

油茶软腐病病原菌的鉴定

吴光金 林雪坚

戚佩坤

(中南林学院)

(植保系)

提 要

油茶软腐病近年来越趋严重,经我们试验鉴定,当年病斑上表皮组织下产生的球形分生孢子座是真正的分生孢子座,无短柄。而病斑上表生的、具短柄的分生孢子座、形状较多,具菌核特性。分生孢子梗及分生孢子的形态是最稳定的,与漆斑菌属 (*Myrothecium*) 基本相同,故将油茶伞座孢 (*Agaricodochium camelliae*) 移名为油茶漆斑菌 (*Myrothecium camelliae* (Liu, Wei et Fan) P.K.Chi, Wu et Lin n. comb.)。

近几年来,油茶软腐病发生越趋严重,病菌寄生在普通油茶等20多种寄主上,产生土黄色至淡褐色的病斑、园形、半园形或不规则形,严重时扩展至全叶。病斑表面常散生一至几十个(多的达一千多个)肉眼可见,呈灰白色、乳黄色、灰绿色的颗粒体,严重时引起落叶、落果、叶枯果裂。我们自1978年2月份起,将重点放在病原菌的鉴定上,1979年初步报导系半知菌类,现将详细内容总结如下:

病原菌的分离培养和致病力测定

从1978年2月至1980年,用PDA、PDA+油茶组织汁液等十几种不同培养基,按常规分离法进行73次组织分离工作。分离材料主要来自中南林学院油茶林、怀化县油科所、常德县塘家铺、黔阳县林科所、永兴县油科所及广西柳州、桂林等地的普通油茶、越南油茶和攸县油茶新老病叶。通过不同地区不同时间,不同寄主病组织分离,结果高度一致。分离菌落毛毡状,初白色或灰白色,基质浅黄色,有时有明显的环带,营养菌丝绿黄色深入培养基内,连结成硬块,(用接种针不易挑出,必须用锋利的接种铲切割。)后期菌落淡褐色上产生黑色水珠状的点状物。散生或成堆、即其分生孢子座,镜检观察,菌丝有隔,多连11隔以上。基座形成大型细胞,顶端为生殖菌丝,上生多

隔,呈竹筒状的分生孢子梗,二叉分枝2—8次,扫状丛生,每分枝顶端轮生2—8个瓶状小梗,壁薄,表面光滑,小梗顶端漏斗状,有3—6个如锯齿状的缺刻,自内生出园球形、链生的浅榄褐色分生孢子(图1、2)

为了证明分离菌的致病性。1978和1979年于油茶软腐病发生期进行林间和室内人工诱发试验,室内接种:将油茶新梢采回离体水培,叶表面先用75%酒精后用0.1%升汞消毒,最后经灭菌水洗净,将叶面划伤或不划伤,然后取纯培养约3平方毫米大小的菌丝块紧贴接种部位,用玻璃盅罩保湿、温度20~23℃,定时观察。室外接种在油茶活体上进行,具体做法同室内接种用尼龙袋保湿,结果如表1.2。

表1 室内油茶软腐病致病力测定

菌株号	接种方法	叶发病率(%)	病落叶率(%)
1	划伤	95	94.7*
2	划伤	85	100
3	不伤	90	83.3
对照	不伤	0	0

* 在一片落叶病斑上产生灰白色孢子座

表2 林间油茶软腐病菌致病力测定

菌株号	接种方法	叶发病率(%)	每叶孢子座产生数(粒)		
			最多数	最少数	平均数
1	划伤	100	108	1	36.8
2	划伤	95	55	2	18.1
3	划伤	98	42	3	17.6
4	不伤	95	20	3	11.7
5	不伤	100	42	2	19.2
对照	不伤	0	0	0	0

表1、2说明,分离菌进行林间和室内接种各菌株致病率在85~100%,诱发的症状与自然发生的相同(图3),林间接种病叶,在发病部位上产生与自然病斑相同的病菌分生孢子座,最多的高达108粒。取诱发的病斑进行组织分离,又得到了和分离菌相同的病菌,符合柯克氏定律。可见分离菌是油茶软腐病的致病菌。

