

新疆巴州地区红枣缩果病病原鉴定及田间防治药剂的筛选

张 萍, 宋 文, 薛根生, 王 岩

(新疆兵团 第二师农科所,新疆 库尔勒 841000)

摘要:以红枣缩果病病果样品为试材,通过常规组织分离、致病性测定、病原菌鉴定和田间药剂试验,研究巴州地区红枣缩果病病原菌种类以及常用杀菌剂对该病的田间防治效果。结果表明:从采集缩果病典型病样38份中,分离获得了156个菌株,其中链格孢菌 *Alternaria* 154个,占总菌株数的98.72%;镰刀菌 *Fusarium* 2个,占1.28%。确定巴州地区红枣缩果病是链格孢 *Alternaria alternata* (Fries) Keissle 所致的真菌性病害。80%大生M-45WP、75%百菌清WP和50%多菌灵WP在7月中旬以前进行田间防治效果较好,可作为防治枣缩果病的药剂。

关键词:红枣;缩果病;链格孢菌;药剂筛选

中图分类号:S 665.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)18-0128-05

新疆南疆地区光热资源丰富,气候条件非常适宜高品质红枣的生产,截止到2011年底全新疆红枣种植面积已超过40万hm²^[1]。红枣缩果病在南疆红枣种植区普遍发生,一般发病率在5%~10%,严重发病枣园可达20%以上^[2-3],严重影响了红枣产量和品质,由于该病在发病期间见不到病症,因此给病害的诊断和防治造成极大困难。目前国内有关枣缩果病病原的研究因种植红枣品种和地理分布的不同而存在较大差异,如郑晓莲等^[4]认为橄榄色盾壳霉(*Coniothyrium olivaceum* Bon)、细极链格孢菌(*Alternaria alternate* f. sp *tenuis*)、群生小穴壳菌(*Dothiorella gregaria* Sate)3种真菌及1种细菌是河北和河南省枣缩果病的主要病原菌;徐祥彬等^[5]研究表明链格孢菌(*A. alternata*)、青霉菌(*P. expansum*)和芽枝孢菌(*C. tenuissimum*)是山西壶瓶枣缩果病的主要致病真菌,且致病性极强;孙洁等^[6]报道新疆红枣缩果病的病原菌为链格孢(*Alternaria alternate* (Fr.) Keissler),且该病菌最适生长温度为25~30℃,适宜pH为5~10。此外枣果成熟度、枣树树势、气象因子、栽培条件以及栽培品种等因素均会影响枣果缩果病的发生^[7]。

第一作者简介:张萍(1968-),女,本科,副研究员,现主要从事红枣和香梨及葡萄病虫害综合防治技术等研究工作。E-mail:zhangping3377@163.com。

责任作者:宋文(1968-),男,本科,现主要从事红枣和香梨栽培技术等研究工作。E-mail:14509068537@qq.com。

基金项目:新疆兵团第二师科技计划资助项目(2012NYGG04);国家科技支撑计划资助项目(2011BAD48B02)。

收稿日期:2014-04-29

新疆巴州作为新兴的红枣产区,目前还没有巴州地区枣缩果病病原菌鉴定及对该病防治的研究报道。为此,2012—2013年采集巴州地区二师不同生态区域的典型病果进行分离和鉴定,以确定巴州地区红枣缩果病病原菌种类,同时选择常用的杀菌剂进行田间药剂试验,以期为巴州地区红枣缩果病有效防治提供理论和技术依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

研究对象为株行配置为3 m×0.5 m的第二师农科所枣品种园试验地,栽培品种为灰枣,树龄4 a。2012—2013年从新疆巴州地区二师红枣各种植区及若羌县的22个枣园采集典型的缩果病病果38份。

所用农药为80%大生M-45(美国陶氏益农公司);75%百菌清(上海升联化工有限公司);80%多菌灵(美国加州丰农生物技术有限公司);72%农用硫酸链霉素(石家庄通泰生化有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 病原分离与纯化 采用常规组织分离:用75%酒精对枣果表面进行消毒,再用灭菌的解剖刀切除果皮,从病健交界处切取病组织3~5块,置于PDA培养基上,25℃培养6~8 d后,检查分离菌落情况,并及时进行单孢纯化保存。

