

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2025.12.007

曹尚, 董晓敏, 马青, 等. 菠菜炭疽病菌的鉴定及不同药剂敏感性测定 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2025, 47(12): 70-79.

菠菜炭疽病菌的鉴定及不同药剂敏感性测定

曹尚, 董晓敏, 马青, 王阳

西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西 杨凌 712100

摘要: 为明确菠菜炭疽病的病原种类及筛选出防治该病的高效杀菌剂, 采用单孢纯化法获得菠菜炭疽病病原纯培养物, 通过柯赫氏法则验证, 观察培养物菌落形态、产孢结构、分生孢子和附着胞形态, 同时结合多基因序列 (*ITS*、*ACT*、*CHS1*、*GAPDH*、*TUB2*、*HIS3*) 的系统进化树分析, 对病原物进行鉴定。另采用菌丝生长速率法和喷雾法测定了菠菜炭疽病菌对 10 种不同药剂的敏感性及其其中 5 种药剂对菠菜炭疽病的防治效果。结果表明: 引起菠菜炭疽病的病原菌为菠菜炭疽菌 *Colletotrichum spinaciae*; 45% 咪鲜胺 SC、250 g/L 吡唑醚菌酯 EC、16% 二氰·吡唑酯 WG、40% 苯甲·吡唑酯 SC 4 种药剂对菠菜炭疽病菌菌丝生长具有明显的抑制作用, 其抑制中浓度 (EC_{50}) 分别为 0.055 9、0.092 9、0.162 9、0.307 5 mg/L。250 g/L 吡唑醚菌酯 EC、50% 多菌灵 WP、40% 苯甲·吡唑酯 SC 对菠菜炭疽病具有较好的田间防效。

关键词: 菠菜; 炭疽病; 菠菜炭疽菌; 药剂筛选

中图分类号: S432.1

文献标识码: A

文章编号: 1673-9868(2025)12-0070-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Identification of the Pathogens Causing Spinach Anthracnose and Determination of Their Sensitivity to Different Agents

CAO Shang, DONG Xiaomin, MA Qing, WANG Yang

College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100, China

Abstract: To clarify the pathogenic species of spinach anthracnose and screen out efficient fungicides for its prevention and control, pure culture of spinach anthracnose pathogen was obtained by single spore isolation method. The colony morphology, sporulation structure, conidia and appressorium morphology of the culture were observed by the verification of the Koch's postulates. Meanwhile, the pathogen was identified by phylogenetic tree analysis of multiple gene sequences (*ITS*, *ACT*, *CHS1*, *GAPDH*, *TUB2* and *HIS3*). The mycelium growth rate method and spray method were used to determine the sensitivity of

收稿日期: 2024-12-26

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD1401200)。

作者简介: 曹尚, 博士研究生, 主要从事植物病害综合治理研究。

通信作者: 王阳, 博士, 研究员。

spinach anthrax to 10 different agents and the control effect of 5 agents on spinach anthrax. The results showed that *Colletotrichum spinaciae* was the pathogen causing spinach anthracnose. Four fungicides, prochloraz 45% SC, pyraclostrobin 250 g/L EC, dithianon pyraclostrobin 16% WG and difenoconazo pyraclostrobin 40% SC, significantly inhibited the mycelial growth, with median effective concentration (EC_{50}) values of 0.055 9, 0.092 9, 0.162 9 and 0.307 5 mg/L, respectively. Pyraclostrobin 250 g/L EC, carbendazim 50% WP and difenoconazo pyraclostrobin 40% SC had good control efficacy in the field against spinach anthracnose.

Key words: spinach; anthracnose; *Colletotrichum spinaciae*; agent screening

菠菜(*Spinacia oleracea* L.)是我国各省区均有栽培的苋科 1 年生草本植物,富含丰富的蛋白质、铁、维生素和矿物质,具有丰富的营养价值,深受广大消费者的喜爱。近几年来,随着菠菜鲜食、加工业市场的不断发展,菠菜的价值也在不断提升。菠菜种植面积的扩大、化肥农药的不合理使用导致其抗性降低,因此菠菜生产中面临的病害问题也日趋严重,其中菠菜炭疽病、霜霉病和叶斑病等已成为目前制约菠菜高产优质的重要病害^[1]。

菠菜炭疽病主要危害菠菜的叶片和茎,也危害叶柄、花和果皮^[2]。病害通常从基部叶片开始发生,叶片染病时,初生水渍状淡黄色小斑,扩大后呈黄褐色、椭圆形或不规则形轮纹状病斑,中央有黑色小点,病斑中央呈灰白色,半透明,易穿孔,病斑连接成片,使叶片枯黄^[3]。成株期染病主要发生于茎部,病斑为纺锤形或梭形,凹陷较深,中间灰白色,边缘灰褐色,密生黑色轮纹状排列小粒点,病部组织逐渐干腐,造成上部茎叶折倒,叶片变黄早枯,影响产量^[4]。在陕西省,秋季高湿多雨,地势低洼、田间湿度大的田块发病早且严重。此外,反季节栽培、早播、密植等农事操作易造成田间通风透光不良、植株抗性下降,从而加剧病害的流行。

