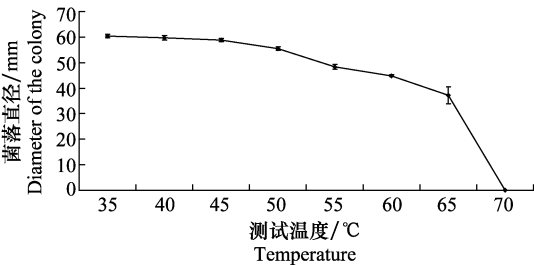
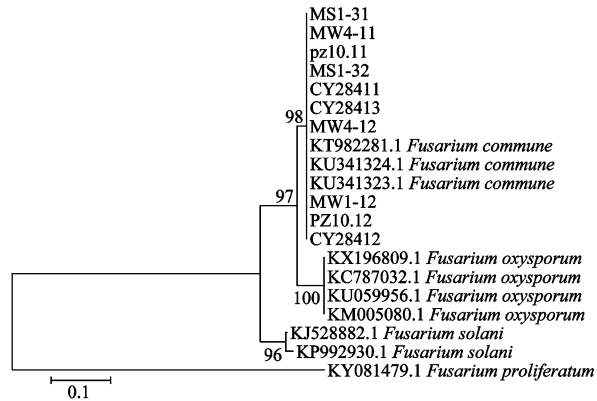


图 4 MW4-11 菌株菌丝致死温度测定  
Fig. 4 Determination of mycelial lethal temperature of MW4-11 strain

2.6 病原菌 rDNA-ITS 序列分析及系统发育分析

在形态学上,Skovgaard 等和 Yu 等认为 *Fusarium commune* 与尖镰孢非常相似很难区分,需用分子生物学技术进行鉴定<sup>[12,15]</sup>。本文以 ITS1(TCCGTAG-GTGAACCTGCGG)与 ITS4(TCCTCCGCTTAT-TGATATGC)为引物对 10 株病原菌的 ITS 区进行扩增,并对 ITS 区进行双向测序,测序结果与 GenBank 中核酸数据库进行同源性比较,结果显示 10 株病原菌的 ITS 序列与 GenBank 中的 *Fusarium commune* (GenBank 登录号为:KU341323.1, KT98228.1, KU341323.1)的相应片段相似度均达到 99%以上, E-value 值为 0.0。运用 MEGA 6.0 软件,根据 Kimu-

ra2-parameter 模型,采用最大似然法(Maximum Likelihood)构建系统发育树(图 5),bootstrap 自展重复 1 000 次计算系统树种的置信度。结果显示,10 株病原菌与 *F. commune* 在同一分支上,因此将该 10 株病原菌鉴定为 *F. commune*。



系统发育树图中每个分支上的数字表示bootstrap自展值,只显示bootstrap自展值大于50%的结果  
Numbers next to branches represent bootstrap values. Only bootstrap values higher than 50% are shown

图 5 基于 ITS 基因序列构建的 10 株病原菌的系统发育树  
Fig. 5 Phylogenetic tree of 10 pathogen strains and related strains based on ITS gene sequences

2.7 杀菌剂毒力测定结果

选取致病性最强的 *Fusarium commune* 菌株 MW4-11 测定供试杀菌剂对其的毒力。据试验结果(表 3)可知,7 种杀菌剂对 MW4-11 菌株均有抑制作用。其中 75% 脲菌·戊唑醇水分散粒剂的抑菌效果最好,最高浓度下抑制率为 94.55%,EC<sub>50</sub> 为 0.030 μg/mL;30% 噁霉灵水剂、16% 二氰·吡唑酯水分散粒剂、22.5% 啉氧菌酯悬浮剂和 50% 烯酰吗啉水分散粒剂的抑菌效果次之,最高浓度下抑制率分别为 83.21%、80.9%、71.18%、67.99%,EC<sub>50</sub> 分别为 19.498、69.158、24.805、79.549 μg/mL;100 g/L 氰霜唑悬浮剂和 50% 醚菌酯水分散粒剂的抑菌效果差,50% 醚菌酯水分散粒剂最高浓度下抑制率仅为 49.92%,且 EC<sub>50</sub> 高达 211.170 μg/mL;虽然 100 g/L 氰霜唑悬浮剂在最高浓度下抑制率较高,但 EC<sub>50</sub> 也最大,为 2 059.054 μg/mL。

