

吉祥草炭疽病菌生物学特性研究

傅本重^{1,2}, 赵文丽², 史红安², 周 勇¹, 王立华¹, 李国元¹

(1. 特色果蔬质量安全控制湖北省重点实验室 生物质资源转化利用湖北省协同创新中心, 湖北工程学院 生命科学技术学院, 湖北 孝感 432000; 2. 西南林业大学 林学院, 云南 昆明 650224)

摘 要:以吉祥草炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 为对象, 研究了其生物学特性和最佳防治药剂。结果表明: PDA 为较适培养基, 病原菌生长适温为 28℃, 致死温度为 50℃; 在 pH 为 4.0~10.0 的范围内均能生长, 最适 pH 为 6.0; 光照条件以 24 h/0h(光/暗)为佳。在供试 3 种药剂中, 10% 腈菌唑对病原菌抑菌效果最好, 在推荐使用浓度 0.3 mg/L 下, 相对抑菌率达到 91.4%; 而 45% 的石硫合剂抑菌效果最差, 在推荐使用浓度 6.67 mg/L 下, 其抑菌率仅为 8.0%。

关键词:吉祥草; 炭疽病; 生物学特性; 药剂筛选

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)15-0116-04

吉祥草(*Reineckea carnea*)属百合科吉祥草属多年生常绿草本植物^[1], 又名观音草, 原产我国长江流域以南及西南地区, 性喜温暖、湿润, 较耐寒耐阴, 适应性强^[2], 是一种广泛种植的园林绿化植物, 此外还有润肺止咳、活血止痛、镇咳平喘等功效^[3]。

吉祥草炭疽病是其主要病害之一^[2]。2010、2011 年, 课题组在四川成都西南交通大学九里堤校区发现吉祥草叶炭疽病(*Colletotrichum gloeosporioides*)发生率严重。现对该病原菌的生物学特性进行研究, 并对病原菌防治药剂作了室内平板筛选, 以期揭示吉祥草炭疽病的发生规律和病害的综合防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

吉祥草炭疽病菌(*C. gloeosporioides*)分离于四川成都西南交通大学校园吉祥草病叶, 菌种保藏于西南林业大学林学院森保教研室, 菌株编号 JA1。供试培养基^[4]: (1)马铃薯葡萄糖培养基(Potato Dextrose Agar, PDA): 马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂粉 15 g, 水 1 000 mL。(2)燕麦培养基(OA): 燕麦片 30 g, 琼脂粉 20 g, 加水至 1 000 mL。(3)清水琼脂(Water Agar, WA): 琼脂粉 15 g, 水 1 000 mL。(4)查氏培养基(Czapek Agar,

CA): 蔗糖 30 g, 硝酸钠 3 g, 氯化钾 0.5 g, 硫酸铁 0.01 g, 硫酸镁 0.5 g, 磷酸二氢钾 1 g, 琼脂 15 g, 水 1 000 mL。(5)玉米粉培养基(Corn Meal Medium, CMM): 玉米粉 40 g, 蔗糖 10 g, 琼脂 15 g, 水 1 000 mL。

药剂筛选试验用 3 种生产上常用农药(表 1)。

1.2 试验方法

1.2.1 生物学特性研究 不同培养基: 在无菌条件下, 将 PDA 培养基上培养 5 d 的病菌菌落打成($\Phi=5$ mm)菌饼, 分别接种在上述 5 种不同培养基平板中央。在 28℃ 恒温培养箱中培养 5 d, 观察菌落形态并用交叉法测量菌落半径, 计算其生长速率^[5]。每个处理 3 次重复, 试验重复做 3 次(下同)。不同碳源和氮源: 以查氏培养基为基础, 以不加碳为对照, 用含有相同质量碳元素的葡萄糖、麦芽糖、甘露醇和可溶性淀粉代替蔗糖^[5], 用含有相同质量的氮元素的硝酸铵和硝酸钙代替硝酸钠。不同 pH 值: 设 pH 为 3、4、5、6、7、8、9 共 8 个梯度^[6]。温度对病原菌生长的影响及致死温度测定: 将接种好的平板分别置于 5、13、21、28、37℃ 共 5 个不同温度的恒温培养箱中培养^[7]。移取直径为 5 mm 的菌饼到无菌试管中, 加入 2 mL 灭菌水, 置于 40、45、50、55、60、65℃ 下水浴 10 min, 取出后冷却至室温。在无菌条件下, 将处理后的菌饼接种到 PDA 平板培养基上, 5 d 后观察其生长情况^[6]。光照和通气状况: 分别设置(光/暗): 0/24 h、8 h/16 h、12 h/12 h、16 h/8 h 和 24 h/0 h 5 个不同的光照条件^[8]。通气处理采用培养皿用 Parafilm 封口和不封口 2 种方法进行^[8]。

