

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201410047

胡风云, 蒋妮, 叶云峰, 等. 积雪草漆斑病病原鉴定及室内药剂筛选 [J]. 广西植物, 2016, 36(8):993-999

HU FY, JIANG N, YE YF, et al. Identification of the pathogen causing black spot disease of *Centella asiatica* and screening of effective fungicides [J]. Guihaia, 2016, 36(8):993-999

积雪草漆斑病病原鉴定及室内药剂筛选

胡风云², 蒋妮², 叶云峰², 蒋水元^{1*}

(1. 广西植物功能物质研究与利用重点实验室, 广西壮族自治区广西植物研究所, 中国科学院
广西 桂林 541600; 2. 广西药用植物园, 南宁 530023)

摘要: 近年来,在广西各地积雪草种植基地,出现一种为害极重的病害,该病害病原菌主要为害积雪草叶片、叶柄,可致使叶片大面积枯死,该病害发生普遍、侵染期长,严重影响积雪草药材的品质和产量。该研究采用常规组织分离法从积雪草病叶上分离病原菌并根据柯赫氏法则验证其致病性;通过菌落特征、菌株形态及 ITS 序列分析鉴定病原菌;在室内利用生长速率法测定 10 种杀菌剂对该菌的抑制活性。结果表明:为害积雪草叶片的病原菌为泛生漆斑菌 (*Myrothecium inundatum*);该菌感染性强,接种至健康积雪草叶片后 24 h 即可发病,并迅速扩展引起叶片萎蔫;杀菌剂 60% 唑啉·代森联水分散粒剂、45% 恶霉灵·甲霜可湿性粉剂、1.8% 辛菌胺醋酸盐水剂、80% 代森锰锌可湿性粉剂室内对积雪草漆斑病病原菌的抑菌率均在 98% 以上,抑菌效果极强,建议在生产中轮换应用防治积雪草漆斑病。15% 咪鲜胺微乳剂、70% 甲基硫菌灵可湿性粉剂和 10% 苯醚菌酯悬浮剂对该病原菌的抑菌率也均在 92% 以上,抑菌效果良好,在生产中可酌情考虑使用。

关键词: 积雪草, 泛生漆斑菌, 病原菌, 药剂筛选

中图分类号: Q945.8 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2016)08-0993-07

Identification of the pathogen causing black spot disease of *Centella asiatica* and screening of effective fungicides

HU Feng-Yun², JIANG Ni², YE Yun-Feng², JIANG Shui-Yuan^{1*}

(1. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541600, China;
2. Guangxi Botanical Garden of Medicine Plant, Nanning 530023, China)

Abstract: In recent years, a new disease of *Centella asiatica* occurred seriously in producing area of Guangxi, this pathogen usually damages the leaves and petioles, and it can lead a large area of *C. asiatica* to wither. It occurred very common and had a long infection period on *C. asiatica*, so the yield and quality of *C. asiatica* declined seriously. We used general tissue separation to isolate from infected plants, and corroborated the pathogenicity according to Koch's Rule.; and identified the pathogen mainly based on the morphological characters and molecular analysis of internal transcribed spacer (ITS) sequences, using growth rate method, antimicrobial activity of ten fungicides assayed against the pathogen. The result showed that the pathogen *Myrothecium inundatum* was discovered, which resulted in black spot dis-

收稿日期: 2014-10-29 修回日期: 2015-05-15

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科重 1355001-2-6); 横向项目 (2011-4500-04-000020) [Supported by Guangxi Key Planning Program of Scientific Research and Technological Development(1355001-2-6); Horizontal Project(2011-4500-04-000020)]。

作者简介: 胡风云 (1986-), 女, 河南新县人, 硕士, 研究实习员, 主要研究方向为药用植物病害防治, (E-mail) hfy316@126.com。

* 通讯作者: 蒋水元, 研究员, 从事药用植物栽培学研究, (E-mail) jsy@gxib.cn。

ease of *Centella asiatica*. It had strong infectiousness and occurred on healthy leaves in 24 h, and expanded rapidly to bring about the leaves wilting. The indoor antibacterial rate of the four fungicides 60% Pyraclostrobin-metiram WG, 45% Hymexazol-metalaxyl WP, 1.8% Xinjunan acetate AS and 80% Mancozeb WP were above 98%, they had strong antimicrobial effects. The relevant references indicated that *Myrothecium inundatum* the four fungicides could take turns to control this disease in field. The indoor antibacterial rate of these three fungicides 15% Prochloraz ME, 70% Thiophanatemethyl WP and 10% Kresoxim-methyl SC were above 92%, the antimicrobial effects of them were also satisfied. Therefore, we can consider to use these three fungicides in production properly.

