

DOI:10.11937/bfyy.201614031

无花果炭疽病菌生物学特性及 药剂的毒力测定

赵 杰¹, 支月娥², 赵宝明¹, 许业帆¹

(1. 上海市浦东新区农业技术推广中心, 上海 201201; 2. 上海交通大学 农业与生物学院, 上海 200240)

摘 要:以无花果炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.)为供试菌,采用菌落生长速率法和测定产孢量的方法,研究了无花果炭疽病菌的生物学特性,并测定了8种杀菌剂的毒力。结果表明:PSA培养基最适宜菌落生长,葡萄糖蛋白胨琼脂培养基产孢量最多。菌丝生长的适宜温度范围为5~35℃,最适温度25℃;菌落产孢能适应较广的pH,以pH3产孢量最多;菌丝的致死温度为56℃;菌落生长和产孢对光照的要求不严格。菌丝生长最适宜的碳、氮源分别为麦芽糖和蛋白胨;最适宜产孢的碳、氮源分别为果糖和牛肉膏。8种杀菌剂的毒力测定结果表明,咪鲜胺锰盐、多菌灵、氟啶胺和吡唑醚菌酯的毒力较高。

关键词:无花果炭疽病菌;生物学特性;杀菌剂毒力

中图分类号:S 481+.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)14-0126-04

无花果是我国重要果品之一,除鲜食、药用外,还可加工成多种食品,也是重要的盆景果树之一。深受广大市民喜爱,市场销售情况常供不应求,鲜果667 m²产值

第一作者简介:赵杰(1979-),男,硕士,高级农艺师,研究方向为园艺作物栽培与植保。E-mail:zhaocaoyou@163.com.

基金项目:上海市科技兴农推广资助项目(沪农推字(2015)第1-2号)。

收稿日期:2016-02-14

达8500元以上。无花果炭疽病是由胶孢状炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.)引起的真菌性病害,除侵染无花果外,还可为害桃、梨、葡萄和柑橘等多种果树^[1],随着树龄增加,果园郁闭,该病发生日益严重,和无花果疫病一起成为影响果实品质和产量的主要病害。我国农业科技工作者在无花果炭疽病的病原鉴定和防治方面开展了大量工作,为该病的防治提供了技术参考^[2-3],但不同地区、不同栽培条件下,病菌特性

Induction Resistance and Defense Enzyme Activity by Extraneous Factors to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Melon

LIU Lu, SUN Lei, ZHANG Zhipeng, AN Meichen, CHEN Kenong, WANG Xuezheng

(College of Horticulture, Northeast Agricultural University/The Key Laboratory of Horticultural Crop Biology and Germplasm Creation in Northeast Region of Ministry of Agriculture, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: Taking two melon cultivars "MR-1" and "M1-15" as materials, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* as test bacterial strain using the nutritional bowl of cultivation methods, the effect of different extraneous SA, MeJA, Ca²⁺ induction resistance to Fusarium Wilt in melon were studied. The results indicated that the three exogenous substances had different effects on the resistance to Fusarium Wilt of melon, in which the effect of salicylic acid and methyl ester was the best. 1.0 mmol · L⁻¹ salicylic acid induced the relative control effect of 50.7% and 45.7% on the Fusarium Wilt of melon; 1.2 mmol · L⁻¹ methyl ester treatment on the relative prevention effect of melon wilt was 66.7% and 40.3%, which was significantly higher than that of control and Ca²⁺ treatment. After induction of SA and MeJA, the activity of related resistance enzyme polyphenol oxidase (PPO) and phenylalanine ammonia (PAL) in the leaf of melon was up trend.