1.2.2 室内药剂筛选 采用平皿生长速率法测定药剂对病原菌的抑制效果。将供试药剂与熔化后的 PDA 平

第一作者简介:傅本重(1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为园艺植物病理学。E-mail: benzongf@yahoo.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31200488); 云南省应用基础研究计划资助项目(2011FB066); 特色果蔬质量安全控制湖北省重点实验室开放基金资助项目(2014K02)。

收稿日期:2014-03-21

表 1

供试药剂及试验浓度

农药名称	剂型	厂家	稀释浓度倍数/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			
45%石硫合剂	结晶粉	四川省遂宁市川宁农药有限公司	5 000(1.33)	2 000(3.34)	1 500(4.45)	1 000(6.67)
80%代森锰锌	可湿性粉剂	山东鑫星农药有限公司	5 000(0.20)	2 000(0.50)	1 500(0.67)	1 000(1.00)
10%腈菌唑	乳油	浙江一帆化工有限公司	5 000(0.06)	2 000(0.15)	1 500(0.20)	1 000(0.30)

板培养基均匀混合,然后倒入半径 9 cm 的培养皿中,配成一定浓度的含药平板,以不添加药液的 PDA 平板为空白对照,每个浓度重复 5 皿。接种观察和分析同 1.2.1。计算相对抑菌率^[5]。菌落净半径=菌落半径-菌饼半径(5 mm);相对抑菌率(%)=(对照平板菌落净半径-处理平板菌落净半径)/对照平板菌落净半径 $\times 100\%$ 。

1.3 数据分析

试验数据采用 Excel 2010 进行处理和差异显著性分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 病原菌在不同培养基上的生长情况

由表 2 可以看出,在 5 种不同培养基中,病原菌在 PDA 培养基上菌落半径最大,生长速率最快,菌丝也最浓密,易于产孢(图 1);其次是玉米粉和查氏培养基,二者之间没有明显差异。除清水培养基外,其它 4 种培养基上的菌丝生长速率无明显差异。

表 2 病原菌在 5 种培养基上的生长情况

培养基	菌落半径/mm	生长速率/ $\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$
马铃薯葡萄糖琼脂 PDA	32.8 \pm 4.2	6.6
查氏 CA	26.2 \pm 5.0	5.2
玉米粉 CMM	26.5 \pm 2.3	5.3
燕麦琼脂 OA	22.9 \pm 8.2	4.6
水 WA	8.8 \pm 1.3	1.8

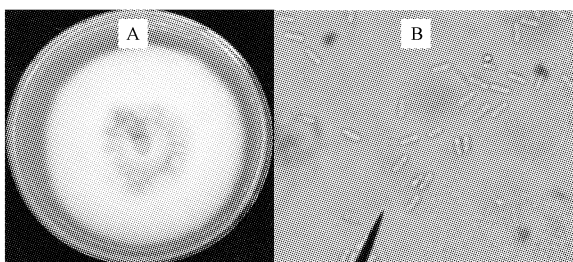


图 1 吉祥草炭疽病菌落(A)和分生孢子(B)

2.2 不同碳源和氮源对病原菌菌丝生长的影响

由表 3 可知,在供试的几种碳源中,病原菌在以甘露醇为碳源的条件下生长最快,其次是麦芽糖、淀粉和葡萄糖,无碳条件下生长较慢,但是在几种碳源之间无显著差异。不同氮源对病原菌的生长也无显著影响,在以硝酸钠、硝酸钙和硝酸钙为氮源的培养条件下,病原菌的菌落半径无明显差异。

