

香蕉弯孢霉叶斑病菌生物学特性 及对杀菌剂的敏感性

桑利伟¹, 刘爱勤¹, 吴伟怀², 孙世伟¹, 郑服丛^{2*}

(1. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 万宁 571533; 2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 儋州 571737)

摘要 香蕉弯孢霉叶斑病菌[*Curvularia lunata* (Wakker) Boed]适合生长的培养基有 PSA、PDA 和 OMA;菌落生长、产孢和孢子萌发最适宜的温度为 25~30 ℃, pH 要求不严格为 5~9;在碳源和氮源中,蔗糖、葡萄糖、尿素、磷酸氢二氨和硝酸钠有利于病菌生长和产孢;分生孢子萌发对湿度有严格的要求, RH≥80% 以上分生孢子萌发,随湿度增加萌发率增高;光照对菌丝体无显著影响,光暗交替有利于孢子的形成;孢子致死温度为 55 ℃(10 min)。药物敏感性测定结果表明,6%戊唑醇微乳剂、25%丙环唑乳油、25%咪鲜胺水乳剂、25%戊唑醇乳油和 25%苯醚甲环唑乳油对香蕉弯孢霉叶斑病菌菌丝生长均有较好的抑制效果,其中 25%咪鲜胺水乳剂和 25%苯醚甲环唑乳油的抑菌效果最好。

关键词 香蕉; 香蕉弯孢霉叶斑病菌; 生物学特性; 杀菌剂敏感性

中图分类号 S 436.67

Studies on the biological characteristics of *Curvularia lunata* and its sensitivity to fungicides

Sang Liwei¹, Liu Aiqin¹, Wu Weihuai², Sun Shiwei¹, Zheng Fucong²

(1. Research Institute of Spice and Beverage Crops, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wanning 571533, China; 2. Institute of Environmental and Plant Protection, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, China)

Abstract The biological characteristics of *Curvularia lunata* (Wakker) Boed. were preliminarily studied. The optimal media for growth of the pathogen were PSA, PDA and OMA. The optimal temperature and pH ranges for mycelial growth, sporulation and conidial germination of the pathogen were 25—30 ℃ and 5—9, respectively. Sucrose, glucose, carbamide and sodium nitrate, among other carbon and nitrogen resources tested, were beneficial for mycelial growth and sporulation. A strict RH (81%—98%) was required for conidial germination, and 100% germination rate was achieved in water. The effect of light on growth of the pathogen was not obvious. The lethal temperature for the conidia was 55 ℃ (10 min). The effects of 5 fungicides on mycelial growth of *C. lunata* were determined in the laboratory. The results showed that several fungicides including tebuconazole, propiconazol, prochloraz and difenoconazole could inhibit mycelial growth, although prochloraz and difenoconazole were better.

Key words banana; *Curvularia lunata*; biological characteristics; sensitivity to fungicide

香蕉弯孢霉叶斑病(*Curvularia* leaf speckle)^[1] 是近年来我国香蕉生产上发生的一种常见病害,由

新月弯孢[*Curvularia lunata* (Wakker) Boed]^[2-3]引起,病斑呈灰色大长块状,边缘褐色。作者于 2004—2006 年通过对海口、儋州、乐东、东方、三亚、五指山、琼中、屯昌、昌江、澄迈、临高、文昌、琼海、白沙等市县香蕉病害的调查,发现该病在各海南香蕉产区分布广泛且常与香蕉灰纹病混生,危害性很大并有蔓延加重的趋势。

目前,国内对香蕉弯孢霉叶斑病菌的生物学特性、流行规律和防治等方面的研究尚未见报道,而在生产上对其发病条件与防治方法只是简单地等同于灰纹病,并没有开展深入的研究而进行有效防治。鉴于本病的严重性,本试验对病原菌的生物学特性及其药物敏感性等方面进行了初步研究,以便为病害的发生、流行和防治提供必要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株