Keywords: salicylic acid; methyl jasmonate; Ca²⁺; induced resistance; Fusarium Wilt; defense enzyme; melon

存在差异。因此该试验研究了上海地区无花果炭疽病菌的生物学特性,并开展了杀菌剂室内毒力测定,以期为该病害的防控提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试无花果炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.)从上海市浦东新区无花果树上采集发病初期的病斑,采用 PDA 培养基进行分离纯化后备用^[4]。

50%咪鲜胺锰盐可湿性粉剂(江苏辉丰农化股份有限公司)、12.5%腈菌唑乳油(深圳诺普信农化股份有限公司)、0.3%丁子香酚可溶液剂(南通神雨绿色药业有限公司)、10%苯醚甲环唑水分散粒剂(江苏丰登农药有限公司)、80%代森锰锌可湿性粉剂(江苏省农垦生物化学有限公司)、50%多菌灵悬浮剂(江苏龙灯化学有限公司)、500 g·L⁻¹氟啶胺悬浮剂(浙江石原金牛农药有限公司)、30%吡唑醚菌酯悬浮剂(深圳诺普信农化股份有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 不同培养基对无花果炭疽病菌的影响 在7种不同培养基(表1)中央接种直径为1 cm的菌丝块,每处理重复3次,25℃培养,于第5、7天分别测量菌落直径、产孢量^[5]。

1.2.2 不同温度和 pH 对无花果炭疽病菌的影响 将接种1 cm菌丝块的培养皿,分别于5~40℃下培养,每5℃设1个梯度,每处理重复3次,第5天测量菌落直径。将1 cm菌丝块接种于pH 3~10的PDA培养基上,每处理重复3次,25℃培养,于第5、7天分别测

表1 不同培养基对无花果炭疽病菌的影响

Table 1 Influence of different culture mediums on *C. gloeosporioides*

培养基 Culture medium	菌落直径 Colony diameter/cm	产孢量 Quantity of spore production/(×10 ⁷ 个·皿 ⁻¹)
PSA 培养基 Potato sucrose agar medium	7.52±0.20a	0.733±0.225bcd
PDA 培养基 Potato dextrose agar medium	7.44±0.46ab	1.000±0.500bc
麦芽糖琼脂培养基 Maltose agar medium	7.28±0.02ab	1.233±0.176b
葡萄糖蛋白胨琼脂培养基 Dextrose peptone agar medium	7.07±0.06b	2.733±0.759a
察贝克氏培养基 Czapek-doxagar medium	6.09±0.09c	0.383±0.189cd
淀粉琼脂培养基 Starch agar medium	5.08±0.08d	0.080±0.026d
酵母浸膏培养基 Yeast extract agar medium	4.52±0.26e	0.133±0.015d

2.2 不同温度和 pH 对无花果炭疽病菌的影响

由表2可知,无花果炭疽病菌最适生长温度25℃,直径为7.44 cm。在不同pH条件下,病菌都能生长和产孢,其中生长较适宜pH 4~10,产孢最适pH 3。

2.3 菌落致死温度

试验结果表明,40~55℃处理后菌丝能生长,56~

量菌落直径、产孢量。

1.2.3 无花果炭疽病菌的致死温度 在40~70℃范围内,每2℃设置1个处理,将直径为1 cm的菌丝块于不同温度的试管中处理10 min,然后转接在PDA培养基上,每处理重复3次,25℃培养,第7天检查菌丝是否生长^[6]。

1.2.4 不同光照条件对无花果炭疽病菌的影响 将1 cm菌丝块接种到PDA培养基上,选用24 h光照、24 h黑暗、12 h光照+12 h黑暗等3个条件,25℃培养,于第5天、第7天分别测量菌落直径、产孢量。

1.2.5 不同碳、氮源对无花果炭疽病菌的影响 采用真菌生理培养基^[6]测定不同碳源(表4)和氮源(表5)对无花果炭疽病菌的影响。每处理重复3次,25℃培养,于第5天、第7天分别测量菌落直径、产孢量。

