广东省猕猴桃根腐病病因研究*

黄亚军 戚佩坤

(华南农业大学资源环境学院,广州,510642)

摘要 从广东省和平县猕猴桃根腐病病根分离到2个菌株,根据培养性状及形态特征,分别鉴定为 Phytophthora cinnamomi Rands(交配型为A1)和 Fusarium solani(Mart.) Sacc. 室内人工接种表明: P. cinnamomi 有较强的致病力, F. solani 是第2次侵入者,单独不能为害,但在 P. cinnamomi 为害的基础上,可加重猕猴桃根腐病的发生.

关键词 猕猴桃; 樟疫霉; 腐皮镰孢; 交配型中图分类号 \$436.634.12

猕猴桃(Actinidia chinensis Planch.)是藤本浆果类果树.70年代后期以来,猕猴桃作为国内一种新兴果树,日益受到重视.广东省最大的猕猴桃生产基地在和平县.猕猴桃根腐病在国内外都是困扰生产的最大问题.在和平县新栽果园内,发病株率达2%~3%,严重时可达15%,且有逐年加重的趋势.对猕猴桃根腐病国内外都有不少研究,鉴于其根腐病是一个统称,许多病原菌都可引起根腐.90年代后,世界猕猴桃根腐病的报道,病原逐渐集中到疫毒上来,通过致病性试验,也多数鉴定为疫毒.如:智利报道的Phytophthora cryptogea、P. citrophthora (Latorre, 1991),意大利南部报道的P. nicotianae var. nicotianae (Ciccarese, 1992),法国西南部报道的P. megasperma var. sojae (Baudry et al, 1991),美国的加利福尼亚州报道的多达9个种,P. cactorum、P. citrophthora、P. cryptogea、P. drechsleri、P. megasperma,还有4个未鉴定种(Conn, 1991),新西兰报道了5个种,并指出P. cryptogea、P. cinnamomi 的致病性最强,P. citricola、P. gonapodyides、P. stellata 的致病性中等或较弱(Stewart, 1991).

但我国对猕猴桃根腐病的研究较少,涉及疫霉,河南报道是 Phytophthora cactorum、P. cinnamomi (王永安,1990),湖南报道为 Phytophthora cactorum、P. cinnamomi、P. citricola、P. lateralis (方炎祖,1992),但他们均无致病性试验报告,而是症状及病原菌的简单描述. 四川的赵宝权在硕士论文"四川猕猴桃病害调查研究"中将猕猴桃根腐病鉴定为 Phytophthora cactorum 和 Fusarium sp.,有鉴定描述,并有绘图,但亦无人工接种试验的介绍. 笔者拟通过严格的致病性实验,确定发生在广东省和平县猕猴桃根腐病的真正病原.

1 材料与方法

1.1 菌株分离

1995 年 9 月, 从广东省和平县富城猕猴桃果场采集猕猴桃病株, 常规分离病组织. 用选择性培养基: V_8 汁培养基 + 50 mg/L 青霉素 + 50 mg/L 多菌灵 + 50 mg/L 五氯硝基苯 + 100 mg/L利福平; 分离镰刀菌用马铃薯葡萄糖培养基(PDA).

1997-12-11 收稿 黄亚军, 男, 27 岁, 助理农艺师, 硕士, 现在中国动植物检疫局工作

^{*} 广东省自然科学基金(940358)资助项目 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www

1.2 致病性测定

供试猕猴桃健苗由广东省和平县农业局提供,移栽在华南农业大学温室,盆栽,盆及土壤经消毒

不伤根接种,直接将培养 10 d 的分离菌埋在猕猴桃苗根颈部,再用脱脂棉蘸无菌水保湿,处理 P(接种疫霉);处理 F(接种镰刀菌);处理 P+F(同时接种疫霉和镰刀菌); CK(接无菌培养基). 处理 P8 株、处理 F9 株、处理 P+F8 株、对照 7 株.

伤根接种,用刀片在猕猴桃根部切一向上的刀口后,将平板上培养10 d 的分离菌切割成1 cm×1 cm 一块贴在切口上.处理同无伤接种,处理 P16 株、F17 株、P+F17 株、对照 14 株.

