

引用格式:

张嘉, 陈娜, 胡军华, 吴望, 占爽, 周彦. ‘爱媛 38’果腐病致病菌鉴定及其杀菌剂的筛选[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2023, 49(1): 66–73.

ZHANG J, CHEN N, HU J H, WU W, ZHAN S, ZHOU Y. Identification of the pathogens causing fruit rot of ‘Ehime 38’ and screening of the fungicides[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2023, 49(1): 66–73.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



‘爱媛 38’果腐病致病菌鉴定及其杀菌剂的筛选

张嘉¹, 陈娜¹, 胡军华^{1,2*}, 吴望³, 占爽¹, 周彦^{1,2}

(1.西南大学柑桔研究所, 重庆 400712; 2.农业部西南地区果树科学观测实验站, 重庆 400712; 3.四川宜宾学院农林与食品工程学部, 四川 宜宾 644000)

摘要: 对‘爱媛 38’杂柑果腐病病果进行组织分离、纯化, 得到果腐病致病菌株 AY-11 和 GP-1, 运用形态学和分子生物学(ITS、LSU、TUB 和 EF- α)方法对菌株进行鉴定, 确定 AY-11 和 GP-1 分别为假可可毛色二孢(*Lasiodiplodia pseudotheobromae*)和可可毛色二孢(*Lasiodiplodia theobromae*); 将菌株回接到健康柑橘果实可致其发病, 从发病组织再次分离得到 *L. pseudotheobromae* 和 *L. theobromae*, 确定 AY-11 和 GP-1 是主要致病菌。致病菌对‘意大利酸橙’‘摩洛哥酸橙’‘爱媛 38’‘春见’‘枸头橙’均有较强致病性, 在枝、叶、果上形成褐色水渍状圆形病斑, 其中春见的病斑最大。运用菌丝生长速率法对 21 种药剂进行室内筛选, 结果对 AY-11 菌丝抑制作用最强的为 40% 多菌灵可湿性粉剂, EC₅₀ 值为 0.025 $\mu\text{g/mL}$; 对 GP-1 菌丝抑制作用最强的为 29% 吡啶·啉菌酯悬浮剂, EC₅₀ 值为 0.023 $\mu\text{g/mL}$ 。田间药剂防控试验结果显示, 45% 咪鲜胺水乳剂 1000 倍液、75% 肟菌·戊唑醇水分散粒剂 5000 倍液、70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂 800 倍液、25% 吡啶·啉菌酯乳油 1000 倍液处理的防效达 100%, 这些杀菌剂用于田间均能减少烂果率, 有效防控‘爱媛 38’果腐病。

关键词: ‘爱媛 38’; 果腐病; 假可可毛色二孢; 可可毛色二孢; 致病性; 药剂筛选

中图分类号: S436.661.1⁹

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2023)01-0066-08

Identification of the pathogens causing fruit rot of ‘Ehime 38’ and screening of the fungicides

ZHANG Jia¹, CHEN Na¹, HU Junhua^{1,2*}, WU Wang³, ZHAN Shuang¹, ZHOU Yan^{1,2}

(1.Citrus Research Institute, Southwest University, Chongqing 400712, China; 2.Fruit Tree science Observation and Experimental Station in Southwest China, Ministry of Agriculture, Chongqing 400712, China; 3.Department of Agriculture, Forestry and Food Engineering, Yibin University, Yibin, Sichuan 644000, China)

Abstract: Tissue isolation and purification of the diseased fruit of ‘Ehime 38’ were carried out, pathogen strains AY-11 and GP-1 were obtained, through traditional morphology and molecular biology(ITS, LSU, TUB2 and EF- α) identification methods, the pathogen strains AY-11 and GP-1 were identified as *Lasiodiplodia pseudotheobromae* and *Lasiodiplodia theobromae* respectively. Pathogenicity test carried on healthy citrus fruits showed the two pathogen strains caused fruit rot on the citrus, and *Lasiodiplodia pseudotheobromae* and *Lasiodiplodia theobromae* were recovered from the lesion organs, confirming strains AY-11 and GP-1 as the primary pathogens. The pathogenicity test carried on different varieties of citrus showed that the two strains had strong pathogenicity to these varieties of citrus including ‘Italian lime’, ‘Moroccan lime’, ‘Ehime 38’, ‘Harumi’ and ‘Goutoucheng’, forming brown watery round spots on

收稿日期: 2022-07-22

修回日期: 2022-10-04

基金项目: 科学技术部国家重点研发计划项目(2017YFD0202006-04); 国家现代农业柑橘产业技术体系(CARS-26-05B)

作者简介: 张嘉(1997—), 女, 河北石家庄人, 硕士研究生, 主要从事分子植物病理学研究, 1159371330@163.com; *通信作者, 胡军华, 博士, 副研究员, 主要从事分子植物病理学研究, hujunhua@cric.cn

branches, leaves and fruits, of which the largest spots were seen in Harumi. Indoor screening of fungicides using mycelial growth rate method showed that among the 21 agents, 40% Carbendazim WP showed the strongest inhibitory effect on strain AY-11, with EC_{50} of 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$. And 29% Isopyrazam·Azoxystrobin SC showed the strongest inhibitory effect of strain GP-1, with EC_{50} of 0.023 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Field tests showed that and 45% Prochloraz water emulsion diluted 1000 times, 75% Oxime bacteria Tebuconazole water dispersible granules diluted 5000 times, 70% Thiophanate methyl wettable powder diluted 800 times and 25% Pyrazolidonil EC diluted 1000 times all showed 100% prevention effects, indicating these fungicides can reduce the rotten fruit rate and effectively prevent and control the disease.

