果 树 学 报 2023,40(9):1943-1951
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20230025

浙江省瓜类根腐病病原菌鉴定及其对杀菌剂敏感性测定

严蕾艳,王迎儿,邢乃林,古斌权,黄芸萍,王毓洪*

(宁波市农业科学研究院蔬菜研究所·宁波市特色园艺作物品质调控与抗性育种重点实验室,浙江宁波 315040)

摘 要:【目的】明确浙江省内西瓜、甜瓜、葫芦和南瓜等瓜类作物根部病害种类及筛选病害防治的有效杀菌剂。**【方法】**通过病原菌分离培养、形态学特征观察、基因序列分析和致病性测定确定了造成瓜类根部病害的主要病原菌,并采用菌丝生长速率法测定了该病原菌对5种杀菌剂的敏感性。**【结果】**从不同瓜类作物上分离的主要根部病原菌从形态学上观察菌丝呈白色,在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar,PDA)上产生分生孢子。以内转录间隔区(internal transcribed spacer,ITS)和蛋白翻译延长因子1-α(Translation elongation factor 1-α,TEF1-α)为引物进行基因序列分析,发现病原菌与腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)聚为一类。病原菌寄主专化性测定表明,鉴定到的多个瓜类根腐病菌可同时侵染西瓜、甜瓜、葫芦和南瓜等4种瓜类作物,病原菌的寄主专化性不明显。不同药剂敏感性测定结果表明,咪鲜胺对瓜类根腐病原菌的菌丝生长的抑制作用最强,平均有效中浓度EC_{50}为0.135 mg·L^{-1};嘧菌酯的抑制作用最弱,所有测试菌株的EC_{50}均大于800 mg·L^{-1}。**【结论】**在浙江省内首次鉴定到一种由腐皮镰刀菌引起的西瓜、甜瓜、葫芦和南瓜等瓜类根腐病。杀菌剂敏感性测定表明,咪鲜胺对菌丝生长有较好的抑制作用。

关键词:瓜类,腐皮镰刀菌,寄主专化性,杀菌剂敏感性

中图分类号:S65 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-9980(2023)09-1943-09

Identification and fungicide sensitivity of pathogens causing Cucurbitaceae root rot in Zhejiang province

YAN Leiyan, WANG Ying'er, XING Nailin, GU Binquan, HUANG Yunping, WANG Yuhong*

(Vegetable Institute, Ningbo Academy of Agricultural Sciences/Ningbo Key Laboratory of Characteristic Horticultural Crops in Quality Adjustment and Resistance Breeding, Ningbo 315040, Zhejiang, China)

Abstract:【Objective】Cucurbitaceae is one type of the most important economic plants in the world, including watermelon, melon, gourd, cucumber, pumpkin and other common vegetables and fruits. With the increase of protected cultivation area and the increasingly serious land continuous cropping obstacles, soil-borne diseases of Cucurbitaceae have occurred seriously, affecting the yield and quality. Grafting technology is one of the effective ways to solve soil-borne diseases like *Fusarium* wilt. However, in recent years, watermelon and other melon crops have withered and died in many Cucurbitaceae production areas in Zhejiang, including watermelon grafted on gourd or pumpkin rootstocks. It is preliminarily determined that the plants may be infected with other soil-borne diseases other than fusarium wilt, but the specific type of pathogen has not been determined. Therefore, this study was conducted to investigate the soil-borne disease of Cucurbitaceae in Zhejiang.【Methods】The pathogens were isolated by tissue separation method, and small pieces of necrotic root tissues were cut, sterilized, dried and placed on PDA with streptomycin, growing at 25 ℃ for 4 d. The purified stains were stored on PDA at 4 ℃. The main pathogens causing Cucurbitaceae root rot were identified by morphological characteristic observa-

收稿日期:2023-02-24 **接受日期:**2023-05-24

基金项目:科技创新2025重大专项(2021Z006);国家西甜瓜产业技术体系项目(CARS-25)

作者简介:严蕾艳,女,副研究员,博士,主要从事植物病原真菌分子生物学研究。Tel:0574-87923251,E-mail:yanleiyan@zju.edu.cn

