

广州地区九种花卉疫病病原种的鉴定^{*}

陈永强 戚佩坤 姜子德

(华南农业大学资源环境学院, 广州, 510642)

摘要 从广州地区采集月季、杜鹃、卡特利亚兰、康乃馨、蒲包花、长春花、一品红、百合和绿巨人共9种花卉疫病标本。根据病原菌有性和无性形态特征,结合生长温度和菌体可溶性蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳,将它们分别鉴定为:*Phytophthora citricola* Sawada(为害月季)、*P. citrophthora* (R. E. Smith & E. H. Smith) Leonian(为害杜鹃)、*P. palmivora* (Butler) Butler(为害卡特利亚兰和康乃馨)和*P. nicotianae* Breda de Haan(为害蒲包花、长春花、一品红、百合和绿巨人)。

关键词 花卉疫病;病原种;鉴定;柑桔生疫霉(*P. citricola*);柑桔褐腐疫霉(*P. citrophthora*);棕榈疫霉(*P. palmivora*);烟草疫霉(*P. nicotianae*)

中图分类号 S 436.8

改革开放以来广东花卉业发展迅猛,广州地区已成为一个花卉生产的重要基地。由于引种花卉种类多、数量大;加之广东地处南亚热带,春夏季多雨潮湿,一些品种疫病严重发生;而且疫病是一类为害复杂的病害,在不同地区、不同环境下引起疫病的疫霉菌种可能不同、又可能复合侵染。而花卉上的疫病,国内除台湾安宝贞(1990)、何汉兴等(1995)做了较多研究外,大陆只有赖贝元(1994)、郑小波等(1995)、成家壮(1996)、陈利峰(1997)做了少量报道。因此,无论从理论上,还是从生产的病害防治上,进一步明确广州地区发生的花卉疫病及其病原种类都是非常必要的。现将近2 a来作者对月季、杜鹃、卡特利亚兰、康乃馨、蒲包花、长春花、一品红、百合和绿巨人9种花卉上的疫病的鉴定结果,报道如下。

1 材料与方法

从广州地区的广州市园林科学研究所、广东省农科院花卉研究所、广州花卉研究中心、广州白云玫瑰园等地采集、分离到的疫霉菌,即月季(*Rosa chinensis* Jacq.)上5个菌株(RC 1、2、4~6)、杜鹃(*Rhododendron* spp. L.)上10个菌株(RS 1~10)、卡特利亚兰(*Cattleya bowringiana* Hort.)上2个菌株(CB1~2)、康乃馨(*Dianthus caryophyllus* L.)上2个菌株(DC 2~3)、蒲包花(*Calceolaria crenatiflora* Cav.)上1个菌株(CC 1)、长春花[*Catharanthus roseus* (L.) G. Don]上5个菌株(CR 1~5)、一品红(*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch)上3个菌株(EP 1~3)、百合(*Lilium* spp. L.)上2个菌株(LS 1~2)和绿巨人(*Spathiphyllum pallas* Hort.)上2个菌株(SP 1~2),经单游动孢子囊分离获取单孢菌株,供鉴定用。各菌株孢子囊的诱导参照郑小波(1997)的方法;有性器官的诱导参照张开明等(1993)的方法。生长温度试验参照郑小波(1997)的方法。菌体可溶性蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳参照郑小波(1997)的方法,用V₈培养液培养菌丝。

1998-08-31 收稿 陈永强,男,30岁,硕士,现在广东省中山市中山学院生物系任教

^{*} 广州市“九五”重点(97-Z-56-02)资助项目

2 结果与分析

2.1 症状

(1) 月季. 首先侵染近土表的地下部茎, 形成水渍状病斑, 随着病斑不断扩大, 皮层呈褐色坏死, 木质部也变成褐色. 病灶可向上、下方向扩展, 向上可达绿色枝条, 病部暗褐色, 稍凹陷, 病健交界清晰, 边缘略呈水渍状; 向下可扩至嫁接口, 但不能致砧木和根腐烂. 整株表现为长势不良, 下层叶片褪绿变黄, 不断脱落, 上层幼叶变小、皱缩、淡绿色, 当病斑环绕茎 1 周后, 植株逐渐枯死.

