

# 一体化智能孢子捕捉系统在黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病预测上的应用

高士刚<sup>1</sup> 罗金燕<sup>2</sup> 曾 蓉<sup>1</sup> 徐丽慧<sup>1</sup> 陈 磊<sup>2</sup> 戴富明<sup>1\*</sup>

(1. 上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海低碳农业工程技术研究中心, 上海 201403;

2. 上海市农业技术推广服务中心, 上海 201103)

**摘要:** 为探索国内研制的新型一体化智能孢子捕捉系统在黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病预测预报上的应用, 在田间自然发病情况下, 通过对捕捉孢子的形态进行识别, 优化一体化智能孢子捕捉系统主要工作参数如有/无空气切割头、空气采集口高度和空气采集时间; 通过病害及孢子的动态监测分析大棚黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病病情指数与孢子捕捉量的关系。结果表明, 当不加装空气切割头、空气采集口高度为 70 cm、孢子捕捉时间在 10: 00—10: 30 时段有利于孢子的捕捉。黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病病情指数与连续 7 d 孢子捕捉总量具有强正相关性。连续多日监测到黄瓜霜霉病菌孢子囊且数量快速增加是黄瓜霜霉病发生或快速上升的一个预测指标。黄瓜白粉病发病之前没有监测到黄瓜白粉病菌分生孢子, 且在病害盛发期分生孢子捕捉量仍较少。研究表明, 一体化智能孢子捕捉系统适用于黄瓜霜霉病的预测, 但在黄瓜白粉病的预测上尚存在一定问题。

**关键词:** 黄瓜; 霜霉病; 白粉病; 孢子捕捉; 预测

## Application of newly-developed automatic spore-trap and identification system in forecasting cucumber downy mildew and cucumber powdery mildew

Gao Shigang<sup>1</sup> Luo Jinyan<sup>2</sup> Zeng Rong<sup>1</sup> Xu Lihui<sup>1</sup> Chen Lei<sup>2</sup> Dai Fuming<sup>1\*</sup>

(1. Shanghai Engineering Research Centre of Low-carbon Agriculture, Institute of Eco-Environment and Plant Protection, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China; 2. Shanghai Agricultural Technology Extension Center, Shanghai 201103, China)

**Abstract:** To explore the application of automatic spore-trap and identification system (ASTIS) in the forecast of cucumber downy mildew and cucumber powdery mildew, the main operating parameters such as with/without air panicle separator, air-collecting height and air-collecting time were optimized by identifying the morphology of trapped spores, and the relationship between the disease index and the amount of trapped spores in high-tunnel were analyzed by monitoring diseases and spores. It was found that no air panicle separator, 70 cm of air-collecting height, 10: 00—10: 30 for air-collecting contributed to spore-trapping. The disease indexes of cucumber downy mildew and cucumber powdery mildew were strongly positively correlated with the amount of trapped spores in seven consecutive days. It was an important predictive index for cucumber downy mildew occurrence and rapid development that sporangia of *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & Curt.) Rostov. were consecutively monitored by ASTIS for days and the amount of trapped sporangia increased dramatically. There was no conidium of *Podosphaera xanthii* (Castagne) V. P. Heluta trapped by ASTIS before disease appearance, and the amount of

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0201008), 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字(2013)第 5-3 号), 上海市国内合作项目(16395800101)

\* 通讯作者(Author for correspondence), E-mail: fumingdai@163.com

收稿日期: 2016-08-08

trapped conidia remained negligible in full-incidence period. These results showed that ASTIS was suited for forecasting cucumber downy mildew, but had problems in forecasting powdery mildew.

**Key words:** cucumber; downy mildew; powdery mildew; spore-trapping; forecasting

黄瓜霜霉病俗称跑马干、火龙等,是由古巴假霜霉菌 *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & Curt.) Rostov. 侵染黄瓜叶片所致的一种气传病害,气候条件适宜下该病在黄瓜栽培区迅速蔓延流行,若早期发病防治不及时会造成严重减产,甚至绝产、绝收,是保护地黄瓜上的一种毁灭性病害(刘艳玲等, 2009; 李丹丹等, 2016; 熊艳等, 2016)。黄瓜白粉病俗称白毛, 又称白毛病、粉霉病, 是由苍耳单囊白粉菌 *Podosphaera xanthii* (Castagne) V. P. Heluta 侵染所致的另一种气传病害(岳欢等, 2014; 任璐等, 2015), 只要条件适合, 同样可以在几天时间内迅速传遍整个大棚, 若不及时防治, 会导致植株叶片枯焦, 致使果实早期生长缓慢, 植株早衰, 严重影响黄瓜的品质和产量(曲丽和秦智伟, 2007)。病害的早期防治及预防对病害的发生及控制极其关键, 因此在病害发生之前对黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病进行准确快速的测报具有重要意义。

关于霜霉病和白粉病的测报, 国内研究主要是通过历史气象因素构建各种预测模型进行预测(孔宪阳等, 1997; 何自福等, 2001; 钱拴等, 2005), 不仅需要历史气象数据, 也需要准确的历史病害发生情况, 且预测模型的建立及使用对人员素质要求较高。霜霉病和白粉病作为气传病害, 其病原孢子随气流传播是病害发生和流行的主要原因, 因此空气中病原孢子的数量与病害的发生及流行密切相关, 利用孢子捕捉技术对空气中病原孢子进行捕捉可以为霜霉病和白粉病的预测预报提供基础数据(姜玉英等, 2015; 曹学任和周益林, 2016)。目前, Neufeld et al. (2013) 和 Granke et al. (2014) 认为黄瓜霜霉病菌孢子囊与环境条件、病害严重度有相关性, 可用于黄瓜霜霉病传播风险的预测, 而国内在霜霉病菌孢子囊与病害严重度相关性方面未见报道。在白粉病的预测预报上, 国内主要集中在小麦白粉病, 周益林等(2007)和姚冬明(2013)分别用国外引进的移动式和定容式孢子捕捉器进行小麦白粉病监测与预测, 而黄瓜白粉病的预测预报研究未见报道。国外引进的移动式和定容式孢子捕捉器是通过捕捉培养皿或捕捉带对空气中孢子进行捕捉, 但之后还需要大量的时间用于病原孢子活体培养或显微镜检查; 我国长期使用旋转式电动空中孢子捕捉器捕捉空气中小

