

引用格式:

王兴娥, 管爽, 何佳美, 杨欣, 牟鹏, 杨艳, 张丽娟, 杨雅焯, 刘荣, 赵永田. 贵州省都匀市茶炭疽病原鉴定及防治药剂的筛选[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2025, 51(5): 45–51.

WANG X E, GUAN S, HE J M, YANG X, MOU P, YANG Y, ZHANG L J, YANG Y Z, LIU R, ZHAO Y T. Pathogen identification and fungicide screening for tea anthracnose in Duyun City, Guizhou Province[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2025, 51(5): 45–51.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 贵州省都匀市茶炭疽病原鉴定及防治药剂的筛选

王兴娥<sup>1</sup>, 管爽<sup>1</sup>, 何佳美<sup>1</sup>, 杨欣<sup>1</sup>, 牟鹏<sup>1</sup>, 杨艳<sup>1</sup>, 张丽娟<sup>2</sup>, 杨雅焯<sup>2</sup>, 刘荣<sup>1\*</sup>, 赵永田<sup>1</sup>

(1. 黔南民族师范学院生物科学与农学院, 贵州 都匀 558000; 2. 黔南州农业科学研究院茶叶研究所, 贵州 都匀 558000)

**摘要:** 为明确贵州省都匀市茶炭疽病的病原, 筛选防控杀菌剂, 采用组织分离法、柯赫氏法则、形态学及分子生物学技术分离纯化并鉴定炭疽病的病原, 并选择20种杀菌剂采用菌丝生长速率法测定其对炭疽病菌的毒力。结果表明: 从茶炭疽病叶中分离得到2个菌株T26和T60, 均为果生刺盘孢菌(*Colletotrichum fructicola*); 10种化学杀菌剂对菌株T26和T60的EC<sub>50</sub>值范围为0.03~166.95 mg/L, 其中, 咪鲜胺的抑菌活性最高, 对T26和T60的EC<sub>50</sub>值分别为0.03、0.07 mg/L; 10种生物杀菌剂对菌株T26和T60的EC<sub>50</sub>值范围为41.59~158.61 mg/L, 其中, 几丁聚糖的抑菌活性最高, 对T26和T60的EC<sub>50</sub>值分别为41.59、41.84 mg/L。综上所述, 推荐咪鲜胺和几丁聚糖用于都匀市茶炭疽病的田间防治。

**关键词:** 茶树; 炭疽病; 病原鉴定; 果生刺盘孢菌; 药剂筛选

中图分类号: S435.711

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2025)05-0045-07

## Pathogen identification and fungicide screening for tea anthracnose in Duyun City, Guizhou Province

WANG Xing'e<sup>1</sup>, GUAN Shuang<sup>1</sup>, HE Jiamei<sup>1</sup>, YANG Xin<sup>1</sup>, MOU Peng<sup>1</sup>, YANG Yan<sup>1</sup>,  
ZHANG Lijuan<sup>2</sup>, YANG Yazhuo<sup>2</sup>, LIU Rong<sup>1\*</sup>, ZHAO Yongtian<sup>1</sup>

(1. School of Life Science and Agriculture, Qiannan Normal University for Nationalities, Duyun, Guizhou 558000, China; 2. Tea Research Institute, Qiannan Academy of Agricultural Sciences, Duyun, Guizhou 558000, China)

**Abstract:** To identify the pathogen responsible for tea anthracnose in Duyun City, Guizhou Province, and to screen for effective fungicides, we isolated and purified the pathogen using tissue isolation, and definitively identified it based on Koch's postulates, morphological characteristics and molecular analysis. The efficacy of 20 selected fungicides against the isolated anthracnose pathogen was assessed using the mycelial growth rate method. The results showed that two strains, T26 and T60, were isolated from tea anthracnose leaves and identified as *Colletotrichum fructicola*. For the 10 chemical fungicides tested, the EC<sub>50</sub> values against T26 and T60 ranged from 0.03 to 166.95 mg/L. Prochloraz exhibited the highest antifungal activity, with EC<sub>50</sub> values of 0.03 mg/L and 0.07 mg/L, respectively. For the 10 biocides, the EC<sub>50</sub> values ranged from 41.59 to 158.61 mg/L, and chitosan was the most effective, with EC<sub>50</sub> values of 41.59 mg/L and 41.84 mg/L, respectively. Prochloraz and chitosan are recommended for the field control of tea anthracnose in Duyun.