3 讨论

形态学鉴定和分子鉴定结果表明,分离到的 116 株镰孢菌中,有 10 株为 *Fusarium commune*,分离频率为 8.62%。致病力测定结果表明,接种 MW4-11 菌株的豇豆发病率为 100%,病情指数为 84.57±0.62, MW4-11 菌株属于强致病菌。

表 3 7 种药剂对豇豆根腐病菌的室内毒力

| 药剂名称<br>Fungicide                                       | 处理浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$<br>Concentration | 抑制率/%<br>Inhibition rate | 毒力回归方程<br>Virulence regression equation | 相关系数( $r$ )<br>Correlation coefficient | $\text{EC}_{50}/$<br>$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ |
|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| 75% 腈菌·戊唑醇 WG<br>trifloxystrobin·tebuconazole<br>75% WG | 250                                                       | 94.55                    | $y=0.3961x+5.6042$                      | 0.9737                                 | 0.030                                                   |
|                                                         | 25                                                        | 87.13                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 2.5                                                       | 74.42                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 0.25                                                      | 67.16                    |                                         |                                        |                                                         |
| 22.5% 啉氧菌酯 SC<br>picoxystrobin 22.5% SC                 | 1250                                                      | 71.18                    | $y=0.3072x+4.5716$                      | 0.9178                                 | 24.805                                                  |
|                                                         | 125                                                       | 53.53                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 12.5                                                      | 52.16                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 1.25                                                      | 32.55                    |                                         |                                        |                                                         |
| 30% 噁霉灵 AS<br>hymexazol 30% AS                          | 666.67                                                    | 83.21                    | $y=0.5007x+4.3541$                      | 0.8819                                 | 19.498                                                  |
|                                                         | 66.67                                                     | 46.96                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 6.67                                                      | 44.77                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 0.67                                                      | 24.57                    |                                         |                                        |                                                         |
| 16% 二氟·吡唑酯 WG<br>dithianon·pyraclostrobin<br>16% WG     | 2000                                                      | 80.90                    | $y=0.5301x+4.0247$                      | 0.9769                                 | 69.158                                                  |
|                                                         | 200                                                       | 54.61                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 20                                                        | 37.19                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 2                                                         | 22.78                    |                                         |                                        |                                                         |
| 50% 烯酰吗啉 WG<br>dimethomorph 50% WG                      | 1000                                                      | 67.99                    | $y=0.4559x+4.1335$                      | 0.9778                                 | 79.549                                                  |
|                                                         | 100                                                       | 51.32                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 10                                                        | 38.78                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 1                                                         | 17.16                    |                                         |                                        |                                                         |
| 50% 醚菌酯 WG<br>kresoxim-methyl 50% WG                    | 500                                                       | 49.92                    | $y=0.0613x+4.8575$                      | 0.7321                                 | 211.170                                                 |
|                                                         | 50                                                        | 48.74                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 5                                                         | 48.58                    |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 0.5                                                       | 41.71                    |                                         |                                        |                                                         |
| 100 g/L 氰霜唑 SC<br>cyazofamid 100 g/L SC                 | 2000                                                      | 70.07                    | $y=0.5780x+3.0847$                      | 0.6366                                 | 2059.054                                                |
|                                                         | 200                                                       | 9.73                     |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 20                                                        | 9.00                     |                                         |                                        |                                                         |
|                                                         | 2                                                         | 8.27                     |                                         |                                        |                                                         |

已有研究表明,镰孢属真菌是引起豇豆根腐病的重要病原菌,其中茄镰孢被认为是豇豆镰孢型根腐的主要病原菌<sup>[3,16]</sup>,Shrestha 等报道层生镰孢也可以引起豇豆根腐<sup>[17]</sup>;而本研究发现 *Fusarium commune* 对豇豆有强的致病力,也能够引发豇豆根腐病。