Key words: *Centella asiatica*, *Myrothecium inundatum*, pathogen, screening of fungicides

积雪草 (*Centella asiatica*), 别名崩大碗、马蹄草、雷公根、铜钱草等, 为伞形科 (Umbelliferae) 积雪草属 (*Centella* L.) 多年生草本植物。主要分布于我国华东、华南、中南及西南诸省区 (陈瑶等, 2000)。积雪草全草可入药, 具清热利湿、消肿解毒等功效, 能治痧气腹痛、暑泻、痢疾、湿热黄疸、砂淋、血淋、吐血、咳血、目赤、喉肿、风疹、疥癣、疔疮肿毒、跌打损伤等 (吴征镒, 1979; 秦路平等, 1997)。其质地柔嫩、适口性好, 是南方人喜爱的一种野生食材, 亦可作为凉茶饮用。近年来, 随着生活水平的提高, 人们对野生资源开发利用也越来越充分。积雪草作为一种药食兼用的野生植物资源, 其独具风味的口感和药用价值为人们所青睐。目前, 作为野生蔬菜资源

和民族草药被广泛利用, 其需求量逐年增加。近年各产地对积雪草的滥采乱挖, 造成资源的日益枯竭, 仅依靠野生种苗已无法充分发挥它的利用价值, 因此采取人工繁殖栽培来改变现状已非常迫切, 目前广西多地药农相继尝试人工种植积雪草。

2013年9月, 在广西桂林市的积雪草种植基地, 出现了一种为害极重的病害, 该病病原菌主要为害积雪草叶片, 初为褪绿小点, 后扩展成近圆形或不规则形小斑, 病斑中心呈棕色略白, 边缘暗褐或茶褐色, 病斑周围或有褪绿现象。湿度大时病斑上可见黑褐色小点, 即病菌子实体。叶柄也可染病, 可致使整株枯死, 严重影响了积雪草药材的品质和产量。根据该病害田间表现出的病状及病症, 笔者暂且将

表 1 供试杀菌剂及使用浓度

Table 1 Fungicides and application concentrations

编号 Serial number	药剂名称 Fungicide	生产厂家 Factory	使用浓度 Concentration (mg · L ⁻¹)
1	80%代森锰锌可湿性粉剂 80% Mancozeb WP	利民化工股份有限公司 Limin Chemical Co., Ltd	1 000
2	25%氟吗·啉菌酯悬浮剂 25% Flumorph-pyroxystrobin SC	中化农化有限公司 Sinochem Agro Co., Ltd	1 500
3	10%苯醚甲环唑水分散粒剂 10% Difenoconazole WG	绩溪农华生物科技有限公司 Jixi Nonghua Biological Technology Co., Ltd.	1 500
4	60%啉醚·代森联水分散粒剂 60% Pyraclostrobin-metiram WG	巴斯夫股份公司 BASF SE	1 500
5	70%甲基硫菌灵可湿性粉剂 70% Thiophanatemethyl WP	日本曹达株式会社 Nippon Soda Co., Ltd	900
6	45%恶霉灵·甲霜可湿性粉剂 45% Hymexazol-metalaxyl WP	临沂化联作物有限公司 Linyi Union Chemical Co., Ltd	500
7	10%苯醚菌酯悬浮剂 10% Kresoxim-methyl SC	浙江禾田化工有限公司 Zhejiang Hetian Chemical Co., Ltd	7 500
8	20%噻森铜悬浮剂 20% Saisentong SC	浙江东风化工有限公司 Zhejiang Dongfeng Chemical Co., Ltd	300
9	1.8%辛菌胺醋酸盐水剂 1.8% Xinjunan acetate AS	广西安嘉科技农化有限公司 Guangxi Anjia Technology Co., Ltd	800
10	15%咪鲜胺微乳剂 15% Prochloraz ME	海南博士威农用化学有限公司 Hainan Boshiwei Agro Co., Ltd	2 000



图 1 积雪草漆斑病田间早期症状 A. 早期症状; B. 后期症状。

Fig. 1 Natural symptoms of black spot disease of *Centella asiatica* A. Early symptoms; B. Late symptoms.

