

宁夏温室瓜菜白粉病菌鉴定及病害流行预测模型构建

李磊福¹ 孙秋玉¹ 史娟^{2*} 马占鸿^{1*}

(1. 中国农业大学植物保护学院植物病理学系, 北京 100193; 2. 宁夏大学农学院, 银川 750001)

摘要: 为明确宁夏回族自治区温室瓜菜白粉病菌的分类地位, 对采自该地区温室的南瓜、黄瓜和甜瓜上的白粉病菌基于 ITS 序列分析进行分子鉴定; 利用孢子捕捉器对温室中甜瓜白粉病菌的孢子量进行监测, 分析环境因子、孢子量和病情指数之间的关系, 并采用逐步回归分析法构建温室甜瓜白粉病的流行预测模型。结果表明, 基于 ITS 序列的分子鉴定结果, 3 种瓜菜白粉病的病原菌均为单囊壳白粉菌 *Podosphaera xanthii*。发病期间, 每日温室中甜瓜白粉病菌的孢子量在 12: 00—16: 00 时段最多, 占 24 h 内总孢子量的 34%~81%, 20: 00—08: 00 时段最少; 白粉病菌孢子的释放与光照强度有关, 相关系数为 0.602。第 t 天的病情指数与标准累积温度、标准累积湿度、 $t-4$ d 前 08: 00—12: 00 时段的累积孢子量、第 $t-4$ 天 16: 00—20: 00 时段的孢子量均具有显著的相关性, 相关系数分别为 0.935、0.938、0.956 和 0.921。以标准累积湿度和第 $t-4$ 天 16: 00—20: 00 时段的孢子量为预测变量构建了温室甜瓜白粉病流行预测模型, 决定系数为 0.962, 表明该模型具有较好的实际应用价值。

关键词: 瓜菜白粉病; ITS 序列; 孢子量; 环境因子; 预测模型

Pathogen identification and forecasting model construction of cucurbit powdery mildew in greenhouse in Ningxia

Li Leifu¹ Sun Qiuyu¹ Shi Juan^{2*} Ma Zhanhong^{1*}

(1. Department of Plant Pathology, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. College of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750001, Ningxia Hui Autonomous Region, China)

Abstract: In order to determine the pathogen of cucurbit powdery mildew in Ningxia, the sample of cucurbit powdery mildew were collected from pumpkin, cucumber and melon leaves to amplify their ITS sequences and construct phylogenetic trees using a neighbor-joining method. Meanwhile, spore traps were used to monitor the number of airborne conidia of melon powdery mildew in greenhouse. The relationship among environmental factors, the number of airborne conidia and the disease index was analyzed to develop a prediction model of this disease. The identification results showed that the pathogen of cucurbit powdery mildew was primarily determined to be *Podosphaera xanthii*. The number of airborne conidia of melon powdery mildew were released largest from 12: 00—16: 00, accounting for 34%–81% of total amount of conidia within 24 h, and least between 20: 00—08: 00. Conidial release was related to the light as the correlation coefficient was 0.602. The disease index was most related to the standard accumulated temperature, the standard accumulated moisture, the accumulated number of airborne conidia between 08: 00—12: 00 four days ago and the number of airborne conidia between

基金项目: 宁夏回族自治区科技支撑计划项目(201422N00), 宁夏回族自治区重点研发计划(2016BZ09), 中央高校基本科研业务费专项(2015TC008)

* 通讯作者 (Authors for correspondence), E-mail: mazh@cau.edu.cn, shijuan0@163.com

收稿日期: 2016-03-19

12:00—16:00 four days ago and their correlation coefficients were 0.935, 0.938, 0.956 and 0.921, respectively. A prediction model of melon powdery mildew in greenhouse was constructed and the standard accumulated moisture and the number of airborne conidia between 16:00—20:00 four days ago were chosen as predictive variables and the determination coefficient of the regression equation was 0.962, which shows this model occupies preferable practicability.

Key words: cucurbit powdery mildew; ITS sequences; number of airborne conidia; environmental factors; prediction model

白粉病是瓜菜生产上的重要病害,在我国各地保护地和露地的多种瓜菜上普遍发生(张怡等, 2013)。目前由于宁夏回族自治区设施瓜菜种植品种的单一化,白粉病已对多种设施栽培的瓜菜造成严重的经济损失。快速、准确鉴定设施瓜菜白粉病的病原菌并对其病情进行监测,掌握其流行规律是进行有效防治的基础。

瓜菜白粉病的病原菌主要有单囊壳白粉菌 *Podosphaera xanthii* 和二孢白粉菌 *Golovinomyces cichoracearum*, 由于有性阶段子囊和子囊孢子不易获得,无性阶段分生孢子有无纤维状体是实际区分二者的主要形态特征,一般认为只有单囊壳白粉菌的分生孢子有发达的纤维状体(Křístková et al., 2009)。由于形态鉴定存在一定的局限性,利用真核生物内核糖体 rDNA 的 ITS 序列对瓜菜白粉病菌进行分子鉴定及系统发育分析将获得更多与该病原菌有关的信息,有助于对其进行准确鉴定。刘建利等(2010)和刘建利(2011)先后通过形态学特征和 ITS 序列分析及 28S rDNA 的 D1/D2 序列分析将宁夏回族自治区干旱地带压砂甜瓜主栽品种玉金香上的白粉病菌鉴定到叉丝单囊壳属 *Podosphaera*。但目前对于宁夏回族自治区其它瓜菜白粉病的研究未见报道,因此,有必要对该地区多种瓜菜白粉病的病原菌进行鉴定,明确其分类地位。