**Keywords:** tea; anthracnose; pathogen identification; *Colletotrichum fructicola*; fungicide screening

收稿日期: 2025-01-03

修回日期: 2025-09-24

基金项目: 黔南州科技计划项目(黔南科合〔2022〕09号); 黔南民族师范学院高层次人才科研专项(2021qnsyrc07); 黔南民族师范学院教育  
质量提升工程项目(2021xjg018, 2022xjg038); 贵州省高等学校教学内容和课程体系改革项目(2023346)

作者简介: 王兴娥(1982—), 女, 宁夏海原人, 硕士, 讲师, 主要从事园艺植物病虫害绿色防控研究, [honey1215@163.com](mailto:honey1215@163.com); \*通信作者,  
刘荣, 博士, 副教授, 主要从事植物病害分离鉴定及遗传学研究, [775684730@qq.com](mailto:775684730@qq.com)

茶是大众最喜欢的三大饮品之一，也是我国重要的经济作物。目前我国茶树种植面积已超过333.33万hm<sup>2</sup>，在产业振兴中发挥着重要作用。但茶树容易遭受真菌的侵染，导致产量和品质下降<sup>[1]</sup>。其中，炭疽病是危害茶树最严重的真菌病害之一，该病害属于高温高湿型病害，在我国四大茶区每年都会发生2次大流行，防治难度较大。截至目前，我国学者已先后分离鉴定出近20种茶炭疽病病原菌，病原差异大，且与地域及品种有关<sup>[2]</sup>。由于病原多样，且不同种类的炭疽菌对杀菌剂的敏感性不同，导致茶炭疽病的防治效果不理想。

都匀毛尖作为我国十大名茶之一，已成为黔南州乡村振兴的支柱产业。但近年来都匀市茶炭疽病

害较为严重，部分茶园炭疽病发病率达100%，严重威胁茶产业的健康发展<sup>[3]</sup>。而都匀市茶炭疽病的病原尚未明确，导致杀菌剂的选择较为困难，不利于田间防治。基于此，本研究采用组织分离法、柯赫氏法则，结合形态学观察及分子生物学技术，对炭疽病病原菌进行分离、纯化并鉴定；选取20种杀菌剂，采用菌丝生长速率法测定其对炭疽病菌的毒力，以期在明确病原的基础上，筛选高效低毒的杀菌剂，为都匀市茶炭疽病的田间防控提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

20种供试杀菌剂的信息见表1。

表1 20种杀菌剂的信息  
Table 1 Details of 20 fungicides

杀菌剂类型	名称	剂型	有效成分含量	生产商家
化学杀菌剂	烯酰吗啉	悬浮剂	40%	山东鑫星农药有限公司
	苯醚甲环唑	悬浮剂	40%	上海沪联生物药业(夏邑)股份有限公司
	氯溴异氰尿酸	可溶粉剂	50%	河北上瑞生物科技有限公司
	辛菌胺醋酸盐	水剂	1.80%	西安嘉科农化有限公司
	抑霉唑	水乳剂	20%	一帆生物科技集团有限公司
	吡唑醚菌酯	悬浮剂	25%	浙江大鹏药业股份有限公司
	二氰蒽醌	悬浮剂	22.70%	江西禾益化工股份有限公司
	啉菌酯	悬浮剂	22.50%	上海生农生化制品有限公司
	戊唑醇	悬浮剂	530 g/L	江苏剑牌农化股份有限公司
	咪鲜胺	水乳剂	45%	江西正邦作物保护股份有限公司
生物杀菌剂	d-柠檬烯	可溶液剂	5%	浙江天一生物科技有限公司
	四霉素	水剂	0.30%	辽宁微科生物工程有限公司
	寡糖·乙蒜素	微乳剂	25%	海南正业中农高科股份有限公司
	啉啉核苷类抗生素	水剂	6%	陕西麦可罗生物科技有限公司
	大黄素甲醚	水剂	0.50%	内蒙古清源保生物科技有限公司
	苯丙烯菌酮	微乳剂	0.20%	沈阳同祥生物农药有限公司
	几丁聚糖	水剂	0.50%	成都特普生物科技股份有限公司
	多抗霉素	水剂	3 000 mg/kg	乳山韩威生物科技有限公司
	香芹酚	可溶液剂	5%	山西德威本草生物科技有限公司
	苦参·蛇床素	水剂	1.50%	山西德威本草生物科技有限公司

### 1.2 病叶的采集

2023年8月，在都匀团山茶园采集具有典型炭疽病症状的病叶，记录其发病症状，用采集袋封装病叶，备用。

### 1.3 病原菌的分离纯化

采用组织分离法<sup>[4]</sup>分离纯化病原菌。取采集的病叶，用灭菌的剪刀将病健结合部位剪成3 mm×

3 mm的组织块，在75%乙醇中消毒10~30 s，再用灭菌水漂洗3次。晾干后，接种至PDA培养基中，于25℃恒温培养。待长出菌丝后，挑取边缘菌丝转移至新的培养基中，反复培养3~5次，直至得到单一菌落的纯培养菌株。

### 1.4 病原菌致病性的测定

利用柯赫氏法则对分离出的菌株进行致病性

验证。采用叶片刺伤接种法<sup>[4]</sup>测定病原菌的致病性。在健康茶叶表面刺4个小孔，取新活化的菌饼接种至叶片伤口处，以接种不带菌的PDA培养基为对照。试验重复3次。待叶片出现典型病斑后，从病斑处再次分离、纯化病原菌，与接种菌的特征进行对比。

