

观赏凤梨叶斑病原鉴定及其防治药剂筛选

冯淑杰, 梁慧敏, 张荣, 刘爱媛, 刘海涛 (华南农业大学园艺学院, 广东广州510642)

摘要 [目的] 为了明确引起观赏凤梨叶斑病的病原和选择有效的药剂进行防治。[方法] 采集具有典型症状的病害标本, 根据柯赫氏法则分离病原物, 并观察病原物形态特征; 同时, 分别测试了5种供试杀菌剂在2种不同浓度下对病原菌的抑菌作用。[结果] 结果表明, 半知菌亚门的炭疽菌(*Colletotrichum* sp.) 和弯孢霉(*Curvularia* sp.) 均能够引起观赏凤梨叶斑病。70% 甲基托布津可湿性粉剂和50% 施保功可湿性粉剂可有效地抑制炭疽菌菌丝的生长; 而80% 大生可湿性粉剂和50% 施保功可湿性粉剂则可有效抑制弯孢霉菌丝的生长。[结论] 要同时防治炭疽菌和弯孢霉导致的凤梨叶斑病, 应该选用50% 施保功可湿性粉剂。

关键词 观赏凤梨; 叶斑病; 病原鉴定; 杀菌剂筛选

中图分类号 S436.8 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)22-09611-02

Identification of Pathogen the Leaf Spot Disease on the Ornamental Pineapple and Screening of Fungicides

FENG Shujie et al (College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642)

Abstract [Objective] The research aimed to determine the pathogen caused by the leaf spot disease of ornamental pineapple, and screen effective fungicides. [Method] Disease samples showed typical symptom were collected and pathogen was isolated based on Koch's rule. The fungi were identified by morphological characters. And 5 fungicides were selected and used for controlling the disease. [Result] The results showed that the leaf spot disease of ornamental pineapple was caused by *Colletotrichum* sp. and *Curvularia* sp.. The 70% Thiophanate-methyl and 50% Prochloraz could effectively inhibit the mycelial growth of *Colletotrichum* sp., and 80% Dthane and 50% Prochloraz had strong inhibition effects to the mycelial growth of *Curvularia* sp.. [Conclusion] If simultaneously controlling *Colletotrichum* sp. and *Curvularia* sp., 50% Prochloraz should be chose.

Key words Ornamental pineapple; Leaf spot disease; Pathogen identification; Screening of fungicides

凤梨(*Ananas comosus*) 属凤梨科(*Bromeliaceae*) 凤梨属(*Ananas*), 又名果子蔓、菠萝花, 是重要的园艺观赏植物^[1]。除了可以观叶之外, 凤梨还可以观花、观果, 并以独特的风姿而深受人们的喜爱。我国从20世纪80年代中后期开始从国外大量引进凤梨, 因此观赏凤梨在我国引种和栽培的历史相对较短, 对其病害种类了解的不如其他花卉多, 且较多为生理性病害, 对侵染性病害了解不多^[2-4]。然而由于其形态、栽培措施和栽培环境上的特殊性, 常容易引发多种病害。病害的发生不仅会使植株生长不良, 而且还会严重影响到其观赏价值。为了控制这些病害的发生以及降低其对植物造成的损失, 必须制定一些相应的防治措施。为此, 笔者对凤梨叶斑病的病原进行了分离、鉴定, 并根据鉴定到的病原菌进行了相应的化学药剂的筛选, 旨在为凤梨叶斑病的防治提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 病原物的分离培养 从华南植物园采集具有典型症状的凤梨叶斑病标本, 采用组织分离法进行病原物的分离培养。然后将分离物分别进行纯化培养, 选取具有代表性的菌株, 置于4℃冰箱保存。

1.2 致病性测定 人工接种前将保存的病原菌移植在PDA培养基上, 在25℃下培养7 d。人工接种所用植物材料为观赏凤梨“红星”。用梅花针将凤梨叶片刺伤, 将直径为5 mm的菌苔贴在伤口处, 以空白培养基为对照, 接种后保湿24 h。分离得到的所有菌株全部用来进行致病性测定, 每个菌株重复接种3次。

