

# 新疆红枣叶斑病菌生物学特性及室内药剂筛选研究

王志霞, 王 斌, 赵思峰, 孙 洁, 何 丽, 刘文魁

(石河子大学 农学院, 石河子大学 绿洲农作物病害防控重点实验室, 新疆 石河子 832003)

**摘 要:**以新疆地区 2 株红枣叶斑病菌 *Alternaria tenuissima* 和 *A. alternata* 菌株为试材, 采用菌丝生长速度法研究了温度和 pH 对 2 种病原菌生长的影响, 并采用菌丝生长抑制率法和孢子萌发抑制率法进行了室内防治药剂的筛选, 以期明确红枣叶斑病菌的生物学特性和有效防治药剂。结果表明: 这 2 种病原菌菌丝生长的适宜温度为 25~30℃, 适宜 pH 为 7~9; 70% 代森锰锌对 *A. tenuissima* 和 *A. alternata* 菌丝生长以及孢子萌发的抑制效果最好, 抑制菌丝生长的  $EC_{50}$  分别为 0.053、0.054 g/L, 抑制孢子萌发的  $EC_{50}$  分别为 0.021、0.019 g/L, 70% 代森锰锌可作为枣树叶斑病的首选药剂。

**关键词:**红枣; 叶斑病; 链格孢菌; 生物学特性; 药剂筛选

**中图分类号:**S 436.62 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)08-0132-04

红枣富含各种营养成分, 几千年来国人一直将其作为中药和食品加以利用<sup>[1]</sup>。其主要分布于中国和韩国, 而中国的种植面积和产量则占到全世界的 90% 以上<sup>[2]</sup>。新疆南疆地区具有光热资源充足, 无霜期长, 昼夜温差大, 降雨少, 气候干燥等独特的气候条件, 为优质红枣的生长提供了优良的自然条件, 截止到 2011 年底全新疆红枣种植面积已超过 40 万  $hm^2$ <sup>[3]</sup>, 新疆红枣在国内市场所占份额迅速上升。然而, 随着红枣面积的迅速扩大和种植年限的延长, 红枣叶斑病发生越来越普遍, 平均发病率在 10%~20%, 发病严重田块发病率达 50% 以上, 其危害红枣叶片后, 初期在叶片上形成灰褐色或褐色圆形斑点, 边缘有黄色晕圈, 严重发生时造成枣树叶片黄化脱落, 影响红枣的营养供给, 最终影响红枣果实的产量和品质。目前对黑斑病、缩果病以及裂果病已有大量研究<sup>[4-6]</sup>, 而对红枣叶斑病的研究则非常少, 因此对其病原物的生物学特性、发生规律和防治方法缺乏了解。该试验对分离获得的红枣叶斑病的病原菌生物学特性进行了研究, 并在室内筛选了有效抑制红枣叶斑病菌的农药, 旨在为红枣叶斑病的防治提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试菌株极细链格孢 *A. tenuissima* (Kunze: Fr.)

**第一作者简介:**王志霞(1985-), 女, 河北保定人, 硕士, 研究方向为农药学。E-mail: 529419539@qq.com.

**责任作者:**赵思峰(1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向为植物病害安全防治。E-mail: zhsf\_agr@shzu.edu.cn.

**基金项目:**国家科技支撑计划资助项目(2011BAD48B02)。

**收稿日期:**2012-12-10

Wiltshire 和链格孢 *A. alternata* (Fr.) Keissler 由石河子大学绿洲农作物病害防控重点实验室分离鉴定。

**供试培养基:**PDA 培养基, 按参考文献[7]所述方法配制。

**供试药剂:**70% 代森锰锌可湿性粉剂(利民化工股份有限公司); 75% 百菌清可湿性粉剂(西安瑞特农药有限公司); 70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂(山东科大创业生物有限公司); 25% 阿米西达悬浮剂(先正达(中国)投资有限公司); 25% 苯醚甲环唑乳油(浙江一帆化工有限公司)。药剂配制均用灭菌蒸馏水。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 温度对病原菌菌丝生长的影响** 用直径为 0.7 cm 的灭菌打孔器, 沿菌落边缘切取菌龄一致的菌饼置于 PDA 平板中央, 每皿 1 块, 分别置于 5、10、15、20、25、28、30、35 和 40℃ 恒温箱中培养, 观察菌落状况, 7 d 后用十字交叉法测量菌落直径, 每个处理 3 次重复<sup>[8]</sup>。