病原菌分生孢子座的观察和测试

1978年2月至1980年将自然感染的病部上的颗粒体和人工接种产生的颗粒体进行形态比较,致病性测定和萌发试验,结果如下:

1. 病原菌颗粒体的形态 来源不同的颗粒体,其形态基本相同,由近圆形或不规则形的大型细胞组成,这类颗粒体都是表生的,呈钮扣状,中央稍下陷,或呈面包形,小宝塔形,通常宽28.6—643.5微米,高71.5—314.微米,具一短柄,柄长21—98微米,宽17.5—101.5微米,但柄易脱落。此时颗粒体为灰白或乳黄色偶有叠生现象,颗粒体上无繁殖体,未见任何孢子,故我们曾把它称为蘑菇形“菌核”。(图3、4、5)

以后,在老病叶和落地的病叶上,这类颗粒体变黑,镜检可见蘑菇形菌核上形成一层紧密排列的分生孢子梗和分生孢子,形态与在P.D.A上产生的基本相同,只是分生孢子梗稍短稍宽,亦是2—8次二叉状重复分枝,无色,顶端的瓶梗(产孢细胞)2—8个轮生,瓶梗大小为10.5—28.0×3.10—4.2微米,壁薄,无分隔,表面光滑,瓶口漏斗状,有2—6个缺刻,单点产孢,向基型串生球形至卵圆形,单胞,浅橄榄褐色的分生孢子,密集成柱状的孢子团。卵圆形的分生孢子大小为2.5—3.8×1.8—3.5微米,球形的分生孢子直径为1.4—3.9微米,壁略厚,分生孢子相连处的孢痕稍内凹,产孢后的分生孢子座无致病力、孢子不萌发。因此,这种“菌核”实际上是一种分生孢子座^{[1][2]}(图6)

2. 病原菌颗粒体不同发育阶段致病性的测定 病原菌颗粒体在活寄主体上、通常在很长时间内都不产生分生孢子。病叶和病果脱落后,再隔一定时期,在温度约24℃左右,颗粒体变黑,其上才产生分生孢子。为了解产生孢子前后的致病性。我们从林间和室内保湿,取未产生孢子和已产生孢子的颗粒体以及孢子悬液作了诱发试验。结果(表3)表明,产生孢子之前的未变黑而呈乳黄或灰白色的颗粒体,其致病性很强、致病率为58.4~94%,潜育期为18—72小时,将诱发的病斑多次用组织分离都产生形态相同的分离菌。产生孢子后变黑了的颗粒体则失去致病性。分生孢子悬液多次接种都不致病。

表3 病菌颗粒体不同阶段及分生孢子致病性测定

不同阶段的颗粒体	颗粒体来源	发病叶数/接种叶数	潜育期(天)
未变黑颗粒体	林间	73/125	1~8
变黑颗粒体	林间	0/95	
未变黑颗粒体	室内保湿	35/50	1~8
变黑颗粒体	室内保湿	0/70	
对照	最早的分离菌	47/50	3~6
分生孢子悬液	保湿培养	0/60	
对照	清水	0/50	

利用越冬及仍未变黑的颗粒体(未产生分生孢子)进行接种,均能引起发病。是本病的初次侵染源^[6]。

将颗粒体在无菌箱内,分割成不同等分,然后进行接种,结果(表4)分割为1/2、1/4及压碎的颗粒体都有致病性,随着压碎的程度不同致病性有差异,从而说明颗粒体的一部分组织亦有侵染能力。

表4 病原颗粒体分割后致病性测定

接 种 源	发病叶数/接种叶数	潜 育 期 (天)
全 颗 粒 体	19/20	1~5
1/2 颗 粒 体	15/20	1~5
1/4 颗 粒 体	8/20	1~5
压 碎 颗 粒 体	7/20	1~5
对 照 (清水)	0/20	