此外,为有效防治设施瓜菜白粉病,对设施瓜菜白粉病的发展过程、空中孢子量及环境因子进行监测,并分析总结该病害的流行规律也十分重要。已有研究表明,标准累积温、湿度与温室白粉病的病情指数显著相关,如徐宁等(2004)以发病天数、标准累积湿度、标准累积温度和品种抗感性系数为预测变量构建的塑料大棚黄瓜白粉病发生程度预测模型,可以很好地模拟黄瓜白粉病的流行程度,模型的校正决定系数为 0.9751;尹哲等(2014)以标准累积温、湿度为预测变量构建的温室黄瓜白粉病预测模型与温室该病害的流行规律基本一致,模型的决定系数为 0.9667。另一方面,许多研究通过对温室中白粉

病菌的空中孢子量进行监测,发现空中孢子量在 1 d 中呈不均匀分布,孢子量的变化受多种因素的影响,孢子作为白粉病的侵染来源,对温室作物白粉病的病情发展十分重要,如 Granke et al. (2012)发现,温室中单囊壳白粉菌的孢子浓度在 08:00—16:00 或 09:00—14:00 时段出现峰值,通风和浇水等农事操作是影响温室中孢子释放和孢子数量变化的主要因素;而 Byrne et al. (2000)发现温室中 10:00—18:00 或 13:00—16:00 时段一品红白粉病菌的空中孢子浓度最高,5%~15% 相对湿度的波动会促使孢子短时间大量释放,而长时间高温,如持续 20 d 平均温度高于 25℃ 或持续 8 d 平均温度高于 30℃ 会导致孢子浓度显著下降,并使孢子无法成功侵染寄主产生可见病斑。

本研究拟结合形态特征观察及 ITS 序列分析对宁夏回族自治区几种常见瓜类作物白粉病的病原菌进行鉴定,以温室甜瓜白粉病为例研究温室中白粉病菌孢子量的变化规律、影响因素及与作物病情的关系,并构建温室甜瓜白粉病的流行预测模型,以期在当地温室瓜菜白粉病的综合防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试病菌及植物:于 2015 年 6—10 月从宁夏回族自治区中卫市光伏温室和银川市贺兰产业园日光温室中采集具有典型瓜菜白粉病症状的甜瓜、黄瓜和南瓜叶片,分别收集其上的孢子用于白粉病菌基因组 DNA 的提取。温室甜瓜、黄瓜和南瓜的品种分别为羊角脆、德尔 99 和日本东升南瓜。

试剂及仪器:2×PCR Master Mix, 日本 TaKaRa 公司;引物 ITS1 和 ITS4, 由北京擎科新业生物技术有限公司合成;其余试剂均为国产分析纯。EDC-810 基因扩增仪,东胜创新生物科技有限公司;DS-11 超微量紫外/可见分光光度计,美国 DeNovix 公司;DYY-12 型电泳仪,北京六一仪器厂;孢子捕捉器,专利号:ZL201410009269.6;GIS-4-CE-3V 绿园

温室娃娃,北京派得伟业科技发展有限公司。

1.2 方法

1.2.1 瓜菜上白粉病菌的分子鉴定

将采集到的3种瓜菜感病叶片分别用手术刀小心刮取表面的白粉病菌孢子置于1.5 mL离心管中,并根据来源对菌株进行编号(H代表黄瓜、N代表南瓜、T代表甜瓜)。参考张怡等(2012)改良后的真菌DNA提取方法,分别获得3种瓜菜上白粉病菌的基因组DNA,测定浓度后于-20℃保存。采用真菌核糖体通用引物ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')进行ITS序列扩增。20 μL PCR反应体系:2×Pre-Mix 10 μL、ITS1和ITS4引物各0.5 μL、基因组DNA 1 μL、ddH₂O 8 μL。PCR反应程序为:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,55℃退火40 s,72℃延伸45 s,35个循环;72℃延伸5 min;4℃保存。PCR产物经1%的琼脂糖凝胶电泳检测后由生工生物工程(上海)股份有限公司测序。将瓜菜白粉病菌的ITS序列与GenBank中已知序列进行BLAST比对,并用MEGA 5.1软件进行系统进化分析,采用邻接法构建系统发育树,通过自展法进行检验,参数为1 000。

