

## 云杉雪霉病的病原菌研究\*

刘振坤 张新平 岳朝阳 燕美玉 王波 李新华

(新疆林业科学研究院)

(新疆天山西部林业局)

**摘要** 云杉雪霉病系国内首次报道。该病主要发生在积雪深厚的新疆天山西部、准噶尔西部山地和阿尔泰山的部分林区,重病区苗木年平均损失率41%~62%。在天山西部,雪霉病的主要病原菌有灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)、核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、狭窄平截盘多毛孢(*Truncatella angustata*)。其中后者为国内新记录种。在巩留林区卡西苗圃和室内进行病原菌生物学特性观察、致病性测定等模拟实验;在田间设置微机温度数字采集系统,观测雪层和土壤层的温度动态,结果说明,在雪盖下,冬季土壤不结冻,或仅在浅土层短期轻微结冻,苗冠层处于低温高湿状态,适合雪霉病发生。

**关键词** 灰葡萄孢;核盘菌;狭窄平截盘多毛孢;云杉雪霉病

近年来,云杉雪霉病在新疆天山西部的森林苗圃中爆发成灾,严重地威胁育苗和迹地更新。

针叶树雪霉病在40°N以北的加拿大、英国、挪威、瑞典和美国、日本、苏联(中亚、远东和欧洲部份)的部份地区都有分布,对冷杉、柳杉、云杉等树种雪霉病的病原菌、生物学特性和防治等方面进行过研究和报道<sup>[1~7]</sup>。在我国云杉雪霉病仅知在新疆分布,并为首次进行专题研究的新病害,本文报道云杉雪霉病有关病原菌的研究部分。

### 1 研究方法

(1) 系统采集雪下、融雪后和生长期的云杉病苗,进行直观和显微检查。并于早春在田间直接移植雪下病株上的新鲜菌丝;用PDA培养基分别进行表生菌丝、针叶和茎组织分离培养。

(2) 对主要病原菌系统的显微切片、计测、照像等形态比较研究,进行种的鉴定。

(3) 观察测定主要病原菌的生长温度范围和不同温度条件下的生长发育状况等生物学特性。

(4) 用取得的纯培养菌株和雪霉病的自然菌株,模拟雪下和生长期的主要生态条件,进行人工接种,测定其致病性。

(5) 1987~1990年初冬在田间苗床上搭隔雪棚,1989~1990年在田间设置PC-1500微

本文于1991年3月12日收到。

\*本文为新疆自治区林业厅“云杉雪霉病的防治研究”项目的部分内容。

本研究承蒙中国科学院微生物研究所刘锡珪研究员提供部分参考文献,并由沈阳、四川引进灰葡萄孢和核盘菌,审定上述两个种的种名,特此致谢。

机温度数字采集系统(新疆气象局研制)和 Rsw-1 热敏电阻数字温度计(中国科学院新疆科学仪器厂),从10月下旬(积雪期)到来年4月初(融雪期),逐日定时记录棚内和积雪层、土壤层的温度动态,观测雪霉病发生与生态条件的关系。

以上有关病原菌种的鉴定、生物学特性和致病性测定等均与已知的相同种进行实测对比。

## 2 研究结果

### 2.1 分布和危害

在新疆,云杉雪霉病的分布范围在 $42^{\circ}\sim 49^{\circ}\text{N}$ ,主要发生在天山西部、准噶尔西部山地和阿尔泰山的部分林区。分布地区有巩留、新源、伊宁、察布查尔、和静、塔城、哈巴河等地,以海拔高度1400~2100 m,森林分布带的中山带发病严重。根据1986~1990年调查,各地苗圃的苗木年均损失率为41%~62%。1986年天西林业局因雪霉病损失苗木1500万株(全疆每年更新所需苗木1000万株左右),1988年仅巩留和新源林场受灾面积210亩,损失苗木2000余万株;1990年阿尔泰山林业局哈巴河林场因雪霉病损失苗木200万株,造成苗木短缺,营林生产处于困境。

### 2.2 症状

云杉苗木针叶或全株被灰褐色到深褐色菌丝层覆盖,表生或入侵内部,引起苗木霉烂和窒息。菌丝层的质地和厚薄因病情而异,呈絮状(轻)至毡状(重);颜色因受害早晚而不同,早期为褐色,即将融雪时为白色和灰褐色。发病轻时呈团块状分布,严重时,苗木成行倒伏。融雪后病叶脱落,茎的皮层溃烂,地上部逐渐枯死(图1)。

