

银海枣褐斑病的病原鉴定与化学防治

孙 思, 王 军

(华南农业大学林学院, 广东 广州 510642)

摘要: 对广东省新近发现的一种银海枣叶部病害进行了病原鉴定, 该病病原为链格孢 *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 以生长速率法和孢子萌发法对该病害进行化学防治试验的结果表明: 在参试的 11 种杀菌剂中, 叶斑净和世高的防治效果最好, 对病斑扩展的抑制率分别达 52.82% 和 33.62%.

关键词: 银海枣; 链格孢; 褐斑病

中图分类号: S763.15 文献标识码: A 文章编号: 1001-411X(2006)03-0058-03

Pathogen Identification and Chemical Control of Brown

Leaf Spot of *Phoenix sylveseris*

SUN Si, WANG Jun

(College of Forestry, South China Agile. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: A new disease on the frond of *Phoenix sylveseris* was found in Guangdong Province. The pathogen was identified as *Alternaria alternata*. By measuring the growth rates of colonies treated with various fungicides and the spore germination inhibition rates, Yebanjing and Score showed the best control effect. Their inhibition rates on lesion expansion were 52.82% and 33.62% respectively.

Key words: *Phoenix sylveseris*; *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl; brown leaf spot

银海枣 *Phoenix sylvestris* 是一种重要的观赏性棕榈科植物, 目前国内对其病害的报道只有银海枣小球腔菌 *Leptosphaeria phoenix* P. G. Xi, Y. X. Chen et Z. D. Jiang, sp. nov. 叶斑病, 其病原是一新种^[1]. 近年在广东省许多地区的银海枣上发现了一种与小球腔菌叶斑病症状明显不同的新病害, 病原不明. 该病严重影响植株生长与观赏性. 本研究对该病害进行了病原鉴定和化学防治试验.

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试植物与病原菌材料 供试银海枣及其他 16 种棕榈科植物均采自广州. 病原菌从感病的银海枣叶片上分离得到.

1.1.2 供试药剂 供试杀菌剂共 11 种: 阿米西达 ($w = 25\%$ 乳液, 先正达中国投资有限公司)、多菌灵

($w = 25\%$ 可湿性粉剂, 上海升联化工有限公司)、百菌清 ($w = 75\%$ 可湿性粉剂, 深圳瑞德丰农药有限公司)、代森锰锌 ($w = 50\%$ 可湿性粉剂, 江苏利民化工有限公司)、甲基硫菌灵 ($w = 50\%$ 可湿性粉剂, 杭州东风农药厂)、锰锌乙铝 ($w = 50\%$ 可湿性粉剂, 江苏利民化工有限公司)、健绿宝 ($w = 40\%$ 可湿性粉剂, 江苏利民化工有限公司)、世高 ($w = 10\%$ 可湿性粉剂, 诺化农化中国有限公司)、扑菌清 ($w = 70\%$ 可湿性粉剂, 香港恒田化工科技集团)、普菌克 ($w = 70\%$ 可湿性粉剂, 深圳瑞德丰农药有限公司)、叶斑净 ($w = 28\%$ 可湿性粉剂, 广东农科院植保所).

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌的分离培养 按常规病原真菌分离方法从银海枣叶部发病组织进行分离. 单孢子挑取^[2]纯化, 移植到马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA) 中培养.