1.5 病原菌的鉴定

1.5.1 病原菌的形态学观察

将病原菌在PDA培养基中25℃培养3~5 d，观察菌落的颜色、形状等特征，制作显微镜片，观察孢子形态。

1.5.2 病原菌的分子生物学鉴定

病原菌的DNA提取、扩增、测序等由北京擎科生物科技股份有限公司完成。分别采用ITS1(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')、ACT-512F(5'-ATGTGCAAGGCCGTTTCGC-3')和ACT-783R(5'-TACGAGTCCTTCTGGCCCAT-3')、GDF(5'-GCCGTCAA CGACCCCTTCATTGA-3')和GDR(5'-GGGTGGA GTCGTA CTTGAGCATGT-3')扩增ITS、*ACT*和

*GAPDH*基因并测序<sup>[5]</sup>。通过Blast比对同源性较高的菌株，选择模式菌株，利用BioEdit 7.2.6.1软件进行序列的比对和剪切，分别将ITS、*ACT*和*GAPDH*序列剪切为527、251、190 bp的序列，利用MAFFT version 7(<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>)在线比对序列，采用Sequence Matrix 1.7.8软件按照*ACT-GAPDH-ITS*的顺序串联剪切序列，拼接序列总长度为968 bp。拼接序列在MEGA 6中采用邻接法(Neighbor-Joining)构建多基因串联系统发育树，自展值(bootstrap replications)设为1 000，以*Monilochaetes infuscans* CBS:869.96为外群。

1.6 杀菌剂对病原菌的室内抑菌活性

采用菌丝生长速率法<sup>[6]</sup>测定抑菌活性。将20种杀菌剂溶于一定量二甲基亚砜(DMSO)中配制成母液，然后加入培养基中配制成5个浓度梯度的带毒培养基(表2)。取新活化的4 mm病原菌菌饼，接种于带毒培养基中，以不加杀菌剂的培养基为对照，重复3次。待对照组菌落长至培养皿的2/3大小时，采用十字交叉法测量菌落直径。通过软件DPS 7.05计算杀菌剂的毒力方程、EC<sub>50</sub>等指标。

表2 20种杀菌剂对T26和T60菌株的抑菌活性浓度

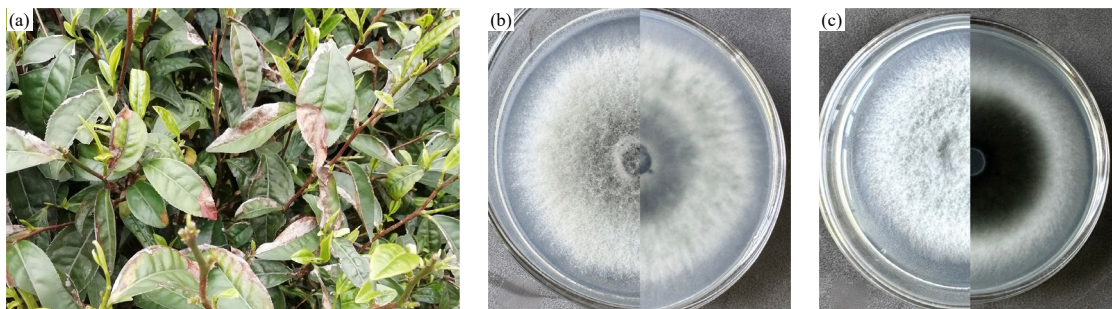
Table 2 Inhibitory concentrations of 20 fungicides against strains T26 and T60											μg/mL
杀菌剂	T26菌株					T60菌株					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
烯酰吗啉	4	6	8	10	12	4	6	8	10	12	
苯醚甲环唑	0.064	0.160	0.400	1.000	2.500	0.16	0.40	1.00	2.50	6.25	
氯溴异氰尿酸	80	100	120	140	160	60	80	100	120	140	
辛菌胺醋酸盐	4	8	16	32	64	7	9	11	13	15	
抑霉唑	0.064	0.160	0.400	1.000	2.500	0.16	0.40	1.00	2.50	6.25	
吡唑醚菌酯	0.008	0.040	0.200	1.000	5.000	0.04	0.20	1.00	5.00	25.00	
二氰蒽醌	3	5	7	9	11	7	9	11	13	15	
啉氧菌酯	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	1	2	4	8	16	
戊唑醇	0.064	0.160	0.400	1.000	2.500	0.16	0.40	1.00	2.50	6.25	
咪鲜胺	0.012 5	0.025 0	0.050 0	0.100 0	0.200 0	0.025	0.050	0.100	0.200	0.400	
d-柠檬烯	40	50	60	70	80	40	50	60	70	80	
四霉素	40	60	80	100	120	80	100	120	140	160	
寡糖·乙蒜素	40	50	60	80	90	40	50	60	80	90	
嘧啶核苷类抗生素	30	40	50	60	70	30	40	50	60	70	
大黄素甲醚	60	70	80	90	100	60	70	80	90	100	
苯丙烯菌酮	30	40	50	60	70	30	40	50	60	70	
几丁聚糖	20	25	30	35	40	25	30	35	40	45	
多抗霉素	40	60	80	100	120	40	60	80	100	120	
香芹酚	30	40	50	60	70	30	40	50	60	70	
苦参·蛇床素	80	100	120	140	160	40	50	60	70	80	

