

冯 婷, 张 凡, 殷云龙, 等. 落羽杉属树种赤枯病发生规律及其防治药剂筛选[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(19): 110–113.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.19.029

落羽杉属树种赤枯病发生规律及其防治药剂筛选

冯 婷^{1,2}, 张 凡¹, 殷云龙¹, 韩正敏², 华建峰¹, 於朝广¹

(1. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏南京 210014; 2. 南京林业大学, 江苏南京 210037)

摘要: 赤枯病是杉科(Taxodiaceae)树种生长过程中容易发生的一种病害, 对落羽杉属(*Taxodium*)树种赤枯病发病规律进行调查和研究。结果表明, 落羽杉赤枯病病原菌在病叶和小枝上潜伏越冬; 次年, 孢子从 5 月开始飞散, 6 月中旬达到顶峰, 7 月下旬停止, 主要通过风雨传播; 落羽杉属赤枯病从 7 月下旬开始发病, 8—9 月为病害高发时期, 感病指数变化最大, 11 月份气温骤降之后病情趋于平稳; 此外, 落羽杉不易感病, 而墨西哥落羽杉易感病, 两者杂交后代中山杉 502、中山杉 407、中山杉 118 和中山杉 405 依次更易感病, 中山杉 406 不易感病。对 8 种不同的杀菌剂进行室内筛选, 结果表明, 多菌灵、甲基硫菌磷、蛇床素和苯甲丙环唑的杀菌效果较好, 其半数有效浓度(effective concentration 50%, 简称 EC₅₀)分别为 1.051、24.283、4.356、14.320 mg/L。

关键词: 落羽杉属树种; 赤枯病; 发病规律; 药剂筛选

中图分类号: S763.15 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)19-0110-04

落羽杉属(*Taxodium* Rich.) 属于杉科(Taxodiaceae), 属内主要分 3 个种, 落羽杉 [*Taxodium distichum* (Linn.) Rich.]、池杉 (*T. ascendens* Brongn.) 和墨西哥落羽杉 (*T. mucronatum* Tenore) [1-2]。中山杉 (*Taxodium 'Zhongshanshan'*) 主要是落羽杉、墨西哥落羽杉、池杉 3 个树种间杂交得到的优良无性系的总称[3], 因其兼具生长快、耐盐碱、耐水淹、成材率好、常绿性优、观赏价值高等落羽杉属树种的优点, 现成为我国南方低洼湿地造林的优选树种[4-6]。然而, 近年来随着种植面积的扩大, 赤枯病害问题也日益突显。

赤枯病是杉科树种生长过程中容易发生的真菌性病害。其中水杉和杉木赤枯病的研究报道较多, 水杉赤枯病的病原菌主要为拟盘多毛孢 (*Pestalotiopsis* sp.)、链格孢 (*Alternaria* sp.) 和炭疽菌 (*Colletotrichum* sp.) [7-8]。病原菌在水杉表皮组织上以菌丝体越冬, 次年 3 月底至 5 月上中旬遇上风雨产生分生孢子, 借助风雨传播侵染。该病先从水杉的中下部枝叶表现发病, 逐渐向上扩展蔓延, 严重发生时导致全株枯死。感病叶逐渐呈深褐色, 生有灰黑色的绒状小点, 并易脱落。高温湿度大的条件下有利于它的侵染蔓延[9]。研究表明, 水杉赤枯病的防治主要选用 80% 多菌灵、72% 甲基硫菌磷、25% 三唑酮等农药单使用或混合使用, 按 600 倍液喷雾, 一般可以达到 85% 以上的防治效果[9]。杉木赤枯病病原菌主要为拟盘多毛孢属 (*Pestalotiopsis* sp.)、黑盘孢目多毛孢属 (*Pestalotia*

