

◆ 药效与应用 ◆

# 观赏葫芦病原真菌的分离、鉴定和有效防控药剂的筛选

张天丞<sup>1</sup>, 孙伟<sup>2</sup>, 赵燕<sup>1</sup>, 刘家呈<sup>1</sup>, 常静<sup>1</sup>, 宫宇飞<sup>1</sup>, 张文斐<sup>1</sup>, 华学文<sup>1\*</sup>

(1. 聊城大学农业与生物学院, 山东聊城 252000; 2. 聊城市东昌府区农业农村局, 山东聊城 252000)

**摘要:**山东省聊城市东昌府区被誉为“葫芦之乡”, 近年来在葫芦的种植过程中, 面临真菌病害制约葫芦产业发展的问題。通过从田间染病葫芦组织中分离和菌落纯化, 结合形态学观察和分子生物学技术, 成功鉴定出3种真菌分别属于梨孢假壳属(LB-1)、链格孢属(LG-1)和镰刀菌属(LD-1)。测试了9种具有代表性的商品化杀菌剂对3种病原真菌菌丝生长的抑制效果, 选取抑菌率较高的杀菌剂测定其EC<sub>50</sub>。结果发现, 多菌灵和戊唑醇能够有效抑制LB-1和LD-1的菌丝生长, 而苯醚甲环唑则对LG-1和LD-1的菌丝生长表现出良好的抑制效果。以上结果将为保障葫芦高效生产提供技术支持。

**关键词:**葫芦病原真菌; 分离鉴定; 致病性; 杀菌剂; 抑菌活性

中图分类号: S 436.8 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1671-5284.2025.03.012

## Isolation and identification of pathogenic fungi of ornamental gourd and screening of effective control fungicides

ZHANG Tiancheng<sup>1</sup>, SUN Wei<sup>2</sup>, ZHAO Yan<sup>1</sup>, LIU Jiacheng<sup>1</sup>, CHANG Jing<sup>1</sup>, GONG Yufei<sup>1</sup>, ZHANG Wenfei<sup>1</sup>, HUA Xuewen<sup>1\*</sup>  
(1. College of Agriculture and Biology, Liaocheng University, Shandong Liaocheng 252000, China; 2. Agriculture and Rural Bureau of Dongchangfu District of Liaocheng, Shandong Liaocheng 252000, China)

**Abstract:** Dongchangfu District of Liaocheng City in Shandong Province, known as the "Hometown of Gourds", has grappled with severe fungal diseases that have impeded the development of the gourd industry in recent years. Through isolation and colony purification from infected gourd tissues in the field, employing morphological observation and molecular biology techniques, three distinct fungi were identified as *Apiospora* (LB-1), *Alternaria* (LD-1), and *Fusarium* (LD-1) genera, respectively. Further investigation into the inhibitory efficacy of nine representative fungicides against these pathogens revealed that carbendazim and tebuconazole were particularly effective on inhibiting the hyphal growth of LB-1 and LD-1. Difenconazole, on the other hand, demonstrated an outstanding control effect on the hyphal growth of LD-1 and LG-1. These findings will provide significant theoretical guidance for disease control in gourd cultivation.

**Key words:** pathogenic fungi of ornamental gourd; isolation and identification; pathogenicity; fungicide, inhibitory activity

葫芦为葫芦科瓠瓜属一年生攀援蔓生性草本植物, 大多作为观赏植物栽培, 是重要的园林观赏植物<sup>[1-2]</sup>。聊城市东昌府区作为“葫芦之乡”, 近年来葫芦产业逐步发展壮大, 东昌葫芦雕刻也在2008年

被列入国家级非物质文化遗产保护名录<sup>[3-4]</sup>。葫芦具有极高的经济价值和艺术价值。葫芦果实可作容器, 储存物品, 种子能榨油, 藤蔓可用于编织工艺品和生活用品<sup>[4-5]</sup>。葫芦形状多样, 颜色丰富, 有长条形、

收稿日期: 2024-10-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(32001929); 聊城市重点研发计划项目(2022YDNY05); 聊城大学重大纵向项目培育计划(318062307)

作者简介: 张天丞(1998—), 男, 山东青岛人, 硕士研究生, 主要从事园林植物致病真菌的分离和鉴定。E-mail: zhangtiancheng730@163.com

通信作者: 华学文(1988—), 男, 山东泰安人, 副教授, 主要从事植物病原真菌的综合防控研究。E-mail: haxuewen@lcu.edu.cn

圆形、梨形等,绿色、黄色、白色等色彩各异,可种植在庭院、阳台等处增添自然之美。葫芦与“福禄”谐音,象征幸福和财富,在神话传说中常被赋予神奇力量,也是民间艺术如葫芦雕刻、绘画的重要题材<sup>[6-7]</sup>。然而,葫芦在栽培过程中极易受到真菌病害的影响,如白粉病、枯萎病、炭疽病等,导致葫芦生长不良,果实变形,品质下降等,严重降低其经济价值<sup>[8-10]</sup>。化学杀菌剂的使用是防控真菌病害最直接有效的途径,然而葫芦多年连作致使病害发生严重,病原菌抗药性日趋严峻。从现有商品化杀菌剂中筛选对葫芦致病真菌抑菌效果较高的药剂,可以为高效防控葫芦真菌病害提供依据。