1.2.2 温室甜瓜白粉病的病情调查

于2015年秋季在银川市贺兰产业园日光温室中定点系统调查甜瓜白粉病的发病情况。采用五点取样法,沿对角线选取5个调查样点,每个样点标记20株,发病前每2~3 d观察1次,待发现白粉病粉层后每隔5~7 d调查1次,每株分上、中、下3个部分各取3片叶片进行调查并记录,计算发病率和病情指数。发病率=发病植株数/调查植株数×100%;病情指数= Σ (各级病叶数×相对级数)/(调查总叶数×9)×100。瓜菜白粉病病情分级标准为:0级:无病斑;1级:病斑面积≤5%叶面积;3级:5%叶面积<病斑面积≤25%叶面积;5级:25%叶面积<病斑面积≤50%叶面积;7级:50%叶面积<病斑面积≤75%叶面积;9级:病斑面积>75%叶面积(郝林华等,2006)。

1.2.3 温室甜瓜白粉病菌孢子量及环境因子的监测

2015年秋季在银川市贺兰产业园日光温室中布置2台孢子捕捉器,对甜瓜白粉病菌的空中孢子数量进行动态监测。2台孢子捕捉器分别布置在该温室中的2个三等分点上,距地面1.2 m,前后各相距2.3 m。自甜瓜定植(7月13日)起开始捕捉温室中白粉病菌的分生孢子,直到甜瓜拉秧(9月30日)为止,每天于08:00—12:00、12:00—16:00、16:00—20:00和20:00—08:00这4个时段分别采集并记录

孢子捕捉量。利用绿园温室娃娃每小时自动采集记录温室中7—9月的空气温度、相对湿度、光照强度、露点温度和地温。

1.2.4 影响温室白粉病菌孢子量的环境因子筛选

为分析1 d中各时段孢子量的影响因子,先对数据进行如下预处理:将每天各时段采集的孢子量除以当天采集的总孢子量,得到每天各时段孢子量占当天总孢子量的比例;同时将对应时段的平均温度、平均相对湿度和平均光照强度进行相似的处理,得到各时段各环境因子在当天所占的比例。然后用SPSS 19.0软件分析各时段孢子量与对应时段的环境因子之间的相关性,确定各时段孢子量变化的主要影响因子。

为分析环境因子在整个调查期间对孢子量的影响,定义孢子量变化百分比 $R_t = (X_t - X_{t-1})/X_{t-1}$,其中, R_t 代表第 t 天的孢子量变化百分比, X_t 和 X_{t-1} 分别代表第 t 天和第 $t-1$ 天的孢子量。在20~30℃内,瓜菜白粉病的潜育期为4~5 d(高峰,2007);最适发病温度为20~25℃,发病适宜相对湿度为45%~95%(徐宁等,2004)。综合考虑白粉病的发生特点,结合已有气象数据,设计了可能影响白粉病菌孢子量变化的因素,分别是第 $t-1$ 天、第 $t-2$ 天、第 $t-3$ 天、第 $t-4$ 天和第 $t-5$ 天的温度和相对湿度的平均值、标准差、极差、白天均值、夜间均值、顺境累积量、胁迫累积量以及白天平均光照强度。其中,温度顺境累积量指1 d中温度在20~25℃范围内的累积值;温度胁迫累积量指1 d中温度超过30℃的累积值;相对湿度顺境累积量指1 d当中相对湿度在45%~95%范围内的累积值;相对湿度胁迫累积量指1 d中相对湿度范围在95%以上的累积值。

首先运用SPSS 19.0软件将 R_t 值进行等百分比可视离散化处理:将 R_t 按大小排序后划分为3组,3组样本数量比例近似为1:1:1。将离散化后的 R_t 变量命名为nominal_ R_t ,选择第1组和第3组样本为进一步研究的对象,利用SPSS 19.0软件中的 t 测验法分析各自变量的均值在2组间是否存在显著差异,选择差异显著的自变量进行进一步分析。先将选择的自变量离散化为类别变量,为使自变量的离散化结果与nominal_ R_t 的相关性最大,即为每个连续变量寻找一个最佳的类别分割阈值,本研究利用Weka 3.7软件中的1R模型,以nominal_ R_t 为因变量,以分类正确率为指标,计算各自变量的最佳类别分割阈值。然后利用SPSS 19.0软件中的Fisher确切概率法分析类别变量与nominal_ R_t 的相关性,以确定

与孢子量变化百分比 R 显著相关的环境因子。

1.2.5 温室甜瓜白粉病流行预测模型的构建

分析温室甜瓜白粉病的病情指数与环境因子、孢子量的相关性,构建温室甜瓜白粉病的流行预测模型。由于病情指数反映的是病害发生的累积情况,故采用累积温、湿度来反映病害发生和流行的状况(徐宁等,2004)。为合理反映温度对甜瓜白粉病的影响,对温度进行标准化处理。由于25℃是瓜菜白粉病发生流行的最适宜温度,故将温度 $T=25^{\circ}\text{C}$ 定义为1,当温度 $T>25^{\circ}\text{C}$ 时,标准温度 $T_s=0.8-(T-25)/25$;当 $20^{\circ}\text{C}\leq T<25^{\circ}\text{C}$ 时,标准温度 $T_s=T/25$;当 $T<20^{\circ}\text{C}$ 时,标准温度 $T_s=0.8-(20-T)/20$;将相对湿度用0~1之间的值表示作为标准湿度;标准累积温度/湿度= Σ 标准温度/湿度(尹哲等,2014)。将1 d中08:00—12:00、12:00—16:00、16:00—20:00和20:00—08:00这4个时段分别记录为时段1、2、3和4,累积孢子量= Σ 每日孢子量,时段1/2/3/4累积孢子量= Σ 每日时段1/2/3/4孢子量。为合理反映孢子量与病情发展之间的关系,结合瓜菜白粉病的潜育期长短,