**1.2.2 pH 对病原菌菌丝生长的影响** 分别用 0.1 mol/L 的 NaOH 和 HCl 将 PDA 培养基 pH 调节为 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 和 10.0 后再灭菌, 用直径为 0.7 cm 的无菌打孔器沿菌落边缘打取菌龄一致的菌饼置于不同 pH 值的 PDA 平板中央, 每皿 1 个, 28℃ 恒温培养, 观察菌落状况, 7 d 后用十字交叉法测量菌落直径, 每个处理 3 次重复。

**1.2.3 不同药剂对 2 种红枣叶斑病菌菌株毒力测定**  
**孢子悬浮液的制备:**将供试病原菌接种至 PDA 平板上, 28℃ 培养 7 d 后, 向培养皿中加入 10 mL 无菌水, 用无菌曲玻棒轻轻洗下菌落中的分生孢子, 尽量减少菌丝断裂。2 层无菌纱布过滤得到分生孢子悬浮液, 在显微镜下(10×10 倍)检查孢子数, 平均每视野 60~100 个孢子

即可<sup>[9]</sup>。不同药剂对病原菌菌丝生长的影响:采用菌丝生长抑制法测定<sup>[10]</sup>,将供试药剂用紫外灯照射 2~3 h 除菌后,用无菌水将上述 5 种药剂配成 100 倍母液,然后根据预试验,将配制好的供试药剂母液按照设定的浓度比例加入到已融化并冷却至 50℃ 左右的 PDA 培养基中,将 25% 阿米西达、75% 百菌清、70% 甲基硫菌灵和 25% 苯醚甲环唑最终配制成 5.00、2.00、1.25、1.00、0.67、0.50、0.40、0.33 g/L 各 8 个浓度梯度的含药平板,70% 代森锰锌配制成 0.330、0.250、0.200、0.100、0.050、0.033、0.025、0.020 g/L 8 个浓度梯度的含药平板。以不加药剂但含等量溶剂的 PDA 平板为对照,每个处理重复 3 次。用直径为 0.7 cm 的无菌打孔器在预培养的菌落边缘打取菌龄一致的菌饼,菌丝面朝下接种到含药培养基平板中央,每皿 1 个,置于 28℃ 恒温培养 7 d,用十字交叉法测量各处理的菌落直径,计算各药剂处理对病菌的菌丝生长抑制率。抑制率(%)=[(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径]×100%。以药剂浓度的对数值为自变量  $x$ ,以菌丝体抑制百分率的几率值为因变量  $y$ ,计算出毒力回归方程和相关系数  $R^2$ ,根据回归方程计算有效抑制中浓度  $EC_{50}$  值。不同药剂对病原菌孢子萌发的影响:将 25% 阿米西达、75% 百菌清、70% 甲基硫菌灵和 25% 苯醚甲环唑用无菌水配制成 2.00、1.00、0.67、0.50、0.40、0.33 g/L 各 6 个浓度梯度的药液平板,70% 代森锰锌配制成 0.330、0.200、0.100、0.033、0.025、0.020 g/L 6 个浓度梯度的药液平板,以不含药剂的处理做空白对照。每个处理重复 3 次。带药平板凝固后,取 300  $\mu$ L 病原菌孢子悬浮液置于平板中,涂抹均匀,处理后的培养皿置于 25℃ 培养箱中培养,以芽管长度超过孢子长度一半为孢子萌发的标准,待对照的孢子萌发率达到 90% 以上进行萌发率检查,统计不同处理的孢子萌发率,并计算各药剂处理对病菌孢子萌发抑制率、毒力回归方程、相关系数  $R^2$  和有效抑制中浓度  $EC_{50}$  值。处理校正孢子萌发率(%)=处理孢子萌发率/空白对照孢子萌发率×100%,孢子萌发相对抑菌率(%)=[(空白对照孢子萌发率-处理校正的孢子萌发率)/空白对照孢子萌发率]×100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同温度对红枣叶斑病菌菌丝生长的影响

