

黄瓜棒孢叶斑病原学和抗性基因研究进展

张自心¹, 谢学文², 傅俊范^{1*}, 李宝聚^{2*}

1.沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866;

2.中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081

摘要: 黄瓜棒孢叶斑病(cucumber target leaf spot)是危害我国黄瓜生产的新流行病害。经过长期科学研究,在病原学和抗性基因等方面取得了诸多突破性进展。对黄瓜棒孢叶斑病发生概况和发病特点、病原学及抗性基因的研究进展进行了综述,指出现阶段研究中存在的问题,并提出相应的解决方案和建议,对今后的研究方向进行了展望,以期为该病识别、防治和抗病育种研究提供参考。

关键词: 黄瓜棒孢叶斑病;多主棒孢;病原学;抗性基因

DOI:10.3969/j.issn.2095-2341.2016.03.03

Status on Pathogenic and Resistance Gene of Cucumber Target Leaf Spot

ZHANG Zi-xin¹, XIE Xue-wen², FU Jun-fan^{1*}, LI Bao-ju^{2*}

1.College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Liaoning 110866, China;

2.Institute of Vegetable and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: Cucumber target leaf spot is a new epidemic disease of cucumber in china. Experiencing long-term scientific research, many breakthroughs had been achieved in the fields of pathogen and resistance genes. The research progress on the occurrence, characteristics, pathogenic and resistance gene of cucumber target leaf spot were summarized in this paper. The problems in present studies were pointed out. Moreover, the corresponding suggestion and research direction for future were discussed, in order to provide reference for the identification, control and resistance breeding of cucumber target leaf spot.

Key words: cucumber target leaf spot; *Corynespora cassiicola*; pathogenic; resistance gene

黄瓜棒孢叶斑病(cucumber target leaf spot)又称褐斑病、靶斑病,是危害我国黄瓜(*Cucumis sativus* L.)生产的新兴叶部病害,在露地栽培和设施栽培均可发生,发病率高,甚至可达 100%,造成严重的经济损失^[1-3]。本文就黄瓜棒孢叶斑病发生概况、发病特点、病原学和黄瓜抗性基因的研究进行了综述,以期对黄瓜棒孢叶斑病的研究提供参考。

1 发生概况和发病特点

1.1 发生概况

黄瓜棒孢叶斑病是一种世界性叶部病害,在

美国、德国、巴拿马、韩国、新西兰、西印度等地均有发生和报道(<http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>)。自 2005 年以来,本课题组在我国华北、华中、华南、华东、西北、西南和东北等地的田间调查均发现有黄瓜棒孢叶斑病的发生,其中尤以东北、华北和华东等蔬菜种植地发生严重,田间叶片发病率为 10%~25%,严重时可达 70%,甚至 100%,年损失超过 2 亿元^[1-4],并且有逐年加重趋势。由于多主棒孢寄主范围广泛、病原菌极易变异产生抗药性^[5,6],且防治措施缺乏,最经济有效的手段便是扩大抗病品种的栽培种植。目前,欧美等地黄瓜棒孢叶斑病抗性品种主要有以下几种: Butcher's Disease Resister^[7]、Intimidator

收稿日期:2016-03-28; 接受日期:2016-04-21

基金项目:国家自然科学基金项目(31401888);大宗蔬菜产业技术体系项目(CARS-25)资助。

作者简介:张自心,硕士研究生,主要从事植物抗病基因定位研究。E-mail:973735442@qq.com。*通信作者:傅俊范,教授,博士生导师,主要从事植物真菌学研究。E-mail:Fujunfan@163.com;李宝聚,研究员,博士生导师,主要从事蔬菜病害综合防治研究。E-mail:libaoju@caas.cn

(XP3501217)、Moctezuma (PS102095)^[8]、Marketmore97^[9]、Hybrid 72502^[10]、Royal Sluis Wautoma 和 USDA 6623E^[11],而国内报道的抗病品种报道的主要有津春5号、中农5号、津优3号、津优38号和花青大吊瓜等^[12~14],但这些抗性品种鉴定所用菌株不同,适用的地理区域尚需进一步研究。