*通信作者 Author for correspondence. Tel:0574-87924005,E-mail:yhwangsc@163.com

tion, sequence analysis and pathogenicity test. The main causal agent of *F. solani* root rot from necrotic roots of watermelon, melon, bottle gourd and pumpkin was identified in Zhejiang. The pathogenicity of stains to different Cucurbitaceae crops was determined by yellowing seedling hypocotyl inoculation. The pathogens were inoculated on PDA containing penicillin and rifampicin for 5 d in dark at 25 ℃, and then the mycelium block was inoculated on the hypocotyl of the seedling with yellowing flattened cotyledons growing in dark, and wrapping with soaked absorbent paper for 4 d. The sensitivity of pathogens to five fungicides was determined by the mycelial growth rate method, i.e., the mycelial disk of pathogens with a diameter of 0.5 cm was inoculated on PDA containing different concentrations of fungicides, and the colony diameter was measured by the cross method after 5 d at 25 ℃.【Results】The results showed that the colony of the *F. solani* root rot pathogen was light pink, with a small amount of white thin aerial hypha growing on PDA for 7 d, and directly produced conidia on PDA. According to the observation on conidia under the microscope, the large conidia were fusiform and obtuse at both ends with 2−4 septums, and the size was (22.5−35.0) μm × (2.5−3.5) μm. The small conidia were oval, with 0−1 septum, and the size was (5.0−18.0) μm × (2.5−3.0) μm. The fragment amplified by the universal primers ef1/ef2 was 735 bp, and BLAST analysis showed that the sequence was 99% identity to *F. solani* (GenBank accession:KR935896.1). The fragment amplified by the universal primers ITS1/ITS4 was 544 bp, and BLAST analysis showed that the sequence was 97% identity to *F. solani* (GenBank accession:MK250905.1). Phylogenetic tree analysis based on ITS and tef1-α sequences of *F. solani* showed that FS-isolates and *F. solani* clustered together, combined with the morphological characteristics of the strains, and these pathogens were identified as *F. solani.* The results of host specialization showed that the pathogens could infect watermelon, melon, gourd and pumpkin. The sensitivity of the pathogens to different fungicides was determined. The results indicated that prochloraz had the highest activity inhibiting mycelial growth of the pathogens, with an average median effective concentration (EC_{50}) value of 0.13 mg · L^{-1}, followed by carbendazim with an average EC_{50} of 1.262 mg · L^{-1}, while azoxystrobin had the weakest inhibitory effect, and EC_{50} of all tested strains was greater than 800 mg · L^{-1}.【Conclusion】In this study, *F. solani* causing Cucurbitaceae root rot of watermelon, melon, gourd, pumpkin and other Cucurbitaceaes was identified in Zhejiang. Pathogenicity analysis showed that *F. solani* could infect a variety of Cucurbitaceae crops without obvious host specialization. The fungicide sensitivity test showed that the three fungicides including prochloraz, carbendazim and iprodione, were effective against *F. solani* mycelial growth, which could provide theoretical basis for disease control in the field. The *F. solani* stains in this study can infect watermelon, melon, gourd and pumpkin, so rotation between these crops cannot solve the root rot problem. The purpose of using pumpkin or gourd grafting is to solve the problem of soil-borne diseases. In this study, it was found that pumpkin or gourd grafting rootstock itself would cause root rot, leading to crop failure. At present, there are few studies on the breeding of Cucurbitaceae crops for resistance to *F. solani* root rot. In the future, it is necessary to breed not only the scion varieties with resistance to *F. solani* root rot, but also the rootstocks.

Key words: Cucurbitaceae; *Fusarium solani*; Host specialization; Fungicide sensitivity

瓜类根腐病是由半知菌亚门真菌（Deuteromycotina）腐皮镰刀菌（*Fusarium solani*）引起的病害，在西瓜、甜瓜和黄瓜等葫芦科作物上普遍发生，是继瓜类枯萎病之后的又一毁灭性土传病害[1-3]。瓜类根腐病的病原菌主要侵染根部，初呈水浸状，后呈浅褐色湿腐，病部腐烂处维管束变褐色，但不向上扩展，此症状可与枯萎病相区别[4]。瓜类枯萎病目前可通过嫁接换根有效解决，但是随着设施面积的不断增加，轮作倒茬困难，土壤中的病原菌多年连续繁殖积累，导致土传病害逐年加重，即使通过嫁接技术仍有

瓜类作物发生根部腐烂，给瓜类生产带来严重损失[5]。

国内外对瓜类根腐病的研究报道不多。国外有研究报道南瓜根腐病是由腐皮镰刀菌南瓜专化型（*F. solani* f. sp. *cucurbitae*）侵染引起的，且能够侵染包括甜瓜在内的其他葫芦科作物[6]。国内甜瓜根腐病最早发生于20世纪80年代末的新疆地区，分离的病原菌腐皮镰刀菌可侵染甜瓜、西瓜、豇豆和黑籽南瓜，但并不侵染冬瓜、金丝瓜等作物[7]。新疆甜瓜根腐病在甜瓜的整个生育期都能感病，种子药剂处理、播种药土覆盖及定植后药剂灌根等措施对其有一定的防效[7]。刘心刚等[8]从西藏设施西瓜病株上分离到的病原菌，通过形态学鉴定和ITS rDNA序列比对鉴定为腐皮镰刀菌，人工接种可侵染黄瓜和西瓜。杨颖等[9]采用幼苗离体接种法对267份薄皮甜瓜种质资源进行根腐病抗性鉴定，筛选到多份抗源材料。吴会杰等[10]明确了引起甘肃皋兰地区甜瓜根腐病的主要病原菌为尖孢镰孢菌甜瓜专化型（*F. oxysporum* f. sp. *Melonis*）及黑点根腐病菌（*Monosporascus cannonballus*）。

近年来，浙江省宁波、台州、衢州等多个瓜类产区发生西甜瓜等瓜类作物萎蔫、死亡现象，其中包括采用葫芦或南瓜砧木嫁接的西甜瓜，初步判断可能是感染了除枯萎病菌外的其他土传病害，具体病原菌种类尚未确定。笔者在2017—2021年开展了浙江省内瓜类种植基地病害调查，采集了西瓜、甜瓜和包括嫁接瓜类的萎蔫病株，通过分离根部病原菌、形态学观察及基因序列分析等相关研究，确定了引起瓜类根部腐烂的主要病原菌腐皮镰刀菌并测定了该病原菌对多种杀菌剂的敏感性情况，以期为病害的科学防控提供理论依据。

1　材料和方法

1.1　瓜类根腐病病害田间症状调查

2017—2021年在浙江省宁波鄞州、台州临海、杭州萧山、温州苍南和衢州常山等地的瓜类种植基地采集冬瓜、西瓜、甜瓜、葫芦砧木嫁接西瓜和南瓜砧木嫁接西瓜等瓜类萎蔫病株，选取根茎部有腐烂症状的瓜类样品共计65株。