由图 1 可知,在不同温度下 *A. tenuissima* 和 *A. alternata* 2 个病原菌菌丝生长随温度变化的趋势基本一致,这 2 株病原菌在 5~40℃ 均能生长,25~30℃ 较为适宜其生长,最适温度为 28℃,在 5~25℃ 条件下随温度的升高菌落生长速度不断增加,超过 35℃ 菌落生长开始受到抑制。

### 2.2 pH 值对病原菌丝营养生长的影响

由图 2 可以看出,不同 pH 值条件下 *A. tenuissima*

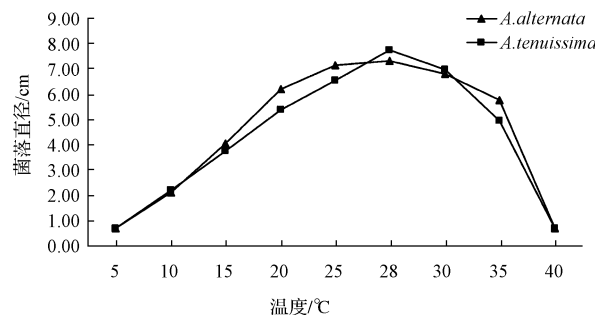


图 1 不同温度对红枣叶斑病菌菌丝生长的影响

Fig. 1 The influence of different temperature on mycelia growth of leaf spot disease of *Zizyphus jujube*

和 *A. alternata* 菌丝生长速度差别很小,菌落直径在 5.90~7.53 cm 之间,说明在该试验中 pH 值对该病菌菌丝的生长没有明显的抑制作用。但在不同 pH 值条件下 *A. alternata* 的菌丝生长较慢,这 2 株病原菌对酸碱度的适宜范围很广,在 pH 5~10 范围内均能正常生长,较适宜的 pH 为 7~9,说明红枣叶斑病菌病原菌较适宜偏碱性环境。

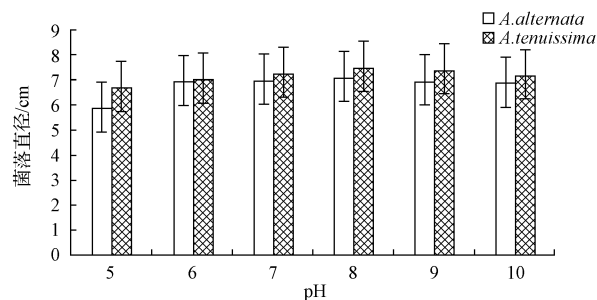


图 2 不同 pH 对红枣叶斑病菌菌丝生长的影响

Fig. 2 The influence of different pH on mycelia growth of leaf spot disease of *Zizyphus jujube*

### 2.3 毒力测定

2.3.1 供试药剂对病原菌菌丝生长的抑制作用 通过菌丝生长速率法测定了 5 种杀菌剂各浓度对红枣叶斑病菌菌丝生长的抑制作用。由表 1 可知,5 种杀菌剂不同浓度对红枣叶斑病菌菌丝的生长均有不同程度的抑制作用,对于这 2 种病原菌来说,同一杀菌剂对其抑制作用差异不显著,其中 70% 代森锰锌对 *A. tenuissima* 和 *A. alternata* 抑菌效果最好,其  $EC_{50}$  分别为 0.054 和 0.053 g/L,其次是 75% 百菌清和 25% 阿米西达,其对 2 株病原菌的  $EC_{50}$  值均小于 1.000 g/L。70% 甲基硫菌灵和 25% 苯醚甲环唑抑菌效果较差,尤其是 25% 苯醚甲环唑对 2 株病原菌的  $EC_{50}$  值均大于 10.000 g/L。