菠菜炭疽菌(*Colletotrichum spinaciae*),属半知菌类真菌。近年来,*C. spinaciae* 被认为是菠菜炭疽病的主要致病菌,也有报道球炭疽菌(*C. coccodes*)和平头炭疽菌(*C. truncatum*)可引起菠菜的炭疽病^[5]。目前对于菠菜炭疽病的防治仍以化学防治为主。为了明确陕西省菠菜炭疽病的病原菌,筛选低毒高效的杀菌剂,本研究对陕西省菠菜炭疽病的病原菌进行了分离鉴定,同时还进行了室内生物活性测定和防效验证,旨在筛选出高效杀菌剂,为该病的研究与防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试病样

菠菜炭疽病病样,采集于陕西省咸阳市武功县武功镇洛阳村。

1.1.2 供试菠菜品种

大叶菠菜,河南农家旺种业有限公司;优菠 66,河南鼎优农业科技有限公司。

1.1.3 供试药剂

250 g/L 吡唑醚菌酯乳油(EC),巴斯夫植物保护(江苏)有限公司;560 g/L 嘧菌·百菌清悬浮剂(SC),325 g/L 苯甲·嘧菌酯悬浮剂(SC),先正达南通作物保护有限公司;45%咪鲜胺悬浮剂(SC),深圳诺普信农化有限公司;29%戊唑·嘧菌酯悬浮剂(SC),安道麦马克西姆有限公司;40%苯甲·吡唑醚悬浮剂(SC),广东真格生物科技有限公司;16%二氰·吡唑酯水分散粒剂(WG),巴斯夫欧洲公司;10%苯醚甲环唑水分散粒剂(WG),东莞市瑞德丰生物科技有限公司;70%甲基硫菌灵可湿性粉剂(WP),允发化工(上海)有限公司;50%多菌灵可湿性粉剂(WP),四川润尔科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分离与纯化

用接种针直接挑取病斑表面黑色分生孢子盘, 置于 2 mL 离心管中, 采用稀释分离法^[6]获得分离株单菌落。将纯化后的菌株编号, 4 °C 冰箱保存。

1.2.2 病原物的形态学观察

将分离获得的菌株经 PDA 活化后, 用直径 6 mm 打孔器于菌落边缘打取菌饼接种于新的 PDA 平板上。21 °C 黑暗培养 7 d 后测菌落直径, 观察并记录菌落形态、颜色、质地等。在光学显微镜下观察其产孢结构、分生孢子形态与大小、附着胞形态等微观特征, 3 次重复。

1.2.3 病原物的分子生物学鉴定

采用 CTAB 法提取真菌 DNA, 采用陕西擎科生物科技有限公司合成的引物对致病菌株 DNA 进行 PCR 扩增(表 1)。扩增体系(50 μ L)包括 Tap PCR Master Mix 25 μ L、上下游引物各 2 μ L、模板 DNA 2 μ L、dd H₂O 19 μ L。1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 和 PCR 扩增产物。将合格产物送至陕西擎科生物科技有限公司进行测序。测序结果在 NCBI 中进行 BLAST 比对, 将每个基因结合模式菌株的参考序列用软件 MEGA 7.0 中的 Clustal W 对齐、切除两端, 之后按照 *ITS*、*ACT*、*CHS1*、*GAPDH*、*TUB2*、*HIS3* 的顺序首尾相连, 与已知炭疽病菌种的标准序列进行比对(表 2), 以 *Monilochaetes Infuscans* 为外群^[7], 用 MEGA 7.0 以最大似然法(Maximum Likeli-Hood)构建系统发育树。

表 1 PCR 扩增和测序的引物信息

基因	引物	序列(5'-3')	参考文献	反应条件
<i>ITS</i>	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	[8]	95 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 45 s, 56 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 45 s, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		
<i>ACT</i>	ACT-512F	ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC	[9]	94 °C 预变性 4 min, 94 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 50 s, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min
	ACT-783R	TACGAGTCCTTCTGGCCCAT		
<i>CHS1</i>	CHS-354R	TGGAAGAACCATCTGTGAGAGTTG	[8]	94 °C 预变性 4 min, 94 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 50 s, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min
	CHS-79F	TGGGGCAAGGATGCTTGGAAGAAG		
<i>GAPDH</i>	GDF1	GCCGTCACGACCCCTTCATTGA	[10]	94 °C 预变性 4 min, 94 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 50 s, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min
	GDR1	GGGTGGAGTCGTACTIONTGAGCATGT		
<i>TUB2</i>	Bt2a	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC	[11]	95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 45 s, 58 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 40 s, 30 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min
	Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGCC		
<i>HIS3</i>	CYLH3F	AGGTCCACTGGTGGCAAG	[12]	94 °C 预变性 4 min, 94 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 50 s, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min
	CYLH3R	AGCTGGATGTCCCTTGACTG		