麦赤霉病菌孢子, 但此捕捉器需要每天装取玻片、室内镜检识别与计数, 费时费工, 人为误差大。

本研究采用国内最新研制的具有孢子自动捕捉、自动显微拍摄、自动图片上传等功能的一体化智能孢子捕捉系统, 通过对黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子捕捉与数量监测, 分析孢子数量与黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病发生的关系, 旨在为孢子捕捉系统在田间病害预测预报上提供技术依据, 为黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病发生预测提供一种省时、省工的新方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试植物及品种: 采用上海市郊主栽的、易感黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病的黄瓜品种——申青1号和春秋王, 其分别由上海富农种业有限公司和上海市农业科学院设施园艺研究所提供。

供试仪器: DM 2000 显微镜, 德国 Leica 公司; CT-BB-02 一体化智能孢子捕捉系统, 上海铂镭科学仪器有限公司。该系统主要技术参数: 长×宽×高为 65 cm×24 cm×78 cm, 重量为 27 kg, 空气采集口高度为 65~150 cm, 空气采集流量为 0~400 L/min, 空气采集持续时间为 1~100 min, 通过空气采集口采集空气样本; 通过镜头移动自动对一体化智能孢子捕捉系统 25 mm×60 mm 孢子采集专用玻片中央下凹 8 mm×54 mm 采集区域进行显微拍摄, 连续拍摄 30 张显微照片并存储于系统中, 然后通过 3G 或 LAN 网络上传照片至监测系统管理平台。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 孢子识别

人工模拟离体条件下孢子的形态变化: 孢子识别是所有孢子捕捉器用于病害预测预报的关键环节。释放到空气中的黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子可能会因失水发生形态变化, 在对一体化智能孢子捕捉系统捕捉的孢子进行形态识别时易造成误判, 导致孢子数量统计数据不准确。所以需要人工模拟黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子的离体条件, 确定其脱离黄瓜叶片后不同时间的形态特征。具体方法: 在普通载玻片上均匀涂一层薄薄的凡士林, 将涂有凡士林的载玻片轻

轻黏取自然发生的黄瓜霜霉病发病叶片上的孢子囊;轻轻抖落黄瓜白粉病菌分生孢子,使之落在另一个涂有凡士林的载玻片上;将粘有黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子的载玻片置于直径 9 cm 的玻璃培养皿内,于 25℃ 恒温光照培养箱中培养,分别于 0、24、96、408 h 后和 0、1、24、408 h 后用显微镜观察黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子的形态变化。

自然捕捉孢子的识别:从监测系统管理平台上下载一体化智能孢子捕捉系统捕捉孢子的显微照片,根据人工模拟离体条件下黄瓜霜霉病菌和黄瓜白粉病菌孢子的形态特征,识别显微照片上的黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子。

### 1.2.2 一体化智能孢子捕捉系统参数优化试验

一体化智能孢子捕捉系统的空气切割头、空气采集口高度和空气采集时间对孢子的捕捉数量影响较大,而切割头又对背景杂质的影响较大,所以需要分析空气切割头、空气采集口高度和空气采集时间对孢子捕捉数量的影响及切割头对背景杂质的影响,以确定是否安装空气切割头、合适的空气采集口高度和空气采集时间。

2014 年秋季,在上海市农业科学院庄行综合试验站的温室大棚内进行优化试验,温室大棚长 40 m,宽 8 m,设 4 畦,畦长 38 m,畦宽 0.8 m,畦距 1.5 m。在同一大棚内申青 1 号和春秋王各种 2 畦,每畦种 2 行,行长 36 m,行距 0.5 m,株距 0.5 m,2 个品种种植面积均为 83.6 m<sup>2</sup>。当黄瓜长至 3~4 片真叶时,在同一黄瓜大棚内中央并排安装 2 台一体化智能孢子捕捉系统。

有/无空气切割头的确定:2 台一体化智能孢子捕捉系统分别加装、不加装空气切割头,空气采集口高度为 150 cm,空气采集时间为 10:00—10:30,采样时间持续 30 min,空气采集流量为 80 L/min。分别下载 2 台一体化智能孢子捕捉系统 9 月 9 日、9 月 11 日和 9 月 15 日捕捉孢子的显微照片,识别显微照片上的黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子并统计数量,分析空气切割头对孢子捕捉数量及背景杂质的影响。

空气采集口高度优化:2 台一体化智能孢子捕捉系统不加装空气切割头,空气采集口高度分别设为 70 cm 和 150 cm,空气采集时间为 10:00—10:30,采样时间持续 30 min,空气采集流量为 80 L/min。分别下载 2 台一体化智能孢子捕捉系统 9 月 9 日、9 月 11 日和 9 月 15 日捕捉孢子的显微照片,识别显微照

片上的黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子并统计数量,分析空气采集口高度对孢子捕捉数量的影响。