将 $t-4$ d前累积孢子量和各时段累积孢子量以及第 $t-4$ 天、第 $t-5$ 天总孢子量和当天各时段孢子量作为第 t 天病情指数的预测因子,利用SPSS 19.0软件分析上述自变量与病情指数间的相关性,并利用逐步回归分析法构建温室甜瓜白粉病的预测模型。

2 结果与分析

2.1 瓜菜上白粉病菌的分子鉴定

将从黄瓜、南瓜和甜瓜上收集的白粉病菌菌株分别命名为H4、N1、N2和T1,经PCR扩增和测序发现其ITS序列完全一致,大小为581 bp,将所得序列进行BLAST比对分析发现,与单囊壳白粉菌*P. xanthii*和菊科叉丝单囊壳白粉菌*P. fusca*的ITS序列之间相似度为99%。选择部分BLAST比对结果,并以高氏白粉菌属*Golovinomyces*下的5个种为外群,构建系统发育树(图1),H4、N1、N2和T1均与单囊壳白粉菌和菊科叉丝单囊壳白粉菌的ITS序列聚为一类,同源性高达98%,初步判定黄瓜、南瓜和甜瓜上的白粉病菌均为单囊壳白粉菌*P. xanthii*。

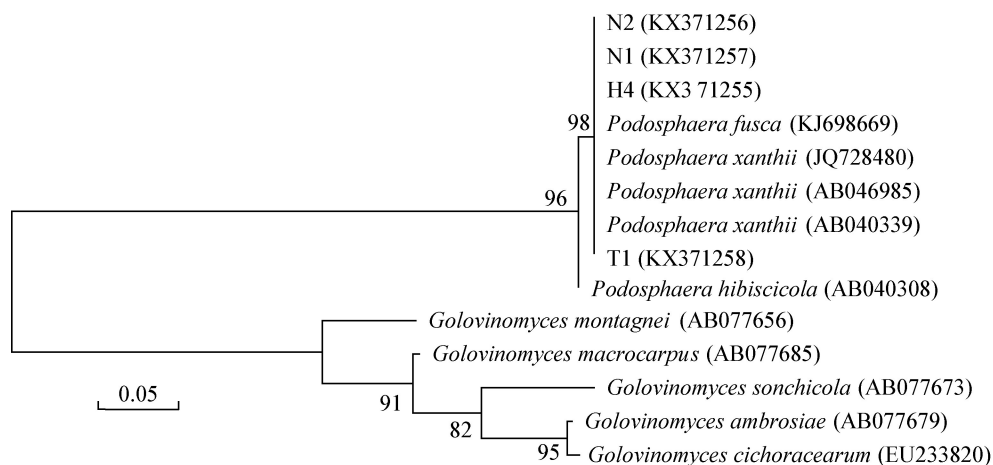


图1 基于ITS序列构建瓜菜白粉病菌菌株及相关菌株的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of cucurbits powdery mildew pathogen and related strains based on ITS sequences

H4、N1、N2和T1分别采集自黄瓜、南瓜、南瓜和甜瓜。Four isolates named as H4, N1, N2 and T1 were collected from cucumber, pumpkin, pumpkin and melon respectively.

2.2 温室甜瓜白粉病病情调查结果

银川市温室中甜瓜白粉病于7月13日定植后第10天初次在甜瓜最底层叶片上观察到白粉症状。从8月4日到9月20日发病率逐渐增加,9月20日发病率达到了98.33%,几乎全部发病,此时的病情指数最大,为24.57(图2)。表明银川市温室甜瓜白粉病的发病主要集中在7—10月。

2.3 温室甜瓜白粉病菌孢子量和环境因子的动态监测

利用孢子捕捉器捕获到8月5日—9月21日每

天各时段温室里空气中的孢子数,并计算得到每旬各时段的孢子数占总孢子数的比例(表1),结果显示温室中白粉病菌孢子在12:00—16:00时段数量最多,占24 h内总孢子量的34%~81%,之后空气中的孢子数量开始减少,夜间孢子数量最少。将8月5日—9月21日温室中每天各时段的孢子量求和得到每天的孢子量(图3),发现孢子量在监测前期增长缓慢,从9月2日开始快速增长,至9月20日达到最大值。

2.4 影响温室甜瓜白粉病菌孢子量的主要环境因子

1 d中各时段孢子量与环境因子的相关性分析结果表明,各时段孢子量占当天总孢子量的比例与对应时段的平均温度和平均光照强度呈极显著正相

关($P<0.01$),相关系数分别为0.557和0.602;与对应时段的平均相对湿度呈显著负相关($P<0.05$),但相关系数较低,仅为-0.279;说明光照强度和温度与孢子的短时间释放有关。