sp.)、镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)。杉木赤枯病病菌以孢子和菌丝体在病叶组织中随枯死针叶落在土中越冬, 翌年夏季产生分生孢子借风传播[10]。6—8 月中旬发病, 7 月为发病盛期, 此时苗木进入初生长, 较嫩弱, 因此极易受害。该病蔓延迅速, 2 d 之内即暴发成灾, 发病初期, 病原菌首先侵害幼苗顶梢的嫩叶, 致使叶尖部出现淡褐色病斑, 并很快向下部蔓延, 之后迅速扩展到整个顶梢造成顶部枯死, 被严重侵害的杉木苗很快出现成片或成块坏死[11]。另有研究表明, 在杉木赤枯病的防治中, 应用多菌灵或退菌特加尿素 (0.5%) 加磷酸二氢钾 (0.5%) 进行交替叶面喷雾, 且每隔 10 d 喷雾 1 次, 连续作业, 可有效预防赤枯病的发生[12]。

对南京中山植物园及周边地区的落羽杉属树木叶部的发病情况进行调查发现, 该病来势迅猛, 由树下到树上、树冠外缘向内膛、复叶基部向顶端发展, 多则 10 d, 少则 1 周, 就可造成 2/3 叶片变黄, 然后脱落。发病时病叶出现褐色小斑点, 后扩大变为暗褐色, 遇雨潮湿时病斑上产生许多突起的黑色小霉点, 症状与水杉和杉木赤枯病症状较类似。然而目前对落羽杉属赤枯病的发生规律及防治方法尚无研究报道。随着落羽杉属树木种植范围的不断扩大[13-14], 赤枯病病害对该属树种的推广应用及经济效益造成了严重影响。因此, 探究落羽杉属树木赤枯病的侵染方式和发病规律可为该病的有效防治提供理论指导, 而杀菌剂的室内测定可为快速地筛选出安全高效的农药品种及制定有效的防治策略奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料及病症分级标准

选取南京中山植物园苗圃内的落羽杉、墨西哥落羽杉、中山杉 118 [(落羽杉 × 墨西哥落羽杉) × 墨西哥落羽杉]、中山杉 405 (墨西哥落羽杉 × 落羽杉)、中山杉 406 (墨西哥落羽杉 × 落羽杉)、中山杉 407 (墨西哥落羽杉 × 落羽杉) 和中山杉 502 (墨西哥落羽杉 × 落羽杉) 进行调查研究。调查从 4 月份落羽杉抽叶后开始, 并将落羽杉属树木对赤枯病的发病程度

收稿日期: 2017-04-28

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (编号: 31570593); 江苏省农业科技自主创新资金 [编号: CX(16)1005]; 江苏省植物资源研究与利用重点实验室开放基金 (编号: JSPKLB201603); 江苏省创新能力建设计划 (科技设施类) (编号: BM2015019)。

作者简介: 冯 婷 (1986—), 女, 江苏盐城人, 硕士研究生, 主要从事植物保护方面的研究。E-mail: mumizhongfeng@126.com。

通信作者: 殷云龙, 博士, 研究员, 主要从事林木遗传育种研究。E-mail: yinyul066@sina.com。

分为 5 级(代表值分别为 1~5);针叶正常、无发病的为 1 级;病叶占总叶数的 1/4 及以下的为 2 级;病叶占总叶数的 1/4 以上且 1/2 及以下的为 3 级;病叶占总叶数的 1/2 及以上且 3/4 以下的为 4 级;病叶占总叶数的 3/4 及以上的为 5 级。感病指数 = Σ (各级株数 × 代表值) × 100% / (总株数 × 最高级代表级)。

1.2 病原菌越冬方式及传播方式

病原菌越冬方式:在南京中山植物园苗圃采集落羽杉属病树上的芽、枝、梢、病叶和林下表土进行分离培养。统计分离结果,分析病原菌的越冬方式及越冬场所^[15]。从落羽杉属树木上采摘新芽、小枝、梢和病叶各 60 个,将上述材料剪成小块,投入盛有适当蒸馏水的三角瓶中;取树周表土 5 g,放入盛有适当蒸馏水的三角瓶中;将上述盛有待测样品的三角瓶置于振荡仪上,充分振荡后,滤去芽、碎片或杂质,制成清洗液;清洗液经离心后,留下 5 mL,镜检,每次取 0.1 mL,滴在载玻片上,观察有无病原菌的分生孢子存在,重复检查 3 次^[16-17]。孢子传播方式的调查:从发病的落羽杉林内选择 6 棵标准株,在每个植株东、南、西、北 4 个方向分别挂上涂有薄薄一层凡士林的玻片来捕捉分生孢子。玻片隔日换回,在显微镜下对每个玻片随机镜检观测 5 个视野,统计捕捉到的分生孢子数量,记录孢子的飞散日期、孢子的飞散量和天气情况,以确定分生孢子的传播方式^[18]。