供试菌株 3 株,均分离自香蕉并经过形态学鉴定,各菌株资料见表 1。

1.1.2 供试培养基及化学药剂

PDA、PSA、PCA、OMA、查氏琼脂培养基、香蕉叶煎汁培养基(香蕉叶 300 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 18 g,水 1 000 mL)、香蕉果煎汁培养基(香蕉果 300 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 18 g,水 1 000 mL)、PDA+香蕉叶煎汁培养基(PDA 和香蕉叶煎汁培养基等量混合)、PSA+香蕉叶煎汁培养基等 9 种培养基。供试化学药剂见表 2。

表 1 供试香蕉弯孢霉叶斑病菌株

菌株编号	采集地点	采集时间/年-月
1 号菌株(BL3)	乐东	2006-06
2 号菌株(BL26)	澄迈	2005-11
3 号菌株(BL29)	三亚	2004-09

1.2 方法

为了试验的一致性,均采用在 pH=5.5 的 PDA 培养基平板上 28 ℃培养 5 d 的菌种,用直径 0.5 cm 的打孔器统一打菌块,培养皿直径为 9 cm,每皿 15 mL 培养基,每处理 3 次重复,结果取平均值,测量菌落直径采用十字交叉法。

表 2 供试药剂名称及其产地、使用浓度

农药名称	生产商	使用浓度/μg·mL ⁻¹						
6%戊唑醇 ME	安徽省亳州市康达化工厂	2.00	1.00	0.75	0.50	0.25	0.10	0.05
25%丙环唑 EC	北京华戎生物激素厂	1.50	1.00	0.50	0.25	0.10	0.05	0.01
25%咪鲜胺 EW	陕西标正作物科学有限公司	2.00	1.00	0.75	0.50	0.25	0.10	0.05
25%戊唑醇 EC	广西金穗农药有限公司	2.00	1.00	0.75	0.50	0.25	0.10	0.05
25%苯醚甲环唑 EC	茂名绿银农化有限公司	1.50	1.00	0.50	0.25	0.10	0.05	0.01

1.2.1 培养基对菌丝生长的影响

选用 1.1.2 所列举的培养基^[4],将供试菌株分别接种在直径为 9 cm 平板中央,在 28 ℃恒温箱连续培养 3 d 后,观察菌落形态和测量菌落直径,每处理重复 3 次。

1.2.2 温度对菌丝生长、产孢和孢子萌发的影响

将病原菌接种在 PDA 培养基上,于 15、20、25、28、30、35、38 ℃和 40 ℃培养箱培养 3 d 后,测量菌落直径;7d 后,将产生的分生孢子用 20mL 灭菌水洗下,以 Neubauer 血球计数板法在显微镜下检查分生孢子数(下同)^[5]。

采用载玻片悬滴法测定对分生孢子萌发的影响,温度设置为 10、15、20、25、30、35 ℃和 40 ℃,12 h 内每隔 2 h 镜检萌发情况,计算萌发率。

1.2.3 pH 对菌丝生长、产孢和孢子萌发的影响

将灭菌后的 PDA 培养基分别调至 pH 为 3、4、5、6、7、8、9、10 和 11,接种病原菌,28 ℃培养 3 d 后测量菌落直径;7 d 后测产孢量,每处理重复 3 次。

分别用 pH 为 3、4、5、6、7、8、9、10 的水溶液配制成 1×10⁷ 个/mL 的分生孢子悬浮液,用载玻片悬滴法,25 ℃培养,在 12 h 观察萌发情况,计算萌发率。

1.2.4 碳、氮源对菌丝生长的影响

按照固体 Czapek 培养基的配制方法,其中碳源物质分别用蔗糖 30 g/L、乳糖 31.58 g/L、葡萄糖 34.72 g/L、甘露醇 31.93 g/L、柠檬酸钠 50.85 g/L,使碳的浓度为 12.63 g/L,以不加糖为对照;氮源物质分别用硝酸钠 2 g/L、尿素 0.71 g/L、磷酸氢二氨

1.55 g/L,以不加氮源为对照。培养基 pH 为 5.5,接种后于 28 ℃下培养 3 d 后测量其菌落直径^[6]。

1.2.5 光照对菌丝生长的影响

在 PDA 培养基上接种病菌后,分别置于完全黑暗、连续光照、光暗交替(12 h 光照,12 h 黑暗)3 种不同光照条件下进行培养,每处理 3 个重复。培养温度为 28 ℃,2 d 后测量菌落直径。

