

作物病害病原鉴定及科学防控基础研究专题

主持人语

作物病害每年给我国作物生产造成巨大的经济损失。科学防控作物病害的前提是弄清楚病害病原种类和筛选有效抑制病原的生物源或非生物药剂，因此，作物病害病原的经典分类鉴定及新型防控生物源或非生物药剂的筛选评价一直是植物病理学研究的重要工作。

作物病害病原具有寄生性，按营养方式可以分为活体营养型、死体营养型和半活体营养型。不同营养类型的病原鉴定的方法不同，对于死体营养型和半活体营养型的病原大部分可以分离培养，采用经典的柯赫氏法则确定病原物的致病性，然后结合病原的形态学和分子生物学特征鉴定病原种类；而部分活体营养病原(如病毒)不能分离培养，经典的方法是指示植物接种症状观察和病毒形态观察并结合血清学鉴定来确定病毒种类。近些年则采用高通量测序分析结合序列克隆和发育树分析来鉴定病毒种类。

在确定作物病害病原种类的前提下，结合病原的生物学特性及病害发生发展规律，采取综合防控措施科学防控病害，重要的措施之一就是筛选有效抑制病原的生物源或非生物药剂。生物源药剂来源主要有植物源和微生物源。植物作为覆盖地表的一大类生物，本身就是一种丰富的可再生资源，已经商品化的植物源农药在作物病害绿色防控中起到了重要的作用。微生物种类更加丰富多样，因微生物可以工厂化培养，来源于微生物代谢产物的生物农药已经成为我国作物病害绿色防控的主要生物农药。单一化学药剂的使用经常会导致病原物产生抗药性，因此，筛选可抑制病原物的不同类型的药剂可为病害防控提供更多的选择，从而通过替换用药降低抗药性产生的风险，减少农药使用量来达到病害的科学防控。本专题共6篇文章，主要集中于病害病原鉴定和生物源或非生物药剂的筛选评价，以期作为作物病害科学防控提供参考。

主持人简介

孙现超，西南大学植物保护学院三级教授，博士研究生导师，植物免疫与植物病害生态防控团队PI；重庆市植物保护学会第七届理事会常务理事、副理事长；重庆市科技特派员；重庆市科协首届科学传播专家团首席专家；重庆科学科技助力乡村振兴专家服务队成员；中国植物保护学会第十二届青年工作委员会委员；山东滨州市第二、三批“科技副总”人才；植物免疫与绿肥防控山东工程技术中心主任；山东京博农化科技有限公司聘为植物病毒药剂技术开发顾问；国际著名期刊*iMeta*首届青年编委；第八届《植物检疫》编委；《植物医学》副主编；《Plants》专题客座编辑。

主要从事植物病害诊断与药剂—植物—病原互作机制及外源调控研究，解析生物制剂、生物基纳米载药材料及其载药体系抑菌抗病毒效果及其增效机制。主持国家自然科学基金项目4项、公益性行业(农业)专项课题1项、中国博士后科学基金1项、重庆市科技局项目4项，中央高校基本科研业务费重点、重大专项共3项、企业合作项目20余项，累计经费1000余万元。授权发明专利4项、实用新型专利6项，发表论文100余篇，其中PJ、PBJ、PCE、AFM和JHM等SCI一区TOP期刊论文30余篇。成功转化发明专利1项，获得中国烟草公司科技进步三等奖和贵州省科技进步三等奖。



DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2026.01.001

于龙凤, 向鹏, 刘艳红, 等. 云南茶附球孢褐斑病的病原菌鉴定、生物学特性及杀菌剂筛选 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2026, 48(1): 2-16.

云南茶附球孢褐斑病的病原菌鉴定、生物学特性及杀菌剂筛选

于龙凤^{1,2}, 向鹏³, 刘艳红², 安福全², 杨蓉²,
马春莲², 谢艳兰², 何俊², 何鹏搏⁴, 谭万忠^{1,2}

1. 西南大学 植物保护学院, 重庆 400716; 2. 滇西科技师范学院 生物技术与工程学院, 云南 临沧 677000;
3. 云南省烟草公司 普洱市墨江县分公司, 云南 普洱 654800; 4. 云南农业大学 植物保护学院, 昆明 650201

摘要: 2022—2023 年在云南不同地区茶园发现茶褐斑病, 通过分离纯化和柯赫氏证病试验获得 4 个形态特征和症状相近的真菌菌株(CYB01—CYB04), 在马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基平板上(25±1)℃下培养 7 d 后, 菌落呈近圆形, 直径 53.1~76.8 mm; 菌丝较发达, 分隔, 无色或浅灰色, 分生孢子单细胞, 无色或浅灰色, 圆形或近圆形, 2.6~6.8 μm, 据形态特征并参考有关文献初步鉴定其为一种附球孢菌(*Epicoccum* sp.)。通过 PCR 扩增获得内转录间区(ITS)序列均为 539 bp, Blastn 比对分析表明它们之间的相似率为 100%, 由此确认它们为同一种真菌。该菌(代表菌株 CYB02)的 ITS(NCBI 登录号为 OM100555)与高粱附球孢(*E. sorghinum*) EGJMP14 菌株的 ITS 序列相似性为 99.44%。其肌动蛋白(*ACT*)、翻译延伸因子(*TEF1-α*)和 β-微管蛋白 2(*TUB2*)基因序列分别为 281 bp、334 bp 和 388 bp; 由 MEGA 11 软件构建基于蛋白基因拼接序列的系统发育树显示, CYB02 与高粱附球孢 *E. sorghinum* Guangxi-1 处于同一末端分支上(自主支持率为 98.0%), 因此将该病菌最终鉴定为高粱附球孢, 并将该病害命名为茶附球孢褐斑病, 其为云南茶树的一种新病害。病菌(CYB02)菌落生长的适宜温度为 16~33℃, 最适温度为 25~27℃; 在 pH 值为 4~13 的 PDA 培养基上均能生长, pH 值为 6~8 时生长最快; 黑暗和短日照(≤4 h/d)下适宜于病菌的生长, 长光照下生长受到抑制; 病菌培养的最佳碳源为葡萄糖或麦芽糖, 最佳氮源为蛋白胨或酵母粉; PDA 和马铃薯蔗糖琼脂(PSA)为该病菌的最适培养基。选择 8 种杀菌剂进行筛选试验, 30% 苯甲吡唑酯悬乳剂(SA)和 40% 苯醚甲环唑 SA 对病菌生长具有强抑菌和控病作用, 抑菌率分别为 91.80% 和 93.59%, 室内盆栽控病率为 89.17% 和 90.63% ($p < 0.01$); 由这两种药剂原药毒力分析建立的回归模型计算得到有效抑制中浓度(EC_{50})分别为 1.510 7 mg/mL 和 1.283 7 mg/mL。

关键词: 茶树; 附球孢褐斑病; 高粱附球孢; 生物学特性;
杀菌剂筛选

中图分类号: S436.631

文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号: 1673-9868(2026)01-0002-15



收稿日期: 2024-12-26

基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目(202207AB110007); 云南省科技人才和平台计划—院士(专家)工作站项目(202305AF150058); 云南地方高校联合专项(202001BA070001-187); 云南省科技厅云南省茶学重点实验室建设项目(202449CE3040010); 临沧市科学技术局科技创新团队建设项目(202204AC100001-TD01)。

作者简介: 于龙凤, 博士, 教授, 主要从事茶树栽培和病虫害绿色防控等研究。

通信作者: 谭万忠, 博士, 教授。

Identification, Biological Characteristics and Fungicide Screening of the Pathogen Causing Brown Spot Disease Associated with *Epicoccum* sp. on Tea Plants in Yunnan

YU Longfeng^{1,2}, XIANG Peng³, LIU Yanhong²,
AN Fuquan², YANG Rong², MA Chunlian², XIE Yanlan²,
HE Jun², HE Pengbo⁴, TAN Wanzhong^{1,2}

1. College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. College of Biotechnology and Engineering, West Yunnan University, Lincang Yunnan 677000, China;

