

金叶女贞叶斑病菌的分离鉴定与药效试验

李玉中¹,王 彤¹,王 彬²,王芳宇¹,滕 涛¹,何丽芳¹

(1. 衡阳师范学院 生命科学系,湖南 衡阳 421008;2. 徐州空军学院 航空军需系,江苏 徐州 221000)

摘要:为了鉴定金叶女贞叶斑病的致病菌,寻找有效的防治药剂,通过组织分离法和形态学方法对引起金叶女贞叶斑病的病原菌进行了分离、纯化和鉴定,采用平皿菌丝生长抑制法测定了3种杀菌剂对该病原菌的抑制效果。结果表明:引起衡阳地区金叶女贞叶斑病的病原菌为蔓荆子棒孢(*Corynespora viticis*),50%多菌灵和75%百菌清对该病菌的生长有较好的抑制效果,EC₅₀分别为1.782和2.080 g·L⁻¹,可作为该病的有效防治药剂。

关键词:金叶女贞;病原菌;鉴定;药效

中图分类号:S436.8

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)08-0062-03

金叶女贞(*Ligustrum vicaryi*)为木犀科、女贞属、半常绿小灌木,是加州金边女贞和欧洲女贞的杂交种^[1],因其叶色艳丽,具有较强的适应能力及成熟的栽培技术,在城市绿化及园林应用中得到大力推广^[2]。随着金叶女贞的引种和在我国种植面积的不断增大,金叶女贞叶部病害的发生越来越频繁和严重。2000~2010年,我国部分城市发生了金叶女贞叶部病害。引起金叶女贞叶部病害的病原有素馨生棒孢(*Corynespora jasminicola* Meenu, Kharwar & Bhartiya)、蔓荆子棒孢(*C. viticis*)和假尾孢菌(*Pseudocercospora* sp.)等^[3-8]。近年来,衡阳地区金叶女贞叶斑病害发生严重,但未见对该地区此病害的研究报道。该文对引起衡阳地区金叶女贞叶斑病的病原菌进行了鉴定,并测定了常用药剂对该病原菌的抑制效果,以期在金叶女贞叶部病害的防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试病原标样采自衡阳市区街道、大学校园等普遍发病的金叶女贞病叶;供试药剂有75%百菌清 WP(英国奥瑞特集团公司),70%纯品甲托 WP(泉州市中讯化工有限公司),50%多菌灵 WP(珠海凯特生物技术有限公司);供试培养基为马丁氏培养基,其配方为 KH₂PO₄ 1 g, MgSO₄·7

H₂O 0.5 g,蛋白胨 5 g,葡萄糖 10 g,琼脂 15~20 g,水 1 000 mL,pH 自然;

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分离与纯化 参考方中达的方法分离病原菌^[9]:选取具有典型病斑的病叶,在其病健交界处剪取边长 2~3 mm 的病组织,于70%乙醇中浸泡 30 s,用镊子夹取至 0.1%升汞溶液消毒 1~2 min,最后用灭菌水漂洗 3 次,将其置于马丁氏培养基平板上,25±1℃培养,待从病组织长出菌丝后,用接种针挑取菌丝于新的马丁氏培养基平板上,25±1℃培养 4 d,将纯种菌株接种试管斜面,培养至菌丝长满斜面,置 4℃冰箱保存待用。

1.2.2 病原菌的鉴定 将采集的部分典型病叶用灭菌水清洗表面,将其置于灭菌且铺有无菌滤纸的培养皿内,加灭菌水室温保湿 3~5 d,用刀片切取或刮取发病部位的病组织,将其置于载玻片上的清水中,制作临时玻片,显微镜下观察病原菌的形态,用测微尺测量病原菌分生孢子梗及孢子的大小并拍照。根据形态对病原菌进行鉴定。

1.2.3 3种杀菌剂对金叶女贞叶斑病菌生长的影响 50%多菌灵共设 6 个浓度,分别为 2.500、1.250、0.625、0.313、0.156 和 0.078 g·L⁻¹;75%百菌清共设 6 个浓度,分别为 10.000、3.333、1.111、0.370、0.123 和 0.041 g·L⁻¹;70%纯品甲托共设 6 个浓度,分别为 10.000、5.000、2.500、1.250、0.625 和 0.313 g·L⁻¹。

采用平皿菌丝生长抑制法测定供试药剂对病原菌菌丝生长的抑制活性^[10-11]。将供试菌株接种到马丁氏培养基上,置于 25±1℃培养箱内活化

收稿日期:2014-03-22

基金项目:衡阳市科技局科技发展计划资助项目(2011 KN12);衡阳师范学院大学生研究性学习和创新性实验计划资助项目(CX1316)