## 2 结果与分析

### 2.1 茶炭疽病病害的症状及病原菌的分离与纯化

田间茶炭疽病发病部位多发生在成叶和老叶,以叶尖或叶缘发病居多,呈褐色或灰白色,病健结合部位较明显,病斑处多有黑色小粒(图1(a))。

采用组织分离法对病原菌进行分离,多次纯化后,得到2株菌落形态不同的纯培养菌株,分别命名为T26和T60。T26菌株表面呈淡白色至灰色,背面菌落中心部位呈浅黑色(图1(b)); T60菌株表面呈淡白色,背面菌丝外缘呈灰白色,中间菌丝为黑色(图1(c))。



(a) 田间发病症状; (b) 分离的T26菌株; (c) 分离的T60菌株

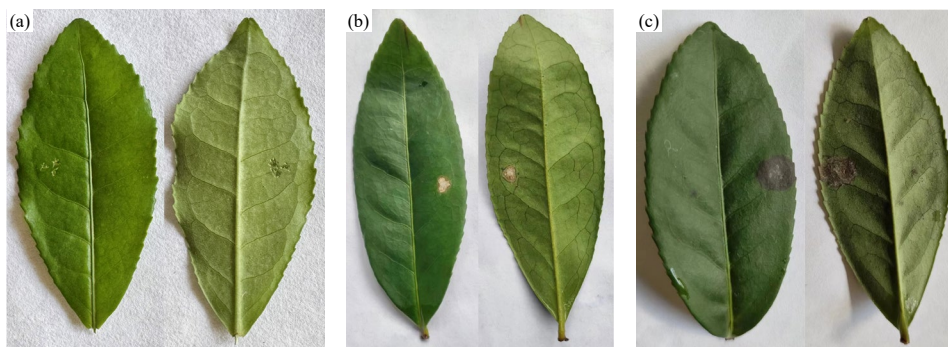
图1 茶炭疽病田间发病症状及病原菌分离纯化菌株的菌落形态

Fig.1 Field symptoms of tea anthracnose and colony morphology of the isolated pathogen

### 2.2 病原菌的致病性

与对照叶片相比(图2(a)), T26菌株侵染健康茶叶4 d后, 刺伤处可见白褐色病斑(图2(b)); T60菌株侵染茶叶3 d后, 刺伤处可见黑褐色病斑(图2(c))。接种T26菌株和T60菌株的茶叶出现的发病症状与

田间症状相似。但T60的致病性较T26的强, 侵染发病所需时间短, 致病病斑较大。再次从致病的病叶中分离出的致病菌与原接种菌株的特征一致, 证实T26菌株和T60菌株均为茶炭疽病的病原菌。



(a) 对照组; (b) T26菌株; (c) T60菌株

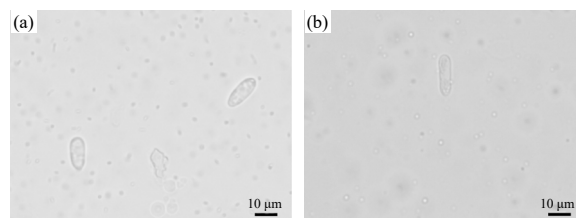
图2 病原菌T26和T60菌株的致病性测定结果

Fig.2 Pathogenicity test of T26 and T60 strains

### 2.3 病原菌的鉴定

#### 2.3.1 病原菌的形态结构

菌株T26和T60的分生孢子透明, 单细胞, 圆柱形, 末端圆形(图3)。其中, T26菌株分生孢子大小为 $(10.5\sim 18.8)\mu\text{m}\times(2.9\sim 5.6)\mu\text{m}$ (图3(a)), T60菌株分生孢子大小为 $(14.3\sim 25.6)\mu\text{m}\times(3.1\sim 6.7)\mu\text{m}$ (图3(b))。分生孢子形态结构与炭疽菌属的相似<sup>[7-8]</sup>。初步判断分离的T26和T60菌株为炭疽菌。