Keywords: ‘Ehime 38’; fruit rot; *Lasiodiplodia pseudotheobromae*; *Lasiodiplodia theobromae*; pathogenicity; screening of fungicides

柑橘腐烂病包括黑腐病、蒂腐病、酸腐病、脚腐病,对柑橘的产量和品质造成严重危害,小新壳梭孢^[1]、葡萄座腔菌^[2]等病原菌均可引起柑橘果实和枝条的腐烂病。

Lasiodiplodia theobromae 和 *Lasiodiplodia pseudotheobromae* 的寄主范围广,侵染力强,侵染部位多,引起症状多样。*L. theobromae* 可引起茶树叶斑病、油茶叶斑病、柚果腐病、柠檬流胶病以及柑橘采后蒂腐病、柑橘茎端腐烂病等^[3-8]。甲基托布津、苯菌灵^[9-10]等对其有明显的抑制作用。*L. pseudotheobromae* 可引起楠木枝枯病、橡胶树叶斑病、棉花茎枯病、红豆枝枯病、腰果流胶病、朴树溃疡病、柑橘枝干溃疡病、柑橘果实贮藏期腐烂等^[11-18],在病害鉴定及致病性上研究报道较多,药剂防治 *L. pseudotheobromae* 尚少见报道。

2019—2022 年,四川和重庆部分柑橘园中发生‘爱媛 38’果实转色期大量腐烂。为明确引起果腐病的致病菌以及致病菌对柑橘的潜在危害,笔者采集这些病果,进行组织分离,纯化、鉴定,并进行致病力测试和防治药剂筛选,以期为柑橘果腐病的防治提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

‘爱媛 38’果腐病病果采自四川井研和重庆忠县柑橘园。

致病性测试所用品种包括‘意大利酸橙’‘摩洛哥酸橙’‘爱媛 38’‘春见’‘枸头橙’,采自西南大学柑桔研究所资源圃。供试药剂 21 种:250 g/L 吡唑醚菌酯乳油、30%噻唑锌悬乳剂、50%啉菌酯水分散粒剂、60%啉醚·代森联水分散粒剂(巴斯夫欧洲公司);29%吡萘·啉菌酯悬浮剂、10%苯醚甲环唑水分

散粒剂、50%啉菌环胺水分散粒剂、24%腈苯唑悬乳剂(瑞士先正达作物保护有限公司);40%多菌灵可湿性粉剂(上海吴淞化工有限公司);80%代森锰锌可湿性粉剂、75%啉菌·戊唑醇水分散粒剂、70%丙森锌水分散粒剂(拜耳作物科学中国有限公司北京分公司);450g/L 咪鲜胺乳油、80%克菌丹可湿性粉剂(安道麦(北京)农业技术有限公司);3%噻霉酮微乳剂(江苏辉丰农化股份有限公司);50%甲基硫菌灵悬浮剂(陕西汤普森生物科技有限公司);70%戊唑·醚菌酯水分散粒剂(陕西康禾立丰生物科技药业有限公司);60%霜脲·啉菌酯水分散粒剂(陕西先农生物科技有限公司);12.5%烯唑醇可湿性粉剂(江苏托球农化股份有限公司);77%氢氧化铜可湿性粉剂(菏泽六亩田作物科学有限公司);50%异菌脲可湿性粉剂(江西禾益化工有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 柑橘果腐病致病菌的分离及鉴定

采用组织分离法^[19]进行病原菌分离。选取‘爱媛 38’带有典型病斑的果皮组织,剪成 1 cm^2 小块,消毒、清洗后置于 PDA 平板上,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 2 d,挑取典型菌落边缘的菌丝,置于新的 PDA 平板上,28 $^{\circ}\text{C}$ 培养 5 d,再将单孢子培养物转移到 PDA 斜面上,保存在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,备用。

依照文献[20]的方法对分离株进行形态学鉴定。挑取少量菌丝用 2x T5 Dir 乳油 t PCR Kit(Plant)试剂盒(擎科公司)裂解,获得模板 DNA,直接扩增真菌 ITS、LSU、TUB、EF-1 α 基因组片段,扩增产物在 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测后送擎科公司测序。将序列提交至 NCBI 数据库(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)中比对分析。

将纯化培养的菌株在 PDA 培养基上 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温

培养 5 d, 向健康果实针刺接种菌饼, 每日观察记录发病情况, 对患病组织进行致病菌分离, 验证科赫法则。

1.2.2 致病菌的致病力测试

参照王雪莲^[21]的方法并加以改进, 测试致病菌的致病力。将‘意大利酸橙’‘摩洛哥酸橙’‘爱媛 38’‘春见’‘枸头橙’的枝条、叶片和膨大期果实用 75%乙醇浸泡 30 s, 无菌水冲洗 3 次, 自然风干; 果实、叶片各针刺 1 针, 枝条用打孔器创造伤口后分别接种直径 5 mm 菌饼, 以接种 PDA 培养基的样本为对照, 每处理 15 份组织, 重复 4 次, 28 °C 保湿培养。采用十字交叉法^[22]测量病斑直径。