第一作者简介:李玉中(1978-),男,山东省聊城市人,博士,副教授,从事微生物及植物病害防治等教学与科研工作。E-mail:yzl_2002@163.com。

培养 5~6 d,用打孔器打取直径 6 mm 的菌饼接种于不同浓度的含药马丁氏培养基平板中央,25±1℃培养,3 次重复,以加等量无菌水的培养基为对照;培养 7 d 后用十字交叉法测量菌落直径,计算各药剂对病菌的抑制率^[12],用 DPS 2000 分析计算毒力回归方程和 EC₅₀。

生长抑制率(%)=
$$\frac{\text{对照直径}-\text{处理直径}}{\text{对照直径}-\text{菌饼直径}}\times 100$$

2 结果与分析

2.1 金叶女贞叶斑病原菌的鉴定结果

病原菌孢子生于叶斑两面,菌丝体多内生,少表生,浅褐色。分生孢子梗单生或 2~5 个簇生,3~7 个分隔,直立或稍弯曲,不分枝,圆柱形,(120.1~560.5)μm×(6.2~8.0)μm,基部细胞膨大呈球状,黑褐色,顶部稍细,色淡。分生孢子单生或 2~3 个链生,先生于孢子梗顶端,后在层出梗上长出,浅褐色,圆柱形,直立或稍弯曲,顶

部钝圆,基部平截,假隔膜多,有的不明显,孢子大小为(85.0~370.0)μm×(6.2~8.3) μm。根据观察测量结果,参考张猛等^[7]和郭兰英^[13]的形态描述,初步将该病原菌鉴定为蔓荆子棒孢(*Corynespora viticis*)。

2.2 三种药剂对金叶女贞叶斑病菌的抑制效果

由表 1 可知,3 种药剂对叶斑病菌的生长均有抑制作用,但药剂之间存在显著差异。3 种药剂的药效都随浓度降低而减弱。在试验的浓度范围内,50%多菌灵当浓度为 2.500 g·L⁻¹时,抑制率最高,达 72.2%,极显著高于其它浓度处理。当浓度低于 0.156 g·L⁻¹时,对该菌生长几乎无抑制效果。75%百菌清浓度为 10.000 g·L⁻¹时,金叶女贞叶斑病菌的生长抑制效果最高,达74.2%,极显著高于其它浓度处理。70%纯品甲托的抑菌效果最差,即使高浓度时(10.000 g·L⁻¹),抑菌率只有 39.2%。

表 1 3 种药剂对菌丝生长的抑制效果
Table 1 Control effect of three fungicides on *Corynespora viticis*

药剂名称 Fungicides	浓度/ g·L ⁻¹ Concen- tration	菌落 直径/cm Diameter	抑制率/% Inhibition rate	药剂名称 Fungicides	浓度/ g·L ⁻¹ Concen- tration	菌落 直径/cm Diameter	抑制率/% Inhibition rate	药剂名称 Fungicides	浓度/ g·L ⁻¹ Concen- tration	菌落 直径/cm Diameter	抑制率/% Inhibition rate
50%多菌灵	2.500	2.58	72.2 A	75%百菌清	10.000	2.44	74.2 A	70%纯品	10.000	4.94	39.2 A
50%Carbendazim	1.250	5.51	31.2 B	75%	3.333	3.27	62.7 B	甲托	5.000	6.48	17.7 B
	0.625	6.41	18.6 C	Chlorothalonil	1.111	3.94	53.2 C	70%	2.500	6.74	14.0 C
	0.313	7.39	4.9 D		0.370	4.77	41.6 D	Cercobinm	1.250	6.85	12.5 C
	0.156	7.67	1.0 E		0.123	5.32	33.9 E		0.625	6.88	12.0 C
	0.078	7.74	—		0.041	5.38	33.0 E		0.313	7.11	8.8 D
CK	7.74	—	—	CK	7.74	—	—	CK	7.74	—	—

注:菌落直径为培养 7 d 的 3 次重复平均值;不同大写字母表示在 0.01%水平上差异显著。
Note:Colony diameters are the average value of three repeats after cultivating for seven days;Different capital letters mean significant difference at 0.01 level.

根据试验药剂浓度和对应的抑制率数据,回归分析得出,50%多菌灵和 75%百菌清的 EC₅₀ 分别为 1.782 和2.080 g·L⁻¹,说明二者是该病较为经济的防治药剂。

表 2 3 种杀菌剂对金叶女贞叶斑病菌抑制的回归方程及 EC₅₀

药剂 Fungicides	毒力回归方程 Toxic regression equation	相关系数 Correlation coefficient	抑制中浓度 EC ₅₀ /g·L ⁻¹ Medium inhibition concentration
50%多菌灵 50%Carbendazim	y=0.3x-0.03465	0.9969	1.782
75%百菌清 75%Chlorothalonil	y=0.035x+0.4272	0.8897	2.080
70%纯品甲托 70% Cercobinm	y=0.029x+0.07839	0.9712	14.538

注:x 表示药剂的浓度,y 表示对菌丝的抑制率。
Note:x means fungicides concentration,y means inhibition rate of mycelium.