3. Mojiang County Branch, Pu'er City Company of Yunnan Tobacco Company, Pu'er Yunnan 654800, China;

4. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

Abstract: During 2022–2023, brown spot disease was observed in tea gardens across various regions of Yunnan. Through isolation, purification, and Koch's postulates testing, four fungal strains (CYB01–CYB04) with similar morphological and symptomatic characteristics were obtained. After 7 days of incubation on PDA medium at $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, the colonies were subcircular with diameters ranging from 53.1 to 76.8 mm. The hyphae were well-developed, septate, and colorless or light gray. The conidia were unicellular, colorless or light gray, circular or subcircular, measuring $2.6\text{--}6.8\ \mu\text{m}$ in diameter. Based on morphological characteristics and relevant literature, the strain was primarily identified as *Epicoccum* sp. PCR amplification yielded ITS sequences of 539 bp each. Blast-n comparison revealed 100% similarity among the strains, confirming their identity as the same fungal species. The ITS sequence (NCBI accession number: OM100555) of a representative strain (CYB02) showed 99.44% similarity to that of *Epicoccum sorghinum* strain EGJMP14. The actin (*ACT*), translation elongation factor 1- α (*TEF1- α*), and beta-tubulin 2 (*TUB2*) gene sequences measured 281 bp, 334 bp, and 388 bp, respectively. A phylogenetic tree constructed using concatenated protein-coding gene sequences via MEGA 11 software placed CYB02 in the same terminal clade as *E. sorghinum* Guangxi-1 (bootstrap support value: 98.0%). Consequently, the pathogen was conclusively identified as *E. sorghinum*, and the disease was designated as tea brown spot caused by *Epicoccum* sp. It represented a newly identified disease affecting tea plants in Yunnan. The preference temperature range for CYB02 growth was $16\text{--}33^\circ\text{C}$, with the optimum at $25\text{--}27^\circ\text{C}$. The pathogen grew on PDA medium across a pH range of 4–13, with the fastest growth observed at pH 6–8. The pathogen growth was favored under dark or short-daylight ($\leq 4\ \text{h/d}$) conditions, while prolonged illumination inhibited growth. The most suitable carbon sources were glucose and maltose, and the optimal nitrogen sources were peptone and yeast powder. Potato dextrose agar (PDA) and potato sucrose agar (PSA) were the most suitable mediums for CYB02 growth. Screening tests involving eight fungicides demonstrated that Pyraclostrobin 30% SA and Difenoconazole 40% SA exhibited strong inhibitory and disease-control effects, with inhibition rates of 91.80% and 93.59%, respectively, and corresponding pot trial control efficacies of 89.17% and 90.63% ($p < 0.01$). Regression models based on virulence analysis of the active ingredients yielded EC_{50} values of 1.510 7 mg/mL and 1.283 7 mg/mL for these two fungicides, respectively.

Key words: *Camellia sinensis*; epicoccum brown spot; *Epicoccum sorghinum*; biological characteristics; fungicides screening

茶树(*Camellia sinensis*)是最重要的天然饮料植物之一,茶中含有近 500 多种对人体有益的功能性物质,具有很高的营养价值和人体保健效用^[1]。2022 年我国茶树种植面积约 3.2×10^6 hm²,茶叶总产量 2.97×10^6 t。云南省的种植面积和产量分别为 5.5×10^5 hm² 和 5.3×10^5 t,位居全国的第 1 位和第 2 位,全产业链估算产值达 1 380 亿元^[2-3],是云南省重要的支柱产业之一。茶树病害是威胁茶叶产量和品质的一个重要生物因素,由于云南主要茶产区的气候温暖湿润,雨季降水充沛,植被覆盖率高,加之部分农户过度使用化肥、农药及管理不当等因素,加剧了茶树上相关病害的发生及危害。近年来的研究表明,茶树上常年发生和流行的病害有茶饼病(*Exobasidium vexans*)、云纹叶枯病(*Colletotrichum camelliae*)、白星病(*Phyllosticta theaeifolia*)、赤斑病(*Cercospora theae*)、煤污病(*Neocapnodium theae*)和轮斑病(*Pestalotiopsis theae*)等^[4-7]。2021—2022 年笔者对云南普洱市思茅区和昭通市盐津县的茶园进行调查,发现叶片上形成以黑褐色斑点为典型特征的新病害,部分茶园的发病率高达 48.0%;2023 年在临沧市临翔区和凤庆县的调查中也发现同样的黑褐色斑点样病害(发病率 36.5%)。本研究对该病害的病原菌进行了分离鉴定,发现其为由高粱附球孢侵染所致的一种茶褐斑病,并在此基础上探究其生物学特性,并筛选出可有效抑制该病原菌的高效低毒杀菌剂。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 茶病叶样品

2023 年 8 月从云南普洱市思茅区(N 22°43'38", E 101°03'11", 海拔 1 368 m)、临沧市临翔区(N 23°54'52", E 100°7'4", 海拔 1 245.6 m)和保山市昌宁县(N 24°51'18", E 99°36'44", 海拔 1 678 m)茶区采集具有典型症状的病叶样品,带回实验室进行病原菌的分离与纯化。

1.1.2 培养基

在病原菌培养基筛选测试中使用了 8 种培养基,其中马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)还被用于病原菌的培养和保存,各种培养基按表 1 中配方现配现用。

表 1 供试培养基及其配方

编号	培养基	配方/(g · L ⁻¹)
1	马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)	马铃薯淀粉 6, 葡萄糖 20, 琼脂 18
2	马铃薯蔗糖琼脂(PSA)	马铃薯淀粉 6, 蔗糖 20, 琼脂 18
3	玉米粉琼脂(CMA)	玉米粉 20, 琼脂 18
4	麦芽浸膏(MEA)	麦芽膏粉 30, 大豆蛋白胨 3, 琼脂 18
5	平板计数琼脂(PCA)	胰蛋白胨 5, 酵母膏粉 25, 葡萄糖 1, 琼脂 18
6	水琼脂(WA)	琼脂 18
7	营养琼脂(NA)	蛋白胨 10, 牛肉膏 3, 氯化钠 5, 琼脂 18
8	察氏(CDA)	硝酸钠 20, 磷酸二氢钾 10, 硫酸镁 0.5, 氯化钾 0.5, 亚硫酸铁 0.01, 蔗糖 30, 琼脂 18

1.1.3 PCR 试剂

1) 引物:参考有关文献选取扩增病原菌的核糖体内转录间区(*ITS*)、肌动蛋白(*ACT*)、翻译延伸因子(*TEF1- α*)和 β -微管蛋白 2(*TUB2*)基因序列,所用引物对分别为 *ITS1/ITS4*、*ACT512F/ACT783R*、

EF1H/EF2T 及 *T1/Bt2b*^[8-9], 由上海生物工程有限公司合成。2) 核酸提取试剂: 1 mol/L Tris-Cl 液(pH 值为 8.0)、2% CTAB 缓冲液(1.4 mmol/L NaCl、20 mmol/L EDTA, 100 mmol/L Tris-HCl, 0.2% 巯基乙醇, 加灭菌水定容至 100 mL)、洗涤缓冲液(76 mL 无水乙醇, 10 mmol/L 乙酸铵, 加灭菌水定容至 100 mL)、TE 缓冲液(10 mmol/L pH 值为 7.4 的 Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA)、氯仿: 异戊醇(24:1)液及液氮。3) 25 μ L 的 PCR 反应液体系(2 \times EasyTaq PCR Super Mix 12 μ L、引物各 1 μ mol/L、模板 DNA 1 μ L 及重蒸水 10 μ L)。

1.1.4 供试杀菌剂

选择当前市场销售和生产中广泛应用于防治作物真菌性病害的 8 种杀菌剂, 如 40% 苯醚甲环唑 SA, 30% 苯甲吡唑酯 SA 等, 用于药剂筛选试验, 由云南省景洪市楚杰农资有限公司提供; 供毒力分析的两种药剂的原药由陕西汤普森科技有限责任公司提供。

1.2 方法

1.2.1 病害调查和病叶样品采集

于 2022—2023 年茶树生长季节定期到茶园调查, 观察记录茶树褐斑病的发生情况, 并与后续实验室接种试验形成的病害症状进行比较。2023 年 8 月田间调查时采集具有典型病害症状的茶植株病叶, 带回实验室进行病原菌分离。

1.2.2 真菌的分离纯化

用病组织分离法^[10]分离和纯化真菌, 从新鲜病叶的病斑与健康组织交界处切取约 5 \times 5 mm 的小块, 经 75% 乙醇和 2% 的次氯酸钠溶液表面消毒后植入 PDA 培养基平板上(3 块/皿), 在(25 \pm 1) $^{\circ}$ C 恒温箱中黑暗培养, 待菌落形成后用灭菌接种针挑取菌落边缘菌丝体尖端, 植入新的 PDA 培养基平板中央, 在(25 \pm 1) $^{\circ}$ C 下培养至形成单菌落; 如此再挑取菌丝尖端纯化 2~3 次至得到纯培养真菌菌株; 最后从无污染的纯化菌落边缘挑取菌丝尖端植入试管 PDA 培养基斜面上, 在恒温箱中培养 4 d 后放入 4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存备用。