1.2.3 室内药剂筛选

采用菌丝生长速率法^[23]筛选室内药剂。所有药剂配制为 1 mg/mL 的母液, 将 PDA 培养基配制成 4.000、2.000、1.000、0.500、0.250、0.125 mg/kg 的含药培养基, 接种直径 6 mm 菌饼, 以加入等量无菌水的 PDA 为空白对照, 每处理 4 次重复。28 °C 恒温培养 36 h 后, 用十字交叉法测量菌落直径, 计算抑制率^[24]。

1.2.4 柑橘果腐病的田间防效测定

柑橘果腐病田间防效测定参照蒲占涓等^[25]的方法进行。选用 9 种药剂: 45%咪鲜胺水乳剂 1000 倍液、60%唑醚·代森联水分散粒剂 1500 倍液、25%吡唑醚菌酯乳油 1000 倍液、75%肟菌·戊唑醇水分散粒剂 5000 倍液、50%异菌脲可湿性粉剂 1000 倍液、70%甲基硫菌灵可湿性粉剂 1000 倍液、70%丙森锌水分散粒剂 700 倍液、80%代森锰锌可湿性粉剂 600 倍液、77%氢氧化铜可湿性粉剂 500 倍液, 以清水作对照, 分别于 2019 年 6 月 14 日、9 月 3 日、9 月 29 日和 10 月 24 日喷施。每处理 3 株树, 3 次重复。在果实接近采摘期时每处理选取 3 株树, 按东、南、西、北、中 5 个方位随机取 30 个果, 计算烂果率。

1.3 数据处理

以 *Alternaria alternata*(MF070413.1)为外群, 采用 MEGA 7.0 邻接法进行聚类分析并构建联合系统进化树(1000 次重复); 用 SPSS 对病斑直径进行方差分析; 采用农药室内生物测定数据处理系统

(PBT)对各药剂试验结果进行统计分析, 获得各药剂的毒力回归方程、抑制中浓度(EC₅₀)和相关系数。

2 结果与分析

2.1 柑橘果腐病受害症状和致病菌鉴定结果

‘爱媛 38’果腐病病果症状如图 1 所示。发病初期, 果皮呈水浸状凸起, 随着病情发展, 油胞肿胀溃破, 病斑由中心至边缘开始变黑, 病健交界明显。发病柑橘果实呈黑褐色, 软腐。



图 1 ‘爱媛 38’果腐病症状

Fig.1 Damage symptom on ‘Ehime 38’ with fruit rot

从病果上分离纯化得到 2 株致病菌株, 分别为 AY-11 和 GP-1, 其形态学特征如图 2 所示。菌株 AY-11 菌落在 PDA 平板上培养, 初期呈白色绒毛状, 呈放射状向外扩展, 边缘不整齐, 菌丝体较稀疏, 气生菌丝发达, 28 °C 培养 36 h 即可长满 9 cm 培养皿, 继续培养至 5 d 时, 菌落中部开始呈墨绿色, 菌丝致密, 后逐渐转变为黑灰色。在 V8 培养基上光暗交替培养 14 d 后, 可观察到分生孢子, 分生孢子未成熟时呈无色透明状, 单胞, 逐渐变棕色至黑色, 厚壁, 两端都较为圆钝, 具有中隔膜和纵纹。菌株 GP-1 菌落在 PDA 平板上培养, 其特征和 AY-11 基本一致, 但分生孢子形态一端较尖, 一端圆钝。

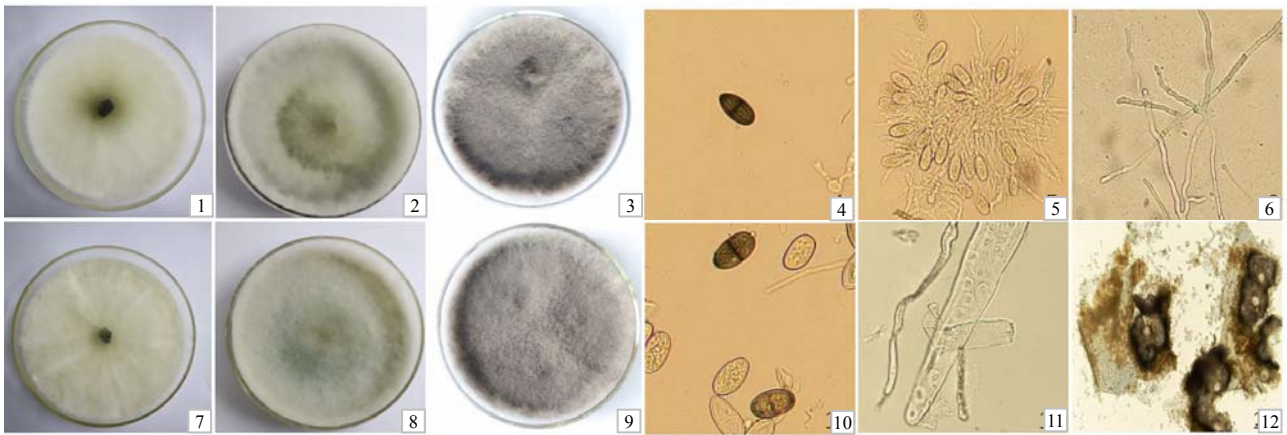
AY-11 菌株 ITS、LSU、EF1- α 和 TUB2 基因序列长度分别为 583、914、547、476 bp, 与 NCBI 登录号为 MF671948.1、FN645641.1、LC270869.1 和 MN794202.1 等 *L. pseudotheobromae* 序列的相似度分别为 99%、99%、97%和 97%。GP-1 菌株的 ITS、LSU 和 TUB2 序列长度分别为 579、880、479 bp, 与 NCBI 登录号为 MK530056.1、MK348011.1、KR260829.1 等 *L. theobromae* 序列的相似度分别为 97%、96%和 95%。