1.2　病原菌分离与纯化

采用组织分离法[11]，切取小块根部发病组织于1%次氯酸钠溶液浸泡消毒1 min，无菌水漂洗3次晾干，置于含有25 mg·L^{-1}链霉素的马铃薯葡萄糖琼脂培养基（potato dextrose agar，PDA）培养基上，25 ℃培养箱中培养，长出菌落后再分离纯化。将分离纯化的菌株转接至PDA斜面，4 ℃冰箱保存备用。

1.3　病原菌鉴定

1.3.1　病原菌形态学鉴定　将病原菌接种于PDA培养基上，25 ℃黑暗培养5 d后，观察并拍照记录菌落形态、分生孢子形态等，作为病原菌形态学分类依据。

1.3.2　病原菌基因序列分析　病原菌基因组采用简便快速的菌丝DNA提取办法，具体操作步骤如下：用灭菌牙签从PDA平板上刮取菌丝约100 mg，加500 μL DNA提取裂解液（0.2 mol·L^{-1} Tris-HCl、0.05 mol·L^{-1}乙二胺四乙酸、0.02 mol·L^{-1} NaCl、质量分数1%的十二烷基磺酸钠），充分研磨混匀，室温静止10 min；13 200 r·min^{-1} 4 ℃离心5 min，取上清液加750 μL无水乙醇混合均匀，离心弃上清液；沉淀用体积分数70%乙醇洗涤，室温干燥后溶于30 μL TE缓冲液（pH 8.0），−20 ℃保存备用。PCR扩增引物为核糖体内转录间隔区（internal transcribed spacer，ITS）的通用引物对ITS1（5’-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3’）和ITS4（5’-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’）[12]，蛋白翻译延长因子1-α（translation elongation factor 1-α，TEF1-α）通用引物对ef1（5’-ATGGGTAAGGA（A/G）GACAAGAC-3’）和ef2（5’-GGA（G/A）GTACCAGT（G/C）ATCATGTT-3’）[13]。PCR反应的扩增体系为：DNA模板1 μL（约0.4 ng），引物对（ef1+ef2或ITS1+ITS4）各0.2 μmol·L^{-1}[生物工程（上海）股份有限公司合成]，dNTP 0.2 μmol·L^{-1}，$MgCl_2$ 2 mmol·L^{-1}，1×缓冲液（上海博彩生物科技有限公司），聚合酶1.5 U，双蒸水补足至25 μL。PCR反应条件为：95 ℃预变性3 min，94 ℃变性30 s，53 ℃退火30 s，72 ℃延伸30 s，进行35个循环，最后72 ℃延伸5 min。PCR产物送往生物工程（上海）股份有限公司进行测序。采用DNAMAN软件与NCBI网站BLAST分析程序进行序列比对，采用MEGA X最大相似自然法（Maximun Likelihood method）进化树分析[14]。

1.4　病原菌的寄主专化性测定

分离鉴定得到的根腐病原菌对不同瓜类寄主的致病力采用黄化苗下胚轴接种法[15]。取遮光培养的子叶展平的甜瓜银蜜58、西瓜西农8号、中国南

瓜壮士、葫芦强根幼苗，将根腐病菌株接种于含有50 mg·L^{-1}青霉素和50 mg·L^{-1}利福平的PDA平板25 ℃暗培养5 d后，用直径0.8 cm的打孔器打取菌丝块接种于幼苗下胚轴处，以空白培养基替代菌饼作对照。将接种后的下胚轴用浸湿的吸水纸包裹保湿，4 d后观察结果。每处理3个重复共15株，试验重复2次。“-”为未发病，“+”为接种位置变褐，“++”为病斑扩展，病斑长；“+++”为病斑扩展，绕茎枯死。

1.5 病原菌对不同杀菌剂的敏感性测定

1.5.1 *供试药剂* 根据杀菌剂的种类，分别选择二羧酰亚胺类杀菌剂96.0%异菌脲（iprodione）、咪唑类杀菌剂95.0%咪鲜胺（prochloraz）、甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂96.0%嘧菌酯（azoxystrobin）、苯并咪唑类杀菌剂95.0%多菌灵（carbendazim）和三唑类杀菌剂96.0%三唑酮（triadimefon），以上原药均由江西正邦生物化工有限公司提供。

1.5.2 *病原菌对不同杀菌剂的敏感性* 7个病原菌对5种杀菌剂的敏感性测定采用菌丝生长速率法，即打取直径0.5 cm的病原菌菌丝盘，接种于含不同杀菌剂质量浓度的PDA平板中心，以不含药PDA平板为空白对照。5种含药平板的终质量浓度见表1。25 ℃培养箱培养5 d后采用十字交叉法测量菌落直径，每个浓度重复3皿，试验重复2次。菌丝生长抑制率/%=（对照菌落直径−含药平板菌落直径）/（对照菌落直径−菌饼直径）×100。

表1 杀菌剂终质量浓度

Table 1 Final concentration of fungicides

杀菌剂 Fungicides	质量浓度 Concentrations/(mg·L^{-1})						
嘧菌酯 Azoxystrobin	50.000	100.000	200.000	400.000	800.000		
三唑酮 Triadimefon	50.000	100.000	200.000	400.000	800.000		
扑海因 Iprodione	2.670	4.000	6.000	9.000	13.500	20.250	
多菌灵 Carbendazim	0.125	0.250	0.500	1.000	2.000	4.000	
咪酰胺 Prochloraz	0.008	0.020	0.050	0.125	0.313	0.781	1.953