1.2.6 杀菌剂的毒力测定 采用生长速率法进行测定。根据试验情况,配制5种浓度的含药PDA培养基,接种1 cm的菌丝块,25℃培养,第5天测量菌落直径,计算毒力回归方程与EC₅₀^[6]。

1.3 数据分析

试验数据用Excel软件处理后进行方差分析,并采用Duncan's新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对无花果炭疽病菌的影响

由表1可知,PSA培养基最有利于病菌的生长,第5天时的直径为7.52 cm,酵母浸膏培养基最不利于病菌生长;葡萄糖蛋白胨琼脂培养基最有利于产孢,第7天产孢量为2.733×10⁷个·皿⁻¹,淀粉琼脂培养基最不利于产孢。

70℃处理后菌丝不能生长,表明致死温度为56℃。

2.4 不同光照条件对无花果炭疽病菌的影响

由表3可知,病原菌在不同光照条件下,以全光和光暗交替较有利于菌落生长;在不同光照条件下的产孢量无显著性差异。

表 2 温度和 pH 对无花果炭疽病菌的影响

Table 2 Influence of temperature and pH on *C. gloeosporioides*

温度 Temperature/℃	菌落直径 Colony diameter/cm	pH	菌落直径 Colony diameter/cm	产孢量 Quantity of spore production/($\times 10^7$ 个 \cdot 皿 $^{-1}$)
5	1.20 \pm 0.00g	3	7.04 \pm 0.13b	1.050 \pm 0.100a
10	2.13 \pm 0.08e	4	7.85 \pm 0.05a	0.250 \pm 0.050cd
15	4.23 \pm 0.08d	5	7.85 \pm 0.00a	0.300 \pm 0.000c
20	6.19 \pm 0.14b	6	7.86 \pm 0.08a	0.217 \pm 0.058cd
25	7.44 \pm 0.46a	7	7.84 \pm 0.05a	0.233 \pm 0.144cd
30	5.60 \pm 0.33c	8	7.81 \pm 0.02a	0.633 \pm 0.104b
35	1.63 \pm 0.05f	9	7.83 \pm 0.06a	0.167 \pm 0.058cd
40	0.00 \pm 0.00g	10	7.88 \pm 0.08a	0.100 \pm 0.050d

表 3 光照对无花果炭疽病菌的影响

Table 3 Influence of light on *C. gloeosporioides*

处理 Treatment	菌落直径 Colony diameter/cm	产孢量 Quantity of spore production/($\times 10^7$ 个 \cdot 皿 $^{-1}$)
24 h 光照 Illumination for 24 hours	8.53 \pm 0.12a	1.050 \pm 0.087a
12 h 光照+12 h 黑暗 Illumination for 12 hours and darkness for 12 hours	8.23 \pm 0.03a	1.300 \pm 0.300a
24 h 黑暗 Darkness for 24 hours	7.44 \pm 0.46b	1.000 \pm 0.500a

2.5 不同碳、氮源对无花果炭疽病菌的影响

测试的碳源中以麦芽糖最适宜菌丝生长,最不适宜的为淀粉;产孢最适宜的碳源为果糖,最不适宜的是蔗

糖(表 4)。氮源中以蛋白胨最适宜菌丝生长,最不适宜的是氯化铵;产孢最适宜的氮源为牛肉膏,最不适宜的是硝酸钾(表 5)。

表 4 碳源对无花果炭疽病菌的影响

Table 4 Influence of carbon resource on *C. gloeosporioides*

碳源 Carbon resource	菌落直径 Colony diameter/cm	产孢量 Quantity of spore production/($\times 10^7$ 个 \cdot 皿 $^{-1}$)
麦芽糖 Maltose	5.97 \pm 0.12a	1.050 \pm 0.328ab
蔗糖 Sucrose	5.89 \pm 0.02ab	0.725 \pm 0.075b
乳糖 Lactose	5.78 \pm 0.14b	1.117 \pm 0.318ab
果糖 Fructose	5.52 \pm 0.02c	1.283 \pm 0.275a
葡萄糖 Dextrose	5.42 \pm 0.11c	0.883 \pm 0.176ab
淀粉 Amylum	5.35 \pm 0.09c	0.833 \pm 0.076ab