1.3 落羽杉赤枯病病原菌的杀菌剂筛选

药剂:代森锰锌,有效成分为乙撑-1,2-双二硫代氨基甲酸酯和锌的络盐,70% 可湿性粉剂(四川国光农化股份有限公司);甲基硫菌灵,70% 可湿性粉剂(江苏龙灯化学股份有限公司);多菌灵,50% 可湿性粉剂(江苏蓝丰生物化工股份有限公司);国光黑杀,有效成分为烯唑醇,12.5% 可湿性粉剂(四川国光农化股份有限公司);苯甲丙环唑,有效成分为苯醚甲环唑、丙环唑,30% 乳油(青岛瀚生生物科技股份有限公司);井冈蛇床素,有效成分为井冈霉素、蛇床子素,6% 可湿性粉剂(溧阳中南化工有限公司);波尔多液,80% 可湿性粉剂(美国仙农股份有限公司);福美双,有效成分为 12.5% 福美甲唑、25.0% 福美双、12.5% 福美锌,50% 可溶性粉剂(天津市兴果农药厂)。室内药效测试:将供试农药用无菌水分别配成 4 个浓度梯度(6、10、60、300 mg/L)的溶液,分别加入含有相同量的马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar,简称 PDA)培养基中,每个浓度梯度设置 3 个重复并且设置空白对照;然后将直径为 0.5 cm 的供试菌落移植于培养基中间,置于 25 ℃ 条件下培养 4 d,测量其菌落直径,并计算菌落扩展抑制率。菌丝生长速率测定:在以上室内药效测试的基础上进一步对筛选出的 4 种农药分别设置 9 个浓度梯度(50.00、25.00、10.00、5.00、1.00、2.50、0.50、0.10、0.01 mg/L),进行毒力测定后计算并比较半数有效浓度(effective concentration 50%,简称 EC₅₀)^[19]。

室内生物测定计算方法与数据处理:采用“十”字交叉法测量菌落直径,菌落扩展相对抑制率 = (对照菌落生长净直径 - 处理菌落生长净直径) × 100% / 对照菌落生长净直径^[20]。初筛后的药剂既用于测定菌落扩展相对抑制率也用于测定浓度对数(X)与抑制菌落生长百分率的机率值(Y),利用最小二乘法分别求得各杀菌剂对该菌的毒力回归方程

$Y = a + bX$ 和 EC₅₀。然后在初筛药剂的 EC₅₀ 下进行孢子萌发测试并计算孢子萌发抑制百分率。孢子萌发率 = 萌发的孢子数 × 100% / 总孢子数。孢子萌发抑制率 = (对照孢子萌发率 - 药剂处理孢子萌发率) × 100% / 对照孢子萌发率。

2 结果与分析

2.1 落羽杉赤枯病的发病规律

2.1.1 病原菌越冬及孢子的释放规律 前期笔者所在实验室通过柯赫氏法则对引起落羽杉属树木赤枯病的病原菌进行了分离鉴定,并利用分子生物学及形态学方法,初步确认致病病原菌为斑污拟盘多毛孢(*Pestalotiopsis maculans*)。为了确认致病病原菌的越冬方式,从易感病的中山杉 405 种植土壤中及树木不同部位上分离出病原菌并检查了病原菌菌丝和分生孢子。结果显示,病原菌可在病叶、小枝、梢部和芽中越冬,其中以病叶上的带菌率(96.7%)最高,小枝(76.7%)次之,而梢和芽的带菌率分别为 46.7%、31.6%,土壤最低,为 0%。因此,认为病叶组织和小枝可能是病原菌的主要越冬场所。此外,对杂交落羽杉 405 病叶组织和小枝的洗液进行镜检,结果均未发现分生孢子,推测该病原菌不是以孢子而是以菌丝形态越冬。