表 2 构建系统发育树的菌株及其 GenBank 编号

种	菌株	GenBank 编号					
		ITS	ACT	CHS1	GAPDH	TUB2	HIS3
<i>Colletotrichum anthrisci</i>	CBS125335	GU227846	GU227944	GU228336	GU228238	GU228140	GU228042
<i>Colletotrichum dematium</i>	CBS115524	GU227826	GU227924	GU228316	GU228218	GU228120	GU228022
<i>Colletotrichum higginsianum</i>	CBS128508	KM105190	KM105400	KM105260	KM105543	KM105470	KM105330
<i>Colletotrichum indonesiense</i>	CBS127551	JQ948288	JQ949609	JQ948949	JQ948618	JQ949939	JQ949279
<i>Colletotrichum johnstonii</i>	CBS128532	JQ948444	JQ949765	JQ949105	JQ948775	JQ950095	JQ949435
<i>Colletotrichum lilii</i>	CBS109214	GU227810	GU227908	GU228300	GU228202	GU228104	GU228006
<i>Colletotrichum lineola</i>	CBS125332	GU227831	GU227929	GU228321	GU228223	GU228125	GU228027
<i>Colletotrichum liriopes</i>	CBS119444	GU227804	GU227902	GU228294	GU228196	GU228098	GU228000
<i>Colletotrichum rchidophilum</i>	CBS119291	JQ948154	JQ949475	JQ948815	JQ948484	JQ949805	JQ949145
<i>Colletotrichum scovillei</i>	CBS126529	JQ948267	JQ949588	JQ948928	JQ948597	JQ949918	JQ949258
<i>Colletotrichum spaethianum</i>	CBS100063	GU227808	GU227906	GU228298	GU228200	GU228102	GU228004
<i>Colletotrichum spinaciae</i>	CBS129.57	GU227853	GU227951	GU228337	GU228245	GU228147	GU228049
<i>Colletotrichum spinaciae</i>	CBS150.35	GU227849	GU227947	GU228339	GU228241	GU228143	GU228045
<i>Colletotrichum spinaciae</i>	CBS125347	GU227851	GU227949	GU228341	GU228243	GU228145	GU228047
<i>Colletotrichum tofieldiae</i>	CBS168.49	GU227802	GU227900	GU228292	GU228194	GU228096	GU227998
<i>Colletotrichum trichellum</i>	CBS217.64	GU227812	GU227910	GU228302	GU228204	GU228106	GU228008
<i>Colletotrichum utrechtense</i>	CBS130243	KM105201	KM105411	KM105271	KM105554	KM105481	KM105341
<i>Colletotrichum walleri</i>	CBS125472	JQ948275	JQ949596	JQ948936	JQ948605	JQ949926	JQ949266
<i>Monilochaetes infuscans</i>	CBS869.96	JQ005780	JQ005843	JQ005801	JX546612	JQ005864	JQ005822

1.2.4 致病性测定

选择代表性分离株在 PDA 平板上 21 ℃ 培养 7 d, 用无菌涂布器刮擦菌落表面菌丝, 均匀涂抹至新的 PDA 平板内, 继续培养 10 d, 待产孢后配制成 1×10^6 个/mL 的孢悬液(吐温 20 质量分数为 0.01%)。将孢悬液均匀喷于 60 日龄的大叶菠菜叶片表面, 接种后置 25 ℃ 育苗箱内保湿培养 48 h, 后取出 25 ℃、14 h 光照/10 h 黑暗温室中继续培养, 早晚各喷水 1 次。观察记录发病情况, 待叶片发病后, 根据柯赫氏法则, 采用组织分离法于病健交界处再次分离病原菌, 与初次分离菌对比, 确定是否为该致病菌。

1.2.5 菠菜炭疽病菌对 10 种药剂的敏感性测定

采用菌丝生长速率法^[13], 每个处理 4 次重复, 21 ℃ 培养 10 d 后测量各药剂处理的菌落直径, 计算不同药剂处理对菌丝的生长抑制率。用 DPS 数据处理系统建立毒力回归方程, 计算相关系数 r 和抑制中浓度 EC_{50} 。