1.2.3 病原菌的致病性鉴定

采用离体叶片刺伤接种法和无伤接种法^[10]。从温室栽植的健康茶苗(勐库大叶种)植株上采集健康功能叶片, 用自来水冲洗干净后置于直径为 15 cm 培养皿中的湿滤纸片上。刺伤接种法是先在每个叶片的 4 个适当位置(接种点位处)用灭菌缝衣针针尖轻轻刺伤叶面, 用灭菌打孔器(直径为 5 mm)从培养 7 d 的各菌株菌落边缘取菌饼, 置于每个刺伤点位处, 每个叶片接种 4 个位点, 每个菌株重复 6 个叶片, 以在每个叶片 4 个刺伤位点叶面上放置 5 mm 的 PDA 饼作为对照, 用灭菌水做叶面喷雾后盖上培养皿。无伤接种法是用分生孢子悬浮液(约 10⁴ 个/mL)直接均匀喷雾到叶面上, 对照叶片用灭菌水喷雾。每个菌株接种重复 6 个叶片, 处理后置于室温下黑暗保湿(相对湿度为 100%)培植 24 h, 然后置入生长培养箱(25 $^{\circ}$ C, 相对湿度大于 90%, 光照强度 11 000 lx, 12 h/d)中培植至 15 d, 定期观察发病情况。培植 10 d 后从发病叶片的病斑上挑取长出的菌丝体, 再分离纯化其病原菌, 并与原菌株的形态进行比较, 根据柯赫氏法则^[11]确认致病菌株。

1.2.4 病原菌形态特征观察

将已鉴定的病原菌(CYB02)接种到直径为 9 cm PDA 培养基平板中央, (25 \pm 1) $^{\circ}$ C 恒温箱中黑暗培养 7 d 后观察记录菌落形态, 14~20 d 后用宁波舜宇 CX40 生物显微镜成像系统(400 \times)观察菌丝、厚垣孢子和分生孢子特征, 并在显微镜(40 \times)下测定 30 根(个)菌丝直径、厚垣孢子和分生孢子的大小(长 \times 宽)。

1.2.5 病原菌的 PCR 分子鉴定

从培养 7 d 的 PDA 培养基平板上刮取菌体, 用溴化十六烷基三甲基铵(CTAB)法^[12]提取各分离株的基因组 DNA, 以此为模板进行不同基因序列的扩增, 均采用 25 μ L 的 PCR 反应液体系。

1) 分别用 *ITS1/ITS4* 和 *ACT512F/ACT783R* 引物对扩增内转录间区(*ITS*)序列和肌动蛋白基因

(ACT), 扩增程序设置为: 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 变性 60 s, 52 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 35 次; 最后 72 °C 延伸 10 min^[13]。

2) *EF1H/EF2T* 引物对扩增翻译延伸因子基因(*TEF1- α*), 扩增程序设置为: 94 °C 预变性 2 min, 94 °C 变性 1 min, 55 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 循环 35 次; 最后 72 °C 延伸 5 min^[9]。

3) 用 *T1/Bt2b* 引物对扩增微管蛋白 2 基因(*TUB2*), 扩增程序设置为: 94 °C 变性 4 min, 94 °C 变性 45 s, 60 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 35 次; 最后 72 °C 延伸 10 min^[14]。

将上述 PCR 扩增产物送上海生物工程有限公司测序, 并上传到 NCBI GenBank 数据库, 在线进行 Blastn 比对分析(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>); 用 DNAMAN 软件将获得的各菌株蛋白基因序列进行拼接, 再用 MEGA 11^[15] 构建以拼接序列为基础的邻接系统发育树, 并根据分析结果确定病原菌的物种名称。

1.2.6 病原菌的生物学特性测定

参考安宣鲜等^[16]和徐可可等^[17]的方法, 测试不同温度、酸碱度、光照时间、培养基、碳源和氮源等因素对病原菌(CYB02)生长的影响。为进行各项生物学测试, 预先按配方配制所需培养基, 经 121 °C、0.10~0.12 MPa 灭菌 30 min 后, 倒于直径为 9 cm 的培养皿中制成培养基平板备用。将 4 °C 冰箱中保存的 CYB02 菌种取出, 在室温下放置 24 h 后接种于 PDA 培养基平板上, 在(25±1) °C 恒温箱中培养 7 d 后用灭菌打孔器(5 mm)从菌落上打取菌饼备用。

1) 温度试验 用 PDA 培养基平板, 设置温度为 4、10、15、20、22、24、26、28、30、34、37、40、45 °C, 每个处理重复 5 次。将预备的 CYB02 菌饼放置于培养基平板的中央, 在黑暗条件下培养 7 d 后用十字交叉法测量菌落直径, 计算各处理的菌落平均值和生长速率, 并记录菌落的生长和产孢情况。

2) 酸碱度试验 用 PDA 培养基平板, 设置 pH 值为 4、5、6、7、8、9、10、11、12、13, 用 1.0 mol 的 HCl 溶液和 1.0 mol 的 NaOH 溶液调节培养基的酸碱度至所需 pH 值, 每个处理重复 5 次。

3) 光照试验 用 PDA 培养基平板, 在培养期间设置光照时长为 0、4、8、12、18、24 h/d, 每个处理重复 5 次。

4) 碳源试验 以 NA 为基础培养基, 分别加入适量的马铃薯淀粉、玉米淀粉、可溶性淀粉、麦芽糖、葡萄糖、蔗糖、乳糖或半乳糖, 分别配制成碳源质量浓度为 30 g/L 的 8 个培养基处理, 每个处理重复 5 次。

5) 氮源试验 用 CDA 作为基础培养基, 分别加入酵母粉、蛋白胨、硫酸铵或氯化铵等, 分别配制成氮源质量浓度为 2.0 g/L 的培养基, 每个处理重复 5 次。

6) 培养基试验 测试病原菌在 PDA、PSA、CMA、MEA、PCA、WA、NA 和 CDA 等 8 种培养基上的生长情况, 每种培养基处理重复 5 次。

除温度试验外, 其余试验都是将预备的 CYB02 菌饼放置于培养基平板中央, 在(25±1) °C 下培养 7 d 后观察菌落的生长情况, 用十字交叉法测量菌落直径, 计算各处理的菌落直径平均值和生长速率, 用邓肯氏新复极差法^[18]检验同一试验中不同处理之间的差异显著性。

1.2.7 杀菌剂筛选

选取市场销售并广泛应用于生产中的 8 种高效低毒低残留的杀菌剂作为供试药剂, 进行药剂种类的筛选、最有效药剂的毒力分析和控病效果试验。

1) 药剂筛选 用菌落生长法^[19]测试 8 种供试杀菌剂对病原菌的抑菌作用。按生产商推荐使用浓度范围的中值作为测试浓度, 用灭菌水配制药液(自然 pH 值); 取 200 μ L 每种配制好的药液置入直径为 9 cm 的 PDA 培养基平板表面, 用火焰灭菌的玻璃棒涂抹使药液均匀布满培养基表面, 以同体积的灭菌水涂抹 PDA 培养基平板作为对照。用打孔器从菌落边缘取直径为 5 mm 的菌饼, 置于培养基平板中央; 每个药剂处理和对照均重复 5 次。处理后放入(25±1) °C 恒温箱中培养, 7 d 后用十字交叉法测量菌落直径(cm), 计

算其平均值及标准差, 用邓肯氏新复极差法^[18] 检验不同处理的菌落直径值间的差异显著性。根据平均直径值计算各种杀菌剂的抑菌率($R_{\text{抑菌}}$), 由此筛选出强抑菌活性杀菌剂。

$$R_{\text{抑菌}} = (D_{\text{对照}} - D_{\text{药剂}}) / D_{\text{对照}} \times 100\% \quad (1)$$

式中: $D_{\text{对照}}$ 为对照的菌落直径; $D_{\text{药剂}}$ 为药剂处理的菌落直径。

2) 药剂的毒力分析 采用抑菌率最高的 2 种药剂的原药, 参考周明国^[20] 的方法进行毒力分析, 设置 8 个浓度梯度(0、0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 mg/mL), 每个处理设 5 次重复, 测定不同浓度下药液的抑菌率。构建两种药剂的毒力回归模型, 用 F 测验法检验模型的显著性, 计算各药剂的有效抑制中浓度(EC_{50})。