(a) T26菌株分生孢子; (b) T60菌株分生孢子

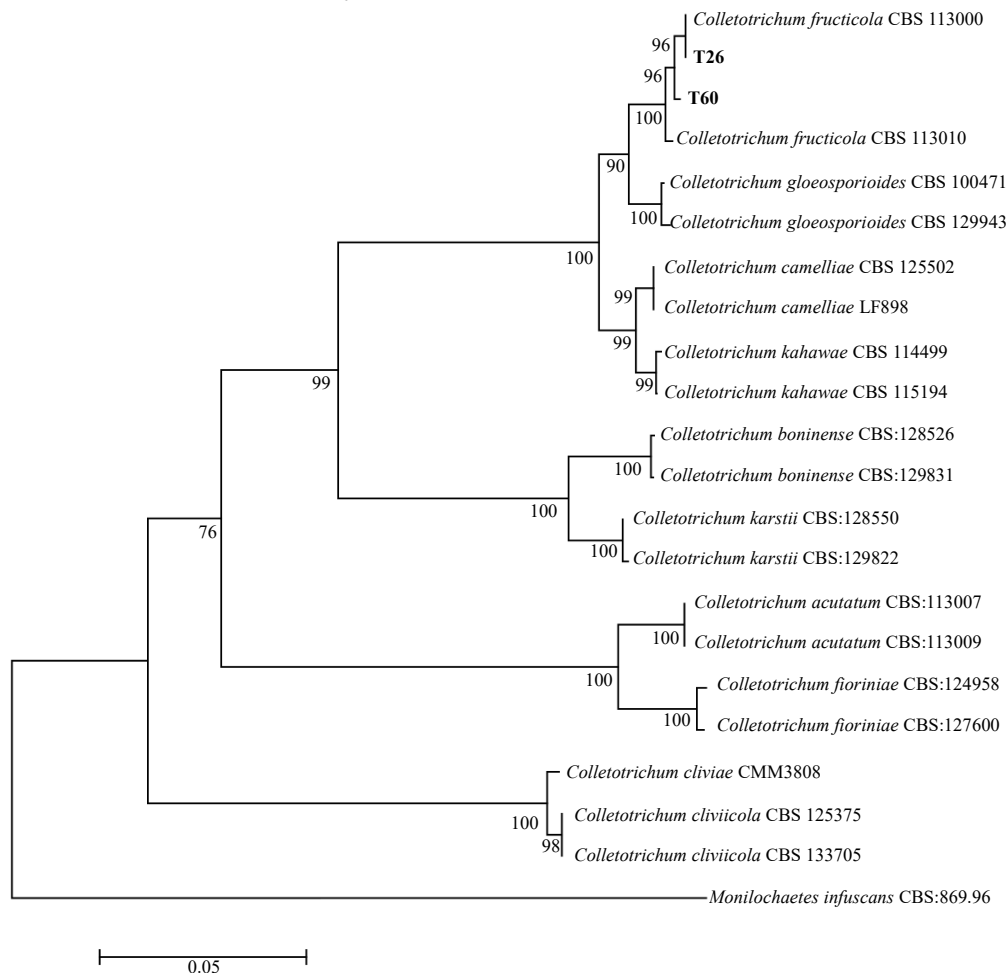
图3 菌株T26和T60的分生孢子的形态

Fig.3 Conidia morphology of strains T26 and T60

### 2.3.2 病原菌的分子生物学鉴定

菌株T26和T60经ITS、*ACT*和*GAPDH*基因测序比对后,发现其与炭疽菌属的序列同源性较高。将测序序列上传至NCBI数据库,T26菌株的ITS、*ACT*和*GAPDH*序列的登录号分别为PQ164377、PQ203161和PQ203159;T60菌株的ITS、*ACT*和*GAPDH*序列的登录号分别为PQ164378、

PQ203162和PQ203160。选择同源性较高的菌株及炭疽菌属的模式菌株,以*Monilochaetes infuscans* CBS:869.96为外群,构建基于*ACT-GAPDH-ITS*的多基因串联系统进化树。结果(图4)表明T26菌株和T60菌株均与果生刺盘孢菌(*Colletotrichum fructicola*)聚为一族。综合形态学结构特征,将菌株T26和T60鉴定为果生刺盘孢菌。



比例尺0.05表示2个物种间的遗传距离为每100个核苷酸中有5个发生了替换。

图4 基于ITS、*ACT*和*GAPDH*基因构建的炭疽病菌系统进化树

Fig.4 Phylogenetic tree of *Colletotrichum* based on ITS, *ACT* and *GAPDH* genes

### 2.4 20种杀菌剂对病原菌的抑菌活性

由表3可知,20种杀菌剂的剂量与抑菌率之间的毒力方程线性关系较好,相关系数较高,表明菌株与杀菌剂具有剂量依赖效应。但不同杀菌剂的毒力差异较大。10种化学杀菌剂对菌株T26的 $EC_{50}$ 值范围为0.03~166.95 mg/L,对T60的 $EC_{50}$ 值范围为0.07~148.72 mg/L,其中,咪鲜胺的抑菌效果最好,对T26、T60的 $EC_{50}$ 值分别为0.03、0.07 mg/L;苯醚甲环唑和抑霉唑对菌株T26的抑菌效果次之, $EC_{50}$ 值分别为0.36、0.62 mg/L;对菌株T60抑菌活