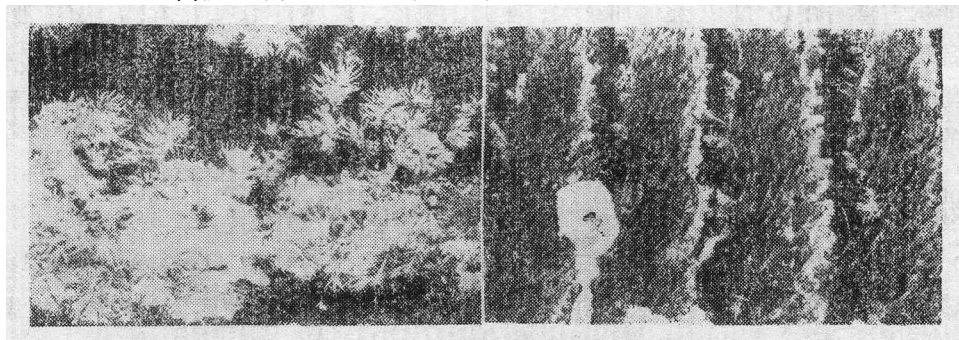


图1 云杉雪霉病症状

### 2.3 病原菌种类和形态描述

生长期和雪下病株,表生菌丝的分离培养结果均以灰葡萄孢、核盘菌、狭窄平截盘多毛孢所占比例大(42%~30%);表生菌丝的分离(332株)以枝孢属(*Cladosporium* sp.)、根霉属(*Rhizopus* sp.)、青霉属(*Penicillium* sp.)、交链孢属(*Alternaria* sp.)、附球霉属(*Epicoccum* sp.)、木霉属(*Trichoderma* sp.)等真菌种类占有一定比例(13%~3%),寄主组织(茎、叶,269株)分离,上述种类比例明显减小或不再出现(8%~0%)。说明这些都是居留田间的,属于附生的真菌。主要病原菌的形态简要描述如下。

灰葡萄孢(*Botrytis cinerea* Pers.) (图版1) 假菌核近黑色,表面粗糙,近圆形到不规则形,叶上0.1~1 mm,茎上2~3 mm,成熟时半外露,不易脱落。营养菌丝无色透明,内

含许多颗粒状体, 宽  $4 \sim 11 \mu\text{m}$ 。由菌核和菌丝产生分生孢子梗, 分生孢子梗基部浅褐色, 向上渐细, 近无色, 长  $0.5 \sim 2 \text{ mm}$ , 宽  $8 \sim 16 \mu\text{m}$ , 在顶端多次分枝, 小枝膨大形成小梗, 芽殖分生孢子聚集成簇。分生孢子无色, 单细胞, 卵圆、椭圆到矩圆形,  $8 \sim 78 \mu\text{m} \times 7 \sim 12 \mu\text{m}$ 。老的分生孢子梗扁平扭曲, 褐色。分生孢子簇除顶生外, 还在延伸的分生孢子梗上间生, 间距  $26 \sim 59 \mu\text{m}$ 。附着孢初期二歧分枝, 后期集结, 墨绿到黑色。小孢子无色, 近圆形, 约  $3 \mu\text{m}$ <sup>[2, 3, 8]</sup>。

核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) (图版 II) 菌核黑色, 表面光滑, 蚕豆形、亚铃形或近圆形,  $4 \sim 8 \text{ mm}$ , 着生在云杉的幼茎、小枝、子叶节和新芽顶端, 偶生针叶上, 易脱落。一般由菌核产生菌丝, 菌丝无色透明, 附着孢墨绿到黑色。也可由一菌核产生  $1 \sim 15$  个子囊盘, 一般  $4 \sim 6$  个。子囊盘淡肉色到暗肉色, 初期杯状, 展开后呈盘状, 直径  $1 \sim 11 \mu\text{m}$ , 盘柄长  $1 \sim 2 \text{ cm}$ , 常因环境而异, 可长达  $4 \text{ cm}$  以上。子实层近无色, 子囊棒状,  $108 \sim 145 \mu\text{m} \times 6 \sim 8 \mu\text{m}$ , 顶环碘液染色变蓝。子囊孢子 8 个, 单列, 单细胞, 大多为椭圆形,  $8 \sim 12 \mu\text{m} \times 5 \sim 8 \mu\text{m}$ , 内含  $2 \sim 3$  个油滴。侧丝比子囊稍长, 顶端轻微膨大<sup>[6, 9]</sup>。