2.1.2 病原菌的传播方式 从 5 月初到 7 月末,每隔 1 d 记录 1 次孢子捕捉数量及当天的环境因子(温度、湿度、降水量和风速)。结果表明,病原菌分生孢子 5 月开始飞散,6 月中旬达到飞散最高峰,7 月底渐止。经统计发现,孢子飞散与温度的相关系数,即 r 值最大,为 0.617,其次是平均湿度(r 值为 0.543),之后是降水量(r 值为 0.297)、平均风速(r 值为 0.257)。因此,推断孢子飞散的最主要影响因子是温度,其次是湿度、降水量和风速。

2.2 不同落羽杉属树种的抗病性差异

对不同月份落羽杉、墨西哥落羽杉和它们的杂交无性系品种的感病情况进行调查。结果表明,墨西哥落羽杉、中山杉 405、中山杉 407、中山杉 502 和中山杉 118 均为感病品种,而落羽杉、中山杉 406 为抗病品种。由图 1 可知,墨西哥落羽杉发病最早,7 月开始发病,其次是中山杉 407 在 8 月开始发病,中山杉 405、中山杉 502、中山杉 118 从 9 月开始发病。墨西哥落羽杉发病早,且感病较重,感病指数范围为 43.7% ~ 96.3%,且感病指数在 8—9 月期间变化最为明显,因此 8—9 月为墨西哥落羽杉赤枯病感病最为严重的时期。中山杉 405 虽发病较迟,9 月才开始发病,但病情蔓延较快,感病指数范围为 53.3% ~ 96.7%,11—12 月,整树枯黄,病叶掉落严重。中山杉 407、中山杉 502、中山杉 118 病情较墨西哥落羽杉及中山杉 405 轻,感病指数范围分别为 42.8% ~ 83.1%、41.3% ~ 84.8%、59.6% ~ 86.7%,病势的蔓延较慢。落羽杉、中山杉 406 不发病。

2.3 落羽杉赤枯病防治技术研究

2.3.1 供试杀菌剂的初筛结果 对比参试的 8 种杀菌剂对落羽杉赤枯病病原菌的抑制效果。由图 2 可知,从最大抑制率来看,多菌灵、甲基硫菌灵、蛇床素、苯甲丙环唑、代森锰锌、国光黑杀、福美双、波尔多液对病原菌菌丝的抑制作用依次降低。多菌灵和甲基硫菌灵的最大抑制率达到 100%,且多菌灵在各个浓度下对供试菌株的菌落抑制率均达到 100%。甲

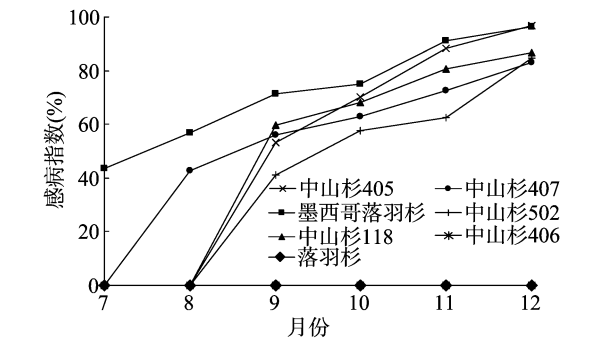


图1 不同落羽杉属树种感病情况的月份变化

基硫菌磷在较低浓度时对供试菌株的菌落抑制率较低,随着浓度的增加抑制率也随之升高,各浓度间抑制率相差较大,最高达到 100%。蛇床素和苯甲丙环唑的最大菌落抑制率也较