从 GenBank 中下载相关菌株 *L. pseudotheobromae*、*L. theobromae*、*L. iranensis* 等的 ITS、LSU、EF1- α 及 TUB2 序列联合构建发育树。结果(图 3)

AY-11 和 GP-1 分别与 *L. pseudotheobromae* 和 *L. theobromae* 的遗传距离最小，聚为一支。结合形态学特征和分子鉴定结果，确定‘爱媛 38’果腐病病原菌为子囊菌门^[26]真菌假可可毛色二孢 (*Lasiodiplodia pseudo-theobromae*)和可可毛色二孢 (*Lasiodiplodia theobromae*)。

将 AY-11 和 GP-1 接种于健康柑橘果实，以

PDA 为对照，针刺接种 2 d 后，AY-11 和 GP-1 能通过伤口侵染柑橘果实，果实出现腐烂症状。对接种后发病的果实进行致病菌分离，再次获得 *Lasiodiplodia pseudotheobromae* 和 *Lasiodiplodia theobromae* 菌株，形态学和 ITS1/4 序列与菌株 AY-11 和 GP-1 的一致。



1~3 GP-1 在 PDA 上分别生长 2、5、20 d 的菌落形态；4~6 GP-1 的孢子形态、产孢结构和气生菌丝形态；7~9 AY-11 在 PDA 上分别生长 2、5、20 d 的菌落形态；10~12 分别为 AY-11 的孢子形态、产孢结构和孢子囊。

图 2 AY-11 和 GP-1 菌株的形态学特征

Fig.2 Morphological characteristics of strain AY-11 and strain GP-1

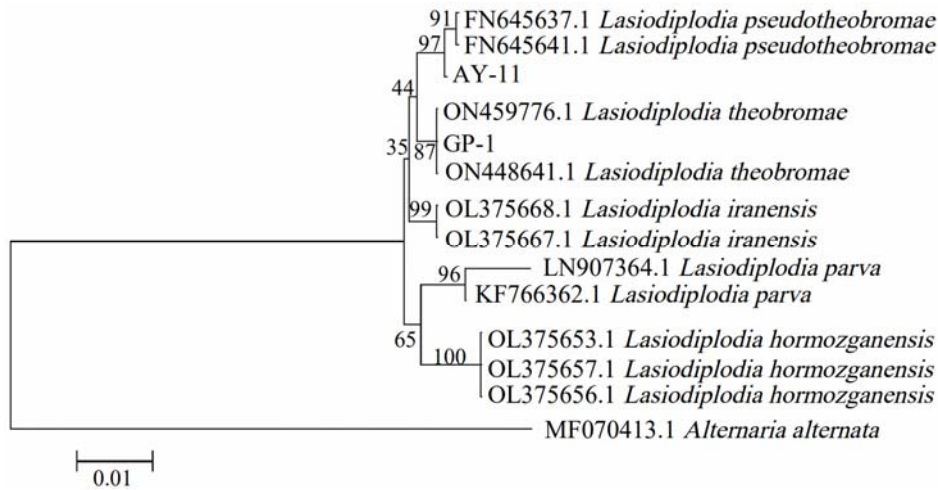


图 3 AY-11 和 GP-1 菌株基于邻接法构建的系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree for strain AY-11 and strain GP-1 based on neighbor-joining method

2.2 致病菌的致病性

将 AY-11 和 GP-1 菌株分别接种‘意大利酸橙’‘摩洛哥酸橙’‘爱媛 38’‘春见’‘枸头橙’的果实、叶片和枝条，28 °C 恒温培养。针刺接种 2 d 后，这些柑橘的枝条、叶片、果实均出现腐烂，可见明显的水浸状病斑，培养至 6 d 时，病斑直径可达 50~200 mm，果实病斑的直径均大于枝条和叶片上的(表 1)。

‘春见’的发病最严重，接种 AY-11 菌株后腐烂程度略高于接种 GP-1 菌株的。

果实接种 GP-1，‘春见’和‘枸头橙’软腐现象最严重；果实接种 AY-11 菌株，‘春见’的软腐现象最严重，果实表面产生无色或灰褐色病斑，相对湿度适宜时，侵染速率快，病斑直径每天扩大约 1 cm，之后果实内部瓢瓣变为黑色。针刺接种叶片同样造成严重的叶片腐烂，接种 AY-11 和 GP-1 菌株 6 d

