琯溪蜜柚黑斑病侵染循环及防治适期研究

罗金水[1,2*]， 林晓兰[1]， 赖跃先[3]， 曾保忠[3]， 李红叶[4]

(1. 福建省热带作物科学研究所，漳州 363001；2. 福建省作物有害生物监测与治理重点实验室，福州 350003；
3. 福建省漳州市平和县植保植检站，漳州 363700；4. 浙江大学生物技术研究所，杭州 310058)

摘要 琯溪蜜柚黑斑病(pomelo black spot)的病原菌为亚洲柑橘叶点霉 *Phyllosticta citriasiana*。田间系统观察和病原菌侵染试验结果表明，蜜柚黑斑病是一种潜伏侵染病害，上年度被侵染的带菌叶片为次年病害的侵染源，蜜柚花期至幼果期是病菌侵染盛期和病害防治适期。如果错过这两个时期，将难以达到理想的防治效果。

关键词 琯溪蜜柚； 黑斑病； 亚洲柑橘叶点霉； 侵染循环； 防治适期

中图分类号： S 436.661.1 **文献标识码**： A **DOI**： 10.16688/j.zwbh.2018519

Infection cycle of pomelo black spot and suitable period for its control

LUO Jinshui[1,2*]， LIN Xiaolan[1]， LAI Yuexian[3]， ZENG Baozhong[3]， LI Hongye[4]

(1. *Fujian Institute of Tropical Crops*, *Zhangzhou* 363001, *China*; 2. *Fujian Key Laboratory for Monitoring and Integrated Management of Crop Pests*, *Fujian Province*, *Fuzhou* 350003, *China*; 3. *Plant Protection and Inspection Station in Pinghe County*, *Zhangzhou City Fujian Province*, *Zhangzhou* 363700, *China*; 4. *Institute of Biotechnology*, *Zhejiang University*, *Hangzhou* 310058, *China*)

Abstract *Phyllosticta citriasiana* is the pathogen of pomelo (*Citrus maxima*) black spot. Systematic field observation and pathogen infection test showed that pomelo black spot was a latent infection disease, the infected leaf in the previous year was infection source of the disease in the next year, and the period from flowering to young fruit of pomelo was the infection peak period and disease control optimum period. If these two periods were missed, it will be difficult to achieve an ideal control effect.

Key words Guanxi pomelo (*Citrus maxima*); black spot; *Phyllosticta citriasiana*; infection cycle; suitable period for control

黑斑病是近年发生在福建省平和县‘琯溪蜜柚’上的一种重要果实病害，病原菌为亚洲柑橘叶点霉 *Phyllosticta citriasiana*[1-4]。由于病菌具有潜伏侵染特性，病害潜育期长，生产上大多数果农对该病害的发生规律缺乏了解，往往错过了最佳防治时期，以致病害得不到有效控制。本文针对这一生产问题，报道了蜜柚黑斑病侵染循环和病害防治适期的研究结果，提出该病防治的关键技术措施，以期为生产上黑斑病的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点及供试品种

试验设在福建省平和县小溪镇一片历年蜜柚黑斑病发生较重的果园内，供试品种为‘琯溪蜜柚’。

1.2 试验方法

1.2.1 侵染循环观测

选择果园中 3～5 株发病明显的病树作为观测株，使用光学显微镜切片观察病果、病叶。采用组织透明处理的方法观察埋生在组织内的病菌[5]。用无菌水配制浓度为高倍镜下每个视野 20～30 个分生孢子的病菌孢子悬浮液，喷雾接种于乒乓球大小的蜜柚幼果上，一周后每隔 3 d 切取大小 0.5 cm×1.0 cm的带菌组织块，浸泡在 5%戊二醛磷酸盐缓冲液中，做上标记后将样品送至福建省农业科学院电镜中心使用扫描电镜观察病菌侵染情况[6]。