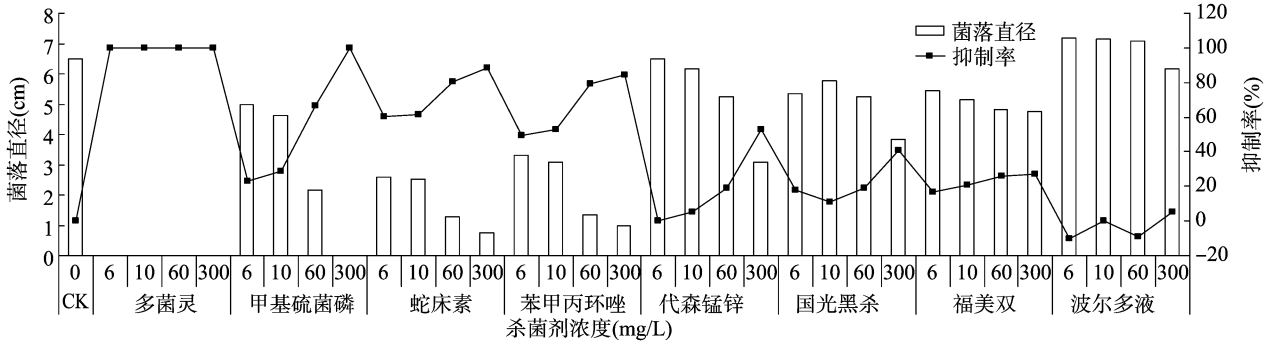


图2 8 种供试杀菌剂对斑污拟盘多毛孢菌丝生长的影响

2.3.2 初筛药剂对病原菌菌丝的影响 如图 3 所示,4 种杀菌剂对病原菌菌丝生长的抑制作用均整体随着药剂浓度的增加而增强。多菌灵在浓度为 2.50 mg/L 时抑制率已达 100%,在浓度较低时亦表现抑菌效果。甲基硫菌磷在较高浓度时具有良好的抑制菌丝生长的作用。蛇床素与苯甲丙环唑情况类似,但在较低浓度(0.01 ~ 2.50 mg/L)时,在同等浓度下苯甲丙环唑抑制率整体优于蛇床素。此外,分析 4 种药剂

高,分别达到 88.5%、84.6%。蛇床素在较低浓度时已表现出 60.3% 的抑制率,随着其浓度的增大,抑制率上升到 88.5%。苯甲丙环唑与蛇床素相似,但抑制率在同等浓度时均低于蛇床素。代森锰锌、国光黑杀、福美双、波尔多液的最大菌落抑制率依次为 52.7%、40.8%、26.8%、5.1%。其中代森锰锌、福美双随着浓度的增加,抑制率相对提高。在一定浓度范围内国光黑杀对菌株的菌落抑制率不与浓度呈正相关关系。其中波尔多液在 6、10、60 mg/L 时出现了负抑制作用,即在此浓度下波尔多液对斑污拟盘多毛孢的生长有促进作用,只有在浓度为 300 mg/L 时才对斑污拟盘多毛孢的生长具有抑制作用。结果表明,多菌灵、甲基硫菌磷、蛇床素和苯甲丙环唑的最大菌落抑制率都在 80% 以上,因此,选取这 4 种杀菌剂进行下一步试验。

的 EC_{50} 时发现,甲基硫菌磷的 EC_{50} 最高,为 24.283 mg/L,即它对病原菌株斑污拟盘多毛孢毒力最低;其次为苯甲丙环唑,其 EC_{50} 为 14.320 mg/L;多菌灵的 EC_{50} 最低,为 1.051 mg/L,说明它对病原菌株的生长抑制作用最强,而蛇床素对斑污拟盘多毛孢的毒力也较高,生长抑制作用较强,其 EC_{50} 为 4.356 mg/L(表 1)。