表 3 不同碳氮源下的菌落半径及生长速率比较

碳源	菌落半径/mm	生长速率/ $\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$	氮源	菌落半径/mm	生长速率/ $\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$
葡萄糖	32.6 \pm 0.7	6.5	硝酸钠	28.3 \pm 0.76	5.6
麦芽糖	33.5 \pm 1.0	6.7	硝酸铵	27.0 \pm 3.6	5.4
淀粉	33.0 \pm 1.2	6.6	硝酸钙	27.5 \pm 2.4	5.5
无碳	32.1 \pm 1.0	6.4			
甘露醇	36.1 \pm 1.1	7.2			

2.3 pH 值对病原菌菌丝生长的影响

由图 2 可以看出,在 pH 为 3~9 的范围内病原菌菌丝均有一定程度的生长,其中在 pH 6.0 的条件下生长最快,生长速率达到 6.4 mm/d, pH 为 5.0 和 7.0 时次之,生长速率分别为 6.3 mm/d 和 6.2 mm/d。三者之间无明显差异。pH 为 3 时菌丝生长最慢,生长速率仅为 2.6 mm/d。因此,病原菌的适宜 pH 为 5.0~7.0。

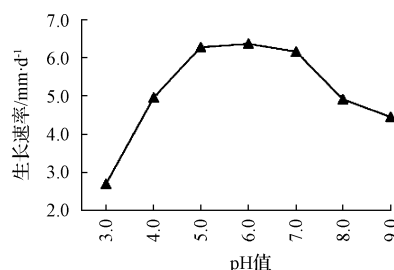


图 2 不同 pH 值对病原菌菌丝生长的影响

2.4 温度对病原菌菌丝生长的影响

由图 3 可知,病原菌在低于 5℃和高于 37℃的条件下几乎停止生长,菌丝最稀疏。在低于 15℃和高于 30℃的条件下生长很慢,21℃时生长较快,28℃时生长最快。该结果与周慧杰等^[9]结果一致。在 28℃的条件下菌丝最浓密。在不同温度条件下,病原菌生长差异显著。在 45℃下菌丝还能生长,但生长缓慢,50℃菌丝直接死亡,停止生长。由此得出,炭疽病病原菌的致死温度为 50℃。

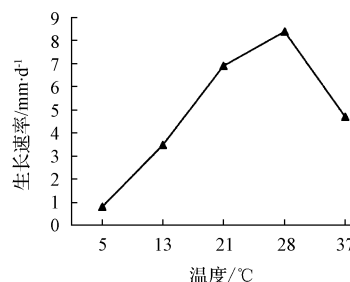


图 3 不同温度对病原菌菌丝生长的影响

2.4 光照及通气条件对菌丝生长影响

在不同的光照条件下,病原菌均能生长。病原菌菌丝在 24 h/0 h(光/暗)的条件下生长最快,生长速率为 6.6 mm/d。其次是 16 h/8 h(光/暗),生长速率为 5.0 mm/d。在 8 h/16 h(光/暗)的条件下生长最慢,生长速率为 4.3 mm/d。一定程度的光照有利于菌丝的生长。在不同通气状况下,病原菌均能快速生长,通气状况对病原菌菌丝生长速率影响不是很大,在不封口和封口条件下菌丝生长速率分别为 5.9 mm/d 和 5.6 mm/d。

2.5 3 种农药对病原菌的抑制率比较

以不加药剂的 PDA 为对照,采用 10%腈菌唑、80%代森锰锌、45%石硫合剂 3 种常见农药对病原菌进行室内药剂筛选,结果表明,3 种杀菌剂对病原菌菌丝的生长均有一定的抑制作用(图 4)。其中,10%的腈菌唑对病原菌的抑制效果最好,在推荐使用浓度 0.3 mg/L,相对抑菌率达 91.4%,生长速率仅为 1.1 mm/d,菌落平均半径为 5.6 mm,继续稀释 5 倍后相对抑菌率降低至 73.8%。其次是 80%代森锰锌,在推荐使用浓度下,相对抑菌率为 79.1%,生长速率仅为 2.7 mm/d,菌落平均半径为 13.6 mm,但继续稀释 5 倍后相对抑菌率降低至 28%。45%的石硫合剂对病原菌的抑制效果最差,在推荐使用浓度 6.67 mg/L 下,相对抑菌率仅为 8.0%,再继续稀释后几乎不再有抑菌作用。

