

绿豆尾孢菌叶斑病研究进展

郭安, 杜成章, 张晓春, 陈红, 王萍, 皮竟, 张继君* (重庆市农业科学院, 重庆 402160)

摘要 综述了近年来绿豆尾孢菌叶斑病的病害症状、侵染循环、生长特性、病害防治和互作关系等研究进展, 并展望了绿豆尾孢菌病今后的研究方向, 为今后的绿豆尾孢菌叶斑病的防治及培育绿豆抗病品种提供了参考。

关键词 绿豆尾孢菌叶斑病; 病害症状; 生长特性; 病害防治

中图分类号 S435.22 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)33-0163-03

Research Progress on Mung Bean *Cercospora* Leaf Spot

GUO An, DU Cheng-zhang, ZHANG Xiao-chun, ZHANG Ji-jun* et al (Chongqing Academy of Agricultural Science, Chongqing 402160)

Abstract The disease symptoms, disease cycle, growth characteristics, disease control of mung bean *Cercospora* leaf spot and the interaction mechanism between pathogens and host were summarized in detail, and the research direction of mung bean *Cercospora* leaf spot were also prospected to provide reference for the disease control and breeding disease-resistant varieties of mung bean *Cercospora* leaf spot in the future.

Key words The mung bean *Cercospora* leaf spot; Disease symptoms; Growth characteristic; Disease control

绿豆是我国主要小杂粮作物^[1-2], 随着绿豆种植面积的逐年增加, 绿豆病害也逐步增加, 绿豆尾孢菌叶斑病已成为为害绿豆的主要侵染性真菌病害^[3-4]。我国安徽、河南、河北、陕西等省绿豆尾孢菌叶斑病发病较重^[5]。李怡琳等^[6]报道安徽省嘉山县为尾孢菌叶斑病的常发区, 1979年种植4.66 hm² 绿豆良田, 由于尾孢菌叶斑病的危害, 造成减产, 仅收20 kg种子。2015年李薇^[7]报道黑龙江地区尾孢菌叶斑病普遍发生, 不同地区发生程度不同, 2013—2014年林甸县发病严重, 2014—2015年肇源县发病很重。目前, 关于绿豆尾孢菌叶斑病的研究报道较少, 笔者综述了绿豆尾孢菌叶斑病的病害症状、侵染循环、生长特性、病害防治、病原菌与绿豆互作关系等方面的研究进展, 以期今后绿豆尾孢菌叶斑病的防治及绿豆抗病品种的培育提供借鉴。

1 病害症状及侵染循环

绿豆尾孢菌叶斑病是由尾孢菌属的多个种引起的, 李薇^[7]、白金铠^[8]记载主要致病菌有3个, 分别为菜豆明尾孢菌[*Cercospora caracallae* (Speg.) Chupp.]、菜豆尾孢菌(*Cercospora cruenta* Sacc.)和变灰尾孢菌(*Cercospora canescens* Ellis. W. Martin.)。由菜豆明尾孢菌和菜豆尾孢菌引起的病害症状相似, 发病较轻, 对绿豆危害不重, 而由变灰尾孢菌引起的叶斑病在绿豆生产上属于毁灭性病害, 造成大面积减产甚至绝收, 发病较轻时会造成20%~50%减产, 发病严重时造成90%以上减产^[7,9]。该病在开花前发生, 病原菌主要侵染绿豆植株的叶部, 发病初期叶片上出现水渍状褐色小点, 迅速扩大, 病斑近圆形, 边缘为红褐色或红棕色, 中央为浅灰色到浅褐色, 在连雨天或湿度很大时, 病斑上会产生灰色霉层, 当病情严重时, 病斑会连成片, 导致穿孔, 叶片枯死^[10-13]。国内刘昌燕等^[14]首次通过分离物的rDNA ITS区域测序比对,

