

广东柑橘疫霉研究

成家壮¹, 韦小燕¹, 范怀忠²

(1 广州市化学工业研究所, 广东 广州 510430; 2 华南农业大学 资源环境学院, 广东 广州 510642)

摘要:从广东省柑橘栽培老区的苗圃和果园采集的罹病柑橘组织样本中分离获得 36 个疫霉菌株, 鉴定出 6 个种, 其中柑橘褐腐疫霉 *Phytophthora citrophthora* 11 株, 烟草疫霉 *P. nicotianae* 9 株, 棕榈疫霉 *P. palmivora* 7 株, 辣椒疫霉 *P. capsici* 和掘氏疫霉 *P. drechsleri* 各 4 株, 柑橘生疫霉 *P. citricola* 1 株。

关键词: 辣椒疫霉; 柑橘生疫霉; 柑橘褐腐疫霉; 掘氏疫霉; 烟草疫霉; 棕榈疫霉; 柑橘

中图分类号:S436.67; S436.68

文献标识码:A

文章编号:1001-411X (2004) 02-0031-03

Phytophthora species infecting citrus in Guangdong Province

CHENG Jia-zhuang¹, WEI Xiao-yan¹, FAN Huai-zhong²

(1 Guangzhou Chemical Industry Research Institute, Guangzhou 510430, China;

2 College of Resources and Environment, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Thirty six *Phytophthora* isolates were collected from invaded tissues of stems, leaves, coleoptiles, roots and fruits of citrus. Based on the morphological, cultural and physiological characteristics, 6 species of *Phytophthora* were isolated. Among them, 11 isolates in *Phytophthora citrophthora*, 9 isolates in *P. nicotianae*, 7 isolates in *P. palmivora*, 4 isolates in *P. capsici*, 4 isolates in *P. drechsleri* and 1 isolates in *P. citricola* were identified.

Key words: *Phytophthora capsici*; *P. citricola*; *P. citrophthora*; *P. drechsleri*; *P. nicotianae*; *P. palmivora*; citrus

在广东, 柑橘栽培历史悠久, 品种多, 产量高。但近年常常遭受疫霉菌为害, 引致苗疫, 表现为茎基腐、流胶、叶斑、枝梢枯及根腐等, 苗圃的发病株率一般为 15% ~ 30%, 个别高达 50% ~ 75%, 甚至 90% 以上; 成株期则多为脚腐, 发病率为 20% ~ 30%, 个别达 50%, 甚至 75%, 偶见根腐和果褐腐。疫霉菌的为害已给广东柑橘生产造成较大的影响。据报道, 全世界为害柑橘的疫霉约 12 种^[1], 但在不同国家或不同地区, 疫霉种有所不同^[1~7]。对广东柑橘上的疫霉种至今仍缺乏深入研究。而弄清柑橘疫霉种群结构对于制订防治策略和具体措施都具有重要的指导意义。为此, 笔者对广东柑橘上的疫霉菌进行了分离和鉴定。

1 材料与方法

1.1 菌种的分离

从柑橘栽培老区珠江三角洲(广州、从化、增

城)、广东东部(杨村柑橘场、博罗)及中西部地区(四会、云浮)等地的甜橙、改良橙(红江橙)、蕉柑、碰柑、雪柑、恒柑、贡柑、十月橘、四季橘等, 收集染病的幼苗、树皮、叶片和根, 用洗衣粉稀释液将罹病组织洗净后, 再用灭菌水冲洗多次, 然后用灭菌吸水纸吸干病组织表面水分, 并从病健交界处剪取约 5 mm × 5 mm 的小块, 经表面消毒后移入斜面培养基上, 在 27 ℃下培养, 从新长出菌落边缘挑取菌丝块, 再移入 V8 汁斜面培养基中培养。分离得到的疫霉菌经单孢纯化, 并以无伤接种法接种到柑橘果实或嫩叶上证明其致病性后供鉴定用。

1.2 菌种鉴定

将试验菌株的菌丝移入胡萝卜琼脂培养基(CA)上, 观察菌落生长情况; 把从 V8 汁培养基中生长 5 d 的菌丝置于盛有皮氏液的培养皿中, 在 25 ℃下诱发产生孢子囊, 检查其形态大小, 脱落性及孢囊梗情况; 置于 V8 汁培养基上与标准菌株配对培养 2 ~ 3