(2) 杜鹃. 小苗茎基部皮层和根呈暗褐色坏死, 病部稍缢缩, 上部表现为叶片萎蔫, 但仍为绿色, 开始时早晚可恢复, 几天后完全萎蔫. 大苗症状与小苗相似, 首先侵染基部, 呈褐色坏死, 且向上、下扩展, 病健交界不清晰, 根系变褐色坏死, 须根少; 有时一部分枝条先发病, 叶片因枝条皮层坏死而萎蔫, 直至脱落, 而另一些枝条则暂时正常, 以后再陆续发病, 发病至整株枯死可持续 1~2 个月.

(3) 卡特利亚兰. 植物各部位均可受害, 但多以近基质的叶柄最先发病, 染病处呈暗褐色水渍状腐烂, 其它部位褪绿变黄或呈红褐色枯萎.

(4) 康乃馨. 移栽后 2 个月内的植株最易受侵染, 茎基部病灶呈褪绿水渍状, 后变褐腐烂, 根也可受害腐烂, 地上部折倒, 最终整株死亡.

(5) 蒲包花. 一般于近基质的叶柄先发病, 再向叶片扩展, 呈暗褐色软腐, 边缘水渍状, 病健交界模糊, 未见黄色晕圈.

(6) 长春花. 一般于茎基部和枝顶部受侵染, 在茎基部首先表现为小的近梭形或条形水渍状褐色病斑, 扩大后绕茎 1 周, 并向上扩展, 病部缢缩, 皮层呈灰褐色干腐, 木质部呈暗色, 叶片萎蔫. 在枝顶部表现为皮层呈暗褐或黑色腐烂, 病部缢缩, 稍向下折倒, 病健交界明显, 叶片腐烂从叶柄向主脉方向扩展, 为暗褐色水渍状斑, 病健交界模糊, 湿度降低时呈黑色干枯状.

(7) 一品红. 植株各个部位均可受侵染, 在根部及茎基部引起褐色腐烂, 皮层及木质部呈暗褐色, 表皮脱落, 地上部叶片因缺水呈萎蔫状. 在叶片上则为不规则形的大坏死斑, 暗褐色或黑色, 中央颜色稍浅, 病健交界模糊, 叶片不变形.

(8) 百合. 主要为害茎, 茎基部受侵染后呈暗褐色腐烂, 但不折倒, 着生其上的根因腐烂大多脱落, 皮层、髓部变褐坏死, 地上部表现为叶片变黄、萎蔫; 在茎上部病斑凹陷, 呈条状, 暗褐色或黑色, 可向上、下扩展, 病健交界清晰, 病部以上茎叶常向下折倒, 病部叶片自叶柄开始呈水渍状腐烂.

(9) 绿巨人. 于叶尖、叶缘呈大块水渍状褐色病斑; 天气转晴湿度降低后则变为暗褐至黑色干枯斑, 略皱缩, 近圆形或不规则形, 病健交界清晰, 有时可见黄色晕圈.

2.2 病原菌

根据各菌株的形态和生理特性, 参照 Stamps 等(1990), 将供试菌株鉴定为 4 个种: 柑桔生疫霉(*Phytophthora citricola* Sawada)、柑桔褐腐疫霉[*P. citrophthora* (R. E. Smith & E. H. Smith) Leonian]、棕榈疫霉[*P. palmivora* (Bulter) Bulter]和烟草疫霉(*P. nicotianae* Breda de Haan). 其形态特征描述如下.

(1) 柑桔生疫霉(*Phytophthora citricola* Sawada)——为害月季.

V_8 培养基上菌落疏密不均, 呈菊花瓣状, 气生菌丝较茂盛, 呈白色短绒毛状, 菌落边缘整齐、清晰, 在 V_8 培养基上未见产生孢子囊和厚垣孢子. 菌丝宽度为 $5.2 \sim 8.2 \mu\text{m}$. 经 Petri 液培

养,孢囊梗简单合轴状分枝,孢子囊形状变异较大,近圆形、椭圆形、梨形、柠檬形等,大小为 $30.9 \sim 108.0 \mu\text{m} \times 20.6 \sim 48.4 \mu\text{m}$,长宽比为 $1.1 \sim 2.0(1.6)$,乳突一般1个,偶见双乳突,明显为半乳突,高度为 $1.5 \sim 3.1 \mu\text{m}(2.4 \mu\text{m})$;孢子囊基部圆形,孢囊柄大多生于侧旁处,孢子囊形状大多不对称,孢子囊脱落性不好;同宗配合.单独培养产生大量有性器官,藏卵器圆球形, d 为 $20.6 \sim 37.1 \mu\text{m}$,透明无色、外壁光滑,卵孢子圆球形, d 为 $16.5 \sim 33.0 \mu\text{m}$,满器或近满器,灰褐色,雄器侧生于藏卵器柄附近,单细胞、透明,近圆形、拳头状.