狭窄平截盘多毛孢(*Truncatella angustata* (Pers. ex Lk) Hnghes) (图版 III) 分生孢子座茎生, 烧瓶状至盘状, 埋生, 分散或汇合,  $250 \sim 1100 \mu\text{m} \times 100 \sim 450 \mu\text{m}$ , 器壁由褐色、多角形细胞组成, 开裂不规则。子实层周生, 分生孢子梗无色, 线形,  $25 \sim 46 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ , 少分隔, 有  $1 \sim 3$  个环痕。分生孢子纺锥形,  $16 \sim 21 \mu\text{m} \times 6 \sim 9 \mu\text{m}$ , 3 个真隔膜, 中间两个细胞褐色, 长  $11 \sim 14 \mu\text{m}$ , 基细胞平截, 顶细胞锥形, 均无色, 顶细胞有延生的附属丝, 形状多变, 二歧分枝或不规则分枝, 有时单一<sup>[4, 6, 10]</sup>。

以上三个种的形态计测数值与所列参考文献近似, 前两个种并与从沈阳引进、寄生蚕豆的灰葡萄孢和从四川引进、寄生莴苣的核盘菌分别进行形态实测对比, 各项数值也完全一致。

#### 2.4 生物学特性

根据不同温度梯度 ( $0$ 、 $5$ 、 $10$ 、 $22$ 、 $28$ 、 $32 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 平面培养, 观测温度与菌落生长发育的关系, 结果说明, 灰葡萄孢、核盘菌、狭窄平截盘多毛孢的共同特点是:  $0 \sim 22 \text{ }^\circ\text{C}$  时, 随温度升高, 菌落生长量迅速增加, 增长规律一致,  $28 \text{ }^\circ\text{C}$  以上, 生长极其缓慢并逐渐停滞 (图 2~5), 通过多元非线性回归分析<sup>[11]</sup>, 各自的多元相关系数分别为  $0.92$ 、 $0.89$ 、 $0.88$ ; 在  $22 \text{ }^\circ\text{C}$  以下营养生长旺盛, 如前两种,  $22 \text{ }^\circ\text{C}$  时,  $6 \sim 7$  天产生菌核,  $5 \sim 10 \text{ }^\circ\text{C}$  时则长达 15 天,  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  时一个月仍未产生菌核; 在一般条件下, 它们的菌核均无休眠期, 成熟后, 温湿度适合即可萌发, 进行营养繁殖。在田间雪下苗床贴地层设置平面培养 (菌丝块、菌核) 和裸露的菌核, 结果与室内一致。1990 年 10 月 26 日到 11 月 24 日, 贴地层  $10$ 、 $5$ 、 $0 \text{ cm}$ ,  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  以上的日数分别为  $14$ 、 $16$ 、 $26$  天, 平均温度为  $3.4$ 、 $2.9$ 、 $1.8 \text{ }^\circ\text{C}$ , 菌落生长已满皿, 但未出现菌核。从上述实验结果看出灰葡萄孢等三个种的生长发育与温度变幅紧密相关, 偏低的温度适合营养生长。

在诱导有性阶段的各项实验中, 核盘菌以剥离成熟的菌核黑暗砂藏保湿, 经过一个月左右的低温 ( $5 \text{ }^\circ\text{C}$  左右), 再转移至  $10 \sim 19 \text{ }^\circ\text{C}$  的光照条件下继续保温培养, 效果最好, 一般  $36 \sim 37$  天即产生子囊盘, 并放射子囊孢子 (设置在田间雪下的需 139 天); 灰葡萄孢在各项诱导实验中都未出现有性阶段; 以上两个种, 在田间尚未发现它们的有性阶段。