1.5.3 *数据分析* 试验数据采用DPS软件，以不同杀菌剂浓度的对数值为自变量（x），对应浓度菌丝生长抑制率作为因变量（y），用统计回归法求出室内毒力回归曲线，求出杀菌剂对根腐病菌菌丝生长的有效中浓度EC_{50}。

2 结果与分析

2.1 瓜类根腐病田间症状

西瓜、甜瓜等瓜类作物感染根腐病后，发病初期部分叶片轻微黄化，叶片失水萎蔫，坐果后整株萎蔫干枯死亡（图1-A），根茎部呈褐色水渍状腐烂，病部

A. 发病西瓜地；B、C. 西瓜腐烂根部；D. 根茎部横切面。

A. Watermelon field infect by *F. solani*; B, C. Watermelon root rot; D. Cross section of rhizome.

图1 西瓜根腐病的田间症状

Fig. 1 Disease symptoms of watermelon root rot of *F. solani* in the field

腐烂处的维管束变褐色（图1-B），但未腐烂的地上部分根茎部维管束一般不变褐色（图1-D）。根茎部发病部位后期变糟，组织破碎，仅留下丝状维管束（图1-B~C）。

2.2　病原菌分离

2017—2021年浙江省内西瓜、甜瓜等瓜类作物根部腐烂的样品中分离纯化获得的45株菌株中，根据菌株的形态学观察分为4种类型，其中腐皮镰刀菌有25株，检出率为55.6%（25/45）；尖孢镰刀菌 *F. oxysporum* 有10株，检出率为22.2%（10/45）；织球壳菌 *Plectosphaerella cucumerina* 有5株，检出率为11.1%（5/45）；其他病原菌占11.1%（5/45）。

根据科赫氏法则，采用下胚轴接种法，将分离纯化的腐皮镰刀菌、尖孢镰刀菌和织球壳菌分别接种于西瓜幼苗上，均可造成西瓜苗茎部褐色病斑。造成瓜类根腐病的病原菌包括腐皮镰刀菌、尖孢镰刀菌和织球壳菌，并且腐皮镰刀菌为优势病原菌。

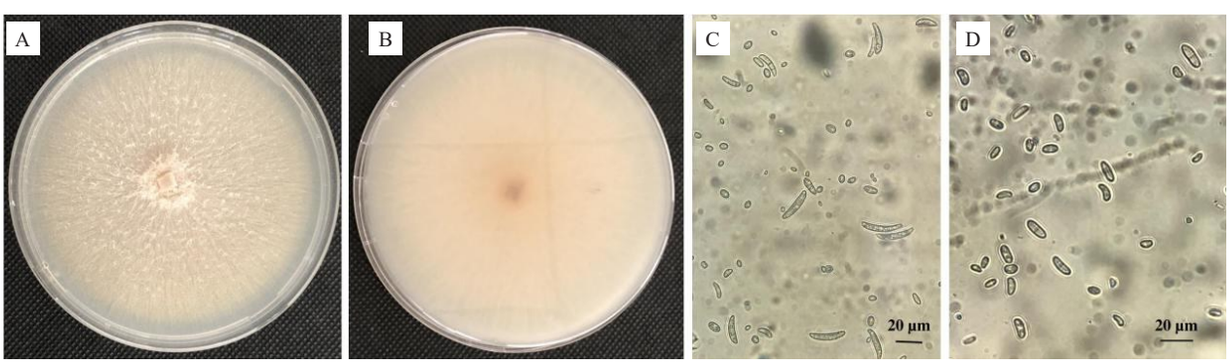
2.3　瓜类根腐病菌鉴定

2.3.1　*病原菌形态学特征*　从引起瓜类根腐病的优势病原菌腐皮镰刀菌中选取不同寄主、在PDA培养基上菌落形态一致的代表菌株7株（表2）。在PDA培养基上生长7 d时菌落呈浅粉色，有少量白色薄绒状气生菌丝，PDA平板上可直接产孢（图2-A~B）。显微镜下观察分生孢子，大型分生孢子呈梭形，两端钝圆，有2~4个隔膜，大小为（22.5~35.0）μm×（2.5~3.5）μm（图2-C）；小型分生孢子呈椭圆形或卵圆形，0~1个隔膜，大小为（5.0~18.0）μm×（2.5~3.0）μm（图2-D）。根据形态特征初步将其鉴定为腐皮镰刀菌。

表2　腐皮镰刀菌菌株清单

Table 2　List of *F. solani* strains

菌株编号 Strain No.	分离寄主 Host	采集地 Location	采集时间 Collect time
FS1	冬瓜 *Benincasa hispida*	衢州 Quzhou	2021年7月 Jul. 2021
FS11	西瓜 *Citrullus lanatus*	温州 Wenzhou	2017年6月 Jun. 2017
FS20	南瓜 *Cucurbita moschata*	杭州 Hangzhou	2017年6月 Jun. 2017
FS26	甜瓜 *Cucumis melo*	宁波 Ningbo	2017年10月 Oct. 2017
FS36	葫芦 *Lagenaria siceraria*	宁波 Ningbo	2019年6月 Jun. 2019
FS38	西瓜 *Citrullus lanatus*	台州 Taizhou	2018年6月 Jun. 2018
FS44	葫芦 *Lagenaria siceraria*	台州 Taizhou	2018年5月 May 2018