3) 药剂控病效果测试 选用抑菌效果不同的 4 种药剂进行室内植物上的药剂控病试验。用 PDA 培养基平板在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下培养病原菌, 14 d 后从培养基上收集适量的分生孢子, 配制成 10^6 个/mL 的孢子悬浮菌液, 喷雾器喷雾接种于温室内盆栽的健康茶苗(勐库大叶种, 苗龄 12 mon.) 上, 至其叶片表面均匀布满菌液, 每种药剂重复 5 钵植株, 用灭菌水喷雾 5 钵植株作为对照; 将接种苗转入 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、相对湿度为 100% 和黑暗(人工气候箱) 中培植 24 h, 然后在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、相对湿度大于 90%, 11 000 lx 光照 10 h/d 下继续培植 12 h; 再用配制的不同杀菌剂药液喷雾, 以灭菌水喷雾接种茶苗作为对照; 喷雾处理后继续培植 21 d, 其间适时观察记录植株的发病情况, 每个处理观察 20 片完全展开的功能叶, 记录每个叶片的病害程度(病斑面积占总叶面积的比例) 并计算平均严重度, 用邓肯氏新复极差法^[18] 检验不同处理间的差异显著性, 并计算各药剂的控病效果(E)。

$$E = (S_{\text{对照}} - S_{\text{处理}}) / S_{\text{处理}} \times 100\% \quad (2)$$

式中: $S_{\text{对照}}$ 为对照病害的严重度; $S_{\text{处理}}$ 为药剂处理病害的严重度。

2 结果与分析

2.1 茶树褐斑病的症状描述

在 2022—2023 年的不同生长季节作了茶园的田间调查, 观察到茶树褐斑病在幼苗和成株期植株上均可侵染, 主要侵染叶片, 形成的病斑呈圆形或椭圆形, 黑褐色但中部颜色略浅, 直径约 2~17 mm (图 1); 管理较差的茶园和潮湿条件下发病较重, 病斑较大, 颜色较深; 生长季晚期叶片上的病斑大小差异大, 多为不规则形, 发病较严重的叶片稍有褶皱, 病斑可扩展或联合而形成大小不同的枯斑, 致使部分叶片黄化枯死。

2.2 茶树褐斑病病原菌的分离和致病性鉴定

从两个不同地方茶园各采集具有典型症状的 10 片病叶, 在 PDA 培养基平板上分离和纯化后共获得 12 个真菌纯培养菌株。离体叶片微刺伤接种试验确认有 4 个菌株能引起侵染发病, 用菌饼分别接种 48 h 后叶组织软化呈水渍状, 7 d 后各菌株形成的病斑, 与苗床幼苗上和潮湿气候条件下田间病茶叶上的病斑类似, 接种叶片表面病斑呈圆形或椭圆形, 中部颜色较浅呈灰褐色, 边缘颜色较深呈黑褐色; 病菌的菌丝生长穿透叶片组织, 使叶片背面病斑几乎完全被灰白色的菌丝覆盖(图 2)。接种 10 d 后用灭菌接种针直接挑取叶片背面病斑上长出的菌丝体, 置于 PDA 培养基平板中央, 在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养箱中培养 7 d 后形成与原分离株形态相同的纯培养菌落。其他菌株在处理 21 d 后未见叶片发病, 用 PDA 培养基块处理的对照叶片也一直保持健康状态。根据柯赫氏证病试验确认 4 个致病分离株(CYB01—CYB04) 是引起茶树褐斑病的病原菌。

用该 4 个菌株的分生孢子悬浮液接种后的离体茶叶, 显症时间较刺伤接种推迟了 4~5 d, 接种 9 d 后开始出现小病斑, 12 d 后病斑变得明显, 黑褐色, 差异较大, 圆形或不规则形, 约 0.7~5.2 mm(图 2), 与茶园自然发生的症状非常相似。



图 1 茶树褐斑病的症状

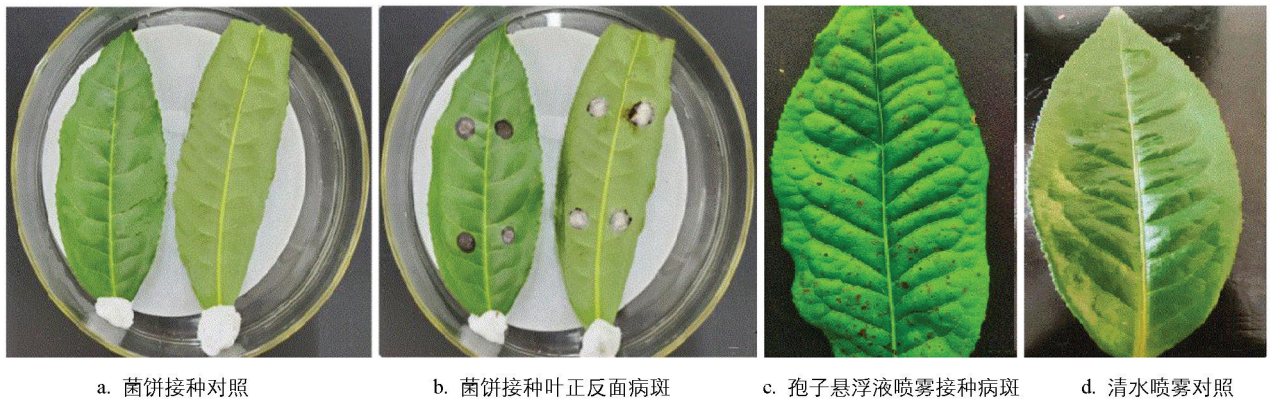


图 2 用 CYB02 接种茶叶形成的病斑

2.3 病原菌的形态学鉴定

4 个致病真菌菌株的形态没有明显区别, 在 PDA 培养基平板 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 下培养 7 d 后形成的菌落 (图 3a, 3b) 近圆形, 表面绒毛状, 呈灰黑和灰白色相间的同心轮纹, 最外一环为浅灰白色, 略呈波纹状, 菌落周围的培养基变为浅褐色; 菌落背面中部黑褐色, 周围大部分红褐色, 边缘环绕 1 圈白色菌丝, 菌落呈近圆形, 直径为 $53.1 \sim 76.8 \text{ mm}$ ($n=5$), 生长速率为 9.7 mm/d 。菌丝较发达, 分隔, 无色透明, 直径为 $2.1 \sim 3.6 \mu\text{m}$ ($n=30$); 后期菌丝变浅灰色, 有的菌丝中部膨大 (图 3c) 形成厚垣孢子 (图 3d)。厚垣孢子近椭圆形或棍棒状, 不分隔或分 $1 \sim 2$ 隔 (图 3e), $13.3 \sim 41.3 \mu\text{m} \times 8.4 \sim 13.3 \mu\text{m}$ ($n=30$)。分生孢子 (图 3f) 单

细胞, 无色或浅灰色, 圆形或椭圆形, $2.6\sim 6.8\ \mu\text{m}\times 1.8\sim 4.2\ \mu\text{m}$ ($n=30$)。本研究中未能见到病菌的分生孢子器及有性时期。结合病原菌特征并参考有关文献^[21-23]将其初步确认为一种附球菌(*Epicoccum* sp.)。