空气采集时间优化:2 台一体化智能孢子捕捉系统不加装空气切割头,空气采集口高度为 70 cm,空气采集时间设为 04:00—04:30、10:00—10:30、13:30—14:00、16:00—16:30 和 22:00—22:30,每次采样时间持续 30 min,空气采集流量同上。分别下载 2 台一体化智能孢子捕捉系统 4 月 10 日至 5 月 17 日捕捉孢子的显微照片,识别显微照片上的黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子并统计数量,分析空气采集时间对孢子捕捉数量的影响。

### 1.2.3 病害发生及捕捉孢子的动态监测

动态监测试验温室及种植情况同 1.2.2,在 2015 年春季和秋季分别对黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病的发生以及捕捉的孢子进行动态监测,春季和秋季的动态监测时间分别是 3 月 30 日至 5 月 18 日和 8 月 31 日至 10 月 12 日。当黄瓜长至 3~4 片真叶时,在大棚中央放置一体化智能孢子捕捉系统,采用 1.2.2 优化后的参数进行动态监测。

分别于 4 月 24 日、4 月 30 日、5 月 7 日、5 月 14 日、9 月 23 日、9 月 30 日和 10 月 7 日定期观察黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病的发生情况,调查统计 2 种病害的发病级别,计算病情指数。发病级别调查和表示方法:2 个品种各设置 3 个固定调查区,每区定点调查 5 株长势正常植株的全部叶片,以每片叶病斑面积占整个叶面积的百分率来表示。黄瓜霜霉病发病程度参考 GB/T 17980.26—2000 进行分级:0 级:无病斑;1 级:病斑面积占整个叶面积的 5% 及以下;3 级:病斑面积占整个叶面积的 6%~10%;5 级:病斑面积占整个叶面积的 11%~25%;7 级:病斑面积占整个叶面积的 26%~50%;9 级:病斑面积占整个叶面积的 50% 以上。黄瓜白粉病发病程度参考 GB/T 17980.30—2000 进行分级,0 级:无病斑;1 级:病斑面积占整个叶面积 5% 及以下;3 级:病斑面积占整个叶面积的 6%~10%;5 级:病斑面积占整个叶面积的 11%~20%;7 级:病斑面积占整个叶面积的 21%~40%;9 级:病斑面积占整个叶面积的 40% 以上。病情指数 =  $\sum (\text{各级病叶数} \times \text{相对级数值}) / (\text{调查总叶数} \times 9) \times 100$ 。

下载 3 月 30 日至 5 月 18 日和 8 月 31 日至 10 月 12 日捕捉孢子的显微照片,识别显微照片上的黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子并分别统计每天捕捉孢子数量。分别计算连续 7 d 即病害调

查当天及前6 d捕捉黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子的总数量,分析连续7 d捕捉孢子(囊)数量与病情指数之间的相关性,相关系数 $R$ 大于0为正相关,小于0为负相关, $0 < |R| \leq 0.09$ 表示不相关, $0.1 \leq |R| < 0.3$ 表示弱相关, $0.3 \leq |R| < 0.5$ 表示中等相关, $0.5 \leq |R| \leq 1.0$ 表示强相关。

### 1.3 数据分析

利用Microsoft Excel 2010软件分别进行相关性分析和 $t$ 测验差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 孢子识别

#### 2.1.1 人工模拟离体条件下孢子的形态变化

自然发生黄瓜霜霉病病菌的新鲜孢子囊在涂有

一层凡士林的玻片上0、24、96和408 h后,孢子囊的形状变化较小,多数呈橄榄形,深褐色,中间似有凹陷或裂缝(图1-A~D)。自然发生黄瓜白粉病病菌分生孢子在涂有一层凡士林的玻片上起初为椭圆形,浅色,细胞内充满原生质(图1-E);但是离体1 h后原生质向细胞二端聚集,细胞中央变空、变透明,孢子开始变形(图1-F);离体24 h后分生孢子基本为中空且透明(图1-G);离体408 h后分生孢子完全中空(图1-H)。

#### 2.1.2 自然捕捉孢子的识别

根据模拟离体条件下黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子的形态变化,在捕捉孢子的显微照片上识别黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子(图2)。

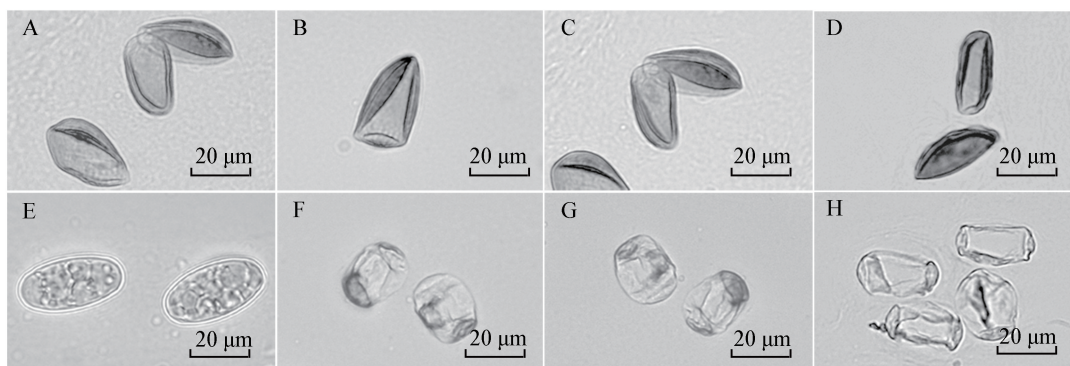


图1 离体黄瓜霜霉病菌孢子囊、白粉病菌分生孢子的形态变化

Fig. 1 Morphological change of sporangia of *Pseudoperonospora cubensis* and conidia of *Podosphaera xanthii* in vitro

A~D分别为离体0、24、96和408 h的黄瓜霜霉病菌孢子囊的形态;E~H分别为离体0、1、24和408 h黄瓜白粉病菌分生孢子的形态。A~D: Sporangium morphology at 0, 24, 96 and 408 h, respectively; E~H: conidium morphology at 0, 1, 24 and 408 h, respectively.