A. 菌落正面形态；B. 菌落背面形态；C. 大型分生孢子；D. 小型分生孢子。

A. Frontal colony; B. Backside colony; C. Macroconidia; D. Microconidia.

图2　腐皮镰刀菌在PDA的菌落及显微镜下的形态特征

Fig. 2　Morphological characteristics of colony of *F. solani* on PDA

2.3.2　*病原菌基因序列分析*　利用TEF1-α和ITS通用引物分别扩增7个病原菌DNA，将获得的PCR产物进行测序。测序结果在NCBI网页进行BLAST序列比对，扩增的蛋白翻译延长因子1-α（TEF1-α）的片段长度为735 bp，与腐皮镰刀菌的翻译延长因子1-α（登录号：KR935896.1）的同源性为99%，扩增的核糖体内转录间隔区（ITS）的片段长度为544 bp，与腐皮镰刀菌的ITS（登录号：MK250905.1）的同源性为97%。病原菌的TEF1-α和ITS序列利用MEGA X软件进行进化树分析，分离获得的7个菌株与腐皮镰刀菌聚为一簇（图3），结合菌株的形态学特征，确定这些病原菌为腐皮镰刀菌。

2.4　病原菌寄主专化性测定

选取有代表性的腐皮镰刀菌根腐病病原菌7株（菌株清单见表2），对不同瓜类的致病力采用黄化苗下胚轴接种法测定，接种4 d后观察植株的发病情

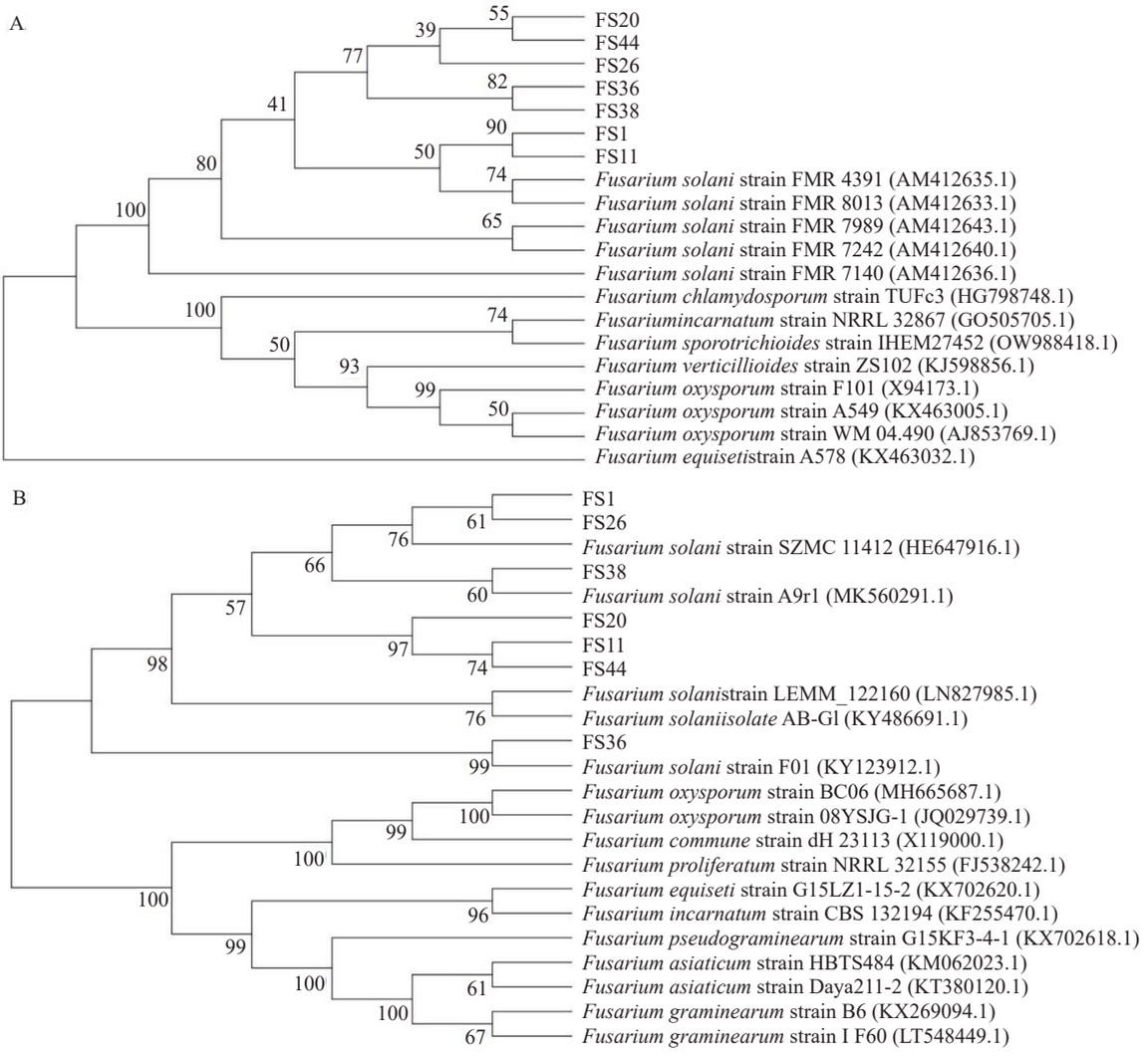


图3 基于ITS(A)和TEF1-α(B)序列的腐皮镰刀菌系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of *F. solani* based on ITS (A) and TEF1-α(B) sequences

