

兰花圆斑病的研究

吴 烨¹ 刘仲健² 罗焕亮¹ 陈伟元² 李 森² 张景宁¹

(¹ 华南农业大学林学院, 广州 510642; ² 深圳梧桐山苗圃总场)

摘要 1995 年, 在深圳梧桐山兰圃发现一种新的兰花圆斑病, 该病害在深圳对兰花造成很大危害。2 月中旬开始发病, 4~5 月为发病盛期, 高温、阴雨、高湿的天气条件有利于该病的发生。通过对兰叶病组织的分离、培养、纯化、接种及交互感染试验, 根据病原菌的形态特征和致病性测定结果, 鉴定其病原为壳多孢菌 *Stagonospora curtisii* (Berk.) Sacc.。对该病菌的生物学特性及 12 种药剂对其孢子萌发的抑制效应也做了测定。

关键词 兰花; 圆斑病; 壳多孢菌

中图分类号 S 463.8

兰花 *Cymbidium* spp., 是我国十大名花之一, 具有很高的观赏价值及经济价值, 同时它还有一定的药用价值。1993 年, 在深圳梧桐山的兰圃中发现一种新病害, 该病害使兰花叶片出现规则或不规则的圆斑, 严重影响其观赏价值。该病害的寄主范围较广, 根据 1995 年在深圳梧桐山兰圃的全面调查, 结果表明有 20 多个兰花品种可感此病, 其中以墨兰 *Cymbidium sinense* (Andr.) Wild 及寒兰 *C. kanran* Makino 最为严重。作者于 1993~1995 年对该病进行了研究。

1 材料与方法

1.1 病害调查及病情消长规律观察

在兰花圆斑病发生期作病情调查, 并计算发病率和病情指数。病情分级标准: 0 级——无病; 1 级——个别病斑或病斑占叶片面积 1/3 以下; 2 级——病斑占叶面积 1/3~2/3; 3 级——病斑占叶面积 2/3 以上。采集病叶供分离用。并于 1994 年 10 月至 1995 年 11 月, 在深圳梧桐山苗圃场定点观察, 每 15 d 调查一次病叶的增长率, 气象资料由当地气象站提供。

1.2 病原菌的鉴定

1.2.1 病原菌的分离培养 在 PDA 培养基上用常规方法(方中达, 1979)分离病组织, 25℃ 下培养, 观察其培养性状。

1.2.2 病原菌的致病性测定 用经纯化培养菌株配成孢子悬液, 接种健康墨兰。接种分刺伤和无伤两种方式进行, 清水对照。接种后置室温 25~27℃。将接种后发病的兰花病叶, 进行病原再分离, PDA 培养, 25℃ 恒温, 记录其形态大小, 肯定其致病性。

1.2.3 交互感染试验 将从兰花病叶分离的菌株接种水仙。对接种发病的水仙病叶进行病原再分离, PDA 培养, 25℃ 恒温, 记录菌株的形态诸特征。将再分离菌株回接健康墨兰及水仙, 观察其感病情况。接种方法同上。

1.3 病原菌的生物学特性测定

1.3.1 温度对病菌生长的影响 接种菌落圆片于 PDA 培养基上, 温度范围 15~40℃, 于不

同温度下培养 5 d, 分别测量菌落生长情况, 3 次重复。

1.3.2 pH 对病菌生长的影响 分别调节 PDA pH 值至 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 和 12, 接种菌落圆片, 置 25℃下培养, 观察菌丝生长情况, 3 次重复。

1.3.3 温度对孢子萌发的影响 将分离培养长出的分生孢子配成孢子悬液, 用 1% 葡萄糖作浮载剂, 用载玻片萌发法(方中达, 1979), 置于 10~40℃温度下, 12 h 检查孢子萌发率并观察其萌发性状。

1.3.4 药剂抑制孢子萌发试验 采用孢子萌发法(方中达, 1979)进行药剂对孢子的抑制萌发试验。

2 结果

2.1 为害

该病害主要为害墨兰 *Cymbidium sinense* (Andr.) Wild 及寒兰 *C. kanran* Makino, 叶发病率分别为 75% 及 64%, 病情指数分别达 64.8 及 43, 此外, 春兰类品种也有一定程度的感病。