1.2 发病特点

黄瓜棒孢叶斑病在黄瓜整个生长期均能引起发病,主要危害黄瓜叶片,在黄瓜叶柄和茎上也可产生小的、长型病斑,造成茎基部腐烂等^[15,16]。多主棒孢菌具有喜温好湿的特点,高温高湿利于该病的流行和蔓延^[17],此外,枝叶过密、长时间闷棚、通风不良、叶面结露、光照不足等均可促使其发病。该病原菌以菌丝体、分生孢子丛或厚垣孢子随病残体在土壤中越冬,存活力较强^[18],主要以种子带菌方式进行远距离传播^[19~21]。越冬后的该病原菌于翌年春季产生分生孢子,通过气流和雨水飞溅传播,进行初侵染。初侵染后病斑所生成的分生孢子借风雨向周围蔓延,可进行再侵染,病原菌一个生长季可进行多次再侵染,使病害日益加重。该病最先发生在中部叶片,后逐渐向下扩展,再向上部叶片发展,幼龄叶片发病较轻,叶正、背面均可受害,严重时蔓延至叶柄、茎蔓^[22]。该病病斑呈灰黄褐色,中部颜色稍浅,略带苍白色,呈圆形、近圆形或不规则形。病斑大小差异很大,分为大型斑、小型斑和角状斑3种类型。湿度大时,病斑背面产生灰黑色霉层;干燥时,病斑在叶部可造成穿孔;发病严重时,病斑连片,叶片早枯^[1,17]。

2 病原学研究进展

2.1 多主棒孢菌的形态特征和遗传多样性研究

引起黄瓜棒孢叶斑病的病原菌为多主棒孢[Corynespora cassicola (Berk & M A Curtis) C T Wei],隶属于丝孢纲(Hyphomycetes),丝孢目(Hyphomycetales),暗色菌科(Dematiaceae),棒孢属(Corynespora),为无性型真菌。多主棒孢菌是棒孢属的模式菌种,最早由我国真菌分类学家魏景超定名^[23]。多主棒孢菌分生孢子典型形态特征为:半透明至深褐色的倒棍棒形或圆柱形,具有4~20个假隔膜,孢子大小为(40.0~220.0) $\mu\text{m} \times$ (9.0~22.0) μm ,基脐宽度为(4.0~8.0) μm ,分生

孢子梗顶端具有0~9个圆柱形层出梗,层出梗宽(110.0~850.0) $\mu\text{m} \times$ (4.0~11.0) μm ^[24]。

传统的形态学包括菌落颜色、结构及分生孢子大小、形状等,其差异不足以用于种内菌株的分化研究,目前应用的主要方法是通过对持家基因测序进行系统发育研究和利用分子标记技术对种内菌株的遗传多样性分析。有关多主棒孢菌的遗传类群划分研究主要集中在多主棒孢是否与其寄主、致病力和采集来源有关,各研究者对此持有不同观点。利用RFLP和RAPD标记将采自斯里兰卡和澳大利亚地区、多个寄主植物的多主棒孢菌划分为7个遗传类群,遗传类群与样本采集地、致病力、菌株的生长速率之间具有显著相关性^[25];Smith等^[26]利用高变异位点GA4分析了4个国家58个寄主属植物上的多主棒孢菌株,发现病原菌具有显著的遗传多样性,且遗传类群与致病力和寄主来源相关;通过ISSR分子标记技术将我国内地及海南地区87株黄瓜棒孢叶斑病菌划分为两个类群,其中类群A菌株来自海南,类群B菌株来自内地河北、山东和辽宁等地,此项研究表明多主棒孢的分类可能与地理来源相关^[4];也有研究者认为多主棒孢遗传类群与致病型、地理或寄主来源不存在相关性^[27~29]。杨苗^[3]利用持家基因(*EF-1 α* 基因和*Actin*基因)对我国蔬菜棒孢叶斑病病原菌进行了系统发育分析,将病原菌划分为5个遗传类群,种群划分与寄主来源和致病类型密切相关,但与地理来源无关。总的来讲,研究学者对多主棒孢的遗传类群分类结论并不统一,仍需进一步搜集不同寄主和地理来源的多主棒孢菌,扩大并选择具有代表性的研究样本进行系统的分类研究。

