

文章编号: 1001-1498(2006)02-0241-05

# 杨梅腐烂病原菌鉴定及杀菌剂筛选

郭立中, 邓先琼

(湖南环境生物职业技术学院, 湖南 衡阳 421005)

**摘要:**杨梅腐烂病是湖南省杨梅的主要病害之一,该病主要危害杨梅主干分枝处,引起干腐和枝枯。经鉴定,杨梅腐烂病菌为核果壳囊孢菌(*Cytospora leucostoma*)。室内药剂试验结果表明:抑制该菌菌丝生长和分生孢子萌发效果较好的杀菌剂是扑菌特、甲基硫菌灵、多菌灵、退菌特、炭必灵和波尔多液;红杀和湘研植病灵抑制菌丝生长效果较好,但抑制孢子萌发的效果较差;石硫合剂、新万生、疫霜锰锌和敌克松抑制孢子萌发的效果较好,而抑菌丝生长效果较差。

**关键词:**杨梅;腐烂病;核果壳囊孢菌;杀菌剂筛选

中图分类号: S667.6 文献标识码: A

## Identification of Fungal Pathogen of Stem Rot of Bayberry (*Myrica rubra*) and Screening of Fungicides

GUO Li-zhong, DENG Xian-qiong

(Hunan Polytechnic of Environment & Biology, Hengyang 421005, Hunan, China)

**Abstract:** Stem rot was a severe diseases of bayberry (*Myrica rubra*) in Hunan Province, infected in the branch and stem, and caused them rot. It was identified that *Cytospora leucostoma* was the pathogen of bayberry stem rot. The results *in vitro* of fungicide screening studies were as follows: thiophanate-methyl thiram, thiophanate-methyl, carbendazim, tuzet, tanbiling and bordeaux mixtures completely inhibited mycelial growth and conidial spore germination of *C. leucostoma*; Xiangyanzhingling and hongsha caused complete inhibition mycelial growth, but could not inhibit spore germination; Fosetyl-aluminium, mancozeb, dacoden and lime sulphur could inhibit spore germination, but could not inhibit mycelial growth.

**Key words:** bayberry (*Myrica rubra*); stem rot; *Cytospora leucostoma*; screening of fungicides

杨梅 (*Myrica rubra* Sieb. & Zucc.) 是原产中国的亚热带果树之一,主要分布于长江以南各地。杨梅果色鲜艳,酸甜适中具有独特风味,被称为“初夏江南珍果”<sup>[1]</sup>。杨梅果、仁、皮、叶可药用,具有消食、御寒、止泻、利尿等多种药用价值。杨梅根系与放线菌共生形成根瘤,吸收利用天然氮气,是适合南方贫瘠山地种植的理想树种。杨梅树冠高大,树姿优美,阔叶常绿且具有抗有害气体之功能,因此又是优良的园林绿化树种<sup>[2]</sup>。

杨梅病害研究不多,目前国内报道的主要有以下几种:杨梅根腐病 [*Botryosphaeria dothidea* (Moug. ex Fr.) Ces. et de Not.]<sup>[3]</sup>、杨梅锈病 (*Caeoma maki-noi* Kus.)<sup>[4]</sup>、杨梅干枯病 (*Myxosporium corticola* Rost.)<sup>[4]</sup>、杨梅褐斑病 (*Mycosphaerella myricae* Saw.)<sup>[5]</sup>、杨梅癌肿病 (*Pseudomonas seyringa* van Hall pv. *myricae* Ogimi et Higuchi)<sup>[6]</sup>、杨梅梢枯病 (缺硼)<sup>[7]</sup>、杨梅根结线虫病 (*Meloidogyne* spp.)<sup>[8]</sup>、杨梅枝枯病 (*Phanopsis myricae* Y. J. Huang et P. K.

收稿日期: 2005-06-15

基金项目: 湖南省林业厅科研项目资助(编号: 2005-18-08)

作者简介: 郭立中(1951—),女,湖南桃江人,副教授,主要从事果树病害教学和研究工作。0734-8591245, Email: dxqxq@sohu.com

Chi)<sup>[9]</sup>和杨梅叶枯病 (*Phanopsis myricina* Y. J. Huang et P. K. Chi)<sup>[9,10]</sup>。尚未见到杨梅腐烂病的报道。2004年5月,作者在湖南杨梅病害调查中,发现人工栽培的靖州杨梅上发生了严重的腐烂病,发病率达30%以上,被害株茎干病部腐烂,病部以上枝条枯死,严重地影响了杨梅生产。为查明病原和为该病的防治提供理论依据,对该病的病原菌进行了系统鉴定,并对病害的化学防治进行了药剂筛选,结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 病原菌分离材料