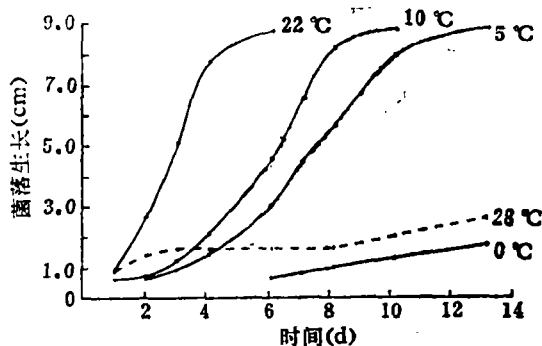


图2 不同温度灰葡萄孢的菌落生长比较

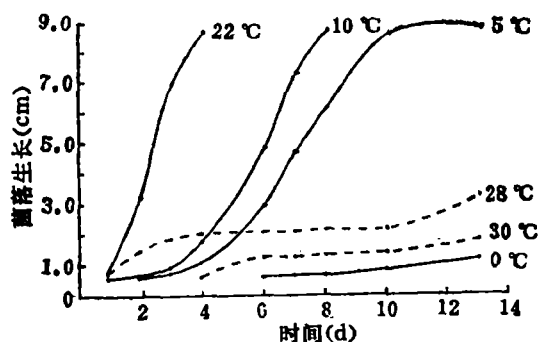


图3 不同温度核盘菌的菌落生长比较

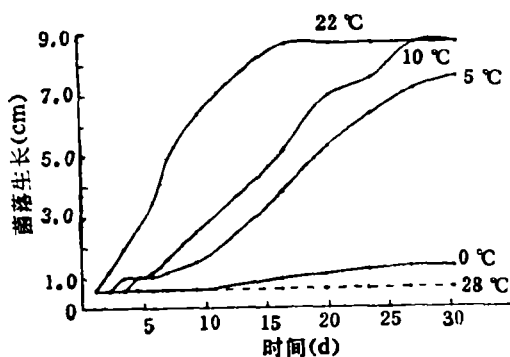


图4 不同温度狭窄平截多毛孢的菌落生长比较

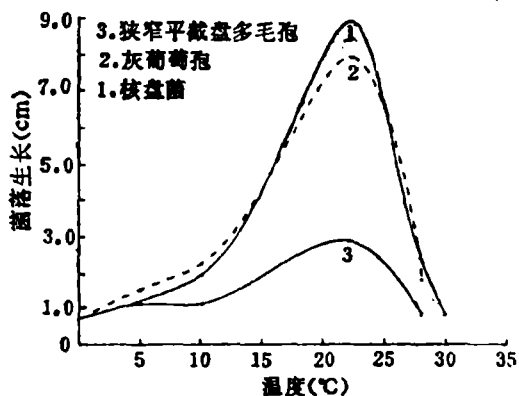


图5 不同温度96小时三种病原菌菌落生长比较

## 2.5 致病性测定

**2.5.1 主要病原菌的人工接种** 灰葡萄孢用云杉针叶和茎生菌核取得的纯培养,以分生孢子震落和菌核置苗从表土中接种;核盘菌用纯培养产生的菌核和由菌核诱导产生的子囊盘置苗从表土中,通过子囊孢子自动放射接种;狭窄平截多毛孢用涂抹分生孢子悬浮液接种。经过对1~3龄的云杉盆播和移植苗(盆钵口径15 cm,每盆播种2 g种子或移植15株),在新梢期和休眠期进行多次重覆接种实验,上述菌种均能致病,发病率53%~100%,在实验过程中,模拟田间条件,充分保湿,除在发病初期分离致病针叶外,并观察病程的发展。灰葡萄孢在25天左右病株上产生分生孢子,50~97天针叶和茎组织中产生菌核;核盘菌106~112天在茎上和植株表面产生菌核;狭窄平截多毛孢30~105天在茎的皮层组织中陆续形成分生孢子盘。

**2.5.2 主要病原菌和附生菌人工接种比较** 用灰葡萄孢和枝孢属、根霉属、交链孢属、青霉属、附球霉属等纯培养,在光照条件下,充分保湿,以分生孢子悬浮液接种一年生的休眠期云杉,灰葡萄孢能致病,枝孢属等附生菌均未致病;用灰葡萄孢、核盘菌、狭窄平截多毛孢和上述附生菌,模拟田间雪下黑暗、透气性差和高湿度条件,将植物羊皮纸涂黑做套(或用黑布套),外加塑料袋或烧杯保湿,在苗冠层固定5个点,以菌丝块接种,以灰葡萄孢等三种主

要病原菌致病力强, 枝孢属等虽然由接种点伸出菌丝, 但很少蔓延。

2.5.3 新鲜菌丝体接种 用采自田间雪下病株上的新鲜菌丝体(菌膜), 分别以光照和黑暗处理接种(方法同 2), 也以黑暗条件下的接种致病力强, 发病重。

### 3 结果和讨论

(1) 在中国, 云杉雪霉病是首次研究并报道的新记录病害, 根据系统的研究, 确定了灰葡萄孢、核盘菌, 狭窄平截盘多毛孢是主要病原菌。在国外, 以灰葡萄孢引起的针叶树雪霉病较普遍, 研究历史长<sup>[1,4,7,12]</sup>; 对核盘菌属的一些种引起的雪霉病, 苏联记载有禾核盘菌(*Sclerotinia graminearum* Elen)<sup>[7]</sup>, 日本报道有北方核盘菌(*S. borealis*)<sup>[13]</sup>; 关于狭窄平截盘多毛孢引起雪霉病, 尚未见有记载。