本研究从染病葫芦组织中分离得到3种病原真菌,借助于形态学观察和分子生物学技术鉴定其分别属于梨孢假壳属、链格孢属和镰刀菌属,并测定了9种代表性杀菌剂的抑菌效果,旨在筛选出有效防控葫芦病原真菌的杀菌剂,为保障葫芦高效生产提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与材料

#### 1.1.1 供试菌种

葫芦梨孢假壳菌(*Apiospora paraphaeosperma*)、葫芦镰刀菌(*Fusarium circinatum*)、葫芦链格孢菌(*Alternaria doliconidium*),均从染病葫芦及其根系上分离鉴定得到。

#### 1.1.2 供试杀菌剂

35%甲霜灵WG,浙江禾本科技有限公司;41.7%氟吡菌酰胺SC,拜耳作物科学(中国)有限公司;60%苯醚甲环唑WG,青岛凯源祥化工有限公司;98%多菌灵原药,萨恩化学技术(上海)有限公司;80%烯酰吗啉WG,江西禾益化工股份有限公司;25%吡唑醚菌酯EC,江苏辉丰生物农业股份有限公司;98%啞菌酯原药,上海麦克林生化科技股份有限公司;99%异菌脲原药、98%戊唑醇原药,上海阿达玛斯化学试剂有限公司。

### 1.2 供试杀菌剂原药的纯化收集

采用硅胶柱层析法纯化供试杀菌剂制剂,收集原药。首先,称取一定量的杀菌剂制剂溶于分析纯甲醇中,经超声助溶后抽滤,滤液真空浓缩,残余物经硅胶柱层析纯化,洗脱剂为石油醚和乙酸乙酯的混合溶剂。纯化后的供试原药经核磁共振氢谱(<sup>1</sup>H NMR)鉴定结构。

### 1.3 供试病原菌的分离、纯化与鉴定

#### 1.3.1 供试病原菌的分离与纯化

采用组织分离法<sup>[11-12]</sup>分离葫芦供试病原菌。用无菌水将田间采摘的染病新鲜葫芦以及根系冲洗干净并晾干,用灭菌解剖刀或剪刀在病健交界处剪下3 mm×3 mm~5 mm×5 mm的染病组织,在烧杯中用3%次氯酸钠水溶液消毒10 min。移除次氯酸钠水溶液,用无菌水冲洗染病组织至少3次,直至将次氯酸钠水溶液冲洗干净。用灭菌的镊子夹取脱脂棉蘸取少量75%乙醇水溶液去除染病组织上残留的无菌水,将其置于灭菌的PDA培养基上,放入生化培养箱于(25±2)°C培养3~5 d。待长出新的菌丝后,用无菌接种针挑取单个菌落转接到新的PDA培养基上继续培养,直至转接出的菌株无杂菌为止。编号、转管,保存于4°C冰箱中。

#### 1.3.2 供试病原菌的鉴定

##### 1.3.2.1 形态学鉴定

将1滴无菌水滴在载玻片上,用无菌接种针在分离纯化的菌落中挑取少量菌丝置于载玻片上,盖上盖玻片,显微镜下观察并记录菌丝形态。

##### 1.3.2.2 分子生物学鉴定

菌丝经液氮研磨,使用真菌DNA提取试剂盒提取DNA,选用真菌通用引物ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')进行PCR扩增。扩增产物由北京天一辉远生物科技有限公司测序。

### 1.4 供试病原菌的致病性试验

#### 1.4.1 葫芦叶片侵染试验

取新鲜健康葫芦叶片,置于装有2张无菌水润湿滤纸的培养皿中。在无菌操作台中,采用针刺法造成微伤口,接种直径7 mm的葫芦梨孢假壳菌菌饼,置于光照培养箱(25±2)°C培养3~5 d,观察并记录叶片染病情况。

#### 1.4.2 葫芦侵染试验

取新鲜健康葫芦,置于装有2张无菌水润湿滤纸的烧杯中。在无菌操作台中,采用针刺法造成微伤口,分别接种直径7 mm的葫芦梨孢假壳菌和链格孢菌菌饼。封口膜密封烧杯口,置于光照培养箱中于(25±2)°C培养3~5 d,观察并记录葫芦染病情况。