上述试验亦说明,此菌的这种分生孢子座具有菌核的特性,能侵染致病,并有渡过恶劣环境进行越冬的功能,而通常,从梗孢目内,分生孢子座的子座组织是没有侵染能力的,抵御不良环境的能力亦极低的。迄今,我们仍未发现变黑了的颗粒(产生孢子后的分生孢子座)具有侵染力。孢子萌发试验证明:分生孢子均不萌发,故用纯孢子液接种都不成功。

病原菌形态的切片观察

1978年12月,取当年病叶进行石蜡切片和徒手切片,发现病斑的表皮组织下有近球形或垫状的黑色分生孢子座,上生多隔无色的分生孢子梗和球形、浅黄褐色、单孢、链生的分生孢子,形态与先前病叶上的分离菌以及自然条件下,病斑上表生变黑的分生孢子座基本一致,不同之处是这类分生孢子座是和叶组织连在一起的,没有短柄,不呈蘑菇状,不易脱落或挑出,无致病力,并且在后期突破表皮后便呈黑色。这类分生孢子座是病原菌真正的分生孢子座。

病菌的另一特征是在菌丝和基质内,以及用颗粒体诱发的病组织内的菌丝中,都可见到三角形、菱形、正方形、长方形、六面形……的晶体,并可单独离析出来,我们认为这种晶体可能就是病菌产生的毒素(图9)。

病原菌的鉴定

关于本菌的鉴定,1981年6月,刘锡进等曾主要根据蘑菇型的分生孢子座建议成立伞座孢属(*Agaricodochium* Liu Gen. nov.) 模式种:油茶伞座孢(*A. camelliae* Liu, Wei et Fan sp. nov.)。根据我们的观察、培养及接种,此菌的分生孢子座的性状不够稳定。(1)在自然条件下:在油茶叶表皮组织下形成的分生孢子座呈垫形、球形,没有短柄,不呈蘑菇状。(2)即便在自然条件下,叶病斑表面形成具短柄的分生

孢子座，其形态也是多样的，蘑菇型只是其中一部分。此外，还有相当多宝塔形的、中央明显凹陷呈钮扣形的。（3）在人工培养下，孢子座也没有短柄，呈球形、近球形。

（4）在自然条件下叶病斑表面生的蘑菇型孢子座的组织，具有明显的菌核特性，可以侵染寄生，进行越冬，这是与半知菌亚门内一般分生孢子座组织的特性很不同的。（5）这类孢子座在有的半知菌，例如仁果丛梗孢（*Mmonilia fructigena*），灰丛梗孢（*M. cinerea*）等有害果实时，有时也可产生，但从梗孢属并不主要根据这类非典型的孢子座分类。

我们感到此菌在孢子座周缘密布的分生孢子梗及分生孢子的形态是稳定的特征。其分生孢子梗多次二分叉，瓶梗轮生，瓶口有锯齿状缺刻，孢子球形、卵圆形、链生、不属腐生菌等，使此菌比较接近小漆斑菌属（*Myrotheciella*）。小漆斑菌属是史贝扎尼在1909年建立的，后被并入漆斑菌属（*Myrothecium*）。漆斑菌属内不少种的孢子座周围常有无性的毛或刚毛，但巴奈特（Barnett H.L.）〔4〕的半知分菌类系统中只提：“有时边缘有无色的刚毛”，普莱斯顿（Preston N.C.）〔5〕〔6〕〔7〕1943—1948年重新鉴定此属时，也只说“有或无刚毛”，他并且明确指出此菌的子座浅帽形，有或无假薄膜组织的基部，漆斑菌属内有的种确有蘑菇型的孢子座，例如 *M. inundatum* Tode ex Fr. 按 Tode 的原始描述分生孢子座有柄、呈蘑菇状；*M. jollymann* Preston 的分生孢子座也是有短柄的。漆斑菌属内各个种，分生孢子座不仅呈垫形，有的亦可呈球形，如 *M. striatisporum* Preston。分生孢子也不仅是园柱形、椭圆形、单生。*M. catenulatum* Pido-phichko 便是以分生孢子链生为种的主要特征的。考虑到漆斑菌属的形态多样、特征的伸缩度较大，有的种致病性较强，我们将油茶软腐病菌移入漆斑菌属，称为油茶漆斑菌（*M. camelliae* (Liu, Wei et Fan) P. K. Chi, Wu et Lin n. Comb.）

Myrothecium camelliae (Liu, Wei et Fan) P. K. Chi, Wu et Lin comb. nov.