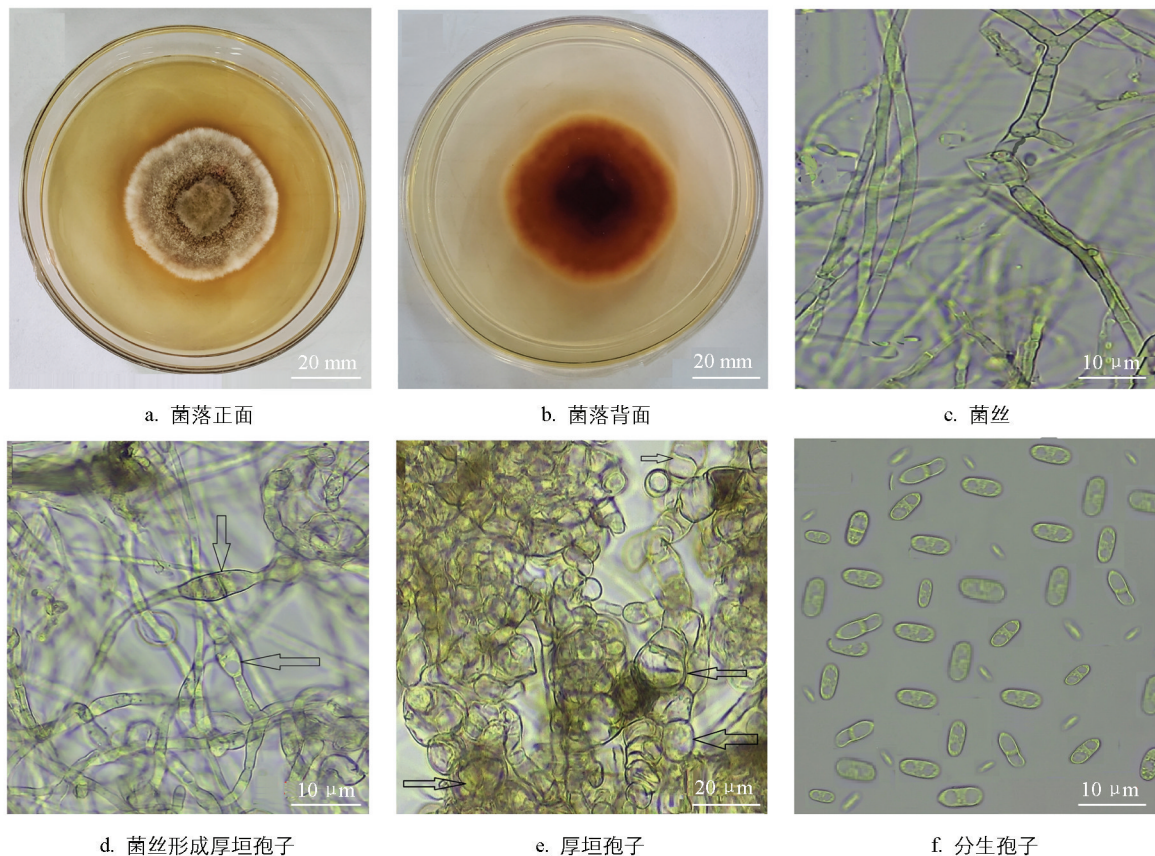


图 3 病原菌的菌落和菌体特征

2.4 病原菌的多基因分子生物学鉴定

通过 PCR 扩增获得 4 个致病菌株的 *ITS* 序列均为 539 bp, Blastn 比对分析表明它们之间的相似率为 100%, 由此确认它们为同一种真菌, 将其中一个代表菌株(CYB02)的 *ITS* 序列提交到 NCBI 基因数据库后获得的登录号为 OM100555。

Blastn 比对分析还表明, CYB02 菌株与高粱附球孢(*Epicoccum sorghinum*) EGJMP14 菌株相似性为 99.44%。PCR 扩增获得该菌株的 *ACT*、*TEF1- α* 和 *TUB2* 基因序列分别为 281 bp、334 bp 和 388 bp, NCBI 的序列登录号分别为 PX521583、PX521584 和 P521585; 从 NCBI 基因数据库下载的附球孢属菌株相应蛋白基因, 用 DNAMAN 软件将各菌株的拼接序列用 MEGA 11 软件构建邻接系统发育树(图 4), 结果显示 CYB02 与高粱附球孢 *E. sorghinum* Guangxi-1 菌株处于同一末端分支上, 其自主支持率为 98.0%, 因此, 将病原菌(CYB02)最终鉴定为高粱附球孢(*E. sorghinum*)。

2.5 病原菌的主要生物学特性

2.5.1 温度的影响

病原菌 CYB02 在 $16\sim 33\ ^\circ\text{C}$ 内都能正常生长(图 5), 但在 $25\sim 27\ ^\circ\text{C}$ 下生长最快, 培养 7 d 后菌落直径为 $73.5\sim 75.8\ \text{mm}$ ($n=5$), 当培养温度低于 $4\ ^\circ\text{C}$ 或高于 $40\ ^\circ\text{C}$ 时, 菌落停止生长。由此可见, CYB02 生长的最适温度为 $25\sim 27\ ^\circ\text{C}$ 。

2.5.2 酸碱度的影响

当培养基的 pH 值为 $4\sim 13$ 时, CYB02 都能生长形成大小不同的菌落。在培养 7 d 后测量, pH 值

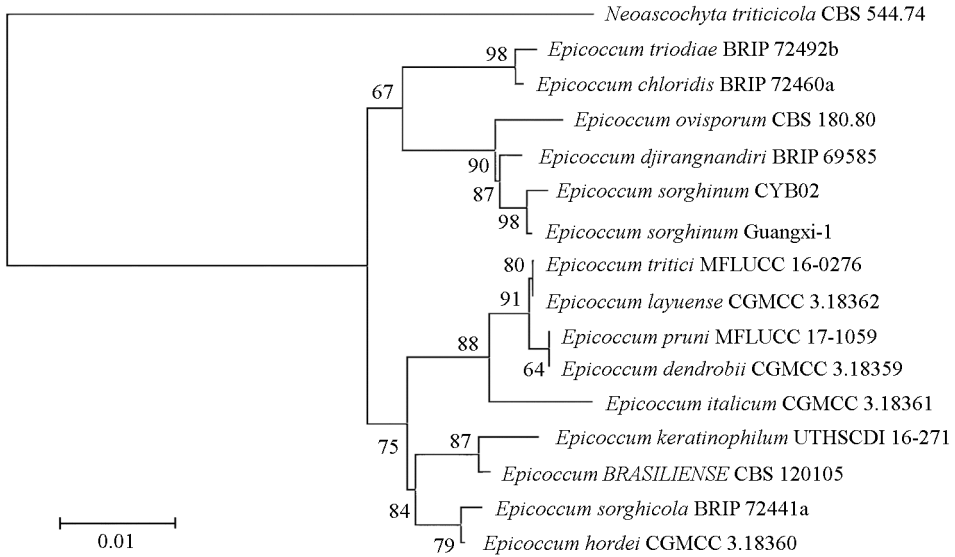
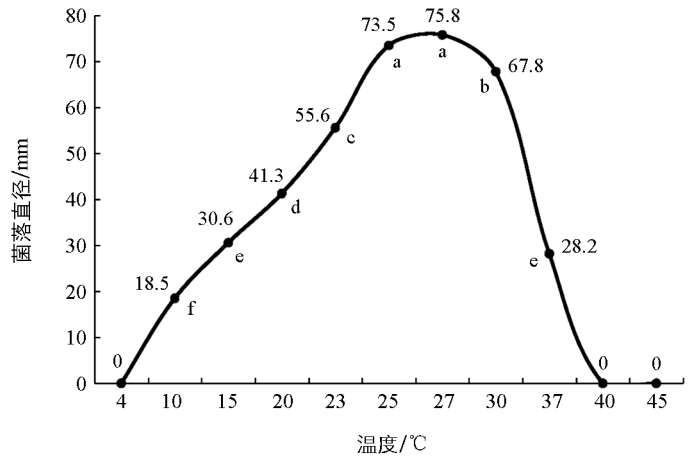


图 4 CYB02 菌株的系统发育树分析

为 6~8 时 CYB02 菌落直径为 71.6 ± 3.6 mm~ 75.1 ± 4.8 mm ($n=5$), 差异无统计学意义 ($p>0.05$); 当培养基 pH 值为 9~13 或 4~5 时, 它们的菌落直径显著减小 ($p<0.05$)。结果表明, CYB02 最适宜于在中性或偏中性 (pH 值为 6~8) 条件下生长 (图 6)。

2.5.3 光照的影响

经 0~24 h/d 光照处理后 CYB02 的菌落均能正常生长, 但不同处理之间的菌落大小存在明显差异 (图 7)。培养 7 d 后, 完全黑暗 (0 h/d) 处理的菌落生长最好, 直径最大, 为 75.3 ± 4.8 mm ($n=5$); 短光照 (4 h/d) 与较



小写字母不同表示 $p<0.05$, 差异有统计学意义 (下同)。

图 5 培养温度对 CYB02 菌落生长的影响

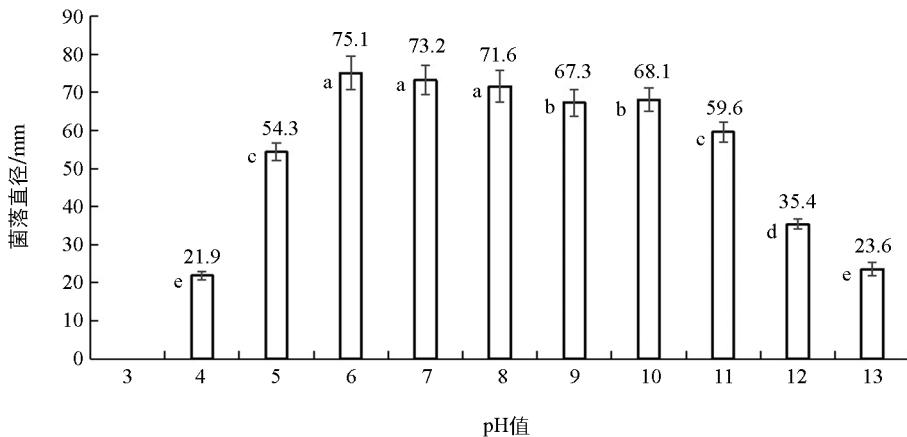


图 6 培养基酸碱度 (pH) 对 CYB02 菌落生长的影响

长光照处理 (8~24 h/d) 的菌落直径之间差异有统计学意义 ($p<0.05$), 且每天的光照时间越长, 菌落生长越缓慢, 因此, CYB02 最适合在黑暗条件下培养。