2.3.2 供试药剂对病原菌分生孢子萌发的抑制作用 通过孢子萌发抑制率法测定了 5 种杀菌剂各个浓度对红枣叶斑病菌分生孢子萌发的抑制作用。由表 2 可知,供试 5 种药剂对病原菌孢子萌发均有不同程度的抑制

作用,并且同一杀菌剂对2种病原菌的抑制作用差异不显著。其中70%代森锰锌对*A. tenuissima*和*A. alternata*孢子萌发的抑制作用最好,其 $EC_{50}$ 分别为0.021和0.019 g/L,显著低于其它供试药剂。其次是75%百菌清 $EC_{50}$ 分别为0.528和0.423 g/L,70%甲基硫菌灵为0.636和0.312 g/L,25%阿米西达为0.643和0.507 g/L,25%苯醚甲环唑抑制2株病原菌孢子萌发的效果最差。

表1 5种杀菌剂对红枣叶斑病菌菌丝体的毒力

Table 1 The virulence of 5 fungicides to mycelium of pathogen of leaf spot disease of *Zizyphus jujube*

菌株 Strains	杀菌剂 Fungicides	毒力回归方程 Virulence regression equation	抑制中浓度 $EC_{50}$ /g · L <sup>-1</sup>	相关系数 $R^2$
极细链格孢 <i>A. tenuissima</i>	25%阿米西达 25% Azoxystrobin	$y=0.6514x+5.0537$	0.821	0.951
	75%百菌清 75% Chlorothalonil	$y=1.3665x+5.6154$	0.354	0.950
	70%甲基硫菌灵 70% Thiophanate-Methyl	$y=1.0100x+4.6393$	2.278	0.972
	25%苯醚甲环唑 25% Difenoconazole	$y=0.4691x+4.5403$	10.049	0.799
	70%代森锰锌 70% Mancozeb	$y=0.6452x+5.8202$	0.053	0.902
	25%阿米西达 25% Azoxystrobin	$y=0.5426x+5.0573$	0.782	0.922
	75%百菌清 75% Chlorothalonil	$y=1.6532x+5.4956$	0.503	0.978
	70%甲基硫菌灵 70% Thiophanate-Methyl	$y=0.9574x+4.8247$	1.518	0.965
	25%苯醚甲环唑 25% Difenoconazole	$y=0.4325x+4.4408$	20.245	0.945
	70%代森锰锌 70% Mancozeb	$y=1.6970x+7.1505$	0.054	0.967
链格孢 <i>A. alternata</i>	70%甲基硫菌灵 70% Thiophanate-Methyl	$y=0.9574x+4.8247$	1.518	0.965

表2 5种杀菌剂对红枣叶斑病菌孢子萌发的毒力

Table 2 The virulence of 5 fungicides to spore germination of pathogen of leaf spot disease of *Zizyphus jujube*

菌株 Strains	杀菌剂 Fungicides	毒力回归方程 Virulence regression equation	抑制中浓度 $EC_{50}$ /g · L <sup>-1</sup>	相关系数 $R^2$
极细链格孢 <i>A. tenuissima</i>	25%阿米西达 25% Azoxystrobin	$y=1.7509x+5.3297$	0.643	0.950
	75%百菌清 75% Chlorothalonil	$y=3.1284x+5.8499$	0.528	0.970
	70%甲基硫菌灵 70% Thiophanate-Methyl	$y=2.0677x+5.4010$	0.636	0.965
	25%苯醚甲环唑 25% Difenoconazole	$y=0.8817x+4.8056$	1.666	0.958
	70%代森锰锌 70% Mancozeb	$y=1.3083x+7.1788$	0.021	0.971
	25%阿米西达 25% Azoxystrobin	$y=0.7962x+5.2345$	0.507	0.951
	75%百菌清 75% Chlorothalonil	$y=1.6315x+5.6140$	0.423	0.938
	70%甲基硫菌灵 70% Thiophanate-Methyl	$y=1.6315x+5.6140$	0.312	0.938
	25%苯醚甲环唑 25% Difenoconazole	$y=1.0356x+4.9199$	1.197	0.872
	70%代森锰锌 70% Mancozeb	$y=1.1021x+6.8863$	0.019	0.975
链格孢 <i>A. alternata</i>	70%甲基硫菌灵 70% Thiophanate-Methyl	$y=1.6315x+5.6140$	0.312	0.938