1.3 病原菌鉴定 炭疽病菌的鉴定根据张海英等的描述, 在PDA培养基上, 25℃下培养7 d后, 观察菌落、气生菌丝、分生孢子盘、分生孢子、分生孢子梗的色泽和形态^[5]。

弯孢霉的鉴定根据David和李晓宇等的描述, 在PDA培养基上, 25℃培养5 d后, 观察菌丝、分生孢子、分生孢子梗的色泽和形态^[6-7]。

1.4 不同杀菌剂对病原菌生长的抑制作用

1.4.1 供试杀菌剂。 供试杀菌剂分别为50% 施保功可湿性粉剂(德国艾格福公司(AgrEvo)生产), 70% 代森锰锌可湿性粉剂(江苏利民化工有限责任公司生产), 75% 百菌清可湿性粉剂(云南化工厂生产), 70% 甲基托布津可湿性粉剂(日本曹达株式会社生产), 80% 大生可湿性粉剂(美国陶氏益农公司生产)。

1.4.2 抑菌试验。 采用菌丝生长速率测定法测定不同杀菌剂对病原菌的生长抑制作用。在定量的灭好菌的PDA培养基中分别加入不同的杀菌剂, 配制成含不同杀菌剂的培养基平板。然后将直径为5 mm的菌苔接入含有杀菌剂的培养基平板上, 置于28℃下培养, 以不加杀菌剂的处理作对照。培养6 d后测量菌落生长半径, 计算生长抑制率, 每个处理重复4次。为了测试不同浓度杀菌剂对病原菌的影响, 每种杀菌剂采用2种浓度: 500、1 000 μg/ml。菌丝的生长抑制率按下面公式进行计算:

$$\text{菌丝生长抑制率}(\%) = \frac{\text{对照菌落生长直径} - \text{处理菌落生长直径}}{\text{对照菌落生长直径}} \times 100$$

1.5 数据处理 数据分析用DPS统计软件进行统计分析, 采用邓肯氏新复极差检验法(DMRT)。

2 结果与分析

2.1 病害症状分析 病害发生时, 以为害凤梨叶片为主。病害通常从叶尖处开始。初期, 叶尖或叶缘出现褪绿斑, 然后褪绿部分变褐, 并向叶片内部扩展, 在叶尖或叶缘形成病斑。病斑浅褐色, 后扩展成圆形, 椭圆形, 或不规则形, 并具有明显的黄色晕圈; 病害发展到后期, 病斑中央组织变成暗褐色, 叶尖焦枯, 病害发生时产生的病斑严重影响到叶片外观和植物正常的生长发育。严重时叶片脱落, 甚至全株

基金项目 广东省自然科学基金资助项目(07006697)。

作者简介 冯淑杰(1978-), 女, 山东青州人, 博士, 讲师, 从事植物病原真菌及真菌病害方面的研究。

收稿日期 2008-06-18

死亡。

2.2 分离物的致病性分析 将采用组织分离培养法得到的6个菌株经过纯化培养后,分别接种到凤梨植株的叶片上。接种6 d后,接种1号和6号菌株的植株叶片表面出现褐色病斑。取接种后发病的部位再次进行组织分离,得到的分离物和第1次得到的分离物相同。

2.3 病原菌的培养性状与形态特征分析 1号菌株在PDA培养基平板上,25℃培养5 d后,菌落平铺,呈灰色,分生孢子梗呈褐色,多隔,顶端细胞颜色淡。分生孢子纺锤状至椭圆形,3个隔膜,偶尔见1~2个隔,直,少数弯曲或呈曲膝状,壁厚,一般第3个细胞最大,褐色,第2个细胞为淡褐色,两端细胞色淡,榄褐色,基细胞孢痕不明显。因此,该菌株被鉴定为弯孢霉 *Curvularia* sp.。

6号菌株在PDA培养基上病原菌一般呈等径辐射生长,菌落圆形,呈地毯状平铺;初期为白色,逐渐变为橄榄绿,最

后变为灰黑色,偶尔有扇变;菌丝埋生,菌丝分隔、分支,气生菌丝少。培养中不产生分生孢子盘。分生孢子圆柱形或圆筒形,单孢,无色,两头钝圆,内含2~3个油球,新鲜孢子团橘黄色。因此,该菌株被鉴定为半知菌亚门炭疽菌属(*Colletotrichum* sp.)。