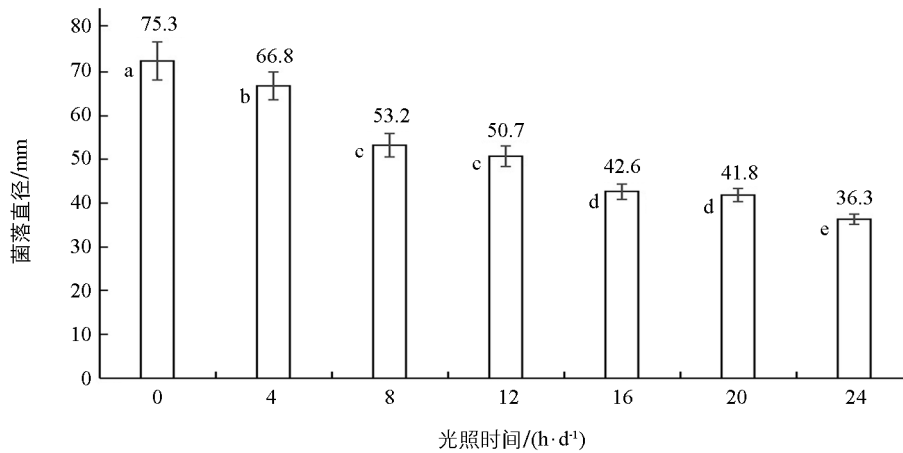


图 7 光照时间对 CYB02 菌落生长的影响

2.5.4 碳源和氮源的影响

在供试的 8 种碳源培养基上, CYB02 的菌落均能生长, 但不同处理的菌落大小存在差异。在乳糖和半乳糖培养基上菌落生长缓慢, 菌丝稀疏呈白色绒毛状, 培养 7 d 后菌落直径分别为 44.1 ± 0.8 mm 和 41.9 ± 1.2 mm。病原菌在其余 6 种碳源培养基上都能较好生长, 菌丝较紧密呈白色棉絮状, 菌落生长较快, 但以葡萄糖和麦芽糖培养基上形成的菌落最大, 培养 7 d 后直径分别为 74.3 ± 3.1 mm 和 72.6 ± 1.8 mm, 显著大于蔗糖、可溶性淀粉、马铃薯淀粉和玉米淀粉上的菌落。由此可见, 葡萄糖和麦芽糖为 CYB02 的最佳碳源(表 2)。

CYB02 菌株在供试的 8 种氮源培养基上均能生长, 但在不同培养基上的菌落生长速率和产孢存在明显差异(表 2)。在添加氯化铵、硫酸铵和柠檬酸铵的察氏(CDA)培养基上, CYB02 的菌落生长较缓慢, 菌丝稀疏呈灰色, 菌落稍微凸起, 直径较小($30.5 \pm 1.6 \sim 34.3 \pm 2.4$ mm); 在添加大豆蛋白、脱脂奶粉和牛肉膏的 CDA 培养基上, 菌落生长正常, 直径大小为 $50.6 \pm 3.1 \sim 61.4 \pm 3.2$ mm; 在添加蛋白胨和酵母粉的 CDA 培养基上形成的菌落直径最大(71.5 ± 3.8 mm 和 73.7 ± 4.5 mm), 显著大于其他氮源处理($p < 0.05$)。

表 2 不同碳源和氮源对 CYB02 菌落生长的影响

碳源	菌落直径/mm	氮源	菌落直径/mm
葡萄糖	74.3 ± 3.1 a	酵母粉	73.7 ± 4.5 a
麦芽糖	72.6 ± 1.8 a	蛋白胨	71.5 ± 3.8 b
蔗糖	63.8 ± 1.9 b	牛肉膏	61.4 ± 3.2 c
可溶性淀粉	56.4 ± 2.1 c	脱脂奶粉	51.2 ± 3.5 d
马铃薯淀粉	53.7 ± 1.7 cd	大豆蛋白	50.6 ± 3.1 d
玉米淀粉	51.6 ± 1.5 d	柠檬酸铵	34.3 ± 2.4 e
乳糖	44.1 ± 0.8 e	硫酸铵	32.8 ± 1.8 e
半乳糖	41.9 ± 1.2 e	氯化铵	30.5 ± 1.6 e

注: 小写字母不同表示 $p < 0.05$, 差异有统计学意义, 下同。

2.5.5 培养基的影响

CYB02 在供试的 8 种培养基上都能生长, 但不同培养基上菌落生长(表 3)和产孢具有明显的差异。该真菌在 WA、NA 和 CDA 培养基上生长较缓慢, 形成的菌落较小($43.2 \pm 0.8 \sim 48.6 \pm 1.5$ mm, $n = 5$), 不产孢或产孢稀少; 在 PCA 和 CMA 培养基上菌落生长较快, 培养 7 d 后的菌落直径为 55.7 ± 1.8 mm 和

57.8±2.0 mm($n=5$), 菌落后期产生较少的分生孢子团; 该菌在 MEA、PSA 和 PDA 培养基平板上生长良好, 培养 7 d 后的菌落白色, 菌丝浓密, 直径为 68.2±2.1 mm~74.2±3.3 mm($n=5$), 培养 14 d 后观察到菌落上形成大量的分生孢子团。由此可见, MEA、PSA 和 PDA 是 CYB02 的适宜培养基, 尤以 PDA 和 PSA 为最佳。

表 3 不同培养基对 CYB02 菌落生长的影响

培养基	菌落直径/mm	培养基	菌落直径/mm
马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)	74.2±3.3ab	平板计数琼脂(PCA)	55.7±1.8de
马铃薯蔗糖琼脂(PSA)	70.5±1.8bc	察氏(CDA)	48.6±1.5e
麦芽浸膏(MEA)	68.2±2.1c	营养琼脂(NA)	44.8±1.4f
玉米粉琼脂(CMA)	57.8±2.0d	水琼脂(WA)	43.2±0.8f

2.6 杀菌剂的抑菌和控病作用

2.6.1 不同药剂的抑菌作用

由表 4 可知, 供试 8 种杀菌剂对 CYB02 菌株菌落的生长都有明显的抑制作用, 抑菌率为 53.66%~93.59%, 与对照抑菌率的差异均达到极显著水平($p<0.001$), 不同药剂的抑菌作用也存在差异。结果显示, 12.5%四氟醚唑 WP、64%噁霜锰锌 WP 和 68%精甲霜锰锌 SA 的抑菌效果较差, 对病菌的生长抑制率低于 75.00%; 25%甲硫己唑醇 SA、30%苯甲嘧菌酯 SA 和 30%噁菌戊唑醇 SA 的抑菌效果居中, 抑菌率为 80.03%~84.73%; 30%苯甲吡唑脂 SA 和 40%苯醚甲环唑 SA 的抑菌效果非常好, 抑菌率分别为 91.80%和 93.59%。

表 4 不同供试杀菌剂对 CYB02 菌株的抑菌作用

杀菌剂	厂商(有限责任公司)	使用浓度/ (mg·mL ⁻¹)	菌落直径/ mm	抑菌率/ %
40%苯醚甲环唑 SA	先正达(南通)作物保护	4.00	4.12±1.02 F	93.59
30%苯甲吡唑酯 SA	先正达(南通)作物保护	3.75	5.27±1.83 F	91.80
30%噁菌戊唑醇 SA	拜耳作物科学北京分公司	3.25	9.81±0.06 F	84.73
30%苯甲嘧菌酯 SA	陕西汤普森生物科技	4.25	10.36±2.17 E	83.88
25%甲硫己唑醇 SA	陕西汤普森生物科技	4.50	12.83±3.21 DE	80.03
68%精甲霜锰锌 SA	先正达(南通)作物保护	2.35	16.50±2.62 D	74.32
64%噁霜锰锌 WP	先正达(南通)作物保护	2.25	20.67±2.53 C	67.83
12.5%四氟醚唑 WP	上海意莎雷农化技术	4.50	29.78±4.19 B	53.66
(清水)对照	—	0.00	64.26±4.37 A	0.00

注: 药剂购买自云南景洪市楚杰农资公司; WP 为可湿性粉(粒)剂, SA 为悬乳剂; 使用浓度为商家推荐使用浓度的中值; 大写字母不同表示 $p<0.001$, 差异有统计学意义, 下同。

