

# 月季黑斑病病原的分离及防效研究

程茂高, 乔卿梅

(郑州牧业工程高等专科学校 药物工程系 河南 郑州 450008)

**摘要:** 采用组织分离、稀释纯化的方法, 从月季黑斑病病斑上分离出病原, 再通过抑菌试验, 筛选防治月季黑斑病的有效药剂及合理使用浓度。结果表明: 所分离的病原为半知菌亚门盘二孢属的蔷薇盘二孢。提供的 7 种杀菌剂对月季黑斑病病原均有不同程度的抑菌作用, 其中多菌灵、波尔多液和代森锰锌在最低推荐稀释倍数时对病原的抑菌率分别为 65.24%、39.57% 和 12.30%, 而苯醚甲环唑、咪鲜胺、叶斑清、灰霉佳 4 种药剂的抑菌率均为 100%。结合抑菌率和防治成本, 对抑菌率为 100% 的 4 种药剂进行再稀释, 当分别稀释至 7 500、4 000、5 500、1 600 倍时仍具有良好的抑菌作用。

**关键词:** 月季黑斑病; 病原; 抑菌率; 防效

**中图分类号:** S 436.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)09-0170-03

月季素有“花中皇后”之美誉, 因其花期长、花色多, 芳香馥郁而深受群众的欢迎, 目前全国有 38 个城市把月季作为市花; 月季及其姊妹花玫瑰都可提取精油, 广泛应用于化妆品和食品行业, 价值高于黄金; 月季又可做花茶入药, 具有活血调经、消肿散结等作用; 但月季在

种植过程中常发生一些病害而影响到其观赏价值和药用价值, 月季黑斑病就是其中最常见、最重要且具有毁灭性的一种病害。该病害可危害月季等蔷薇属植物的叶片、嫩枝和花梗。发病初期, 叶上病斑为紫褐色小点, 后扩展成圆形或不规则形的暗色病斑, 病斑直径 1.5~13 mm, 边缘呈放射状, 严重时往往几个病斑相连, 周围大面积发黄, 甚至整株的中下部叶片全部枯黄脱落, 仅留下顶端的几片新叶, 呈光杆状。

目前, 国外对月季黑斑病的研究主要集中在用分子生物学的手段研究其抗病基因<sup>[1]</sup>。国内对此项工作的研究一方面通过有性杂交, 将野生型抗病基因转移到栽培品种中<sup>[2,3]</sup>; 另一方面集中在综合治理上, 但整体防效

**第一作者简介:** 程茂高(1975-), 男, 河南光山人, 讲师, 硕士, 现主要从事药用植物资源开发与生化研究工作。E-mail: mgcheng@sohu.com.

**基金项目:** 河南省科技攻关资助项目(2008A208020)。

**收稿日期:** 2011-02-16

## Effect of Cruciferous Vegetables on the Growth of Limax

XU Shi-cai, MIAO Yan, MA Yu-min, CHEN Dan, LIAO Liang-kun

(College of Life Science, Yanan University, Yanan, Shaanxi 716000)

**Abstract:** Under 25 °C temperature, light 1 L:23 D, the humidity 20%~30% conditions, take the cabbage, the rape, cauliflower, Chinese cabbage and the Brassica chinensis raise the limax, the biological activity of limax were studied. The results showed that the preoviposition and the average fecundities reared on Chinese cabbage compared with other four kinds of vegetables significant difference; fed limax with cabbage average weight gain maximum, was 4.68 g the index of population trend of limax laboratory population and the added weight of each limax reared on the cabbage compared with other four kinds of vegetables was remarkable, the index of population trend of limax laboratory population reared on the Brassica chinensis and cauliflower compared with the rape and Chinese cabbage were remarkable. The results showed that different cruciferous vegetables were influential to be population vitality of limax.

**Key Words:** cruciferous vegetables; limax; laboratory population; life cycle

较差,病害依然猖獗。该研究从月季黑斑病的病原分离入手,通过抑菌试验,筛选出能有效防治月季黑斑病的高效低毒药剂,以期为大面积月季黑斑病的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 病原的分离与培养

在月季黑斑病的盛发期(8~10月),采集郑州市主要公园内刚出现病斑的新鲜叶片,用流水冲洗数遍,置无菌条件下剪病健交界处病组织(3 mm×3 mm),将病组织投入 75%酒精溶液中消毒 2~3 s,0.1%的升汞溶液消毒 3~4 min,再用无菌水冲洗 4~5 次,晾干。将病组织置 PDA 平板上培养 3 d 用挑针从菌落边缘挑取极少量菌丝,置马丁氏培养基上继续培养 5~6 d,培养温度为 25℃。为促进培养物快速产孢,再将其转入 4℃条件下培养 3 d<sup>[4]</sup>。