### 3 结论与讨论

该试验对新疆红枣叶斑病病原菌的生物学特性进行了研究并对有效的防治药剂进行了筛选。生物学特性研究结果表明,红枣叶斑病菌*A. tenuissima*和*A. alternata*在10~35℃范围内均可生长,在20~30℃的生长较快,最适生长温度为28℃,5℃以下和40℃以上则菌丝几乎停止生长,这与王宏等<sup>[11]</sup>对*A. alternata*的研究结果一致。病原菌在pH 5~10均能很好生长,最适宜pH为7~9,这与王宏等<sup>[11]</sup>的研究结果也一致。新疆南疆地区春季温度上升较快,夏季又高温炎热,6~10月份日均温度均在25℃以上,同时新疆红枣栽培区土壤大多偏碱性,这些气候和土壤条件均有利于该病害的发生。

该研究通过菌丝生长抑制率法和孢子萌发抑制率法测定了5种杀菌剂对新疆红枣叶斑病病菌的毒力,结果表明70%代森锰锌对病原菌菌丝生长抑制作用最强,同时对病菌孢子萌发的抑制活性也最好,这与于占晶等<sup>[12]</sup>、李洪连等<sup>[13]</sup>研究结果基本一致,同时代森锰锌已被广泛用于防治链格孢菌引起的植物病害<sup>[14]</sup>。代森锰锌是广谱性杀菌剂,对病原菌作用位点较多,病原菌不易产生抗性<sup>[15]</sup>,其还有对高等动物低毒、低残留等优点。红枣是一种既可作中药也大量用于食用的干果,在种植过程中叶斑病发生较为普遍,该研究筛选出了70%代森锰锌作为该病害的最佳药剂,在叶斑病发生早期使用,即可有效抑制病原菌生长,又可有效抑制病原菌孢子的萌发和传播,对叶斑病可起到良好的防治效果。

### 参考文献

- [1] Zhao Z H, Liu M J, Tu P F. Characterization of water soluble polysaccharides from organs of Chinese Jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao) [J]. European Food Research Technology, 2008, 226(5): 985-989.
- [2] Sun L, Jiang J. Effect of jujube extract on oxidative injury in heart muscles of exhausted training rats [J]. African Journal of Microbiology Research, 2011, 5(14): 1896-1899.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 林忠敏, 赵晓军, 赵子俊, 等. 红枣果实黑斑病的病原分离和鉴定[J]. 山西农业科学, 2001, 29(1): 74-77.
- [6] 郑晓莲, 赵光扭, 武丽芬, 等. 枣缩果病主要病原菌生物学特性的初步研究[J]. 植物保护, 1996, 22(1): 13-16.
- [7] 方中达. 植物研究方法[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 46-49.
- [8] 董国菊, 申晚霞. 重庆地区玉米圆斑病菌生物学特性的测定[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2010, 32(12): 8-13.
- [9] 杨书宇, 苏淑钗, 樊桂敏, 等. 阿月浑子褐斑病防治药剂筛选[J]. 北方园艺, 2011(12): 17-20.
- [10] 简经, 杨青松, 李晓刚, 等. 喀霉胺对梨黑斑病菌(*Alternaria alternata*)的毒力及其药效评价[J]. 植物保护, 2009, 35(4): 162-163.



# 金银花立枯病的发生特点及防治措施

岑怡红<sup>1</sup>, 沙波<sup>1</sup>, 张万芹<sup>1</sup>, 练启仙<sup>1</sup>, 桑维钧<sup>2</sup>

(1. 兴义民族师范学院, 贵州 兴义 562400; 2. 贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025)

**摘要:** 以从黔西南州安龙县金银花种植基地采集的感立枯病植株为试材, 采用组织分离法对该病原菌进行了分离、鉴定和室内毒力测定, 以期明确金银花立枯病的发生特点, 并为该病的防治提出相应措施。结果表明: 经鉴定, 金银花立枯病的病原菌为立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kuhn.); 5种供试药剂中, 50%多菌灵、70%甲基托布津、80%炭疽福美对金银花立枯病菌丝有较好的抑制效果; 同时针对此病害的发生特点, 提出应合理轮作、适时播种、加强田间管理和药剂防治相结合等措施。