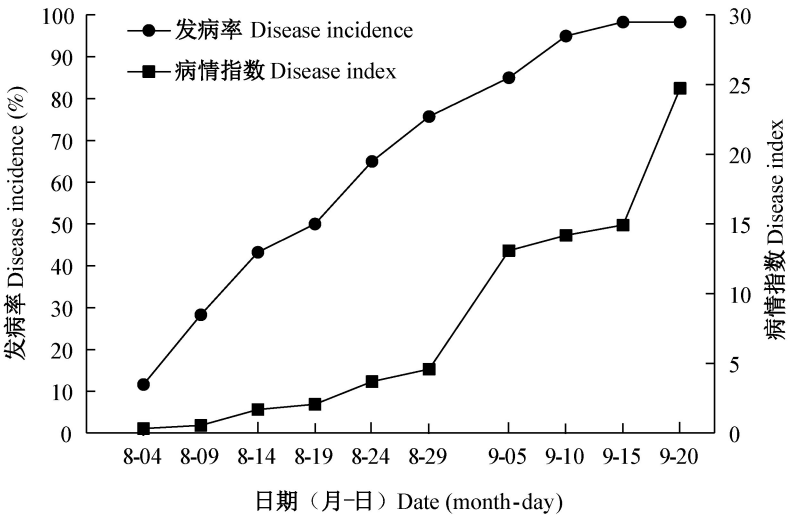


图2 宁夏银川市温室甜瓜白粉病发病率和病情指数调查结果
Fig. 2 Disease incidence and disease index of cucurbit powdery mildew in greenhouses in Yinchuan, Ningxia

表1 宁夏银川市温室甜瓜白粉病菌在8—9月份各时段内孢子量的比例

Table 1 Proportion of airborne conidia of melon powdery mildew in various periods between August and September in greenhouses in Yinchuan, Ningxia					%
日期 Date	08: 00—12: 00	12: 00—16: 00	16: 00—20: 00	20: 00—08: 00	
8-05—8-10	26	42	15	17	
8-11—8-20	46	34	5	15	
8-21—8-31	30	40	20	10	
9-01—9-10	11	47	30	12	
9-11—9-20	6	81	7	6	
平均值 Average	24	49	15	12	

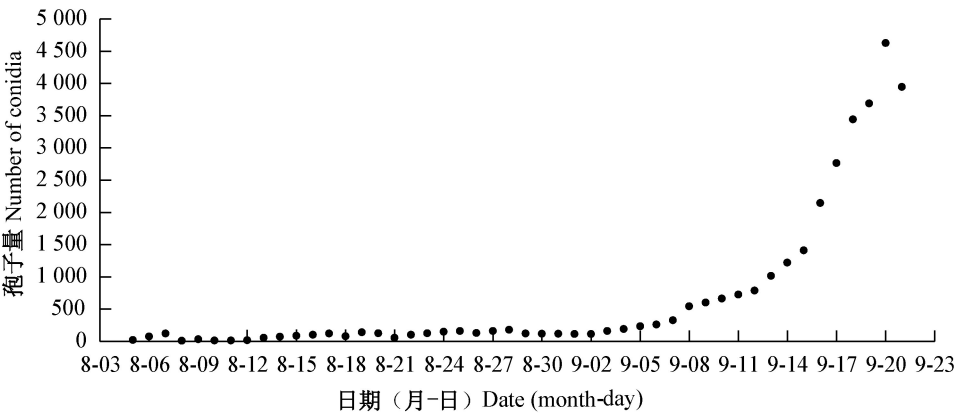


图3 宁夏银川市温室甜瓜白粉菌8—9月空中孢子量的变化趋势
Fig. 3 The increasing tendency of airborne conidia of melon powdery mildew between August and September in greenhouses in Yinchuan, Ningxia

将每日孢子量换算为孢子量变化百分比 R_t ,将 R_t 离散为3组,范围分别为-0.56~0.09、0.09~0.25和0.25~2.65,平均值分别为-0.15、0.17和0.71。 t 测验结果表明,仅第 $t-2$ 天的温度胁迫累积量均值在第1组样本和第3组样本之间差异显著($P=0.047$);第 $t-5$ 天的温度胁迫累积量均值在2组间的差异显著性 P 值为0.088,接近0.05,其余自变量的均值在2组间的 P 值均大于0.100。因此选择第 $t-2$ 天和第 $t-5$ 天的温度胁迫累积量作进一步分析。1R模型分类结果显示,第 $t-2$ 天的温度胁迫累积量的最佳类别分割阈值为526.85℃,第 $t-5$ 天的温度胁迫累积量的最佳类别分割阈值为369.95℃,当小于分割阈值时 nominal_R 属于第3组,否则属于第1组。Fisher确切概率法对上述2个类别变量与 nominal_R 的相关性分析结果表明,2个变量均与 nominal_R 显著相关, P 值分别为0.008和0.021,说明第 $t-2$ 天和第 $t-5$ 天的温度胁迫累积量较低是 R_t 值较大的重要决定因素。

2.5 温室甜瓜白粉病预测模型的构建

相关性分析结果表明,温室甜瓜白粉病病情指数与标准累积温、湿度、 $t-4$ d前累积孢子量及各时段累积孢子量以及第 $t-4$ 天和第 $t-5$ 天的孢子量均存在极显著相关关系($P<0.01$);表2所示为各类影响因素中与温室甜瓜白粉病病情指数的相关系数大于0.900的影响因子,发现标准累积温、湿度与病情