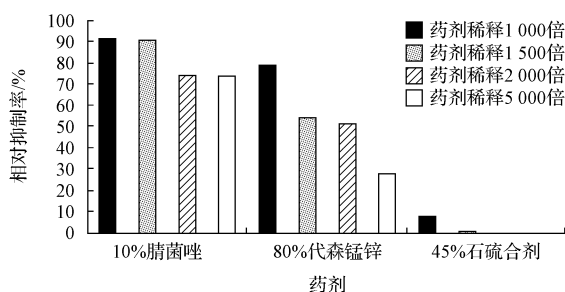


图 4 不同农药浓度对病原菌的相对抑菌率比较

3 讨论

有关吉祥草病害病原菌生物学特性的研究报道较少。炭疽菌是一种广泛引起各种园艺植物病害的重要

病原菌。它可以引起苹果炭疽病^[9]、墨兰炭疽病^[10]和冬枣炭疽病^[11]等。对其生物学特性进行研究,炭疽病菌生长最适宜的温度为 21~28℃,低于 20℃或高于 30℃时不能正常生长,50℃菌丝死亡。该研究表明该菌最适 pH 为 5.0~7.0,与周慧杰等^[9]对苹果炭疽病菌的生物学特性研究,原菌菌丝生长的最适 pH 为 4.0,该菌较耐酸有一定的相似。

在药剂筛选试验中,10%的腈菌唑对病原菌的抑制效果最好,在推荐使用浓度 0.3 mg/L,相对抑菌率达 91.4%,继续稀释 5 倍后相对抑菌率降低至 73.8%;45%的石硫合剂对病原菌的抑制效果最差,在推荐使用浓度 6.67 mg/L 下,相对抑菌率仅为 8.0%,再继续稀释后几乎不再有抑菌作用。

该试验仅选用了 3 种杀菌剂,且未能进行盆栽和田间药剂试验。因此,试验所得的结果具有一定的局限性。

(该文作者还有邹礼平,单位同第四作者)。

参考文献

- [1] 周汉华,陈新华,李飞,等.吉祥草的中药鉴定学研究[J].贵阳中医学报,2006,28(1):33.
- [2] 巫小宏,陈道军,宁培洋,等.吉祥草病虫害及防治技术[J].中国现代药物应用,2009(17):203-204.
- [3] 湖南少数民族办公室.湘西苗药汇编[M].长沙:岳麓书社,1990:455.
- [4] 方中达.植物研究方法[M].3版.北京:中国农业出版社,1998:122-125.
- [5] 傅本重,杨敏,李国元,等.滇楸叶斑病病原菌的生物学特性及室内药剂筛选[J].华中农业大学学报(自然科学版),2013,32(6):65-69.
- [6] 江明,黄俊斌,郑莉,等.杂交狗牙根叶枯病病原鉴定及其生物学特性研究[J].植物保护学报,2005,32(3):276-278.
- [7] 王志坤,谭万忠,张克诚,等.茶树云纹叶枯病病原鉴定及其生物学特性研究[J].河南农业科学学报,2008(4):67-69.
- [8] 罗臻,张敬泽,胡东维,等.大麦叶枯病菌的生物学特性[J].植物保护学报,2008,35(5):469-470.
- [9] 周慧杰,郭玲.苹果炭疽病菌生物学特性研究[J].北方园艺,2012(22):133-135.
- [10] 高洋,刘爱媛,冯淑杰,等.墨兰炭疽病菌生物学特性研究[J].北方园艺,2010(24):170-171.
- [11] 常慧红,张路生,巴秀成.冬枣炭疽病病原鉴定[J].北方园艺,2011(15):191-192.