2003 年 Skovgaard 等首次将 *Fusarium commune* 作为一个新种来描述,*F. commune* 的形态特征与 *F. oxysporum* 非常相似,而且该菌在 2003 年之前一直被鉴定为 *F. oxysporum*。这两种菌都能从短的单瓶梗上产生分生孢子,且厚垣孢子为单生或对生。唯一能够区分这两种菌的形态特征是 *F. commune* 存在细长的单瓶梗,偶尔会出现多瓶梗<sup>[12]</sup>。据报道,*F. commune* 能够引起美国白松、黄杉、康乃

馨、玉米、胡萝卜、大麦和山葵根腐病<sup>[12,15]</sup>,也能够引起番茄的冠腐病和根腐病<sup>[18]</sup>。*Fusarium commune* 作为豇豆根腐病的病原菌是首次报道。

本试验对引起豇豆根腐病的病原菌 MW4-11 菌株进行最适生长温度和致死温度的研究,结果表明,该菌最适生长温度为 20~25℃,在 5℃ 以下、40℃ 以上几乎不生长,该菌生长规律与尖镰孢大体一致<sup>[19]</sup>。该菌菌丝致死温度为 70℃ (10 min),郑莉等报道草莓枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* Schl. 菌丝生长的致死温度为 65℃ (10 min)<sup>[20]</sup>,贺春萍等研究发现,西瓜尖镰孢 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (E. F Smith) Snyder & Hansen 菌丝的致死温度为 80℃ (10 min)<sup>[21]</sup>。说明 *Fusarium commune* 与尖镰孢以及尖镰孢不同专化型之间菌丝生长对温

度的敏感性存在差异。

为了筛选抑制 *Fusarium commune* 生长的化学药剂,为防治 *Fusarium commune* 引起的根腐病提供依据,我们测定了 7 种杀菌剂对 MW4-11 菌株的室内毒力,结果(表 3)表明,75%脲菌·戊唑醇水分散粒剂对该病菌菌丝生长的抑菌效果最好,最高浓度下抑制率为 94.55%,EC<sub>50</sub> 为 0.030 μg/mL,其次为 30%噁霉灵水剂、16%二氰·吡唑酯水分散粒剂、22.5%啉氧菌酯悬浮剂、50%烯酰吗啉水分散粒剂,它们均可作为豇豆根腐病防治的候选药剂。豇豆根腐病的传统防治药剂为噁霉灵,而本研究结果表明,75%脲菌·戊唑醇水分散粒剂对豇豆根腐病原菌的生长抑制效果好于 30%噁霉灵水剂,22.5%啉氧菌酯悬浮剂对豇豆根腐病原菌的生长抑制效果与 30%噁霉灵水剂的相当。本研究拓宽了防治豇豆根腐病的药剂选择范围,为豇豆根腐病的防治提供了科学依据。

参考文献

[1] 郭伟民. 无公害豇豆新品种应用现状与栽培技术[J]. 山西农经, 2014(2): 110-111.

[2] 郭予元. 中国农作物病虫害(中册)[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2015: 222-223.

[3] 吴仁锋,杨绍丽,万鹏,等. 豇豆根腐病原分离鉴定及其核糖体 rDNA-ITS 序列分析[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(24): 5107-5110.

[4] 杨玉洁,王学平. 如皋豇豆栽培因素与根腐病发生关系的研究[J]. 中国园艺文摘, 2009, 25(9): 90-91.

[5] SINGH S R, ALLEN D J. Cowpea pests and diseases [M]. Manual series No. 2. IITA, Ibadan, 1979: 33-42.

[6] EMECHEBE A M, SHOYINKA S A. Fungal and bacterial diseases of cowpea in Africa[M]//SINGH S R, RACHIE K O. Cowpea research, production and utilization. Wiley, Chichester, 1985: 173-192.

[7] SINGH B B, MOHAN RAJ D R, DASHIELL K E, et al. Advances in cowpea research [M]. IITA-JIRCAS, Ibadan, Nigeria, 1997:193-222.

