

· 资源与鉴定 ·

## 栀子炭疽病病原菌鉴定及抑菌药剂筛选

罗光明, 董艳凯, 龚雨虹, 饶雅琪, 罗扬婧, 胡燕珍, 朱玉野\*  
(江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

**[摘要]** **目的:**明确引起栀子炭疽病病原菌种类,研究常用杀菌剂对病原菌菌丝生长的抑制作用,为病害防治提供依据。**方法:**采集江西省不同地区栀子炭疽病病叶标本,采用常规组织分离法进行病原菌的分离与纯化,基于柯赫氏法则,检测病原菌的致病性,采用形态观察、显微鉴定、真菌 rDNA-ITS 序列分析,系统的鉴定病原菌,选取常用的 11 种抑菌剂对其进行室内药剂毒力测定,并建立抑制率与药剂浓度的相关回归方程;筛选出有明显抑菌作用的药剂,为防治该病的发生提供理论依据。**结果:**从收集的栀子炭疽病病原菌感染的叶片中分离纯化得到 11 个菌株,经致病性测定和科赫氏验证确定使栀子发病快且病情严重的菌株,通过形态和显微鉴定并对扩增得到的 rDNA-ITS 序列进行 Blast 对比分析,确定该病害为茎点霉菌 *Phoma*. sp. 选用的药剂中武夷菌素、链霉素和寡糖链蛋白无明显的抑菌效果,多菌灵的抑菌效果最好,回归方程为  $Y = 79.97X - 1.75$  [ $r = 0.965$ , 半最大效应浓度 ( $EC_{50}$ ) =  $0.65 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ], 其次为咪鲜三环唑和五硝多菌灵,回归方程分别为  $Y = 6.142X + 19.47$  ( $r = 0.902$ ,  $EC_{50} = 4.97 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),  $Y = 6.1X + 17.23$  ( $r = 0.93$ ,  $EC_{50} = 5.37 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 其他药剂呈现不同程度的抑菌效果。**结论:**确定了栀子炭疽病病原菌并筛选出了抑制病原菌的有效药剂。

**[关键词]** 栀子; 炭疽病; 病原菌; 抑菌药剂

**[中图分类号]** Q945;R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)19-0032-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.sjfx.2016190032

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160804.1051.026.html>

**[网络出版时间]** 2016-08-04 10:51

## Identification of *Gardenia jasminoides* Anthracnose Pathogen and Screening of Its Antibiotics Agents

LUO Guang-ming, DONG Yan-kai, GONG Yu-hong, RAO Ya-qi,  
LUO Yang-jing, HU Yan-zhen, ZHU Yu-ye\*

(School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To define the type of fungi causing *Gardenia jasminoides* pathogenic anthracnose, and study the inhibitory effect of commonly antiseptic on the mycelial growth of the pathogens, in order to provide a basis for preventing and treating the disease. **Method:** *G. jasminoides* anthracnose leaves were collected from several regions of Jiangxi province. The pathogens were isolated and purified by general tissue separation. According to the Koch's postulates, pathogenicity test, pathogen morphological observation, microscopic identification and rDNA-ITS sequence analysis were used to identify the pathogens. Eleven fungicides were selected to test their indoor sterilizing effect. The toxicity regression equation for agent concentration and inhibition ratio was established, and the effective fungicides were screened out, in a bid to provide a theoretical basis for controlling the disease. **Result:** Eleven strains were separated from *G. jasminoides* anthracnose leaves. Through pathogenic determination and Koch's Postulates, one strain was confirmed to be the main pathogen that attacks *G. jasminoides*

**[收稿日期]** 20151030(012)

**[基金项目]** 国家公益性行业科研专项(201507002); 国家科技部“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI04B01); 中央本级重大增减支项目(20603020213, 20603020110)