1.2.2 防治用药时期调查

调查研究黑斑病的发生及防治情况，了解蜜柚种植户防治用药时期。

收稿日期： 2018-12-19 **修订日期**： 2019-01-25
基金项目： 福建省作物有害生物监测与治理重点实验室课题(MIMCP-201702)；福建省公益类科研院所基本专项(2019R1010-4)；现代农业(柑橘)产业技术体系(CARS-26)
* 通信作者 E-mail:13709383906@126.com

1.2.3 防治适期试验

试验设 3 个处理。处理 1:谢花期(保花保果期,谢花 60%～80%时)不喷施杀菌剂,幼果期(5 月上旬果实乒乓球大小至第二次生理落果,即果实小皮球大小)喷施杀菌剂;处理 2:谢花期喷施杀菌剂,幼果期不喷施杀菌剂;处理 3:谢花期和幼果期均喷施杀菌剂。以谢花期和幼果期喷施清水为对照。每处理设 3 株柚树,即 3 个重复。全年其他时期按常规管理防治病虫害。药剂种类及浓度:谢花期喷 70%丙森锌 WP 600 倍液,幼果期喷 43%戊唑醇 EC 3 000 倍液。

1.2.4 防治效果调查

在病斑扩展已稳定的果实成熟期进行,按东西南北中 5 个方位每个方位随机抽查 5 个果实,每株 25 个果实,每处理 3 个重复,共 75 个果实。病果分级:0 级,无病斑;1 级,每果 1～3 个病斑;2 级,每果 4～6 个病斑;3 级,每果 7～9 个病斑;4 级,每果 10 个以上病斑。

病情指数=∑(各级病果数×该病级值)/(调查总果数×最高级值)×100;

相对防治效果=(对照病情指数—处理病情指数)/对照病情指数×100%。

1.2.5 统计分析

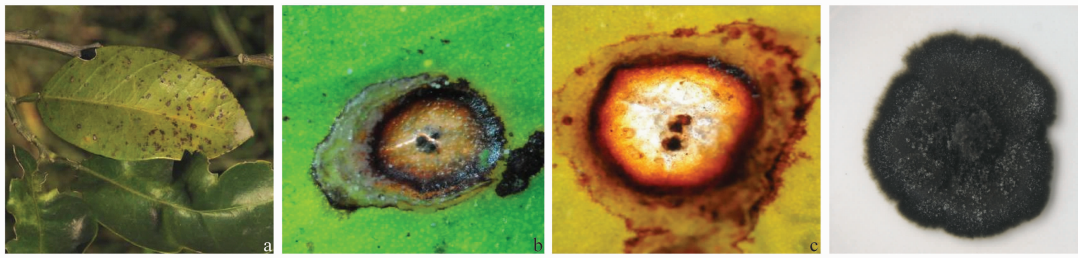
试验数据采用 DPS 3.01 软件分析,差异显著性分析采用 Duncan 氏检验进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 侵染循环

2.1.1 病原菌越冬及越冬场所

在 1—2 月份冬季,病菌以菌丝体和分生孢子器在蜜柚叶片上越冬,极少见到分生孢子。随着天气变冷,病斑逐渐革质化,颜色加深(图 1a-c)。



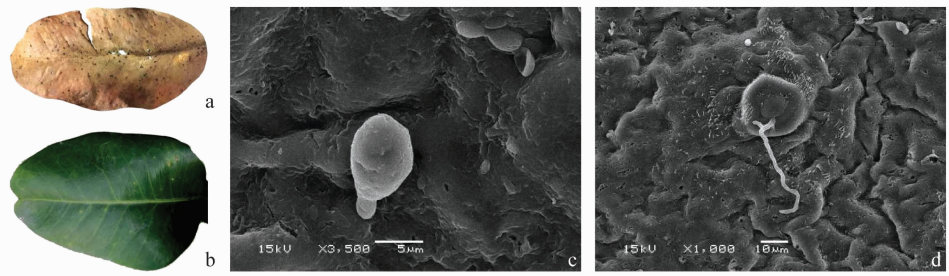
a: 越冬病叶; b: 越冬病斑; c: 组织透明处理的病斑; d: 病叶分离菌株的PDA菌落
a: Overwintering diseased leaf; b: Overwintering diseased spot; c: Disease spot treated by organizational transparency; d: PDA colony of the strain isolated from diseased leaf