指数具有很强的相关性,相关系数分别为0.935和0.938,并且标准累积温度和标准累积湿度之间相关性也极高; $t-4$ d前累积孢子量与病情指数密切相关,其中 $t-4$ d前08:00—12:00时段的累积孢子量与病情指数的相关性最高,相关系数为0.956, $t-4$ d前08:00—12:00时段的累积孢子量与标准累积温、湿度之间也存在很强的相关性,相关系数分别为0.994和0.993;第 $t-4$ 天和第 $t-5$ 天总孢子量及各时段孢子量中仅第 $t-4$ 天16:00—20:00时段的孢子量与病情指数的相关系数超过0.900,为0.921,第 $t-4$ 天16:00—20:00时段的孢子量与标准累积温、湿度之间的相关系数分别为0.809和0.814。

运用逐步线性回归分析法,以温室中甜瓜白粉病的病情指数为因变量,上述变量为自变量,建立温室甜瓜白粉病的病害流行预测模型。获得的最优预测模型为: $Y_t = -4.918 + 0.553X_t + 0.055X_{t-4}$,模型的决定系数为0.962;其中 Y_t 表示第 t 天的病情指数, X_t 表示第 t 天的标准累积湿度, X_{t-4} 表示第 $t-4$ 天16:00—20:00时段的孢子量,模型及所有估计系数均在0.01显著水平下通过检验。将标准累积湿度和第 $t-4$ 天16:00—20:00时段的孢子量代入上述模型中得到温室甜瓜白粉病病情指数的预测值,并与病情指数的观测值进行比较(图4),发现该模型的预测值与观测值拟合程度较好。

表2 温室甜瓜白粉病病情指数与各变量之间的皮尔逊相关系数

Table 2 Pearson's correlation coefficient between variables and the disease index of melon powdery mildew in greenhouses

	DI	SAT	SAM	CNC	CNC1	CNC3	CNC4	NC3
DI	1.000	0.935**	0.938**	0.928**	0.956**	0.934**	0.952**	0.921**
SAT	0.935**	1.000	1.000**	0.852**	0.994**	0.864**	0.897**	0.809**
SAM	0.938**	1.000**	1.000	0.854**	0.993**	0.870**	0.900**	0.814**
CNC	0.928**	0.852**	0.854**	1.000	0.874**	0.985**	0.994**	0.945**
CNC1	0.956**	0.994**	0.993**	0.874**	1.000	0.887**	0.915**	0.827**
CNC3	0.934**	0.864**	0.870**	0.985**	0.887**	1.000	0.992**	0.923**
CNC4	0.952**	0.897**	0.900**	0.994**	0.915**	0.992**	1.000	0.940**
NC3	0.921**	0.809**	0.814**	0.945**	0.827**	0.923**	0.940**	1.000

DI: 病情指数; SAT: 标准累积温度; SAM: 标准累积湿度; CNC: $t-4$ d前累积孢子量; CNC1: $t-4$ d前08:00—12:00时段的累积孢子量; CNC3: $t-4$ d前16:00—20:00时段的累积孢子量; CNC4: $t-4$ d前20:00—08:00时段的累积孢子量; NC3: 第 $t-4$ 天16:00—20:00时段的孢子量; **表示在0.01水平显著相关。DI: Disease index; SAT: standard accumulated temperature; SAM: standard accumulated moisture; CNC: cumulative number of conidia four days ago; CNC1: cumulative number of conidia between 08:00 to 12:00 four days ago; CNC3: cumulative number of conidia between 16:00 to 20:00 four days ago; CNC4: cumulative number of conidia between 20:00 to 08:00 four days ago; NC3: number of conidia between 16:00 to 20:00 four days ago. **: correlation is significant at the 0.01 level.

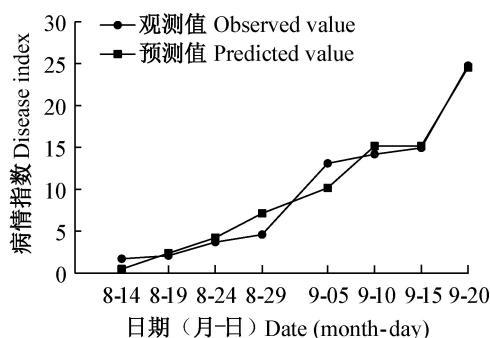


图4 宁夏银川市温室甜瓜白粉病病害流行预测模型的拟合检验

Fig. 4 Comparison between the model-estimated and the observed disease index of melon powdery mildew in greenhouse in Yinchuan, Ningxia