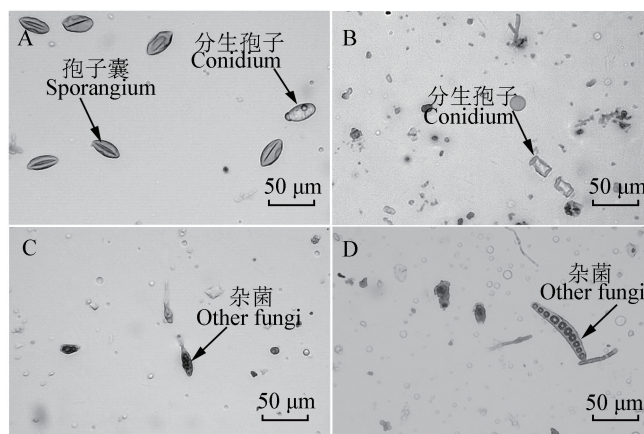


图2 一体化智能孢子捕捉系统捕捉孢子的形态

Fig. 2 Morphology of spores trapped by automatic spore-trap and identification system

A: 正常黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子; B: 变形的黄瓜白粉病菌分生孢子; C~D: 杂菌分生孢子。A: Sporangia of *P. cubensis* and conidia of *P. xanthii* with normal morphology; B: conidia of *P. xanthii* with abnormal morphology; C~D: conidia of other fungi.

捕获的孢子囊和分生孢子的形态分别与从自然发病样本上刚采集的黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子的形态基本一致(图 2-A),因此捕获的 2 种孢子分别被认定为黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子;捕获分生孢子的形态与人工模拟离体条件下形态发生变化的黄瓜白粉病菌分生孢子形态类似(图 2-B),因此捕获的分生孢子被认定为黄瓜白粉病菌分生孢子。除了需要监测的目标病原菌孢子外,一体化智能孢子捕捉系统也捕捉到了交链孢菌 *Alternaria* spp.(图 2-C)和其它一些真菌类杂菌(图 2-D),这些孢子与霜霉病菌孢子囊及黄瓜白粉病菌分生孢子的形态差异较大,易于区别。

## 2.2 一体化智能孢子捕捉系统参数的优化

### 2.2.1 有/无空气切割头的确定

一体化智能孢子捕捉系统中加装切割头后,可以明显减少采集空气中颗粒状杂质的数量,但同时也剔除了采集空气中的目标病原菌孢子,在孢子采集玻片上观察不到黄瓜霜霉病菌孢子囊和黄瓜白粉病菌分生孢子(表 1),因此确定一体化智能孢子捕捉系统中不加装切割头。

### 2.2.2 空气采集口高度的优化

当一体化智能孢子捕捉系统空气采集口高度为 70 cm 时,监测到黄瓜霜霉病菌孢子囊数量明显高于空气采集口高度为 150 cm,而监测到黄瓜白粉病菌分生孢子数量略有增加(表 1),因此设置空气采集口高度以 70 cm 为宜。

### 2.2.3 空气采集时间的优化

空气采集时间在 10:00—10:30 时段,一体化智能孢子捕捉系统监测到黄瓜霜霉病菌孢子囊的数量极显著高于其它时间( $P<0.01$ );监测到黄瓜白粉病菌分生孢子的数量极显著高于 04:00—04:30 时段、16:00—16:30 时段( $P<0.01$ )和显著高于 22:00—22:30 时段( $P<0.05$ ),但与 13:30—14:00 时段相比没有显著性差异(表 2)。虽然空气采集时间在 10:00—10:30 时段和 13:30—14:00 时段监测到黄瓜白粉病菌分生孢子的数量无显著性差异,但在 10:00—10:30 时段监测到分生孢子的天数为 16 d,高于 10:00—10:30 时段的 10 d。因此,确定监测黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病最佳的空气采集时间为 10:00—10:30 时段(表 2)。

表 1 一体化智能孢子捕捉系统有/无切割头的确定和空气采集口高度的优化

Table 1 Determination of the use of panicle separator and optimization of air-collecting height in automatic spore-trap and identification system

| 参数优化<br>Parameter optimization                     | 有/无空气切割头<br>With/without<br>air panicle separator | 空气采集口高度<br>Air-collecting<br>height (cm) | 捕捉孢子数量 Amount of trapped spores |   |            |   |            |   |
|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------|---|------------|---|------------|---|
|                                                    |                                                   |                                          | 2014-09-09                      |   | 2014-09-11 |   | 2014-09-15 |   |
|                                                    |                                                   |                                          | A                               | B | A          | B | A          | B |
| 有/无切割头的确定<br>With/without panicle separator        | 有 With                                            | 150                                      | 0                               | 0 | 0          | 0 | 0          | 0 |
|                                                    | 无 Without                                         | 150                                      | 1                               | 2 | 2          | 1 | 4          | 0 |
| 空气采集口高度优化<br>Optimization of air-collecting height | 无 Without                                         | 70                                       | 3                               | 3 | 7          | 2 | 13         | 3 |
|                                                    | 无 Without                                         | 150                                      | 1                               | 2 | 2          | 1 | 4          | 0 |

A: 黄瓜霜霉病菌孢子囊; B: 黄瓜白粉病菌分生孢子。A: *P. cubensis*; B: *P. xanthii*.

