苦丁茶枯梢病病原菌的研究*

姜子德 戚佩坤 翁群芳 (华南农业大学植物保护系,广州,510642)

摘要 首次报道了苦丁茶枯梢病。依病菌的培养性状、形态学特征和寄主专化性,该菌拟为一新的专化型—— 砖红镰刀菌冬青专化型(Fusarium lateritium Nees emend Snyd. et Hans. f. sp. ilicicolla Z. D. Jiang et P. K. Chi f. sp. nov)。此专化型主要为害苦丁茶,刺伤接种可侵染鸡冠花。

关键词 苦丁茶;枯梢病;砖红镰刀菌;砖红镰刀菌冬青专化型;砖红镰刀菌鸡冠花专化型中图分类号 S 432.44

苦丁茶(Ilex kudingcha C. J. Tseng),冬青科(Aquifoliaceae)植物,为我国特产;由于能清热解毒,治痧气、感冒、腹痛、疟疾、咽喉肿痛及其它炎症,对降血压、降血脂有明显的效果(衰学培,1993),倍受人们喜爱,在广东、广西都有大发展的趋势;但尚未见有苦丁茶病害的研究报道。本文是近年来发生流行于广东大埔县,造成苦丁茶春季大量嫩梢枯死的枯梢病病原真菌的研究结果。

1 材料与方法

1.1 病原菌分离

取新鲜病梢以常规方法分离罹病的皮层、叶和叶柄,获得一种镰刀菌,再单孢分离得到单孢菌株以供研究。

1.2 致病性测定

采用刺伤接种法,3个单孢菌株 (F_1,F_2,F_5) 分别在 PDA 上 $(25 \,^{\circ}\mathbb{C})$) 培养 10 d, 配制孢子悬浮液 (浓度为 1.3×10^6 个/mL), 喷雾苦丁茶嫩梢, 对照喷水, 保湿 48 h, 以后半揭开保湿罩, 每天喷 2 次水, 观察发病情况并再分离。

1.3 培养性状观察及形态鉴定

将经致病性测定成功后的各菌株,在 PDA、石竹叶培养基和米饭培养基上培养 15 d $(25 \, \mathbb{C})$,观察培养性状,描述形态,测量产孢细胞和分生孢子。同时,测量每天连续 12 h 光(荧光灯)暗交替处理在 PDA 上 $(25 \, \mathbb{C})$ 培养 4、10 d 的各菌株菌落直径,计算生长速率。以 Booth 镰刀菌分类系统 (Booth, 1971),并参考 Gerlach 等 (1982) 的《镰刀菌属图文集》进行鉴定。

1.4 专化型试验

采用刺伤接种法,将 PDA 上培养 10 d 的致病单孢菌株孢子悬浮液(浓度为 1.3×10⁶ 个/mL) 喷雾于鸡冠花(Celosia cristata L.)、玉米(Zea mays L.)、湿地松(Pinus elliott

¹⁹⁹⁵⁻⁰⁵⁻²⁴ 收稿

^{*} 国家自然科学基金资助项目

Eng.)、细叶黄杨 (Buxus hsrlandii Hance)的苗上,以及苦丁茶、柑桔 (Citrus erythrosa Hort. ex Taraka)、黄皮 (Clausena lansium(Lour.) Skeels)、桑 (Morus alba L.)的嫩梢和芽上,在22~28℃ 下保湿 48 h,以后半揭开保湿罩,每天喷 2 次水,观察发病情况并再分离。

为了证明病原菌是否即鸡冠花叶疫病菌 — 砖红镰刀菌鸡冠花专化型 (Fusarium lateritium Nees emend Synd. & Hans. f. sp. celosiae Matuo T.),作者将苦丁茶枯梢病和经过两次筛选且对鸡冠花具强致病力的砖红镰刀菌鸡冠花专化型单孢菌株,同时采用刺伤和无伤口两种处理接种苦丁茶嫩梢,且进行再分离。

2 结果

2.1 症状

该病在雨水较多的 3~4月发生流行,主要为害当年春季的嫩芽、新梢和嫩叶柄。嫩芽受害变黑腐烂。新梢被侵,首先在表皮形成暗绿色小斑,迅速扩展为黑色大斑,并不断向下部发展,病健交界明显,剖开病部仅见皮层变黑,木质部尚好;后期病梢变软、失水变细而枯死,且在病部表面生有许多淡橙红色的粘孢子团(全为病菌的大分生孢子)。叶柄被侵则表现为失水变黑,叶片下垂、与叶柄相连处形成黑色不规则形水浸状病斑。