1.3 菌株鉴定

(1) 疫霉孢子囊及有性器官的诱导.疫霉分离菌经单孢子囊分离后,先在 V₈ 汁洋菜上培养 3~4 d,再在 Petri 液加少量土壤浸出液中,诱导其产生孢子囊.

由于分离菌不产生有性器官,进行交配型试验:在培养基上与下列菌种的交配型直接配对,诱导其产生有性器官,菌种有 Phytophthora nicotianae var. parasitica A1、A2;及 P. palmivora A1、A2(来源于北京农业大学植保系沈崇尧教授); P. cinnamomi A1、A2(由南京农业大学植保系郑小波教授提供).

(2)镰刀菌的培养.镰孢分离菌经单孢分离后,移入PDA、石竹叶培养基(CLA)、OMA、CMA和米饭培养基上,培养温度25℃,于第4、7、14d观察测量.

2 研究结果

2.1 田间症状及其分离

被害猕猴桃后期和成株期均可发生根腐,病害一般从根尖开始,皮层变黑腐烂,逐渐向内扩展.根颈部严重时出现环状根腐;主根、侧根被害严重时皮层完全腐烂,露出黑褐色的木质部.一般植苗后第二三年病株地上部分生长衰弱,植株矮小,叶片变小变黄,落叶,枝蔓顶部开始枯死,严重者整株死亡.得到*Phytophthora* sp.和 *Fusarium* sp. 两种分离菌.

2.2 致病性测定

不伤根接种后 1 个月,各处理植株均无枯死、死亡,猕猴桃地上部分不同处理发病症状均不明显,把植株从土内拔出清洗根部发现:处理 P+F、处理 P 的根部均已局部变为黑褐色,并有局部腐烂,而处理 F 和 CK 根系均健康,无变色腐烂.

伤根接种 2 个月,不同处理的地上部分表现出较明显的差别,处理 P+F、处理 P 植株长势衰弱,老叶发黄,有的脱落,新叶较小,部分植株枝蔓干枯,甚至整株枯死,处理 P+F 4 株枯死,处理 P 3 株枯死;处理 F 与 CK 植株长势良好,叶色深绿肥大,没有枝蔓干枯和整株枯死现象.拔出根部清洗后发现:处理 P+F、处理 P 的主根和侧根均腐烂发黑,皮层脱落,根系不完整,白色小须根比例小,比处理 P 更严重些,处理 F 和 CK,只有比例极小的根局部有轻微变色,大多植株根系健康,完整,抽发出大量小白须根.

从处理 P+F、处理 P 中均再分离到接种的疫霉菌,只有从处理 P+F 中再分离到接种的镰刀菌.

综合分析,处理P+F发病最重,处理P稍次之,处理F、CK没有发病,故疫霉菌是猕猴桃根腐病的病原菌,处理P+F比处理P发病严重些,并再分离到镰刀菌,故接种的镰刀菌也是

其病原菌,因为处理 F 没有发病,再分离得不到接种的镰刀菌,可知镰刀菌不能单独为害,只是在疫霉菌的基础上,第2次侵入加重为害.

2.3 病原菌鉴定

(1) 疫霉鉴定. 根据疫霉孢子囊、有性器官等形态特征,参考 Waterhouse (1970)、Erwin 等(1983)、Stamps 等(1990)、陆家云等(1989)的文献, 分离菌鉴定为 *Phytophthora cinnamomi* Bands.

在 V8 汁培养基上菌落生长呈均匀型, 略带花瓣状, 常有轮纹, 菌丝珊瑚状, 并具有圆形或不规则的膨大菌丝团, 厚垣孢子较多, d 为 31~55 μ m (45 μ m), 单生或串珠状丛生; 在半固体培养基上不产生孢子囊, 在 Petri 液十土壤浸出液中产生大量的孢子囊, 孢子囊大多顶生, 合轴式产生, 没有发现有内部层出, 孢子囊卵圆形或椭圆形, 偶见圆形, 长 32~70 μ m (55 μ m), 宽 27~50 μ m (40 μ m), 长/宽比值为 1.2~1.5 (1.4), 无乳突或乳突不明显. 单独培养不产生有性器官, 与其交配型交配, 10 d 后可大量形成. 藏卵器黄褐色, 球形, 表面光滑, d 为 32~39 μ m (35 μ m), 基部渐尖, 呈锥状或棍棒状. 卵孢子几乎充满整个藏卵器, d 为 25~32 μ m (28 μ m), 壁厚 2.5 μ m. 雄器无色, 围生, 圆柱形、桶形, 单胞或双胞, 18~30 μ m× 13~19 μ m (24 μ m× 16 μ m).