2.2 多主棒孢菌致病毒素的研究

由多主棒孢产生的毒素蛋白Cassiicolin,最早称为毒素,是一种低分子量蛋白质。它之前报道的许多寄主选择性毒素不同,并非由小分子物质通过聚合过程形成,而是由Pro-Cassiicolin形成蛋白,结构特殊,且与寄主专化型毒素和钛或蛋白质不同源。此外研究还表明Cassiicolin可能与其他毒素致病机理不同,寄主与病菌之间可能存在新的互作^[30]。最早发现产生毒素的多主棒孢菌分离自番茄,随后发现橡胶上分离的多主棒孢菌在合成培养基上也可产生毒素,病菌滤液或毒素

能感染番茄或橡胶叶片,并产生典型发病症状^[31,32]。研究发现,在发病症状出现前的1~2 d内,耐病和感病品种中均可检测到Cassiicolin的转录峰值,这表明Cassiicolin在病原菌感染初期可能起着关键作用。此外,利用毒素蛋白可对植物细胞内的感染位点进行早期检测,可避免真菌功能基因组影响接种材料,能够在植物抗性遗传检测中得到准确结果^[33,34]。然而某些未检测到毒素蛋白基因存在的多主棒孢菌竟然也可引起典型的发病症状,这其中可能存在某些尚未发现的病原菌与寄主间的互作效应。毒素蛋白基因与多主棒孢遗传背景方面有着密切的联系,在多主棒孢菌生物学和进化学的研究中起着重要的作用^[35]。

2.3 多主棒孢菌抗药性研究

多主棒孢菌极易随环境改变而发生变异,对多种化学药剂产生抗药性,导致黄瓜棒孢叶斑病的防治困难重重^[36]。我国尚未对黄瓜棒孢叶斑病的抗药性进行系统的研究,国际上,日本对多主棒孢抗药性研究最为深入^[6]。国内仅黄大野^[37]对采集自我国不同地区和寄主的165株多主棒孢菌进行了多菌灵的敏感性测定,发现黄瓜多主棒孢对多菌灵抗性极高,抗性频率高达100%。日本有报道称该病菌对苯并咪唑类、二羧酰亚胺类、N-苯氨基甲酸酯类、Qo I类杀菌剂具有抗药性。Hasama^[38]测定了419株黄瓜多主棒孢菌株对多菌灵和苯菌灵的敏感性,发现78.8%的菌株对多菌灵表现高抗性,并有多菌灵和苯菌灵双抗菌株出现。Miura等^[39]通过研究137株多主棒孢菌株对苯菌灵的抗药性,发现79%的菌株对苯菌灵具有抗药性。Miyamoto^[36,40]和Ushio^[41]对大量黄瓜多主棒孢菌株进行啶酰菌胺抗药性检测,发现大部分菌株对啶酰菌胺表现抗药性,部分甚至表现高抗。

不同的杀菌剂作用位点不同,产生的抗性机制也不同。黄瓜多主棒孢菌对嘧菌酯抗药性的产生是由于细胞色素b基因DNA序列上,编码第143位氨基酸的碱基发生点突变,并导致氨基酸的改变而使得细胞色素b结构发生变化,致使嘧菌酯与靶标的亲和力下降,产生抗药性^[42]。多主棒孢菌对啶酰菌胺的抗性机制较复杂,琥珀酸脱氢酶SdhB、SdhC和SdhD亚基编码的氨基酸点突变及其位置与抗性水平相关,由于SdhB亚基编