(2) 关于病原菌的鉴定。灰葡萄孢用分离获得的纯培养与寄生蚕豆的已知种进行形态比较定名; 核盘菌用分离获得的纯培养菌核, 经诱导产生子囊盘, 与寄生莴苣的已知种进行形态比较定名; 狭窄平截盘多毛孢是国内新记录种, 根据 Sutton 腔孢纲分类专著(1980)定名。按照 Sutton 对分生孢子盘的分类系统, 盘多毛孢、拟盘多毛孢、狭窄平截盘多毛孢三个邻近属的共同点是分生孢子顶端有附属丝, 分生孢子梗有环痕, 主要区别点是分生孢子具有的隔膜数, 是真隔膜还是假隔膜, 以及附属丝的数量和分枝特点。狭窄平截盘多毛孢与前两属主要的区别是具有三个真隔膜, 从我们所获得的纯培养和田间自然菌株的形态描述, 应定名为狭窄平截盘多毛孢, 而不再延用原有的异名。

(3) 根据国外文献和本文研究, 云杉雪霉病是云杉灰霉病(灰葡萄孢)、菌核病(核盘菌)、茎枯病(狭窄平截盘多毛孢)于生长期危害之后, 在雪下继续发展蔓延而引起的。在天山西部林区海拔 1700 m 的巩留卡西苗圃进行定点观测, 以及在雪霉病发生区的广泛调查说明, 深厚的雪盖下, 苗冠层和土壤层长期处于 0℃ 以上的低温高湿状态, 这样的生态条件, 完全适合灰葡萄孢等病菌的生长, 特别是初冬和早春, 气温不稳定, 积雪期提前, 融雪期推迟, 经常出现冻雨、雨夹雪、湿雪, 在积雪层下部形成冰盖, 苗木被压倒伏, 透气性差的情况下, 更加有利于病害的传播和发展。

(4) 在苗床上搭棚架隔雪, 有明显的通风降温效果, 则不发生雪霉病。灰葡萄孢等三种主要病原菌都属于弱寄生菌, 除了适合发病的生态条件外, 高密度种植, 管理粗放, 苗木受冻害等各种自然的和人为的伤害, 均导致危害加重。因此, 除化学防治外, 提高育苗技术水平, 创造良好的林业生态条件, 对治理云杉雪霉病具有十分重要的意义。

### 参 考 文 献

- [1] Boyce, J. S., 1961, Forest pathology, Mcgraw-Hill Book Company, 75~76, 92~93.
- [2] Ellis, M. B., 1971, Dematiaceous hyphomycetes, Commonwealth mycological institute Kew, Surrey, England, 178~180.
- [3] Goley-Smith, J. R. et al., 1980, The Biology of *Botrytis*, Academic press London INC. (London) LTD.
- [4] Phillips, D. H. et al., 1982, Diseases of forest and ornamental trees, The Macmillan press LTD, 50~60.
- [5] Susan, J. et al., 1987, A method for inducing apothecia from sclerotia of *Sclerotinia scler-*

*otiorum*, Plant Pathology, 36(1): 16~20.

- [6] Sutton Brian, C., 1980, The Coelomycetes, Printed in Great Britain, 251~253, 263~268.  
 [7] Соколова, З. С., 1981, Лесная Фитопатология, Лесная Промышленность, 174, 196~197.  
 [8] 俞大绂, 1979, 蚕豆病害, 科学出版社, 29~32.  
 [9] 魏景超, 1979, 真菌鉴定手册, 上海科学技术出版社, 256.  
 [10] Жуков, А. М., 1978, Тривные Болезни лесов Верхнего Приобья, Издательство Наука Сибирское Отделение, 56~57.  
 [11] 赵旭等, 1984, BASIC 实用程序100例, 电子工业出版社, 29~33.  
 [12] Драчков, В. Н., 1983, Серая плесень в питомниках и Теплицах, Лесное Хозяйство, (3) 55.  
 [13] 松本直幸, 1986, 雪腐小粒菌核病的生物防治, 今日の农业, (11), 104~107.