1.2.6 不同药剂对菠菜炭疽病的盆栽防效

菠菜种植前先在室内进行催芽, 待种子萌发后, 种植于育苗盘中, 培养 35 d, 移植到型号为 10 cm × 10 cm × 10 cm 的花盆内, 每盆留苗 1 株, 培养至 45 d 用于接菌。分生孢子悬浮液的配置方法和接种方法同 1.2.4。药剂设 16% 二氰·吡唑酯 WG 500 倍液、50% 多菌灵 WP 500 倍液, 250 g/L 吡唑醚菌酯 EC 1 000 倍液、45% 咪鲜胺 SC 1 000 倍液, 40% 苯甲·吡唑酯 SC 2 000 倍液 5 个处理, 以喷施无菌水为对照。使用喷壶(型号 250 mL)向菠菜幼苗分别喷 10 mL 的病原菌和 10 mL 药剂, 每处理喷 8 株菠菜, 4 次重复。盆栽试验分保护试验和治疗试验, 保护组先喷药 24 h 后再喷菌, 治疗组先喷菌 24 h 后再喷药。所有处理 25 ℃ 保湿培养 48 h, 然后摘除保湿盖, 14 h 光照/10 h 黑暗温室继续培养。

接种后 10 d, 依据菠菜炭疽病分级标准检查各处理的病情严重程度, 计算病情指数和防效。病害分级标准^[7]: 0 级, 叶片无病斑; 1 级, 病斑占叶面积的 1%~25%; 2 级, 病斑占叶面积的 26%~50%; 3 级, 病斑占叶面积的 51%~75%; 4 级, 病斑占叶面积的 76%~100%。

1.2.7 不同药剂对菠菜炭疽病的田间防效

采用随机区组设计, 在优菠 66 菠菜田自然发病条件下进行试验。小区面积 6 m², 小区间隔 0.8 m。供试 5 种药剂分别设置 1 000 倍液和 2 000 倍液 2 个浓度, 喷清水为空白对照, 共 12 个处理, 每处理 3 次重复, 在田间植株叶片上出现零星水渍状病斑时开始喷药(出苗后 60 d), 间隔 10 d 喷药 1 次, 共喷施 3 次。末次喷药后 30 d, 每处理各随机调查 30 株, 统一检查最下层 4~5 片叶的发病情况, 记录病害等级, 并据此计算发病率、病情指数和防效。

1.3 数据处理

数据用 SPSS 19.0 软件进行统计分析, 采用 Duncan 氏新复极差法进行各处理间的差异显著性检验, $p < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 菠菜炭疽病田间症状

菠菜炭疽菌主要危害菠菜叶片, 也危害茎、花和果实(图 1)。苗期叶片染病时, 初生水渍状淡黄色小斑, 病斑半透明; 扩大后呈黄褐色, 椭圆形、纺锤形、梭形或不规则形轮纹状病斑, 中央有黑色小点, 其为病菌的分生孢子盘; 后期易穿孔; 危害严重时病斑连接成片形成孔洞, 造成叶片枯黄(图 1a)。成株期染病时, 病害通常从基部叶片开始自下而上发生, 主要危害叶片、茎、花和果实; 病斑为纺锤形或梭形, 凹陷较深, 中间灰白色, 边缘灰褐色, 密生黑色轮纹状排列小粒点, 严重时病组织干腐, 造成上部茎叶折倒, 叶片变黄早枯(图 1b), 影响种子的品质和产量。



a. 苗期症状



b. 成株期症状

图 1 菠菜炭疽病田间发病症状

2.2 菠菜炭疽病原菌形态鉴定

病原菌在 PDA 平板上 21 ℃ 黑暗培养 7 d, 菌落平均直径为 19.8 mm。菌落边缘不规则, 气生菌丝白色或灰白色, 致密(图 2a, 2b)。7 d 后, 将菌丝刮除, 21 ℃ 黑暗继续培养 7 d, 可见菌落表面生出白色的“脓状物”(图 2c), 其为大量的分生孢子盘和分生孢子。分生孢子盘上着生刚毛和分生孢子; 刚毛直立, 末端尖锐, 褐色或深褐色, 有隔, 大小为(52.0~83.5) μm × (4.0~5.5) μm (图 2d)。分生孢子单胞, 镰状, 向两端渐尖, 无色, 具油球, 大小为(22.0~25.5) μm × (3.0~4.5) μm ($n=50$)(图 2e)。附着胞末端膨大, 颜色较深, 褐色至黑褐色, 近球形, 边缘光滑(图 2f)。