**[第一作者]** 罗光明, 博士, 教授, 从事中药资源研究, Tel: 0791-87118982, E-mail: jzlgm88@163.com

**[通讯作者]** \* 朱玉野, 硕士, 讲师, 从事药用植物研究, Tel: 0791-87119061, E-mail: zyy711@126.com

quickly and severely. On the basis of morphology and microscopic identification, and Blast comparison analysis for rDNA-ITS sequences, the pathogenic strain was identified to be *Phoma*. sp. The fungicides Wuyiencin, streptomycin and oligosaccharide chain protein had no significant inhibition effect, but carbendazol showed the best sterilizing effect, whose regression equation was  $Y = 79.97X - 1.75$  ( $r = 0.965$ ,  $EC_{50} = 0.65 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). The next were prochloraz tricyclazole and pentanitro-carbendazim, whose regression equations were  $Y = 6.142X + 19.47$  ( $r = 0.902$ ,  $EC_{50} = 4.97 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) and  $Y = 6.1X + 17.23$  ( $r = 0.93$ ,  $EC_{50} = 5.37 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), respectively. The others showed varying inhibition effect. **Conclusion:** The *G. jasminoides* anthrax pathogen was determined, and effective agents to inhibit pathogens were screened out.

**[Key words]** Gardeniae Fructus; anthrax; pathogen; antimicrobial agent

梔子来源于茜草科植物梔子的干燥成熟果实,梔子属植物广泛分布于热带及亚热带地区,主要分布于我国长江以南各省,主产于江西、四川、湖北、福建、湖南、广西、广东等地。现代研究证明,梔子主要活性成分为黄酮类梔子素,三萜类化合物藏红花素、藏红花酸及 *d*-藏红花苷元,环烯醚萜苷类梔子苷、异梔子苷、去羟梔子苷、山梔子苷等<sup>[1-2]</sup>。

目前国内外对梔子的需求量日益增加,具有广阔的市场前景,栽培面积不断扩大<sup>[3]</sup>。炭疽病为植物常见病害,杨友联等<sup>[4]</sup>曾对多种水果炭疽病病原菌进行分离,得到 21 株炭疽菌属真菌并进行系统鉴定,刘卹洲等<sup>[5]</sup>对梨炭疽病病原菌进行分离、鉴定并对其进行生物学特性研究。梔子炭疽病害全年都可能发生,严重时植株落叶、落果或枯死,直接影响药材的产量和质量,造成巨大的经济损失。防治手段也仅限于病害发生初期或发生期施用多菌灵、退菌特等。病害控制应在明确病原的前提下针对性的进行,才能取得最优的防治效果。本研究基于柯赫氏症病例,通过形态学观察及真菌 rDNA-ITS 序列分析对梔子炭疽病进行系统的症状与病原菌鉴定,明确该病病原菌的种类,并筛选出能有效抑制菌丝生长的化学药剂,为梔子炭疽病的防治提供依据。

## 1 材料

2015 年 4 月从九江市湖口县流芳乡、樟树市义城镇采集具有典型症状的病株作为试验材料,进行病原菌鉴定,发病植株叶片上叶片发病时病斑不规则,病健组织交接明显,叶片呈焦枯状,或沿叶缘四周枯黄,严重时引起全株枯死。秋季当果实开始转色后,田间表现为果梗干枯,导致果实提前脱落。采集的病株放于塑料袋中,置冰箱中低温(4℃)保存。由江西中医药大学药学院罗光明教授鉴定为茜草科植物梔子 *Gardenia jasminoides* 的叶、果实。

Tris-HCl(上海瑞永生物科技有限公司,批号

2015120),EDTA,disodium salt, dihydrate[生工生物工程(上海)股份有限公司,批号分别为 150120,121201,E2015012],十六烷基三甲基溴化铵(上海瑞永生物科技有限公司,批号 D15012),氯化钠(天津市科密欧化学试剂开发中心,批号 140928);GelRed,PCR Master Mix 和 DL2000 DNA Marker[天根生化科技(北京)有限公司,批号分别为 2015418,E201512,EP0518];马铃薯葡萄糖琼脂培养基(上海楷洋生物技术有限公司,批号 150120),三羟甲基氨基甲烷(上海瑞永生物科技有限公司,批号 051107),琼脂糖(美国 Genvien 公司,批号 150115),无水乙醇、乙酸、异丙醇、异戊醇、三氯甲烷均为化学纯,10% NaClO(天津市福晨化学试剂厂),引物由天根生化科技有限公司合成。