确定引起绿豆叶斑病的主要致病菌为变灰尾孢菌。病原菌以菌丝体和分生孢子在种子或病残体中越冬, 成为翌年初侵染源。翌年春, 在病残体和发病植株上繁殖产生大量分生孢子, 分生孢子随风、雨、气流等方式传播侵染同一生长季内的其他寄主植物^[3]。炎热潮湿条件下, 经分生孢子多次再侵染, 病原菌大量积累, 引起流行, 尤以秋季多雨、连作地或反季节栽培发病重; 若少雨干旱, 则发病较轻^[14]。

2 病原菌生长特性研究

变灰尾孢菌是半知菌亚门真菌(Deuteromycotina)丝孢纲(Hyphomycetes)丝孢目(Hyphomycetales)暗色孢科(Dematiaceae)尾孢属(*Cercospora*), 生活史只有无性阶段或有性阶段尚未发现^[15]。病原菌生长特性研究, 为绿豆品种抗病性筛选和抗病品种选育提供大量菌源, 为绿豆叶斑病的流行、防治等提供依据。

2.1 培养基 与其他真菌不同, 变灰尾孢菌菌丝体生长缓慢, 产孢时间长, 长时间的培养容易被杂菌覆盖, 造成分离困难, 在不同培养基上生长差异显著^[16]。李怡琳等^[5]发现病原菌在PPSA与COA培养基产孢较高, 且PPSA更为突出; 孢子扩大培养试验结果表明, 高粱米培养基能大量产生分生孢子。金玉晓等^[17]选用12种培养基进行试验, 表明菌丝生长最适培养基是PSA和PDA培养基。刘昌燕等^[14]选用5种培养基, 供试分离物在不同培养基上的生长速率差异不显著, 但在V8培养基上生长速率相对较快, 菌落直径最大。张海涛等^[18]从采自大庆市林甸县的绿豆叶斑病标样上分离得到的纯培养2014LD14-08菌在10种培养基上培养, 研究表明高粱粒培养基是最适产孢培养基。

2.2 温度 变灰尾孢菌菌丝在5℃时不生长, 在10~30℃时均可生长, 但生长速度差异显著, 25℃时菌丝生长速度最快, 也是产孢的最适温度^[17-18]。

2.3 光照 变灰尾孢菌孢子形成的数量与光照相关, 光照可促进病原菌孢子的形成, 明显提高产孢量。李怡琳等^[5]研究表明, 在12h光照/12h黑暗交替培养产孢量最大。金玉晓等^[17]研究表明, 在光照、光暗交替、黑暗条件下培养, 菌丝生长速度不同。在光暗交替下的菌落直径最大, 光暗交替与

基金项目 重庆市级农发资金项目(NKY2015AC008); 重庆市级农发资金项目(NKY2016AB009); 国家现代农业产业技术体系专项(CARS-08); 重庆市科委的社会民生科技创新专项(cstc2016shmszx80116)。

作者简介 郭安(1983—), 女, 山西阳泉人, 助理研究员, 从事植物病害研究。*通讯作者, 研究员, 从事豆类遗传育种研究。

收稿日期 2017-09-28

光照差异不显著,与黑暗差异显著。张海涛等^[18]研究表明,在连续光照和12 h光照/12 h黑暗条件下的产孢量高于连续黑暗条件下,但差异不显著,并且连续黑暗有利于变灰尾孢菌分生孢子的萌发,萌发率达76%。

2.4 pH 变灰尾孢菌与其他尾孢菌属真菌一样,有较好的pH耐受性,菌丝在较宽的pH范围内均能生长。金玉晓等^[17]研究表明,菌丝pH在4.0~11.0时,均能生长并形成正常菌落,最适pH为7.0。刘昌燕等^[14]研究表明,分离物Cc-5在pH为2.0~11.0时均能生长,在pH为6.0时生长速率最快,弱酸性最适宜生长。张海涛等^[18]研究表明,变灰尾孢菌分生孢子可在较宽的pH范围内萌发,在pH为4.0~11.0时均可萌发,pH为6.0~7.0时萌发率最高,达85.42%。