2.2 病害症状

该病为害叶部, 在叶上表现两种典型的症状: 其一, 病斑圆形, 当在叶缘发生时呈半圆形, 较小, 直径 1~3 mm, 病斑黑色, 病斑与健康组织的交界处不变色, 在叶两面均凹陷, 从叶尖、叶缘、中间及叶基部均可发生, 病斑在整片叶上多呈均匀分布, 在叶的正反两面均难见其子实体, 当病害严重时, 整片叶子遍布黑色病斑而枯死; 其二, 该症状当地称“铁炮”, 呈典型的卫星型症状, 病斑在叶片上出现, 有明显的发病中心, 由中心病斑向周围辐射扩展, 产生许多小病斑。中心病斑椭圆形、半圆形(从叶缘发生时)或不规则, 黑褐色, 直径较大, 10~25 mm, 边缘红褐色, 在叶两面均凹陷, 周围病斑较少, 随与中心病斑的距离增加而缩小, 圆形, 黑褐色, 其所到之处, 周围叶组织均呈黄化, 中心病斑从叶顶部或基部, 叶缘或内部均可发生, 其辐射扩展能力强, 有时在叶基部出现的中心病斑其周围小病斑可沿叶缘一直扩展至叶顶部, 在叶的两面亦均难见其子实体。

2.3 病情消长规律

调查结果表明: 该病在深圳多于 2 月中旬开始发病, 4~5 月为发病盛期, 高温、阴雨、高湿的天气条件有利于该病的发生, 最适宜气温为 20~26℃, 至 6 月份以后, 温度上升至 30℃以上, 病害停止发展。病菌在病叶越冬。

2.4 病原菌的鉴定

经多次分离, 在 PDA 培养基上, 菌落圆形, 边缘整齐, 不同的生长时期呈两种形态, 初期菌落背面红褐色, 正面赭红色, 菌落平铺如平绒状; 培养约 4 d 后, 菌落背面墨绿色, 正面菌丝蓬松, 中间隆起, 灰褐色。培养 4~5 d 后, 菌落上产生乳红色的分生孢子粘液。载孢体为分生孢子器, 扁球形, 埋生于基物内, 顶部开口, 直径 120~180 μm, 分生孢子梗短, 圆柱形、棒状或有时似瓶梗状, 自分生孢子器底层细胞上长出, 分生孢子长椭圆形或圆柱形, 无色, 15~35 μm×5~7 μm, 隔膜 1~3 个, 初时隔膜不明显, 萌发时隔膜明显, 分隔处稍有缢缩或无缢缩, 含有大油球, 见图 1。根据该病原菌的形态特征, 符合魏景超(1979)《真菌鉴定手册》中对水仙大褐斑病病菌 *Stagonospora curtisii* (Berk.) Sacc. 的描述, 故将兰花圆斑病的病原菌初步鉴定为 *Stagonospora curtisii* (Berk.) Sacc.

2.5 病菌的致病性

将分离培养的病原菌回接健康墨兰, 结果刺伤接种在 5 d 后显症, 发病率达 85%, 无伤接种显症较慢, 8 d 才开始显症, 发病率 50%, 而清水对照不发病。再从接种发病的组织中分离病原菌, 经 PDA 培养及显微观察, 均如前述病菌诸形态特征。但该菌能否感染水仙? 交互感染试验结果表明, 该病菌对水仙具有很强的致病性, 刺伤接种发病率达 95% 以上, 且发病迅速, 2 d 后即开始显症, 初为褐色斑点, 后发展为椭圆形或不整形病斑, 如典型的水仙大褐斑病症状。从接种发病水仙分离的病原菌经培养, 分别回接健康水仙及墨兰, 结果均显其前述特有的症状, 即水仙的大褐斑及墨兰的圆斑。为此, 对该病原菌的鉴定做了更进一步的确认。

2.6 病菌的生物学特性

- 2.6.1 分生孢子萌发习性 分生孢子萌发时, 从两端或中间均可长出芽管, 萌发时, 缢缩和隔膜明显。分生孢子在清水中可萌发, 但 1% 的葡萄糖溶液可促进其萌发, 温度在 15 ~ 30℃ 之间均可萌发, 但适宜温度为 20 ~ 28℃, 最适为 25℃, 在 1% 的葡萄糖溶液中, 25℃ 下仅 12 h, 其萌发率可达 90% 以上。
- 2.6.2 温度对病菌生长的影响 菌丝生长的温度范围为 10 ~ 40℃, 适宜温度为 25 ~ 35℃, 最适为 28℃, 培养 5 d 菌落直径达 6.5 cm, 超过 40℃ 或低于 10℃, 菌丝几乎不能生长。
- 2.6.3 pH 值对菌丝生长的影响 其菌丝生长的 pH 范围为 4 ~ 11, 适宜 pH 范围为 6 ~ 9, 最适为 8。
- 2.6.4 药剂的抑菌试验 用孢子萌发法测定了 12 种药剂对病原孢子萌发的抑制效应, 结果如表 1。