## *Pathomycete Studies on Snow Mould of Spruce*

Liu Zhenkun Zhang Xinping Yue Zhaoyang Yan Meiyu

(Xinjiang Academy of Forestry)

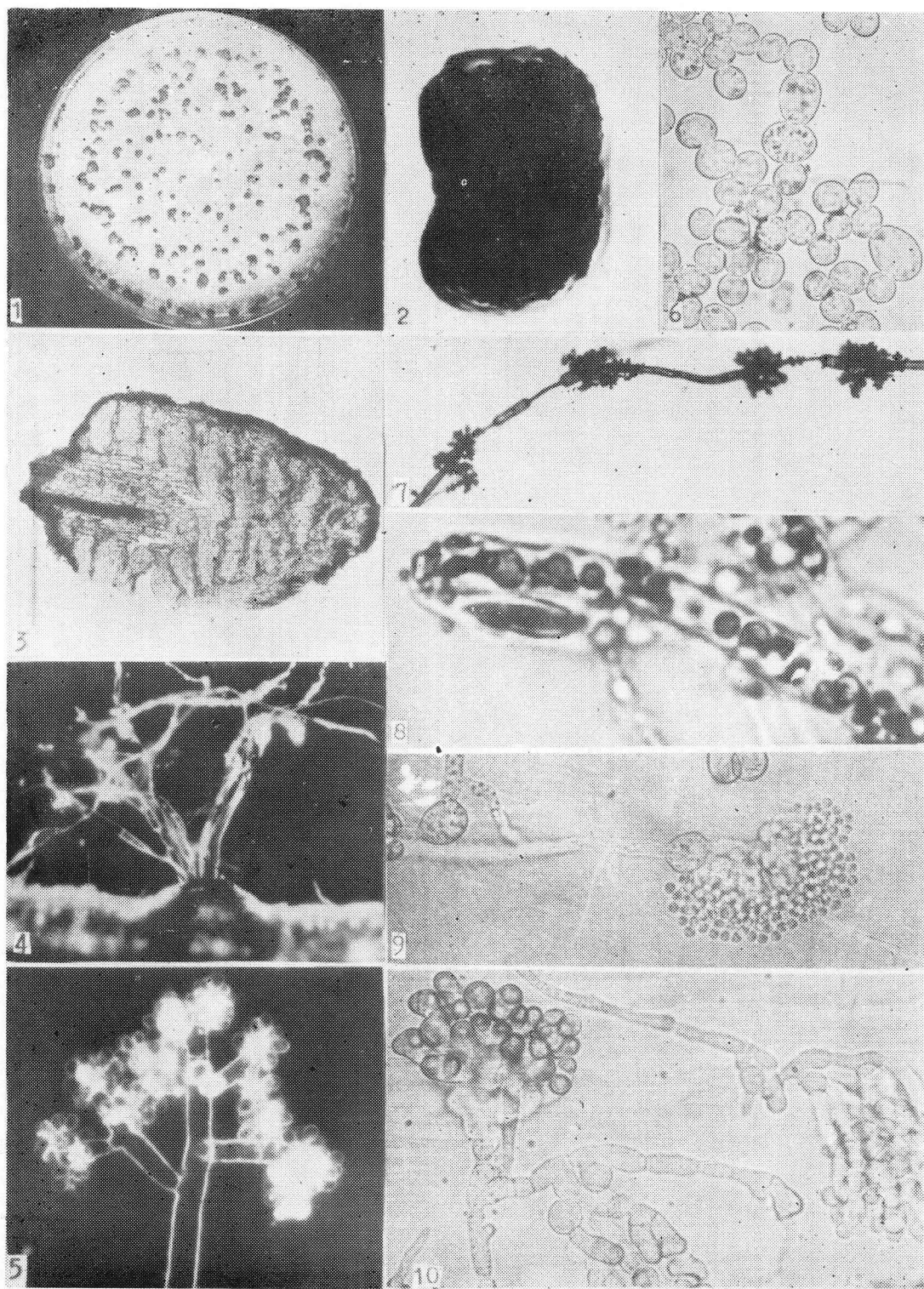
Wan Bo Li Xinhua

(Forestry Bureau of Western Tianshan, Xinjiang Autonomous Region)

**Abstract** Snow mould of spruce was reported for the first time in Western Tianshan in this paper. In some forest area of Aletai and Western Zhungeer Mountains, 41%~62% of the spruce seedlings was damaged by the disease, which was caused by the pathogens: *Botrytis cinerea* Pers., *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary and *Truncatella angustata* (Pers. ex Lk) Hnghes. *T. angustata* is a new species recorded for the first time in China.