3 讨论

随着分子生物学的发展,利用真核生物中核糖体 rDNA 的 ITS 序列对病原菌进行鉴定和系统发育分析已被普遍应用。在我国多个地区多种瓜菜白粉病菌的 ITS 序列与单囊壳白粉菌具有很高的同源性(王娜等,2007;张怡等,2013;李苹芳等,2015);刘建利(2011)通过 ITS 序列及 28S rDNA 的 D1/D2 序列分析将宁夏回族自治区干旱地带压砂甜瓜主栽品种玉金香上的白粉病菌鉴定到叉丝单囊壳属,但未明确种;Wang et al.(2013)则通过 ITS 序列分析将黑龙江省 3 个地区的甜瓜白粉病菌鉴定为菊科叉丝单囊壳白粉菌;本研究基于 ITS 序列分析构建的系统发育树将待鉴定的瓜菜白粉病菌与单囊壳白粉菌和菊科叉丝单囊壳白粉菌聚为一类,与 Lee(2012)基于 ITS 序列及 28S 序列的研究结果基本一致。由于白粉菌的分类标准不统一,存在同物异名的现象(柯杨等,2016),本研究中涉及到的单囊壳白粉菌和菊科叉丝单囊壳白粉菌,一般情况下视为同一种(Pérez-García et al., 2009; Vela-Corcía et al., 2014),而我国将单囊壳白粉菌作为瓜菜白粉病菌的报道比较普遍,故本研究中将感染黄瓜、南瓜和甜瓜的白粉病菌初步鉴定为单囊壳白粉菌 *P. xanthii*。

为深入了解温室瓜菜白粉病的流行规律,本研究对温室中甜瓜白粉病菌的空中孢子量进行监测,发现孢子量在 1 d 中呈现不均匀分布,峰值集中在 12:00—16:00 时段,温室中甜瓜白粉病菌孢子量短时间内的增加与光照强度呈极显著正相关,与相对湿度呈显著负相关,这与 Byrne et al.(2000)的研究结果存在一定的差异,该研究认为不仅光照,而且一

定程度的湿度变化(增加或减少)也有利于白粉病菌孢子的大量释放。但 Adams et al.(1986)研究发现湿度的快速降低有助于蔷薇单囊壳菌 *Sphaerotheca pannosa* 的孢子释放,而小麦白粉菌 *Erysiphe graminis* DC. 的孢子释放与湿度的快速升高有关。由此可见,湿度对白粉病菌孢子释放的影响在不同种病原菌中存在一定的差异,温室中甜瓜白粉病菌的孢子释放与湿度的关系需要进一步研究。

温室中白粉病的病情发展受到多种环境因素的影响,本研究通过相关性分析发现,标准累积温度、标准累积湿度与病情指数呈极显著相关,相关系数分别为 0.935 和 0.938,累积孢子量与病情指数相关性也较高,其中 $t-4$ d 前 08:00—12:00 时段的累积孢子量与第 t 天的甜瓜白粉病病情指数相关系数最高(0.956),但与第 $t-4$ 天和第 $t-5$ 天总孢子量及各时段孢子量相比, $t-4$ d 前累积孢子量及各时段的累积孢子量与标准累积温、湿度的相关性更高,表明累积孢子量与标准累积温、湿度之间存在严重的共线性。利用逐步回归分析法得到的最优模型选择了标准累积湿度和第 $t-4$ 天 16:00—20:00 时段的孢子量作为预测变量,模型的决定系数为 0.962,可以很好地反应温室中甜瓜白粉病的流行情况,对温室瓜菜白粉病的综合防治具有一定的指导意义。

致谢:宁夏大学石晶波和罗正军同学为本研究采集病害标本并调查病情数据及温室气象数据,特此致谢!

参 考 文 献 (References)

- Adams GC, Gottwald TR, Leach CM. 1986. Environmental-factors initiating liberation of conidia of powdery mildews. *Phytopathology*, 76(11): 1239–1245
- Byrne JM, Hausbeck MK, Shaw BD. 2000. Factors affecting concentrations of airborne conidia of *Oidium* sp among poinsettias in a greenhouse. *Plant Disease*, 84(10): 1089–1095
- Gao F. 2007. Research of regularity of outbreak and synthetically control measures on cucurbits powdery mildew in Jilin Province. Master Thesis. Changchun: Jilin Agricultural University (in Chinese) [高峰. 2007. 吉林省主要瓜类白粉病发生规律及综合防治措施的研究. 硕士学位论文. 长春: 吉林农业大学]
- Granke LL, Crawford LE, Hausbeck MK. 2012. Factors affecting airborne concentrations of *Podosphaera xanthii* conidia and severity of gerbera powdery mildew. *HortScience*, 47(8): 1068–1072
- Hao LH, Lin XZ, Chen KS. 2006. Control effects of multifunctional biological agent on cucumber powdery mildew. *Plant Protection*, 32(4): 64–67 (in Chinese) [郝林华, 林学政, 陈靠山. 2006. 多功能生物制剂对黄瓜白粉病的防治效应. 植物保护, 32(4): 64–67]
- Ke Y, Zhu HY, Li B, Ma Y, Li YM, Zhang F. 2016. Advances in bio-