JV-3021HR 型高速冷冻离心机(安徽嘉文仪器装备有限公司),Meter PP-15 型酸度计(Sartorius),BXM-30R 型立式压力灭菌锅(上海博迅实业有限公司医疗设备厂),ZHJH-1115C 型垂直流超净工作台(上海智城分析仪器制造有限公司),LRH-250-5 型恒温恒湿培养箱(广东省医疗器械厂),HH-4 型数显恒温水浴锅(同华电器有限公司),BP211D 型 1/1 万电子天平(Sartorius),C1000 Touch Thermal Cycler 型扩增仪和 Melecular Imager ChemIDoc™ X RSF with Image Lab™ Software 型凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司),BA410 型光学显微镜(浙江工具量具有限公司)。

## 2 方法

**2.1 病原菌分离** 采用常规组织分离法<sup>[6]</sup>,分别选取带有典型病斑的叶片,样本表面用清水冲洗干净。在病斑的病健交界处剪取 5 mm × 5 mm 大小的组织块,在无菌超净工作台上在 70% 乙醇中浸洗 30 s,5% 的次氯酸钠中消毒 5 min,然后用灭菌水连续漂洗去除残余的次氯酸钠,取出后用灭菌吸水纸吸去多余的水分,置于事先备好的 PDA 平板,于 30℃

恒温培养箱中培养。72 ~ 96 h 后形成菌落,切取典型菌落边缘的菌丝块,移植到新的 PDA 平板培养基上培养获得分离物的纯培养,转入试管,于 4 ℃ 冷藏箱中保存备用。

**2.2 致病菌测定** 采用离体叶片接种法。采成熟的健康椴子叶片 20 片进行接种。接种之前进行叶片表面消毒,采用 75% 乙醇,用无菌水冲洗残留的乙醇,放入瓷盘中,铺双层滤纸,用吸水纸覆盖叶柄部位。选取 PDA 培养基上培养 20 d 后的成熟菌落,用打孔器打取直径为 6 mm 菌丝饼,转接于叶片表面,并使饼周围保持高湿度。转移至 30 ℃ 恒温培养箱中黑暗条件下培养 5 d。5 d 后移去菌饼,观察叶片是否发病。以接种 PDA 培养基的叶片作空白对照,遵循一般植物病害症状的记述要点和观察方法,记录病害发生过程中的特征和病状,并对特征病斑拍摄记录。

**2.3 病原菌的再分离** 采用与病原菌初分离同样的方法进行病原菌的再分离,鉴定 PDA 平板上长出的病菌与初代菌种是否一致,完成柯赫氏法则验证。

#### 2.4 病原菌鉴定

**2.4.1 菌落形态、菌丝及子实体的形态观察** 将供试菌株接种到 PDA 培养基上,在 30 ℃ 条件下恒温黑暗培养,观察菌落形态,制作玻片在光学显微镜(40 × 10 倍)下观察菌丝的形态特征,根据菌落形态、无性和有性繁殖器官等,对照《真菌鉴定手册》<sup>[7]</sup> 等进行鉴定。

**2.4.2 分子鉴定** 在 PDA 培养基中对菌株进行活化培养,4 ~ 7 d 后在菌落边缘打取直径 6 mm 的菌饼置于查彼克液体培养基中 28 ℃ 振荡培养。菌丝长到一定数量后挑出。取适量菌丝,采用按常规的 CTAB 法提取真菌的 DNA。

采用真菌 ITS 通用引物 ITS1 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3', 和 ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' 进行扩增。PCR 反应体系为 50 μL,组分如下:模板 DNA 2 μL,2 × Taq PCR Master Mix 25 μL,ITS1 (10 μmol·L<sup>-1</sup>) 和 ITS4 (10 μmol·L<sup>-1</sup>) 各 2 μL,ddH<sub>2</sub>O 19 μL。