从湖南衡阳县杨梅生产基地3年生杨梅病株上采集病茎,作为分离材料。

### 1.2 病原菌分离

从杨梅病茎上切取病健交界组织约0.5 cm<sup>2</sup>小块,经表面常规消毒后置PDA培养基上在26℃条件下培养,长出菌丝后取菌落边缘菌丝体移植到PSA+1%酵母膏培养基上再次培养,观察培养性状,产生子实体后待用,并在显微镜下观察子实体形态,测其大小。

### 1.3 致病性测定

将杨梅腐烂病菌分生孢子,配成在低倍镜(10×10)下每视野80~100个左右的分生孢子悬浮液,加入灭菌小棉球作为接种体接种3年生杨梅茎干。设刺伤、刀伤、烫伤和无伤4种处理,每个处理接种10株,经创伤处理后,将含有孢子液的小棉球贴于伤口,用塑料薄膜包裹,保湿48 h,无菌水作对照,定期记载发病情况。发病后取子实体镜检,观察病菌形态特征,并取病组织再分离,观察培养特性。根据以上结果确定致病菌。

### 1.4 病原菌鉴定

采集长有子实体的病茎进行徒手切片,在显微镜下观察并描述其子实体、产孢细胞和分生孢子的形态特征并与分离菌相比较,作为鉴定种的依据。

### 1.5 药剂筛选

1.5.1 不同药剂对菌丝生长的影响 将70%甲基硫菌灵 WP、50%多菌灵 WP、70%代森锰锌 WP、湘研植病灵 WP、50%扑菌特 WP、百菌杀 WP、55%敌克松 WP、80%代森锌 WP、50%退菌特 WP、40%果菜康 WP、50%疫霜锰锌 WP、60%炭必灵 WP、53.8%可杀得 WP、80%新万生 WP、70%红杀 WP和

45%石硫合剂 WP等药剂配制成10<sup>4</sup> μg·mL<sup>-1</sup>的药液和1:1:10的波尔多液。将以上药液分别取20、10、6.67和5 mL,加入80、90、93.33和95 mL PDA培养基中,配成2 000、1 000、667、500 μg·mL<sup>-1</sup>(即1/500、1/1 000、1/1 500、1/2 000)的培养基药液,取波尔多液5 mL混入45 mL培养基中,然后倒成平板,将直径6 mm的菌丝块移到平板上,置26℃恒温培养5 d后测量菌落直径,计算抑菌率<sup>[11]</sup>。设3个重复,以无菌水作对照。

1.5.2 不同药剂对分生孢子萌发的影响 将上述药剂分别配成4 000、2 000、1 333、1 000 μg·mL<sup>-1</sup>的药液,另按1:1:50配制波尔多液。用蒸馏水配成在低倍镜(10×15)下每视野160~200个分生孢子的悬浮液,取等量的药液与孢子液充分混合,配成2 000、1 000、667、500 μg·mL<sup>-1</sup>(1/500、1/1 000、1/1 500、1/2 000)的孢子药液和等量式波尔多液,将这些孢子药液滴到琼脂平板上,10 h后检查孢子萌发情况,计算孢子萌发率和抑制率<sup>[9]</sup>。设3次重复,无菌水作对照。

## 2 结果与分析

### 2.1 症状

该病菌主要危害主干与主枝的分杈处,引起干腐和枝枯;病斑圆形、椭圆形或不规则形,边缘不清晰。病斑初呈红褐色,病部组织松软,水渍状,稍隆起,压之病斑稍下陷;后向四周发展,病部皮层腐烂,湿腐状,发出酒糟味;后期病斑呈深褐色,病斑失水干缩,病部龟裂,上有黑色的颗粒状物(子实体),潮湿时,病部释放出黄色分生孢子角。夏季高温时,病部迅速失水干缩下陷,病斑深褐色至黑褐色,不久上部枝条枯死。

### 2.2 致病性测定

用分生孢子悬浮液接种,刺伤、刀伤、烫伤和无伤4种处理都有茎干发病,经观察病菌从皮孔和伤口侵入,然后向四周扩展。回接发病的症状特点和病原菌形态特征与自然发病株相同;取病健交界处组织再分离,其培养性状和病原菌形态特征与第一次分离结果一致。证实接种菌即为杨梅腐烂病的致病菌。