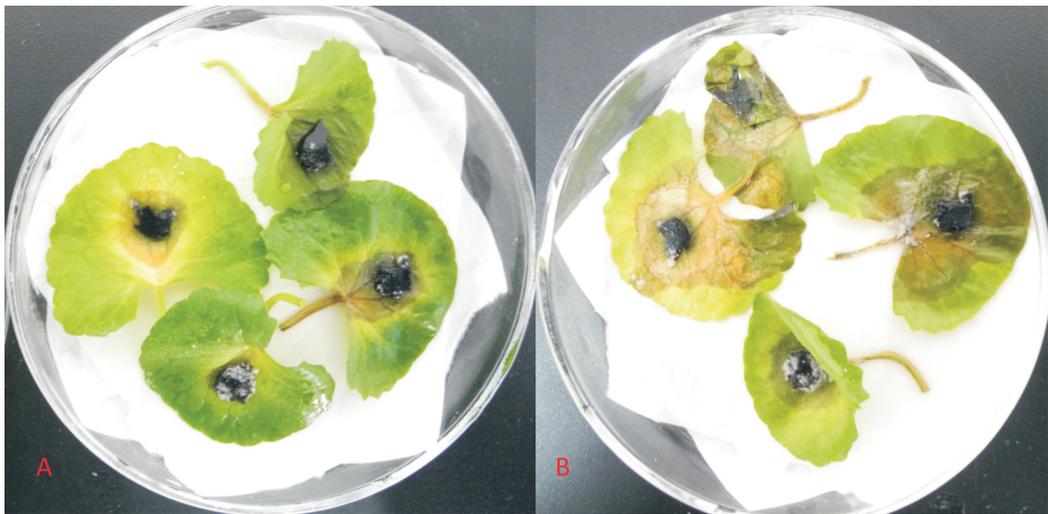


图 2 积雪草漆斑病离体接种发病症状 A. 3 d 后发病情况; B. 6 d 后发病情况。

Fig. 2 Inoculation symptoms of black spot disease of *Centella asiatica* in the detached leaves A. Morbidity after 3 d; B. Morbidity after 6 d.

其命名为积雪草漆斑病。目前,关于积雪草的化学成分的研究报道较多(薛菁等,2014;应娜等,2014;冯旭等,2014;姜润松等,2013),对其病害方面的研究尚未见报道。据笔者实地调研,该病害在广西柳州、来宾等地也有发生,病害发生率为 40%~50%,由于目前大多数药农对种植积雪草尚无经验,也没有可参考的防治方法,多采用多菌灵、甲基托布津等常规杀菌剂进行防治,但防效甚差,该病害已成为当前积雪草推广种植过程中一重要瓶颈。可见弄清该病害的病原菌、筛选出高效低毒的杀菌剂,为当务之急。因此,本研究对采集的积雪草漆斑病病样,开展了病原分离和鉴定工作,并在室内进行了药剂筛选试

验,以期对积雪草漆斑病的有效防治提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材料

感病积雪草样品、健康积雪草样品于 2013 年 9 月采自广西桂林市雁山积雪草种植基地,保湿带回实验室备用。供试培养基为马铃薯葡萄糖培养基(PDA)。供试药剂为苯醚甲环唑、唑醚·代森联等 10 种杀菌剂,毒性均为低毒(表 1)。