码278位氨基酸发生点突变,该位点核苷酸由CAC突变为TAC,导致组氨酸突变为酪氨酸而产生超高抗药性($EC_{50} > 30$ mg/L);多主棒孢菌对啶酰菌胺产生中抗(EC_{50} 值2.0~5.9 mg/L)是由于其SdhC亚基73位丝氨酸突变为脯氨酸、SdhD亚基89和109位甘氨酸突变为缬氨酸导致^[40]。国内也明确了多主棒孢菌对多菌灵抗性机制的产生是由于 β -微管蛋白198位的谷氨酸突变为丙氨酸,对多菌灵和乙霉威的双重抗性机制为:198位的谷氨酸突变为赖氨酸,或200位的苯丙氨酸突变为酪氨酸,从而导致药剂与靶标的结合作用降低而产生抗药性。田间可利用不同作用机制的杀菌剂,如啶酰菌胺、咯菌腈、咪鲜胺、腐霉利和啮菌环胺等无明显交互抗药性的药剂作为抗性菌株治理的候选药剂^[37]。

3 黄瓜对黄瓜棒孢叶斑病的抗性基因研究现状

3.1 抗性遗传规律的研究

有关黄瓜棒孢叶斑病抗性遗传分析报道较少,学者普遍认为黄瓜棒孢叶斑病的抗性是由质量性状基因控制。Abul-Hayja等^[43]以Royal Sluis 72502(抗)×South Carolina GY3(感)为杂交组合,研究指出Royal Sluis 72502对黄瓜棒孢叶斑病的抗性由1对显性单基因控制。但国内王惠哲等^[44]选用高抗亲本Q5和高感亲本P57-1配置组合的 F_1 、 F_2 及回交世代对黄瓜棒孢叶斑病抗病遗传规律进行了研究,结果表明黄瓜对该病的抗性是由1对隐性单基因控制的,感病相对抗病为不完全显性。杨双娟等^[45]利用由抗病亲本野生黄瓜变种PI183967(*C. sativus* var. *hardwickii*)、感病亲本新泰密次选系931,及其 F_1 、 F_2 、 BC_1P_1 和 BC_1P_2 进行抗性遗传分析,表明黄瓜野生变种PI183967对黄瓜棒孢叶斑病的抗性由单隐性核基因控制。Wen等^[46]以抗病黄瓜近交系D31和感病黄瓜系D5为亲本, F_1 表现感病,其 F_{23} 家系分离比符合期望分离比1:2:1,表明D31对棒孢叶斑病的抗性由隐性单基因控制。综上,国外学者认为黄瓜对黄瓜棒孢叶斑病的抗性由1对显性单基因控制;而国内学者则认为该抗性由1对隐性单基因控制。造成以上不同结果的原因可能是学者们选用抗病材料或病原菌生理小种不同。

3.2 抗性基因研究

迄今为止,有关黄瓜棒孢叶斑病抗性基因的研究并不多见,已报道的黄瓜棒孢叶斑病抗性基因有4个。黄瓜对棒孢叶斑病的抗性基因 *Cca* 首次报道于1978年^[43]。随着国内黄瓜棒孢叶斑病频繁爆发并造成严重损失,有关黄瓜对棒孢叶斑病的抗性基因研究也随之增多,已报道有3个隐性单基因:*cca*、*cca-2*和*cca-3*^[45~47]。有关3个基因的定位和连锁标记等研究也获得了突破性进展。Wang等^[44]找到了与*cca*紧密连锁的EST-SSR标记CAFR33,遗传距离为2.9 cM,标记正确率可达91.5%。杨双娟等^[45]将抗性基因*cca-2*定位于黄瓜第6染色体,位于标记SSR10954和SSR16890之间,两对侧翼标记正确率为85.7%。最新报道的黄瓜棒孢叶斑病抗性基因*cca-3*被精细定位于物理距离79 kb的Indel 16 874 230和Indel 16 953 846之间,基因注释该区段,筛选出CC-NB-ARC型抗病基因*Csa6M375730*为黄瓜棒孢叶斑病抗性基因的候选基因^[46]。以上研究均为黄瓜棒孢叶斑病抗性基因的克隆、利用及分子标记辅助选择育种奠定了基础。