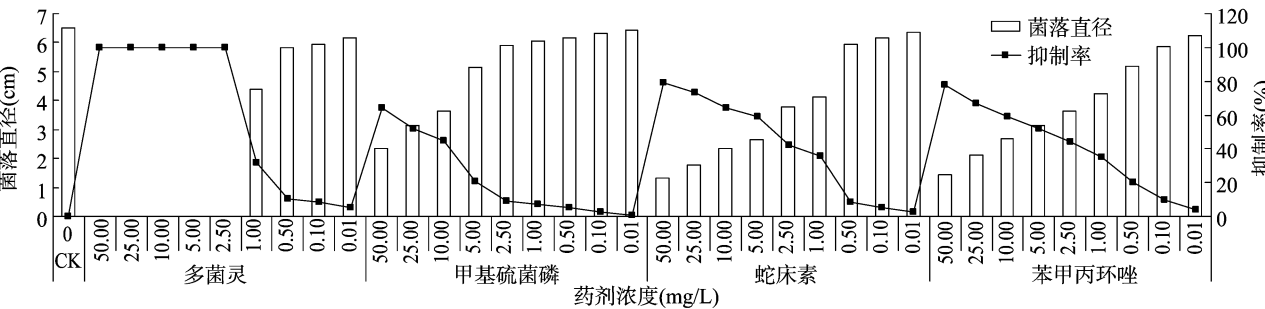


图3 4 种药剂对落羽杉赤枯菌斑污拟盘多毛孢菌丝生长的影响

2.3.3 初筛药剂对孢子萌发的影响 表 1 结果表明,多菌灵、甲基硫菌磷、蛇床素、苯甲丙环唑这 4 种农药的浓度分别为 1.051、24.283、4.356、14.320 mg/L 时,对病原菌孢子处理 12 h 后的孢子萌发抑制率分别为 49.4%、53.6%、32.4%、61.8%,其中空白对照的孢子萌发率为 86.3%。试验表明,4 种药剂不但对斑污拟盘多毛孢菌丝有较高的抑制作用,对孢子萌发也有较好的抑制作用。在各自的 EC_{50} 条件下,苯甲丙环唑对病原菌孢子萌发的抑制作用最强,其次是甲基硫菌磷

表 1 4 种杀菌剂对病原菌孢子萌发的影响

药剂	EC_{50} (mg/L)	萌发率 (%)	抑制率 (%)
多菌灵	1.051	43.7	49.4
甲基硫菌磷	24.283	40.0	53.6
蛇床素	4.356	58.3	32.4
苯甲丙环唑	14.320	33.0	61.8
对照	0	86.3	0

和多菌灵,蛇床素对病原菌孢子萌发的抑制作用最弱,抑制率为 32.4%。从菌丝生长抑制率和孢子萌发抑制率综合来评定,多菌灵对病原菌的抑制作用最强。

3 结论与讨论

落羽杉属树种赤枯病 7 月下旬开始发病。在 1 个生长季节中,赤枯病的发生只有 1 次高峰,时间为 8—9 月。病原菌主要以菌丝在小枝和落叶组织中越冬,但 2 种组织中越冬菌的数量差别很大,小枝中较少,落叶病组织中较多。孢子从 5 月开始飞散,6 月中旬捕捉的孢子最多,7 月下旬停止,并且温度对其影响较大。因此,在病害暴发前,尤其是高温高湿时要加大对落羽杉属树木赤枯病的防治力度。另外,在不同落羽杉属树种中,墨西哥落羽杉易染病,而落羽杉则较抗病,两者的杂交后代中山杉 405 易染病、中山杉 118 和中山杉 407 次之,中山杉 502 染病程度轻,而中山杉 406 则较抗病。本研究发现,落羽杉和墨西哥落羽杉对赤枯病病害的抗性存在较大差异,其杂交子代对赤枯病害的表现也不尽相同,这为今后选育出具有更抗病的中山杉品种奠定了理论基础。

对落羽杉赤枯病致病病原菌的室内杀菌剂进行筛选,得到 4 种高效杀菌剂:多菌灵、甲基硫菌磷、蛇床素、苯甲丙环唑,它们的 EC_{50} 分别为 1.051、24.283、4.356、14.320 mg/L,对病原菌斑污拟盘多毛孢的孢子萌发抑制率分别为 49.4%、53.6%、32.4%、61.8%。多菌灵为内吸性治疗菌剂,长期单一使用易引起病原菌的抗药性,因此须要进行杀菌剂轮换使用或混合使用。由于蛇床素提炼成本较高,单剂使用不经济、难以推广,可以考虑将蛇床素与农用抗生素井冈霉素进行复配使用。多菌灵、甲基硫菌磷^[21-22]也可用于土壤处理,且这些药剂在市场上价格适中,容易购买。此外,本研究发现,不同杀菌剂对斑污拟盘多毛孢的菌丝生长及孢子萌发的抑制效果不同,这为进一步在大田中通过优化杀菌剂的配比方案得到更好的抑菌效果奠定了基础。