2.4 不同杀菌剂对病原菌生长的抑制作用 5种供试杀菌剂对凤梨叶斑病病原炭疽菌和弯孢霉菌丝生长均有一定程度的抑制作用(表1)。对于炭疽病而言,70%甲基托布津是5种供试杀菌剂中效果最好的,当供试浓度为500、1 000 μg/ml时,70%甲基托布津对该病原菌菌丝的生长都有很强的抑制作用;50%施保功的抑制作用略低于70%甲基托布津,但仍可以达到比较好的效果,并且随着浓度的升高,抑制作用越明显;75%百菌清的效果较差,且不同浓度之间的抑制效果无显著性差异;70%代森锰锌和80%大生抑制率最弱。

表1 不同杀菌剂对观赏凤梨叶斑病病原菌丝生长的抑制作用

Table 1 Inhibition of different bactericides on the mycelial growth of leaf spot pathogens in ornamental pineapple

供试杀菌剂 Test bactericides	浓度 μg/ml Concentration	炭疽菌 <i>Colletotrichum</i> spp.		弯孢霉 <i>Curvularia lunata</i>	
		菌落直径 Colony diameter /mm	抑制率 Inhibition rate /%	菌落直径 Colony diameter /mm	抑制率 Inhibition rate /%
50% 施保功	500	11.8 f	81.85 d	10.0 f	87.35 b
50% Sporgon	1 000	8.5 g	86.92 c	9.2 f	88.13 b
70% 代森锰锌	500	44.8 b	31.08 i	28.0 e	63.87 d
70% Marcozeb	1 000	43.2 b	33.54 h	27.5 e	64.52 d
75% 百菌清	500	30.2 e	53.54 e	48.8 d	42.19 e
75% Chlorothalonil	1 000	27.2 e	58.15 e	43.7 d	43.61 e
70% 甲基托布津	500	7.7 g	88.15 b	66.5 b	14.19 h
70% Thiophanate methyl	1 000	7.2 g	91.85 a	52.2 c	29.29 f
80% 大生	500	37.8 c	41.85 g	20.2 e	73.94 c
80% Dithare	1 000	33.2 d	48.46 f	7.8 f	89.94 a
CK		67.0 a	0 j	82.0 a	0 i

注:同列不同字母表示在0.05水平上有差异。

Note: Different letters behind the data in the same column mean significant difference at 0.05 level.

对于弯孢霉而言,当供试浓度为500、1 000 μg/ml时,50%施保功、80%大生对该病原菌菌丝的生长有很强的抑制作用,不同浓度的50%施保功的抑菌效果无显著差异,而不同浓度的80%大生的抑菌效果存在显著差异。较高浓度时,80%大生的效果要好于50%施保功,但是在低浓度时,没有50%施保功的效果好;70%代森锰锌和75%百菌清的抑制效果低于前两者,且不同浓度之间无显著差异;70%甲基托布津的抑制效果最差,提高浓度,抑菌效果略有提高,但效果仍不明显。

3 结论与讨论

观赏凤梨多为室内观赏植物,尤其对于观叶类凤梨来说,叶斑病的发生严重影响凤梨的观赏价值及其生长。曾莉等对广东省凤梨科观赏植物真菌病害的调查结果表明,围小从壳(*Gomerrellia cinghata*)、辣椒炭疽菌(*Colletotrichum capsici*)、水塔花星裂盘菌(*Phacidium billergae*)、凤梨顶多毛孢菌(*Bartalina aranassa*)、可可球二孢(*Botryodiploda theobromae*)、钝头黏盘孢(*Collectogloeum obtusum*)、油球拟茎点霉(*Phonopsis dialodinioides*)、筒凤梨拟茎点霉(*Phonopsis spectabilis*)都可以为害凤梨的叶片,引起叶斑病^[3]。该研究中,通过对凤梨叶斑组织提取物的培养分离,以及对分离物的致病性测定,得出诱发凤梨叶斑病的病原菌为炭疽菌(*Colletotrichum* sp.)和弯