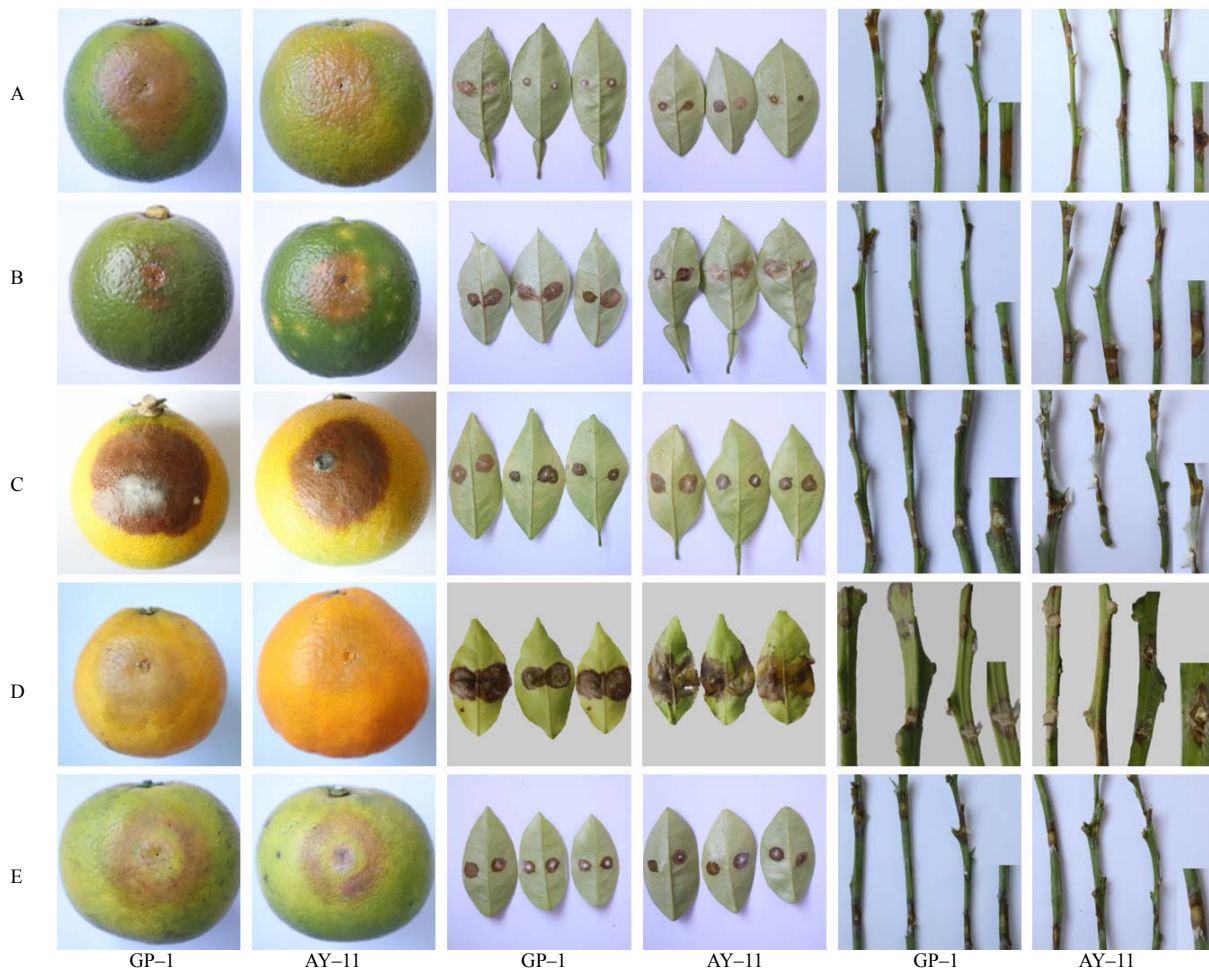
时‘春见’叶片均已完全腐烂,‘意大利酸橙’‘枸头橙’‘摩洛哥酸橙’‘爱媛 38’等症状比‘春见’的轻。菌株接种枝条后可造成接种点腐烂,接种 GP-1 菌株后,‘意大利酸橙’和‘春见’的腐烂程度比其他品种严

重;接种 AY-11 菌株后,在‘春见’‘枸头橙’‘意大利酸橙’上腐烂最严重,且腐烂程度比接种 GP-1 菌株的更严重。AY-11 和 GP-1 在同一品种上的致病性具有差异(图 4)。

表 1 GP-1 和 AY-11 菌株侵染柑橘时的平均病斑直径

Table 1 Average lesion diameter of different varieties of citrus infected by strain GP-1 and strain AY-11 cm				
菌株	品种	叶片平均病斑直径	枝条平均病斑直径	果实平均病斑直径
GP-1	‘意大利酸橙’	(0.64±0.23)b	(0.97±0.16)a	(1.31±0.98)c
	‘摩洛哥酸橙’	(0.83±0.32)b	(0.76±0.18)b	(0.95±0.62)c
	‘爱媛 38’	(0.73±0.21)b	(0.73±0.21)b	(1.85±0.38)b
	‘春见’	(1.67±0.79)a	(0.93±0.15)a	(2.78±0.63)a
	‘枸头橙’	(0.67±0.33)b	(0.75±0.24)b	(2.10±1.00)b
AY-11	‘意大利酸橙’	(0.65±0.21)d	(1.01±0.24)b	(1.19±0.85)c
	‘摩洛哥酸橙’	(0.78±0.24)c	(0.74±0.23)b	(1.26±0.79)c
	‘爱媛 38’	(0.92±0.27)b	(0.98±0.29)b	(1.89±0.30)b
	‘春见’	(1.89±0.44)a	(1.81±1.14)a	(2.60±1.08)a
	‘枸头橙’	(0.61±0.17)d	(1.06±0.31)b	(1.80±0.87)bc