1.2.6 湿度对分生孢子萌发的影响

分生孢子液在载玻片上阴干后,置于 RH75%、80%、85%、90%、95%、98%、100%及水滴 8 个等级湿度的保湿器内,28 ℃下培养。12 h 后检查孢子萌发率。每次镜检 300 个分生孢子,重复 3 次。

1.2.7 孢子的致死温度测定

将孢子悬浮液分别倒入 45 个试管中,每试管 2 mL,每处理 3 个试管,分别放入 40、45、50、55、60 ℃的恒温水浴锅,处理 10 min 后,立即用冷水降温,后放入 28 ℃的恒温箱中,3 d 后观察分生孢子萌发状况。

1.2.8 菌丝生长对杀菌剂敏感性测定

采用生长速率法测定菌丝生长情况。将供试药剂稀释成不同浓度梯度制成 PDA 含药培养基,病菌培养 96 h 后检查各处理菌的生长情况,交叉交叉法量菌落直径,最后计算抑制生长率,求出毒力回归方程,计算 EC₅₀^[7-8]。

2 结果与分析

2.1 培养基对菌丝生长的影响

试验结果表明(表3):PSA、PDA、PDA+香蕉

叶煎汁培养基和 PSA+香蕉叶煎汁培养基对菌落生长大小影响不显著,但是对菌落形态影响显著。最适菌落生长的是 PSA 和 PDA,均表现为菌落厚而致密,茸状,墨绿色;其次是 OMA;再次为 PDA+香蕉叶煎汁培养基和 PSA+香蕉叶煎汁培养基,表现为菌落较以上稀薄,呈白绿色;不适合菌落生长的为 PCA、查氏琼脂培养基、香蕉叶煎汁培养基、香蕉果煎汁培养基,表现为菌落稀薄,灰褐色或灰白色,无明显气生菌丝。

表 3 培养基种类对香蕉弯孢霉叶斑病 1 号菌株菌落生长的影响

培养基种类	菌落平均直径±标准差/cm	差异显著性	
		0.05	0.01
PDA	6.30±0.08	a	A
PSA	6.40±0	a	A
PCA	5.40±0	c	C
OMA	6.00±0	b	B
Czapek	5.37±0.12	c	C
叶煎汁培养基	5.17±0.12	d	C
果煎汁培养基	4.03±0.05	e	D
PDA+叶煎汁培养基	6.27±0.05	a	A
PSA+叶煎汁培养基	6.40±0	a	A

2.2 温度对菌丝生长、产孢和孢子萌发的影响

从图 1 可知:温度对菌丝生长影响很大,该菌在 15~38 ℃时,菌丝均可生长,以 25~30 ℃生长最快,温度高于 40 ℃不生长,说明该菌适宜相对中温偏高的环境。从图 2 可以看出,在 25~30 ℃最有利于病菌产孢;当温度高于 30 ℃时,随着温度升高产孢量急剧减少。由图 3 可知:分生孢子在 10~40 ℃均能萌发,最适温度为 25~30 ℃。