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分离与纯化 参考方中达(1998)的

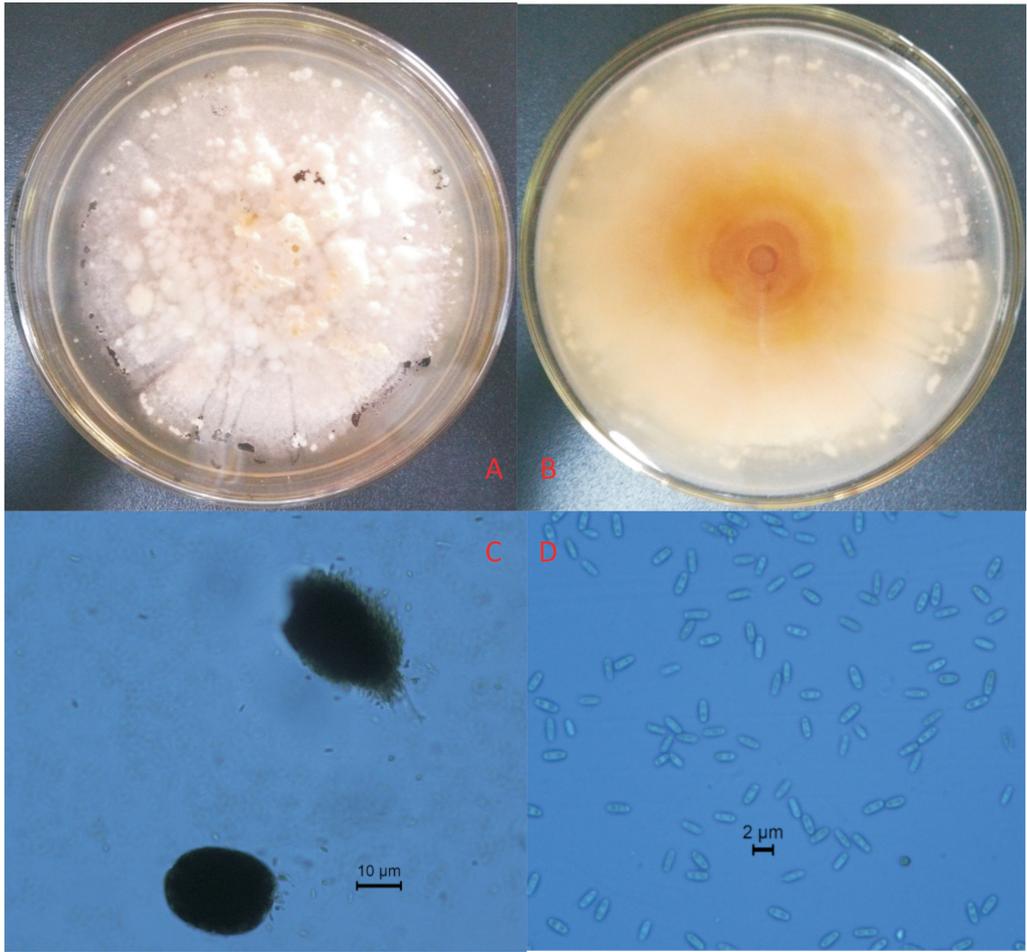


图3 积雪草漆斑病病原形态 A. 菌落正面; B. 菌落反面; C. 分生孢子团; D. 分生孢子。

Fig. 3 Pathogen morphology of black spot disease of *Centella asiatica* A. Obverse of colony; B. Reverse of colony; C. Pionnotes; D. Conidia.

方法,采用组织分离法对采回来的病样进行分离纯化。即用清水将收集的病叶冲洗干净、晾干表面水分,切取病健交界处边长约5 mm的正方形组织块,放入75%酒精和0.1%升汞中分别进行表面消毒后,置于准备好的PDA培养基平板上,28℃下恒温培养3~4 d后,沿菌落边缘挑取长仅可见的菌丝转皿纯化培养,最后将分离得到的菌株经单孢纯化后保存于PDA斜面培养基上,置4℃冰箱中贮存备用。

1.2.2 病原菌的致病性测定 将纯化后的病原菌菌株移到PDA培养基平板上,于28℃下培养7 d备用。选取健康的积雪草叶片,用灭过菌的蒸馏水冲洗干净后晾干表面水分,采用针刺接种法接种,即用针刺伤叶片后取直径为5 mm菌丝块覆盖在伤处,放入灭过菌的培养皿中保湿培养。对照叶片伤口处覆盖同样大小PDA培养基块。每处理3次重复。并将其置于自然光下25~30℃培养,每隔2 d观察