Agaricodochium camelliae Liu, Wei et Fan《生物学报》21(2)160—161, 1981.

分生孢子座近球形或垫形，初埋生，后突破表皮，离生、无柄、黑色。直径0.03—0.6毫米，在寄主病斑表面的分生孢子座具短柄，初呈乳白色，具菌核特性，能侵染寄主，并能越冬，呈蘑菇形。中央凹陷的钮扣形等多种形状，后变为黑色，产生孢子，丧失致病力。分生孢子梗排列紧密，无色，多次二叉分枝，顶端瓶梗产孢细胞轮生，有数个缺刻，单点产孢。分生孢子卵圆形至球形，向基型链生，单胞，浅榄褐色，直径1.4—3.9微米，成柱状孢子团。

Sporodochia primo innata, demum erumpentia, atra, subglobosa, pulvinata, sessilia (*Sporodochia* in superficialia brevissime stipitata) solitaria, 0.03-0.6 mm diam. *Conidiophora* macronematea, hyalina, 2-7 dichotoma ramosa ad apico, *Cellulae* conidiogenae discretae. *Phialida* verticillata, monophialidicae, dentiformia, *Conidia* ovoidea vel globosa, basipetalia, catenulata, unicellularia, pallide olivaceo-brunnea, 1.4-3.9 μ diam.

参 考 文 献

- [1] 魏景超, 1979, 《真菌鉴定手册》上海科技出版社。
- [2] 林雪坚、吴光金、王稼铨, 1981, 油茶软腐病发病规律的研究, 《中南林学院学报》1(1): 78~84。
- [3] 刘锡璠、魏安靖、樊尚仁、杨万安、李惠中、周水林, 1981, 油茶软腐病病原菌的研究, 《微生物学报》21(2): 154—163。
- [4] H.L.Barnett & B.B.Hunter, 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi (Third Edition) Burgess Publishing Company, Minnesota, U.S.A. *
- [5] N.C. Preston, 1936. The parasitism of *Myrothecium roridum* Tode. Brit.Myc.Soc.20: 242-280.
- [6] N. C. Preston, 1943. Observation on the Genus *Myrothecium* I. Trans.Brit.Myc.Soc.26: 158-168.
- [7] N.C.Preston, 1948. Observation on the Genus *Myrothecium* II. Trans. Brit.Myc.Soc.31: 271-276.