PCR 扩增在 C1000 Touch Thermal Cycler 扩增仪上完成,扩增程序为 95 ℃ 预变性 4 min;94 ℃ 变性 1 min,54 ℃ 退火 1 min;72 ℃ 延伸 1 min,共 35 个循环;最后 72 ℃ 延伸 10 min。4 ℃ 保存。反应结束后,取扩增产物 10 μL,采用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测,于 Melecular Imager ChemIDoc™ X RSF with Image Lab™ Software 凝胶成像系统成像、照相、保

存。PCR 产物委托天根生化科技(北京)有限公司进行纯化和测序。获得目的基因序列后,将菌株的 rDNA-ITS 序列与 NCBI 数据库中与已知序列进行对比,并进行同源性分析,结合病原菌的形态学观察及致病性测定,最终确定病原菌的种类<sup>[8]</sup>。

**2.5 抑菌药剂筛选** 用菌丝生长速率法进行杀菌剂的抑菌活性测定,供试药剂见表 1。先将供试药剂用无菌水配成浓度固定的母液,使用时稀释成不同的浓度梯度,用移液枪移取 1 mL 药液加入到 100 mL 已灭菌好的 PDA 培养基中,制成具有所需浓度药剂的培养基。打取直径为 6 mm 的菌饼转接含药培养基平板中央,每皿 1 个菌饼。以加无菌水 1 mL 的 PDA 培养基为对照,每个处理重复 3 次。置于 30 ℃ 培养箱中黑暗恒温培养,5 d 后采用十字交叉法测量各菌落直径,计算杀菌剂对病原菌生长的相对抑制率,建立毒力回归方程,并比较几种供试药剂的毒力大小。

抑菌率 = (对照菌落净直径 - 处理菌落净直径) / (对照菌落净直径 - 0.6) × 100%

利用 SPSS 19.0 软件计算抑制率的概率值与药剂浓度对数值的毒力回归方程。

表 1 供试药剂情况

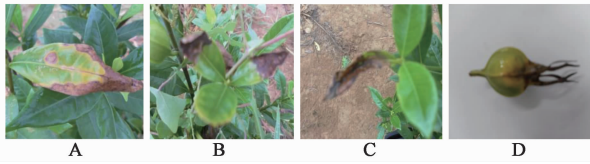
Table 1 Sample Agent

供试药剂	生产厂家	剂型
多菌灵	上海悦联化工有限公司	可湿性粉剂
三环唑	广东中迅农科股份有限公司	可湿性粉剂
甲基硫菌灵	广东中迅农科股份有限公司	可湿性粉剂
五硝多菌灵	广东中迅农科股份有限公司	可湿性粉剂
辛菌唑啉呱	湖南农大海特农化有限公司	水剂
百菌清	百农思达(北京)农用化学品有限公司	可湿性粉剂
武夷菌素	山东潍坊万胜生物农药有限公司	水剂
链霉素	青岛润田生物科技有限公司	可湿性粉剂
寡糖链蛋白	中国农科院植保所廊坊农药中试厂	可湿性粉剂
咪鲜三环唑	四川沃野农化有限公司	可湿性粉剂
己唑醇	广东中迅农科股份有限公司	微乳剂

### 3 结果与分析

**3.1 病害症状调查结果** 炭疽病主要危害叶片,初在叶片上产生 2 ~ 3 mm 褐色的斑点,边缘不整齐,随后病斑迅速扩大,在叶片上呈不规则的大面积枯死,病斑坏死组织扩展快,发病叶片整叶出现焦枯现象,且易引起叶片早期脱落,或从叶尖或叶缘上开始产生不规则形或近圆形褐色病斑。有时整个叶片变褐色,分生孢子器初期埋生于皮层,真子座质,成熟后外露,单腔室,扁球形,有孔口,严重时造成枝枯或全株枯死。湿度大时病斑上产生黑色分生孢子小颗粒。高温、高湿、通风不良的园区发病重,在 4 ~ 10 月均