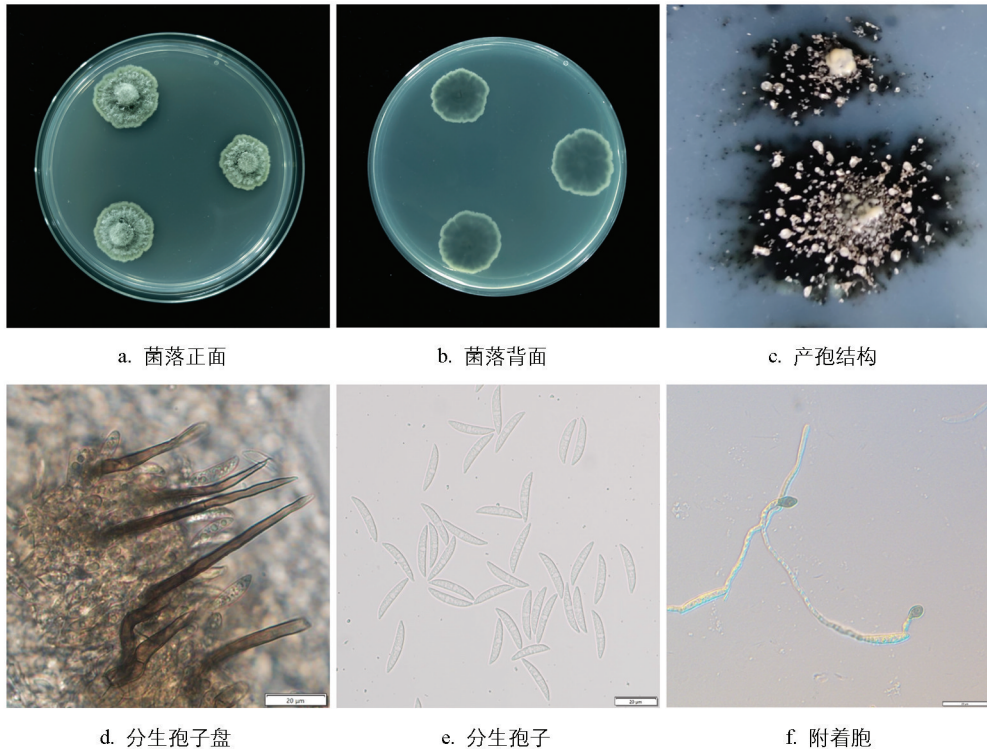


图 2 菌株 C221023 形态特征

2.3 菠菜炭疽病原菌分子生物学鉴定

基于 *ITS*、*ACT*、*CHS1*、*GAPDH*、*TUB2* 和 *HIS3* 6 个多基因位点对病原菌进行分子鉴定与系统发育分析, 其 PCR 扩增片段长度分别为 541、297、327、268、509、400 bp。图 3 显示, 菌株 C221023 与 *Colletotrichum spinaciae* 聚在同一分支上, 节点支持率为 100%。结合形态学将菌株 C221023 鉴定为菠菜炭疽菌 *C. spinaciae*。

2.4 致病性测定

将分离纯化后的菌株编号为 C221023, 培养至产孢(图 4a), 将孢悬液均匀喷于 60 日龄的菠菜叶片表面。室内接种孢悬液 48 h 后, 可见水渍状褪绿斑(图 4b); 接种 8 d 后, 表现出与田间相同的症状(图 4c)。从接种发病的病叶重新分离的病原物与第一次分离物相同, 证明该分离物是引起菠菜炭疽病的病原菌。

2.5 菠菜炭疽菌对 10 种药剂的敏感性测定

敏感性测定结果表明, 供试 10 种杀菌剂对菠菜炭疽菌均有一定的抑制作用(表 3), 其中 45% 咪鲜胺 SC、250 g/L 吡唑醚菌酯 EC、16% 二氰·吡唑酯 WG、40% 苯甲·吡唑酯 SC 对菌丝生长具有明显的抑制效果, 其 EC_{50} 分别为 0.055 9、0.092 9、0.162 9、0.307 5 mg/L, 均小于 1.0 mg/L。50% 多菌灵 WP、560 g/L 啉菌·百菌清 SC 等 6 种药剂 EC_{50} 为 1.291 9~6.264 2 mg/L, 均大于 1.0 mg/L。