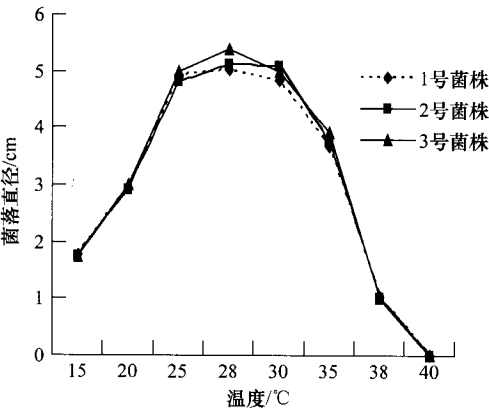


图 1 温度对香蕉弯孢霉叶斑病菌丝生长的影响

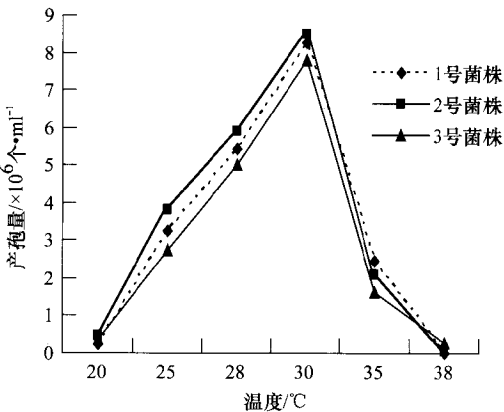


图 2 温度对香蕉弯孢霉叶斑病菌产孢的影响

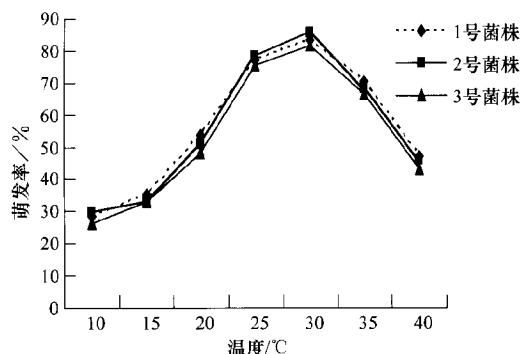


图3 温度对香蕉弯孢霉叶斑病分生孢子萌发的影响

2.3 pH对菌落生长、产孢和孢子萌发的影响

试验结果表明:该病菌在 pH3~11 范围内均能生长和产孢,适合菌落生长和产孢的 pH 为 5~9,以 pH 为 7 最适合病菌菌落生长和产孢,当 pH 高于 9 时,其产孢量急剧下降(图 4,图 5)。分生孢子在 pH3~10 均可萌发,pH7~9 时,分生孢子萌发率超过 50%,在 pH7~8 时萌发率最高,即在中性偏碱条件下,分生孢子萌发较好(图 6)。由此可见,该病菌生长、产孢和孢子萌发对 pH 要求不严格。