周,检查有性器官产生情况。

2 鉴定结果

2.1 种的鉴定

根据形态特征、培养性状及生理特性,如孢子囊的形态和脱落性、有性器官的产生和形态、厚垣孢子的有无、菌丝的生长温度等研究结果,参照 Newhook、Ho、和余永年^[9~10]的检索表,将分离自广东柑橘的36个疫霉菌株鉴定为6个种,即辣椒疫霉 *Phytophthora capsici*、柑橘生疫霉 *P. citricola*、柑橘褐腐疫霉 *P. citrophthora*、掘氏疫霉 *P. drechsleri*、棕榈疫霉 *P. palmivora* 和烟草疫霉 *P. nicotianae*。

2.2 种的描述

2.2.1 辣椒疫霉 *P. capsici* 试验菌株在CA培养基上,菌落呈放射状或棉絮状,边缘较清晰。气生菌丝粗2~9 μm,基生菌丝柔韧,未见膨大体,也未见厚垣孢子。在V8汁培养基上或在皮氏液中,均可形成大量孢子囊。孢囊梗伞状分枝或简单合轴分枝;孢子囊形态、大小变异甚大,椭圆形,长倒梨形,卵形或不规则形,基部渐尖或圆形,大小为(41.9~78.5) μm × (24.4~45.4) μm,平均51.7 μm × 31.2 μm,长宽比平均为1.7,乳突较明显,呈半球形,单个,偶见双乳突,高度1.7~3.5 μm,平均2.6 μm,排孢孔宽5.2~7.0 μm,平均5.6 μm;孢子囊易脱落,具长柄,柄长17.5~75.4 μm,平均46.5 μm。配对培养产生较多的有性器官,藏卵器球形,直径24.4~33.2 μm,平均29.3 μm,外壁较平滑;卵孢子球形,直径19.2~27.9 μm,平均23.1 μm,满器或不满器;雄器围生,近球形或鼓形,大小为(8.7~14.0) μm × (10.5~17.5) μm,平均11.1 μm × 14.4 μm。菌丝生长温度最高35℃,最低12℃,最适25~28℃。

2.2.2 柑橘生疫霉 *P. citricola* 试验菌株在CA培养基上,菌落呈棉絮状;菌丝较均匀,粗5~7 μm,分枝处稍缢缩,未见膨大体,也未见厚垣孢子。孢囊梗简单合轴分枝。孢子囊多为顶生,卵形或椭圆形,基部钝圆,大小为(31.4~62.8) μm × (22.1~47.9) μm,平均47.9 μm × 31.6 μm,长宽比平均为1.5,具半乳突,高度2.1~3.2 μm,平均2.7 μm,排孢孔宽5.2~10.5 μm,平均7.0 μm。孢子囊多不脱落,少数脱落,具短柄。同宗配合,藏卵器球形,直径22.1~33.1 μm,平均26.5 μm,外壁平滑;卵孢子球形,直径18.9~29.9 μm,平均23.8 μm,多满器;雄器侧生,近球形,大小为(8.7~13.9) μm × (7.0~12.2) μm,平均12.0 μm × 10.5 μm。菌丝生长温度最高34℃,最低7℃,最适24~30℃。

2.2.3 柑橘褐腐疫霉 *P. citrophthora* 试验菌株在

CA培养基上,菌落呈花瓣状或棉絮状,气生菌丝较少或中等,粗6~8 μm,一般为7 μm左右,未见菌丝膨大体,亦未见厚垣孢子。孢囊梗简单合轴分枝、不规则分枝或不分枝;孢子囊倒梨形、卵形或不规则形,基部钝圆,大小为(28.4~62.8) μm × (26.8~38.1) μm,平均48.8 μm × 30.5 μm,长宽比平均为1.6,乳突明显,一般1个,少数2个,高度3.5~6.2 μm,平均4.7 μm;排孢孔5.2~8.7 μm,平均5.5 μm;孢子囊不脱落。与标准菌配对培养,未见有性器官产生。菌丝生长温度最高32℃,最低12℃,最适14~28℃。

2.2.4 掘氏疫霉 *P. drechsleri* 试验菌株在CA培养基上,菌落呈短绒毛状,较均一,气生菌丝粗细较均匀,宽4~6 μm,水培时形成球形或不规则的膨大体,直径10.5~24.4 μm,平均23.5 μm。孢囊梗酷似菌丝,一般不分枝。在皮氏液中形成大量孢子囊,卵形、长卵形或椭圆形,无乳突,顶端略增厚,基部渐尖呈楔形,亦有呈圆形的,大小为(24.4~78.5) μm × (13.9~40.0) μm,平均52.8 μm × 29.7 μm,长宽比平均为1.8 μm,排孢孔为10.5~20.4 μm,平均15.0 μm;孢子囊不脱落,具内层出现象。藏卵器球形,直径20.9~41.8 μm,平均30.2 μm,壁薄。卵孢子球形,单个,浅褐色,直径16.5~36.6 μm,平均28.2 μm,满器。雄器围生,近球形或短柱形,(7.0~34.9) μm × (8.7~24.4) μm,平均18.2 μm × 15.5 μm。菌丝生长温度最高36℃,最低10℃,最适28~32℃。