2.6.2 两种药剂的毒力分析

选择对 CYB02 菌落生长抑制作用最强的苯甲吡唑脂和苯醚甲环唑的原药, 进一步测试不同浓度下的抑菌作用。结果表明, 在 8 个测试浓度下, 两种原药的抑菌率分别为 7.26%~90.72%和 6.92%~94.80%; 它们的抑菌率(y)和药剂浓度(x , mg/mL)呈显著的正相关($R^2=0.9167\sim0.9621$, $p<0.01$), 根据测定结果分别建立两种药剂的毒力回归方程分别为:

苯甲吡唑脂:

$$y = 18.7162x + 21.7251 \quad R^2 = 0.8415, p < 0.01 \quad (3)$$

苯醚甲环唑:

$$y = 21.2354x + 23.0418 \quad R^2 = 0.9326, p < 0.01 \quad (4)$$

经 F 测验, 两个方程都达到了极显著水平 ($p < 0.01$); 由毒力回归方程计算它们的有效抑菌中浓度 (EC_{50}) 分别为 1.5107 mg/mL 和 1.2837 mg/mL。由此可见, 两种杀菌剂对病菌的有效抑制中浓度都非常低, 表明它们的抑菌效果都很好。

2.6.3 药剂在茶苗上的控病效果

温室盆栽茶苗上的控病试验结果显示, 处理 21 d 后对照茶苗病害严重度为 21.98%; 供试的 4 种杀菌剂处理都极显著地减轻了病害的严重度 ($p < 0.001$), 但不同药剂处理植株的病害严重度之间也存在显著差异, 因此它们对病害的控制作用也不相同, 其中 12.5% 四氟醚唑 WP 的控病率只有 42.97%, 30% 苯甲吡唑酯 SA 的控病率为 63.83%, 而 30% 苯甲吡唑酯 SA 和 40% 苯醚甲环唑 SA 的效果最好, 控病率分别为 89.17% 和 90.63%, 用它们处理后病害严重度降低到 2.40% 以下 (表 5), 茶苗植株基本上保持健康, 只有少量叶片上可见微小褐色斑点。

表 5 4 种杀菌剂对茶树褐斑病的控病作用

杀菌剂	用药浓度/(mg · mL ⁻¹)	病害严重度/%	控病率/%
(清水)对照	—	21.98±3.25A	—
12.5% 四氟醚唑 WP	3.50	12.54±2.41B	42.97
30% 苯甲吡唑酯 SA	3.75	7.95±0.76C	63.83
30% 苯甲吡唑酯 SA	4.00	2.38±1.16D	89.17
40% 苯醚甲环唑 SA	3.25	2.06±0.94D	90.63

3 讨论和结论

茶褐斑病全称茶树褐色叶斑病, 迄今的文献中一般认为其病原菌是一种尾孢属真菌 (*Cercospora* sp.)^[4, 24], 但近年来不同作者在我国一些茶区报道了不同的病原菌。Wang 等^[25] 鉴定贵州贵阳的茶褐斑病菌有 3 种拟盘多毛孢 (*Pestalotiopsis theae*, *P. camelliae*, *P. clavispora*); 周凌云等^[26] 报道湖南长沙发生的茶褐斑病由山茶格孢腔菌 (*Pleospora camelliae*) 所致; Yin 等^[27] 研究发生在贵州贵阳的茶褐斑病病原菌为黑附球孢 (*Epicoccum nigrum*)。本研究在云南西部的不同地区茶园发现一种茶褐斑病, 通过分离纯化和柯赫氏证病试验获得其病原菌, 经形态学和分子生物学鉴定其为高粱附球孢 (*E. sorghinum*)。由于其病斑多呈褐色, 病原菌为附球孢属真菌, 因此将这种病害命名为茶附球孢褐斑病。

高粱附球孢在新近的细胞生物分类系统中属于真核域 (Eukaryota)、真菌界 (Fungi)、子囊菌门 (Ascomycota)、盘菌亚门 (Pezizomycotina)、座囊菌纲 (Dothideomycetes)、格孢腔菌目 (Pleosporales)、亚隔孢壳科 (Didymellaceae)、附球孢属 (*Epicoccum*)^[28], 其无性阶段属于真菌界 (Fungi)、半知菌门 (Dueteromycota)、腔孢纲 (Coelomycetes)、球壳孢目 (Sphaeropsidales)、壳霉科 (Sphaeropsicaceae)、叶点霉属 (*Phyllosticta*)。通常情况下该菌常见无性时期的分生孢子, 而较难观察到其有性时期。在本研究中, 笔者也未见到该菌的有性时期。

高粱附球孢是一种寄主范围较广的植物病原真菌, 其冬季主要在寄主病叶组织内越冬, 分生孢子随气流及雨水 (水滴) 溅射传播, 浸染成叶引起发病, 多在适温高湿的环境下快速传播^[4, 24]。近年来的国内外文献记载有 50 余种植物病害是由高粱附球孢侵染所致, 其中重要的有水稻叶斑病、玉米白斑病、麦类黑点

病、玉米白斑病、高粱苗枯病和大豆叶枯病等^[29-33],另外还有甘蔗、芋头、金针菜、火龙果、百合、七叶一枝花和牡丹等重要经济作物的叶斑病^[34-40]。本研究结果表明高粱附球孢为茶褐斑病的病原菌。一般认为茶褐斑病的病原菌为一种尾孢属真菌(*Cercospora* sp.),主要危害茶树的成叶和老叶^[4,24],然而,笔者在各地调查时观察到茶树的幼苗、嫩芽和嫩叶发病也非常普遍,附球孢褐斑病叶片的病斑与文献中描述的褐斑也有较大差异,其更趋于黑褐色,这可能是由于引起褐斑病的病原菌种类不同所致;茶树幼芽和嫩叶受附球孢褐斑病的危害,对茶叶产量及品质的影响较老叶更为严重,因此在茶树的栽培管理中需要更加重视这种病害的防控。

Oliveira 等^[41]研究环境因子对高粱附球孢菌的影响时测得该菌的最适生长温度为 26 °C,本研究结果表明,高粱附球孢 CYB02 生长的适宜温度为 16~33 °C,最适温度为 25~27 °C;在 pH 值为 4~13 的 PDA 培养基上能生长,在 pH 值为 6~8 时生长最快;在黑暗中病菌生长最快,而在长光照条件下生长受到抑制;CYB02 生长的最佳碳源为葡萄糖和麦芽糖,最佳氮源为酵母粉和蛋白胨;马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)和马铃薯蔗糖琼脂(PSA)为病原菌的最适宜培养基。这些结果对茶附球孢褐斑病研究中快速繁殖病原菌及探讨病害的流行规律都具有重要参考价值。

化学药剂的应用一直都是现代农业中植物病害综合治理的重要技术措施之一。在作物生产中根据安全而合理地使用高效低毒杀菌剂,仍然是当今作物生产中病害绿色治理的重要和必要方法之一^[4-6,24,41]。近年来,有学者提出了“绿色和协调、健康和生态、高效和低毒”的茶叶病害综合治理中使用化学农药的基本原则,同时也研究筛选出了针对特定茶树病害的高效低毒新型杀菌剂^[42-47]。Yao 等^[48]的研究发现 25%吡唑醚菌酯 SC 对导致绣锈花叶斑病菌 *E. sorghinum* 具有非常强的抑菌作用。本研究测试了当前生产中常用的 8 种杀菌剂对茶褐斑病高粱附球孢(CYB02)的抑菌效果,其中 30%苯甲吡唑酯 SA 和 40%苯醚甲环唑 SA 两种新型杀菌剂不仅抑菌作用很强,对茶褐斑病的控制效果也很好,因此可以将它们纳入进茶附球孢褐斑病的综合治理中。

综上所述,引起云南茶附球孢褐斑病的病原菌为高粱附球孢(*E. sorghinum*),因此将该病害命名为茶附球孢褐斑病,这是我国在云南茶区首次发现的一种茶树新病害;30%苯甲吡唑酯 SA 和 40%苯醚甲环唑 SA 是两种高效低毒和无残留的新型复合杀菌剂,对附球孢茶褐斑病具有非常好的控病效果;本研究还测试了该病原菌的主要生物学特性。这些研究结果可为该病害的诊断鉴定、预测预报和绿色治理提供重要的科学参考依据。

参考文献:

- [1] 何峻,陈良欣,王宁,等. 中医文献视角下的茶叶性味、功效和药方 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(9): 5630-5634.
- [2] 韦东旭. 浅析茶叶种植的现状与发展趋势 [J]. 农家科技, 2013(2): 63.
- [3] 伏成秀,袁媛,张远强,等. 云南成品茶产业发展现状、问题和对策 [J]. 中国食物与营养, 2024, 30(7): 22-26.
- [4] 谭琳,谭济才. 茶树病虫害防治学 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2021: 183-218.
- [5] 赵永田,马悦,SHETH S,等. 我国茶树叶部主要真菌病害绿色防控现状与展望 [J]. 植物保护, 2023, 49(5): 133-144, 166.
- [6] 柏增凯. 茶树常见病害及绿色防控技术 [J]. 乡村科技, 2023, 14(10): 82-85.
- [7] 谭万忠,李培,张克诚,等. 重庆地区茶树病害种类及武夷菌素对茶病的田间控制效果 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2008, 30(4): 123-127.
- [8] LIU F, MA Z Y, HOUL W, et al. Updating Species Diversity of Colletotrichum, with a Phylogenomic Overview [J]. Studies in Mycology, 2022, 101: 1-56.
- [9] 吕顺,曾莉莎,刘文清,等. 大蕉枯萎病病原菌鉴定及 TEF-1 α 序列分析 [J]. 植物病理学报, 2014, 44(4): 337-348.