Biological Characterization of the Pathogen Causing *Reineckea carnea* Leaf Spot Disease

FU Ben-zhong^{1,2}, ZHAO Wen-li², SHI Hong-an², ZHOU Yong¹, WANG Li-hua¹, LI Guo-yuan¹, ZOU Li-ping¹

(1. Key Laboratory for Quality Control of Characteristic Fruits and Vegetables of Hubei Province, Hubei Collaborative Innovation Center for Biomass Resource Transformation and Utilization, College of Life Science and Technology, Hubei Engineering University, Xiaogan, Hubei 432000; 2. College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224)

不同品种草莓果实中吡虫啉残留动态研究

陈建美, 陈振德, 孙永红, 王文娇, 赵征宇, 柳伟英

(青岛农业科学研究院, 山东 青岛 266100)

摘要:为探讨草莓果实中吡虫啉残留的品种间差异,研究了8个品种草莓果实中吡虫啉的残留动态。结果表明:吡虫啉在不同品种草莓上的降解半衰期在2.1~4.4 d之间;随着时间的延长,吡虫啉在草莓果实中的残留量逐渐降低;其中“槐花蜜”、“卡姆罗莎”、“幸香”和“明宝”4个品种的半衰期均在2 d左右,“弗吉尼亚”的半衰期最长,为4.41 d;该试验中有6个草莓品种的吡虫啉半衰期均在4 d以内,属于低农药残留的基因型,值得在生产上推广应用,有利于提高草莓的食用安全水平。

关键词:农药残留;吡虫啉;草莓品种;降解动态

中图分类号:668.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)15-0119-03

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)属蔷薇科草莓属多年生草本植物。据不完全统计,目前全世界约有草莓品种逾2 000个^[1]。其果实柔软多汁、酸甜适口、营养丰富、香气浓郁,在国内外市场备受青睐,被誉为“水果小皇后”。20世纪80年代以来,随着我国科技进步和农村经济体制的改革,草莓科研、生产发展非常迅速,相继从欧美和日本引进了一大批优良品种,栽培面积逐年扩大。因此,草莓以其周期短、见效快、经济效益高、适于保护地栽培等特殊优势已成为我国果树业中发展最快的一项新兴产业,在一些地区已成为当地农村经济的支柱产业^[2]。目前我国草莓的栽培面积已达8.6万hm²,总产量达130万t,均居世界首位^[3]。

蚜虫是危害草莓的主要虫害之一,因其吸取汁液使

果实生育受阻;另外,蚜虫也是传播病毒的媒介^[4]。吡虫啉(Imidacloprid)是高效、广谱性烟碱类杀虫剂,具有用量少、活性高、持效期长、杀虫谱广、与常规农药无交互抗性、低毒等优点,是取代高毒农药的理想品种之一,对刺吸式口器的害虫有良好的防治效果,广泛用于果树、蔬菜等作物的害虫防治^[5-6]。为了解不同草莓品种果实中吡虫啉残留动态,筛选出低农药残留草莓品种,以提高草莓的食用安全性,现以8个草莓品种为试材,研究了不同草莓品种果实中吡虫啉的残留动态,以为草莓生产中的品种选择提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试草莓品种为“丰香”、“幸香”、“槐花蜜”、“弗吉尼亚”、“卡姆罗莎”、“女峰”、“佐贺清香”、“明宝”。供试吡虫啉10%可湿性粉剂由江苏常隆化工有限公司生产,农药登记号为LS96753。

1.2 试验方法

试验在青岛市农业科学院果茶研究所草莓品种资

第一作者简介:陈建美(1959-),女,山东青州人,高级农艺师,现主要从事土壤肥料与食品安全等研究工作。E-mail: ckyjcm@163.com.

基金项目:青岛市科技发展计划基础研究资助项目(07-2-3-4-jch)。

收稿日期:2014-03-13

Abstract: With *Reineckea carnea* leaf spot disease as research object, the biological characteristics and suitable fungicide for the pathogen of *Reineckea carnea* leaf spot were investigated in this paper, in order to provide a scientific basis for the disease control. The results indicated that the pathogen mycelium were grown well in PDA under 28°C, the lethal temperature was 50°C. It could be growth in pH 4.0~10.0, and prefer to pH 6.0. The light-dark alternation(24 h/0 h) was benefit for the mycelial growth. Among the 3 tested pesticides, the most effective was 10% myclobutanil, the relative inhibition rate was 91.4% under the recommended concentration 0.3 mg/L. Lime sulfur was the least effective, the relative inhibition rate was 8.0% under the recommended concentration 6.67 mg/L.

Key words: *Reineckea carnea*; leaf spot; biological characteristics; fungicide screening