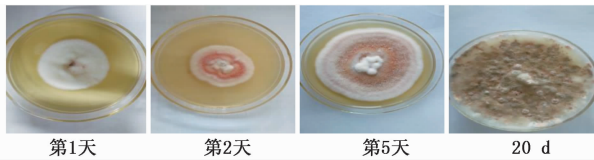
可发生<sup>[9]</sup>。感病之后的果实表面出现小斑点,随后斑点不断扩大,病变组织逐步侵染果实中心,最后病变部位变成黄褐色,造成果实软腐(图 1)。



A, B, C. 炭疽病叶片; D. 炭疽病果实  
图 1 栀子炭疽病症状  
Fig. 1 *Gardenia anthracnose* symptoms

### 3.2 病原菌形态特征与致病性检测

**3.2.1 病原菌形态特征** 菌丝在 PDA 培养基上生长状况良好, 25 ~ 30 °C 条件为其生长的适宜温度, 7 ~ 9 d 可长满直径 9 cm 的 PDA 培养基。最初(1 ~ 3 d)产生一层白色的基生菌丝, 气生菌丝很少且稀疏, 3 ~ 4 d 后长出浓密的毡状或棉絮状的气生菌丝, 白色, 后期为逐渐变为粉红色。菌落较厚, 背面初为白色, 后期变为粉红色。多数在平板易产生 3 ~ 4 个界限明显的环痕, 12 d 左右在呈粉色的菌落上开始产生载孢体(图 2), 载孢体易产生于环痕的突起处, 粉色, 革质, 坚硬, 壁厚, 直径 3 ~ 5 mm。生长 7 ~ 10 d 后的菌落会由中心生长出新的白色气生菌丝, 且产生淡黄色油状的半透明液体。显微鉴别下分生孢子有隔膜, 产孢细胞无色透明, 分生孢子多为椭圆形, 少数为披针形, 菌丝透明光滑、壁薄, 扭曲状的曲线式生长, 菌丝宽度不规则, 直径为 3 ~ 6 μm, 分枝与主枝成直角, 部分成锐角(图 3)。



第 1 天 第 2 天 第 5 天 20 d  
图 2 栀子炭疽病病原菌不同培养阶段菌落形态  
Fig. 2 Colony morphology of *gardenia anthracnose* pathogen at different culture stages

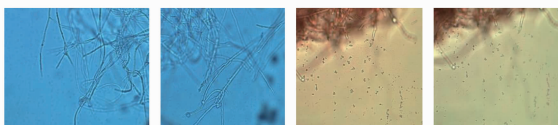


图 3 栀子炭疽病病原菌菌丝形态特征(×40)  
Fig. 3 Mycelial morphology of *gardenia anthracnose*(×40)