本菌株与 *P. cinnamomi* A2和 *P. nicotianæ* var. *parasitica* A2 均可交配产生有性器官,故本菌株是 A1 交配型.

(2) 镰刀菌的鉴定.根据镰刀菌在不同培养基上的形态特征、生长速度及色素形成,参考Booth(1971)、Gerlach等(1982)的文献,分离菌鉴定为 Fusarium solani (Mart.)Sacc.

在 PDA 上菌落浅白色或稍带乳黄色,培养皿反面为乳黄色,气生菌丝少,呈卷毛状或絮状.产生小分生孢子的梗细长,不分枝或 2~3 分枝,无色,产孢细胞钻状,小分生孢子单胞多数,无色,卵形、椭圆形、矩圆形、香蕉形等,5~14 μ m×1.7~4.0 μ m(8.3 μ m×2.7 μ m),双胞少数;大孢子镰刀形,较直,大多数中间部分为圆柱形,上部稍宽,顶细胞瘦长形,呈勾状,顶细胞尖或稍钝,足细胞多数带有小柄,一般 3~5 隔、4 隔、5 隔占多数,4 隔膜的 27~50 μ m×3~5 μ m(39 μ m×4.3 μ m),5 隔膜的 30~52 μ m×3.8~5.0 μ m(43 μ m×4.7 μ m);厚垣孢子极少,单生,顶生或间生,圆球形,褐色. 在米饭培养基上,菌落为褐色至紫红色.

3 讨论

- (1) 对 *P. cinnamomi* 孢子囊产生方式, Rands 最初描述为: 孢囊梗没有分化,或简单,或合轴式分枝. 孢子囊顶生于孢囊梗上,合轴式产生,通常也可由空的孢子囊内部层出(Waterhouse, 1970). Stamps等(1990)认为 *P. cinnamomi* 孢囊梗内部层出,在水中合轴式分枝,由此可见,孢子囊产生方式不是一个十分稳定的性状,易受环境条件影响. 本试验中只发现合轴式产生孢子囊,未发现层出现象. *P. cinnamomi* 属异宗配合,其A2 交配型世界广泛分布,A1 交配型分布有限,但在我国东南沿海占有优势(周新根等,1993),本试验鉴定为 *P. cinnamomi* A1 交配型也说明了这一点.
- (2) 本试验鉴定的 Fusarium solani (Mart.) Sacc. 与 Booth (1971) 描述的典型 F. solani 不同, 如厚垣孢子少, 在 PDA 上颜色白色至乳黄色, 按照 Gerlach 等 (1982) 的鉴定系统, 本菌种应为 F. javanicum Koord, 厚垣孢子少, 菌落乳黄色, 正是 F. javanicum 区别 F. solani 的特征

- (3)在致病性测定中,处理 F 和 CK 中有极少数植株根部有局部轻微变色,原因可能是: (a)花盆土虽然经过土壤消毒,但并非永久消毒,经过几个月后,可能又滋生一些有害生物,如真菌、细菌、线虫、昆虫等,这些生物及其分泌物可能会使植株轻微受害,而致变色症状。(b)温室空气中混有一些有害生物,落入花盆在土壤中繁殖而导致局部变色.我们对变色的根部也进行了多次分离,均未得到接种的疫霉和镰刀菌.
- (4)通过致病性试验来确定猕猴桃根腐病病原,国内尚少见报道.本次试验使广东省和平县猕猴桃根腐病病原得以确定. P. cinnamomi 是严重危害植物的土传病原菌,国外报道,对猕猴桃的致病力极强(Stewart et al, 1991). F. solani 除种内的专化型外通常是腐生性较强的真菌,属于次生寄生菌. 广东省和平县具有明显的干湿季,有利于两种病原交替为害,相互促进,加重猕猴桃根腐病的发生.