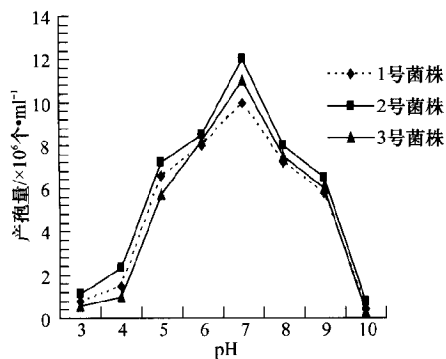


图5 pH对香蕉弯孢霉叶斑病病菌产孢量的影响

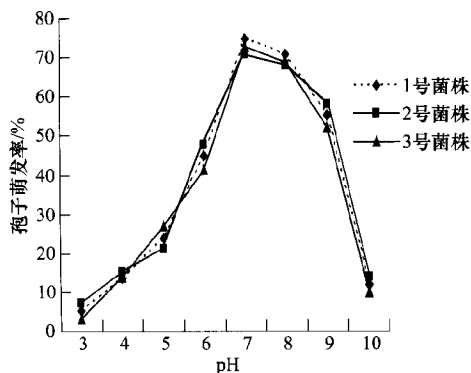


图6 pH对香蕉弯孢霉叶斑病分生孢子萌发的影响

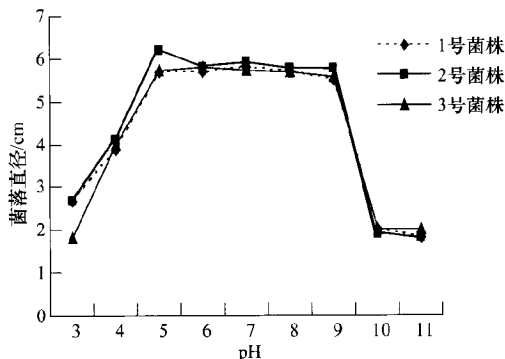


图4 pH对香蕉弯孢霉叶斑病菌丝生长的影响

2.4 碳、氮源对菌丝生长的影响

试验结果表明:碳源除柠檬酸外,对菌落大小无显著影响(表 4),但对菌落形态影响显著。最适碳源为蔗糖和葡萄糖,表现为较以不含碳源的培养基菌落厚而致密,灰白色;其次是乳糖,菌落较以蔗糖和葡萄糖为碳源稍薄些;不适合做碳源的是甘露醇和柠檬酸,表现为菌落稀薄,透明,白绿色或无色。最适氮源为尿素、磷酸氢二氨、硝酸钠,表现为菌落厚而致密,灰白色或雪白色。

表4 香蕉弯孢霉叶斑病1号菌株受

不同碳氮源影响的统计分析

碳氮源种类	菌落平均直径±标准差/cm	差异显著性	
		0.05	0.01
碳源	不含碳源	a	A
	葡萄糖	a	A
	蔗糖	a	A
	甘露醇	a	A
	乳糖	a	A
	柠檬酸	b	B
氮源	不含氮源	bc	AB
	NaNO ₃	ab	AB
	(NH ₄) ₂ HPO ₄	a	A
	尿素	c	B

2.5 光照对菌丝生长的影响

测试结果(图 7)表明,12 h 光暗交替较连续光照和连续黑暗更有利于菌丝生长。

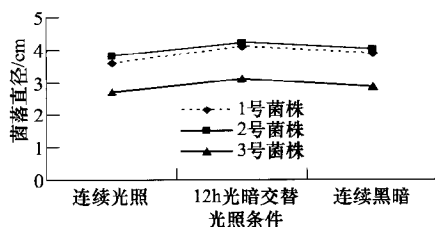


图7 光照对香蕉弯孢霉叶斑病菌丝生长的影响

2.6 湿度对分生孢子萌发的影响

由图 8 可知,不同湿度对分生孢子萌发有明显的影响。相对湿度高于 80%才能萌发,并随湿度增加,萌发率亦增加,在相对湿度 100%和水滴下萌发率达到约 95%。说明萌发需要高湿条件,水滴和相对湿度大、保持时间长更利于萌发。在 RH80%~95%时,虽能萌发,但芽管较短,需要时间长。当 RH95%以上,萌发速度快,产生芽管长,有菌丝状分支。

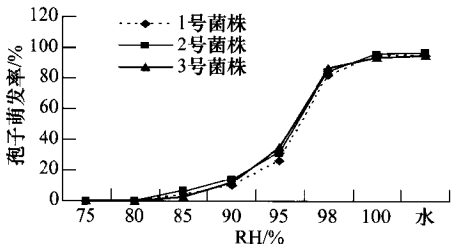


图 8 湿度对香蕉弯孢霉叶斑病分生孢子萌发的影响

2.7 孢子的致死温度测定

试验结果表明:分生孢子的致死温度为 55℃, 10 min,经过 50℃的处理仍有 11%的萌发率,55℃及以上处理未见孢子萌发。

表 5 生长速率法测定 5 种杀菌剂对香蕉弯孢霉叶斑病菌的抑制作用

供试药剂	毒力回归式(y=)	相关系数(r)	斜率(k)	EC ₅₀ /μg·mL ⁻¹
6%戊唑醇 ME	2.562 7x + 4.753 5	0.965 0	2.562 7	1.247 9
25%丙环唑 EC	0.737 1x + 5.379 0	0.966 1	0.737 1	0.306 1
25%咪鲜胺 EW	0.989 3x + 5.342 9	0.927 7	0.989 3	0.450 2
25%戊唑醇 EC	1.455 0x + 4.935 2	0.991 9	1.455 0	1.107 9
25%苯醚甲环唑 EC	1.086 1x + 5.107 5	0.997 0	1.086 1	0.796 3

