

刺槐溃疡病病原菌的研究*

洪瑞芬 季延平

摘要 刺槐溃疡病在山东沿海地区发生严重。研究结果表明主要病原菌为尖镰孢(*Fusarium oxysporum* Schlecht.), 其次为腐皮镰孢(*Fusarium solani* (Mart.) Sacc.)。尖镰孢的小型分生孢子头状, 聚生于短的单出瓶梗上, 分生孢子椭圆形至腊肠形, $7.6 \sim 15.4 \mu\text{m} \times 2.5 \sim 3.8 \mu\text{m}$; 大型分生孢子镰刀形至纺锤形, 3~5 分隔, $28.2 \sim 38.4 \mu\text{m} \times 4.6 \sim 5.1 \mu\text{m}$; 厚垣孢子直径 $8.9 \sim 12.8 \mu\text{m}$ 。腐皮镰孢的小型分生孢子生于伸长的分生孢子梗上, 阔卵形至椭圆形, $5.1 \sim 10.2 \mu\text{m} \times 2.5 \sim 4.8 \mu\text{m}$, 孢子梗长 $30 \sim 80 \mu\text{m}$; 大型分生孢子两端较钝, 3~5 分隔, $20.1 \sim 33.3 \mu\text{m} \times 2.6 \sim 5.4 \mu\text{m}$; 厚垣孢子直径 $7.7 \sim 10.2 \mu\text{m}$ 。菌落生长适温为 $25 \sim 30$, 最适温度 28 ; pH 范围 $5 \sim 9$, 最适微酸至中性; 碳源以蔗糖和葡萄糖最好, 氮源以蛋白胨最好。

关键词 刺槐、溃疡病、病原菌、尖镰孢

刺槐溃疡病在山东荣城、文登、威海等沿海地区发病历史较久, 曾于 1979 年和 1990 年两度大流行, 病株率达 80% 左右, 仅荣城市因病致死的刺槐达 23 万余株, 有的片林几近毁灭, 严重地威胁着刺槐生产的发展。该病发生在 6~7 月份高温高湿的雨季, 病菌多从刺槐根、干基部侵入, 并向上扩展, 可导致整株或局部枝条枯萎死亡。在根部, 首先是根尖变褐, 后皮层与木质部剥离、腐烂, 有恶臭; 在干部, 发病初期无明显症状, 后期皮层组织坏死、凹陷, 呈圆形或椭圆形病斑, 有的出现纵裂, 裂缝及皮孔出现由镰刀菌产生的桔红色分生孢子堆。

关于刺槐枝干病害, 在国内曾有由樟疫霉(*Phytophthora cinnamomi* Rands) 引起干腐病的研究报道^[1], 国外有由 *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *robinia* Matuo & Sakurai 引起的干枯病的报道^[2]。本研究(1991~1995 年) 旨在确定山东沿海地区刺槐溃疡病的主要病原及其形态和生物学特性。

1 材料和方法

1.1 供试材料

分离培养的材料采自山东荣城的俚岛、寻山、崂山、东山、斥山等不同刺槐林中的不同发病部位和不同症状类型, 分别用常规方法进行分离培养, 将分离纯化所得菌株顺序编号为 F、F、F、P, 作室内刺槐枝段、室外刺槐幼树接种用, 待出现症状后进行再分离培养, 之后对各分离菌进行单孢纯化培养供病菌形态观测用。本试验所用的培养基除特殊目的外, 均为 PDA 和 PSA。供接种用的苗木为无菌土盆栽的 2 年生刺槐苗。无菌土的处理方法为烤箱 160 干热灭菌 2 h 。

1995—11—20 收稿。

洪瑞芬高级工程师, 季延平(山东省林业科学研究所 山东济南 250014)。

* 本内容是 1990~1994 年山东省科委“林木主要枝干病害发生流行规律及综合防治技术研究”课题的一部分。课题组成员还有吴玉柱、仝德全、侯玉芹。

本文承蒙张素轩教授审阅和指正, 特致谢忱。

1.2 试验方法

1.2.1 接种方法 苗木根系接种, 先将供试菌株在培养皿及三角瓶内培养 7~8 d, 待长满菌丝后, 分别倒入无菌水 50 mL 和 100 mL 浸泡 30 min, 捣碎, 制成菌丝和孢子悬液, 然后将刺槐苗木根系浸入菌液 48 h 后盆栽; 盆栽苗在干基 2 cm 处挖沟并伤根, 倒入菌液, 覆土, 每三角瓶菌种接种 3 株, 每皿接种 1 株。苗木干基、枝桠等地上部位的接种是用 70% 酒精表面消毒, 无菌刀刻“U”形伤口, 在其皮下直接接种带培养基的菌体, 用消毒的湿脱脂棉、硫酸纸保湿, 胶带封口。

