

李玉中,杨芳,刘春,等.衡阳地区莴笋叶斑病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.

# 衡阳地区莴笋叶斑病病原菌的鉴定及其室内药剂筛选

李玉中,杨芳,刘春,滕涛,何丽芳

(衡阳师范学院生命科学系,湖南衡阳 421008)

**摘要:**对衡阳地区的莴笋叶斑病病原菌进行了分离和形态学鉴定,并采用平皿菌丝生长抑制法测定供试药剂对病菌菌丝生长的抑制活性,比较了 4 种杀菌剂对致病菌的抑制效果,结果表明:衡阳地区莴笋叶斑病致病菌为微疣匍柄霉[*Stemphylium chisha* (Nish) Yammamoto],在供试药剂中甲霜·锰锌、代森锰锌的抑菌效果较好,EC<sub>50</sub> 分别为 6.58、6.34 mg/L;其次是多菌灵,其 EC<sub>50</sub> 为 458 mg/L;最后是百菌清,其 EC<sub>50</sub> 为 2 107 mg/L。

**关键词:**莴笋叶斑病;药剂筛选;生长抑制;菌落直径

**中图分类号:** S436.36 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)02-0102-03

莴笋(*Lactuca sativa*)为菊科(Compositaeaceae)1年生或2年生草本植物,在我国各地普遍栽培。莴笋肉质细嫩,常吃莴笋可增强胃液和消化液分泌,增进胆汁分泌。莴笋含丰富的钾、氟元素及胡萝卜素,可为人提供丰富的营养。此外,莴笋叶还具有一定的平咳作用<sup>[1]</sup>。莴笋在我国的种植面积越来越大,同时其病害的发生及其造成的经济损失也在增大,尤其是莴笋叶斑病<sup>[2]</sup>。本研究对湖南省衡阳地区莴笋叶斑病的病原菌进行了分离、纯化、鉴定和药剂筛选,以期找出防治莴笋病害的最佳药剂,为衡阳地区莴笋叶斑病的防治提供科学参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 试验菌株 分离自衡阳地区尖叶青笋发病的典型叶片上的病原菌。

1.1.2 培养基和试剂 PDA:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 15 g,蒸馏水 1 L;0.1%的 HgCl<sub>2</sub> 消毒液;参照方中达方法<sup>[3]</sup>配制。

试验药剂:(1)纯品多菌灵可湿性粉剂(山东富先达农药有限公司);(2)70%甲基硫菌灵可湿性粉剂(珠海凯特生物技术有限公司);(3)75%百菌清可湿性粉剂(吉林力生农化农药有限公司);(4)进口 80%代森锰锌可湿性粉剂(奥瑞特农药有限责任公司);(5)72%甲霜·锰锌可湿性粉剂(重庆易丰科技发展有限公司)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 样品采集 于衡阳市各地采集尖叶青笋上明显发病病叶,将叶片装入封口塑料袋中带回实验室待用。

1.2.2 菌株的分离、纯化与保存 从采集的样品中,选出具有典型病斑的叶片,以常规组织分离法<sup>[3]</sup>进行分离。在每个叶片上分离 3~5 块组织,每一病斑于病健交界处切取约

5 mm<sup>2</sup>的病组织,然后用 70%乙醇浸 20~30 s,再在 0.1%的酸性氯化汞水溶液中浸 1~2 min,再用灭菌水换洗 4 次,置于 PDA 平板上,每皿接种 4~5 个叶斑。接种完毕后将其置于(25±1)℃条件下培养。待病组织长出菌丝后,观察菌丝生长情况,选取菌丝一致的菌落,用接种针挑取菌株的周边菌丝于新的 PDA 平板上于(25±1)℃下培养 4 d,将分离到的纯种菌株接种试管斜面,于(25±1)℃下培养至菌丝长满斜面,置 4℃冰箱保存待用。

1.2.3 病原菌的鉴定 将纯化的菌株在 PDA 上培养 7~10 d,挑取菌落组织,显微镜下观察菌丝、分生孢子的形态并拍照。根据形态参考《中国真菌志》第三十一卷暗色砖格分生孢子真菌的描述<sup>[4]</sup>对病菌进行鉴定。

1.2.4 药剂筛选 采用含药平板法<sup>[5-7]</sup>。根据预试验的结果,供试药剂的浓度如下:80%代森锰锌和 72%甲霜·锰锌可湿性粉剂 6 个浓度为:10、5、2.5、1.25、0.625、0.312 5 mg/L;纯品多菌灵为:5 000、1 667、556、185、62、21 mg/L;75%百菌清可湿性粉剂为 10 000、3 333、1 111、370、123、41 mg/L。