2.5 碳源 不同的碳源影响菌丝的生长和分生孢子萌发。金玉晓等^[17]研究表明,病原菌丝适宜的碳源为麦芽糖、葡萄糖、乳糖、蔗糖和半乳糖,其中菌丝生长最快的为麦芽糖。张海涛等^[18]研究表明,蔗糖能促进分生孢子萌发,萌发率可达87%,是分生孢子萌发的最适碳源。

2.6 氮源 菌丝和分生孢子萌发在不同氮源培养基中生长速度有明显差异。金玉晓等^[17]研究表明,菌丝生长适宜的氮源为酵母膏、蛋白胨、丙氨酸和甘氨酸,最适氮源为酵母膏,与其他氮源差异显著。张海涛等^[18]研究表明,蛋白胨是分生孢子萌发的最佳氮源。

3 绿豆尾孢菌叶斑病防治

目前,防治绿豆尾孢菌叶斑病的主要方法是培育抗病品种和化学药剂防治^[19-22]。由于该病菌的分离培养和产孢较困难,而品种抗病性鉴定研究需要大量菌源,因此给绿豆抗病品种的鉴定和筛选带来一定困难,抗病品种较少,利用化学药剂进行防控仍然是防治该病害的主要措施。

3.1 培育抗性品种 对于植物病害的防治,选育和利用抗病品种是最经济有效的防治措施^[23]。目前,对绿豆抗性品种的选育主要是通过田间人工接种病菌,进行抗病性评价,筛选出抗性品种。李怡琳等^[5]采用喷雾接种孢悬液的方法从大田200份国内外绿豆品种中筛选到抗病品种4份、中抗品种8份。Iqbal等^[13]采用喷雾接种孢悬液的方法对大田中58种绿豆进行了抗性评价,筛选出12个高抗品种、15个抗病品种、17个中抗品种。Vadav等^[24]从65份绿豆种质资源中筛选出高抗品种1份、抗病品种3份、中抗品种52份。张海涛^[25]对18份收集的绿豆资源进行抗叶斑病评价,鉴定出抗病品种1份、中抗品种11份。

3.2 药剂防治 不同的杀菌剂在有效的安全浓度范围内能有效控制绿豆尾孢菌叶斑病的蔓延,同时,为防止病原菌产生耐药性,降低防治效果,可采用轮换杀菌剂的方法。在用化学药剂对绿豆尾孢菌叶斑病进行防治时,掌握最佳防治时期,即在发病初期开始第1次药剂防治,以后每隔7 d防治1次,连续防治3次^[26]。郭继红等^[27]研究表明,灭病威对绿豆叶斑病的防治效果显著。邢宝龙等^[9]研究表明,用25%啞菌酯悬浮剂500倍液浸种2 h+25%啞菌酯悬浮剂600倍液喷

雾、25%多·霉威悬浮剂500倍液浸种2 h+25%多·霉威悬浮剂600倍液喷雾、25%戊唑醇乳油500倍液浸种2 h+25%戊唑醇乳油600倍液喷雾能防治绿豆尾孢菌叶斑病。陈秀丽等^[28]研究4种杀菌剂浸种和喷雾处理,结果表明种子浸种+喷雾处理的防病效果高于喷雾处理和种子处理。刘昌燕等^[26]研究表明,43%戊唑醇悬浮剂800倍液喷雾、25%啞菌酯悬浮剂800倍液喷雾、43%戊唑醇悬浮剂500倍液浸种2 h+43%戊唑醇悬浮剂800倍液喷雾、25%啞菌酯悬浮剂500倍液浸种2 h+25%啞菌酯悬浮剂800倍液喷雾4种处理对绿豆尾孢菌叶斑病的防治效果明显,第3次施药后28 d的防治效果均在80%以上。刘本品等^[29]研究了4种杀菌剂12种处理对绿豆尾孢菌叶斑病的防治作用,结果表明用25%啞菌酯悬浮剂500倍液浸种30 min+25%啞菌酯悬浮剂800倍液喷雾、60%乙霉·多菌灵可湿性粉剂800倍液浸种30 min+60%乙霉·多菌灵可湿性粉剂800倍液喷雾、43%戊唑醇悬浮液800倍液浸种30 min+43%戊唑醇悬浮液800倍液喷雾的相对防效分别为85.12%、82.55%、82.29%,防治效果较好。薛仁凤等^[30]研究表明,43%戊唑醇悬浮剂1 500~2 000倍液能有效防治绿豆尾孢菌叶斑病。