#### 1.4.3 葫芦苗根系侵染试验

取健康的葫芦种子,培育至苗期,置于装有2张无菌水润湿滤纸的培养皿中。在无菌操作台中,将含有葫芦镰刀菌的PDB培养液接种至根系部分。在

光照培养箱中于(25±2)℃培养3~5 d,观察并记录根系染病情况。

### 1.5 杀菌剂室内抑菌活性测定

采用菌落生长直径法测试杀菌剂抑菌活性<sup>[13-14]</sup>。准确称取5 mg供试杀菌剂原药,经少量二甲基亚砷溶解后,用0.1%吐温80水溶液稀释制备质量浓度500 μg/mL的供试母液,逐级稀释成250、125、62.5、31.25、15.625 μg/mL系列质量浓度的药液。按照PDA培养基与含药溶液的体积比9:1制备50、25、12.5、6.25、3.125、1.562 5 μg/mL的含药PDA平板。将打孔器用酒精灯消毒后打取直径7 mm的菌饼,接种于含药平板中央,带菌面朝下,盖上皿盖,用保鲜膜密封,置于生化培养箱中于(25±2)℃培养3~5 d,记录菌落直径并计算抑制率。每个处理重复3

次,以上均需无菌条件下进行。根据公式(1)计算抑制率。

$$\text{抑制率}/\% = \frac{\text{对照组菌落直径} - \text{处理组菌落直径}}{\text{对照菌落直径} - 7} \times 100 \quad (1)$$

### 1.6 数据统计分析

利用DPS 7.05数据统计软件进行不同药剂浓度对数值与抑制率几率值之间的线性回归分析,求出EC<sub>50</sub>、相关系数、置信限。

## 2 结果与讨论

### 2.1 供试杀菌剂原药的纯化及结构表征

供试杀菌剂制剂经硅胶柱层析纯化后的原药采用<sup>1</sup>H NMR鉴定其结构。由表1可知,所纯化的杀菌剂原药结构均正确。

表1 柱层析纯化的原药的<sup>1</sup>H NMR结构表征数据

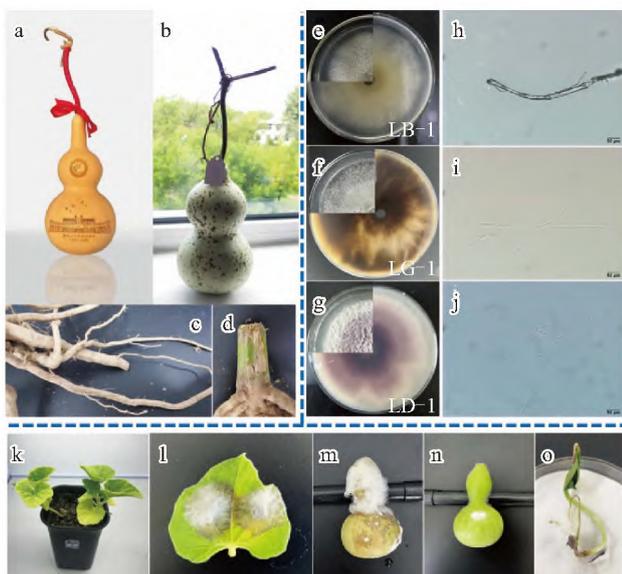
杀菌剂	<sup>1</sup> H NMR
氟吡菌酰胺	<sup>1</sup> H NMR (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ: 8.62 (s, 1H, pyridine-H) 、7.89 (s, 1H, pyridine-H) 、7.62 (d, J=7.4 Hz, 1H, Ph-H) 、7.57~7.51 (m, 1H, Ph-H) 、7.48 (t, J=6.7 Hz, 2H, Ph-H) 、6.68 (s, 1H, NH) 、3.97 (q, J=6.0 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ) 、3.27 (t, J=5.9 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> )
苯醚甲环唑	<sup>1</sup> H NMR (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ: 8.22 (s, 1H, triazole-H) 、7.92 (s, 1H, triazole-H) 、7.58 (d, J=8.7 Hz, 1H, Ph-H) 、7.34 (d, J=8.9 Hz, 2H, Ph-H) 、7.03 (d, J=2.5 Hz, 1H, Ph-H) 、6.98 (d, J=8.9 Hz, 2H, Ph-H) 、6.83 (dd, J=8.7, 2.5 Hz, 1H, Ph-H) 、4.82 (d, J=14.6 Hz, 1H, CH) 、4.72 (d, J=14.6 Hz, 1H, CH) 、4.14~4.07 (m, 1H, CH) 、3.93 (dd, J=7.6, 6.2 Hz, 1H, CH) 、3.09 (t, J=7.5 Hz, 1H, CH) 、1.12 (d, J=6.1 Hz, 3H, CH <sub>3</sub> )
吡唑醚菌酯	<sup>1</sup> H NMR (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ: 7.69 (d, J=2.6 Hz, 1H, pyrazole-H) 、7.66 (d, J=5.6 Hz, 1H, Ph-H) 、7.53 (d, J=9.0 Hz, 2H, Ph-H) 、7.42~7.34 (m, 5H, Ph-H) 、5.92 (d, J=2.6 Hz, 1H, pyrazole-H) 、5.35 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ) 、3.79 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ) 、3.76 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )
啉菌酯	<sup>1</sup> H NMR (500 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ: 8.43 (d, J=0.7 Hz, 1H, pyrimidine-H) 、7.97 (dd, J=7.7, 1.3 Hz, 1H, Ph-H) 、7.87~7.78 (m, 1H, Ph-H) 、7.57 (s, 1H, CH) 、7.53~7.47 (m, 2H, Ph-H) 、7.42 (ddd, J=8.0, 5.8, 3.5 Hz, 1H, Ph-H) 、7.34~7.27 (m, 3H, Ph-H) 、6.58 (d, J=0.7 Hz, 1H, pyrimidine-H) 、3.73 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ) 、3.49 (s, 3H, CH <sub>3</sub> )
甲霜灵	<sup>1</sup> H NMR (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ: 7.22 (t, J=7.5 Hz, 1H, Ph-H) 、7.17 (d, J=7.5 Hz, 1H, Ph-H) 、7.11 (d, J=7.4 Hz, 1H, Ph-H) 、4.52 (q, J=7.4 Hz, 1H, CH) 、3.80 (d, J=1.7 Hz, 3H, OCH <sub>3</sub> ) 、3.61 (d, J=15.5 Hz, 1H, CH) 、3.49 (d, J=15.5 Hz, 1H, CH) 、3.34 (d, J=1.7 Hz, 3H, OCH <sub>3</sub> ) 、2.47 (s, 3H, Ph-CH <sub>3</sub> ) 、2.16 (s, 3H, Ph-CH <sub>3</sub> ) 、1.01 (dd, J=7.4, 1.3 Hz, 3H, CH <sub>3</sub> )
烯酰吗啉	<sup>1</sup> H NMR (500 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ: 7.46 (d, J=8.5 Hz, 1H, Ph-H) 、7.43 (d, J=8.6 Hz, 1H, Ph-H) 、7.33 (d, J=8.6 Hz, 1H, Ph-H) 、7.17 (d, J=8.5 Hz, 1H, Ph-H) 、6.98 (dd, J=5.2, 3.0 Hz, 1H, Ph-H) 、6.92 (d, J=8.5 Hz, 0.5H, Ph-H) 、6.75 (d, J=1.9 Hz, 0.5H, Ph-H) 、6.66 (ddd, J=8.6, 6.7, 2.0 Hz, 1H, Ph-H) 、6.52 (s, 0.5H, CH) 、6.52 (s, 0.5H, CH) 、3.78 (s, 1.5H, CH <sub>3</sub> ) 、3.76 (s, 1.5H, CH <sub>3</sub> ) 、3.74 (s, 1.5H, CH <sub>3</sub> ) 、3.67 (s, 1.5H, CH <sub>3</sub> ) 、3.40 (d, J=4.3 Hz, 1H, CH) 、3.37 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ) 、3.35 (d, J=4.3 Hz, 1H, CH) 、3.32~3.29 (m, 1H, CH) 、3.28~3.24 (m, 1H, CH) 、3.24~3.21 (m, 1H, CH) 、3.13~3.07 (m, 1H, CH)