将供试菌株接种到 PDA 平板培养基上,置于培养箱内 25℃培养 5~7 d,用打孔器打取直径 6 mm 的菌饼接种于相应浓度的含药 PDA 平板培养基中央,每皿 1 枚,置于 25℃恒温培养,每种药剂每个浓度设 3 次重复,以加等量无菌水的平板培养基为对照;4 d 或 7 d 后用十字交叉法测量菌落直径,根据公式(1)计算各药剂对病菌的抑制率,并通过 DPS2000 软件对药剂浓度和抑制率进行毒力回归方程分析和计算 EC<sub>50</sub>。

$$\text{生长抑制率} = \frac{\text{对照直径} - \text{处理直径}}{\text{对照直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\% \quad (1)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 病原菌的鉴定

莴笋发病病叶上出现红棕色至暗褐色坏死斑,中间有灰白色点,以其为中心有轮纹,整个病斑有圆形、近圆形或不规则形,直径为 2~8 mm,每张叶片上出现的病斑数目不等,少的几个,多的十几个甚至几十个(图 1-A)。分离纯化的菌丝在 PDA 培养基上生长,菌落圆形或近圆形,厚实,初期呈灰

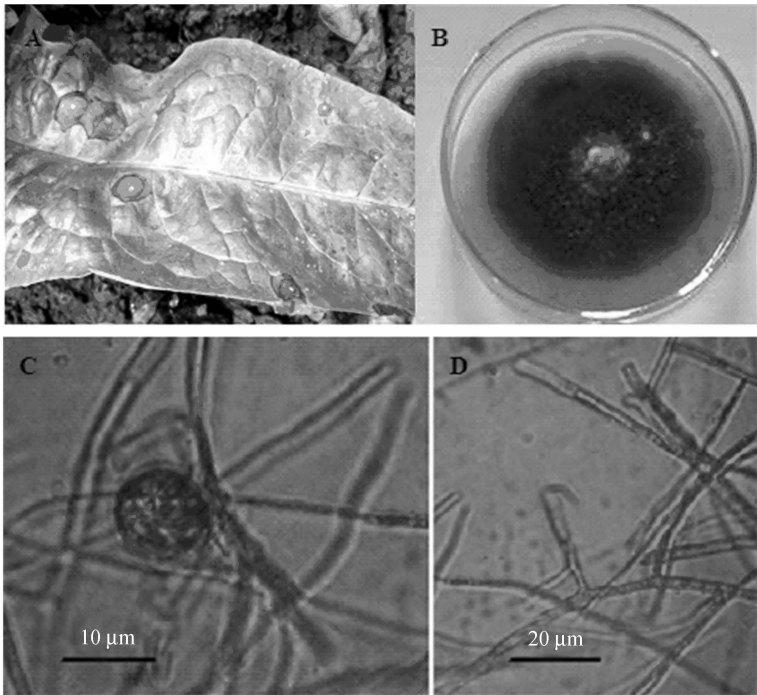
收稿日期:2013-06-07

基金项目:湖南省衡阳市科技发展计划(编号:2011KN12)。

作者简介:李玉中(1978—),男,山东聊城人,博士,副教授,主要从事微生物及植物病害防治等方面的研究。E-mail: yzl\_2002@163.com。

白色,3~4 d 逐渐变为灰褐绿色。整个菌落外围灰白色至暗青褐色,由外往内菌丝颜色逐渐加深,直至菌落中央的黑褐色,但接种点因长有较多气生菌丝为灰白色(图 1-B)。显微镜下观察显示,该菌菌丝细长,有分枝,菌丝直径为 2.0~3.0 μm;分生孢子梗单生,顶端色稍淡,基部细胞稍大,顶端

较宽,呈截形,分生孢子椭圆形或卵形,单生,淡褐色至褐色,无喙喙,有纵横分隔,成熟孢子表面有细疣(图 1-C、D)。根据以上形态特征,可知衡阳地区莴笋叶斑病的病原菌为微疣匍柄霉[*Stemphylium chisha* (Nish) Yannamoto]。



A—莴笋叶斑病病症；B—PDA上菌落；C—病菌分生孢子；D—病菌菌丝及分生孢子梗  
图1 莴笋叶斑病病症和病原菌生长情况

2.2 4 种药剂对病菌的抑制效果

药剂处理叶斑病菌丝培养 7 d 后,结果显示:在试验浓度范围内,甲霜·锰锌和代森锰锌最高抑制率分别为 59.68% 和 58.87%;而药剂处理 4 d 的多菌灵、百菌清的最高抑制率分别为 88.89%、80.56%(表 1)。由此可知,所试各种浓度的药剂对病原菌菌丝的生长都有不同程度的抑制作用。通过 DPS2000 软件对药剂浓度和抑制率进行相关性数据分析,得