## 2.3 黄瓜霜霉病及捕捉孢子囊的动态监测

2015 年春季,在黄瓜霜霉病零星发生前 1 周左右,连续监测到黄瓜霜霉病菌孢子囊,且在接近发病时孢子数量出现 1 个高峰,为 202 个;随后病情指数( $<0.8$ )及监测到的孢子囊数量一直维持在很低的水平;到发病后期,病情指数迅速上升到 44.41,且之前监测到黄瓜霜霉病菌孢子囊的数量也开始增加,并出现第 2 个高峰(图 3-A)。连续 7 d 孢子囊捕捉总量与病情指数正相关,相关系数  $R=0.5022$ ,为强正相关(表 3)。2015 年秋季,在黄瓜霜霉病零星发生前 1 周

左右,陆续监测到少量孢子囊;随后病情指数和监测到的孢子囊数量均逐渐上升,而在发病后期病情指数达到 41.72 之前检测到孢子囊的数量达到峰值,为 1 561 个(图 3-B)。连续 7 d 孢子囊捕捉总量与病情指数正相关,相关系数  $R=0.9275$ ,为强正相关(表 3)。以上结果表明:黄瓜霜霉病病情指数与连续 7 d 孢子囊捕捉总量具有强正相关性( $R>0.5$ );连续多日监测到黄瓜霜霉病菌孢子囊且数量快速增加是黄瓜霜霉病发生或快速上升的一个预测指标。

表2 一体化智能孢子捕捉系统空气采集时间的优化

Table 2 Optimization of air-collecting time with automatic spore-trap and identification system

| 日期 Date    | 捕捉孢子数量 Amount of trapped spores |         |             |    |             |       |             |         |             |        |
|------------|---------------------------------|---------|-------------|----|-------------|-------|-------------|---------|-------------|--------|
|            | 04:00—04:30                     |         | 10:00—10:30 |    | 13:30—14:00 |       | 16:00—16:40 |         | 22:00—23:30 |        |
|            | A                               | B       | A           | B  | A           | B     | A           | B       | A           | B      |
| 2015-04-10 | 0                               | 0       | 10          | 2  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-11 | 0                               | 0       | 0           | 2  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-12 | 0                               | 0       | 9           | 2  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-13 | 0                               | 0       | 12          | 3  | 0           | 0     | 0           | 1       | 0           | 1      |
| 2015-04-14 | 0                               | 0       | 0           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-15 | 0                               | 0       | 9           | 0  | 1           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-16 | 0                               | 0       | 8           | 0  | 5           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-17 | 0                               | 0       | 4           | 0  | 1           | 3     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-18 | 0                               | 0       | 67          | 5  | 1           | 1     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-19 | 0                               | 0       | 185         | 0  | 6           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-20 | 0                               | 0       | 0           | 0  | 0           | 0     | 4           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-21 | 0                               | 0       | 2           | 0  | 0           | 11    | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-22 | 0                               | 0       | 21          | 1  | 4           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-23 | 0                               | 0       | 5           | 10 | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-24 | 0                               | 0       | 0           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-25 | 0                               | 0       | 2           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-26 | 0                               | 0       | 0           | 0  | 4           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-27 | 0                               | 0       | 4           | 1  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-28 | 0                               | 0       | 0           | 0  | 0           | 0     | 1           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-29 | 0                               | 0       | 2           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-04-30 | 0                               | 0       | 2           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-01 | 0                               | 0       | 3           | 1  | 0           | 1     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-02 | 0                               | 0       | 0           | 3  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-03 | 0                               | 0       | 3           | 3  | 1           | 1     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-04 | 0                               | 0       | 0           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-05 | 0                               | 0       | 4           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-06 | 0                               | 0       | 1           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-07 | 0                               | 0       | 72          | 1  | 3           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-08 | 0                               | 0       | 34          | 4  | 1           | 11    | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-09 | 0                               | 0       | 26          | 0  | 23          | 0     | 0           | 0       | 0           | 3      |
| 2015-05-10 | 0                               | 0       | 167         | 19 | 4           | 1     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-11 | 0                               | 0       | 0           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-12 | 0                               | 0       | 0           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-13 | 0                               | 0       | 0           | 0  | 3           | 1     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-14 | 0                               | 0       | 46          | 1  | 1           | 5     | 1           | 1       | 0           | 0      |
| 2015-05-15 | 0                               | 0       | 243         | 0  | 2           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-16 | 0                               | 0       | 0           | 0  | 0           | 0     | 0           | 0       | 0           | 0      |
| 2015-05-17 | 0                               | 0       | 102         | 5  | 13          | 13    | 2           | 0       | 0           | 0      |
| <i>P</i>   | 0.005**                         | 0.007** | —           | —  | 0.008**     | 0.614 | 0.005**     | 0.008** | 0.005**     | 0.011* |

A: 黄瓜霜霉病菌孢子囊; B: 黄瓜白粉病菌分生孢子。利用Microsoft Excel 2010软件对各时间捕捉的孢子数量进行 $t$ 测验差异显著性检验。\*\*: 04:00—04:30、13:30—14:00、16:00—16:30和22:00—22:30捕捉的黄瓜霜霉病菌孢子囊或黄瓜白粉病菌分生孢子的数量极显著少于10:00—10:30( $P<0.01$ ); \*: 22:00—22:30捕捉的黄瓜白粉病菌分生孢子的数量显著少于10:00—10:30( $P<0.05$ ); —: 没有数据。A: Sporangia of *P. cubensis*; B: conidia of *P. xanthii*. Significant difference analysis was performed among amounts of spores trapped in different time points using  $t$ -test of Microsoft Excel 2010 software. \*\*: indicates of trapped downy mildew sporangia or powdery mildew conidia was extremely significantly less in 04:00—04:30, 13:30—14:00, 16:00—16:30 and 22:00—22:30 than in 10:00—10:30. \*: indicates amount of trapped powdery mildew conidia in 22:00—22:30 was significantly less than in 10:00—10:30; —: no data.