### 2.3 病原菌鉴定

2.3.1 病原菌的培养性状 该病菌在PSA+1%酵母膏培养基上,菌丝生长良好,5 d后即可长满直径9 cm的培养皿。菌落白色,茶花瓣状,菌丝排列紧密,

紧贴平板。8 d后在花瓣状菌落的边缘开始形成白色绒毛状小球,10 d后白色小球中间出现黑色小颗粒(子实体),随后培养皿中出现一轮一轮的黑色小颗粒,最后在菌落上散生大量的黑色小颗粒。子实体有的单生,有的2~20个聚生,初期淡黄色,后变黑褐色;培养11 d后分生孢子开始成熟,14 d后大量成熟,分生孢子从孔口大量溢出,在子实体孔口处形成黄色分生孢子角。镜检子实体、产孢细胞和分生孢子,其形态特征与大小同自然病株的基本一致。

2.3.2 病原菌形态特征 从杨梅自然发病株上取子实体镜检,子实体为真子座,散生,近球形,孔口处有乳头状突起,初为黄褐色,后为黑褐色,初埋生后突破表皮外露,直径一般100~200  $\mu\text{m}$ ,多数130~160  $\mu\text{m}$ ;子实体多腔室或单腔室,有的有颈。分生孢子梗无色,分枝或不分枝,有隔膜,沿器壁四周密生,细长,产孢细胞瓶梗状,大小为10~22  $\times$ 1.5~3.0  $\mu\text{m}$ ;分生孢子单孢,无色,微弯,腊肠形,有的一端钝圆,有的两端钝圆或两端稍尖,大小为12~16  $\times$ 1.0~2.0  $\mu\text{m}$ 。

根据病原菌的形态特征,培养特性和致病性测定结果,参考陆家云等人的记载<sup>[12,13]</sup>,杨梅腐烂病菌初步鉴定为核果壳囊孢菌(*Cytospora leucostoma* Sacc.)。

## 2.4 药剂筛选

### 2.4.1 不同药剂对菌丝生长的影响 试验结果表

表 1 不同药剂对杨梅腐烂病菌菌丝生长的影响

药剂种类	2 000/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )		1 000/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )		667/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )		500/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	
	菌落半径/mm	抑菌率%	菌落半径/mm	抑菌率%	菌落半径/mm	抑菌率%	菌落半径/mm	抑菌率%
扑菌特 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
70%甲基硫菌灵 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
50%多菌灵 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
湘研植病灵 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
50%退菌特 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
60%炭必灵 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
70%红杀 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
55%敌克松 WP	5.35	86.63	8.50	78.75	9.50	76.25	12.0	70.0
55%疫霜锰锌 WP	2.50	93.75	5.0	87.5	10.0	75.0	15.0	62.5
80%代森锌 WP	7.0	82.5	9.50	76.25	13.50	66.25	17.0	57.50
80%新万生 WP	8.25	79.38	16.0	60.0	18.0	55.0	18.25	54.38
45%石硫合剂 WP	12.0	70.0	17.0	57.50	19.0	52.50	19.50	51.25
70%代森锰锌 WP	10.5	73.75	12.0	70.0	18.50	53.75	22.0	45.0
百菌杀 WP	10.35	74.13	23.5	41.25	23.6	41.0	25.0	37.50
53.8%可杀得 WP	15.35	61.63	29.0	27.50	29.0	27.50	30.0	25.0
40%果菜康 WP	24.0	40.0	29.5	26.25	35.0	12.50	40.0	0

注:1:1 100波尔多液处理,菌落半径为0,抑制率100%;对照菌落半径为40 mm,抑制率0。

明,不同药剂对菌丝生长的影响差异明显。抑制菌丝生长效果较好的化学药剂有50%扑菌特 WP、70%甲基硫菌灵 WP、50%多菌灵 WP、湘研植病灵 WP、50%退菌特 WP、60%炭必灵 WP、70%红杀 WP和1:1 100波尔多液,在最低浓度500  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制菌丝生长率可达100%。因此,这些药剂可作为防治杨梅腐烂病的首选药剂。其次是55%疫霜锰锌 WP和55%敌克松 WP,其他药剂抑菌效果较差(见表1)。