出甲霜·锰锌、代森锰锌、多菌灵和百菌清回归方程并计算出各个药剂的抑制中浓度分别为 6.58、6.34、458、2 107 mg/L (表 2)。由此可知,在对莴笋叶斑病测试的 4 种药剂中,代森锰锌的抑菌效果最好,其次是甲霜·锰锌,再次是多菌灵,最差的为百菌清。所以,4 种杀菌剂对病原菌的毒力大小次序为:代森锰锌>甲霜·锰锌>多菌灵>百菌清(图 2)。

表 1 杀菌剂对莴笋叶斑病菌丝生长的影响

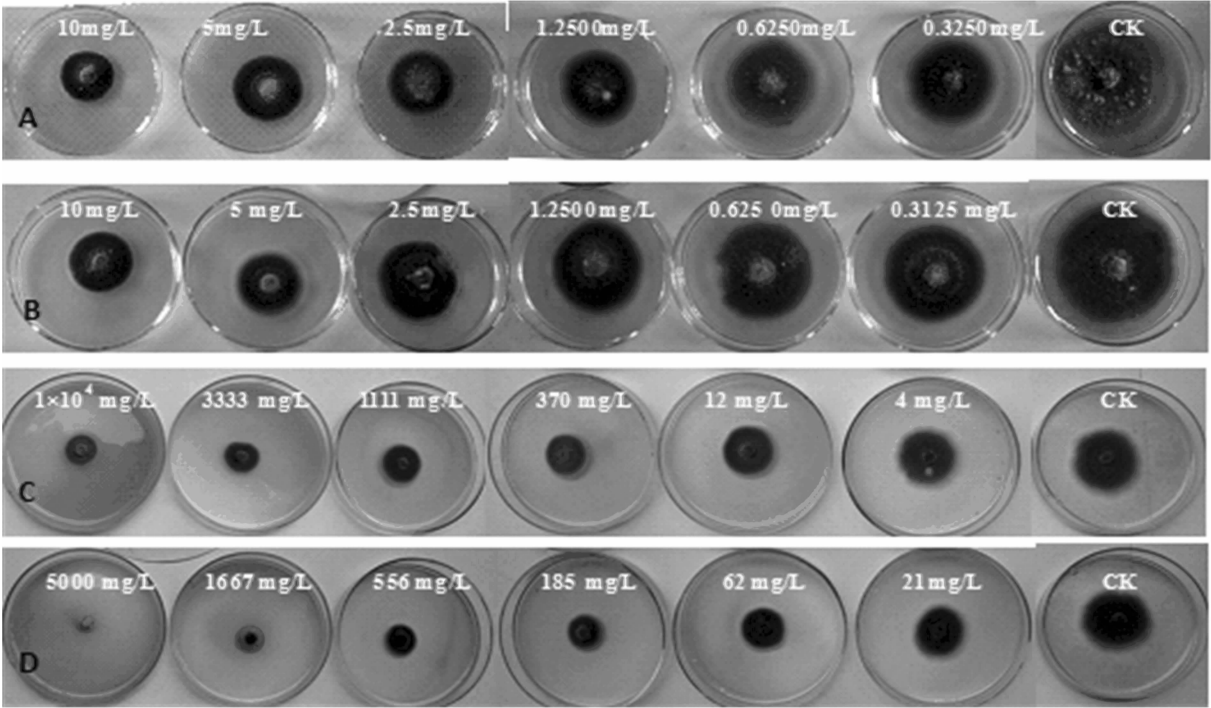
药剂名称	药剂浓度 (mg/L)	菌落直径 (cm)	抑制率 (%)	药剂名称	药剂浓度 (mg/L)	菌落直径 (cm)	抑制率 (%)
72% 甲霜·锰锌可湿性剂粉	10	3.10	59.68aA	纯品多菌灵可湿性剂粉	5 000	1.00	88.89aA
	5	3.50	53.23bB		1 667	1.50	75.00bB
	2.5	4.00	45.16cC		556	2.10	58.33cC
	1.25	5.25	25.00dD		185	2.60	44.44dD
	0.625	5.30	24.19dD		62	3.00	33.33eE
	0.312 5	5.33	23.71dD		21	3.70	13.89fF
	CK	6.80			CK	4.20	
80% 代森锰锌可湿性剂粉	10	3.15	58.87aA	75% 百菌清可湿性剂粉	10 000	1.3	80.56aA
	5	3.60	51.61bB		3 333	2.1	58.33bB
	2.5	4.00	45.16bB		1 111	2.3	52.78cC
	1.25	4.35	39.52cC		370	2.8	38.89cC
	0.625	5.45	21.77dD		123	3.2	27.78eE
	0.312 5	5.50	20.97 dD		41	3.6	16.67fF
	CK	6.80			CK	4.20	