3 结论与讨论

该研究结果表明,引起衡阳地区金叶女贞发病的病原菌为蔓荆子棒孢,与张猛等人报道的引起河南郑州金叶女贞叶斑病的病原一致^[7]。然而,何苏琴等研究表明,引起甘肃省兰州地区金叶女贞叶部病害的病原菌为素馨生棒孢^[6];王国良^[3-4]和蔡平等^[5]研究表明,假尾孢菌和棒孢霉菌可引起江浙等地的金叶女贞叶部病害。由此看来,在我国金叶女贞叶部病害发生普遍,且病原菌不唯一,在西北地区为素馨生棒孢,在华中地区为蔓荆子棒孢,在江浙一带为假尾孢菌和棒孢霉菌,这可能与不同地区适合不同病原菌的生长繁殖有关。另外,也说明金叶女贞是多种病原菌的合适寄主,因此种植和管理工作中应给予足够的重视。

王国良研究表明,多菌灵可较好地防治棒孢霉菌和假尾孢菌引起的金叶女贞叶斑病^[3-4];蔡平等研究表明用 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 百菌清可有效防治由假尾孢真菌引起的金叶女贞叶斑病^[5];徐东生研究表明,百菌清和多菌灵等对素馨生棒孢引起的叶斑病具有很好的防治效果^[14];该研究结果表明,多菌灵和百菌清对蔓荆子棒孢的生长有较好的抑制效果, EC_{50} 分别为 1.782 和 $2.080\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。由此看来,尽管引起金叶女贞叶部病害的病原菌不尽相同,但多菌灵和百菌清一般都能起到较好的防治效果,为金叶女贞叶部病害的防治提供了重要的科学参考。

参考文献:

[1] 孙晓萍. 金叶女贞的引种栽培和园林价值[J]. 浙江林学院

学报,1995,12(2):156-160.

[2] 林辰松,刘畅,王磊. 金叶女贞在城市和园林绿化中的应用[J]. 山西建筑,2010,36(14):352.

[3] 王国良. 金叶女贞假尾孢叶斑病初步研究[J]. 浙江万里学院学报,2000(2):14-16+8.

[4] 王国良. 金叶女贞轮纹病的初步研究[J]. 浙江农业科学,2000(4):37-39.

[5] 蔡平,毛建萍,陆小燕,等. 金叶女贞假尾孢病害的生物学特性和杀菌剂筛选[J]. 江苏林业科技,2005(2):5-7.

[6] 何苏琴,金秀琳,王卫成. 金叶女贞褐斑病原鉴定[J]. 植物保护,2006(2):70-72.

[7] 张猛,武海燕,裴洲洋,等. 河南省金叶女贞一新病害[J]. 河南农业大学学报,2008(2):220-222.

[8] 龙柏云,谢宝多,马白茵. 株洲市金叶女贞主要病虫害发生规律及防治对策[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2010(S2):167-169.

[9] 方中达. 植物研究方法[M]. 3版. 北京:中国农业出版社,1988:25-27.

[10] Marais I. Efficacy of fungicides against *Colletotrichum coccodes* on potato tubers[J]. Potato Research, 1990, 33: 275-281.

[11] 李玉中,杨芳,刘春,等. 衡阳地区莴笋叶斑病原菌的鉴定及其室内药剂筛选[J]. 江苏农业科学,2014,42(2):102-104.

[12] 杨成德,姜红霞,陈秀蓉,等. 甘肃省马铃薯炭疽病的鉴定及室内药剂筛选[J]. 植物保护,2012,38(6):137-133.

[13] 郭兰英. 棒孢菌属 4 个新种[J]. 真菌学报,1984,3(3):161-169.

[14] 徐东生. 农药防治金叶女贞褐斑病的研究[J]. 北方园艺,2009(4):99-101.

Separation Identification and Effects Test of Leaf Spot Pathogen of *Ligustrum vicaryi*

LI Yu-zhong¹, WANG Tong¹, WANG Bin², WANG Fang-yu¹, TENG Tao¹, HE Li-fang¹

(1. Department of Life Science, Hengyang Normal University in Hunan, Hengyang, Hunan 421008; 2. Department of Military Supplies, Xuzhou Air Force College, Xuzhou, Jiangsu 221000)

Abstract: In order to identify leaf spot pathogenic of *Ligustrum vicaryi* and find out effective pesticide to control it, leaf spot pathogen was isolated, purified and identified using organizing separation and morphological method, then the inhibiting effect of three kinds of fungicides on the pathogen were studied by AGAR mycelia growth inhibition method. The results showed that pathogen isolated from Hengyang city was identified as *Corynespora viticis*, 50% carbendazim and 75% chlorothalonil had better inhibition effects on it, EC_{50} were 1.782 and $2.080\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectively, which could be used.

Key words: *Ligustrum vicaryi*; pathogen; identification; fungicide effect