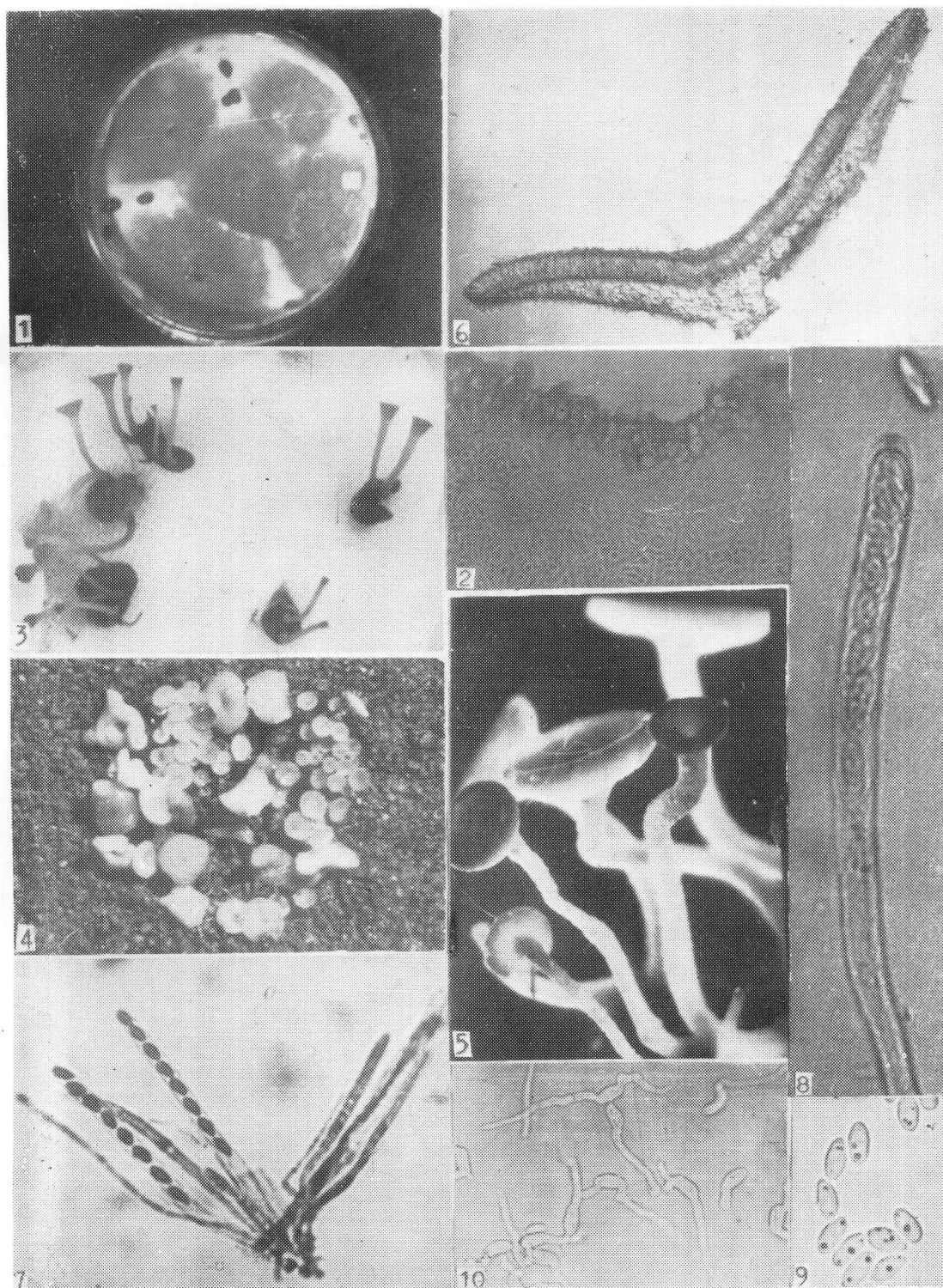
Biological characteristics of the pathogens and the pathogenicity test have been conducted both in the field and in the lab. in Kaxi Nursery, Gongliu Forest Region. In the field, Microcomputer Figure Collection System was used to observe the temperature dynamics in the layers of snow and soil. Deep snow covers the ground from fall to late spring, so that the soil does not freeze at that time, which provides a suitable condition for the development of snow moulding.

**Key words** *Botrytis cinerea*; *Sclerotinia sclerotiorum*; *Truncatella angustata*; snow mould of spruce



灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea* Pers.)