1.2.2 致病性测定方法 将单孢分离获得的菌株在PDA培养基上培养7~10 d后,用直径5 mm的灭菌打孔器打取菌饼,备用。对新鲜健果进行清洗、表面消毒后,将已打好的菌饼轻贴于枣果表面,用保鲜膜固定。每个枣果接种3个位点,重复3次。采用刺伤和无伤

2种方式,刺伤处理用灭菌的医用针头刺伤果皮造成伤口接种,以空白PDA菌饼作对照。接种后的枣果在28℃下保湿培养10 d,每天观察并记录发病情况,并对发病果进行再分离。

1.2.3 病原菌的鉴定 将典型菌株接种到PDA平板上,在28℃下培养1周,观察菌落特征。将菌株接种至PCA平板上25℃黑暗交替培养7 d,参照张天宇^[8]的方法,在显微镜下观察分生孢子梗的产孢情况、分生孢子的形态及喙的有无等特征判断病原菌种类。

1.2.4 田间药剂防治试验 选择树势生长中等枣园,在花末期(6月24日)、初果期(7月10日)以及幼果期(8月10日),使用手动背负式农用20 L型喷雾器喷施3次药剂进行防治。设置80%大生M-45(代森锰锌)WP600倍液、75%百菌清WP400倍液、80%多菌灵WP800倍

表1

红枣缩果病样品分离的菌株数

Table 1

Jujube-fruit shrink disease sample separation on the number of strains

星区 Area	采样时间 Sampling time/年-月-日	具体地点 Specific location	品种 Variety	链格孢菌 Alternaria/个	镰刀菌 Fusarium/个	合计 Acombined/个	
塔里木垦区 Tarim agricultural area	2012-07-28	31团5连荒地	骏枣	1	0	1	
		31团5连荒地	灰枣	3	0	3	
		33团19连10-1	骏枣	8	0	8	
		33团19连10-1	杂枣	8	0	8	
		34团7连2-3	骏枣	3	0	3	
		34团7连2-3	灰枣	2	0	2	
		34团7连1-4	骏枣	11	0	11	
		34团7连1-4	灰枣	6	0	6	
		34团11连6-1	骏枣	9	0	9	
		34团11连6-1	灰枣	10	0	10	
	2012-09-14	31团5连荒地	骏枣	6	0	6	
		31团5连荒地	灰枣	0	0	0	
		31团4连2号	骏枣	1	0	1	
		31团4连2号	灰枣	4	0	4	
		31团6连16-5西	骏枣	1	0	1	
库尔勒垦区 Korla agricultural area		31团6连16-5西	灰枣	6	0	6	
		33团17连生态林	骏枣	8	0	8	
		33团17连生态林	灰枣	0	0	0	
		34团10连14-5	骏枣	1	0	1	
		34团10连14-5	灰枣	3	0	3	
		34团10连14-7	灰枣	6	0	6	
		34团10连14-7	骏枣	5	1	6	
		34团11连4-7	灰枣	0	0	0	
		34团11连4-7	杂枣	7	0	7	
2012-07-28	农科所枣品种园	灰枣	9	0	9		
	农科所南久生枣园	灰枣	4	0	4		
	农科所枣品种园	骏枣	3	0	3		
	农科所枣品种园	灰枣	2	0	2		
	农科所南久生枣园	杂枣	4	0	4		
	且若垦区 Qieruo magaagricultural area		农科所南久生枣园	灰枣	4	0	4
2012-09-19	29团生态林96号	骏枣	0	0	0		
	29团生态林96号	灰枣	2	0	2		
	30团生态林枣园	灰枣	1	0	1		
	36团5连3-1	灰枣	3	0	1		
2013-08-22	36团何建文枣园	灰枣	2	0	2		
	36团2连1-7	灰枣	2	0	2		
	若羌县铁克其乡红星四队	灰枣	4	0	4		
	若羌县吾塔木乡	骏枣	5	1	8		
	总计 Total		154	2	156		