## 2.4 黄瓜白粉病及捕捉分生孢子的动态监测

2015年春季,从黄瓜白粉病零星发生到发病后期,病情指数逐渐增加。在发病之前,没有监测到黄瓜白粉病菌分生孢子;在始病期,监测到黄瓜白粉病菌分生孢子的数量基本随病情指数上升而增加;在病害盛发期,黄瓜白粉病菌分生孢子的数量动态变化趋势基本与病情指数的动态变化趋势一致,但监测到分生孢子的数量没有明显上升,最高不足20个(图4)。连续7 d分生孢子捕捉总量与病情指数正

相关,相关系数 $R=0.5244$ ,为强正相关(表3)。2015年秋季,黄瓜白粉病发病程度很轻,病情指数最高为3.45,且同时期也没有监测到黄瓜白粉病菌分生孢子。以上结果表明:尽管黄瓜白粉病病情指数与连续7 d分生孢子捕捉总量具有强正相关性( $R>0.5$ ),但是发病之前没有监测到白粉菌分生孢子,且在病害盛发期分生孢子捕捉量仍较少,因此一体化智能孢子捕捉系统在黄瓜白粉病的预测预报应用上存在一定问题。

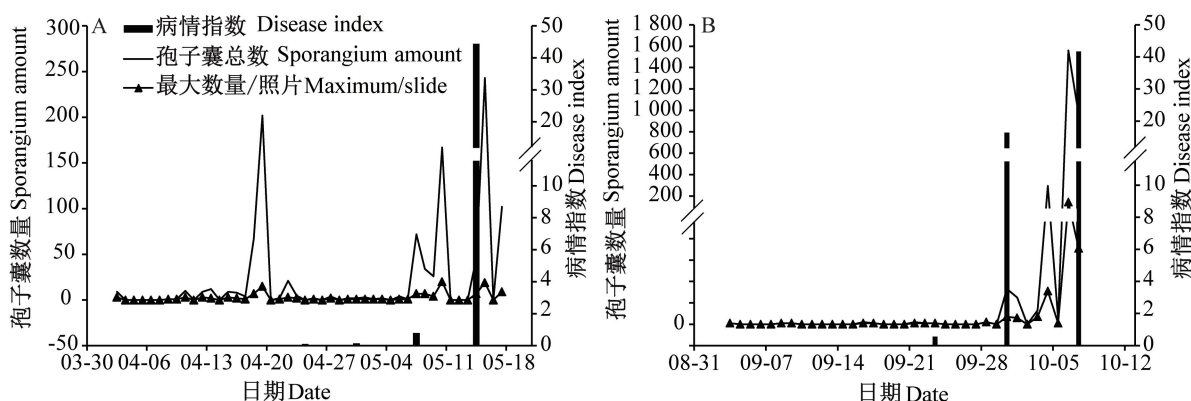


图3 2015年春季(A)和秋季(B)黄瓜霜霉病菌孢子囊捕捉数量与田间病情指数的动态监测

Fig. 3 Dynamic monitoring of trapped sporangium amount and disease index of cucumber downy mildew in high-tunnel in the spring (A) and autumn (B) of 2015

表3 捕捉孢子数量与病情指数的相关性分析

Table 3 Correlation analysis between the amount of trapped spores and disease index

| 调查日期<br>Date | 黄瓜霜霉病 Cucumber downy mildew  |                       |                           | 黄瓜白粉病 Cucumber powdery mildew |                       |                           |
|--------------|------------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------------|-----------------------|---------------------------|
|              | 孢子囊数量<br>Amount of sporangia | 病情指数<br>Disease index | 相关系数<br>Correlation index | 分生孢子数量<br>Amount of conidia   | 病情指数<br>Disease index | 相关系数<br>Correlation index |
| 04-10        | —                            | —                     | —                         | 2                             | 0.37                  | —                         |
| 04-17        | —                            | —                     | —                         | 7                             | 0.84                  | —                         |
| 04-24        | 297                          | 0.11                  | —                         | 16                            | 4.47                  | —                         |
| 04-30        | 10                           | 0.15                  | —                         | 1                             | 19.08                 | —                         |
| 05-07        | 83                           | 0.80                  | —                         | 8                             | 41.57                 | —                         |
| 05-14        | 273                          | 44.41                 | —                         | 24                            | 49.64                 | —                         |
|              |                              |                       | 0.5022                    |                               |                       | 0.5244                    |
| 09-23        | 5                            | 0.56                  | —                         | —                             | —                     | —                         |
| 09-30        | 35                           | 16.43                 | —                         | —                             | —                     | —                         |
| 10-07        | 2 858                        | 41.72                 | —                         | —                             | —                     | —                         |
|              |                              |                       | 0.9275                    |                               |                       |                           |

孢子囊或分生孢子数量为调查日当天及前6 d捕捉的孢子囊或分生孢子数量之和;—: 没有数据。Amounts of trapped sporangia or conidia are the sum of sporangia or conidia trapped in seven consecutive days containing date of disease survey; —: no data.