4 展望

近年来,黄瓜棒孢叶斑病的发病范围不断扩大,危害程度不断加重,已成为当前黄瓜生产的严重威胁。明确多主棒孢病原学特性是提供棒孢叶斑病防治措施的重要前提。但目前棒孢叶斑病病原菌多主棒孢的研究基础薄弱,对于该病原菌的种内生理分化尚未得到科学的分析,仍需深入研究^[5]。随着分子生物学方法尤其是DNA分析技术和RAPD、RFLP、ISSR等分子标记方法逐步应用于多主棒孢的分类及鉴定,有关多主棒孢遗传类群划分及其与致病型、地理或寄主来源之间的相关性、生理分化、多主棒孢毒素蛋白Cassicolin及其控制基因、多主棒孢抗药性等研究日渐得到关注和研究。此外,有研究表明毒素蛋白基因与多主棒孢遗传背景密切相关,利用毒素蛋白基因对多主棒孢菌进化分类系统研究具有重大意义^[28,34]。目前有关多主棒孢菌的某些研究结论并不一致,仍需扩大研究群体的寄主来源和地理来源进行综合性研究,明确多主棒孢菌种群分类情况。

选育和使用抗病品种是病害防治最直接有效、经济安全的措施。但总的来看,我国目前栽培种中黄瓜棒孢叶斑病抗性品种极少,国内黄瓜棒孢叶斑病抗性种质资源尚未经过系统筛选,对黄瓜棒孢叶斑病抗性遗传规律的研究较少,国内所报道的遗传规律与国外存在分歧^[43~46]。高效、多样化的抗源是抗病育种的基础,而现有黄瓜抗棒孢叶斑病资源单一,有必要加强抗性材料筛选挖掘和抗性遗传规律的探讨,为我国培育抗病品种奠定了基础。此外,还应注重多抗基因的聚合,不断将新的、高效抗病基因通过杂交、回交等方法导入优良品系,从而缓解病原菌毒性群体频率的上升。目前,应充分利用已筛选出的抗、感黄瓜棒孢叶斑病材料,加强与黄瓜棒孢叶斑病相关的分子生物学研究,获得与抗性基因紧密连锁的标记,为分子标记辅助育种提供技术支持,从而提高抗病育种效率,加速育种进程。

参 考 文 献

- [1] 李宝聚,赵彦杰,于淑晶,等. 2008年秋季河北青县黄瓜棒孢叶斑病大发生[J]. 中国蔬菜, 2008, (11): 51-52.
- [2] 韩小爽,高 苇,傅俊范,等. 黄瓜棒孢叶斑病的诊断与防治[J]. 中国蔬菜, 2011, 9: 20-21.
- [3] 杨 苗. 我国蔬菜棒孢叶斑病原菌多样性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 硕士学位论文, 2013.
- [4] 高 苇. 我国黄瓜棒孢叶斑病的病原学及诊断技术的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 博士学位论文, 2011.
- [5] 李宝聚,高 苇,石延霞,等. 多主棒孢和棒孢叶斑病的研究进展[J]. 植物保护学报, 2012, 39(2): 171-176.
- [6] 于淑晶,王满意,田 芳,等. 黄瓜棒孢叶斑病的防治及抗药性研究进展[J]. 农药, 2014, 53(1): 7-11.
- [7] Green D E. Cercospora leaf spot on cucumbers[J]. Gardeners Chronicle, 1929, 86(2): 241-449.
- [8] Wehner T C. Vegetable cultivar descriptions for North America list 26[J]. HortSci., 2002, 37(1): 15-78.
- [9] Cavatorta J, Moriarty G, Henning M, et al.. 'Marketmore 97': A monoecious slicing cucumber inbred with multiple disease and insect resistances[J]. HortSci., 2007, 42 (3): 707-709.
- [10] Wehner T C. Gene list 2010 for cucumber[J]. Cucurbit Genet. Cooper. Rep., 2010, 28-29: 105-141.
- [11] Staub J E, Crubagha L K. Cucumber inbred line USDA 6632E [J]. Cucurbit Genet. Cooper. Rep., 2001, 24: 6-7.
- [12] 陆宁海,房振宏,高扬帆,等. 黄瓜褐斑病菌产毒培养条件的研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(11): 2444-2445.
- [13] 王惠哲,李淑菊,管 炜. 黄瓜褐斑病抗病性鉴定技术及品种抗病性鉴定[J]. 中国蔬菜, 2008, 10: 26-27.
- [14] 蓝国兵,何自福,罗方芳,等. 广东黄瓜棒孢叶斑病(褐斑病)的发生于品种抗病性鉴定[J]. 中国蔬菜, 2012, (12): 30-31.