**关键词:** 金银花; 立枯病菌; 发生特点; 防治措施

**中图分类号:** S 567.7<sup>+</sup>9 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2013)08-0135-03

金银花(*Lonicera japonica* Thunb.) 属忍冬科(Caprifoliaceae)忍冬属(*Lonicera*)多年生落叶或半长绿

藤本植物, 又名忍冬、双花等, 以干燥花蕾及带叶茎枝入药, 金银花自古被誉为清热解毒的良药。其性甘寒气芳香, 甘寒清热而不伤胃, 芳香透达又可祛邪。金银花既能宣散风热, 还善清解血毒, 用于各种热性病, 如身热、发疹、发斑、热毒疮痍、咽喉肿痛等症, 且效果显著<sup>[1-2]</sup>。同时金银花适应能力很强, 对于改善生态环境, 控制水土流失, 改良土壤具有重要的实际意义。贵州省黔西南州属于典型的喀斯特地形, 石漠化严重, 地貌类型复杂、

**第一作者简介:** 岑怡红(1977-), 女, 布依族, 贵州安龙人, 硕士, 副教授, 现主要从事生物学方面的教学与科研工作。E-mail: cyh197701@163.com.

**责任作者:** 桑维钧(1963-), 男, 本科, 教授, 硕士生导师, 现主要从事植物病理学的教学与科研工作。E-mail: wjsang@163.com.

**收稿日期:** 2012-12-11

[11] 王宏, 常有宏, 陈志谊. 梨黑斑病病原菌生物学特性研究[J]. 果树学报, 2006, 23(2): 247-251.

[12] 于占晶, 侯晓杰, 冉隆贤. 壶瓶枣褐斑病的室内药剂筛选[J]. 中国森林病虫, 2009, 28(4): 27-29.

[13] 李洪连, 邢小萍, 袁虹霞, 等. 小麦黑胚病药剂防治研究[J]. 麦类作物

学报, 2005, 25(5): 100-103.

[14] 李云国, 阮应珍, 罗嵘, 等. 代森锰锌防治苹果斑点落叶病田间药效试验[J]. 农药科学与管理, 2008, 29(3): 33-35.

[15] 时春喜, 李恩才. 多菌灵与代森锰锌混配对梨黑星病菌和苹果斑点落叶病菌的增效研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2003, 31(4): 130-134.

## Study on Biological Characteristics of Leaf Spot Bacteria of *Zizyphus jujuba* in Xinjiang and Fungicide Screening in Laboratory

WANG Zhi-xia, WANG Bin, ZHAO Si-feng, SUN Jie, HE Li, LIU Wen-kui

(Key Laboratory of Prevention and Control for Oasis Crop Diseases, College of Agronomy, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003)

**Abstract:** Taking two strains of leaf spot bacteria of *Zizyphus jujuba* *Alternaria tenuissima* and *A. alternata* as materials, the effect of temperature and pH on the growth of *Alternaria tenuissima* and *A. alternata* were studied using mycelia growth speed method. The inhibition methods of mycelia growth and spore germination were tested to screen the best fungicide from 5 fungicides, in order to definite the biological characteristics and screen effective fungicides against the leaf spot pathogen of *Zizyphus jujuba*. The results showed that the optimum temperature for mycelial growth of the pathogen was 25~30°C and the optimum pH ranged from 7 to 9. The 70% Mancozeb could significantly inhibit mycelium growth of the pathogen, the EC<sub>50</sub> values were 0.053 and 0.054 g/L, and could greatly depress spore germination with inhibition, the EC<sub>50</sub> values were 0.021 and 0.019 g/L. The 70% Mancozeb will be preferred to control leaf spot disease of *Zizyphus jujuba* in Xinjiang.

**Key words:** *Zizyphus jujuba*; leaf spot disease; *Alternaria*; biological characteristics; fungicide screening