## 2.2 葫芦病原菌的鉴定

### 2.2.1 病原菌形态学特征

田间染病的葫芦及根系如图1所示,经组织分离、菌落纯化后共获取3种供试病原菌,分别编号为LB-1、LG-1和LD-1(图1)。分离培养的葫芦病菌LB-1菌落边缘规则,呈圆形扩散分布,初期菌丝颜色为白色,底部为浅灰色,菌丝蓬松,分生孢子呈不规则圆状,菌丝不规则分支并且在分支处有缢缩。该病菌形态特征观察结果与杜艳等<sup>[15]</sup>描述的梨孢假壳菌的形态基本一致,初步判定该分离出的菌株

为梨孢假壳菌。经分离培养获得的葫芦病菌LG-1菌落边缘不规则,呈不规则圆状分布,初期菌丝颜色为白色,底部为黑色,孢子有隔膜。形态特征观察结果与马红梅、陈新悦等<sup>[16-17]</sup>描述的链格孢菌的形态基本一致,初步判定分离出的菌株为链格孢菌。分离培养获得的葫芦病菌LD-1菌落呈圆形规则状分布,初期菌丝为白色,中央呈紫色,边缘呈粉红色,菌落生长速度较快,菌丝有隔,分枝,孢子呈卵圆形,有1~2个隔膜。该菌株与管力慧等<sup>[18]</sup>描述的镰刀菌形态基本一致,初步判定该菌株为镰刀菌。



a为工艺品葫芦;b~d为染病的葫芦及根系;e~g为分离纯化到的3种供试病原菌;h~j为3种供试病原菌菌丝形态;k为健康生长的葫芦苗;l为LB-1侵染的葫芦叶片;m为LB-1侵染的葫芦;n为LG-1侵染的葫芦;o为LD-1侵染的葫芦根。