发病情况。对接种发病的叶片进行病原菌再分离,观察分离得到的病原菌菌落是否与原接种菌株相同。

1.2.3 病原菌形态学鉴定 将分离纯化得到的病原菌接种于PDA培养基平板上,28℃培养15~20 d,记录菌落生长速度、形态和颜色。在普通光学显微镜下观察并描述病原菌的产孢结构和分生孢子的形态学特征,随机测量100个病原菌分生孢子的大小,并拍照,对病原菌进行形态学鉴定。

1.2.4 分子生物学鉴定 将病原菌接种于PDA培养基平板上培养7 d后,挑起可见菌丝接入PD液体培养基中,振荡培养(28℃,80 r·min⁻¹)7 d后收集菌丝,用无菌水冲洗,抽滤,冷冻干燥,-20℃低温保存备用。

病原菌DNA的提取参照易润华等(2003)的CTAB法。采用通用引物ITS4 5'-TCC TCC GCT

```

1-50  TGTAGGTGAA CCTGCGGAGG GATCATTACC GAGTTTACAA ACTCCCAAAC
51-100 CCTTTGTGAA CCTTACCTAT CGTTGCTTCG GCGGGATCGC CCCGGGCGG
101-150 CCCCTTCGCG GGGGCCCTCC GGAGCCAGGC GCCCGCCGGA GAACCCAAAC
151-200 TCTTTGTTTT TTATGGTTTT CTCCTCTGAG TGGATTATAA ACAAATAAAT
201-250 CAAAAC TTTC AACACGGAT CTCTTG GTTC TGGCATCGAT GAAGAACGCA
251-300 GCGAAATGCG ATAAGTAATG TGAATTGCAG AATTCAGTGA ATCATCGAAT
301-350 CTTTGAACGC ACATTGCGCC CGCCAGTATT CTGGCGGGCA TGCCTGTTCG
351-400 AGCGTCATTT CAACCCTCAG GCCCCCAGTG CCTGGCGTTG GAGATCGGCC
401-450 GTACGGCGCG CAGCCCCCCC CGGGGGTTTG CGCGGCGGGC CGGCTCCGAA
451-500 ATCTAGTGGC GGCTCTGCTG TAGTCCTCCT CTGCGTAGTA GCACAACCTC
501-550 GCAGTTGGAA CGCGGCGGTG GCCATGCCGT TAAACACCCC ACTTCTGAAA
551-600 GTTGACCTCG GATCAGGTAG GAATACCCGC TGAACTTAAG CATATCAATA
601-606 AGCGGA↓

```

图 4 病原菌 ITS-rDNA 片段序列图

Fig. 4 rDNA-ITS sequence of black spot disease of *Centella asiatica*

TAT TGA TAT GC-3' 和 ITS 5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3', 对菌株 rDNA-ITS 区域进行 PCR 扩增。PCR 反应体系: 含 $10 \times$ 缓冲液 ($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl, $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl) $2.5 \mu\text{L}$, dNTP (各 $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) $2 \mu\text{L}$, 引物 ITS4 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、ITS5 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 $0.5 \mu\text{L}$, DNA 模板 $10 \mu\text{L}$ (约 100 ng), Taq 酶 ($5 \text{ U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) $0.5 \mu\text{L}$; 加 ddH_2O 至 $25 \mu\text{L}$ 。PCR 反应条件: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 5 min , 然后进入循环, $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 30 s , $58 \text{ }^\circ\text{C}$ 退火 30 s , $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 复性 80 s , 35 个循环, 最后 $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 10 min 。

PCR 产物委托北京诺赛基因组研究中心有限公司进行测序, 将测序结果放入 GenBank 数据库中进行 Blast 比对, 搜索同源性序列。根据这些序列与数据库中已鉴定出的菌株的 ITS 序列的相似度, 从分子水平进一步明确收集的菌株的分类地位。

1.2.5 杀菌剂室内抑菌筛选 采用生长速率法进行, 即将供试各种药剂母液分别加入到熔化后冷却至 $45 \text{ }^\circ\text{C}$ 左右的 PDA 培养基中, 配制成待测浓度的含药培养基, 充分摇匀后倒皿。打取菌龄相同直径为 5 mm 病原菌菌饼倒放于含药平板中央。设不加药的 PDA 培养基为空白对照, 置于 $28 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温下培养, 每种药剂设 3 个重复, 每 3 d 观察菌落生长情况。当对照菌落生长接近满皿时, 用十字交叉法测量菌