- [15] Pernezny K, Simone G W. Target spot of several vegetable crops[R/OL]. University of Florida IFAS Extension, <http://edis.ifas.ufl.edu/vh052>, 1993.
- [16] 张自心, 李盼亮, 王莹莹, 等. 由多主棒孢引起的黄瓜茎腐病的诊断与防治[J]. 中国蔬菜, 2015, 1(10): 82-84.
- [17] 邹庆道, 傅俊范. 黄瓜褐斑病病原菌鉴定及生物学特性研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2002, 33(4): 258-261.
- [18] Pernezny K, Stoffella P, Collins J, et al.. Control of target spot of tomato with fungicides, systemic acquired resistance activators, and a biocontrol agent[J]. Plant Protect. Sci., 2003, 38(3): 81-88.
- [19] Komaraiah M, Reddy S M. Production of cellulases by *Corynespora cassiicola* a seed-borne fungus of methi trigonella-foenum-graecum[J]. Acta Bot. Ind., 1986, 14(1): 133-138.
- [20] Hasama W, Morita S, Kato T. Seed transmission of *Corynespora melonis*, causal fungus of target leaf spot, on cucumber[J]. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn., 1993, 59(2): 175-179.
- [21] 姚玉昆, 金刚, 陶景光, 等. 黄瓜褐斑病发生规律及寄主范围研究[J]. 辽宁农业科学, 2001, 5: 42-43.
- [22] 田雪亮, 刘鸣韬, 徐瑞富. 多主棒孢霉分生孢子萌发因素的研究[J]. 吉林农业科学, 2006, 31(5): 39-41.
- [23] Wei C T. Notes on *Corynespora*[J]. Mycol. Papers, 1950, 30(34): 1-10.
- [24] Ellis M B. Dematiaceae hyphomycetes[R]. CABI, 1971, 372-373.
- [25] Silva W P K, Multani D S, Deverall B J, et al.. RFLP and RAPD analysis in the identification and differentiation of isolates of the leaf spot fungus *Corynespora cassiicola*[J]. Aust. J. Bot., 1995, 43: 609-618.
- [26] Smith L J, Datnoff L E, Pernezny K. Phylogenetic and pathogenic characterization of *Corynespora cassiicola* isolates[J]. Acta Horticult., 2009, 808: 51-56.
- [27] Romruensukharom P, Tragoonrungs S, Vanavichit A, et al.. Genetic variability of *Corynespora cassiicola* populations in Thailand[J]. Malays. J. Rubber Res., 2005, 8(1): 3.
- [28] Dixon L J, Schlub R L, Pernezny K, et al.. Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*[J]. Phytopathology, 2009, 99: 1015-1027.
- [29] Qi Y X, Zhang X, Pu J J, et al.. Morphological and molecular analysis of genetic variability within isolates of *Corynespora cassiicola* from different hosts[J]. Eur. J. Plant Pathol., 2011, 130: 83-95.
- [30] Barthe P, Pujade R V, Breton F, et al.. Structural analysis of cassiicolin, a host-selective protein toxin from *Corynespora cassiicola*[J]. J. Mol. Biol., 2007, (367): 89-101.
- [31] Onesirosan P T, Arny D C, Durbin R D. Host specificity of nigerian and north American isolates of *Corynespora cassiicola*[J]. Phytopathology, 1974, 64: 1364-1367.
- [32] Breton F, Sanier C, d'Auzac J. Scopoletin production and degradation in relation to resistance of *Hevea brasiliensis* to *Corynespora cassiicola*[J]. J. Plant Physiol., 1997, 151: 595-602.