3 讨论

研究认为:①病原菌在不同培养基上菌丝生长,以 PSA 和 PDA 为好。②菌丝生长对温度的要求相对比较严格,最适温在 25~30℃,亦利于产孢和分生孢子萌发。分生孢子萌发要求湿度较高,通常在 RH80%以上才能萌发。RH≥98%或有水滴萌发最好,萌发率可达约 95%。由此可见,香蕉弯孢霉叶斑病菌适宜于中温偏高和高湿环境,与在田间调查时病害发生发展温湿度一致。③不同的碳源和氮源对病原菌的生长影响较大,在有碳氮源与无碳氮源条件下菌落形态差异显著,碳源以蔗糖和葡萄糖为好,但病原菌对氮源的选择并不很严格。④菌丝生长对 pH 适应的范围较宽,pH5~9 均生长很好。分生孢子在 pH5~9 的酸碱环境中也均能萌发。光照对菌丝生长无显著促进作用。⑤分生孢子的致死温度为 55℃(10 min)。⑥不同杀菌剂药物敏感性测定中 EC₅₀ 越小、斜率越大说明病原菌对药剂的反应灵敏度越高,即随着浓度的增加,抑菌率明显增大。在试验供试药剂中,EC₅₀ 低的药剂其毒力回归方程斜率值往往也较

2.8 菌丝生长对杀菌剂敏感性测定

各供试药剂毒力回归式、斜率、EC₅₀ 和相关系数(R)结果见表 5。供试药剂按照 EC₅₀ 基本上可以归为 2 类:25%丙环唑乳油和 25%咪鲜胺水乳剂,EC₅₀ 分别为 0.306 1 μg/mL 和 0.450 2 μg/mL,是供试药剂中 EC₅₀ 非常小的,说明这两种药剂抑菌效果好;6%戊唑醇微乳剂、25%戊唑醇乳油和 25%苯醚甲环唑乳油,EC₅₀ 在 0.796 3~1.247 9 μg/mL 之间,说明这 3 种药剂抑菌效果较好。总体来看,5 种供试药剂的 EC₅₀ 均较小,说明这些药剂对香蕉弯孢霉叶斑病菌均有很好的抑菌效果。回归方程的斜率与杀菌剂对病菌的敏感性成正比。按回归方程的斜率,供试药剂可以分为 3 类:6%戊唑醇微乳剂斜率值 K 为 2.562 7,是供试药剂中斜率最大的,说明香蕉弯孢霉叶斑病菌对这种药剂的敏感性最高。25%咪鲜胺水乳剂、25%戊唑醇乳油和 25%苯醚甲环唑乳油,斜率值在 0.989 3~1.455 之间,说明香蕉弯孢霉叶斑病菌对这 2 种药剂的敏感性较高。25%丙环唑乳油斜率值 K 为 0.737 1,是供试药剂中斜率最小的,说明香蕉弯孢霉叶斑病菌对这种药剂的敏感性较低。

小。综合考虑供试药剂的 EC₅₀ 和斜率发现,25%咪鲜胺水乳剂和 25%苯醚甲环唑乳油对香蕉弯孢霉叶斑病菌的抑菌效果好且敏感性高。室内的药物敏感性测定结果仅仅说明该杀菌剂在离体条件下对香蕉弯孢霉叶斑病菌的直接活性,田间的防治效果受到的影响因素很多,有待于试验进一步证实。

参考文献

[1] 戚佩坤. 广东果树真菌病害志[M]. 北京:中国农业出版社, 2000:24-37.
[2] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1979:780.
[3] 张中义. 植物病原真菌学[M]. 成都:四川科学技术出版社,1988.
[4] 张益先,吕国忠,梁景颐,等. 玉米灰斑病菌生物学特性研究[J]. 植物病理学报,2003,33(4):292-295.
[5] 方中达. 植物研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1998.
[6] 胡小平,杨家荣,梅娜,等. 苹果黑星病菌中国菌株生物学特性研究[J]. 植物病理学报,2004,34(3):283-286.
[7] 潘劲松,谢标洪. 不同杀菌剂对棉花枯萎病病原室内毒力的研究[J]. 湖北植保,2000(2):20-21.
[8] 黄圣明,刘秀娟,谢艺贤,等. 咪鲜安等八种杀菌剂对芒果炭疽菌的毒性比较[J]. 热带作物学报,1992,13(1):67-69.