2.2 致病性

3 个单孢菌株均能致病,接种 3 ~ 4 d 叶柄失水,叶片下垂; 7 d 梢表皮变黑、变软、失水,再分离成功; 对照不发病; 表明分离菌为苦丁茶枯梢病病原菌。

2.3 病原菌的培养性状及形态鉴定

PDA: 生长速率 4 d 为 $2.0 \sim 2.5$ cm、10 d 为 $6.0 \sim 6.3$ cm; 菌落平铺, 淡橙色至紫红色; 气生菌丝稀少, 白色至鲑肉色; 培养皿反面鲑肉色至紫红色。产孢细胞瓶梗状、单出,多单生于菌丝上, 少数生在有分枝的分生孢子梗上, 大小为 $10 \sim 25~\mu\text{m} \times 3.0 \sim 3.5~\mu\text{m}$ 。 大分生孢子较直, 少数稍弯曲, 顶端具短喙, 基部有典型的足细胞, 多具 $3 \sim 5~\text{个横隔膜}$, $2~\text{隔或 6 隔者甚少, 大小: 2隔膜的 16 <math>\sim 30~\mu\text{m} \times 3.0 \sim 4.5~\mu\text{m}$, $3~\text{隔膜的 19} \sim 41~\mu\text{m} \times 3.1 \sim 4.8~\mu\text{m}$, 4~隔膜 0 31.0 $\sim 46.5~\mu\text{m} \times 3.2~\sim 5.0~\mu\text{m}$, 5~隔膜 0 38.0 $\sim 48.6~\mu\text{m} \times 3.2~\sim 5.0~\mu\text{m}$, 6~隔膜 0 42.5 $\sim 52.0~\mu\text{m} \times 3.6 \sim 4.8~\mu\text{m}$ 。 无小孢子和厚垣孢子, 也未见菌核产生。

石竹叶培养基: 菌落平铺, 紫红色; 气生菌丝较多, 絮状, 鲑肉色; 培养皿反面赭色或近紫红色。产孢细胞与分生孢子形态同于PDA上的。分生孢子大小为: 2隔膜的 $20.0 \sim 26.0 \mu m$ ×3.6 ~4.5 μm , 3 隔膜的 $21.0 \sim 37.5 \mu m$ × 3.0 ~4.3 μm , 4 隔膜的 $29.0 \sim 44.3 \mu m$ × 3.2 ~ 5.0 μm 、5 隔膜的 $33.5 \sim 45.5 \mu m$ × 3.3 ~ 5.2 μm , 6 隔膜的 $40.0 \sim 52.5 \mu m$ × 3.7 ~ 5.0 μm 。 无小孢子、厚垣孢子和菌核的形成 (图 1)。

米饭培养基: 气生菌丝较多; 菌落赭色至赭褐色, 有的菌株边缘紫红色。

上述培养性状、形态特征符合于 Booth(1971), 以及 Gerlach等(1982) 关于 Fusarium lateritium 的描述,故认为引起苦丁茶枯梢病的应为砖红镰刀菌(Fusarium lateritium)。

2.4 专化型

试验结果证明,该分离菌除侵染为害苦丁茶外,还能为害鸡冠花,引起圆形或不规则形的,且具不明显轮纹的叶斑和茎基腐烂,再分离成功;但不能侵染玉米、桑、黄皮、柑桔、湿地

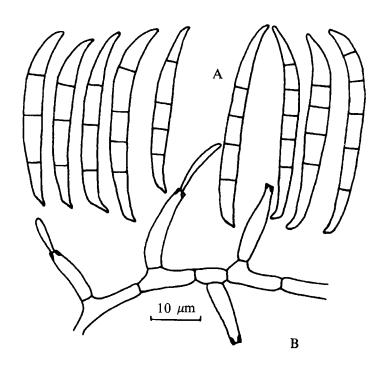


图 1 苦丁茶枯梢病菌 (Fusarium lateritium Nees emend Snyd. et Hans. f. sp. ilicicolla Z. D. Jiang et P. K. Chi f. sp. nov.)

A. 分生孢子; B. 产孢细胞

松和细叶黄杨。

将苦丁茶枯梢病菌与鸡冠花叶疫病菌 - 砖红镰刀菌鸡冠花专业型同时接种苦丁茶,结果(表1)表明后者对苦丁茶致病力弱、致病性很不稳定、仅能在刺伤的情况下侵染苦丁茶秋冬季嫩梢。

表 1 两个不同菌株接种苦丁茶结果比较(1)

处		1994-12		1995 – 03		1995-04	
	理	接种梢数	发病 梢数	接种梢数		接种梢数	发病 梢数
苦丁茶枯梢病菌 W		8	6	8	6	7	5
苦丁茶枯梢病菌 NW		8	5	8	4	7	4
鸡冠花叶疫病菌 W		8	2	8	0	7	0
鸡冠花叶疫病菌 NW		8	0	8	0	7	0
清水对照	M W	8	0	8	0	7	0

(1) W: 刺伤接种; NW: 无伤口接种

因此苦丁茶枯梢病菌与相近的砖红镰刀菌鸡冠花专化型的第一寄主与第二寄主是完全不同的,故拟建立一个独立的专化型 — 砖红镰刀菌冬青专化型 (Fusarium lateritium Nees emend Snyd. et Hans. f. sp. ilicicolla Z. D. Jiang et P. K. Chi f. sp. nov.)。