3.3 除草剂 通过喷施除草剂不但可以有效防治绿豆田间杂草,还能对绿豆尾孢菌叶斑病起到一定的防治作用。葛维德等^[31]研究表明,异丙甲草胺氟磺胺草醚播后苗前喷雾、拿捕净氟磺胺草醚苗后喷雾、精喹禾灵+乙羧氟草醚苗后喷雾3种除草剂组合能有效防治叶斑病,其中精喹禾灵+乙羧氟草醚苗后喷雾的防治效果最好。

4 病原菌与植物互作关系初步研究

植物与病原物在长期相互影响的共进化过程中,植物形成了一系列复杂而行之有效的保护机制来抵御病原微生物的侵染,涉及众多信号因子和基因参与。自Fridovich提出生物超氧离子自由基学说以来,细胞保护性酶系统与植物抗病性的关系引起了人们的普遍关注^[32]。张海涛^[25]初步研究了病原菌与寄主互作的关系,发现在接种变灰尾孢菌后,绿豆体内过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化物酶(POD)等防御相关酶活性总的变化趋势是抗病品种酶活性响应时间早,升高幅度大。绿豆体内抗病相关防御基因GLU、PAL、CHI均出现明显上调趋势,激发了编码这3种抗病相关蛋白的基因的表达。植物抗病、抗虫以及其他环境胁迫反应通常由不同的植物激素参加调节,被称为植物抗病防御基本信号通路^[33]。由水杨酸介导的抗病防御信号途径在植物系统获得性抗性中发挥关键性作用^[34]。在水杨酸介导的抗病防御信号途径中,苯丙氨酸解氨酶(PAL)是调节该信号途径的关键性酶^[35-37],与系统获得性抗性表达存在相关性^[38]。张海涛^[25]研究表明,不同抗性品种绿豆在接种变灰尾孢菌后,苯丙氨酸解氨酶基因受变灰尾孢菌诱导后第1和第15天的相对表达量上升,抗病品种绿美十号中的苯丙氨酸解氨酶基因的相对表达量要高于感病品种鹦哥绿。

5 展望

自发现绿豆尾孢菌叶斑病以来,国内外学者在病原菌的纯化培养和病害防治方面做了大量工作,但对绿豆与病原菌的互作还缺乏较为系统的研究。根据“基因对基因假说”,病原菌的无毒基因(*Avr*)与植物的抗性基因(*R*)相互作用才能使植物产生抗性反应,病原繁殖受到抑制,有效控制病害的发生^[39]。因此,结合分子病理学的发展,病原菌侵染致病的重要相关基因、病原激发子的信号传导、防卫反应基因激活机理以及外源信号启动的防御通路将作为今后的研究热点,同时利用绿豆的抗病及防卫基因培育抗病品种将是今后防治尾孢菌叶斑的主要途径。