2.2.5 烟草疫霉 *P. nicotianae* van Breda de Haan 试验菌株在CA培养基上,菌落呈棉絮状,气生菌丝较茂盛,粗3.5~5.0 μm,基生菌丝常扭曲,可见球形或角形菌丝膨大体,菌丝膨大体有放射状菌丝。厚垣孢子球形,顶生或间生,直径26.1~40.1 μm,平均32.5 μm。孢囊梗不分枝或简单合轴分枝。孢子囊呈卵形、近球形或倒梨形,基部钝圆,顶生或间生,大小为(34.9~69.7) μm × (24.4~47.1) μm,平均为47.5 μm × 35.3 μm,长宽比平均为1.35,具明显乳突1~2个,高度为3.1~5.2 μm,平均为3.9 μm,排孢孔4.5~6.0 μm,平均为5.5 μm;孢子囊不脱落。藏卵器球形,直径20.9~31.4 μm,平均26.5 μm,壁薄;卵孢子球形,直径17.0~27.9 μm,平均为21.5 μm,几乎满器;雄器围生,圆筒形或近球形,大小为(10.5~15.7) μm × (10.5~14.0) μm,平均为12.3 μm × 11.0 μm。菌丝生长温度最高37℃,最低10℃,最适24~30℃。

2.2.6 棕榈疫霉 *P. palmivora* 试验菌株在CA培养基上,菌落呈放射状,气生菌丝较少,菌丝较细,也较均匀,宽2~5 μm。厚垣孢子大量产生,球形,顶

生, 直径 $20.9 \sim 31.4 \mu\text{m}$, 平均 $28.5 \mu\text{m}$. 孢囊梗不规则分枝或简单合轴分枝. 孢子囊多为卵形, 少数倒梨形或长卵形, 基部钝圆, 大小为 $(24.4 \sim 54.0) \mu\text{m} \times (20.9 \sim 34.9) \mu\text{m}$, 平均 $45.5 \mu\text{m} \times 28.3 \mu\text{m}$, 长宽比平均为 1.6, 乳突明显, 单个, 高 $2.8 \sim 7.0 \mu\text{m}$, 平均为 $3.6 \mu\text{m}$, 排孢孔 $5.2 \sim 6.9 \mu\text{m}$, 平均 $5.7 \mu\text{m}$; 孢子囊大量脱落, 具短柄, 柄长 $1.7 \sim 5.2 \mu\text{m}$, 平均 $2.5 \mu\text{m}$. 与标准菌配对培养产生大量有性器官, 藏卵器球形, 直径 $24.4 \sim 34.9 \mu\text{m}$, 平均 $26.2 \mu\text{m}$, 壁薄; 卵孢子球形, 直径 $21.0 \sim 28.0 \mu\text{m}$, 平均 $22.0 \mu\text{m}$, 不满器. 雄器围生, 近球形或短柱形, 大小为 $(10.5 \sim 14.0) \mu\text{m} \times (8.7 \sim 14.0) \mu\text{m}$, 平均 $11.3 \mu\text{m} \times 10.6 \mu\text{m}$. 菌丝生长温度最高 34°C , 最低 12°C , 最适 $24 \sim 28^\circ\text{C}$.

2.3 种群分布

从广东各地柑橘分离得到疫霉菌 36 株, 其中, 柑橘褐腐疫霉 11 株, 占 30.6%, 该菌种在所有采集地均有分布, 且可从柑橘植株各部位分离得到; 其次为烟草疫霉和棕榈疫霉, 分别有 9 和 7 株, 各占 25.0% 和 19.4%, 前者常致茎基腐和果腐, 后者除造成茎基腐外, 还可造成根腐、叶斑和芽梢枯. 辣椒疫霉和掘氏疫霉均有 4 株, 各占 11.1%, 两者都是从罹病柑橘幼苗的叶片和枝梢上分离得到, 而所在苗圃的前作均为瓜类及茄类蔬菜, 且疫病的发生又比较严重; 柑橘生疫霉仅 1 株, 分离自四季橘的病果.