1.2 病菌的纯化与培养

用 10 mL 无菌水反复冲刷平板上的孢子,再用稀释

分离法设 10<sup>-1</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup>、10<sup>-6</sup>、10<sup>-7</sup> 的 7 个梯度稀释菌液,吸取 1 mL 各梯度菌液于马丁氏培养基上,25℃培养 3 d,从中选出能够独立分离的单菌落继续纯化培养,直到最后得到纯化菌种。

1.3 致病性试验

选取健康月季的叶片,用自来水冲洗干净,无菌条件下用 75%酒精消毒 3 s,0.1%升汞溶液消毒 4 min,再用无菌水冲洗 4 遍,晾干。用无菌的接种针对其上表皮轻轻划伤,再用玻璃棒蘸少许菌液于伤口上,进行接种试验,最后将叶片放入铺有湿滤纸的培养皿中保湿培养(封口膜密封),12 d 后检查叶片的感病程度。根据柯赫氏法则验证分离物是否为月季黑斑病的病原<sup>[4]</sup>。

1.4 杀菌剂的筛选及抑菌培养

1.4.1 杀菌剂的选择 该试验选用的 7 种杀菌剂均是市场上常见的杀菌剂,对半知菌亚门真菌引起的叶斑类病害都有一定的防治效果,使用浓度为药品标签上建议使用的有效防治剂量(表 1)。

表 1 供试杀菌剂、来源及推荐使用浓度

药剂	剂型	来源	推荐稀释倍数
多菌灵	50% WP	山东奥凯农业发展有限公司	1 500~2 000
波尔多液	SC	实验室现配	1 : 1 : 100
代森锰锌	80% WP	山东荣邦化工有限公司	1 200~1 500
苯醚甲环唑	10% WG	天津市施普尔农药技术发展有限公司	6 000~7 000
咪鲜胺	25% EC	黑龙江强尔生化技术开发有限公司	2 000~4 000
叶斑清	25% EC	江苏生花农药有限公司	4 000~6 000
灰霉佳	50% WP	西大华特科技实业有限公司	800~1 000

1.4.2 抑菌培养基的制备 根据使用浓度,用无菌水将各杀菌剂制成母液,然后再将适量的母液分别加入融化后的相应体积的马丁氏培养基中,制成抑菌平板。

1.4.3 抑菌培养 用直径为 5 mm 的打孔器移菌龄为 5 d 的菌丝块于抑菌平板中央,25℃培养。每种杀菌剂均设 5 个重复,1 个空白对照。5 d 后用“十字”交叉法测菌落直径,计算抑菌率。试验数据用 SPSS 11.5 软件进行分析。抑菌率(%)=[(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径]×100。

2 结果与分析

2.1 病原菌的致病性

将分离纯化的菌液接种到保湿培养的叶片中,25℃保湿培养 12 d 后检查叶片的感病情况,发现所有接种的叶片都出现月季黑斑病的病害症状,再对叶片上的病斑进行分离纯化,结果得到了原分离的菌种。说明分离的病菌正是月季黑斑病的病原,经鉴定该病原为半知菌亚门盘二孢属的蔷薇盘二孢。

2.2 不同杀菌剂对月季黑斑病病原菌的抑菌作用

从表 2 可知,7 种杀菌剂对月季黑斑病都有一定的抑菌效果,其中苯醚甲环唑、咪鲜胺、叶斑清、灰霉佳的抑菌效果最明显,抑菌率达 100%;多菌灵的抑菌率为 65.24%;波尔多液和代森锰锌的抑菌效果较差,抑菌率分别为 39.57%和 12.30%。

表 2 供试杀菌剂对月季黑斑病的抑菌作用

药剂	稀释倍数	菌落直径/ cm		处理
		抑菌率/ %	对照	
多菌灵	1 500	1.30	3.74	65.24
波尔多液	1 : 1 : 100	2.26	3.74	39.57
代森锰锌	1 200	3.28	3.74	12.30
苯醚甲环唑	6 000	0	3.74	100
咪鲜胺	2 000	0	3.74	100
叶斑清	4 000	0	3.74	100
灰霉佳	800	0	3.74	100

注:表中菌落直径数据为 5 次重复的平均值

2.3 杀菌剂的不同使用浓度对月季黑斑病病原菌的抑菌作用

对抑菌效果好,抑菌率达到 100%的 4 种杀菌剂再进行稀释(表 3),进行抑菌试验,以期找到抑菌效果显著的最大稀释浓度,节约防治成本。从表 3 可看出,苯醚甲环唑、咪鲜胺、叶斑清、灰霉佳 4 种杀菌剂在防治月季黑斑病时还可以继续稀释,分别稀释到 7 000、3 500、5 500、1 400 倍时,防治效果依然很好,抑菌率仍为 100%。进一步稀释时 4 种杀菌剂对月季黑斑病病原的抑菌率都有所下降,但分别稀释至 7 500、4 000、5 500、1 600 倍时与 100%抑菌率无显著差异,而苯醚甲环唑、灰霉佳分别稀释到 7 500 和 1 600 倍时甚至与 100%抑菌率无显著差异。结合防治成本,苯醚甲环唑、咪鲜胺、叶斑清、灰霉佳 4 种杀菌剂在防治月季黑斑病时可分别稀释 7 500、4 000、5 500、1 600 倍。