生长温度:最低约 10°C ,最适 $28 \sim 30^\circ\text{C}$,最高 $< 35^\circ\text{C}$.

虽日本(Yuji Nagai, 1978)于1978年就报道了月季疫病,之后,美国(Farr et al, 1989)和荷兰(Amsing et al, 1995)相继报道了月季疫病,但其病原菌分别为大雄疫霉(*P. megasperma*)和另一未鉴定种的疫霉(没有对未鉴定种作形态描述).本研究所鉴定的 *P. citricola* 与 *P. megasperma* 明显不同,后者不具乳突,孢子囊内部层出.

(2) 柑桔褐腐疫霉 [*Phytophthora citrophthora* (R. E. Smith & E. H. Smith) Leonian]——为害杜鹃.

V_8 培养基上菌落质地均匀,略呈放射状,气生菌丝较少,呈薄棉絮状,边缘整齐、清晰;菌丝宽度为 $4.1 \sim 10.3 \mu\text{m}$,在 Petri 液中,孢囊梗简单合轴生,孢子囊大多卵形、柠檬形、近圆形,大小为 $27.8 \sim 67.0 \mu\text{m} \times 20.6 \sim 38.1 \mu\text{m}$,长宽比为 $1.2 \sim 2.2(1.5)$,乳突较明显,一般一个,偶见双乳突,乳突高度为 $2.1 \sim 5.2 \mu\text{m}(3.2 \mu\text{m})$,孢子囊基部大多圆形,少数具假囊柄,孢子囊脱落性不好.未见产生厚垣孢子.异宗配合.为交配型 A_1 ,与标准菌株对峙培养,除菌株 RS9-2 与 *P. parasitica* A_2 于 V_8 平板上配对培养,产生少量有性器官外,其余菌株与 *P. parasitica* A_1 、 A_2 对峙培养,均未见产生有性器官.藏卵器圆球形, d 为 $22.7 \sim 26.8 \mu\text{m}(25.1 \mu\text{m})$,棕褐色,器柄棍棒状,卵孢子圆球形, d 为 $18.5 \sim 25.8 \mu\text{m}(20.8 \mu\text{m})$,满器或近满器,棕褐色,其中常见油球,雄器围生,近圆球形,透明,单细胞.

生长温度:最低 $5 \sim 10^\circ\text{C}$,最适 $20 \sim 30^\circ\text{C}$,最高 $< 35^\circ\text{C}$.

(3) 棕榈疫霉 [*Phytophthora palmivora* (Bulter) Bulter]——为害卡特利亚兰和康乃馨.

V_8 培养基上,气生菌丝中间多、四周少,菌落边缘清晰、整齐.菌丝宽度为 $4.1 \sim 9.8 \mu\text{m}$,孢囊梗简单合轴式分枝产生大量孢子囊.孢子囊大多为卵形、椭圆形、柠檬形,大小为 $27.8 \sim 65.9 \mu\text{m} \times 22.7 \sim 43.3 \mu\text{m}$,长宽比约为 $1.1 \sim 1.9(1.4)$,孢子囊一般具一个乳突,偶见双乳突,乳突明显,高度为 $2.1 \sim 4.6 \mu\text{m}(3.1 \mu\text{m})$,孢子囊基部圆形,孢囊柄大多生于正基部,孢子囊大多左右两侧对称,少数不对称,孢子囊易脱落,脱落后具短柄,长度为 $0 \sim 6.2 \mu\text{m}(2.9 \mu\text{m})$,孢囊柄宽度为 $1.5 \sim 6.2 \mu\text{m}(3.1 \mu\text{m})$.排孢孔宽度为 $4.1 \sim 7.2 \mu\text{m}(5.4 \mu\text{m})$;休止孢圆球形, d 为 $8.2 \sim 13.4 \mu\text{m}(9.8 \mu\text{m})$;产生大量厚垣孢子,异宗配合.为交配型 A_1 ,与 *P. parasitica* A_2 对峙培养产生大量有性器官,藏卵器圆球形, d 为 $20.6 \sim 34.0 \mu\text{m}(27.0 \mu\text{m})$,透明、壁光滑,器柄棍棒状,卵孢子圆球形, d 为 $17.5 \sim 29.9 \mu\text{m}(23.5 \mu\text{m})$,大多满器,雄器围生,大多鼓形、圆筒形、近圆形、单细胞,透明.