图 1 琯溪蜜柚黑斑病越冬症状及病菌菌落

Fig. 1 The overwintering symptom of black spot on the leaf of pomelo and bacterial colony on PDA

2.1.2 病原菌初侵染

到了春季,一些老叶、病叶陆续掉落,腐烂消解,期间并未见其上有病菌子实体繁殖孢子(图 2a)。3—4月份蜜柚抽芽吐梢期,留存在树上的带菌叶片开始繁殖产孢(图 2b),孢子为无性态的分生孢子。分生孢子通过雨水飞溅的方式近距离传播侵染。当蜜柚新梢转绿时,新叶出现黑斑病病斑的典型症状。4—5 月份蜜柚花期至幼果期,病菌达到侵染高峰。病菌分生孢子萌发出芽管直接侵入幼果果皮(图 2c～d)。6 月份蜜柚果实膨大期,果实表面产生蜡质层,此时病菌难以侵入。这一观察结果通过人工接种得到证实。



a: 掉落在地上干枯的老叶; b: 上年度被侵染的带菌叶片上生成新的病斑; c: 在幼果表面萌发的分生孢子; d: 侵染幼果的病菌菌丝
a: Dry old leaf that dropped on the ground; b: New disease spots germinated from the infected leaf in the previous year; c: Conidium that germinating on the surface of young fruit; d: Pathogen mycelium that infecting young fruit

图 2 琯溪蜜柚黑斑病病原菌的初侵染

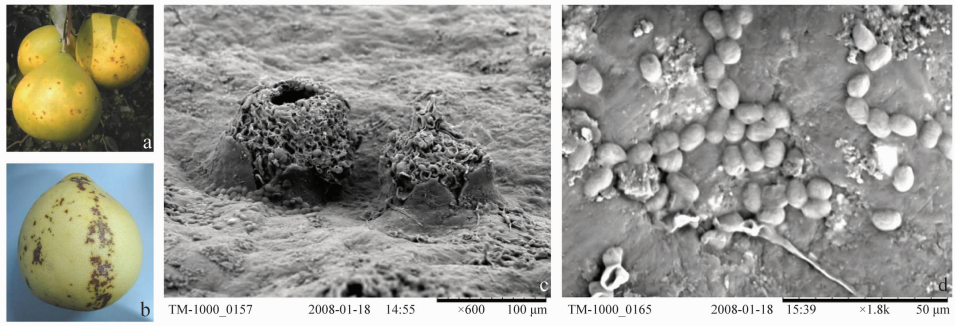
Fig. 2 Primary infection of the pathogen of pomelo black spot

2.1.3　病原菌再侵染

在蜜柚生长季节,不定期镜检病叶上的病斑,观察到病菌持续繁殖分生孢子侵染蜜柚叶片,并引起新的病斑。

2.1.4　琯溪蜜柚果实发病过程

7—8 月份蜜柚果实膨大后期,果园出现零星病果,病果上病斑较少,带有流胶。9—10 月份蜜柚果实成熟期,感病果实上出现大量病斑。病斑多分布在果实的朝阳面,初期带有流胶(图 3a),包裹着许多病菌的分生孢子。病斑上的分生孢子器埋生或半埋生,黑色,顶端有孔口,分生孢子从孔口处释放出(图 3c～d)。发病严重时,病斑连片成块(图 3b),由此推测可能是流胶中的分生孢子再侵染所致。携带病菌的果实在贮运过程中可继续发病生成新的病斑。



a: 流胶的病果; b: 带连片斑块的病果; c: 分生孢子器扫描电镜观察结果(王宏毅提供); d: 分生孢子扫描电镜观察结果(王宏毅提供)
a: Gummosis of diseased fruits; b: Diseased fruit with linked spots; c: Photograph of pycnidia by scanning electron microscope (provided by WANG Hongyi); d: Photograph of conidia by scanning electron microscope (provided by WANG Hongyi)