况。结果表明，从西瓜、葫芦和甜瓜等病株上分离的腐皮镰刀菌均可侵染甜瓜、西瓜、葫芦和南瓜等瓜类作物，不同菌株间的致病力有所不同（表3）。图4为菌株FS36接种不同瓜类作物的发病情况，西瓜、葫芦和南瓜接种后幼苗茎部病斑延长变褐色，甜瓜接种后病斑绕茎7 d枯死。将不同瓜类作物的各3个病斑进行病原菌重分离，原接种菌的检出率达100%。结果表明，分离到的腐皮镰刀菌可侵染多种瓜类作物，且病原菌无明显寄主专化性。

2.5 瓜类根腐病原菌对不同杀菌剂的敏感性

测试的7个腐皮镰刀菌对5种杀菌剂的敏感性存在明显差异（表4）。测定的7个腐皮镰刀菌引起的瓜类根腐病菌对多菌灵、咪酰胺和扑海因药剂敏感。其中，咪酰胺对病原菌的抑制作用最强，平均

表3 腐皮镰刀菌对不同瓜类作物的致病力测定

Table 3 Pathogenicity test of *F. solani* to Cucurbitaceaes

菌株编号 Strain	接种作物 Inoculated crop			
	西瓜 *Citrullus lanatus*	葫芦 *Lagenaria siceraria*	甜瓜 *Cucumis melo*	南瓜 *Cucurbita moschata*
FS1	++	+	+	+
FS11	+	+	+	+
FS20	++	+	+	++
FS26	++	+	+	+
FS36	++	+++	+++	++
FS38	++	++	++	++
FS44	++	+	++	+

注：“+”为接种位置变褐，“++”为病斑扩展；“+++”为绕茎枯死。

Note: “+” means the inoculation position turns brown, “++” means the long disease spots, “+++” means disease spots withering around the stem.

A. 西瓜；B. 葫芦；C. 甜瓜；D. 南瓜；图左侧为对照，图右侧为病原菌接种处理。

A. *Citrullus lanatus*; B. *Lagenaria siceraria*; C. *Cucumis melo*; D. *Cucurbita moschata*. The left was the control, and the right was the inoculation of FS36.

图 4　腐皮镰刀菌 FS36 对不同瓜类作物的致病力测定

Fig. 4　Pathogenicity test of FS36 to Cucurbitaceaes

表 4　腐皮镰刀菌对 5 种杀菌剂的敏感性测定

Table 4　Sensitivity test of 5 fungicides to *F. solani*

杀菌剂 Fungicides	菌株 Isolates	有效中质量浓度 EC_{50}/(mg·L^{-1})	室内毒力回归方程 Toxicity equation	相关系数 Correlation coefficient
嘧菌酯 Azoxystrobin	FS1	>800	未取得 Null	未取得 Null
	FS11	>800	未取得 Null	未取得 Null
	FS20	>800	未取得 Null	未取得 Null
	FS26	>800	未取得 Null	未取得 Null
	FS36	>800	未取得 Null	未取得 Null
	FS38	>800	未取得 Null	未取得 Null
	FS44	>800	未取得 Null	未取得 Null
	平均值 Average	>800		
三唑酮 Triadimefon	FS1	673.652	y=0.656+1.536x	0.969
	FS11	464.274	y=1.149+1.444x	0.991
	FS20	368.226	y=2.313+1.047x	0.943
	FS26	536.739	y=2.287+0.994x	0.905
	FS36	307.335	y=1.936+1.232x	0.994
	FS38	996.733	y=0.695+1.436x	0.974
	FS44	1 121.190	y=1.556+1.117x	0.903
	平均值 Average	638.307±312.512		
扑海因 Iprodione	FS1	10.164	y=1.744+3.233x	0.976
	FS11	8.501	y=3.381+1.742x	0.966
	FS20	6.202	y=2.987+2.540x	0.994
	FS26	7.653	y=3.186+2.052x	0.972
	FS36	7.196	y=2.969+2.370x	0.979
	FS38	6.514	y=3.730+1.561x	0.977
	FS44	8.404	y=2.985+2.179x	0.947
	平均值 Average	7.805±1.356		
多菌灵 Carbendazim	FS1	1.604	y=4.469+2.589x	0.971
	FS11	1.373	y=4.732+1.943x	0.974
	FS20	0.719	y=5.254+1.772x	0.916
	FS26	0.824	y=5.156+1.854x	0.963
	FS36	1.025	y=4.978+2.061x	0.945
	FS38	1.156	y=4.866+2.135x	0.958
	FS44	2.130	y=4.401+1.825x	0.963
	平均值 Average	1.262±0.489		
咪酰胺 Prochloraz	FS1	0.135	y=5.938+1.078x	0.966
	FS11	0.209	y=5.630+0.925x	0.987
	FS20	0.061	y=6.277+1.050x	0.974
	FS26	0.079	y=6.139+1.034x	0.989
	FS36	0.069	y=6.277+1.102x	0.994
	FS38	0.206	y=5.673+0.981x	0.990
	FS44	0.183	y=5.695+0.941x	0.978
	平均值 Average	0.135±0.066		

EC_{50}为0.135 mg·L^{-1}；其次为多菌灵和扑海因，平均EC_{50}分别为1.262和7.805 mg·L^{-1}。而三唑酮和嘧菌酯类药剂对该类菌株抑制作用不明显。其中，嘧菌酯的抑制作用最弱，所有测试菌株的EC_{50}均大于800 mg·L^{-1}，三唑酮的EC_{50}均大于638.307 mg·L^{-1}。