- [10] 李维峰, 何鹏搏, 陈红梅, 等. 中国滇南地区莲雾炭疽病病原菌的形态学和分子生物学鉴定 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2023, 45(5): 83-91.
- [11] GRIMES D J. Koch's Postulates; Then and Now Amid Challenges, His Principles Remain Useful For Confirming Microbial Roles in Diseases and Other Processes [J]. *Microbes*, 2006, 1(5): 223-228.
- [12] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, et al. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics [M] // INNIS M A. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. New York: Academic Press, Inc., 1990: 315-322.
- [13] WATCHANOK N. 中国苹果炭疽叶枯病菌种类多样性研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [14] WEIR B S, JOHNSTON P R, DAMM U. The *Colletotrichum gloeosporioides* Species Complex [J]. *Studies in Mycology*, 2012, 73: 115-180.
- [15] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [16] 安宣鲜, 桑维钧, 张得平, 等. 烟草叶斑病菌 *Cumuliphoma indica* 的生物学特性及室内药剂筛选 [J]. *热带作物学报*, 2024, 45(4): 847-854.
- [17] 徐可可, 刘永红, 马静婷, 等. 一株地黄根腐病致病菌的鉴定及生物学特性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(18): 4898-4904.
- [18] STEEL R G D, TOFFIE J H. Duncan's New Multiple Range Test [J]. *Principles and Procedures of Statistics*, 1980: 187-188.
- [19] 巩佳莉. 我国咖啡炭疽病的病原鉴定及化防药剂筛选研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- [20] 周明国. 杀菌剂毒力及其生物测定 [J]. *农药学学报*, 2022, 24(5): 904-920.
- [21] BAO X T, DHARMA SENA D S P, LI D X, et al. First Report of *Epicoccum sorghinum* Causing Leaf Spot on Tea in China [J]. *Plant Disease*, 2019, 103(12): 3282.
- [22] 黄鈇琳, 尹桥秀, 江仕龙, 等. 茶叶斑病原菌高粱附球菌(*Epicoccum sorghinum*)的鉴定及生物学特性 [J]. *热带作物学报*, 2021, 42(11): 3269-3277.
- [23] MAO X Q, DONG L X, LUAN X Z, et al. First Report of Leaf Spot on Soybean Caused by *Epicoccum sorghinum* in Heilongjiang Province, China [J]. *Plant Disease*, 2023, 107(9): 2885.
- [24] 陈宗懋, 陈雪芬. 茶树病害的诊断和防治 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990: 65-67.
- [25] WANG Z H, ZHAO Z X, HONG N, et al. Characterization of Causal Agents of a Novel Disease Inducing Brown-Black Spots on Tender Tea Leaves in China [J]. *Plant Disease*, 2017, 101(10): 1802-1811.
- [26] 周凌云, 周琳, 刘红艳, 等. 一种引起茶叶褐斑病的茶格孢腔菌病原鉴定 [J]. *茶叶通讯*, 2018, 45(2): 39-41, 62.
- [27] YIN Q X, JIANG S L, LI D X, et al. First Report of *Epicoccum nigrum* Causing Brown Leaf Spot in Tea in Guizhou Province, China [J]. *Plant Disease*, 2022, 106(1): 321.
- [28] XU J, HU L, JIANG Y, YAN J. Identification and Characterization of *Epicoccum sorghinum* Causing Leaf Spot on Sorghum in China [J]. *Crop Protection*, 2025, 189: 107044.
- [29] LIU L M, ZHAO Y, ZHANG Y L, et al. First Report of Leaf Spot Disease on Rice Caused by *Epicoccum sorghinum* in China [J]. *Plant Disease*, 2020, 104(10): 2735.
- [30] IMRAN M, KHANAL S, ZHOU X G, et al. First Report of Leaf Spot of Rice Caused by *Epicoccum sorghinum* in the United States [J]. *Plant Disease*, 2022, 106(10): 2758.
- [31] XU K G, JIANG Y M, LI Y K, et al. Identification and Pathogenicity of Fungal Pathogens Causing Black Point in Wheat on the North China Plain [J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2018, 58(2): 159-164.
- [32] 张珊, 朱自萍, 何鹏搏, 等. 云南省玉米白斑病病原菌鉴定与品种田间抗性评价 [J]. *植物保护学报*, 2022, 49(3): 840-847.

- [33] 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(8): 31-44.
- [34] LAUREL N R, DE TORRES R L, MENDOZA J S, et al. Identification of *Epicoccum sorghinum* and Its Effect on Stalk Sugar Yield [J]. Sugar Tech, 2021, 23(6): 1383-1392.
- [35] LIU P Q, WEI M Y, ZHU L, et al. First Report of Leaf Spot on Taro Caused by *Epicoccum sorghinum* in China [J]. Plant Disease, 2018, 102(3): 682.
- [36] FU R, CHEN C, WANG J, et al. First Report of *Epicoccum sorghinum* Causing Leaf Spot on Paris polyphylla in China [J]. Plant Disease, 2019, 103(6): 1426.
- [37] TAGUIAM J D, EVALLO E, BENGGOA J, et al. Pathogenicity of *Epicoccum sorghinum* Towards Dragon Fruits (*Hylocereus* sp.) and in Vitro Evaluation of Chemicals with Antifungal Activity [J]. Journal of Phytopathology, 2020, 168(6): 303-310.
- [38] 李淳, 安星宇, 叶照春, 等. 贵州火龙果园杂草主要病毒检测及分析 [J]. 中国南方果树, 2025, 54(2): 99-102.
- [39] YU L, SHE X M, LAN G B, et al. First Report of Leaf Spot Caused by *Epicoccum sorghinum* on Chinese Flowering Cabbage (*Brassica parachinensis*) in China [J]. Plant Disease, 2019, 103(11): 2966.
- [40] YANG H M, ZHANG R Q, LI J X, et al. First Report of *Epicoccum sorghinum* Causing Leaf Spot on Paeonia suffruticosa in China [J]. Plant Disease, 2023, 107(1): 219.
- [41] OLIVEIRA R C, NGUYEN H N, MALLMANN C A, et al. Influence of Environmental Factors on Tenuazonic Acid Production by *Epicoccum sorghinum*: an Integrative Approach of Field and Laboratory Conditions [J]. Science of the Total Environment, 2018, 640: 1132-1138.
- [42] 查明迪, 查友贵, 张俊文, 等. 4 种农药防治烟草根结线虫病田间药效试验 [J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2021, 36(5): 783-788.
- [43] 陈雪芬. 我国茶树病害的发生趋势与绿色防控 [J]. 中国茶叶, 2022, 44(6): 7-14.
- [44] 杨春林, 杨志刚, 席亚东, 等. 五种杀菌剂对川西南山区茶饼病田间防治效果研究 [J]. 黑龙江农业科学, 2023(12): 34-38.
- [45] 杨文波, 向芬, 刘红艳, 等. 防治茶白星病的杀菌剂筛选及防效评价 [J]. 中国植保导刊, 2022, 42(5): 71-73, 85.
- [46] 方浩然, 吴婧波, 詹儒林, 等. 鳄梨采前果实黑褐色病斑病原鉴定及田间药剂防治 [J]. 中国南方果树, 2024, 53(5): 53-62.
- [47] 孙伟, 袁会珠, 陈淑宁, 等. 油茶炭疽病病原鉴定及绿色防治药剂筛选 [J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(4): 880-889.
- [48] YAO Q Y, LIU Y, LIANG S, et al. Identification of *Epicoccum sorghinum* as the Agent of Hydrangea Leaf Spot and Its Sensitivity to Fungicides [J]. Journal of Phytopathology, 2023, 171(7-8): 344-351.

责任编辑 周仁惠