3 结论与讨论

广东省大埔县近年发生流行的苦丁茶枯梢病是镰刀菌侵染引起的病害,病原菌为砖红 镰刀菌的一个独立的专化型一 砖红镰刀菌冬青专化型 (Fusarium lateritium Nees. emend Snyd. & Hans.f.sp. ilicicolla Z. D. Jiang et P. K. Chi f.sp.nov.)。目前关于砖红镰刀菌种下分 类尚存在不同观点, Booth (1971) 承认了 1 个变种、3 个专化型, 即: 砖红镰刀菌黄杨变种 (Fusarium lateritium var .buxi),为害黄杨;砖红镰刀菌谷类专化型(Fusarium lateritium f. sp. cerealis), 为害玉米和小麦,同时也可侵染桑属 (Morus)、洋槐属 (Robinia)和合欢属 (Albizia)植物;砖红镰刀菌桑属专化型(Fusarium lateritium f.sp.mori),为害桑;砖红镰刀 菌松属专化型(Fusarium lateritium f.sp.pini),为害松属(Pinus)植物。Matuo(1975)1975年 建立了砖红镰刀菌鸡冠花专化型(Fusarium lateritium f. sp. celosiae),该专化型为害鸡冠 花,不为害玉米、小麦和桑;用桑属专化型和禾谷类专化型接种鸡冠花也不能使鸡冠花感 病。刘任等(1994)报道了广州地区鸡冠花叶疫病菌,接种玉米、桑、湿地松、鸡冠花、月季、山 茶花、菊花、绣球花、大丽花、香石竹共 10 种植物, 仅能感染鸡冠花, 表现出强的寄主专化 性,再一次证明了 Matuo 命名的正确性。而 Gerlach 等 (1982) 认为砖红镰刀菌不同菌株的寄 主专化性不象尖孢镰刀菌(Fusarium oxysporium)那么强,不足以作为专化型处理,他们将砖 红镰刀菌分为 3 个变种,即:为害玉米、小麦和桑的砖红变种(Fusarium lateritium var. lateritium);为害咖啡和柑桔的长孢变种(Fusarium lateritium var. longum);为害黄杨的黄杨 变种(Fusarium lateritium var buxi).其中对黄杨变种仍持有疑点,认为没有令人信服的 特征将其与砖红变种分开;他们还将松属专化型作为Fusarium sacchari var. subglutinans 处理。鉴于砖红镰刀菌不同分离菌对不同寄主存在的较大的致病性差异、又有 些分离菌在形态上亦存在着差异,我们赞同 Booth 的观点,种下既可有变种,也可有专化 型.我们的试验结果,苦丁茶枯梢病菌寄生性强,有时人工接种可侵染鸡冠花,但砖红镰刀 菌鸡冠花专化型在刺伤情况下才能侵染秋冬季苦丁茶新梢,不能侵染春季新梢,而田间发病 则是春季新梢;证明两种病菌对苦丁茶的寄生能力存在着很大的差异,鸡冠花专化型只能侵 染苦丁茶秋冬季新梢可能与秋冬季植株的生长势减弱、抗病力降低有关;故宜设立苦丁茶枯 梢病菌为一独立的专化型 — 冬青专化型。

苦丁茶枯梢病是近年来发生流行于大埔县的新病害,病原菌的专化性强,建议发展新区时,应作好苗木的消毒处理,控制该病的扩散蔓延。

致谢 试验过程中,得到了本校农学系谢振伦教授的大力帮助,谨致谢忱。

参考文献

刘 任,戚佩坤,梁关生.1994.鸡冠花镰刀菌叶疫病菌专化型的研究.仲恺农业技术学院学报,7(1): 23~27 袁学培.1993.英德县苦丁茶资源状及其开发利用策略.广东茶叶,总41期:16~20

Booth C. 1971. The Genus Fusarium. Kew: CMI, 106~121

Gerlach W, Nirenherg H. 1982. The Genus Fusarium—a Pictorial Atlas. Berlin—Dahlem: Biolgischen Bundesanstalt für Land—und Forstwirtschaft, 271~284

Matuo T. 1975. Fusarium lateritium Nees emend Snyd. et Hans. f. sp. celosiae (Abe) Matuo comb. nov. causing damping—off and leaf blight of cockscomb. Trans Mycol Soc Japan, 16 (4): 351 ~ 356

SYUDIES ON THE PATHOGEN CAUSING DIEBACK OF Ilex kudingcha

Jiang Zide Qi Peikun* Weng Qunfang
(Dept. of Plant Protection, South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

The dieback of *Ilex kudingcha* C. J. Tseng was a new disease occurred in Dapu county, Guangdong province. The pathogen was identified as a new forma specialis — *Fusarium lateritium* Nees. emend Snyd. & Hans f. sp. *ilicicolla* Z. D. Jiang et P. K. Chi f. sp. nov. according to the cultural and morphological characteristics and host specificity. This forma specialis caused *Ilex kudingcha* dieback seriously, and could infest cockscomb by stabbing inoculation.

Key words Ilex kudingcha; dieback; Fusarium lateritium; Fusarium lateritium f. sp. ilicicolla; Fusarium lateritium f. sp. celosiae

^{*} Chi Peikun