收稿日期: 2005-06-27

作者简介: 孙 思 (1980-), 男, 助教, 硕士; 通讯作者: 王军 (1962-), 男, 教授, 博士, E-mail: wangjun@scau.edu.cn

基金项目: 广州市林业局“广州芳村花木病(虫)害调查及重要病害控制技术研究”项目资助

1.2.2 致病性测定 取健康叶片针刺接种,同一叶片上的不同位置做无伤接种,保湿(RH=80%,下同)培养,重复3次。5 d后分离、鉴定。

1.2.3 病原菌的显微观察 挑取菌体做玻片培养,3 d后观察培养性状、形态特征,并进行显微测量。

1.2.4 病原菌对部分棕榈科植物的致病性测定 采集16种供试棕榈科植物健康叶片,分别按1.2.2致病性测定方法确定是否为寄主。

1.2.5 杀菌剂毒力测定 采用生长速率法^[3-4],各杀菌剂的初筛质量浓度为50、100和200 μg/mL。根据结果确定再次试验所用杀菌剂种类和浓度。用新复极差检验法对试验的结果进行统计分析。同时测定各杀菌剂对孢子萌发的抑制效果。

1.2.6 离体叶片防治试验 根据杀菌剂毒力测定结果选择参试药剂。试验方法^[5-6]:取健康叶片针刺接种,保湿培养48 h后用灭菌水洗净叶片表面菌丝。在伤口处喷洒200 μg/mL的药剂0.5 mL,每隔5 d喷1次,共喷3次。每种处理10个重复。灭菌蒸馏水为对照。25 d后用网格坐标纸测量每个病斑面积,求出各自的平均数,按以下公式计算防治效果:

防治效果=(对照叶斑面积-处理叶斑面积)/对照叶斑面积×100%。

2 结果与分析

2.1 病原菌鉴定

2.1.1 症状 病斑主要发生在叶部羽片和叶轴的交界处,先是在羽片上产生褐色或红褐色小斑点,然后病斑逐渐向叶轴扩展,呈椭圆形,或不规则的长椭圆形,黑褐色至黑色,边缘由内向外具桔红、黄绿、浅黄色三色相间的晕圈。直径2~5 cm,最大可达10 cm;在发生严重的部位病斑常连接成片,叶轴褪绿变黄,羽片干枯。

2.1.2 致病性 无伤接种不发病,刺伤接种发病,并产生与上述同样的症状。从病斑中重新分离获得的病原菌,与接种病原菌的菌落形态和菌体特征完全一致。

2.1.3 病原菌形态特征及种名 在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上,菌落圆形,边缘平滑;菌丝稠密发达;菌落从中心到边缘颜色依次为墨绿、深绿、浅绿、灰白、白色,长满整个培养皿以后全都变成深绿或墨绿色。从培养皿背面可见同心轮纹。菌落在常规条件下培养即可大量产孢。分生孢子梗(30~100) μm×(3~6) μm,直立,单枝或分枝,分枝多呈直角,有的分枝顶端可见扩大的1~3个孢子痕;部分分生孢子梗有2~3个分隔。分生孢子(16~30) μm×(9~

18) μm,单生或串生,串生的最长可达7个,倒梨形,近椭圆形,具短至稍长的喙[(3~6) μm×4 μm],暗褐色,具1~6个横隔,0~1纵隔,分隔处缢缩明显。根据上述形态结构,参考文献[7-8],病原菌鉴定为链格孢 *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.

2.2 病原菌对部分棕榈科植物的致病性

无伤接种所有植物均不发病。刺伤接种,发病植物有:加拿利海枣 *Phoenix canariensis*、美丽针葵 *Phoenix roebelenii* 和三药槟榔 *Areca triandra*。其中:美丽针葵和加拿利海枣属刺葵属,与银海枣亲缘关系较近;三药槟榔属槟榔属,与银海枣亲缘关系较远。发病严重程度以接种3 d后病斑直径来表示:银海枣和加拿利海枣的病斑直径可达0.8 cm以上;美丽针葵和三药槟榔的病斑直径不超过0.5 cm。未发病的植物有大王椰子 *Roystonea regia*、散尾葵 *Dypsis lutescens*、竹节椰子 *Chamaedorea seifrizii*、短穗鱼尾葵 *Caryota mitis*、蒲葵 *Livistonea chinensis*、桃榔 *Arenga pinnata*、香棕 *Arenga engleri*、董棕 *Caryota urens*、棕竹 *Rhapis excelsa*、老人葵 *Washingtonia filifera*、棕榈 *Trachycarpus fortunei*、假槟榔 *Archontophoenix alexandrae* 和国王椰子 *Ravenea rivularis*。