同列不同字母表示同一菌株侵染柑橘品种间的差异有统计学意义($P<0.05$)。



A ‘意大利酸橙’; B ‘摩洛哥酸橙’; C ‘爱媛 38’; D ‘春见’; E ‘枸头橙’。GP-1 可可毛色二孢; AY-11 假可可毛色二孢。

图 4 GP-1 和 AY-11 菌株致病性测试的发病情况

Fig. 4 Incidence of fruit rot occurred in pathogenicity test of strain GP-1 and strain AY-11

2.3 柑橘果腐病室内防治药剂的防效

柑橘果腐病室内药剂筛选结果(表 2)表明,40%多菌灵可湿性粉剂和 70%戊唑·醚菌酯水分散粒剂对 AY-11 菌株表现出很强的抑制效果,EC₅₀ 值小于 0.1 μg/mL; 10%苯醚甲环唑水分散粒剂、12.5%烯唑醇可湿性粉剂、450 g/L 咪鲜胺乳油和 70%甲基硫菌灵悬浮剂有较强的抑制效果。29%吡萘·啉菌酯

悬浮剂和 450 g/L 咪鲜胺乳油对 GP-11 有明显抑制效果, EC₅₀ 值小于 0.1 μg/mL; 10%苯醚甲环唑水分散粒剂、75%肟菌·戊唑醇水分散粒剂、80%克菌丹可湿性粉剂、50%异菌脲可湿性粉剂、12.5%烯唑醇可湿性粉剂 EC₅₀ 值在 0.114 5~0.707 1 μg/mL, 对 GP-1 有较强的抑制效果。

表 2 不同杀菌剂对柑橘果腐病致病菌的毒力

Table 2 Virulence of different fungicides to the two pathogenic strains causing citrus fruit rot

菌株	药剂	毒力回归方程	EC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)	相关系数	95%置信限	
GP-1	29%吡萘·啉菌酯悬浮剂	$Y=1.854 7X+8.032 3$	0.023 2	0.985 1	0.046~0.116	
	450 g/L 咪鲜胺乳油	$Y=1.232 4X+6.474 9$	0.063 6	0.974 3	0.049~0.824	
	10%苯醚甲环唑水分散粒剂	$Y=0.983 2X+5.925 5$	0.114 5	0.945 1	0.039~3.401	
	75%肟菌·戊唑醇水分散粒剂	$Y=0.616 7X+5.500 2$	0.154 5	0.924 0	0.021~11.244	
	80%克菌丹水分散粒剂	$Y=0.992 2X+5.707 4$	0.193 7	0.637 6	0.003~127.239	
	50%异菌脲可湿性粉剂	$Y=2.299 0X+5.438 4$	0.644 6	0.833 4	0.902~4.605	
	12.5%烯唑醇可湿性粉剂	$Y=1.757 9X+5.264 6$	0.707 1	0.922 4	0.186~4.219	
	24%腈苯唑悬乳剂	$Y=1.674 9X+5.134 3$	0.831 4	0.988 4	0.141~4.224	
	70%甲基硫菌灵悬浮剂	$Y=1.155 7X+4.673 3$	1.917 3	0.972 3	0.037~101.178	
	60%唑醚·代森联水分散粒剂	$Y=0.155 7X+4.359 2$	133.335 0	0.575 6	0.286~1.207	
	50%啉菌环胺水分散粒剂	$Y=0.359 8X+4.086 5$	346.136 0	0.535 3	0.021~196.903	
	AY-11	40%多菌灵可湿性粉剂	$Y=2.369 6X+8.777 8$	0.025 4	0.970 2	0.0~0.1
		70%戊唑·醚菌酯水分散粒剂	$Y=0.845 3X+5.899 3$	0.086 3	0.987 3	0.0~2.1
10%苯醚甲环唑水分散粒剂		$Y=0.608 8X+5.348 4$	0.267 8	0.993 6	0.0~25.4	
12.5%烯唑醇可湿性粉剂		$Y=0.802 9X+5.133 5$	0.682 0	0.988 0	0.03~13.6	
450 g/L 咪鲜胺乳油		$Y=0.643 8X+5.082 9$	0.743 4	0.975 1	0.0~13 581.2	
70%甲基硫菌灵悬浮剂		$Y=1.495 5X+4.846 9$	1.265 8	0.941 3	0.1~15.228 3	
75%肟菌·戊唑醇水分散粒剂		$Y=0.557 4X+4.790 4$	2.376 8	0.969 0	0.0~12 489.0	
3%噻霉酮微乳剂		$Y=1.951 1X+4.149 5$	2.728 3	0.982 3	0.4~18.870 6	
60%唑醚·代森联水乳剂		$Y=0.300 1X+4.845 0$	3.286 1	0.914 1	0.0~1 768 544.5	
250 g/L 吡唑醚菌酯可湿性粉剂		$Y=1.098 5X+4.398 3$	3.529 7	0.951 4	0.1~196.491	
50%异菌脲可湿性粉剂		$Y=0.608 1X+4.524 7$	6.048 1	0.982 3	0.0~358.7	
80%代森锰锌可湿性粉剂		$Y=0.456 8X+4.528 8$	10.755 7	0.950 9	0.0~844.2	