图 1 葫芦染病组织和分离到的供试病原菌及其致病性

### 2.2.2 供试病原菌的分子生物学鉴定

3种葫芦病原菌的测序结果如表2所示。利用NCBI数据库,通过BLAST分析鉴定分离得到的病原菌。根据rDNA-ITS序列的BLAST分析结果, LB-1

基因序列与梨孢假壳菌 (*Apiospora paraphaeosperma*, GenBank 序列号 NR\_154723.1) 同源性高达 99%; LG-1 基因序列与链格孢菌 (*Alternaria doliconidium*, GenBank 序列号 NR\_158361.1) 同源性高达 100%; LD-1 基因序列与镰刀菌 (*Fusarium circinatum*, GenBank 序列号 NR\_120263.1) 同源性高达 98%。从 NCBI 下载相关菌株序列, 利用 MEGA-X 软件分别构建葫芦梨孢假壳菌 LB-1、葫芦链格孢菌 LG-1 和葫芦镰刀菌 LD-1 的系统发育树 (图 2)。结果显示: 菌株 LB-1 与 *A. pseudorasikravindrae* (GenBank 序列号 NR\_171981.1)、*A. rasikravindrae* (GenBank 序列号 NR\_119932.1)、*A. paraphaeosperma* (GenBank 序列号 NR\_154723.1) 等菌株处于同一分支上, 结合形态学特征, 可以判断 LB-1 为葫芦梨孢假壳菌属。菌株 LG-1 与 *A. doliconidium* (GenBank 序列号 NR\_158361.1)、*A. alstroemeriae* (GenBank 序列号 NR\_163686.1) 等菌株处于同一分支上, 结合形态学特征, 可以判断 LG-1 为葫芦链格孢菌属。菌株 LD-1 与 *F. foetens* (GenBank 序列号 NR\_159865.1)、*F. inflexum* (GenBank 序列号 NR\_152941.1) 等菌株处于同一分支上, 结合形态学特征, 可以判断 LD-1 为葫芦镰刀菌属。

表 2 分离得到的 3 种葫芦供试病原菌的测序结果

病原菌编号	测序序列
LB-1	AAATTGGGATTCTACCTGATCCGAGGTCACTACTAAAAATTGGGGGTTTTATGGCGGGAGGACAGGGCCTGACAAAAGCGAGAAATAAAATTTACTACGCTCAGAGGACCACTGCCGCTCCGCCACTGTCTTTAAGGAACGACCCTACGGTCGATTTCC AACACTAAGCTAGGCTTAAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCACCAGAATACTGATGGGCGCAATGTGCGT TCAAAGATTCGATGATCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACC AAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAACTATTAATAAAGACGCTCAGAAGATACAATAAAACAAGAGTTTCGTTTCCA CCGGCGGGCCGCCGAGGTAACGCTACAGGTTAGCGCTACAGGTAAGCTACAGGGTAGCTGTGCCCGCAGCGCAA CCCGGCAGCCCCGTACGGAGCTTACGCCGAGGCATAACTGAGTAAAGTTGGCAAATGGTGTGGGAGTTGTATAACTCTG TAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCAACGGAGACCTTGTTCATTTTTTTTTCTCCAAACTCT
LG-1	ACTGCATCCGAGGTCAAAGTTGAAAAAAGGCTTAATGGATGCTAGACCTTTGCTGATAGAGAGTGCGACTTGTGCTGC GCTCCGAAACCAGTAGGCCGGCTGCCAATTACTTTAAGGCGAGTCTCCAGCAAAGCTAGAGACAAGACGCCAACACCA AGCAAAGCTTGAGGGTACAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCTTTGGAATACCAAAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGA TTCGATGATCACTGAATTCTGCAATTCACACTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGAT CCGTTGTTGAAAGTTGTAATTATTAATTTGTTACTGACGCTGATTGCAATTACAAAAGGTTTATGTTTGTCTAGTGGTGG GCGAACCACCAAGGAAACAAGAAGTACGCAAAAGACAAGGGTGAATAATTCAGCAAGGCTGTAACCCCGAGAGGTTCC AGCCCGCCTTCATATTTGTGTAATGATCCCTCCGAGGTTACCTACGGAGACCTTGTTACGACTTTTTACTTCCCA
LD-1	ACTGCATCCGAGGTCAACATTCAGAAGTTGGGGTTAACGGCGTGGCCGCGACGATTACCAGTAACGAGGGTTTTACTA CTACGCTATGGAAGCTCGACGTGACCCCAATCAATTTGAGGAACGCGAATTAACGCGAGTCCCAACACCAAGCTGTGC TTGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCGCCAGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGA TTCACTGAATTCGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGGTCTCTGGCGGGCCGTCCTC GTTTTACCGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAAAAGTTGATGTTTACAGGGGTTGGGAGTTGTAAACTCGGTAATG ATCCCTCCGCTAGATCCCAACGAAGACCTTGTTACGACTTTTACTGTACAAG