2.4.2 不同药剂对孢子萌发的影响 试验结果表明,不同药剂或同一药剂不同剂量抑制孢子萌发的效果差异较大,50%扑菌特 WP、70%甲基硫菌灵 WP、50%多菌灵 WP、45%石硫合剂 WP、80%新万生 WP、55%疫霜锰锌 WP、50%退菌特 WP、55%敌克松 WP和60%炭必灵 WP,最低浓度在500  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以上时,各处理的孢子萌发率为0,抑制孢子萌发的效果达100%;1:1 100波尔多液处理,孢子萌发率为0,抑制率达100%。说明这些药剂对杨梅腐烂病菌孢子具有极强的毒杀作用,对防止初侵染和再侵染都是很好的保护剂。其次是70%红杀 WP和80%代森锌 WP,浓度在1 000  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,孢子萌发率分别为0和7.8%,抑制孢子萌发的效果达90%以上;其他药剂抑制孢子萌发的效果较差(见表2)。

表 2 不同药剂对杨梅腐烂病菌分生孢子萌发的影响

%

药剂种类	2 000 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )		1 000 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )		667 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )		500 / ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	
	萌发率	抑菌率	萌发率	抑菌率	萌发率	抑菌率	萌发率	抑菌率
70%甲基硫菌灵 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
50%扑菌特 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
50%多菌灵 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
45%石硫合剂 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
80%新万生 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
55%疫霜锰锌 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
50%退菌特 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
55%敌克松 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
60%炭必灵 WP	0	100	0	100	0	100	0	100
70%红杀 WP	0	100	0	100	60	38.78	75	23.47
80%代森锌 WP	4.2	95.71	7.8	92.04	18.0	81.63	80.0	18.37
湘研植病灵 WP	23.0	76.53	50.0	48.98	86.0	12.25	91.0	7.14
70%代森锰锌 WP	30.0	69.39	50.0	48.98	67.0	31.63	80.0	18.37
百菌杀 WP	66.0	32.65	78.0	20.41	90.0	8.16	95.0	3.06
53.8%可杀得 WP	80.0	18.37	86.0	12.25	90.0	8.16	98.0	0
40%果菜康 WP	98.0	0	98.0	0	98.0	0	98.0	0

注: 1 1 100 波尔多液处理孢子萌发率为 0, 抑制率 100%, 对照孢子萌发率为 98%, 抑制率为 0。

### 3 结论和讨论

据报道,壳囊孢菌 (*Cytospora Ehenb. ex Fr.*) 已描述 400 多种, 引起许多种农、林植物病害, 主要病害症状有鞘枯、腐烂和溃疡等<sup>[12, 13]</sup>。甘蔗壳囊孢 (*C. sacchari* Butler) 引起甘蔗 (*Saccharum L.*) 鞘枯病<sup>[12]</sup>, 苹果壳囊孢 (*C. mandshurica* Miura) 引起苹果 (*Malus Mill.*) 枝干腐烂病<sup>[12]</sup>, 梨壳囊孢 (*C. carpospema* Fr.) 引起梨 (*Pyrus L.*) 枝干腐烂病<sup>[12]</sup>, 胡桃壳囊孢 [*C. juglandis* (DC.) Sacc.] 引起核桃 (*Juglans regia L.*) 枝干腐烂病<sup>[12]</sup>, 核果壳囊孢 (*C. leucostoma* Sacc.) 引起桃 [*Prunus persica* (L.) Batsch]、李 (*Prunus spp.*)、杏 (*Prunus ameniaca L.*) 和樱桃 (*Prunus pseudocerasus* Lindl.) 的树干腐烂病<sup>[12-14]</sup>, 黄金壳囊孢 (*C. chrysosperma* Pers. ex Fr.) 引起杨 (*Populus spp.*) 和悬铃木 [*Platanus acerifolia* (Ait.) Willd.] 腐烂病<sup>[15]</sup>, 柳杉壳囊孢 (*C. fortunea* Zao et al.) 引起柳杉 (*Cryptomeria fortunei* Hooibrenk) 枝枯病<sup>[16]</sup>。经查阅文献, 未见有核果壳囊孢 (*C. leucostoma*) 危害杨梅引起腐烂的报道。因此, 核果壳囊孢菌引起的杨梅腐烂病为杨梅新病害, 杨梅为核果壳囊孢菌的新寄主植物。据文献记载<sup>[12]</sup>, 核果壳囊孢的有性阶段为核果黑腐皮壳 [*Valsa leucostoma* (Pers.) Fr.], 一般不常见, 本研究中也未发现其有性阶段。