表 5 氮源对无花果炭疽病菌的影响

Table 5 Influence of nitrogen resource on of *C. gloeosporioides*

氮源 Nitrogen resource	菌落直径 Colony diameter/cm	产孢量 Quantity of spore production/($\times 10^7$ 个 \cdot 皿 $^{-1}$)
蛋白胨 Peptone	6.75 \pm 0.06a	1.817 \pm 0.076c
酵母膏 Yeast extract	6.61 \pm 0.05b	2.500 \pm 0.492bc
牛肉膏 Beef extract	6.58 \pm 0.08b	5.917 \pm 0.225a
硝酸钾 Niter	5.89 \pm 0.02c	0.725 \pm 0.075d
尿素 Carbamide	5.07 \pm 0.13d	2.883 \pm 0.176b
硫酸铵 Ammonium sulfate	4.03 \pm 0.02e	2.333 \pm 0.978bc
氯化铵 Ammonium chloride	3.89 \pm 0.10f	0.900 \pm 0.100d

2.6 杀菌剂的毒力测定

8 种杀菌剂对无花果炭疽病菌的毒力存在明显差异,其中以咪鲜胺锰盐、多菌灵、氟啶胺和吡唑醚菌酯的毒力较高,EC₅₀ 小于 1 mg \cdot L⁻¹;其余依次为苯醚甲环唑、丁子香酚、腈菌唑和代森锰锌(表 6)。

3 讨论

不同培养基中,以 PSA 最适宜无花果炭疽病菌菌落生长,但以葡萄糖蛋白胨琼脂培养基产孢量最多。病

原菌无论单糖或多糖都可以利用,但菌落生长最适宜的碳源为麦芽糖,产孢最适宜的碳源为果糖。病原菌能利用有机和无机氮,其中菌落生长最适宜有机氮,产孢较适宜的氮源为牛肉膏。病原菌在 5~35 ℃下均能生长,最适 25 ℃,pH 3~10 的条件下都能正常生长和产孢,pH 3 最适宜产孢;菌丝块的致死温度为 56 ℃;菌落生长和产孢对光照的要求不严格。范昆等^[3]研究了无花果炭疽病菌的部分生物学特性,其中菌丝体生长最适温度

表 6
Table 6 8 种杀菌剂对无花果炭疽病菌的毒力
Toxicity of 8 fungicides on hyphal extension of *C. gloeosporioides*

药剂 Fungicide	回归方程 Regression equation	相关系数 <i>r</i>	EC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)
咪鲜胺锰盐 Prochloraz-manganese chloride complex	y=33.342 4+119.587 0x	0.899 9	0.139 3
多菌灵 Carbendazim	y=8.590 5+192.893 9x	0.867 4	0.214 7
氟啶胺 Fluazinam	y=17.383 5+65.788 0x	0.918 1	0.495 8
吡唑醚菌酯 Pyraclostrobin	y=16.252 2+36.456 5x	0.937 3	0.925 7
苯醚甲环唑 Difenconazole	y=36.476 6+12.945 4x	0.889 1	1.044 6
丁香酚 Eugenol	y=35.506 3+3.218 6x	0.811 0	4.503 1
腈菌唑 Myclobutanil	y=33.277 3+1.134 4x	0.952 0	14.741 4
代森锰锌 Mancozeb	y=22.899 9+0.039 1x	0.991 0	693.097 2