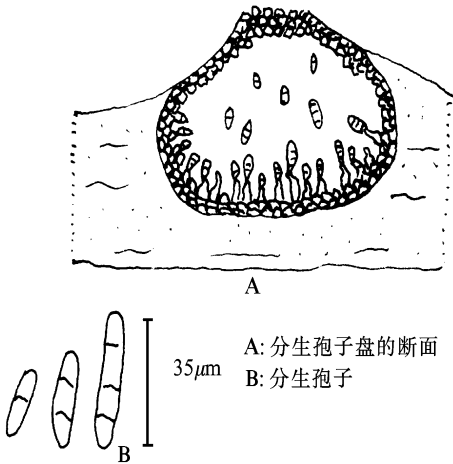


图 1 病原菌形态图

表 1 抑菌试验结果

药剂名称	浓度/倍	检查孢子数/个	抑制孢子萌发率/(%)
50%多菌灵	1 000	300	100
64%杀毒矾	1 000	300	100
40%百菌清	1 000	300	90
58%瑞毒霉锰锌	1 000	300	90
25%百科	1 000	300	0
25%速克灵	1 000	300	15
30%绿叶丹	1 000	300	80
50%苯腈米唑	1 000	300	100
复方凡尔铜 A	1 000	300	0
复方凡尔铜 B	1 000	300	100
80%疫霜灵	1 000	300	100

3 讨论

在兰花病害中, 已有圆斑病的命名且有过系统的报道(姜凤丽, 1992), 据其症状描述: 病斑边缘黑褐色, 中间浅褐色, 病斑正反两面均着生黑褐色的小突起, 严重时常致兰叶枯死, 故又名兰花叶枯病(掘正倪等, 1986)。这与本文研究的病害症状有明显的区别, 而本文研究的病害症状又呈典型的圆斑, 而且病原也是完全不同的, 故仍以圆斑病命名。

根据病菌的形态特征及其致病性, 鉴定为壳多孢菌 *Stagonospora curtisii* (Berk.) Sacc.。该病菌在兰科植物上尚少发现, 故认为该病亦属兰花的一种新病害, 因而在对该病害的防治上, 应加强检疫, 选购无病植株, 对已罹病的植株可采取剪除病叶销毁, 必要时用多菌灵, 杀毒矾, 瑞毒霉锰锌, 苯骈咪唑, 复方凡尔铜 B, 疫霜灵 500~1 000 倍液喷洒。同时, 由于该病菌可与水仙交互感染, 故对易罹此病的兰花应与水仙分开种植以减少病菌的侵染来源。

该病在症状上表现两种不同的形态, 但其分离的病原菌在形态上却非常接近, 故可推测, 该病菌可能存在不同的生理小种, 对该病菌的分类尚须作进一步的研究。

参 考 文 献

- 方中达. 1979. 植病研究方法. 北京: 农业出版社, 83~143
魏景超. 1979. 真菌鉴定手册. 上海: 上海科技出版社, 443
姜凤丽. 1992. 兰花圆斑病的研究初报. 浙江林学院学报, 8(3): 371~377
掘正倪, 岩田吉人. 1986. 日本病虫杂志, 23(11): 867~871

STUDY ON THE ORCHID DISEASE *Stagonospora curtisii*

Wu Ye¹ Liu Zhongjian² Luo Huanliang¹
Chen Weiyuan² Li Sen² Zhang Jinning¹

(1 Forestry College, South China Agr. Univ. Guangzhou, 510642; 2 Wutong Shan Nurseries Shenzhen)

Abstract

A new fungal disease in orchid plants was discovered recently at Wutong Shan Orchid Nurseries Shenzhen, Guangdong province. The fungus produced new spots on orchid leaves in the middle of February, and the disease epidemic peak occurred from April to June when the cloudy and damp weather continuously existed. The disease was more serious if orchid plants were cultivated under windless and hot condition. After following Koch's postulation and comparative inoculation test, the pathogen was identified as *Stagonospora curtisii* Sacc.. A detailed description of the pathogen and symptoms were given in this paper. In addition, the biological characters of the pathogen, and the inhibiting effect of 12 bactericides on germination were tested respectively. The pathogen was reported in orchid plants for the first time.

Key words Orchid; round spot disease; *Stagonospora curtisii*