参考文献:

- [1] Denny G C, Arnold M A. Taxonomy and nomenclature of baldcypress, pondcypress, and montezuma cypress: one, two, or three species? [J]. Horttechnology, 2007, 17(1): 125–127.
- [2] Allen J A, Chambers J L, McKinney D M. Intraspecific variation in the response of *Taxodium distichum* seedlings to salinity [J]. Forest Ecology & Management, 1994, 70(1/2/3): 203–214.
- [3] Yan X H, Pan B, Shi J Z, et al. Research on the wood growth characteristics of *Taxodium hybrid* ‘Zhongshansha 302’ planted for

- coastal windbreak [J]. China Forestry Science & Technology, 2010.
- [4] 王伟,高捍东,陆小青. 盐胁迫对中山杉无性系幼苗光响应曲线的影响 [J]. 林业工程学报, 2010, 24(3): 29–32.
- [5] Qi B Y, Yang Y, Yin Y L, et al. De novo sequencing, assembly, and analysis of the *Taxodium* ‘Zhongshansha’ roots and shoots transcriptome in response to short-term waterlogging [J]. BMC Plant Biology, 2014, 14(1): 201.
- [6] Yu C G, Xu S, Yin Y L. Transcriptome analysis of the *Taxodium* ‘Zhongshansha 405’ roots in response to salinity stress [J]. Plant Physiology & Biochemistry, 2016, 100(3): 156.
- [7] 林际朗,陈贻谋. 福建省主要林木病害名录 [J]. 福建林业科技, 1990(1): 76–79.
- [8] 匙明强,王 焱,叶建仁,等. 水杉赤枯病病原形态及分子鉴定 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2013, 37(5): 75–80.
- [9] 董长珊,田志勇. 水杉赤枯病的发生及防治技术探索初报 [J]. 湖北林业科技, 2010(1): 71–72.
- [10] 李六一. 杉木苗期赤枯病的发生规律与防治 [J]. 安徽林业科技, 2009(1): 28.
- [11] 曾思海. 杉木真菌病害研究概述 [J]. 福建林业科技, 2001, 28(1): 35–39.
- [12] 高兆蔚. 杉木苗期赤枯病的发生及其防治 [J]. 浙江林业科技, 1976(5): 25–26.
- [13] 殷云龙,陈永辉. 中山杉与池杉,落羽杉和水杉对比造林的调查和评价 [J]. 植物资源与环境学报, 1997(3): 23–28.
- [14] 王会方,何 梅,於朝广,等. 优良速生树种中山杉的国内外研究现状 [J]. 南方林业科学, 2015(3): 17–21.
- [15] 周志权,廖咏梅,黄炳金,等. 银杏叶枯病病原菌侵染特性的研究 [J]. 广西植保, 2000(3): 1–4.
- [16] 方中达. 植病研究方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 179–189.
- [17] 匙明强. 水杉赤枯病发生规律及防治技术研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2012: 39–41.
- [18] 商 靖. 欧美杨细菌性溃疡病菌侵染循环及病害流行研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2014: 35–42.
- [19] 宋秀敏. 几种杀虫剂和杀菌剂的药效试验 [J]. 内蒙古农业科技, 2005(5): 33–34.
- [20] 黄宗超,朱天辉. 杂交竹枯梢病菌的室内杀菌剂筛选 [J]. 中国森林病虫, 2007, 26(3): 35–38.
- [21] 瞿翠兰,李建国,吴月燕. 烹饪方式对豇豆中甲基硫菌灵及代谢物多菌灵的影响 [J]. 江苏农业科学, 2017, 45(3): 148–151.
- [22] 杨学明,姚金保,张 鹏,等. 叶面喷施杀菌剂和肥料对小麦宁麦 14 产量及品质的影响 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(9): 97–99.