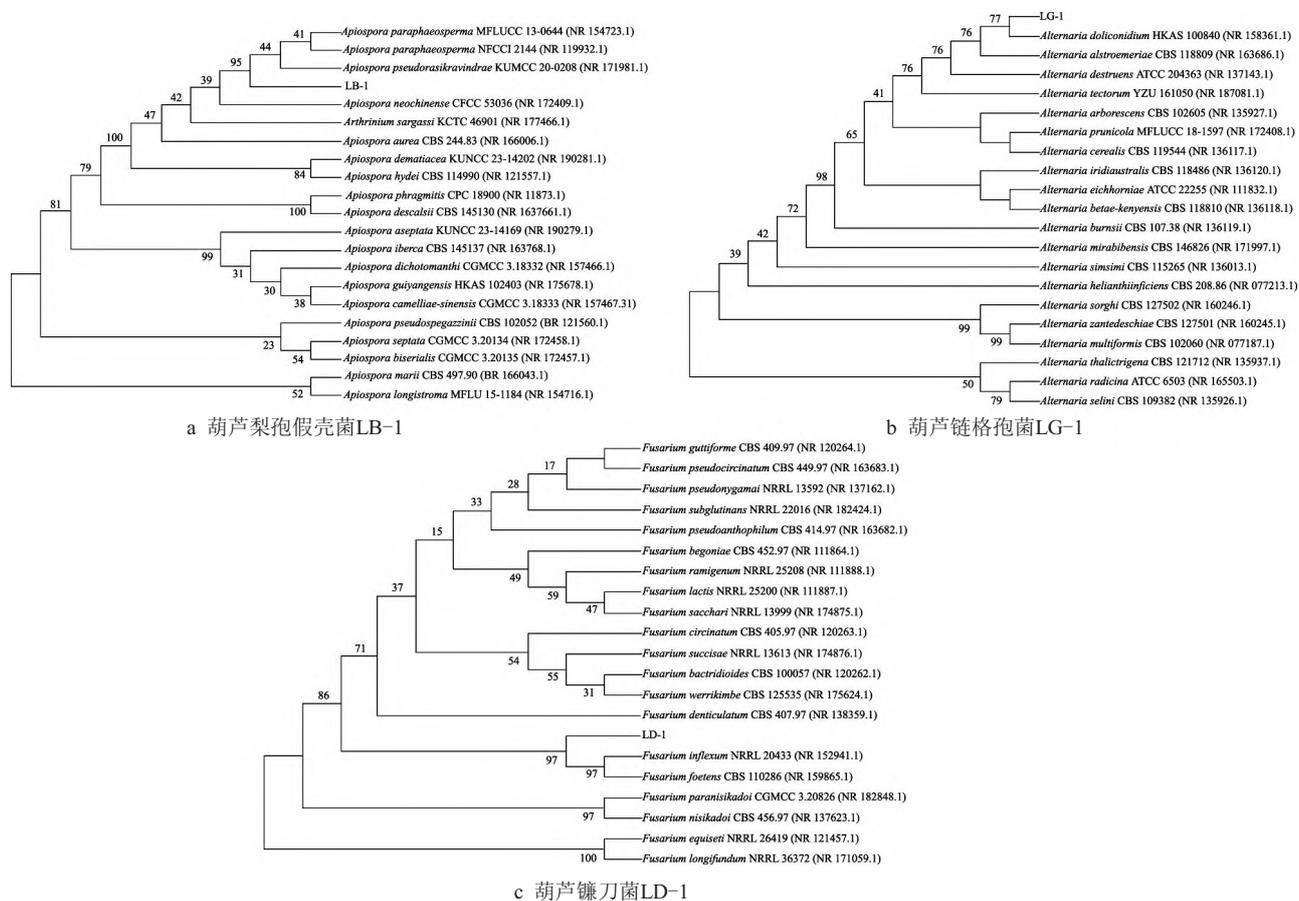


图2 系统发育树

### 2.3 葫芦病原菌致病性

将分离、纯化、鉴定的3种供试病原真菌的菌株分别回接到新鲜健康的葫芦、叶片及根系中,在培养箱中于 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 培养3~5 d。结果表明:葫芦梨孢假壳菌LB-1可以侵染葫芦及其叶片,伴随着时间不断推移,病斑面积不断增大,病斑周围健康组织发黑(图1中l、m)。葫芦链格孢菌LG-1同样可以侵染葫芦,但与梨孢病菌LB-1相比,染病病斑面积较小(图1中n)。此外,葫芦镰刀菌LD-1会引起葫芦根系的溃烂(图1中o)。

### 2.4 9种杀菌剂对葫芦病原菌室内抑菌活性

为了筛选对3种葫芦供试病原真菌有较高抑菌活性的杀菌剂,测试了9种杀菌剂的抑菌活性。根据杀菌剂抗性行动委员会(FRAC)的报道,目前已经商品化的小分子杀菌剂超过230种,而作用于相同作用靶标的同类杀菌剂容易产生交互抗性<sup>[19-20]</sup>。因此,选取作用靶标不同且市场上常见的9种代表性杀菌剂作为筛选对象。它们分别为作用于甾醇生物合成途径上C14脱甲基酶的三唑类杀菌剂戊唑醇和苯醚甲环唑,作用于呼吸电子传递链上琥珀酸脱氢酶的酰胺类杀菌剂氟吡菌酰胺,作用于呼吸电子传