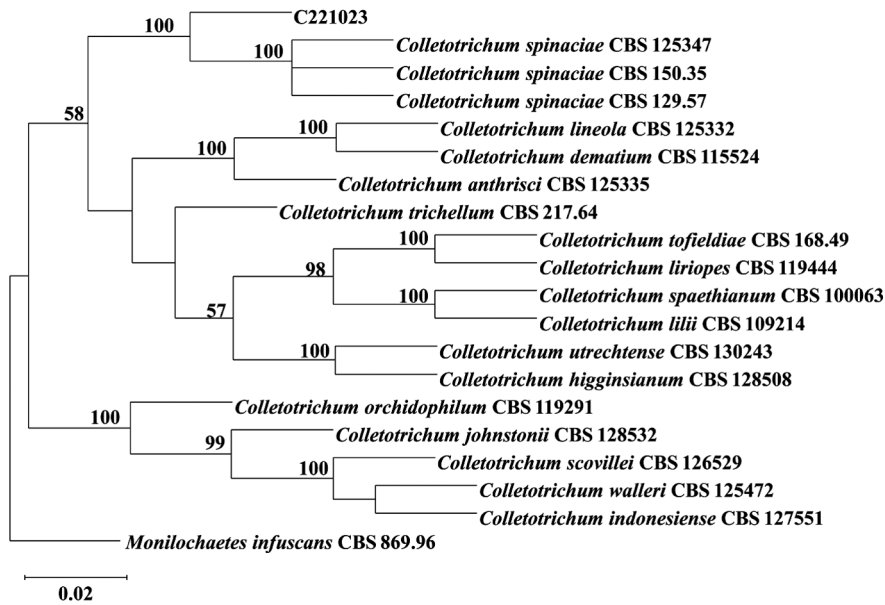


图 3 基于 *ITS*、*ACT*、*CHS1*、*GAPDH*、*TUB2* 和 *HIS3* 基因序列构建的菌株 C221023 的系统发育树



a. 分离株 C221023 分生孢子的诱导

b. 接种分离株 48 h 后的发病症状

c. 接种分离株 8 d 后的发病症状

图 4 分离株分生孢子诱导和致病性测定

表 3 10 种药剂对菠菜炭疽菌菌丝的抑菌活性

供试药剂	回归方程	$EC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	相关系数
45%咪鲜胺 SC	$y = 1.6276x + 7.0382$	0.0559	0.9678
250 g/L 吡唑醚菌酯 EC	$y = 0.6600x + 5.6813$	0.0929	0.9833
16%二氧·吡唑酯 WG	$y = 0.7318x + 5.5767$	0.1629	0.9319
40%苯甲·吡唑酯 SC	$y = 0.7193x + 5.3684$	0.3075	0.9800
50%多菌灵 WP	$y = 0.4618x + 4.9486$	1.2919	0.9427
560 g/L 啶菌·百菌清 SC	$y = 1.2515x + 4.7004$	1.7355	0.9789
10%苯醚甲环唑 WG	$y = 1.5329x + 4.2404$	3.1301	0.9959
325 g/L 苯甲·啶菌酯 SC	$y = 1.9576x + 3.8413$	3.9075	0.9708
29%戊唑·啶菌酯 SC	$y = 2.5719x + 2.9679$	6.1360	0.9569
70%甲基硫菌灵 WP	$y = 0.6144x + 4.5104$	6.2642	0.9840

2.6 不同药剂对菠菜炭疽病的室内盆栽防效

供试 5 种杀菌剂对菠菜炭疽病的保护和治疗效果如表 4。40% 苯甲·吡唑酯 SC 室内盆栽防效最好,对菠菜炭疽病同时具有治疗作用和保护作用,且治疗作用效果(73.06%)强于保护作用效果(68.55%)。其次,250 g/L 吡唑醚菌酯 EC 和 16% 二氰·吡唑酯 WG 防效也较佳,45% 咪鲜胺 SC 和 50% 多菌灵 WP 防治效果基本相同。

表 4 供试 5 种药剂对菠菜炭疽病的盆栽防效

供试药剂	稀释倍数	治疗作用		保护作用	
		病情指数	防效/%	病情指数	防效/%
40% 苯甲·吡唑酯 SC	2 000	16.61±1.28d	73.06±4.14a	18.85±2.20c	68.55±3.67a
250 g/L 吡唑醚菌酯 EC	1 000	19.33±2.30cd	68.64±7.47ab	21.15±4.16b	64.71±6.94ab
16% 二氰·吡唑酯 WG	500	22.48±3.94bc	63.54±12.76b	24.79±4.33b	58.64±7.22b
45% 咪鲜胺 SC	1 000	25.68±3.68b	58.36±11.94bc	22.04±3.73b	63.23±6.22ab
50% 多菌灵 WP	500	26.53±3.06b	56.96±10.04c	25.87±4.48b	56.83±9.13b
CK	—	61.65±1.63a	—	59.94±3.66a	—

注:小写字母不同表示 $p < 0.05$, 差异有统计学意义,下同。

2.7 不同药剂对菠菜炭疽病的田间防效

供试的 5 种杀菌剂除 45% 咪鲜胺 SC 外,田间防效均高于 55%(表 5)。250 g/L 吡唑醚菌酯 EC 防效最佳,1 000 倍液和 2 000 倍液对菠菜炭疽病的防效分别为 88.67% 和 87.86%,与其他处理间差异有统计学意义;50% 多菌灵 WP 和 40% 苯甲·吡唑酯 SC 防效较好,1 000 倍液的防效均为 68.67%,二者差异无统计学意义;45% 咪鲜胺 SC 和 16% 二氰·吡唑酯 WG 防效低于以上 3 种药剂。