室内药剂试验结果表明: 抑制该菌菌丝生长和分生孢子萌发效果最好的杀菌剂是 50% 扑菌特、

70% 甲基硫菌灵、50% 多菌灵、50% 退菌特、60% 炭必灵和 1 1 100 波尔多液; 这些药剂在防治栗 (*Castanea mollissima* Blume) 溃疡病 (*C. chrysosperma*)、桤叶唐棣 (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) 溃疡病 (*C. leucostoma*)、桃 [*Prunus persica* (L.) Batsch] 干腐病 (*C. leucostoma*) 和樟子松 (*Pinus sylvestris* var *mongolica* Litvin) 苗木枯梢病 (*Sphaeropsis* sp.) 时也获得了类似的结果<sup>[17-19]</sup>。上述药剂除波尔多液属触杀剂外, 其余属于内吸广谱性杀菌剂, 同时具有铲除、治疗和保护作用, 是防治该病的首选药剂<sup>[20]</sup>。70% 红杀和湘研植病灵抑菌丝生长效果良好, 但抑制孢子萌发的效果较差; 相反, 45% 石硫合剂、80% 新万生、55% 疫霜锰锌和 55% 敌克松抑制孢子萌发的效果良好, 而抑菌丝生长效果较差。这些药剂可根据病害发生的不同时期和作用机理选择使用。值得注意的是甲基硫菌灵和多菌灵不能单一连续使用, 最好与其他药剂轮换或混合使用, 以免产生抗药性<sup>[20]</sup>。本试验是在室内离体条件下进行, 其结果有待大田试验验证。

#### 参考文献:

- [1] 李兴军, 吕均良, 李三玉. 中国杨梅研究进展 [J]. 四川农业大学学报, 1999, 17 (2): 224 ~ 229
- [2] 何新华, 陈力耕, 陈怡, 等. 中国杨梅资源及利用研究评述 [J]. 果树学报, 2004, 21 (5): 467 ~ 471
- [3] 李红叶, 曹若彬, 任如红, 等. 杨梅 (*Myrica rubra*) 根腐病的症状和病原菌研究 [J]. 浙江农业大学学报, 1995, 21 (4): 398 ~ 402
- [4] 陈永宝. 杨梅病虫害及其防治 (综述) [J]. 亚热带植物通讯,

- 1994, 23 (1): 64 ~ 68
- [5] 缪松林. 杨梅褐斑病的初步研究 [J]. 果树科学, 1988, 5 (1): 16 ~ 19
- [6] 方华生. 杨梅癌肿病原细菌的鉴定 [J]. 浙江农业大学学报, 1984, 10 (3): 309 ~ 314
- [7] 郑纪兹. 杨梅枯梢病致病原因及防治对策的研究 [J]. 浙江农业科学, 1988, (3): 140 ~ 143
- [8] 陈宝永, 张绍升, 李增华. 杨梅线虫病研究 [J]. 果树科学, 1994, 11 (3): 161 ~ 165
- [9] 戚佩坤. 广东果树真菌病害志 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 98 ~ 99
- [10] 郭立中, 邓先琼. 杨梅叶枯病病原菌鉴定及药剂筛选初报 [J]. 中国农学通报, 2005, 21 (7): 359 ~ 362
- [11] 慕立义. 植物化学保护研究方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 72 ~ 82
- [12] 陆家云. 植物病原真菌学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 498 ~ 500
- [13] 陆家云. 植物病害诊断 (第二版) [M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 209 ~ 210
- [14] Kural I, Erdiller G. *Cytophora* canker of apricots in Mlatya and Elazig Provinces [J]. Acta Horticulture, 1995 (384): 533 ~ 536
- [15] 吴文平. 悬铃木腐烂病病原菌的鉴定 [J]. 河北省科学院学报, 1991 (3): 61 ~ 62
- [16] 赵光材, 盛世发, 李楠. 黑腐皮壳属一新种 [J]. 东北林业大学学报, 1990, 18 (6): 9 ~ 13
- [17] del Brió M B. Secondary diseases of chestnuts [J]. Agricultura, 1998, 67 (796): 928 ~ 930
- [18] Alancette N, Robison D M. Effect of fungicides, application timing, and canker removal on incidence and severity of constriction canker of peach [J]. Plant Disease, 2002, 86 (7): 721 ~ 728
- [19] 宋晓东, 刘桂荣, 陈江燕, 等. 樟子松苗木枯梢病的药剂防治试验 [J]. 东北林业大学学报, 1999, 27 (6): 22 ~ 25
- [20] 徐大高, 潘汝谦, 郑仲, 等. 芒果炭疽病菌对多菌灵的抗药性监测 [J]. 华南农业大学学报, 2004, 26 (2): 34 ~ 36

www.cnki.net