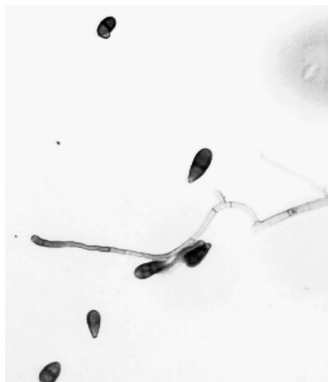


图 1 月季黑斑病原孢子及有隔菌丝

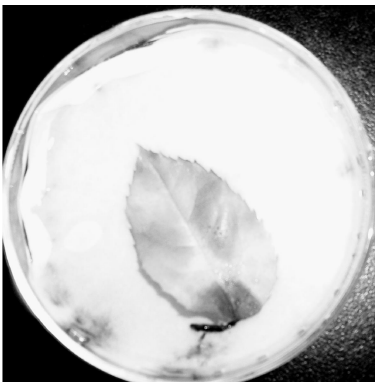


图 2 致病性试验

表 3 不同浓度的药剂对月季黑斑病的抑菌作用

苯醚甲环唑		咪鲜胺		叶斑清		灰霉佳	
稀释倍数	抑菌率/%	稀释倍数	抑菌率/%	稀释倍数	抑菌率/%	稀释倍数	抑菌率/%
6 500	100.0 aA	2 500	100.0 aA	4 500	100.0 aA	1 000	100.0 aA
7 000	100.0 aA	3 000	100.0 aA	5 000	100.0 aA	1 200	100.0 aA
7 500	98.28 aA	3 500	100.0 aA	5 500	94.68 bAB	1 400	100.0 aA
8 000	91.04 bB	4 000	97.26 bA	6 000	91.34 bB	1 600	95.26 bA
8 500	76.85 cC	4 500	89.16 cB	6 500	89.66 cC	1 800	82.74 cB

注:同列不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著,同列不同大写字母表示在 0.01 水平上差异极显著。

3 结论与讨论

有关月季黑斑病药剂防治的报道比较多,推荐防治效果较好的药剂中包括多菌灵、代森锰锌、波尔多液 3 种杀菌剂,但从该试验的结果看,3 种药剂在推荐使用浓度下抑菌效果并不理想,推测原因可能是该种药剂的推荐稀释浓度不科学,应适当缩小稀释度,提高防治效果;也可能是这 3 种药剂并不是防治月季黑斑病的理想药剂。该研究中使用的苯醚甲环唑、咪鲜胺、叶斑清、灰霉佳等药剂在较高的稀释度下对月季黑斑病病原都有很好的抑菌效果,值得进一步研究推广。

参考文献

[1] Ballard R, Rajapakse S. DNA markers in rose and their use for cultivar

identification and genom emapping. Second in ternational symposium on roses [J]. Acta Horticulturae, 1996 424: 265-268.  
[2] 王丽勉, 张启翔, 高亦珂. 月季抗黑斑病的基因工程研究[J]. 中南林学院学报, 2003 23(5): 92-95.  
[3] 刘永刚, 刘青林. 月季遗传资源的评价与利用[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(1): 87-90.  
[4] 杨文兰, 李双民. 不同培养条件对苹果树腐烂病病菌生长的影响[J]. 中国果树, 2007(6): 31-34.  
[5] 程东美, 向梅梅, 刘任, 等. 花卉土传真菌病害防治药剂的筛选[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2004, 17(4): 18-22.  
[6] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 110-155.

Study on Isolation and Protective Effect of the Pathogen of the Rose Black Spot

CHENG Mao-gao, QIAO Qing-mei

(Department of Pharmacy Engineering, Zhengzhou College of Animal Husbandry Engineering, Zhengzhou, Henan 450008)

**Abstract:** The pathogen was separated from the lesion of the rose black spot by the methods of tissue isolation, dilution and purification, and the effective agents and rational application concentrations for controlling the rose black spot were screened out by antimicrobial experiments. The results showed that the separated pathogen was *Marssonina rosae* belonged to *Marssonina species* of Deuteromycetes subfamily. Seven kinds of fungicides showed different degree of antibacterial actions to this black spot pathogen. The ratios of the carbendazim, bordeaux mixture, and mancozeb were 65.24%, 39.57% and 12.30%, respectively, at the minimum recommended dose. While the bacteriostatic ratios were all 100% for difenoconazole, trochloraz, yebanqing and huimijia. Integrating the high bacteriostatic ratio with high cost, these four kinds of agents were diluted. And the bacteriostatic effects of these four kinds of agents were still obtained when they were diluted to 7 500, 4 000, 5 500 and 1 600 times, respectively.

**Key words:** rose black spot; pathogen; rate of inhibiting bacteria; protective effect