表 5 供试 5 种药剂对菠菜炭疽病的田间防效

药剂	1 000 倍液			2 000 倍液		
	发病率/%	病情指数	防效/%	发病率/%	病情指数	防效/%
250 g/L 吡唑醚菌酯 EC	26.67±4.41d	7.08±1.10d	88.67±1.76a	26.67±1.67d	7.08±0.42d	87.86±0.72a
50% 多菌灵 WP	55.00±2.89c	19.58±0.42c	68.67±0.67b	56.67±1.67c	21.67±0.83c	62.86±1.43b
40% 苯甲·吡唑酯 SC	63.33±1.67c	19.58±1.10c	68.67±1.76b	83.33±1.67b	24.17±1.10c	58.57±1.89bc
45% 咪鲜胺 SC	81.67±3.33b	23.75±0.72bc	62.00±1.15c	90.00±2.89a	31.67±1.10b	45.71±1.89d
16% 二氰·吡唑酯 WG	81.67±3.33b	25.42±0.42b	59.33±0.67c	90.00±0.00a	25.83±1.10bc	55.71±1.89c
CK	93.94±1.51a	62.5±3.01a	—	91.67±1.67a	58.33±4.23a	—

3 讨论与结论

菠菜炭疽病是菠菜生产上主要叶斑病之一,在加拿大^[14]、美国^[15]、澳大利亚^[16]、土耳其、加利福尼亚等菠菜产区均有报道,造成了严重的产量和经济损失。*C. dematium* f. sp. *spinaciae* 通常被认为是菠菜和甜菜的一种病原体^[17]。Von Arx^[18] 将菠菜炭疽病的致病菌描述为 *C. dematium*, 考虑到宿主特异性,将菠菜炭疽菌的病原菌命名为 *C. dematium* f. sp. *spinaciae*。

病原菌在 PDA 平板上生长速度较慢,培养 7 d 的菌落呈圆形或不规则形,白色、灰白色至灰色,培养 21 d 的病原菌在 PDA 平板上产孢量较少或不产孢。本研究显示,玻片刮除菌丝或菌饼在平板上涂布接种可产生大量的分生孢子。分生孢子单孢无色,镰状,具有油球,附着胞末端膨大,颜色较深,褐色至黑褐

色, 与国外 Damm 等^[17]、Kurt 等^[19]描述的菠菜炭疽菌, 国内侵染线辣椒^[20]、箭筈豌豆^[21]的菠菜炭疽菌菌落形态、分生孢子形态特征基本一致。综合病原菌形态与分子生物学鉴定结果, 认为陕西省菠菜炭疽病的致病菌为 *C. spinaciae*。

目前已经有很多炭疽病药剂筛选的研究报道^[22-23], 但是引起炭疽病的病原菌种类很多^[24], 同种药剂对不同病原菌室内生物活性的抑制仍然存在较大差异。在菠菜炭疽病的防治上, 应选择抑菌效果好的药剂。本研究测定了菠菜炭疽菌对 10 种杀菌剂的敏感性, 筛选出 45% 咪鲜胺 SC、250 g/L 吡唑醚菌酯 EC、16% 二氰·吡唑酯 WG、40% 苯甲·吡唑酯 SC 等 4 种 EC_{50} 小于 1.0 mg/L 的高效药剂, 这与王琼^[25]的研究结果一致。在室内盆栽防效试验中, 40% 苯甲·吡唑酯 SC、250 g/L 吡唑醚菌酯 EC 防效较好, 兼具治疗作用和保护作用。菠菜炭疽病田间防效试验结果与盆栽防效结果不同, 250 g/L 吡唑醚菌酯 EC 和 50% 多菌灵 WP 田间防效优于 40% 苯甲·吡唑酯 SC, 产生差异的原因可能与光照、温湿度、土壤条件、病菌接种量、植株生长差异、药剂喷雾量等有关。Uysal 等^[26]研究表明, 接种量、温度、保湿时间、植株叶龄对菠菜炭疽病发病都有影响, 且老叶发病比嫩叶发病更为严重, 这与本研究田间试验菠菜炭疽病老叶发病较新叶发病严重结果一致。250 g/L 吡唑醚菌酯 EC、50% 多菌灵 WP、40% 苯甲·吡唑酯 SC 可有效防治不同炭疽菌引起的多种作物炭疽病, 这与周洁等^[27]的研究结果一致, 为此, 菠菜炭疽病发生时可交替使用这 3 种药剂进行防治。这 3 种药剂对菠菜炭疽病虽表现出良好的田间防效, 但其高效且安全的应用方案, 如施用剂量、施药时期、施用频率和安全间隔期等, 仍需结合田间管理并经多年试验验证, 以兼顾药效与农药减量。

参考文献:

- [1] 吴昊, 卢甜甜, 刘志远, 等. 菠菜抗霜霉病育种研究进展 [J]. 中国蔬菜, 2024(4): 34-44.
- [2] 于长春. 菠菜炭疽病发病规律及综合防治 [J]. 农村新技术, 2013(3): 15.
- [3] AWIKA H O, COCHRAN K, JOSHI V, et al. Single-Marker and Haplotype-Based Association Analysis of Anthracnose (*Colletotrichum dematium*) Resistance in Spinach (*Spinacia oleracea*) [J]. Plant Breeding, 2020, 139(2): 402-418.
- [4] ABU AL-QUMBOZ M N, ABU-NASER S S. Spinach Expert System: Diseases and Symptoms [J]. International Journal of Academic Information Systems Research, 2019, 3(3): 16-22.
- [5] LIU B, STEIN L, COCHRAN K, et al. Three New Fungal Leaf Spot Diseases of Spinach in the United States and the Evaluation of Fungicide Efficacy for Disease Management [J]. Plant Disease, 2021, 105(2): 316-323.
- [6] 杨革. 微生物学实验教程 [M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- [7] LIU F L, TANG G T, ZHENG X J, et al. Molecular and Phenotypic Characterization of *Colletotrichum* Species Associated with Anthracnose Disease in Peppers from Sichuan Province, China [J]. Scientific Reports, 2016(6): 32761.
- [8] SELIGER H. PCR Protocols-A Guide to Methods and Applications [J]. Trends in Biotechnology, 1990(8): 335.
- [9] CARBONE I, KOHN L M. A Method for Designing Primer Sets for Speciation Studies in Filamentous Ascomycetes [J]. Mycologia, 1999, 91(3): 553-556.
- [10] TEMPLETON A R, CRANDALL K A, SING C F. A Cladistic Analysis of Phenotypic Associations with Haplotypes Inferred from Restriction Endonuclease Mapping and DNA Sequence Data. III. Cladogram Estimation [J]. Genetics, 1992, 132(2): 619-633.
- [11] GLASS N L, DONALDSON G C. Development of Primer Sets Designed for Use with the PCR to Amplify Conserved Genes from Filamentous Ascomycetes [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(4): 1323-1330.

- [12] CROUS P W, GROENEWALD J Z, RISÈDE J M, et al. *Calonectria* Species and Their *Cylindrocladium anamorphs*: Species with Clavate Vesicles [J]. *Studies in Mycology*, 2006, 55: 213-226.
- [13] 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 平皿法: NY/T 1156.2—2006 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [14] CERKAUSKAS R F. First Report of Spinach Anthracnose in Ontario [J]. *Plant Disease*, 1991, 75(1): 101.
- [15] CORRELL J C. Economically Important Diseases of Spinach [J]. *Plant Disease*, 1994, 78(7): 653.
- [16] WASHINGTON W S, IRVINE G, ALDAOUD R, et al. First Record of Anthracnose of Spinach Caused by *Colletotrichum dematium* in Australia [J]. *Australasian Plant Pathology*, 2006, 35(1): 89-91.
- [17] DAMM U, WOUDEBERG J H C, CANNON P F, et al. *Colletotrichum* Species with Curved Conidia from Herbaceous Hosts [J]. *Fungal Diversity*, 2009, 39: 45-87.
- [18] VON ARX J A. A Revision of the Fungi Classified as *Gloeosporium* [J]. *Bibliography Mycology*, 1970, 19(4): 642.
- [19] KURT S, UYSAL A, AKGÜL D S. First Report of Anthracnose Caused by *Colletotrichum spinaciae* on Spinach in the Mediterranean Region of Turkey [J]. *Plant Disease*, 2016, 100(1): 219.
- [20] 杨佳文, 赵尊练, 张管曲, 等. 陕西线辣椒炭疽病原菌的鉴定及生物学特性研究 [J]. *西北农业学报*, 2017, 26(11): 1695-1705.
- [21] 王琼, 段廷玉, 南志标. 箭筈豌豆炭疽病原菌分离鉴定 [J]. *草业学报*, 2020, 29(6): 127-136.
- [22] 侯秀明, 王晗怡, 陈婷婷, 等. 白及炭疽病原菌的鉴定及其室内防治药剂筛选 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2023, 45(6): 66-75.
- [23] 苏奇倩, 何鹏搏, 何俊, 等. 中国滇西地区葡萄炭疽病原菌的鉴定及其杀菌剂筛选 [J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2024, 46(8): 31-44.
- [24] 陈佩君, 杨春艳, 林泽岳, 等. 广东百香果炭疽病原菌的分离及鉴定 [J]. *植物医学*, 2024, 3(5): 48-55.
- [25] 王琼. 兰箭 2 号春箭筈豌豆炭疽病及其化学防治 [D]. 兰州: 兰州大学, 2020.
- [26] UYSAL A, KURT S. Influence of Inoculum Density, Temperature, Wetness Duration, and Leaf Age on Infection and Development of Spinach Anthracnose Caused by the Fungal Pathogen *Colletotrichum spinaciae* [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2017, 149(4): 1041-1052.
- [27] 周洁, 吴金平, 王明安, 等. 鱼腥草炭疽病原菌鉴定及室内药剂筛选 [J]. *南方农业学报*, 2022, 53(10): 2919-2927.

责任编辑 周仁惠