参考文献

[1] 郑卓杰. 中国食用豆类学[M]. 北京:中国农业出版社,1997:141-166.
 [2] 林汝法,柴岩,廖琴,等. 中国小杂粮[M]. 北京:中国农业出版社,2002:192-209.
 [3] 朱振东,段灿星. 绿豆病虫害鉴定与防治手册[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2012:3-50.
 [4] 许志刚. 普通植物病理学[M]. 3版. 北京:中国农业出版社,2009:2-138.
 [5] 李怡琳,李淑英. 绿豆品种抗叶斑病鉴定研究[J]. 作物品种资源,1987,6(3):11-14.
 [6] 李怡琳,李淑英,凌贤巨,等. 绿豆叶斑病药剂防治试验简报[J]. 植物保护,1985,11(4):29-30.
 [7] 李薇. 黑龙江省绿豆主产区病害调查及主要病害药剂防治[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学,2015:24-31.
 [8] 白金铠. 杂粮作物病害[M]. 北京:中国农业出版社,1997:379-380.
 [9] 邢宝龙,冯高,郭新文,等. 绿豆尾孢菌叶斑病田间药剂防治试验[J]. 山西农业科学,2012,40(3):264-266.
 [10] 赖传雅,袁高庆. 农业植物病理学(华南本)[M]. 北京:科学出版社,2003:157-161.
 [11] CHAND R P, SINGH V, PAL C, et al. First report of a new pathogenic variant of *Cercospora canescens* on mungbean (*Vigna radiata*) from India [J]. New disease reports, 2012, 26:6.
 [12] THAKUR R P, PATEL P N, VERMA J P. Genetical relationships between reactions to bacterial leaf spot, yellow mosaic and *Cercospora* leaf spot diseases in mungbean (*Vigna radiata*) [J]. Euphytica, 1977, 26(3):765-774.
 [13] IQBAL S M, ZUBAIR M, HAQQANI A M. Resistance in mungbean to *Cercospora* leaf spot disease [J]. International journal of agriculture and biology, 2004, 6(5):792-793.
 [14] 刘昌燕,肖炎农,吴小微,等. 绿豆叶斑病病原鉴定及生物学特性研究[J]. 植物保护,2015,41(6):83-87.
 [15] 陆家云. 植物病原真菌学[M]. 北京:中国农业出版社,2011:402.
 [16] 郭英兰,刘锡璉. 中国真菌志:第24卷 尾孢菌属[M]. 北京:科学出版社,2005:16.