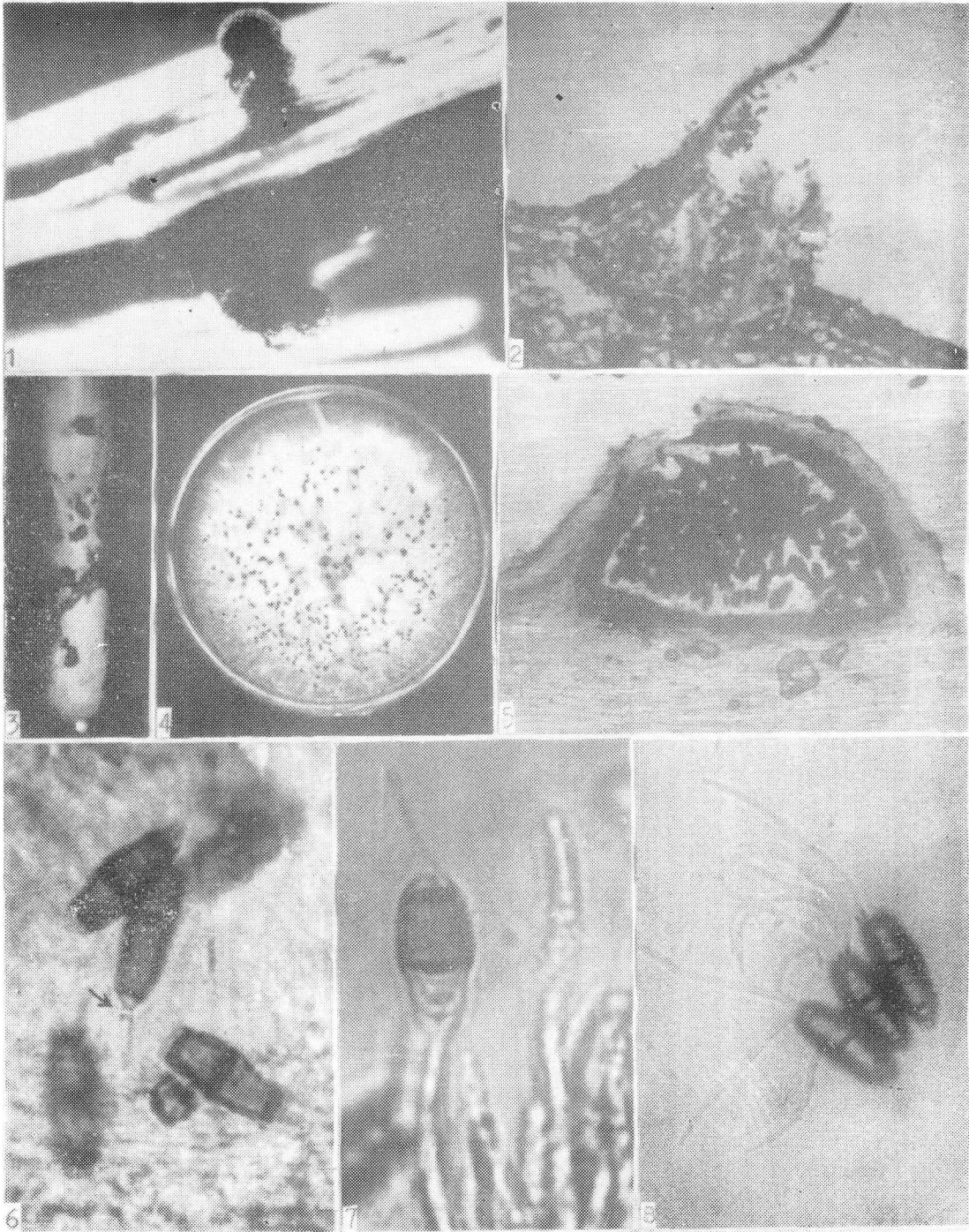
1, 2. 纯培养菌核；3. 针叶菌核纵切；4. 针叶菌核萌发；5. 分生孢子梗和顶生孢子；6. 分生孢子；7. 间生分生孢子簇；8. 营养菌丝；9. 小孢子；10. 附着孢。



核盘菌 [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary]

1. 纯培养；2. 茎生菌核纵切；3~5. 诱导产生子囊盘(3. 入冬时菌核置田间；4. 菌核低温处理后砂培)；6. 子囊盘剖面；7. 子囊和侧丝；8. 子囊顶环(I<sup>+</sup>)；9, 10. 子囊孢子和孢子发芽。





狭窄平截盘多毛孢 [*Truncatella angustata* (Pers. ex Lk) Hnghes]

1. 成熟的分生孢子座(茎生)和溢泌的褐色胶液; 2. 分生孢子盘(茎生); 3~5. 纯培养(3. 斜面, 4. 平面, 5. 分生孢子切面); 6. 分生孢子和孢子梗环痕; 7, 8. 分生孢子附属丝。