[8] SULEIMAN M N, EMUA S A. Efficacy of four plant extracts in the control of root rot disease of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.)[J]. African Journal of Biotechnology, 2009, 8 (16): 3806-3808.

[9] SATISH L, UDAY B, LODHA S, et al. Efficacy of composts on nitrogen fixation, dry root rot (*Macrophomina phaseolina*) intensity and yield of legumes[J]. Indian Journal of Agriculture Science, 2000, 70(12): 846-849.

[10] 裴维蕃. 农业植物病理学[M]. 第 2 版. 北京: 农业出版社, 1989: 456-460.

[11] 方中达. 植物研究方法[M]. 第 3 版. 北京: 农业出版社, 1988.

[12] SKOVGAARD K, ROSENDAHL S, O'DONNELL K, et al. *Fusarium commune* is a new species identified by morphological and molecular phylogenetic data [J]. Mycologia, 2003, 95(4): 630-636.

[13] LESLIE J F, SUMMERELL B A. The *Fusarium* laboratory manual [M]. Ames, Iowa: Blackwell Publishing CrossRef Google, 2006.

[14] O'DONNELL K, CIGELNIK E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1997, 7(1): 103-116.

[15] YU J M, BABADOOST M. Occurrence of *Fusarium commune* and *F. oxysporum* in horseradish roots [J]. Plant Diseases, 2013, 97(4): 453-460.

[16] ERWIN D C, KHAN R A, VER LINDEN C, et al. Blackeye bean root rot disease identified [J]. California Agriculture, 1991, 45(4): 27-29.

[17] SHRESTHA U, BUTLER D M, OWNLEY B H. First report of dry root and stem rot of cowpea caused by *Fusarium proliferatum* in the United States [J]. Plant Disease, 2016, 100(4): 860.

[18] HAMINI-KADAR N, EDEL-HERMANN V, GAUTHERON N, et al. First report of *Fusarium commune* and *Fusarium redolens* causing crown and root rot on tomato in Algeria [J]. New Disease Reports, 2010, 22: 1-3.

[19] 刘洋,刘长远,赵奎华,等. 辣椒根腐病菌—尖镰孢菌生物学特性研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2009, 40(3): 291-295.

[20] 郑莉,朱秋珍,冯自立,等. 草莓枯萎病原菌鉴定及其生物学特性[J]. 湖北农业科学, 2006, 45(2): 194-195.

[21] 贺春萍,黄志强,吴伟怀,等. 一株西瓜尖孢镰刀菌的致死温度和最适碳氮营养源[J]. 热带作物学报, 2008, 29(5): 648-652.

(责任编辑: 杨明丽)

(上接 166 页)

[4] WAN A M, CHEN X M, HE Z H. Wheat stripe rust in China [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2007, 58: 605-619.

[5] 万安民,赵中华,吴立人. 2002 年我国小麦条锈病发生回顾[J]. 植物保护, 2003, 29(2): 5-8.

[6] 陈万权,康振生,马占鸿,等. 中国小麦条锈病综合治理理论与实践[J]. 中国农业科学, 2013, 46(20): 4254-4262.

[7] 刘维,韩丽娟. 2016/2017 年度冬季气候对农业生产的影响[J]. 中国农业气象, 2017, 38(5): 330-331.

[8] 姜瑞中,曾昭慧,刘万才,等. 中国农作物主要生物灾害实录

1949-2000[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.

[9] 刘博,刘太国,章振羽,等. 中国小麦条锈菌条中 34 号的发现及其致病特性[J]. 植物病理学报, 2017, 47(5): 681-687.

[10] 张静秋,刘博,陈万权,等. 小麦条锈菌群体温度敏感性测定[J]. 植物病理学报, 2013, 43(1): 88-90.

[11] 姜玉英,曾娟,张丽. 全国小麦条锈病测报上几个问题的探讨[J]. 中国植保导刊, 2011, 31(6): 32-35.

(责任编辑: 杨明丽)