2.4 杀菌剂对柑橘果腐病田间的防效

杀菌剂对柑橘果腐病的田间防效的调查结果(表 3)表明,清水对照的烂果率为 10%; 喷药 4 次后,柑橘果实腐烂病得到有效控制,其中 45% 咪鲜胺水乳剂 1000 倍液、75%肟菌·戊唑醇水分散粒剂 5000 倍液、70%甲基硫菌灵可湿性粉剂 800 倍液和 25%吡唑醚菌酯乳油 1000 倍液处理的防效达

100%, 田间药剂防控试验结果与室内毒力测试结果吻合。另外, 77% 氢氧化铜水分散粒剂 500 倍液处理的防效为 100%。结合田间药剂防控和室内毒力测试结果, 选取多菌灵、肟菌·戊唑醇、苯醚甲环唑等杀菌剂配合氢氧化铜等保护剂防治柑橘果腐病, 可提升防治效果。

表3 杀菌剂对柑橘果腐病的田间防效

Table 3 Inhibitory effect of fungicides on citrus fruit rot in the field

药剂	稀释倍数	烂果率/%	药剂	稀释倍数	烂果率/%
45%咪鲜胺水乳剂	1000	0.0	70%甲基硫菌灵可湿性粉剂	800	0.0
60%唑醚·代森联水分散粒剂	1500	4.4	70%丙森锌水分散粒剂	700	0.0
25%吡唑醚菌酯乳油	1000	0.0	80%代森锰锌可湿性粉剂	600	7.5
75%肟菌·戊唑醇水分散粒剂	5000	0.0	77%氢氧化铜可湿性粉剂	500	0.0
50%异菌脲可湿性粉剂	1000	4.4	清水对照		10.0

3 结论与讨论

2019年在四川井研和重庆忠县‘爱媛38’果园中出现大量果实腐烂,通过病原菌形态特征观察、致病性测试、ITS、LSU、EF-1 α 和TUB2序列分析,最终鉴定引起‘爱媛38’果腐病的致病菌为葡萄座腔菌科中的可可毛色二孢(*L. theobromae*)和假可可毛色二孢(*L. pseudotheobromae*)。2021年9—11月,西南大学柑桔研究所资源圃内‘摩洛哥酸橙’和‘枸头橙’叶片和果实同时出现黑色或褐色革质化病斑,扩展迅速且为害众多品种,但不软腐;纽荷尔脐橙和高接丽红果实等出现褐色斑点,严重影响果面,同样不软腐。对这些病果、病叶进行的组织分离鉴定结果表明,可可毛色二孢和假可可毛色二孢为主要致病菌。

这2株致病菌株在果实膨大期引起果实水浸状腐烂,推断贮藏期果实腐烂有可能是由采集时果园带出的病叶、病果上病原菌引起。假可可毛色二孢和可可毛色二孢虽同为果实病害致病菌,形态特征相似,但通过测序并构建系统进化树,发现两者在分子水平上有很大差异,二者的致病性和防治药剂同样存在差异。对‘爱媛38’‘春见’‘摩洛哥酸橙’‘意大利酸橙’‘枸头橙’的叶片、枝条和果实进行的致病性测试结果表明,可快速引起此5种柑橘果实、枝条和叶片腐烂,病斑发展迅速。致病菌具有多寄主的特性,易相互传染,再加上柑橘果实腐烂之后完全不能销售,严重影响经济效益。

供试的21种杀菌剂中,对可可毛色二孢菌丝抑制作用最强的为29%吡唑·啉菌酯悬浮剂,其次是450 g/L咪鲜胺乳油。对假可可毛色二孢菌丝抑制作用最强的为40%多菌灵可湿性粉剂,其次为70%戊唑·醚菌酯水分散粒剂。结合田间调查结果,除异菌脲和唑醚·代森联效果稍微逊色外,其他药剂都具有很好的防效。保护剂氢氧化铜对AY-11抑制效果较好,可结合其他有效杀菌剂在田间使用。

‘爱媛38’果腐病在9月末至10月发病,10月中旬大爆发,在6—10月应加强对腐烂病的预防和控制,一旦发现该病害要立即用药,否则病害大发生之后带来的不可逆的果实腐烂将造成巨大经济损失。在果实成熟的中后期进行积极的防控,可有效控制由*L. theobromae*和*L. pseudotheobromae*引起的柑橘果实腐烂病。6月中旬至7月中旬为川渝地区的雨季,采用统混的方式将氢氧化铜与其他药剂混用,以防雨季大量雨水的冲刷。450 g/L咪鲜胺乳油1000倍液、75%肟菌·戊唑醇水分散粒剂5000倍液、70%甲基硫菌灵可湿性粉剂800倍液和25%吡唑醚菌酯乳油1000倍液防效达100%,都能控制柑橘果实腐烂病害,可以在生产上推广使用。