- control of cucurbits powdery mildew. *Journal of Microbiology*, 36(1): 106–112 (in Chinese) [柯杨, 朱海云, 李勃, 马瑜, 李英梅, 张锋. 2016. 瓜类白粉病的生物防治研究进展. *微生物学杂志*, 36(1): 106–112]
- Křístková E, Lebeda A, Sedláková B. 2009. Species spectra, distribution and host range of cucurbit powdery mildews in the Czech Republic, and in some other European and Middle Eastern countries. *Phytoparasitica*, 37(4): 337–350
- Lee H. 2012. Molecular phylogenetic status of Korean strain of *Podosphaera xanthii*, a causal pathogen of powdery mildew on Japanese thistle (*Cirsium japonicum*) in Korea. *Journal of Microbiology*, 50(6): 1075–1080
- Li PF, Zhu LL, Yang XP, Xu JH, Liu G, Yao XF, Niu XJ. 2015. Species and physiological race identification of melon powdery mildew fungus in Jiangsu, Zhejiang and Shanghai areas. *China Cucurbits and Vegetables*, 28(6): 16–20 (in Chinese) [李苹芳, 朱凌丽, 羊杏平, 徐锦华, 刘广, 姚协丰, 牛徐江. 2015. 江浙沪甜瓜白粉病菌及其生理小种的鉴定. *中国瓜菜*, 28(6): 16–20]
- Liu JL. 2011. Identification of pathogen of melon powdery mildew with 28S rDNA D1/D2 and ITS rDNA. *Journal of Plant Protection*, 38(1): 47–51 (in Chinese) [刘建利. 2011. 利用 28S rDNA D1/D2 区和 ITS rDNA 序列鉴定甜瓜白粉病病原菌. *植物保护学报*, 38(1): 47–51]
- Liu JL, Ren X, Jin N, Li Q, Chen D, Zeng SY. 2010. Preliminary identification of powdery mildew on melon cultivated in lands overlaid with sands in Ningxia. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 26(14): 261–264 (in Chinese) [刘建利, 任贤, 金妮, 李强, 陈丹, 曾舒予. 2010. 宁夏压砂甜瓜白粉病病原菌初步鉴定. *中国农学通报*, 26(14): 261–264]
- Pérez-García A, Romero D, Fernández-Ortuño D, López-Ruiz F, De Vicente A, Torés JA. 2009. The powdery mildew fungus *Podosphaera fusca* (synonym *Podosphaera xanthii*), a constant threat to cucurbits. *Molecular Plant Pathology*, 10(2): 153–160
- Vela-Corcía D, Bellón-Gómez D, López-Ruiz F, Torés JA, Pérez-García A. 2014. The *Podosphaera fusca* TUB2 gene, a molecular "Swiss Army knife" with multiple applications in powdery mildew research. *Fungal Biology*, 118(2): 228–241
- Wang N, Ma YJ, Dai GH, Wang ZZ. 2007. rDNA-ITS sequence analysis of cucumber downy mildew and cucumber powdery mildew's pathogen. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 35(10): 155–158 (in Chinese) [王娜, 马雅军, 代光辉, 王喆之. 2007. 黄瓜霜霉病和白粉病病原菌的 rDNA-ITS 序列分析. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 35(10): 155–158]
- Wang XZ, Xu BY, Wang P, Luan FS, Ma HY, Ma YY. 2013. Identification of powdery mildew pathogen and ribosomal DNA-ITS sequence analysis on melon. *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)*, 20(4): 10–18
- Xu N, Liu FQ, Hu BS, Luo WH. 2004. Forecasting models for epidemics of cucumber powdery mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) under simulated plastic tunnel condition. *Plant Protection*, 30(6): 52–55 (in Chinese) [徐宁, 刘凤权, 胡白石, 罗卫红. 2004. 室内模拟塑料大棚黄瓜白粉病流行预测模型的建立. *植物保护*, 30(6): 52–55]
- Yin Z, Yuan K, Gu PY, Qiao Y, Guo XH, Li JP. 2014. Forecasting model for epidemics of cucumber powdery mildew in greenhouse in Beijing. *China Plant Protection*, 34(3): 46–48 (in Chinese) [尹哲, 原锴, 谷培云, 乔岩, 郭喜红, 李金萍. 2014. 京郊温室大棚黄瓜白粉病流行预测模型构建. *中国植保导刊*, 34(3): 46–48]
- Zhang Y, Xu KD, Chen PP, Duan SJ, Meng P, Qiao YE, Li CW. 2013. Molecular identification and analysis of cucurbit powdery mildew in Zhoukou District of Henan Province. *Journal of Huazhong Normal University (Natural Sciences)*, 47(6): 830–835 (in Chinese) [张怡, 徐克东, 陈佩佩, 段素娟, 孟婷, 乔月娥, 李成伟. 2013. 河南省周口地区瓜类白粉病的分子鉴定与分析. *华中师范大学学报(自然科学版)*, 47(6): 830–835]
- Zhang Y, Zhang PP, Ma XM, Fu LL, Qiao YE, Chen PP, Li CW. 2012. Identification and phylogenetic analysis of powdery mildew on *Triticum aestivum* in two cities in Henan. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 27(1): 189–192 (in Chinese) [张怡, 张佩佩, 马晓萌, 傅露露, 乔月娥, 陈佩佩, 李成伟. 2012. 河南两地市小麦白粉病菌的分子鉴定和进化分析. *华北农学报*, 27(1): 189–192]

(责任编辑:李美娟)