**3.2.2 致病性检测** 接种菌饼的叶片 48 h 后出现不规则形至圆形病斑, 直径 2 ~ 5 mm, 颜色较深, 一般呈灰褐色至深褐色者; 中央凹陷, 周围具黄色晕圈; 后期, 单个病斑连片, 形成的大病斑干枯、脱落,

造成叶片穿孔, 病斑以上部位后期表现为干缩枯死。

**3.3 rDNA-ITS 区段扩增及测序** 用通用引物对茎腐病病原菌的 rDNA-ITS 序列进行扩增, 以该病原菌基因组 DNA 为模板, 扩增出 500 ~ 750 bp 的单一一条带(图 4)。

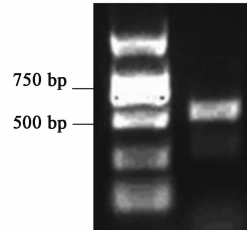


图 4 炭疽病病原菌电泳  
Fig. 4 Electrophoresis results for anthracnose pathogen

**3.4 同源性** 用通用引物对褐斑病病原菌的 rDNA-ITS 序列进行扩增, 扩增出 506 bp 的特异性片断。将菌株产物测序获得的 rDNA-ITS 序列 5' -GGAT TCAAAAGTTGTAGGCTTTGCCTGCTATCTCTTACC CATGTCTTTTGAGTACCTTACGTTTCCTCGGTGGG TTCGCCCACCGATTGGACAAATTTAAACCCTTTG CAGTTGAAATCAGCGTCTGAAAAACTTAATAGT TACAACCTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGC ATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTA GTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATC TTTGAACGCACATTGCGCCCCTTGGTATTCCATGG GGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTGTACCTTCAA GCTCTGCTTGGTGTGGGTGTTTGTCTCCTGTAG ACTCGCCTCAAAACAATTGGCAGCCGCGCCGGCG TATTGATTTCCGAGCGCAGTACATCTCGCGCTTTG CACTCATAACGACGACATCCAAAAGTACATTTTT AACTCTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCG CTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAG-3' 与 NCBI 网站已有的 DNA 序列进行同源性比较, 数据显示, 同源性较高的菌株是茎点霉属 *Phoma*.sp。其相似度 100%。

**3.5 室内不同药剂对病原菌的毒力测定** 通过相关系数显著性测定, 11 种杀菌剂中武夷菌素、寡糖链蛋白、链霉素无明显的抑菌效果, 杀菌剂浓度的对数与抑制率的概率值之间相关性不明显。其余不同浓度的药剂对病原菌的生长均呈现不同程度的抑制作用, 毒力回归方程的相关系数均达到显著或极显著水平, 所建立的毒力回归方程成立。其中以多菌灵的抑制效果最好, 半最大效应浓度 (EC<sub>50</sub>) 0.65 mg·L<sup>-1</sup>, 其次为咪鲜三环唑和五硝多菌灵, 其 EC<sub>50</sub>

分别为 4.97, 5.37 mg·L<sup>-1</sup>, 百菌清和辛菌吗啉胍的效果较差, EC<sub>50</sub> 分别为 421.25, 225.02 mg·L<sup>-1</sup>, 具体结果见表 2, 3。杀菌剂的毒力回归方程斜率值越大表明病原菌对该杀菌剂敏感性越强。由表 3 的回归方程可知, 每种药剂的毒力回归方程斜率与药剂毒力成正比。此次试验只测定杀菌剂对病原菌的室内毒力, 在实际栽培中防效还有待进一步试验研究<sup>[10]</sup>。

表 2 11 种杀菌剂的毒力比较

Table 2 Comparison for virulence of 11 kinds of fungicides

药剂	质量分数 /mg·L <sup>-1</sup>	抑制率 /%	药剂	质量分数 /mg·L <sup>-1</sup>	抑制率 /%
多菌灵	0.1	14.09	百菌清	100	30.90
	0.3	19.87		300	38.71
	0.5	26.51		500	56.24
	0.7	55.79	武夷菌素	10	0.54
	1	82.92		50	4.60
三环唑	1	12.44	链霉素	200	6.85
	10	16.60		300	5.95
	30	34.01		600	7.87
	50	56.21	寡糖链蛋白	1	1.73
	75	90.24		50	5.76
甲基硫菌灵	1	18.43	咪鲜三环唑	200	4.13
	10	23.90		400	4.22
	30	42.58		800	4.61
	50	56.46	己唑醇	1	2.11
	70	88.10		10	2.86
五硝多菌灵	1	18.43	咪鲜三环唑	100	1.91
	3	30.71		300	1.82
	5	59.69		700	1.52
	7	65.90	己唑醇	0.1	4.40
	10	69.99		1	31.48
辛菌吗啉胍	50	8.45	己唑醇	3	54.96
	100	26.49		7	56.81
	200	39.92		1	5.95
	300	68.71	5	15.93	
	400	89.60	10	38.58	
百菌清	10	13.05	己唑醇	30	59.12
	20	17.27		50	78.69