## 3 讨论

孢子形态识别是孢子捕捉技术的关键。本研究发现离体条件下黄瓜白粉病菌分生孢子会很快发生

形态变化,而黄瓜霜霉病菌孢子囊的形态比较稳定,这些结果对于孢子识别与精确计数非常重要,因为一体化智能孢子捕捉系统在田间应用中也捕捉到了变形的黄瓜白粉病菌分生孢子。除了形态的鉴别之

外,在自动拍摄的显微照片上加注标尺条,根据孢子大小对孢子进行识别,进一步提高对病原孢子的识别能力。捕捉玻片上杂质干扰也是影响孢子识别的一个重要因素。杂质数量的多与少可能与风、气流以及捕捉区域空气中尘埃有关,因为拍摄照片中杂质有时非常少,有时又较多。在实际应用中尝试通过加装切割头的方法去除或减少杂质数量,虽然去除杂质的效果明显,但是捕捉孢子数量明显下降。除此之外,在一体化智能孢子捕捉系统安放区域的土表覆膜以降低邻近区域空气中的杂质颗粒。

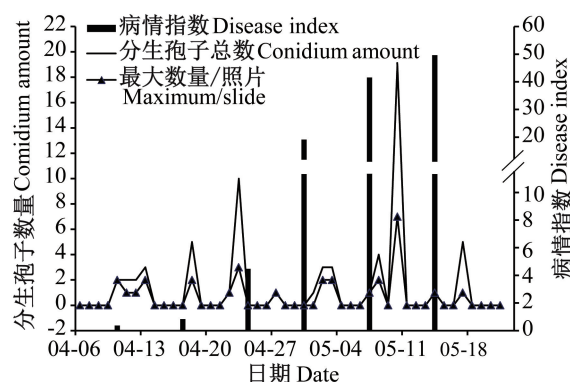


图4 2015年春季黄瓜白粉病分生孢子捕捉数量与田间病情指数的动态监测

Fig. 4 Relationships between trapped conidium amount and occurrence degree of cucumber powdery mildew in high tunnel in the spring of 2015

空气中病原孢子的数量与病害的发生程度有密切关系(Choudhury et al., 2016)。赵曰丰和刘彦(1991)明确了人参黑板病的病情指数与孢子捕捉量高度正相关( $R=0.8722$ ),刘伟等(2016)研究发现田间小麦白粉病病情指数与空气中白粉菌分生孢子的浓度显著相关,这与本试验中黄瓜霜霉病和黄瓜白粉病的病情指数与孢子捕捉量强相关的结果一致。周益林等(2007)用移动式孢子捕捉器在发病盛期可以有效捕获小麦白粉病菌分生孢子,但是在发病初期未能捕获到孢子,这与本试验结果存在差异,本试验中,在设施大棚内通过一体化智能孢子捕捉系统可以捕捉到分生孢子,但是在黄瓜白粉病发病之前没能捕捉到分生孢子,随着病情加重,捕捉到的孢子数量也有增加,但是即使在发病盛期捕捉到分生孢子的数量仍然较低,与黄瓜霜霉病相比,在相似的病情指数下捕捉到的数量也要低1~2个数量级,因此一体化智能孢子捕捉系统捕捉黄瓜霜霉病孢子囊更加有效。

一体化智能孢子捕捉系统可以自动捕捉孢子、

自动上传显微照片,在监测病菌孢子时省时、省工,在黄瓜霜霉病的预测预报方面将会有较好的应用前景。一体化智能孢子捕捉系统装有自动拍照的显微镜,拍摄照片的清晰度又是影响孢子识别的一个重要因素。经观察与分析,捕捉玻片上黏性层厚薄平整度以及杂质颗粒数量与大小都会干扰对靶标病原菌孢子的显微聚焦,影响拍摄效果,因此未来还需要在玻片黏性层平整度以及杂质数量控制等方面需要继续提高,以进一步提升照片的清晰度。

## 参考文献 (References)

- Cao XR, Zhou YL. 2016. Progress in monitoring and forecasting of plant disease. *Plant Protection*, 42(3): 1-7 (in Chinese) [曹学任, 周益林. 2016. 植物病害监测预警新技术研究进展. *植物保护*, 42(3): 1-7]
- Choudhury RA, Koike ST, Fox AD, Anchieta A, Subbarao KV, Klosterman SJ, McRoberts N. 2016. Season-long dynamics of spinach downy mildew determined by spore trapping and disease incidence. *Phytopathology*, 106(11): 1311-1318
- Granke LL, Morrice JJ, Hausbeck MK. 2014. Relationships between airborne *Pseudoperonospora cubensis* sporangia, environmental conditions, and cucumber downy mildew severity. *Plant Disease*, 98(5): 674-681
- He ZF, Yu H, Zhu TS, Wang SY, He WB. 2001. The prediction model for the epidemiological rate of cucumber downy mildew in Guangzhou region. *Plant Protection*, 27(5): 10-12 (in Chinese) [何自福, 虞皓, 朱天圣, 王少毅, 何文彪. 2001. 广州地区黄瓜霜霉病流行速率的预测模型. *植物保护*, 27(5): 10-12]
- Jiang YY, Luo JY, Luo DP, Zeng J, Zhao K, Lu FQ, Yu Y, Zhang QL, Li JS, Li HM. 2015. Monitoring effect of remote-controlled spore trap on wheat aero-borne diseases. *Plant Protection*, 41(6): 163-168 (in Chinese) [姜玉英, 罗金燕, 罗德平, 曾娟, 赵康, 路凤琴, 俞懿, 张全力, 李金锁, 李惠明. 2015. 远程控制病菌孢子捕捉仪对小麦气传病害的监测效果. *植物保护*, 41(6): 163-168]
- Kong XY, Zhang XY, Zhang JL, Qi X, Zheng FS. 1997. Study on decision-making system for forecasting cucumber downy mildew in the field and its application. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 13(6): 29-30 (in Chinese) [孔宪阳, 张香云, 张金良, 瞿鑫, 郑福松. 1997. 露地黄瓜霜霉病预测决策系统的研究与应用. *中国农学通报*, 13(6): 29-30]
- Li DD, Cui HQ, Liu F, Wang RH, Sheng YY, Wu X. 2016. Evaluation and analysis of resistance to cucumber downy mildew under low light stress. *Journal of Plant Protection*, 43(4): 621-626 (in Chinese) [李丹丹, 崔洪秋, 刘芳, 王茹华, 盛云燕, 吴瑕. 2016. 弱光胁迫下黄瓜霜霉病抗性评价与分析. *植物保护学报*, 43(4): 621-626]
- Liu W, Yao DM, Fan JR, Cao XR, Chen L, Ding KJ, Zhou YL, Zou YF, Duan XY. 2016. Dynamic monitoring of aerial conidia of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* in wheat fields. *Acta Phytopatho-*