参考文献

王永安. 1990. 猕猴桃的病害与防治. 山西果树, (4): 28~29

方炎祖,魏 凯. 1992. 猕猴桃病虫害及其防治. 北京: 科学普及出版社, 1~172

陆家云,郑小波. 1988. 中国樟疫霉 A1 交配型的研究. 植物病理学报, 18(3): 129~132

周新根,朱宗根,1993. 樟疫霉引起山茶花根腐病,上海农业学报,9(3):71~75

Booth C. 1971. The Genus Fusarium. Kew; CMI, 19~31, 44~58, 130~154

- Baudry A, Morzieres J P, Ellis R. 1991. Effect of *Phytophthora* spp. on Kiwifruit in France. New Zealand of Crop and Hor, 19(4): 394 ~ 398
- Ciccarese F, Frisullo S, Amenduni M. 1992. Observations of foot rot of *Actinidia* in Southern Italy. Informatore Filopatologico, 42(2): 57~58
- Conn K E, Gubler W D, Mircetich S M, et al. 1991. Pathogenicity and relative virulence of nine *Phytophthora* spp. from kiwifruit. Phytopathology, 81: 974 ~ 979
- Erw in D. G. Bartinicki-Garcia S. 1983. *Phytophthora*, Its biology, taxonomy, ecology, pathology. Minnesota: The American Phytopathological Society, 1 ~ 391
- Gerlach W, Nirenberg H. 1982. The genus *Fusarium* a pictorial atlas. Berlim Dahlem: der Biologischen Bundesanstalt für land and Forstwirts chaft 1~426
- Latorre B A, Alvarez C, Ribeiro O K. 1991. *Phytophthora* root rot of kiwifruit in Chile. Plant dis, 75: 949 ~ 952
- Stamps D J, Waterhouse G W, Newhook F J, et al. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophtho-ra*. Mycol Pap, 162: 1~28
- Stewart A, Miccanison A M. 1991. Pathogenicity and relative virulence of seven *Phytophthora* species on ki-wifnuit. New Zealand of Crop and Hort Sci, 19(1): 73 ~ 76
- Waterhouse G M. 1970. The Genus Phytophthora de Bary. 2nd ed. Mycol Pap, 122: 1~59

STUDY ON THE POPULATIONS OF RHIZOSPHERE NEMATODES OF BANANA IN YUNNAN

Li Xundong ¹ Zhai Liuxiang ¹ Li Qin ²

(1 Yunnan Academy of Agric. Sci., Kunming, 650205; 2 The Reaserch Institute of Tropical Crops of Honghe Prefecture)

Abstract

Six important genera of plant parasitic nematodes were found in three banana plantation Yunnan Province. They are $Meloidogyne\ incognita$, Helicotylenchus, Tylenchorhynchus, Hoplolaimus, $Trichodorus\ and\ Hemicriconemoides$. The genera Meloidogyne, Hoplolaimus and Tylenchorhynchus were found widely distributed in three plantations. M. incognita was a predominant species and present in the highest population density, occupying 63.88% of the total population in annual banana plantation, 75.16% in biennial banana plantation, and 52.15% in perennial banana plantation. Further studies indicated that M. incognita had distinctly seasonal fluctuation. It suggested that the population fluctuation was closely correlated with the average month temperature and rainfall.

Key words Yunnan Province; banana; M. incognita; population

[责任编辑 张 砺]

(上接第22页)

STUDIES ON THE CAUSE OF ROOT ROT OF KIWIFRUIT IN GUANGDONG PROVINCE

Huang Yajun Qi Peikun (College of Natural Resources & Environment, South China Agric, Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

Two pathogens were isolated from root rot of kiwifruit in Heping county, Guangdong Province. According to their cultural characters and morphology, they were identified as $Phytophthora\ cin-namomi$ Rands (mating type A1) and $Fusarium\ solani$ (Mart.) Sacc. By artificial inoculation in greenhouse, it was showed that $P.\ cinnamomi$ possessed higher pathogenicity, and $F.\ solani$ was the second invader which could not attack the kiwifruit alone, but might accelerate the root rot together with $P.\ cinnamomi$.

Key words kiwifruit; root rot; Phytophthora cinnamomi; Fusarium solani; mating type

[责任编辑 张 砺]