3 讨 论

引起土传病害的镰刀菌种类多、寄主范围广[16-17]，镰刀菌的分类鉴定十分复杂，传统的镰刀菌种级别是以分生孢子、分生孢子梗、厚垣孢子、菌落形态和产生色素等综合特征进行确定[18]，但病原菌的这些综合特征容易受外界环境的影响导致分类不准确。因此，病原菌形态学特征结合基因序列来鉴定镰刀菌十分有必要[19]。利用镰刀菌在种水平上的保守的特异性序列TEF1-α和ITS区段，可进行病原菌快速、准确鉴定。笔者在本研究中结合病原菌的形态学特征和TEF1-α和ITS序列片段鉴定到浙江省内引起不同瓜类根腐病的主要病原菌为腐皮镰刀菌。

笔者在本研究中采用了黄化苗下胚轴接种法鉴定了腐皮镰刀菌对不同瓜类作物的致病性，并从接种部位重新分离获得该病原菌。比较了孢子液浇灌法[8]和浸根法[9]的发病时间，需要10~25 d，而黄化苗下胚轴接种法发病时间最短，只需要4 d即可观察结果，发病症状直观，操作简便，重复性好。因此，黄化苗下胚轴接种法适合大量筛选瓜类抗病材料，为抗病品种筛选提供技术支撑。本研究中测试的从不同瓜类作物上分离获得的腐皮镰刀菌均可不同程度侵染西瓜、甜瓜、葫芦和南瓜等幼苗，因此这些瓜类作物之间轮作并不能解决根腐病问题，同时采用葫芦和南瓜砧木嫁接也可能导致根腐病的发生，表明腐皮镰刀菌根腐病对瓜类生产存在潜在风险。

腐皮镰刀菌可在土壤中长期存活，土壤带菌是设施瓜类根腐病初侵染源之一，而且病原菌主要集中在0~15 cm土层中，瓜类连茬加剧了根腐病的发生[20]。目前，瓜类作物除了与水稻等轮作外，根腐病的主要防治措施仍是化学防治。有研究者发现75%无菌•戊唑醇、40%氟硅醇、15%苯醚甲环唑•丙环唑对镰刀菌菌丝的抑制有较好的效果[21]，田间采用50%多菌灵可湿性粉剂600倍液、50%甲基托布津600倍液等灌根可起到防治效果[2]。笔者在本研究中开展的室内毒力分析表明，杀菌剂咪酰胺、多菌灵、扑海因对腐皮镰刀菌引起的瓜类根腐病有较好的防治效果，平均EC_{50}分别为0.135、1.262、7.805 mg·L^{-1}，而嘧菌酯和三唑酮对根腐病的防治效果不佳，平均EC_{50}均分别大于800、638.307 mg·L^{-1}。笔者在本研究中只开展了药剂对病原菌离体菌丝抑制的影响试验，尚未开展田间防效试验。由于药剂施用到土壤中，不少成分会被土壤颗粒吸收，能否真正起到病害防治效果还有待于进一步验证，同时药剂对瓜类作物生长的影响也需要进一步考察。

4 结 论

笔者在本研究中首次开展了浙江省内瓜类根腐病病原菌的分离鉴定，结合形态学和基因序列分析，确定为主要由腐皮镰刀菌引起的根腐病。对致病力分析发现，腐皮镰刀菌可侵染多种瓜类作物，不存在明显寄主专化性。室内毒力分析表明咪酰胺、多菌灵和扑海因这3种杀菌剂对腐皮镰刀菌菌丝生长有明显的抑制作用，为田间病害防治提供了理论依据。

参考文献 References:

[1] 林燚 . 设施西瓜根腐病发生规律及防治技术[J]. 现代农业科技，2006(10)：79-80.
LIN Yi. Occurrence regularity and control techniques of root rot of protected watermelon[J]. Modern Agricultural Science and Technology，2006(10)：79-80.

[2] 杨来新，罗国亮，阿不力米提，蒋业基，努尔买买提 . 新疆甜瓜根腐病发生危害及防治[J]. 植物保护，2004，30(4)：86-87.
YANG Laixin，LUO Guoliang，A Bulimiti，JIANG Yeji，NU Ermaimaiti. Occurrence，harm and control of melon root rot in Xinjiang[J]. Plant Protection，2004，30(4)：86-87.

[3] 王惠哲，李淑菊，马德华，董金皋 . 黄瓜根腐病致病病原的鉴定[J]. 华北农学报，2003，18(2)：74-77.
WANG Huizhe，LI Shuju，MA Dehua，DONG Jingao. Identification of the pathogen of cucumber root rot[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica，2003，18(2)：74-77.

[4] 刘保才，李才华，夏新叶，王自安 . 西瓜根腐病和枯萎病的症状识别与防治[J]. 中国西瓜甜瓜，2004，17(6)：39.
LIU Baocai，LI Caihua，XIA Xinye，WANG Zian. Symptom identification and control of watermelon root rot and *Fusarium* wilt[J]. China Watermelon and Muskmelon，2004，17(6)：39.

[5] 蒋薇 . 西瓜根腐病病原学研究及防治方法的初探[D]. 武汉：华中农业大学，2014.
JIANG Wei. Study on etiology and preliminary control methods of watermelon root rot[D].Wuhan：Huazhong Agricultural University，2014.

[6] SUMNER D. Etiology and control of root rot of summer squash in Georgia[J]. Plant Disese Report，1976，60：923-927.