液、72%农用硫酸链霉素WP1 000倍液;以清水为对照(CK)。每个处理喷施50 m,随机选择连续5株为1个重复,3次重复,随机排列,每个处理共15株,并做好标记。在第2次和第3次施药后15、20 d分别进行4次防治效果调查工作。每个处理按整株调查法,分别统计健果数、病果数和总果数。病果率(%)=(枣缩果病果/标记的调查果)×100%;防治效果(%)=[(对照平均病果率—处理平均病果率)/对照平均病果率]×100%。

2 结果与分析

2.1 枣缩果病病原的分离

2012—2013年通过采集巴州红枣主产区若羌县、塔里木垦区、库尔勒垦区及且若垦区22个枣园的38份样品中,通过组织分离共分离得到156个病株(表1),分离出的链格孢菌和镰刀菌2种真菌。其中链格孢菌分离

频率为 98.72%, 镰刀菌为 1.28%, 将链格孢菌进行致病性测定后, 均能导致缩果症状的产生(图 1), 说明链格孢菌是巴州地区红枣缩果病的主要致病菌, 且在不同生态区域均普遍分布。

2.2 红枣缩果病病原的分离菌致病性测定结果

从分离得到的链格孢菌株, 选择代表菌株 33T19L10-1(33 团 19 连 10-1)、31T5LHD(31 团 5 连荒

地)、34T7L1-4(34 团 7 连 1-4) 和 NKS(农科所枣品种园), 在室内做离体接种健果 10 d 后结果(图 1)。刺伤和无伤 2 种接种方式均能够不同程度变色病斑, 刺伤的接种效果优于无伤, 还表现出一定程度的表面皱缩; 而只接种 PDA 培养基的 CK, 刺伤和无伤均不发病。同时, 对 4 个典型菌株接种的枣果发病组织进行再分离, 可分离出与接种菌一致的链格孢菌。

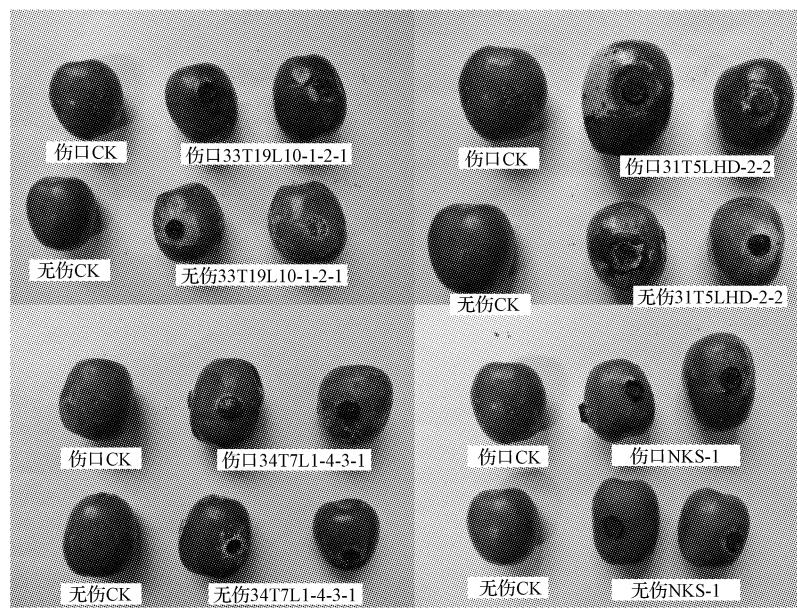


图 1 红枣缩果病病原菌接种症状

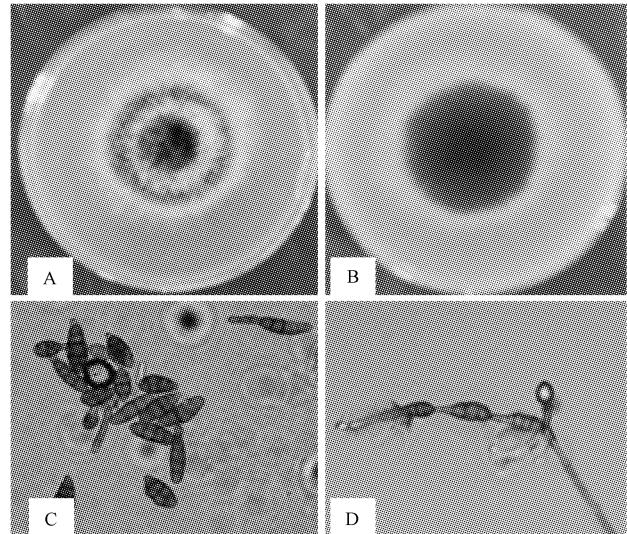
Fig. 1 Symptoms of *in vivo* inoculation with jujube-fruit shrink disease pathogen