生长温度:最低约 10°C ,最适 $25 \sim 30^\circ\text{C}$,最高 $< 35^\circ\text{C}$.

此菌与 *P. capsici* 的区别在于,前者孢子囊较规则,易脱落,具短柄,可产生大量厚垣孢子,最高生长温度小于 35°C ;而后者孢子囊形态变异大,脱落后具长柄,厚垣孢子少见,最高生长温度大于 35°C .

(4) 烟草疫霉 (*Phytophthora nicotianae* Breda de Haan)——为害蒲包花、长春花、一品红、百合和绿巨人.

= *P. parasitica* Dastur

V_8 培养基上菌落质地均匀;气生菌丝少许至浓密,菌落边缘菌丝较稀,不整齐,偶见圆球形或多角形膨大,菌丝宽度为 $3.6 \sim 10.3 \mu\text{m}$ 。在 Petri 液中孢囊梗简单合轴生,孢子囊大多近圆形、宽椭圆形、少数倒梨形,大小为 $28.8 \sim 74.2 \mu\text{m} \times 23.7 \sim 57.7 \mu\text{m}$,长宽比为 $1.1 \sim 1.9$ (1.30),乳突为明显全乳突,一般一个,偶见双乳突,乳突高度为 $2.6 \sim 8.2 \mu\text{m}$ ($5.1 \mu\text{m}$),孢子囊基部圆形,孢子囊脱落性不好,偶见产生少量厚垣孢子,异宗配合。蒲包花及百合上为交配型 A_1 ,长春花、一品红和绿巨人上为交配型 A_2 。与标准菌株 *P. parasitica* 对峙培养产生有性器官,藏卵器圆球形,少数扁球形, d 为 $17.5 \sim 33.0 \mu\text{m}$,颜色为透明至淡棕褐色,少数颜色较深,器柄棍棒状,器壁光滑,卵孢子圆球形, d 为 $15.5 \sim 24.7 \mu\text{m}$ ($20.4 \mu\text{m}$),呈淡灰褐色,大多满器、少数近满器,雄器围生,单细胞,透明,大多呈鼓形、近圆形。

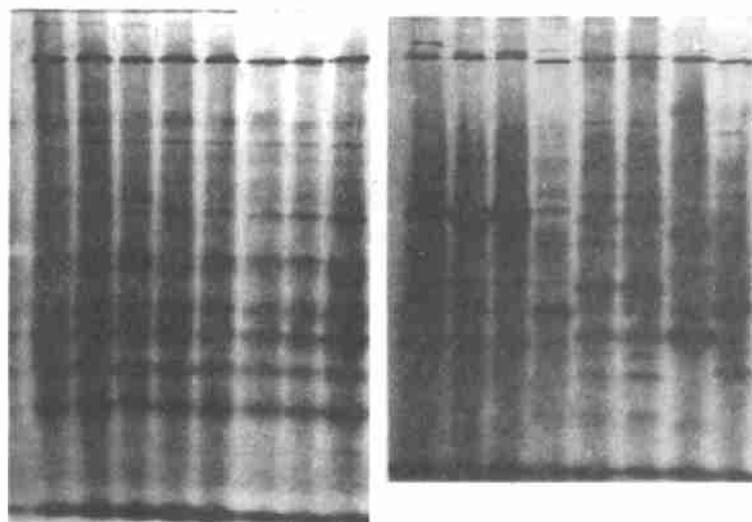
生长温度:最低 $< 10^\circ\text{C}$, 最适 $25 \sim 32^\circ\text{C}$, 最高 $> 35^\circ\text{C}$ 。在 25°C 下 V_8 培养基上每天生长速度为 $8.5 \sim 10.8 \text{ mm}$ 。

不同寄主上的 *P. nicotianae* 形态较相似,但交配型却不同。

(5) 4种疫

霉菌体可溶性蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳。

15株菌的蛋白质电泳图谱按其谱带数量、位置、宽窄和颜色的浓淡可明显地分为4个类型。其中 *P. parasitica* A_2 、CR1、CR2、EP1、EP2、SP1、CC1为一类;*P. palmivora* A_2 、DC2、DC3、CB2为一类;RC5、RC6为一类;RS9为一类(图1)。