[7] 杨来新，罗国亮，阿不力米提 . 新疆甜瓜根腐病研究初报[J]. 新疆农业科学，2004，41(3)：185-189.
YANG Laixin，LUO Guoliang，A Bulimiti. A study on the muskmelon root rot in Xinjiang uygur autonmous region[J]. Xinjiang Agricultural Sciences，2004，41(3)：185-189.

[8] 刘心刚，杨成德，王振 . 西藏设施西（黄）瓜根腐病的分离与鉴定[J]. 甘肃农业大学学报，2018，53(2)：80-85.
LIU Xingang，YANG Chengde，WANG Zhen. Isolation and identification of root rot pathogens on protected cultivation watermelons and cucumbers in Tibet[J]. Journal of Gansu Agricultural University，2018，53(2)：80-85.

[9] 杨颖，耿丽华，王建设，宋晓华 . 甜瓜根腐病病原分离与抗源鉴定[J]. 华北农学报，2010，25(4)：218-220.
YANG Ying，GENG Lihua，WANG Jianshe，SONG Xiaohua. Isolation of root rot pathogen and resistance evaluation of melon materials[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica，2010，25(4)：218-220.

[10] 吴会杰，严蕾艳，郭珍，彭斌，康保珊，刘莉铭，古勤生 . 黑点根腐病菌和镰孢菌复合侵染引起的甜瓜根腐病的鉴定[J]. 中国瓜菜，2021，34(10)：15-19.
WU Huijie，YAN Leiyan，GUO Zhen，PENG Bin，KANG Baoshan，LIU Liming，GU Qinsheng. Identification of melon root rot pathogen of *Monosporascus cannonballus* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*[J]. China Cucurbits and Vegetables，2021，34(10)：15-19.

[11] 董汉松 . 植病研究法[M]. 北京：中国农业出版社，2012.
DONG Hansong. Research methods of plant disease[M]. Beijing：China Agriculture Press，2012.

[12] WHITE T J，BRUNS T D，LEE S B，TAYLOR J W. Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes[A]// MICHAEL A I. PCR protocols: A guide to methods and applications. London：Academic Press, 1990: 315-322.

[13] GEISER D M，DEL MAR JIMÉNEZ-GASCO M，KANG S，MAKALOWSKA I，VEERARAGHAVAN N，WARD T J，ZHANG N，KULDAU G A，O'DONNELL K. *FUSARIUM*-ID v. 1.0：A DNA sequence database for identifying *Fusarium*[J]. European Journal of Plant Pathology，2004，110(5/6)：473-479.

[14] KUMAR S，STECHER G，LI M，KNYAZ C，TAMURA K. MEGA X：Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. Molecular Biology and Evolution，2018，35(6)：1547-1549.

[15] 杨瑾，汪孝璃，叶文武，郑小波，王源超 . 黄淮海地区大豆种质资源对疫霉根腐病的抗性鉴定[J]. 大豆科学，2020，39(1)：12-22.
YANG Jin，WANG Xiaomen，YE Wenwu，ZHENG Xiaobo，WANG Yuanchao. Identification of soybean resistance to *Phytophthora sojae* in the germplasm resources from Huanghuaihai region of China[J]. Soybean Science，2020，39(1)：12-22.

[16] 康锋，王贤磊，李冠 . 新疆甜瓜枯萎病、根腐病病原菌鉴定[J]. 新疆农业科学，2010，47(6)：1166-1171.
KANG Feng，WANG Xianlei，LI Guan. Identification on pathogen of wilt disease and root rot of melon in Xinjiang[J]. Xinjiang Agricultural Sciences，2010，47(6)：1166-1171.

[17] 杨成德，王振，代万安，郝蓉蓉，刘心刚，杨杰 . 西藏设施茄子镰孢根腐病病原的分离及鉴定[J]. 植物保护，2015，41(3)：123-126.
YANG Chengde，WANG Zhen，DAI Wan'an，HAO Rongrong，LIU Xingang，YANG Jie. Isolation and identification of the pathogen of eggplant root rot in Tibet Autonomous Region[J]. Plant Protection，2015，41(3)：123-126.

[18] 陈鸿逵，王拱辰 . 浙江镰刀菌志[M]. 杭州：浙江科学技术出版社，1992.
CHEN Hongkui，WANG Gongchen. *Fusarium* records of Zhejiang Province[M]. Hangzhou：Zhejiang Science & Technology Press，1992.

[19] 张俊忠，陈秀蓉，杨成德，王进明 . 东祁连山高寒草地土壤 5 种镰孢菌的形态鉴定和 ITS rDNA 分析[J]. 草原与草坪，2010，30(2)：33-37.
ZHANG Junzhong，CHEN Xiurong，YANG Chengde，WANG Jinming. ITS rDNA sequence analysis and phenotype identification of 5 *Fusarium* spp. in alpine grassland soil in eastern Qilian Mountains[J]. Grassland and Turf，2010，30(2)：33-37.

[20] 张作刚 . 温室西葫芦根腐病发生规律[J]. 山西农业(致富科技)，2008(11)：35.
ZHANG Zuogang. Occurrence regularity of root rot of zucchini in greenhouse[J]. Shanxi Agriculture (Zhifu Technology)，2008(11)：35.

[21] 刘心刚 . 西藏设施西瓜镰孢根腐病病原鉴定及药剂筛选[D]. 兰州：甘肃农业大学，2018.
LIU Xingang. The identification and fungicide selection of pathogen of greenhouse watermelon *Fusarium* root rot in Tibet Autonomous Region[D]. Lanzhou：Gansu Agricultural University，2018.