在田间调查时发现, 柑橘苗疫及成株期的脚腐发病情况都与嫁接的砧木密切相关; 在同一种砧木上嫁接不同品种的接穗, 发病率差异有时亦比较显著. 然而, 从病苗和成长株病组织中分离得到的疫霉种的差异则只与感病的植株部位有关, 而与砧木和接穗的种类关系并不明显, 亦无一定的规律可循. 跟踪调查研究的结果还显示, 成长株脚腐病斑上的分离物大多为柑橘褐腐疫霉、烟草疫霉和棕榈疫霉, 与从幼苗茎基部染病组织分离得到的疫霉种大体一致.

3 讨论与结论

为害柑橘的疫霉有 10 余种, 但常见的仅几种. 本研究的结果表明, 在广东, 为害柑橘的疫霉有 6 种, 即辣椒疫霉、柑橘生疫霉、柑橘褐腐疫霉、掘氏疫霉、棕榈疫霉和烟草疫霉. 其中柑橘褐腐疫霉、棕榈疫霉和烟草疫霉是主要种群. 张开明等^[7]曾在海南省的柑橘园土壤中分离到辣椒疫霉并证明它对柑橘叶片具有较强的侵染力. 本研究则直接从罹病柑橘组织上分离得到该疫霉种且回接柑橘叶片、芽梢和果实均获得成功, 这就更进一步证实了其致病性. 值得指出, 掘氏疫霉是从罹病幼苗上分离得到的, 而苗

圃的前作均为黄瓜及茄子, 且均严重发生疫病, 说明柑橘疫霉种群分布与前作密切相关, 这与番茄、茄和月季上发生的情况亦很相似^[12,13]. 虽然, 辣椒疫霉和掘氏疫霉为害柑橘的报道并不多见^[1], 在本研究的检出率亦不太高, 但由于它们的寄生范围均较广泛, 在广东经常为害茄科和葫芦科等蔬菜^[14], 况且辣椒疫霉的致病力相当强, 因而两者对柑橘的为害性不容忽视. 可以认为, 成株期柑橘脚腐(及根腐)的主要侵染来源是罹病苗木、病株残体以及带菌土壤. 因而在防治上必须结合生产实际, 因地制宜选择抗病力强的砧木及与之相适应的接穗, 并以甲霜灵锰锌等高效内吸性杀菌剂处理苗木, 加强栽培管理, 及时施药防治等措施, 实行综合治理, 才能有效地控制病害的发生和发展.

参考文献:

- [1] 余永年, 庄文颖, 李金亮. 柑橘疫霉 [J]. 真菌学报, 1986, 增刊(I): 31~39.
- [2] 戴芳澜. 中国真菌总汇 [M]. 北京: 科学出版社, 1979. 34~39.
- [3] ANN P J. Species, mating types and pathogenicity of *Phytophthora* distributed in citrus orchards in Taiwan [J]. Trans Br Mycol Soc, 1984, 82: 631~634.
- [4] 先宗良, 邓大林, 兰庆渝. 柑橘脚腐病病原菌的分类与鉴定 [J]. 植物保护学报, 1992, 19(2): 186~192.
- [5] 张镜, 黄治远, 欧阳秩. 四川柑橘根腐病病原菌真菌种类研究 [J]. 植物病理学报, 1994, 24(3): 259~263.
- [6] 张开明, 黎乙东, 郑服丛. 海南湛江柑橘疫霉种的鉴定及交配型研究 [J]. 植物病理学报, 1993, 23(2): 179~184.
- [7] 刘景晶, 殷恭毅. 江苏吴县东方红橘 3 种疫霉病菌生物学研究 [J]. 南京农业大学学报, 1994, 17(1): 121~123.
- [8] 成家壮, 韦小燕, 黄玉梅. 广州地区柑橘苗疫病的发生和药剂防治试验 [J]. 中国柑橘, 1989, 18(1): 37~38.
- [9] NEWHOOK F J, WATERHOUSE G M, STAMPS D J. Tabular key to the species of *Phytophthora* de Bary [J]. Mycol Pap, 1978, 143: 1~20.
- [10] HO H H. Synoptic key to the species of *Phytophthora* [J]. Mycolgia, 1981, 73: 705~714.
- [11] 余永年. 中国真菌志: 霜霉目 [M]. 北京: 科学出版社, 1998. 139~191.
- [12] 成家壮, 韦小燕. 广州地区茄疫病的发生及疫霉种鉴定 [J]. 云南农业大学学报, 2002, 17(1): 21~23.
- [13] 姜子德, 戚佩坤, 陈永强, 等. 柑橘生疫霉引起的月季疫病的研究 [J]. 植物病理学报, 2000, 30(2): 181~185.
- [14] 成家壮. 广州地区为害黄瓜的疫霉菌及其致病性的研究 [J]. 植物保护, 1992, 18(1): 12~13.

【责任编辑 周志红】