2.3 化学防治试验

2.3.1 杀菌剂的毒力测定 表1为杀菌剂初筛结果。选取抑菌效果较强的健绿宝、世高、扑菌清、普菌克和叶斑净进行再次筛选试验,并将参试质量浓度调整为0.04、0.20、1.00和5.00 μg/mL,结果见表2。从表2可见,叶斑净和世高各浓度皆有极显著的抑菌效果;普菌克和健绿宝只在5.00 μg/mL和1.00 μg/mL时有极显著抑菌效果;扑菌清只在5.00 μg/mL时有极显著抑菌效果。经几率值分析法^[4,9]计算得出,叶斑净的毒力方程为 $Y=3.856+$

表1 11种杀菌剂对链格孢菌落生长的抑菌率

Tab. 1 Inhibition rates of 11 fungicides on the colony growth of *Alternaria alternata* %

杀菌剂 fungicides	50 μg/mL	100 μg/mL	200 μg/mL
阿米西达 Amistar	38.0	35.5	39.0
多菌灵 DuoJunling	22.0	22.5	30.0
百菌清 BaiJunqing	8.1	2.7	12.2
代森锰锌 Daisenmengxin	26.2	41.8	47.5
甲基硫菌灵 Jiajiliujunling	12.7	19.1	27.9
锰锌乙铝 Mengxinyiliu	42.0	45.0	53.5
健绿宝 Jianlubaobao	100.0	100.0	100.0
世高 Score	100.0	100.0	100.0
扑菌清 Pujunqing	100.0	100.0	100.0
普菌克 Pujunke	100.0	100.0	100.0
叶斑净 Yebanjing	100.0	100.0	100.0

表2 链格孢菌落在含毒PDA上的平均直径¹⁾Tab. 2 Average diameter of colony of *Alternaria alternata* on PDA mixed with fungicides

ρ (杀菌剂 fungicides)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	叶斑净 Yebanjing	世高 Score	普菌克 Pujunke	健绿宝 Jianlǔbao	扑菌清 Pujunqing
0.04	35.30 ± 1.44d	33.30 ± 1.97d	40.30 ± 2.25ab	40.60 ± 1.67ab	42.80 ± 0.95b
0.20	28.80 ± 1.32c	26.80 ± 0.87c	40.00 ± 1.46ab	43.50 ± 2.35b	41.50 ± 0.92ab
1.00	19.00 ± 1.19b	22.30 ± 1.23b	37.00 ± 1.18a	39.50 ± 1.83a	42.30 ± 1.71b
5.00	10.30 ± 0.64a	10.50 ± 0.65a	36.50 ± 1.23a	39.80 ± 1.36a	37.80 ± 0.96a
对照 control	43.50 ± 1.03e	43.50 ± 1.03e	43.50 ± 1.03b	43.50 ± 1.03b	43.50 ± 1.03b

1) 同列数据后有不同字母者表示在 0.01 水平上差异显著 (DMRT 法)

0.77X, EC_{50} 为 0.612 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 世高的毒力方程为 $Y = 4.42 + 0.647X$, EC_{50} 为 0.605 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 杀菌剂对孢子萌发的抑制作用见表 3. 其结果与对菌落生长的抑制基本一致, 即叶斑净和世高的效果最好.