落的大小, 按以下公式计算抑菌率。

$$\text{抑菌率}(\%) = [(d_{ck} - d_1) / d_{ck}] \times 100$$

式中, d_{ck} : 对照菌落净生长距离; d_1 : 处理菌落净生长距离。

菌落净生长距离 (mm) = 菌落平均生长直径 - 菌饼直径。

2 结果与分析

2.1 病害症状

2013 年 9 月, 该课题组在桂林市积雪草种植基地发现了积雪草漆斑病, 该病主要为害积雪草叶片, 也可为害叶柄。叶片受害, 初为褪绿小点, 后扩展成近圆形或不规则形小斑, 病斑中心呈棕色略白, 边缘暗褐或茶褐色, 病斑周围或有褪绿现象 (图 1)。湿度大时病斑上可见黑褐色小点, 即病菌载孢体。叶柄也可染病, 受害叶柄初呈水渍状, 病健交界处不明显, 继而病部凹陷, 上下扩展可导致叶呈萎蔫状, 最后致使整株枯死。该病害在积雪草整个生长发育期都可发生, 染病后如不及时防治发病中心可迅速扩展, 造成严重损失。

2.2 病原菌的分离和致病性测定

在广西桂林市雁山积雪草种植基地内采集到的

积雪草漆斑病病害标样,经分离纯化后得到形态特征一致的分离物8个。采用针刺接种法将这些菌株接种到健康的积雪草叶片上保湿培养,24 h即可明显看出伤口染病皱缩,接种3 d后,接种叶片菌丝块周围出现大面积水渍状,伴随失绿现象,6 d后叶片大面积失绿变为黄褐色,菌丝块周围出现黑色小点(图2),7 d可扩展至整张叶片及叶柄,导致叶片腐烂,症状与田间自然发病症状相似;对照叶片不发病,而且人工接种后发病叶片经再分离所得菌株形态和培养性状均与接种菌相同。

2.3 病原菌形态学鉴定

病原菌在PDA平板上培养,菌落为圆形或近圆形,中间呈絮状突起,放射性扩散,边缘菌丝略薄,轮廓整齐,气生菌丝白色质密。菌落米白色,基底黄白色至浅棕色,略带有黄色轮纹,后期菌落边缘产生墨绿色至黑色粘液状分生孢子团,孢子团干燥后变硬(图3)。显微观察表明,子实体孢子座状,由分生孢子梗紧密排列而成,周围集结成密丝组织状壁的边缘菌丝,无刚毛。分生孢子梗无色或基部淡色,分枝1~3次,末次分枝顶生1~5个轮生孢子细胞。产孢细胞瓶体型,无色或顶部暗色,紧密排列。分生孢子圆柱形或椭圆形,无色或淡柑榄色,成团时墨绿色至黑色,单孢,单胞,两端钝圆或稍尖,大小(1.37~2.42) μm \times (0.35~0.63) μm 。参照吴文平(1991)的描述,将该病原菌鉴定为半知菌类(Imperfecti fungi)丝孢纲(Hyphomycetes)瘤座孢目(Tuberculariales)瘤座孢科(Tuberculariaceae)漆斑菌属(*Myrothecium*)。

2.4 分子生物学鉴定

通过CTAB法提取病原菌DNA,并进行PCR扩增,对其产物进行测序,获得606 bp的DNA序列(图4)。图4显示,通过Blast比对搜索发现,该序列与GenBank核酸数据库中已报道的漆斑菌属的ITS序列同源性高达100%。积雪草漆斑病病原菌形态特征与吴文平(1991)描述的泛生漆斑菌(*Myrothecium inundatum*)的形态学特征相似,rDNA-ITS序列分析结果进一步从分子水平证明其为泛生漆斑菌。