孢霉(*Curvularia* sp.)。两者单独侵染或是复合侵染都可以引起叶斑病的发生。该研究中分离到的2种叶斑病病原菌都是以前没有报道过的。

70%甲基托布津对凤梨炭疽病菌菌丝生长有较强的抑制作用,但对凤梨弯孢霉菌丝生长的抑制作用较弱。80%大生对凤梨弯孢霉菌丝生长有较强的抑制作用,但对凤梨炭疽病菌菌丝生长的抑制作用较弱。50%施保功对凤梨2种叶斑病菌菌丝生长均有较强的抑制作用。杀菌剂不同浓度之间的抑菌效果比较表明,无论是炭疽菌还是弯孢霉,对其抑制效果不好的杀菌剂,即使提高浓度,抑菌效果不会有明显提高。因此,在选择化学防治药剂时,为了保证防治效果和避免浪费以及减少对环境的污染,应该选择合适的药剂和恰当的浓度。

观赏凤梨栽培条件的特殊性有利于各种叶斑病的发生和蔓延,因此,要控制该类病害的发生,首先要加强观赏凤梨的栽培管理。栽培过程中要给予适当的光照和充足的养分,以保证凤梨的正常生长,提高其自身的抗病力。如果发现病叶出现,要及时剪除,必要时可用50%施保功可湿性粉剂进行喷药防治。

(下转第9614页)

验小区按随机区组排列,4次重复,每小区500棵百合,试验区设20个小区。

1.3.2.3 调查方法。防效调查方法:最后一次施药后15 d第1次调查,最后一次施药后45 d时进行第2次药效调查。调查小区中所有百合植株,统计病株率、计算病情指数、发病率和防治率。

病情分级标准为5级:0级,全株无病;1级,全株1/4以下叶片表现黄化或变紫色;2级,全株1/4~1/2叶片表现症状,植株矮化;3级,全株1/2~3/4叶片表现症状,植物明显矮化;4级,全株表现症状,茎基部缢缩,甚至全株枯萎^[3]。

$$\text{相对防治效果}(\%) = \frac{(\text{对照区发病率} - \text{处理区发病率})}{\text{对照区发病率}} \times 100$$

计算发病率、病情指数及防治效果,并采用邓肯氏新复极差法来比较各处理间均数差异性。

2 结果与分析

2.1 康地蕾得对百合镰刀菌枯萎病菌的室内毒力测定结果由表1可知,康地蕾得FG对百合镰刀菌枯萎病菌有较高的生物活性。试验所设的5个梯度浓度由低到高对百合镰刀菌枯萎病菌的平均抑制率分别为19.76%、46.27%、72.97%、83.06%和91.96%。

表1 康地蕾得FG对百合镰刀菌枯萎病菌丝生长的抑制率

Table 1 Inhibition rate of the mycelial growth of lily fusarium wilt by Kangdileide FG

处理	浓度 ng/L	直径 mm	抑制率 %
Treatment	Concentration	Diameter	Inhibition rate
康地蕾得FG	500	61.38	19.76 eE
Kangdileide FG	1 000	41.10	46.27 dD
	1 500	20.68	72.97 cC
	2 000	12.96	83.06 bB
	2 500	6.15	91.96 aA
空白对照CK	0	76.50	-

注:菌落半径及抑制率均为3次重复平均值。表中同列不同小写字母表示在0.05水平有显著差异,同列不同大写字母表示在0.01水平有极显著差异。下表同。

Nte :The colony radius and the inhibition rate are the average of 3 repetitions .

Different small letters in the same row means significant difference at 0.05 level and different capital letters in the same row mean extremely significant difference at 0.01 level . The same as below .