性较好的是吡唑醚菌酯和苯醚甲环唑, $EC_{50}$ 值分别为0.29、0.57 mg/L。10种生物杀菌剂对菌株T26的 $EC_{50}$ 值范围为41.59~158.61 mg/L,对T60的 $EC_{50}$ 值范围为41.84~103.15 mg/L,几丁聚糖的抑菌效果最好,对T26、T60的 $EC_{50}$ 值分别为41.59、41.84 mg/L;对菌株T26抑菌活性较好的有香芹酚、苯丙烯菌酮和嘧啶核苷类抗生素, $EC_{50}$ 值分别为64.69、66.10、70.39 mg/L;对菌株T60抑菌活性较好的有嘧啶核苷类抗生素、苯丙烯菌酮和香芹酚, $EC_{50}$ 值分别为70.39、70.57、72.60 mg/L。

表3 20种杀菌剂对菌株T26和T60的毒力结果  
Table 3 Toxicity of 20 fungicides to strains T26 and T60

杀菌剂	T26				T60			
	毒力方程	EC <sub>50</sub> 值/ (mg·L <sup>-1</sup> )	相关 系数 $r$	95%置信区间	毒力方程	EC <sub>50</sub> 值/ (mg·L <sup>-1</sup> )	相关 系数 $r$	95%置信区间
烯酰吗啉	$Y=1.784\ 1X+3.355\ 8$	8.35	0.962 2	7.334 6~9.502 4	$Y=2.493\ 3X+2.947\ 8$	6.65	0.969 9	5.931 6~7.464 2
苯醚甲环唑	$Y=0.765\ 4X+5.344\ 3$	0.36	0.974 4	0.252 7~0.498 7	$Y=1.295\ 0X+5.311\ 4$	0.57	0.971 4	0.389 1~0.849 0
氯溴异氰尿酸	$Y=3.821\ 9X-3.494\ 4$	166.95	0.972 8	148.496 7~187.694 7	$Y=2.466\ 6X-0.358\ 4$	148.72	0.970 7	128.133 3~172.612 1
辛菌胺醋酸盐	$Y=0.988\ 3X+3.374\ 1$	44.18	0.966 4	28.876 5~67.580 3	$Y=2.287\ 0X+2.646\ 0$	10.70	0.937 1	9.551 2~11.984 2
抑霉唑	$Y=0.662\ 4X+5.135\ 9$	0.62	0.989 4	0.496 5~0.783 0	$Y=1.067\ 2X+4.407\ 9$	3.59	0.921 7	1.506 7~8.543 2
吡唑醚菌酯	$Y=0.464\ 4X+4.931\ 3$	1.41	0.977 8	0.679 1~2.910 7	$Y=0.418\ 6X+5.223\ 8$	0.29	0.987 1	0.181 6~0.469 6
二氰蒽醌	$Y=1.279\ 7X+3.703\ 5$	10.31	0.992 7	9.404 3~11.296 0	$Y=2.695\ 3X+1.943\ 6$	13.61	0.983 5	12.615 2~14.689 8
啉氧菌酯	$Y=0.693\ 1X+4.486\ 7$	5.50	0.994 9	4.683 2~6.467 4	$Y=0.894\ 9X+4.663\ 6$	2.38	0.973 1	1.765 2~3.198 6
戊唑醇	$Y=0.608\ 8X+4.738\ 7$	2.69	0.986 9	1.755 2~4.112 8	$Y=0.855\ 8X+4.681\ 2$	2.36	0.954 5	1.361 1~4.085 2
咪鲜胺	$Y=1.290\ 6X+6.950\ 3$	0.03	0.970 6	0.022 7~0.041 9	$Y=1.360\ 5X+6.481\ 3$	0.07	0.984 3	0.066 5~0.099 9
d-柠檬烯	$Y=1.843\ 4X+1.422\ 8$	87.20	0.949 8	73.138 8~103.957 0	$Y=3.052\ 3X-0.817\ 5$	80.52	0.994 8	76.812 3~84.409 5
四霉素	$Y=1.410\ 1X+2.235\ 0$	91.36	0.962 1	79.384 6~105.152 7	$Y=1.596\ 8X+1.882\ 7$	89.57	0.931 8	76.448 4~104.954 1
寡糖·乙蒜素	$Y=0.762\ 6X+3.576\ 2$	73.61	0.976 7	67.487 9~80.297 6	$Y=2.961\ 1X-0.878\ 5$	96.66	0.981 1	85.590 3~109.155 5
嘧啶核苷类抗生素	$Y=2.271\ 5X+0.803\ 4$	70.39	0.990 2	65.115 6~76.085 4	$Y=2.271\ 5X+0.803\ 4$	70.39	0.990 2	65.115 6~76.085 4
大黄素甲醚	$Y=4.729\ 3X-4.468\ 3$	100.47	0.993 0	96.440 6~104.670 7	$Y=3.719\ 5X-2.489\ 1$	103.15	0.986 6	97.058 2~109.617 7
苯丙烯菌酮	$Y=2.919\ 7X-0.314\ 5$	66.10	0.981 4	59.970 5~72.855 5	$Y=2.065\ 7X+1.181\ 3$	70.57	0.966 7	60.938 3~81.721 4
几丁聚糖	$Y=4.261\ 1X-1.898\ 4$	41.59	0.961 3	36.153 0~47.834 3	$Y=4.352\ 9X-2.058\ 5$	41.84	0.990 8	40.018 0~43.736 6
多抗霉素	$Y=1.177\ 8X+2.618\ 2$	105.27	0.956 3	87.958 6~125.987 6	$Y=2.169\ 8X+0.806\ 8$	85.61	0.927 6	70.958 9~103.291 1
香芹酚	$Y=1.937\ 0X+1.492\ 5$	64.69	0.997 0	62.328 0~67.137 7	$Y=1.208\ 5X+2.750\ 9$	72.60	0.975 1	63.635 5~82.833 6
苦参·蛇床素	$Y=2.445\ 3X-0.380\ 4$	158.61	0.971 1	142.162 5~176.959 3	$Y=2.962\ 4X-0.556\ 4$	75.10	0.998 0	73.222 2~77.019 8