2.5 杀菌剂室内抑菌效果

杀菌剂室内抑菌试验结果如表2所示,60%唑醚·代森联水分散粒剂、45%恶霉灵·甲霜可湿性粉剂、1.8%辛菌胺醋酸盐水剂、80%代森锰锌可湿性粉剂这4种杀菌剂对积雪草漆斑病病原菌的抑菌

率均在98%以上,具有极强的抑菌效果,建议在生产中轮换使用。15%咪鲜胺微乳剂、70%甲基硫菌灵可湿性粉剂、10%苯醚菌酯悬浮剂这3种杀菌剂对该病原菌的抑菌率也都在92%以上,抑菌效果良好,在生产中可酌情考虑使用。10%苯醚甲环唑水分散粒剂抑菌率只有64.32%,效果较差,25%氟吗·唑菌酯悬浮剂和20%噻森铜悬浮剂对该病害几乎不具抑菌效果,不建议使用。

3 讨论与结论

近年来,随着积雪草需求量的增加,越来越多的药农开始种植积雪草,积雪草漆斑病可能给积雪草生产造成的影响亦不容忽视,但至今仍未见相关病原的报道。为明确该病病原和有效控制病害的发生,本研究结合形态学特征及分子生物学方法,对积雪草漆斑病的病原进行了研究,首次将广西发现的积雪草漆斑病的病原菌鉴定为泛生漆斑菌。泛生漆斑菌为漆斑菌属模式种,我国已报道的漆斑菌属真菌有4种,即露湿漆斑菌(*Myrothecium roridum*)、疣孢漆斑菌(*M. verrucalia*)、禾漆斑菌(*M. gramineum*)和白毛漆斑菌(*M. leucotrichum*) (吴文平,1991),其中以露湿漆斑菌寄主范围最广,能寄生在棉花、玉米、铁苋菜、白术、冬瓜、白薇、薯蕷、酸枣、大豆、常春藤等多种植物上,可引起多种植物的病害(吴文平,1991;Fitton & Holliday,1970;Srivastava和赵云芬,1998;贲海燕等,2009)。泛生漆斑菌一般作为内生菌存在于植物体内(Banerjee et al,2010),在自然条件下直接侵染积雪草叶片引起积雪草病害还是首次发现,在其它植物上还未见报道。由于泛生漆斑菌可引起的植物病害较少见,目前关于其防治方面的研究尚处于空白状态。因此,作者收集了10种低毒杀菌剂(LD₅₀>500)对该菌进行了室内抑菌试验,结果发现60%唑醚·代森联水分散粒剂、45%恶霉灵·甲霜可湿性粉剂、1.8%辛菌胺醋酸盐水剂、80%代森锰锌可湿性粉剂等杀菌剂对积雪草漆斑病病原菌有极强的抑菌效果,可作为参考来防治田间病害;15%咪鲜胺微乳剂、70%甲基硫菌灵可湿性粉剂、10%苯醚菌酯悬浮剂这3种杀菌剂对该病原菌的抑菌率也都在92%以上,抑菌效果良好,在生产中可酌情考虑使用。

本研究选用的杀菌剂均为低毒药剂,对人畜及环境安全危害小,不易出现农药残留,因此这些药剂

表 2 不同杀菌剂对积雪草漆斑病病原菌的抑制效果
Table 2 Fungistasis of different fungicides to *Myrothecium inundatum*

药剂名称 Fungicide	使用浓度 Concentration (mg · L ⁻¹)	菌落平均直径 Average diameter of colony (cm)	抑菌率 Inhibition rate (%)
60%唑醚·代森联水分散粒剂 60% Pyraclostrobin-metiram WG	1 500	0.51±0.010 aA	99.86
45%恶霉灵·甲霜可湿性粉剂 45% Hymexazol-metalaxyl WP	500	0.53±0.021 aA	99.57
1.8%辛菌胺醋酸盐水剂 1.8% Xinjunan acetate AS	800	0.59±0.055 aAB	98.71
80%代森锰锌可湿性粉剂 80% Mancozeb WP	1 000	0.62±0.035aAB	98.27
15%咪鲜胺微乳剂 15% Prochloraz ME	2 000	0.81±0.015 abAB	95.54
70%甲基硫菌灵可湿性粉剂 70% Thiophanatemethyl WP	900	0.82±0.036 bB	95.40
10%苯醚菌酯悬浮剂 10% Kresoxim-methyl SC	7 500	1.05±0.150 cC	92.09
10%苯醚甲环唑水分散粒剂 10% Difenconazole WG	1 500	2.98±0.271 dD	64.32
25%氟吗·唑菌酯悬浮剂 25% Flumorph-pyraoxystrobin SC	1 500	7.01±0.093 eE	6.33
20%噻森铜悬浮剂 20% Saisentong SC	300	7.35±0.115 eEF	1.44
对照 CK	0	7.45±0.067 fF	0