2.3 病原菌鉴定结果

代表菌株在 PDA 平板上菌落圆形, 棉絮状, 初期菌落中央墨绿色, 边缘白色, 具明显同心轮纹, 中央隆起, 后期菌落灰白色, 气生菌丝发达, 菌丝具隔, 多分枝, 菌落背面暗褐色(图 2A 和 B)。PCA 平板 25℃ 黑暗交替培养 7 d 后, 显微镜观察其产孢表型为多分枝的孢子链, 孢子链由 3~5 个分生孢子组成; 分生孢子梗单生或数根簇生, 直立或略弯, 分隔, 少分枝, 淡褐色至深褐色, 分生孢子单生或短链生, 倒棍棒形, 倒梨形或近椭圆形, 淡褐色至褐色, 表面光滑或具微刺, 具 2~4 个横隔膜和 0~3 个纵、斜隔膜, 分隔处略溢缩, 无喙或柱状喙, 淡褐色, 有隔(图 2C 和 D)。依据菌落特征、分生孢子梗、分生孢子特征可初步确定为 *A. alternata*。

2.4 田间药剂防治试验结果

从表 2 可以看出, 第 2 次(7 月 10 日)初果期喷药后 15 d, 50% 多菌灵 WP 防治效果最高, 为 59.88%, 其次是 80% 大生 M-45 WP 为 50.58%, 72% 农用硫酸链霉素 WP 最差, 为 12.34%。喷药后 20 d, 80% 大生 M-45 WP、75% 百菌清 WP 和 50% 多菌灵 WP 防治效果分别 51.27%、55.53% 和 55.00%, 3 种药剂防治效果明显高于 72% 农用硫酸链霉素 WP 23.97~24.50 个百分点。



注: A: 在 PDA 上正面菌落形态, B: 菌落背面形态, C: 分生孢子形态, D: 分生孢子组成的分生孢子链。

Note: A: The face modality of *A. alternata* on the PDA, B: The back modality of *A. alternata* on the PDA, C: Conidia of *A. alternata* from PCA, D: Sporulation pattern of *A. alternata* from PCA.

图 2 病原菌菌落形态及分生孢子形态

Fig. 2 Pathogen colony morphology and conidial morphology

第3次(8月9日)幼果期喷药后15 d,防治效果由高至低为50%多菌灵WP>75%百菌清WP>80%大生M-45WP>72%农用硫酸链霉素WP。喷药后20 d,防治效果由高至低为80%大生M-45WP>50%多菌灵WP>72%农用硫酸链霉素WP>75%百菌清WP。

表 2

不种杀菌剂对红枣缩果病田间防治效果

Table 2

The control effect of different fungicides on jujube-fruit shrink disease in field

杀菌剂 Fungicides	第2次喷药后 After spraying fungicide 2 times				第3次喷药后 After spraying fungicide 3 times			
	处理后 15 d After treatment for 15 days		处理后 20 d After treatment for 20 days		处理后 15 d After treatment for 15 d		处理后 20 d After treatment for 20 days	
	平均缩果率 Average shrinkage rate of fruit/%	防治效果 Control effect/%						
80%大生 M-45WP Mancozeb	1.78	50.58	3.2	51.27	2.77	31.69	1.35	34.10
75%百菌清 WP Chlorothalonil	2.23	38.19	2.92	55.53	2.65	34.63	1.69	17.51
50%多菌灵 WP Carbendazim	1.45	59.88	2.95	55.00	2.12	47.89	1.53	25.40
72%农用硫酸链霉素 WP Agricultural streptomycin sulfate	3.16	12.34	4.52	31.03	3.42	15.66	1.67	18.44
清水 Water(CK)	3.61		6.56		4.06		2.05	