- logica Sinica, 46(1): 112–118 (in Chinese) [刘伟, 姚冬明, 范洁茹, 曹学任, 陈莉, 丁克坚, 周益林, 邹亚飞, 段霞瑜. 2016. 田间空气中小麦白粉菌分生孢子的动态监测研究. 植物病理学报, 46(1): 112–118]
- Liu YL, Zhang YJ, Cai N, Li XL. 2009. Advances in pathogen and resistance of *Pseudoperonospora cubensis*. Journal of Northeast Agricultural University, 40(4): 127–131 (in Chinese) [刘艳玲, 张艳菊, 蔡宁, 李晓雨. 2009. 黄瓜霜霉病病原与抗病性研究进展. 东北农业大学学报, 40(4): 127–131]
- Neufeld KN, Isard SA, Ojiambo PS. 2013. Relationship between disease severity and escape of *Pseudoperonospora cubensis* sporangia from a cucumber canopy during downy mildew epidemics. Plant Pathology, 62(6): 1366–1377
- Qian S, Huo ZG, Ye CL. 2005. Long-term meteorological prediction research on epidemic of wheat powdery mildew in China. Journal of Natural Disasters, 14(4): 56–63 (in Chinese) [钱拴, 霍治国, 叶彩玲. 2005. 我国小麦白粉病发生流行的长期气象预测研究. 自然灾害学报, 14(4): 56–63]
- Qu L, Qin ZW. 2007. Advance on cucumber resistance to powdery mildew. Journal of Northeast Agricultural University, 38(6): 835–841 (in Chinese) [曲丽, 秦智伟. 2007. 黄瓜白粉病病原菌及抗病性研究进展. 东北农业学报, 38(6): 835–841]
- Ren L, Zhao BB, Han JC, Liu HQ, Liu HP. 2015. Sensitivity of *Podosphaera xanthii* to thiophanate-methyl and characteristics of resistant mutants. Journal of Plant Protection, 42(2): 176–181 (in Chinese) [任璐, 赵彬彬, 韩巨才, 刘慧芹, 刘慧平. 2015. 黄瓜白粉病菌对甲基硫菌灵的敏感性及其室内抗性突变体生物学性状. 植物保护学报, 42(2): 176–181]
- Research Group on Wheat Scab, Shanghai Academy of Agricultural Sciences. 1997. Study on motor-driven apparatus for trapping pathogen spores. Shanghai Agricultural Science and Technology, (5): 14, 12 (in Chinese) [上海市农科院土保所赤霉病研究组. 1977. 电动孢子捕捉器的研究. 上海农业科技, (5): 14, 12]
- Xiong Y, Wang HB, Xiang HF, Zhang HC. 2016. Research progress of cucumber powdery mildew. Chinese Agricultural Science Bulletin, 32(1): 130–135 (in Chinese) [熊艳, 王鹤冰, 向华丰, 张洪成. 2016. 黄瓜霜霉病研究进展. 中国农学通报, 32(1): 130–135]
- Yao DM. 2013. Application of remote sensing and pathogen conidia trap for monitoring of wheat powdery mildew. Master Thesis. Hefei: Anhui Agricultural University (in Chinese) [姚冬明. 2013. 遥感和病菌孢子捕捉技术在小麦白粉病监测中的应用研究. 硕士学位论文. 合肥: 安徽农业大学]
- Yue H, Wu XB, Hao JJ, Cui J, Zhang SC, Zhang XY, Bai ZC. 2014. Status and prospects in molecular breeding of powdery mildew resistance of cucumber. Journal of Plant Genetic Resources, 15(1): 120–128 (in Chinese) [岳欢, 吴星波, 郝俊杰, 崔健, 张守才, 张晓艳, 白志川. 2014. 黄瓜抗白粉病分子育种研究现状与展望. 植物遗传资源学报, 15(1): 120–128]
- Zhao YF, Liu Y. 1991. Studies on the predictive model for disease development period and seed yield of ginseng *Alternaria* blight. Acta Phytopathologica Sinica, 21(3): 211–215 (in Chinese) [赵曰丰, 刘彦. 1991. 人参黑斑病流行发生期及参籽产量预测模型的研究. 植物病理学报, 21(3): 211–215]
- Zhou YL, Duan XY, Cheng DF. 2007. Estimation of disease severity of wheat powdery mildew by using data of pathogen spore trap. Acta Phytopathologica Sinica, 37(3): 307–309 (in Chinese) [周益林, 段霞瑜, 程登发. 2007. 利用移动式孢子捕捉器捕获的孢子量估计小麦白粉病田间病情. 植物病理学报, 37(3): 307–309]

(责任编辑: 高峰)