[17] 金玉晓,李薇,台莲梅,等. 绿豆叶斑病病原菌生长特性研究[J]. 中国植保导刊,2014,34(10):16-19.
 [18] 张海涛,殷丽华,柯希望,等. 绿豆叶斑病菌分生孢子的产生和萌发条件研究[J]. 农学学报,2016,6(10):78-82.
 [19] 曹赞丽,张振海,孟世峰. 绿豆病害的主要症状及防治措施[J]. 河南农业,2008(17):14.
 [20] IQBAL S M, HUSSAIN S, ZUBAIR M, et al. Field evaluation of mungbean genotypes to *Cercospora* leaf spot [J]. Pakistan journal of phytopathol, 1992, 4:28-31.
 [21] IQBAL S M, MALIK M R, MALIK B A. Economics of foliar fungicides to control *Cercospora* leaf spot disease of mungbean [J]. Sarhad J Agric, 1990, 6:485-489.
 [22] 段志龙,赵大雷,刘小进,等. 绿豆常见病害的症状及主要防治措施[J]. 农业科技通讯,2009(6):151-152.
 [23] 王焕如,朱之靖. 选育和利用抗病品种策略问题的讨论[J]. 植物保护,1992,18(2):28-30.
 [24] VADAV D L, PANDEY R N, JAISANI P, et al. Sources of resistance in mungbean genotypes to *Cercospora* leaf spot disease and its management [J]. African journal of agricultural research, 2014, 9(41):3111-3114.
 [25] 张海涛. 绿豆响应变灰尾孢菌侵染的防卫酶活性变化及抗性基因表达模式分析[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学,2017:23-35.
 [26] 刘昌燕,仲建峰,万正煌,等. 化学药剂对绿豆尾孢菌叶斑病的田间防治效果比较[J]. 安徽农业科学,2013,41(25):10307-10308,10312.
 [27] 郭继红,刘钦兰,郑明敏. 灭病威防治绿豆叶斑病初报[J]. 农药,1989,28(6):50.
 [28] 陈秀丽,孙国军,宋立东. 绿豆尾孢菌叶斑病田间药剂防治探索[J]. 吉林农业(学术版),2012(12):50.
 [29] 刘本品,刘爽,张丽辉. 绿豆尾孢菌叶斑病田间药剂防治试验报告[J]. 农业与技术,2014,34(4):115,124.
 [30] 薛仁凤,赵阳,赵秋,等. 43%戊唑醇悬浮剂田间防治绿豆尾孢菌叶斑病试验效果[J]. 中国植保导刊,2015,35(9):59-61.
 [31] 董维德,付思齐,薛仁凤,等. 几种除草剂对绿豆田杂草的防治效果及绿豆病害影响的研究[J]. 辽宁农业科学,2014(6):22-26.
 [32] 张树生,胡蕾,刘忠良,等. 植物体内抗病相关酶与植物抗病性的关系[J]. 安徽农学通报,2006,12(13):48-49.
 [33] DANGL J L, JONES J D G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection[J]. Nature, 2001, 411:826-833.
 [34] RYALS J A, NEUENSCHWANDER U H, WILLITS M G, et al. Systemic acquired resistance[J]. Plant cell, 1996, 8(10):1809-1819.
 [35] DIXON R A, ACHNINE L, KOTA P, et al. The phenylpropanoid pathway and plant defence: A genomic perspective[J]. Molecular plant pathology, 2002, 3(5):371-390.
 [36] YANG Y N, QI M, MEI C S. Endogenous salicylic acid protects rice plants from oxidative damage caused by aging as well as biotic and abiotic stress [J]. The plant journal, 2004, 40(6):909-919.
 [37] 张磊. 茉莉酸甲酯和水杨酸对水稻不同抗稻瘟病品种 OsCPK9 和 PR 基因表达影响[D]. 武汉:华中科技大学,2011:11.
 [38] 王生荣,朱克恭. 植物系统获得抗病性研究进展[J]. 中国生态农业学报,2002,10(2):32-35.
 [39] FLOR H H. Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini* [J]. Phytopathology, 1942, 32:653-669.

(上接第127页)

[21] 王变利,高燕,赵秀香. 金银花水提取物体外抗病毒实验研究[J]. 辽宁中医杂志,2015,42(8):1495-1497.
 [22] 滕杨,罗时旋,郭英雪,等. 代谢组学法考察金银花醇提取物对 DMN 诱导大鼠肝损伤的保护作用[J]. 食品研究与开发,2016,37(4):29-34.
 [23] 罗时旋,赵稷,张宇,等. 代谢组学法考察金银花醇提取物对模型小鼠肝损伤的预防作用[J]. 中国药房,2015,26(22):3109-3112.
 [24] 明海霞,陈彦文,黄世佐,等. 甘肃金银花对实验动物胆汁分泌及胆囊平滑肌的影响[J]. 中医药学报,2014,42(1):65-67.
 [25] 陈红莲. 金银花对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的影响[J]. 中国老

年学杂志,2011,31(16):3086-3087.
 [26] 汤瑾,刘文,苏松柏,等. 金银花、山银花不同提取物对小鼠化学性肝损伤的保护作用研究[J]. 亚太传统医药,2016,12(16):9-11.
 [27] 王梅,刘峰,林昌虎,等. 化学发光法检测不同干燥方法对金银花抗氧化活性和化学成分的影响[J]. 山东科学,2013,26(2):56-60,65.
 [28] 王玉林,李红岩,高亮. 四味金银花汤加减联合化疗治疗中心型非小细胞肺癌 40 例临床研究[J]. 河北中医,2016,38(4):541-544.
 [29] 朱小峰,朱晓娣,王金梅. 封丘产金银花不同提取物的体外抗氧化、抗凝血及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 中国药房,2016,27(34):4804-4806.