3 结论与讨论

该研究自2012—2013年分别从巴州地区二师团场及若羌县22个枣园采集红枣缩果病样品38份,共分离出156个病株,其中链格孢菌(*A. alternata*)占总分离物的98.72%。同时,室内致病性测定分离菌株均引起红枣缩果病的发生,表明巴州地区红枣缩果病主要由链格孢菌(*A. alternata*)侵染引起。

选择当地常用的4种杀菌剂对防治红枣缩果病均有一定的防治效果。从防治效果和投入经济成本等方面考虑,其中在初果期(7月中旬)使用80%大生M-45WP、75%百菌清WP和50%多菌灵WP的对枣缩果病的防治效果可达到50%以上,可以在红枣生产中交替使用。

有关红枣缩果病病原菌问题,近几年来,随着分子生物学技术的发展,已明确红枣缩果病的链格孢菌的种类为链格孢菌(*A. alternata*)。然而,尽管链格孢菌能够侵染枣花、枣果及叶片等,引起落花、落果和生长势,但链格孢为弱寄生菌,水肥投入多,管理好的枣园,枣园病果较少(如红枣主产区的36团和若羌县)。为提高广大枣农对缩果病的认识,该课题组还采用简单的病果浸提液,田间运用针刺、涂抹和直接喷施3种方式直接在枣树进行接种,均能够引发缩果病,其中骏枣缩果率要明显高于灰枣,说明新疆南疆主栽品种骏枣较灰枣易感染缩果病。

试验结果表明,4种当地常用杀菌剂都有一定的防治效果,其中80%大生M-45WP、50%多菌灵WP和75%百菌清WP在初果期的防治效果较好,均可达到50%以上。

然而,实际生产中出现防治效果较差,主要原因是防治时间滞后于缩果病发病时间。一般年份都是在7月底8月初,发现枣园已经有大量的变色病果或干缩落果后,才进行杀菌剂工作,此时已进入全年发病高峰期,错过的防治最佳时期。红枣缩果病的防治工作最适宜的防治时间在6月下旬至7月中旬(盛花末至初果期),连续喷药2~3次,间隔7~10 d。目前,在杀菌剂的选择方面,结合当地实际情况,选择常用的广谱杀菌剂。今后,可以有针对性地引进特效农药或生物制剂。

参考文献

- [1] 焦旭东,郭艳兰,杨帅,等.几种药剂对新疆枣树叶螨的室内和田间药效试验[J].北方园艺,2012(6):129-131.
- [2] 张荣斌,刘伟,张栋海,等.小海子垦区枣园缩果病的发生及防治[J].新疆农垦科技,2011(2):38-39.
- [3] 孙红艳,热沙来提·买买提,刘多红,等.新疆红枣主要病害及综合防治技术[J].北方园艺,2011(13):148-149.
- [4] 郑晓莲,赵光耀,茆正川,等.枣缩果病病原诊断初报[J].植物保护,1995,21(2):19-21.
- [5] 徐祥彬,赖童飞,景云飞,等.山西壶瓶枣缩果病病原菌分离和鉴定[J].植物病理学报,2009,39(3):225-230.
- [6] 孙洁,池振江,赵思峰,等.新疆红枣缩果病菌生物学特性及室内药剂筛选研究[J].北方园艺,2013(24):126-129.
- [7] 高洁.枣缩果病发病过程及其致病因素的探讨[J].山西林业科技,2006(1):45-46.
- [8] 张天宇.中国真菌志:链格孢属[M].北京:科学出版社,2003:1-281.