表 3 8 种杀菌剂的毒力回归方程

Table 3 Virulence regression equation of 8 kinds of fungicides

药剂	回归方程	r	EC <sub>50</sub> /mg·L <sup>-1</sup>
多菌灵	Y = 79.97X - 1.75	0.965	0.65
三环唑	Y = 1.057X + 6.798	0.991	40.70
甲基硫菌灵	Y = 0.976X + 14.504	0.986	36.37
五硝多菌灵	Y = 6.1X + 17.23	0.930	5.37
辛菌吗啉胍	Y = 0.226X - 0.854	0.994	225.02
百菌清	Y = 0.08X + 16.30	0.974	421.25
咪鲜三环唑	Y = 6.142X + 19.47	0.902	4.97
己唑醇	Y = 1.41X + 12.58	0.964	26.54

#### 4 讨论

炭疽病发病时可影响到栀子的叶片、果实和果

梗, 降低栀子的药用价值<sup>[11]</sup>。针对栀子炭疽病原菌的鉴定, 此前报道多为形态鉴别及防治技术, 此病害严重影响栀子的观赏和产量, 系统的菌物分类以形态特征和生理生化指标为分类基础, 但真菌的形态特征在生长过程中受环境影响, 或者存在中间种等情况, 使形态学鉴定有时不准确。利用现代分子生物学技术能直接反映基因本身, 具有传统形态学方法无可比拟的优越性<sup>[12]</sup>。

本研究对栀子主要产区九江的炭疽病原进行了鉴定, 运用传统的形态学与现代分子生物学技术相结合, 利用 rDNA-ITS 序列分析, 鉴定出引起褐斑病的病原菌为茎点霉菌 *Phoma*. sp。

本试验结果反映了几种同类型杀菌剂对病菌的抑制效果, 筛选出了 6 种有效的抑菌药剂, 其中以多菌灵的抑菌效果最好, 为高效低毒内吸性杀菌剂, 通过干扰真菌有丝分裂过程中纺锤体的形成而阻止其细胞分裂, 从而起到杀菌作用, 此外三环唑、甲基硫菌灵、己唑醇、咪鲜三环唑、五硝多菌灵也有较好的抑菌效果, 本研究可以为栀子炭疽病的防治提供依据。

#### [参考文献]

- [1] 倪慧艳, 张朝晖, 傅海珍. 中药栀子的研究与开发概述[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(7): 538-541.
- [2] 董丽华, 邹红, 朱玉野, 等. 不同产地栀子种子萌发特性研究[J]. 种子, 2014, 33(10): 1-4.
- [3] 罗光明, 董艳凯, 王晓云, 等. 栀子种子质量标准研究[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(19): 4628-4631.
- [4] 杨友联, 刘永翔, 刘作易. 水果采后炭疽病病原鉴定[J]. 西南农业学报, 2014, 27(3): 1114-1118.
- [5] 刘邮洲, 陈志谊, 钱国良, 等. 梨胶胞炭疽病菌的分离、鉴定及其生物学特性[J]. 农业科学与技术: 英文版, 2013, 29(1): 191-195.
- [6] 孙广宇, 宗兆锋. 植物病理学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 94.
- [7] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 492-515.
- [8] 赵云青, 陈菁瑛, 林晓军, 等. 金线莲茎腐病原菌分离及分子鉴定[J]. 福建农业学报, 2014, 29(10): 995-999.
- [9] 李国元, 邓青云. 栀子主要病害发生特点及综合防治[J]. 湖北林业科技, 2003(3): 24-26.
- [10] 赵金梅, 高贵田, 谷留杰, 等. 中华猕猴桃褐斑病原鉴定及抑菌药剂筛选[J]. 中国农业科学, 2013, 46(23): 4916-4919.
- [11] 李冬, 刘兴平. 栀子病害调查及病原鉴定初报[J]. 江西林业科技, 2009(5): 31-32.
- [12] 胡红杏, 吴金平, 郭兰, 等. 魔芋白绢病病原菌的分子鉴定及其生物学特性研究[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(6): 1370-1372.

[责任编辑 邹晓翠]