可可毛色二孢和假可可毛色二孢往往共同侵染柑橘,难以区分,咪鲜胺、苯醚甲环唑、肟菌·戊唑醇、烯唑醇等配合保护剂对2个菌株均有较好的防治效果,可在谢花2/3及果实成熟前1个月交替使用,以防果实成熟期腐烂或出现病斑,减少落果,减少果实进入仓库时携带的病菌量,降低贮藏期果实腐烂造成的损失。

参考文献:

- [1] 雷建姣,汤前,曲正,等.柑橘果实壳梭孢腐烂病的鉴定[J].植物病理学报,2018,48(5):582-586.
- [2] 朱琪丽,赵会长,谢甲涛,等.葡萄座腔菌侵染柑橘果实的报道[J].植物病理学报,2018,48(2):154-158.
- [3] 任亚峰,包兴涛,李冬雪,等.茶叶叶斑病原菌可可毛色二孢菌的鉴定[J].植物病理学报,2019,49(6):857-861.
- [4] 秦绍钊,邓洁,王建伟.贵州油茶叶斑病*Lasiodiplodia theobromae*病原鉴定研究[J].山西农经,2020(1):90-91.
- [5] LUO M, DONG Z Y, BIN S Y, et al. First report of fruit rot disease on pomelo caused by *Lasiodiplodia theobromae* in China[J]. Plant Disease, 2011, 95(9): 1190.
- [6] GUAJARDO J, RIQUELME N, TAPIA L, et al. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing bot gummosis in *Citrus limon* in Chile[J]. Plant Disease,

- 2018, 102(4): 818.
- [7] ZHANG J X. *Lasiodiplodia theobromae* in Citrus Fruit (*Diplodia stem-end Rot*)[M]. Amsterdam: Elsevier, 2014: 309–335.
- [8] DWIASTUTI M E, AJI T G. Citrus stem rot disease (*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl) problem and their control strategy in Indonesia[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021, 752(1): 012030.
- [9] 宋雅琴, 娄兵海, 陈爱军, 等. 25 种杀菌剂对葡萄溃疡病病原菌抑制作用及其对葡萄适用性评价[J]. 中国南方果树, 2015, 44(4): 83–87.
- [10] 刘梅, 张玮, 宋雅琴, 等. 4 种杀菌剂对葡萄溃疡病病原菌的抑制作用及对病害的防治效果[J]. 中国果树, 2013, (6): 58–61.
- [11] 岳阳, 吴利平, 夏俊勇, 等. 楠木枝枯病原菌鉴定[J]. 植物病理学报, 2019, 49(5): 699–704.
- [12] 吴如慧, 李增平, 张宇, 等. 橡胶树毛色二孢叶斑病原菌的鉴定及其生物学特性研究[J]. 热带作物学报, 2019, 40(1): 107–114.
- [13] NAZ S, MEHBOOB S, ALAM M W, et al. First report of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing twig and stem blight of *Gossypium hirsutum* in Pakistan[J]. Journal of Plant Pathology, 2021, 103(3): 1031.
- [14] LI L Y, LEI M Y, WANG H H, et al. First report of dieback caused by *Lasiodiplodia pseudotheobromae* on *Ormosia pinnata* in China[J]. Plant Disease, 2020, 104(10): 2551–2555.
- [15] MONTEIRO F, DINIZ I, PENA A R, et al. First report of three *Lasiodiplodia species*(*L. theobromae*, *L. pseudotheobromae* and *L. caatinguensis*) causing cashew gummosis in Guinea-Bissau(west Africa)[J]. Plant Disease, 2020, 104(9): 2522.
- [16] LIANG L, LI H, ZHOU L F, et al. *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causes stem canker of Chinese hackberry in China[J]. Journal of Forestry Research, 2020, 31(6): 2571–2580.
- [17] AHMED M Z, SHAFIQUE M S, ANWAAR H A, et al. First report of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing trunk cankers in *Citrus reticulata* in Pakistan[J]. Plant Disease, 2020, 104(9): 2522.
- [18] CHEN J H, ZHU Z H, FU Y P, et al. Identification of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing fruit rot of Citrus in China[J]. Plants, 2021, 10(2): 202.
- [19] 李菲菲, 龙超安. 柑橘炭疽病菌的分离、鉴定及在果实上的潜伏侵染特性[J]. 果树学报, 2015, 32(1): 108–114.
- [20] 魏景超. 真菌鉴定手册[K]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 479–482.
- [21] 王雪莲. 柑橘对胶孢炭疽菌的抗性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2015: 19–21.
- [22] 吴望, 吴玉珠, 胡军华, 等. ‘沃柑’果斑病原菌鉴定及防治药剂筛选[J]. 果树学报, 2021, 38(3): 385–393.
- [23] 桂瑶, 胡军华, 张蓉, 等. 云南玉溪冰糖橙果斑病原菌的鉴定及室内药剂筛选[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(3): 324–330.
- [24] 许文耀, 吴刚. 噁霉灵与溴菌腈混配对香蕉枯萎病原菌的抑制效果[J]. 植物保护学报, 2004, 31(1): 91–95.
- [25] 蒲占湑, 黄振东, 胡秀荣, 等. 六种杀菌剂对柑橘炭疽病菌的室内毒力和田间防治效果[J]. 浙江农业学报, 2014, 26(1): 122–126.
- [26] 豆志鹏. 中国毛色二孢属的分类和系统学研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2019.

责任编辑: 罗慧敏
英文编辑: 罗维