- [33] Lamotte F, Duviau M P, Sanier C, et al.. Purification and characterization of cassiicolin, the toxin produced by *Corynespora cassiicola*, causal agent of the leaf fall disease of rubber tree[J]. J. Chromatography, 2007, 849: 357-362.
- [34] Marine D, Yanice B, Stephanie G, et al.. Characterization of a cassiicolin-encoding gene from *Corynespora cassiicola*, pathogen of rubber tree (*Hevea brasiliensis*)[J]. Plant Sci., 2012: 227-237.
- [35] Marine D, Boris F, Stephanie G, et al.. Diversity of the cassiicolin gene in *Corynespora cassiicola* and relation with the pathogenicity in *Hevea brasiliensis*[J]. Fungal Biol., 2014, 118(1): 32-47.
- [36] Miyamoto T, Ishii H, Seko T, et al.. Occurrence of *Corynespora cassiicola* isolates resistant to boscalid on cucumber in ibaraki prefecture[J]. Jpn. Plant Pathol., 2009, 58: 1144-1151.
- [37] 黄大野. 基于微管蛋白靶标的几种蔬菜主要病原真菌耐药性与抗药性机理的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 博士学位论文, 2012.
- [38] Hasama W. Occurrence and characteristics of resistant strains of *Corynespora melonis* against benzimidazole compounds[J]. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn., 1991, 57: 312-318.
- [39] Miura Y, Kusunoki M, Sogou K. Occurrence of benomyl-resistant strains of cucumber anthracnose and *Corynespora* leaf spot fungi and control of the both diseases by diethofencarb[J]. Bull. Kagawa Agric. Exp. Station, 1994, 45: 59-62.
- [40] Miyamoto T, Ishii H, Stammler G, et al.. Distribution and molecular characterization of *Corynespora cassiicola* isolates resistant to boscalid[J]. Plant Pathol., 2010, 59(5): 873-881.
- [41] Ushio S, Takeuchi T. Sensitivity of the pathogen for *Corynespora* target leaf spot of cucumber in chiba prefecture to boscalid[J]. Ann. Res. Bull. Chiba Prefect. Agric. Forest. Res. Center, 2009, 1: 47-50.
- [42] Ishii H, Yano K, Date H, et al.. Molecular characterization and diagnosis of qoi resistance in cucumber and eggplant fungal pathogens[J]. Phytopathology, 2007, 97(11): 1458-1466.
- [43] Abul-Hayja Z, Williams P H, Peterson C E. Inheritance of resistance to anthracnose and target leaf spot in cucumbers[J]. Plant Dis. Rep., 1978, 62(1): 43-45.
- [44] 王惠哲, 李淑菊, 管炜. 黄瓜褐斑病抗源鉴定与抗性遗传分析[J]. 中国瓜菜, 2010, 1: 24-25.
- [45] 杨双娟. 黄瓜棒孢叶斑病抗性基因 *cca-2* 的遗传分析与定位[D]. 北京: 中国农业科学院, 硕士学位论文, 2012.
- [46] Wen C, Mao A, Dong C, et al.. Fine genetic mapping of target leaf spot resistance gene *cca-3* in cucumber, *Cucumis sativus* L. [J]. Theor. Appl. Genet., 2015, 128(12): 2495-2506.
- [47] Wang H, Li S, Yang R, et al.. EST-SSR marker linked to cucumber target leaf spot resistance-related gene[J]. Acta Horticult., 2010, 871: 49-56.