注：毒力方程中Y表示抑菌率；X表示杀菌剂剂量的对数值。

3 结论与讨论

茶炭疽病是严重危害茶树的病害之一，暴发严重时发病率为100%<sup>[3]</sup>。由于其病原菌种类多(近20种)，不同种或同种不同菌株的致病力差异大，导致茶炭疽病的防治较为困难。因此，明确炭疽病的病原菌种类，开展防治药剂的筛选是开展防治的前提。采用单一形态学结构特征或ITS序列进行鉴定容易导致炭疽种属的误判。综合运用形态学结构特征和多基因系统进化树方法是鉴定真菌物种关系较为成熟和经典的方法<sup>[9]</sup>。目前，除ITS外，*ACT*和*GAPDH*基因是鉴定炭疽菌属的特有基因，能较好地区分不同炭疽菌种属<sup>[8,10]</sup>。本研究从都匀市茶炭疽病病叶中分离纯化出2种形态不同的菌株T26和T60，经形态学以及ITS、*ACT*和*GAPDH*构建的系统进化树方法，将其鉴定为果生刺盘孢菌(*C. fructicola*)。但菌株T26和T60的致病力不同。其原因可能是不同菌株在自然选择或药物压力下发生基因突变，导致遗传变异，改变其毒力基因表达，影响产毒素代谢途径，降低或增强其对宿主的感应，导致其对宿主植物的侵染能力出现差异<sup>[11-13]</sup>。

杀菌剂是防治植物病害最快速最便捷的手段。针对具有不同致病力的菌株开展杀菌剂筛选，对田间精准防控意义重大。然而，我国用于防治茶树炭疽病的登记产品较少，生物杀菌剂仅有几丁聚糖1种，化学杀菌剂也只有氢氧化铜、吡唑醚菌酯、苯醚甲环唑等6种。其中吡唑醚菌酯和苯醚甲环唑是使用较多的杀菌剂<sup>[14-15]</sup>。在生物杀菌剂中，氧苦内酯和多抗霉素的效果较好，可用于茶树炭疽病菌的防治<sup>[15-16]</sup>。然而，近年来茶树炭疽病危害逐渐加剧，抗性不断增强，急需筛选更多高效低毒的杀菌剂。本研究筛选了10种化学杀菌剂和10种生物杀菌剂分别对茶树炭疽病菌果生刺盘孢菌株T26和T60开展室内毒力测定，结果表明化学农药咪鲜胺的抑菌效果最好，对T26、T60的EC<sub>50</sub>值分别为0.03、0.07 mg/L。咪鲜胺作为甾醇14 $\alpha$ -脱甲基化酶抑制剂(DMI)类杀菌剂，可干扰病原菌麦角甾醇的生物合成，导致细胞膜受损，从而抑制病原菌的生长<sup>[17]</sup>。其次，苯醚甲环唑和吡唑醚菌酯的抑菌活性也较好，与王国君等<sup>[14]</sup>、石媛等<sup>[15]</sup>的研究结论基本一致。生物农药中几丁聚糖活性最好，对T26、T60的EC<sub>50</sub>分别为41.59、41.84 mg/L。几丁聚糖通过其多阳离



子结构与带负电荷的病原菌细胞膜相互作用,导致细胞膜通透性改变、细胞内容物泄漏、病原菌细胞死亡;此外,几丁聚糖还可通过抑制病原菌细胞壁的合成、DNA的复制和转录等发挥抑菌作用<sup>[18-19]</sup>。本研究发现多抗霉素对都匀市茶炭疽病分离出的2个果生刺盘孢菌的抑菌活性相对较差,与以往研究<sup>[20-22]</sup>的结论不同,这可能是炭疽菌属及不同菌株对药剂的敏感性不同所致。但生物杀菌剂香芹酚、苯丙烯菌酮和嘧啶核苷类抗生素对分离的T26和T60菌株的抑菌活性较高,可以弥补生物防治药剂种类少的困境。同时,生防菌可有效抑制植物病原真菌,是替代化学防治技术较有潜力的技术<sup>[23-25]</sup>。综合以上研究结果,推荐咪鲜胺和几丁聚糖用于都匀市茶炭疽病的田间防治。