注:菌落直径及抑制率均为 3 次重复平均值;同列数据后不同小写字母表示相同药剂不同浓度之间差异显著( $P<0.05$ ),不同大写字母表示相同药剂不同浓度之间差异极显著( $P<0.01$ )。

表 2 不同杀菌剂对莴笋叶斑病菌抑制的回归方程及 EC<sub>50</sub>

供试药剂	毒力回归方程	相关系数	抑制中浓度 EC <sub>50</sub> (mg/L)
72% 甲霜· 锰锌可湿性粉剂	$y=0.041\ 0x+0.231\ 0$	0.949 1	6.58
80% 代森锰锌可湿性粉剂	$y=0.038\ 9x+0.253\ 1$	0.893 4	6.34
纯品多菌灵可湿性粉剂	$y=0.000\ 097\ 0x+0.455\ 6$	0.886 9	458
75% 百菌清可湿性粉剂	$y=0.000\ 103x+0.283\ 0$	0.823 5	2 107

注:  $x$  表示药剂的浓度,  $y$  表示对菌丝的抑制率。



A—代森锰锌 (7 d) ; B—甲霜· 锰锌 (7 d) ; C—百菌清 (4 d) ; D—多菌灵 (4 d)

图2 不同药剂对莴笋叶斑病菌生长抑制情况

3 结论与讨论

经过形态学鉴定发现,衡阳地区引起莴笋叶斑病的病原菌主要是微疣匍柄霉。药剂筛选表明,代森锰锌和甲霜· 锰锌对该病菌的抑制中浓度要远小于百菌清和多菌灵。本研究结果为莴笋叶斑病的防治奠定理论基础。

在对衡阳地区果蔬主要病害的调查发现,衡阳地区的莴笋叶部病害发生严重,成为影响莴笋产量和质量的主要病害之一<sup>[2]</sup>。目前防治莴笋叶斑病推荐使用的农药为 75% 百菌清、50% 异菌脲、40% 克菌丹、50% 甲基硫菌灵可湿粉剂<sup>[8]</sup>等,而本研究显示代森锰锌和甲霜· 锰锌同推荐药剂百菌清相比效果更好。造成结果不一致的原因可能有两个:一是不同地区的莴笋叶斑病菌的对不同药剂的敏感度存在差异;二是百菌清药剂的长期使用使得莴笋叶斑病对其产生了部分抗性。由此看来,今后在防治莴笋叶斑病过程中,有必要对本试验药剂进行进一步的田间验证试验,找出更经济有效的药剂,用于莴笋叶斑病害的防治,以降低药剂用量,减少环境污染和防止病原菌抗药性的产生。

在本试验中,代森锰锌和甲霜· 锰锌处理组是测定处理 7 d 的菌落直径,而百菌清和多菌灵处理组是测定处理 4 d 的

菌落直径,是因为在预试验中发现,百菌清和多菌灵药剂处理菌丝 4 d 以后对菌丝的抑制率基本保持不变,因此对于 EC<sub>50</sub> 的计算没有影响。另外,在药剂预试验中还测试 70% 甲基硫菌灵,发现该药对莴笋叶斑病无抑制效果。

参考文献:

[1]李忠琼,林瑞超,傅文,等. 莴笋花化学成分的研究[J]. 中草药,2001,32(2):101-104.  
[2]李玉中,刘先,潘悦,等. 衡阳地区果蔬主要病害的调查初报[J]. 天津农业科学,2013,19(4):86-88.  
[3]方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,1988:25-27.  
[4]张天宇. 中国真菌志:第三十一卷 暗色砖格分生孢子真菌 26 属[M]. 北京:科学技术出版社,2009:198-199.  
[5]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):127-133.  
[6]陈爱昌,魏周全,骆得功,等. 马铃薯炭疽病发生情况及室内药剂筛选[J]. 植物保护,2012,38(5):162-164.  
[7]张瑾,徐秉良,梁巧兰,等. 杏采后病害病原菌鉴定及室内药剂筛选[J]. 植物保护,2011,37(5):118-123.  
[8]黄华宁. 莴笋病虫害防治不容忽视[J]. 科学种养,2009(4):30.