图 3　琯溪蜜柚黑斑病果实发病症状和病原菌扫描电镜结果

Fig. 3　Symptom of pomelo black spot on diseased fruits and electron scanning result of the pathogen

2.2　防治适期

表 1 是 98 位蜜柚种植户黑斑病防治用药时期的统计情况,结果表明果农在把握黑斑病防治时期上程度不一。其中,有 18.4%的果农仅在花期喷施杀菌剂,有 18.4%的果农仅在幼果期喷施杀菌剂,有 9.2%的果农在花期和幼果期均没有喷施杀菌剂,有 54.0%的果农在花期和幼果期各喷施一遍杀菌剂。据了解,一些果农在蜜柚花期(保花保果)没有施药预防黑斑病的主要原因是他们担心喷施杀菌剂会对蜜柚的花和幼果产生药害,因此错过了最佳防治时期,以至于防治效果不理想。

表 1　琯溪蜜柚黑斑病防治时期的调查统计结果[1)]

Table 1　Survey result of the suitable period for control of pomelo black spot

序号 Number	喷药时期 Spraying period		采取该措施的种植户数 Number of farmers	所占比例/% Percentage
	初花期至谢花期 From early flowering to anthesis	幼果期 Young fruit stage		
1	+	−	18	18.4
2	−	+	18	18.4
3	+	+	53	54.0
4	−	−	9	9.2

1) “+”表示喷施杀菌剂,“−”表示没有喷施杀菌剂。
“+” indicates spraying fungicides in the treatment, and “−” indicates no.

表 2 是蜜柚黑斑病防治适期试验结果。其中,在谢花期和幼果期都不施药的对照,平均病情指数为 49.0,病果率 78.7%,果实发病严重;在谢花期施药但幼果期不施药的处理,平均病情指数为 26.0,病果率 54.7%,相对防治效果 46.9%;在谢花期不施药但幼果期施药的处理,平均病情指数为 15.7,病果率 45.3%,相对防治效果 68.0%;在谢花期和幼果期都施药的处理,平均病情指数为 13.0,病果率 36.0%,相对防治效果 73.5%,黑斑病控制得最好。试验结果说明,蜜柚谢花期和幼果期是防治黑斑病的关键时期。

表 2 不同时期施药对蜜柚黑斑病的防治效果

Table 2 Control effect of spraying fungicides on pomelo black spot in different growth period

试验处理 Treatment	病情指数 Disease index	病果数/个 Diseased fruit number	病果率/% Diseased fruit rate	相对防治效果/% Relative control efficacy
对照 Control	(49.0±5.6)aA	59	78.7	—
谢花期施药,幼果期不施药 Spraying fungicides in anthesis period but not in young fruit stage	(26.0±4.6)bB	41	54.7	46.9
谢花期不施药,幼果期施药 Spraying fungicides in young fruit stage but not in anthesis period	(15.7±1.2)cBC	34	45.3	68.0
谢花期和幼果期都施药 Spraying fungicides both in young fruit stage and anthesis period	(13.0±3.6)cC	47	36.0	73.5

3 结论与讨论

本研究明确了'琯溪蜜柚'黑斑病的侵染循环规律。蜜柚黑斑病是一种潜伏侵染病害。病原菌以菌丝体和分生孢子器在蜜柚叶片上越冬。翌年,以树上带菌叶片上繁殖出的分生孢子进行初侵染。分生孢子通过雨水飞溅的方式近距离传播侵染蜜柚嫩梢和幼果,并在蜜柚花期至幼果期达到侵染高峰。在蜜柚生长季节,病菌持续繁殖分生孢子进行再侵染。果实膨大后表面形成蜡质保护层病菌难以侵入。果实膨大后期果园出现零星病果。果实成熟期病斑大量出现。携带病菌的果实在贮运过程中可继续发病生成新的病斑。