注: 使用 DPS 对不同处理进行差异显著性分析, 小写字母表示 0.05 显著水平, 大写字母表示 0.01 显著水平。

Note: DPS was used to analyze the significance level among different treatments with small letters expressing the significant differences at 0.05 level and capital letters at 0.01 level.

均可应用于生产, 但具体田间防效及综合防治技术的建立尚待进一步试验。

由于研究报道该菌的文献较少, 该菌的生物学特性尚不清楚, 需进一步研究, 以期更全面、精确地掌握该菌的生活习性。本课题组调查发现, 该病害已在广西多个积雪草种植区发生, 且病害发生与气温和雨量关系密切。春、秋阴凉天气及雨季发病较严重, 苗期种植密度过大也会成为该病发生的主要原因, 连作种植也可使该病情发生加重。因此, 积雪草漆斑病和栽培环境及条件密切相关, 所以要将化学药剂、栽培管理和栽培技术共同结合起来进行防治。

参考文献:

- BANERJEE D, STROBEL GA, BOOTH E, et al, 2010. An endophytic *Myrothecium inundatum* producing volatile organic compounds [J]. *Mycosphere*, 1(3):229-240.
- BEN HY, LI BJ, LIU XM, et al, 2009. Identification of the pathogen causing black spot disease of little spurnflower [J]. *Acta Horti Sin*, (4):553-558. [贾海燕, 李宝聚, 刘学敏, 等, 2009. 瑞典常春藤漆斑病病原鉴定 [J]. *园艺学报*, (4):553-558.]
- CHEN Y, QIN LP, ZHENG HC, et al, 2000. Resources distribution and pharamacognostic identification of *Centella asiatica* (L.) Ur-

- ban produced in China [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 25(4):199-202. [陈瑶, 秦路平, 郑汉臣, 等, 2000. 积雪草的资源分布与生药鉴别 [J]. *中国中药杂志*, 25(4):199-202.]
- FANG ZD, 1998. Research methods of plant disease [M]. 3rd Ed. Beijing:China Agriculture Press: 124. [方中达, 1998. 植物研究方法 [M]. 3 版. 北京:中国农业出版社: 124.]
- FENG X, GUO FF, ZHAO L, et al, 2014. Research progress on pharmacological effects of asiatic acid and its structural modification [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 45(7):1 037-1 042. [冯旭, 郭飞飞, 赵龙, 等, 2014. 积雪草酸药理作用及其结构修饰的研究进展 [J]. *中草药*, 45(7):1 037-1 042.]
- FITTON M, HOLLIDAY P, 1970. *Myrothecium roridum* [J]. *C. M. I Descri. Pathogen Fungi Bacteria*, (2):253.
- JIANG RS, ZHAO X, LIN L, et al, 2013. Effects of asiaticoside on the fibroblasts of burned rats and the expression of connective tissue growth factor [J]. *Zhejiang Med J*, (23):2 054-2 056. [姜润松, 赵雄, 林隆, 等, 2013. 积雪草苷对烫伤创面成纤维细胞及结缔组织生长因子表达的影响 [J]. *浙江医学*, (23):2 054-2 056.]
- QIN LP, ZHUANG WG, ZHENG HC, et al, 1997. Research advances of *Centella asiatica* (L.) Urban [J]. *World Phytomed*, 12(4):154-156. [秦路平, 庄卫国, 郑汉臣, 等, 1997. 积雪草研究进展 [J]. *国外医药.植物药分册*, 12(4):154-156.]
- SRIVASTAVA SK, ZHAO YF, 1998. Production loss assessment of different age India soybean plant were inoculated by *Myrothecium* (下转第 985 页 Continue on page 985)