#### 参考文献:

- [1] 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.
- [2] 王兴娥,刘荣,杨欣,等.茶炭疽病的研究进展[J].湖北植保,2024(2): 13-17.
- [3] 王兴娥,马媛,孙友慧,等.都匀市螺丝壳秋季茶园主要真菌病害调查及防治建议[J].农业与技术,2024, 44(8): 14-17.
- [4] 郑樊,徐刚,仇芳,等.海南省火龙果软腐病病原菌的鉴定及生物学特性[J].植物保护,2019,45(4): 137-142.
- [5] WEIR B S, JOHNSTON P R, DAMM U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex[J]. Studies in Mycology, 2012, 73: 115-180.
- [6] ZHAO Y T, ZHANG A G, WANG X G, et al. Novel pyrazole carboxamide containing a diarylamine scaffold potentially targeting fungal succinate dehydrogenase: antifungal activity and mechanism of action[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(42): 13464-13472.
- [7] LI J, QIU F, XIE C P, et al. First report of *Colletotrichum fructicola* causing anthracnose on macadamia in China[J]. Plant Disease, 2023, 107(4): 1230.
- [8] SHI N N, DU Y X, RUAN H C, et al. First report of *Colletotrichum fructicola* causing anthracnose on *Camellia sinensis* in Guangdong Province, China[J]. Plant Disease, 2018, 102(1): 241.
- [9] 王玉春,刘守安,卢秦华,等.中国茶树炭疽菌属病害研究进展及展望[J].植物保护学报,2019,46(5): 954-963.
- [10] ZHANG L, LI X H, ZHOU Y Y, et al. Identification and characterization of *Colletotrichum* species associated with *Camellia sinensis* anthracnose in Anhui Province, China[J]. Plant Disease, 2021, 105(9): 2649-2657.
- [11] DEAN R, VAN KAN J A L, PRETORIUS Z A, et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology[J]. Molecular Plant Pathology, 2012, 13(4): 414-430.
- [12] CHOQUER M, FOURNIER E, KUNZ C, et al. *Botrytis cinerea* virulence factors: new insights into a necrotrophic and polyphageous pathogen[J]. FEMS Microbiology Letters, 2007, 277(1): 1-10.
- [13] TSUGE T, HARIMOTO Y, AKIMITSU K, et al. Host-selective toxins produced by the plant pathogenic fungus *Alternaria alternata*[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37(1): 44-66.
- [14] 王国君,熊建伟,陈利军.几种杀菌剂对信阳茶树炭疽病的防治效果评价[J].农药,2016,55(8): 604-606.
- [15] 石媛,王昆,田家顺.茶树炭疽病防治田间药效试验[J].湖南农业科学,2023(4): 73-75.
- [16] 陈晶,魏朝霞,唐嘉义.3种生物农药对4种茶树病害的室内抑菌试验[J].云南农业大学学报(自然科学),2012,27(3): 453-456.
- [17] 张保.咪鲜胺对意大利青霉菌的抑制作用及其抗性机制的研究[D].武汉:华中农业大学,2021.
- [18] KE C L, DENG F S, CHUANG C Y, et al. Antimicrobial actions and applications of chitosan[J]. Polymers, 2021, 13(6): 904.
- [19] IQBAL N, SHOAIB A, FATIMA Q, et al. Synthesis and antifungal efficacy of chitosan nanoparticles against notorious mycotoxigenic phytopathogens[J]. Plant Stress, 2024, 14: 100614.
- [20] HE L F, LI X X, GAO Y Y, et al. Characterization and fungicide sensitivity of *Colletotrichum* spp. from different hosts in Shandong, China[J]. Plant Disease, 2019, 103(1): 34-43.
- [21] USMAN H M, TAN Q, KARIM M M, et al. Sensitivity of *Colletotrichum fructicola* and *Colletotrichum siamense* of peach in China to multiple classes of fungicides and characterization of pyraclostrobin-resistant isolates[J]. Plant Disease, 2021, 105(11): 3459-3465.
- [22] ZHU Y Y, MA M T, LI H. Functional roles of two  $\beta$ -tubulin isotypes in regulation of sensitivity of *Colletotrichum fructicola* to carbendazim[J]. Phytopathology, 2024, 114(4): 690-699.
- [23] 贾孟媛,王越洋,唐培培,等.烟草黑胫病生防菌的筛选鉴定及其防效[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2023,49(3): 329-334.
- [24] 赵兴丽,刘诗琪,张金峰,等.一株抗茶炭疽菌和魔芋镰刀菌的淀粉酶产色链霉菌的分离、鉴定及生防潜能[J].微生物学通报,2024,51(2): 517-533.
- [25] 吕翠,张亮,黄军,等.辣椒果实胎座中生防细菌对白绢病的防效[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2020,46(3): 331-335.

责任编辑:毛友纯

英文编辑:罗维