25~30℃, 与该研究的 20~25℃略有差异, 这可能与病菌长期生存的环境有关。

目前无花果栽植品种日益丰富, 面积不断增加, 正在向规模化、省工化的方向发展, 为炭疽病的标准化防控提供了条件。该试验表明, 咪鲜胺锰盐、多菌灵、氟啶胺和吡唑醚菌酯的毒力高于当前生产上的主要农药苯醚甲环唑, 为该病害的药剂选择提供了理论参考, 对田间实际应用技术尚需进一步研究。供试药剂多菌灵对无花果炭疽病菌具有很高的毒力, 但多种植物的胶孢炭疽病菌对多菌灵已出现不同程度的抗性^[8-11], 因此在使用过程中应严格控制使用次数和用量。

参考文献

[1] 吕佩珂, 苏慧兰, 庞震, 等. 中国现代果树病虫原色图鉴[M]. 北京: 化学工业出版社, 2013.
[2] 张雪丹, 范昆, 余贤美, 等. 威海无花果炭疽病病原鉴定及杀菌剂毒

力测定[J]. 江西农业学报, 2012, 24(5): 53-54, 58.
[3] 范昆, 张雪丹, 余贤美, 等. 无花果炭疽病菌的生物学特性及 8 种杀菌剂对其抑制作用[J]. 植物病理学报, 2013, 43(1): 75-81.
[4] 方中达. 植物研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1979: 116.
[5] 杨焕青, 王开运, 范昆, 等. 草莓枯萎病菌的生物学特性及 7 种杀菌剂对其抑制作用[J]. 植物保护学报, 2008, 35(2): 169-174.
[6] 赵杰, 庄隽怡, 唐亚芹, 等. 甜瓜枯萎病菌的生物学特性及防治药剂的室内筛选[J]. 上海农业学报, 2010, 26(1): 129-132.
[7] 敬辉, 陈宏州, 肖婷, 等. 葡萄炭疽病菌对多菌灵的抗药性检测[J]. 江西农业学报, 2015, 27(1): 32-35.
[8] 韩国兴, 礼茜, 孙飞洲, 等. 杭州地区草莓炭疽病病原鉴定及其对多菌灵和乙霉威的抗药性[J]. 浙江农业科学, 2009(6): 1169-1172.
[9] 杨叶, 何书海, 张淑娟, 等. 海南芒果炭疽菌对多菌灵的抗药性测定[J]. 热带作物学报, 2008, 29(1): 73-77.
[10] 罗大全, 郑作飞, 范鸿雁, 等. 海南星区橡胶炭疽病菌对多菌灵抗性的室内测定[J]. 热带农业科学, 2003, 23(1): 8-10.
[11] 张新怡, 李雪, 高兆银. 热带亚热带水果胶孢炭疽菌对多菌灵的抗药性测定[J]. 热带农业科学, 2014, 34(11): 71-74.

Biological Characteristics of *Colletotrichum gloeosporioides*
(Penz.) Sacc. and Toxicities of Fungicides

ZHAO Jie¹, ZHI Yue'e², ZHAO Baoming¹, XU Yefan¹

(1. Shanghai Pudong New District Agro-technology Extension Center, Shanghai 201201; 2. Agriculture and Biology College, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240)

Abstract: Taking *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. as test fungi, using the mycelium growth rate method and the determination of spore production, the biological characteristics of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. were studied and the toxicity of 8 fungicides were tested. The results showed that the suitable media for mycelial growth and spore production were PSA and dextrose peptone agar medium, respectively. The suitable temperature for the mycelial growth was 5—35℃ and the best was 25℃. The optimum pH was 3 for the spore production. The thermal death temperature of the mycelia was 56℃. Colony growth and spore production could adapt to the different illumination conditions. The most favorable carbon source and nitrogen source for mycelia growth were maltose and peptone, respectively. The most favorable carbon source and nitrogen source for spore production were fructose and beef extract, respectively. The toxicity tests showed that prochloraz - manganese chloride complex, carbendazim, fluazinam and pyraclostrobin had higher toxicity on *C. gloeosporioides*.

Keywords: *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.; biological characteristics; toxicities of fungicides