将药剂浓度和平均抑制率进行对数值和机率值转换,求出毒力回归方程: $Y = 1.8223 + 3.2102X$; $R = 0.9942$, EC_{50} 为977.00 ng/L; EC_{70} 值为1 423.00 ng/L; EC_{90} 值为2 449.62 ng/L。供试药剂稀释1 023倍时,对百合镰刀菌枯萎病病原菌的抑菌率可达到50%;供试药剂稀释702倍时,对百合镰

刀菌枯萎病病原菌的抑菌率可达到70%;当供试药剂稀释408倍时,对百合镰刀菌枯萎病病原菌的抑菌率可达到90%。

2.2 康地蕾得对百合镰刀菌枯萎病的田间防效试验结果从表2可以看出,康地蕾得FG30.0、37.5、45.0 kg/hm²3个处理均对百合镰刀菌枯萎病有一定的防治效果。随着使用剂量的提高,防治效果也有所提高,且具有良好的持效性。药后15 d及药后45 d时的防效均明显优于对照药剂3%多抗霉素WP的防治效果。

表2 康地蕾得FG对百合镰刀菌枯萎病的防治效果

Table 2 Control effects of Kangdileide FG on lily fusarium wilt

供试药剂 Test medication	用量 Dosage kg/hm ²	平均防效 Average efficacy %	
		药后15 d After medication 15 d	药后45 d After medication 45 d
康地蕾得FG	30.0	60.17 cC	55.08 bB
Kangdileide FG	37.5	72.55 bB	64.41 aA
	45.0	78.53 aA	68.32 aA
3%多抗霉素 WP	0.72	34.18 dD	27.05 cC
3% Polyoxin WP	-	-	-
对照CK	-	-	-

3 结论与讨论

随着农业产业结构的调整,经济作物的种植已经逐渐形成规模化,但随着种植年限的增加,土传病害的为害日益严重,导致产量降低,品质下降,农民的收入减少。目前常用的化学防治已引起严重的抗药性,用药浓度不断加大,造成严重的环境污染,给生产造成很大威胁。通过大量的生物农药防治试验结果不难看出,使用生物农药不仅可使作物病害得到有效的防治,还可促进作物规模化种植的可持续发展^[4-5]。试验结果表明,康地蕾得对百合镰刀菌枯萎病菌有较好的抑制作用,通过毒力方程计算出 EC_{90} 为2 449.62 ng/L,即当供试药剂稀释408倍时,对百合镰刀菌枯萎病菌的抑菌率可达到90%。该数据为田间试验的使用剂量提供依据。田间药效试验表明,康地蕾得FG的使用剂量在30~45 kg/hm²范围内对百合镰刀菌枯萎病均具有良好防效,在速效性及持效性上优于对照药剂3%多抗霉素WP,试验过程中未发现试验药剂产生药害问题。

参考文献

- [1] 李诚,李俊杰.百合枯萎病病原菌鉴定[J].植物病理学报,1996,26(2):192.
- [2] 黄后璐,韦春洪,韦勇.康地蕾得细粒剂防治番茄青枯病试验[J].广西植保,2005,18(4):5.
- [3] 李诚,李俊杰,薛春胜.百合枯萎病发生规律及防治研究[J].植物保护学报,1994,21(2):135-137.
- [4] 田雪亮,霍云凤,单长卷,等.内生细菌对温室黄瓜枯萎病的防治作用[J].安徽农业科学,2006,34(7):1385-1386.
- [5] 刘年浪,焦图强,张剑,等.枯草芽孢杆菌菌剂在黄瓜枯萎病防治上的应用初报[J].湖南农业科学,2006(3):81-83.

2006,34(6):66-67.

- [5] 张海英,张明会,刘志恒,等.草莓炭疽病病原鉴定及其生物学特性研究[J].沈阳农业大学学报,2007,38(3):317-321.
- [6] DAVID J C. A contribution to the systematics of Cladosporium: Revision of the fungus previously referred to Heterosporium[J]. International Mycological Institute, 1997,172:1-157.
- [7] 李晓宇,石洁,董金皋.几种玉米弯孢霉叶斑病菌生物学特性的比较[J].河北农业大学学报,2002,25(3):61-69.

(上接第9612页)

参考文献

- [1] 靳文东,杨明琪.观赏凤梨[J].中国花卉盆景,2005(3):19.
- [2] 梁伟.兰州引进观赏凤梨的病害发生情况初报[J].甘肃农业科技,2000(3):42-43.
- [3] 曾莉,姜子德,戚佩坤.广东省凤梨科观赏植物真菌病害鉴定1[J].热带作物学报,2004,25(3):47-52.
- [4] 郑良永,林家丽.观赏凤梨的主要病虫害及其防治技术[J].西南园艺,