不同用药时期的田间防治比较试验结果表明,在蜜柚谢花期和幼果期连续喷施杀菌剂能够得到较好的防治效果。因此,项目组提出"提早在谢花期和幼果期喷施杀菌剂防治蜜柚黑斑病"的关键技术措施。这一措施在蜜柚产区得到全面的推广应用,完全改变了以往果农在蜜柚保花保果时因担心药害不添加杀菌剂的习惯。目前,福建平和当地的黑斑病发生蔓延已得到控制,且在兼治蜜柚其他病虫害同时,发展了一套成熟的防控方案。一般在春梢展叶期或者在谢花 60%至 80%保花保果时喷施一遍保护兼内吸的杀菌剂,在幼果期至第二次生理落果时再喷施一遍铜制剂。

研究发现,蜜柚黑斑病在发病症状、病原侵染特点、防治措施等方面同柑橘黑斑(星)病极为相似[7-8]。但是,柑橘黑斑(星)病的病原菌存在无性态的柑橘叶点霉菌 *Phyllosticta citricarpa* 和有性态的柑橘球座菌 *Guignardia citricarpa*[9-10],而目前蜜柚黑斑病病原菌仅发现无性态亚洲柑橘叶点霉菌 *P. citriasiana*,尚未找到它的有性态。柑橘黑斑(星)病以无性态孢子在树冠层内通过雨水近距离传播中起主要作用,有性态孢子在不同果园及树体间病害的传播中起着至关重要的作用[10]。因此,有必要进一步研究蜜柚黑斑病病原菌是否存在有性阶段。此外,研究病斑流胶中包裹的分生孢子能否再侵染果实对蜜柚黑斑病后期防治具有重要意义。

参考文献

[1] WULANDARI N F, TOANUN C, HYDE K D, et al. *Phyllosticta citriasiana* sp. nov., the cause of citrus tan spot of *citrus maxima* in Asia [J]. Fungal Diversity, 2009, 34: 23-39.

[2] 罗金水,张汉荣,卢松茂,等. 琯溪蜜柚黑斑病病菌分离鉴定及其致病性测定[J]. 福建热作科技, 2011, 36(4): 1-5.

[3] WANG Xinghong, CHEN Guoqing, HUANG Feng, et al. *Phyllosticta* species associated with citrus diseases in China [J]. Fungal Diversity, 2012, 52(1): 209-224.

[4] 罗金水,卢松茂,余智城,等. 柑橘黑斑病新病原亚洲柑橘叶点霉生物学特性[J]. 福建农业学报, 2016, 31(2): 170-174.

[5] 方中达. 植病研究方法[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998: 116-117.

[6] 任丽花,罗钦,刘洋,等. 小瓜虫侵染澳洲龙纹斑鳃的扫描电镜观察[J]. 福建农业学报, 2018, 28(6): 571-574.

[7] KOTZÉ J M. Epidemiology and control of citrus black spot in South Africa [J]. Plant Disease, 1981, 65: 945-950.

[8] 王兴红,陈国庆,王卫芳,等. 柑橘黑斑病(Citrus Black Spot)发生危害现状和研究进展[J]. 果树学报, 2011, 28(4): 674-679.

[9] KIELY T B. *Guignardia citricarpa* n. sp. and its relationship to the black spot disease of citrus in coastal orchards of New South Wales [J]. Journal of the Australian Institute of Agricultural Science, 1948, 14: 81-83.

[10] TRAN N T, MILES A K, DIETZGEN R G, et al. Sexual reproduction in the citrus black spot pathogen, *Phyllosticta citricarpa* [J]. Phytopathology, 2017, 107: 732-739.

(责任编辑:杨明丽)