从左到右分别为: *P. parasitica* A_2 , CR1, CR2, EP1, EP2, EP3, SP1, CC1;

P. palmivora A_2 , DC2, DC3, CB2, RC5, RC6, RS9, RS2

图1 菌体可溶性蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳

从电泳图谱来看, *P. parasitica* A_2 的谱带有7条主带, CR1、CR2、EP1、EP2、SP1、CC1 的图形几乎完全一致,它们除具有 *P. parasitica* A_2 所具有的主带外,另在 R_f 0.26、0.4、0.52 处各有一条主带,CR1 与 *P. parasitica* A_2 的相似率约为 80%。

P. palmivora A_2 与 DC2 的相似率约为 80%; CB2 的主带也基本与 *P. palmivora* A_2 相似,两者相似率约为 81.3%。

RC6 与 RC5 谱带基本一致,而与 *P. parasitica* A_2 和 *P. palmivora* A_2 完全不同,RC6 与 *P. parasitica* A_2 和 *P. palmivora* A_2 的相似率分别约为 34.8% 和 35.7%。

RS9的谱带又与以上各菌株均不相同,它与前述2个标准菌标的相似率分别为62.5%和38.1%.

3 结论

广州地区9种重要花卉的疫病是由4种疫霉引起的,以烟草疫霉(*Phytophthora nicotianae* Breda de Haan.)最普遍,为害蒲包花、长春花、一品红、百合和绿巨人.此菌亦为害多种果树,预计还会在更多花卉品种上引起疫病.其次为棕榈疫霉[*P. palmivora* (Butler) Butler],为害卡特兰和康乃馨.柑桔褐腐疫霉[*P. citrophthora* (R.E.Smith & E.Smith) Leonian]为害杜鹃.在柑桔园地种植月季,柑桔生疫霉(*P. citricola* Sawada)被证可严重为害月季,值得注意.

参 考 文 献

- 安宝贞,柯文雄.1990.花卉及观赏植物疫病在台湾之新记录(摘要).植物保护学会会刊,32(4):341
成家壮,韦小燕.1996.广州地区观赏植物疫霉种的鉴定及交配型研究.热带作物学报,17(2):100~105
陈利锋,王静之,徐雍皋.1997.杜鹃茎基腐病病原菌的鉴定.植物保护学报,24(3):254~256
郑小波,龚龙英,陆家云.1995.江苏省疫病及病原菌鉴定.植物病理学报,25(1):84~85
郑小波.1997.疫霉菌及其研究技术.北京:中国农业出版社,1~123
赖贝元.1994.广州地区主要花木病害种类调查初报.华中农业大学学报,13(5):460~465
Ho H H, Ann P J, Chang H S. 1995. The genus *Phytophthora* in Taiwan. Taipei: Institute of Botany, Academia Sinica, 1~86
Stamps D J, Waterhouse G M, Newhook F J, et al. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Mycol Pap, 162:1~28

Identification of *Phytophthora* Species Causing Nine Floral Plants Blight in Guangzhou Region

Chen Yongqiang Qi Peikun Jiang Zide

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

Abstract *Phytophthora* isolates were obtained from 9 species of diseased floral plants [*Rosa chinensis* Jacq., *Rhododendron* spp.L., *Cattleya bowringiana* Hort., *Dianthus caryophyllus* L., *Calceolaria crenatiflora* Cav., *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch, *Lilium* spp.L. and *Spathiphyllum pallas* Hort.] collected in Guangzhou region. On the basis of the sexual and asexual characteristics of their single-spore cultures combined with the cardinal temperatures and the electrophoresis of their proteins patterns, they were identified as: *P. citricola* Sawada (on *Rosa chinensis*), *P. citrophthora* (R.E.Smith & E.H.Smith) Leonian (on *Rhododendron* spp.), *P. palmivora* (Butler) Butler (on *Cattleya bowringiana* and *Dianthus caryophyllus*), and *P. nicotianae* Breda de Haan (on *Calceolaria crenatiflora*, *Catharanthus roseus*, *Euphorbia pulcherrima*, *Lilium* spp. and *Spathiphyllum pallas*).

Key words floral plants blight; pathogen species; identification; *P. citricola*; *P. citrophthora*; *P. palmivora*; *P. nicotianae*

【责任编辑 张 砾】