递链上Qo位点细胞色素bc<sub>1</sub>氧化酶的甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂啞菌酯和吡唑醚菌酯,影响RNA聚合酶I的苯基酰胺类杀菌剂甲霜灵,干扰真菌有丝分裂 $\beta$ -微管蛋白组装的苯并咪唑类杀菌剂多菌灵,作用于纤维素合成酶的羧酸酰胺类杀菌剂烯酰吗啉以及作用于组氨酸激酶的二甲酰亚胺类杀菌剂异菌脲。由表3数据可知:氟吡菌酰胺和异菌脲对葫芦链格孢菌LG-1表现出良好的抑菌效果,抑制率分别为97.9%和98.5%,苯醚甲环唑对LG-1的抑制率为83.8%,而其他杀菌剂对LG-1的抑菌活性均较弱。对于葫芦镰刀菌LD-1,多菌灵、戊唑醇和苯醚甲环唑表现出优异的抑菌活性,抑制率均高达100%,而其他杀菌剂对镰刀菌LD-1的抑菌活性较弱。对于葫芦梨孢假壳菌LB-1,多菌灵和戊唑醇表现出令人满意的抑菌活性,抑制率均高达100%,而其他商品化杀菌剂对LB-1的抑菌活性均不理想。整体上,多菌灵和戊唑醇可同时有效抑制葫芦镰刀菌和梨孢假壳菌的菌丝生长,而杀菌剂啞菌酯、吡唑醚菌酯、甲霜灵和烯酰吗啉对3种葫芦病原菌均表现出较差的抑菌活性,说明甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂、苯基酰胺类杀菌剂以及羧酸酰胺类杀菌剂可能对这3种葫芦

病原菌引起病害的防控效果不佳。

表 3 9 种杀菌剂抑菌效果初筛 (50 μg/mL)

杀菌剂	抑制率/%		
	葫芦链格孢菌 LG-1	葫芦镰刀菌 LD-1	葫芦梨孢假壳菌 LB-1
多菌灵	14.9 ± 1.02	100.0	100.0
氟吡菌酰胺	97.9 ± 1.42	26.8 ± 0.7	33.2 ± 1.46
戊唑醇	48.9 ± 1.44	100.0	100.0
异菌脲	98.5 ± 0.77	76.7 ± 0.68	63.5 ± 0.92
啶菌酯	21.3 ± 1.91	45.8 ± 1.02	27.0 ± 1.52
吡唑醚菌酯	52.8 ± 1.40	47.4 ± 1.23	46.3 ± 1.23
苯醚甲环唑	83.8 ± 1.70	100.0	63.3 ± 0.69
甲霜灵	22.1 ± 0.99	12.7 ± 1.10	11.8 ± 0.90
烯酰吗啉	21.8 ± 2.78	11.7 ± 2.24	19.5 ± 0.94

选取初筛抑菌活性优异的杀菌剂进一步测试 EC<sub>50</sub>, 以明确杀菌剂的防效差异, 结果见表 4。对于葫芦链格孢菌 LG-1, 氟吡菌酰胺和异菌脲 EC<sub>50</sub> 的差异不显著, 苯醚甲环唑的 EC<sub>50</sub> 低于氟吡菌酰胺和异菌脲, 说明苯醚甲环唑可有效抑制葫芦链格孢菌的生长。对于葫芦镰刀菌 LD-1, 三唑类杀菌剂苯醚甲环唑与戊唑醇 EC<sub>50</sub> 的差异不显著, 而多菌灵的 EC<sub>50</sub> 为 1.85 μg/mL, 明显低于前两者, 表明多菌灵是抑制葫芦镰刀菌生长的较优选择。而对于葫芦梨孢假壳菌 LB-1, 多菌灵的 EC<sub>50</sub> 为 5.32 μg/mL, 略低于戊唑醇, 说明多菌灵是抑制葫芦梨孢假壳菌生长的较好选择。由此可见, 本试验中, 从田间分离得到的葫芦链格孢菌的最佳防治药剂为三唑类杀菌剂苯醚甲环唑, 而苯并咪唑类杀菌剂多菌灵则是防治葫芦镰刀菌和葫芦梨孢假壳菌的最优选择。

表 4 杀菌剂抑菌效果

病原菌 编号	杀菌剂	毒力 回归方程	相关 系数 R	EC <sub>50</sub> (95% 置信 区间) / (μg/mL)
LG-1	氟吡菌酰胺	y=2.66x+2.75	0.98	6.98 (5.51~8.82)
	异菌脲	y=2.43x+2.85	0.98	7.69 (5.99~9.86)
	苯醚甲环唑	y=1.09x+4.30	0.95	4.38 (2.67~7.14)
LD-1	多菌灵	y=3.65x+4.02	0.94	1.85 (0.77~4.41)
	戊唑醇	y=4.49x+2.67	0.94	3.30 (1.75~6.20)
	苯醚甲环唑	y=3.90x+2.47	0.92	4.46 (2.24~8.82)
LB-1	多菌灵	y=4.07x+2.04	0.91	5.32 (2.84~9.96)
	戊唑醇	y=4.27x+1.51	0.90	6.58 (3.46~12.5)