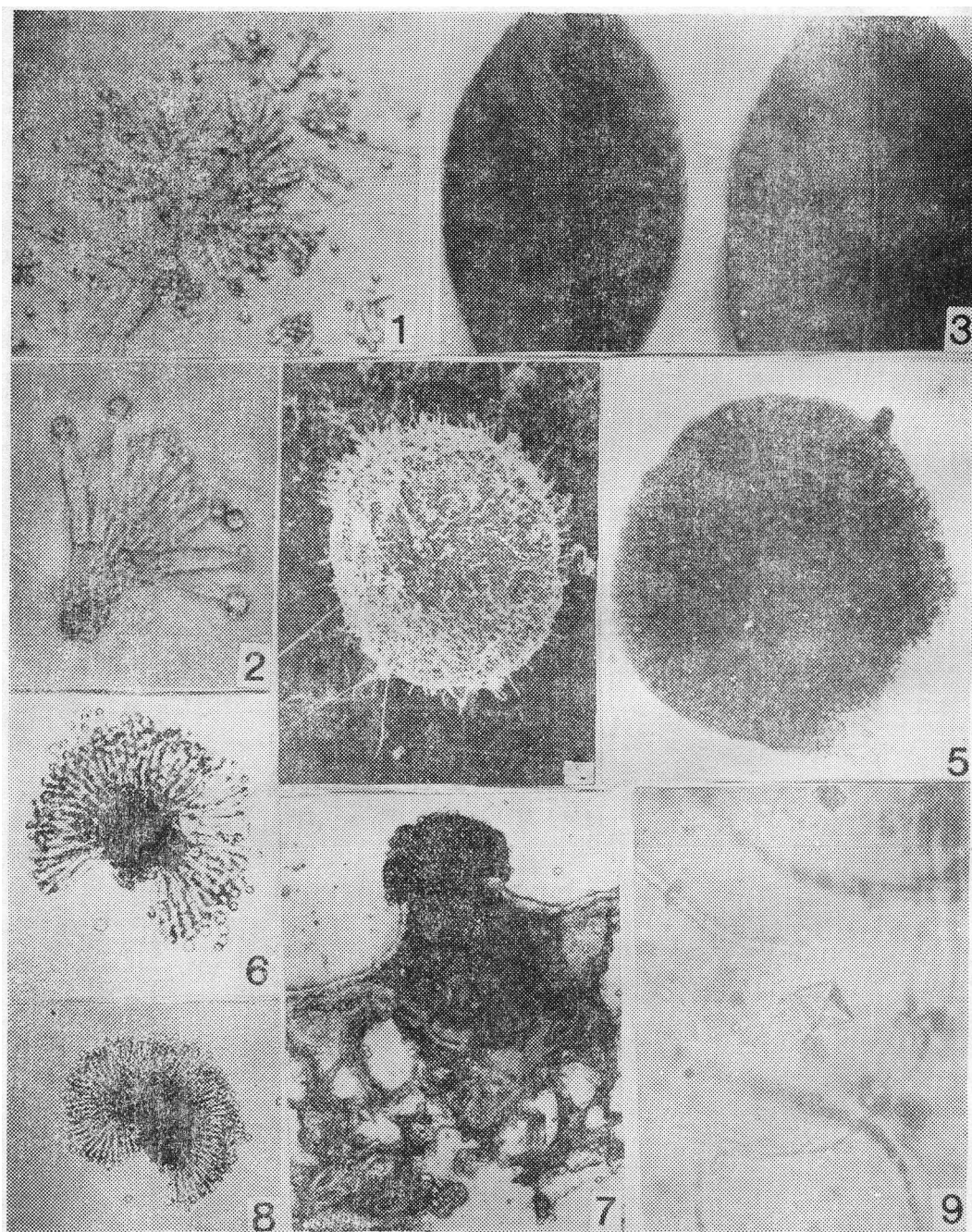
IDENTIFICATION ON THE SOFT-ROT FUNGUS OF TEA-OIL TREE

Wu Guang-Jin Lin Xue-Jian Chi Pei-Kun

(Central-South College of Forestry) (South-China Agricultural College)

SUMMARY

The pathogenic fungus of soft-rot disease or tea oil tree produces two kinds of sporodochia. In natural condition, the ones which develop below the cuticle are the true sporodochia and are never stipitate, the others are superficial, stipitate, its stroma, like sclerotium, can infect leaf tissue and cause all typical symptoms of soft-rot disease. However, the morphology of conidiophores and conidia seem very stable. Therefore, the authors transfer the causal organism: *Agaricodochium camelliae* Liu, Wei et Fan to the Genus *Myrothecium* as *M. camelliae* (Liu, Wei et Fan) P. K. Chi, Wu et Lin n. comb.



附图说明

- 图1 P.D.A上的油茶软腐病分离菌。
 图3 自然条件下,病叶上产生的颗粒体。
 图5 颗粒体放大(侧面)示其短柄。
 图7 油茶软腐病菌的真正的分生孢子座。
 图9 在P.D.A上,油茶软腐病菌菌丝病菌产生的晶体。
- 图2 在P.D.A上分离菌的瓶梗及瓶口的锯齿状缺刻。
 图4 颗粒体放大(正面)。
 图6 颗粒体后期变黑,产生分生孢子梗和分生孢子。
 图8 分生孢子座的切面。