Identification of the Pathogenic Fungus Causing Fruit Shrink Disease of Jujube and Screening of Fungicides in Xinjiang Bazhou Area

ZHANG Ping, SONG Wen, XUE Gen-sheng, WANG Yan

(The Agricultural Science Institute of the Second Division, Xinjiang Corps, Korla, Xinjiang 841000)

大花黄牡丹叶斑病病原鉴定及防治药剂筛选

张格杰, 何建清

(西藏大学 农牧学院, 西藏 林芝 860000)

摘要:以发病大花黄牡丹为试材,采用常规法分离培养、形态学鉴定、致病性测定等方法确定病原,并通过平皿菌丝生长抑制法筛选有效防治药剂。结果表明:大花黄牡丹叶斑病的病原菌为半知菌亚门叶点霉属斑点叶点霉(*Phyllosticta commonsii*)。抑制该菌菌丝生长效果较好的杀菌剂是30%噁霉·福美双可湿性粉剂和80%噁霉胺水分散粒剂(500倍液),抑菌率分别为82%和84%。该研究可为病害的有效控制提供前期研究基础。

关键词:大花黄牡丹;叶斑病;叶点霉;病原鉴定;药剂筛选

中图分类号:S 432 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)18-0132-04

大花黄牡丹(*Paeonia ludlowii* (Stern et Taylor) Hong)系西藏特有品种,为丛生灌木^[1];野生植株约有6 000株,分布在西藏林芝地区八一镇至米林县长约100 km的开阔河谷地带,垂直分布范围2 500~3 500 m^[2]。其根、根皮、根茎、皮和花瓣均可入药,是名贵的藏药材资源。它具有纯粹且能稳定遗传的黄色,是芍药属中开花最多、植株最高大的种,具有极高的育种和观赏价值^[3]。由于过度利用和生境干扰严重等原因,大花黄牡丹的分布狭窄,种群数量稀少,加之自然更新能力差,所以被《中国物种红色名录》(第一卷)列为极危濒危植物^[4]。为此,大花黄牡丹的研究越来越受重视。对其分类地位^[5-6]、遗传学^[7]、种群数量与结构^[8]及繁殖方法^[9]等方面进行了大量研究。近年来,米林县南伊沟大花黄牡丹叶片受害严重,发病率达85%以上,甚至出现整株死亡的现象,该病给大花黄牡丹的发展造成极大障碍。目前国内外尚

第一作者简介:张格杰(1970-),男,河南人,硕士,副教授,现主要从事植物病害防治等研究工作。E-mail:zhgejie1969@sina.com

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31260005)。

收稿日期:2014-04-18

鲜见大花黄牡丹病害的研究报道,为确定该病病原并建立有效的防治方法,课题组对该病害的病原物进行了分离、鉴定及防治药剂筛选。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2012年9—10月在米林县南伊沟大花黄牡丹保护区采集新鲜发病叶片50片,并对典型发病症状进行描述和数码照相。

1.2 试验方法

采用常规的组织分离法^[10]进行病菌的分离。切取发病叶片,将病健交界处的新鲜组织切成0.5 cm×0.5 cm大小的薄片,75%酒精处理10~15 s,再用0.1%升汞处理1 min后,用无菌水洗3遍,接种于PDA培养基平板上,26℃黑暗条件下培养5 d后用无菌接种针挑取菌落边缘菌丝至PDA平板上进行纯化。纯化后的菌株于25℃条件下在PDA培养基上培养2 d,然后转接到斜面培养基上,4℃条件下保存。

光学显微镜下检查发病叶片和分离培养获得的疑似病菌的菌丝、分生孢子和分生孢子梗的形态及色泽

Abstract: Taking disease fruit samples caused shrink disease of jujube as test materials, through routine tissue separation and determination of pathogenic, pathogen identification and field potions test, Bazhan area jujube-fruit shrink disease pathogen reduction type and the field control effect commonly used fungicides were studied. The results showed that a total of 38 samples fruit shrink disease of jujube were collected from 22 jujube orchards in Xinjiang Bazhou area and 156 isolates were isolated, among them, there were 154 *Alternaria* strains, accounting for 98.72% of the total. There were 2 *Fusarium* strains, accounting for 1.28%. The pathogenic of isolates were determined and the morphology were identified. *A. alternata* (Fries) Keissle, were pathogen of Jujube-fruit shrink disease. Screening test for 3 kinds of 80% Mancozeb WP, 75% chlorothalonil WP and 50% carbendazim WP before middle of July to the field control effect was good, it could be used as prevention and control of jujube-fruit disease fungicides.

Keywords: jujube; fruit shrink disease; *Alternaria alternata* (Fries) Keissle; screening of fungicide