### 3 结论

本研究从田间染病葫芦及根系中分离、纯化得到 3 种真菌菌株, 借助于形态学观察和分子生物学技术鉴定其分别为葫芦梨孢假壳菌、葫芦链格孢菌

和葫芦镰刀菌, 并评估了 3 种病原真菌的致病性。测试了 9 种常见代表性杀菌剂品种对葫芦 3 种病原菌的抑菌效果, 发现苯醚甲环唑能够有效抑制葫芦链格孢菌的菌丝生长, 而多菌灵则对葫芦镰刀菌和葫芦梨孢假壳菌的菌丝生长具有显著的抑制效果。这些发现为葫芦病害的防控提供了重要的参考。

### 参考文献

- [1] 杨菊, 穆红梅, 张锡齐. 外源一氧化氮对胁迫下观赏葫芦幼苗生理指标的影响[J]. 北方园艺, 2023(2): 64-71.
- [2] 韩聪颖, 王立伟, 张玉璞, 等. 不同盐浓度对观赏葫芦幼苗生长及生理特性的影响[J]. 绿色科技, 2023, 25(21): 116-120.
- [3] 刘奥迪, 庞超越, 吕凯迪, 等. 工艺葫芦炭疽病综合防治技术分析[J]. 种子科技, 2021, 39(12): 84-85.
- [4] 王蕾蕾. 新时代东昌葫芦雕塑题材的传承与创新[J]. 爱尚美术, 2024(3): 105-107.
- [5] 吴彤, 汤箬梅. 葫芦文化对中国古典园林的影响[J]. 美术教育研究, 2020(6): 80-82.
- [6] 俞冬日. 传统葫芦文化的审美与时代精神[J]. 工业设计, 2018(7): 115-116.
- [7] 宋立杰. 东昌府区葫芦文化旅游开发探析[J]. 国土与自然资源研究, 2018(6): 68-70.
- [8] 阎富龙, 董红艳, 苑鹤, 等. 大城县工艺葫芦产业发展现状及对策研究[J]. 现代农村科技, 2020(1): 111-112.
- [9] 丁卓, 崔浩楠, 高鹏. 葫芦白粉病病原菌观察及系统进化分析[J]. 西北农业学报, 2021, 30(4): 610-617.
- [10] 王德民, 安泰. 工艺葫芦病虫害防治技术[J]. 北京农业, 2006(6): 18-19.
- [11] 商娜, 任爱芝, 刘冰, 等. 白三叶草一种叶斑病原菌的分离鉴定[J]. 中国农学通报, 2022, 38(4): 81-85.
- [12] 华学文, 张桂梅, 梁周玉, 等. 9 种杀菌剂对苹果炭疽病菌和黄瓜灰霉病菌的抑制效果[J]. 现代农业科技, 2024(7): 74-77; 85.
- [13] 华学文, 刘南南, 殷昊, 等. 含芳硫醚衍生物的新型酰胺类杀线虫剂先导化合物的研究[J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2018, 31(2): 60-65.
- [14] FANG H, CHEN Z, LIU Y, et al. Discovery of aryloxy-, arylthio-, and arylamino-containing acetylhydrazides as fungicidal agents[J]. J Agric Food Chem, 2022, 71: 920-933.
- [15] 杜艳, 齐中强, 梁栋, 等. 水稻类穗颈瘟梨孢菌新种的生物学特性及不同水稻品种抗性分析[J]. 植物病理学报, 2023, 53(3): 447-454.
- [16] 马红梅, 胡玲玲, 刘怡萱, 等. 西藏卷叶黄精茎内链格孢属真菌生物学特性研究[J]. 西藏科技, 2015(9): 62-63; 70.
- [17] 陈新悦, 孟佳佳, 郭文博, 等. 继代培养对链格孢菌生长及产毒的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(1): 92-101.
- [18] 管力慧, 牛新湘, 刘萍, 等. 新疆甜瓜采后致腐菌及拮抗菌的分离筛选与鉴定[J]. 西南农业学报, 2024, 37(4): 796-804.
- [19] CHANG J, LIU Y, ZHANG T, et al. A comprehensive investigation of hydrazide and its derived structures in the agricultural fungicidal field [J]. J Agric Food Chem, 2023, 72: 8297-8316.
- [20] DORIGAN A, MOREIRA S, GUIMARAES S, et al. Target and non-target site mechanisms of fungicide resistance and their implications for the management of crop pathogens[J]. Pest Manag Sci, 2023, 79: 4731-4753.

(编辑: 顾林玲)