表3 链格孢分生孢子在 5 种药液中的萌发率

Tab. 3 Germination rates of *Alternaria alternata*'s spores in five fungicide suspensions

ρ (杀菌剂 fungicides)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	叶斑净 Yebanjing	世高 Score	普菌克 Pujunke	健绿宝 Jianlǔbao	扑菌清 Pujunqing
0.04	6.93	4.90	19.39	77.36	25.00
0.20	0.00	2.00	7.84	78.00	16.50
1.00	1.02	0.00	0.00	72.73	10.89
5.00	0.00	0.00	0.00	22.33	0.00
对照 control	96.17	95.51	95.91	97.10	96.59

2.3.2 离体叶片上的防治效果 以病斑面积计, 叶斑净处理的叶片与对照有极显著差异 ($\alpha = 0.01$), 防治效果达 52.82%, 世高的防治效果为 33.62%, 经统计达到显著水平 ($\alpha = 0.05$).

3 讨论与结论

经鉴定, 银海枣褐斑病的病原为链格孢 *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 在国外, 已报道的侵染银海枣的病原有芽枝霉 *Cladosporium* sp.、镰刀菌 *Fusarium* sp.、茎点菌 *Phoma* sp. 和链格孢等^[10-11]. 链格孢侵染银海枣所致病害在国外被称为“brown leaf spot”, 主要发生在中东地区, 但未见详细研究. 本文参考国外命名, 将该病害称为褐斑病. 该病寄主银海枣属于引种植物, 但其病原链格孢则是一种在自然界, 特别是土壤中较为常见的弱寄生病原真菌, 因此该病是随引种的银海枣传入我国, 还是银海枣在本地栽种时受到侵染, 有待进一步研究证实. 试验结果同时表明, 与银海枣近缘的加拿利海枣和美丽针葵也会感染该病, 鉴于此 2 种植物在华南地区比银海枣种植更为广泛, 因此该病有传播扩散到其他棕榈科刺葵属植物的可能.

试验结果揭示链格孢生长喜温暖潮湿, 这与广

州及华南地区一年内大部分时间的气候条件相一致, 因此, 只要有合适的寄主与伤口存在, 该病容易发生.

防治试验证实叶斑净和世高的抑菌效果最好. 鉴于该病原菌只能从植物的伤口侵入, 在离体叶片防治试验中, 先接种使植物发病后再喷洒药剂, 实际上检验的是杀菌剂对病害的治疗效果. 在生产实际中, 可以考虑使用叶斑净和世高对该病害进行防治.

参考文献:

- [1] 习平根, 李敏慧, 陈一新, 等. 棕榈科观赏植物真菌病害鉴定[J]. 华南农业大学学报, 2003, 24(2): 34-37.
- [2] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 138-139.
- [3] 蒋家珍, 吴学民, 赵美琦, 等. 13 种杀菌剂对草坪新月弯孢菌的毒力测定及应用分析[J]. 华南农业大学学报, 2004, 25(4): 20-22.
- [4] 黄彰欣. 植物化学保护实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993: 52-59.
- [5] SOLEL Z, OREN Y, MIRIAM K. Control of *Alternaria* brown spot of *Minneola tangelo* with fungicides[J]. Crop Protection, 1997, 16(7): 659-664.
- [6] 康黎芳, 王云山, 曹冬梅, 等. 仙客来叶斑病病原菌分离及防治试验[J]. 山西农业科学, 2001, 29(2): 65-67.
- [7] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1979: 565-566.
- [8] 陆家云. 植物病害诊断[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 162-163.
- [9] 彭希文, 刘光珍, 杨永柱, 等. 云南省烟草赤星病(Tobacco brown spot)病原研究及其防治药剂的筛选[J]. 西南农业大学学报, 2000, 22(2): 153-156.
- [10] ABDULSALAM K S, NAGEEB M A, REZK M A, et al. Survey of certain fungi associated with wijamed date palm trees in Al-Hassa oasis of Saudi Arabia[J]. Annals of Agricultural Science Cairo, 1992, 37(2): 603-611.
- [11] KHATRI N K. Identification of diseases of datepalm in quarantine[J]. Journal of Mycology and Plant Pathology, 1997, 27(2): 217-218.

【责任编辑 李晓卉】