1.2.2 病原菌生物学特性测定 取直径 3 mm 不同菌种的菌饼, 移至 PSA 或其它培养基平板上, 在 25℃ 的恒温条件下培养, 每个试验重复 5 皿, 4 d 后测量菌落直径。温度测定是采用 5~35℃ 7 个不同温度; pH 值采用 3~9 共 7 种不同的值; C 源、N 源的测定则用查彼克 (Czapek) 培养基加 2% 琼脂, 及分别用等量葡萄糖等 C 源置换其中蔗糖, 配成不同 C 源培养基; 查彼克培养基加 2% 琼脂, 及分别用含相同 N 量的蛋白胨等 N 源置换其中 NaNO_3 , 配成不同 N 源培养基; 不同培养基的测定是用 PDA、PSA、CMA 以及燕麦培养基。

2 结果和分析

2.1 病菌分离培养

从不同地点、林分、各发病部位采得的病样, 通过反复分离培养、纯化, 获得单胞菌株 F₁、F₂ 和 P。

2.2 致病性的测定

接种试验结果表明 F₁、F₂、F₃ 可以从根部、干基和枝桠等部位伤口侵染发病, 症状表现和田间自然发病一致。接种的刺槐苗根系, 30~40 d 后根尖开始变褐腐烂, 根皮易脱落, 严重的病株枯萎死亡; 接种的枝桠, 局部出现白色菌丝。F₁、F₂ 接种的干基部 7~10 d 全部发病, 接种部位密布白色菌丝层; F₃ 接种的干基部仅轻度感病, 接种伤口产生褐色病变, 菌丝层稀疏。发病株再分离, 均获得原接种菌。P 菌接种的各部位均未见明显症状, 再分离也未获得原病菌。对照均未发病。详见表 1。

表 1 病菌致病性的接种测定

病菌代号	菌液浸根盆栽			土壤根系接种			干基接种			枝桠接种		
	接种数 (个)	发病数 (个)	%	接种数 (个)	发病数 (个)	%	接种数 (个)	发病数 (个)	%	接种数 (个)	发病数 (个)	%
F ₁	6	4	66.6	10	5	50.0	10	10	100.0	10	6	60.0
F ₂	6	4	66.6	9	5	55.5	10	10	100.0	10	4	40.0
F ₃	6	0	0	8	2	25.0	12	4	33.0	10	4	40.0
P	6	0	0	10	0	0	10	1	10.0	10	0	0
对照	6	0	0	6	0	0	6	0	0	5	0	0

F₁、F₂ 致病性较强, 室内 2~3 年生离体刺槐枝段上接种, 在 25~28℃ 条件下, 48 h 后枝段伤口处即布满白色菌丝层, 3~5 d 枝段全部被菌丝覆盖, 1 周后出现桔红色分生孢子堆, 韧皮部至木质部表层呈纤维状; F₃ 菌丝层稀疏, 1 周后产生桔红色分生孢子堆, 致病力较弱。

2.3 病原菌培养性状、形态特征和鉴定

F₁、F₂ 在 PSA 培养基上菌落生长迅速, 24 h 连续光照培养 4 d, 菌落直径为 5.8~6.3

cm。气生菌丝絮状,菌落底部为苍白、土黄、茄紫色。在水琼脂培养基上2~3 d即产生小型分生孢子,着生于短的瓶梗上,孢子椭圆形至腊肠形,7.6~15.4 μm \times 2.5~3.8 μm ;大型分生孢子,在水琼脂培养基上2 d后即形成,镰刀形至纺锤形,3~5分隔,大小为28.2~38.4 μm \times 4.6~5.1 μm ;厚垣孢子,在营养贫乏的水琼脂上1周后即产生,孢子近圆形,光滑,少量表面粗糙,着生于短侧枝上,顶生或间生,也见单个或多个生于菌丝间,或着生于大型孢子中间,直径8.9~12.8 μm 。确认F₁、F₂为同种病菌,依据文献^[3~6]鉴定为尖镰孢(*Fusarium oxysporum* Schlecht.)。

F₁在PSA培养基上生长较缓慢,菌落白色,气生菌丝绒毛状,菌落底部白色,有时出现蓝棕色,24 h连续光照培养4 d,菌落直径为4.0~4.3 cm。小型分生孢子生于伸长的分生孢子梗上,阔卵形至椭圆形,5.1~10.2 μm \times 2.5~4.8 μm ,孢子梗较长,30~80 μm ;大型分生孢子自短而分枝的分生孢子梗上发育形成,孢子两端较钝,3~5分隔,大小为20.1~33.3 μm \times 2.6~5.4 μm ;厚垣孢子近圆形,光滑或粗糙,以光滑为多,端生或间生于短侧枝上,也有生于大型分生孢子一侧,直径7.7~10.2 μm ,鉴定为腐皮镰孢(*Fusarium solani* (Mart.) Sacc.)^[3~6]。

2.4 病原菌生物学特性

*F. oxysporum*和*F. solani*菌饼在PSA培养基上培养4 d后得知,生长适温为25~30℃,最适温度28℃(表2);菌体在pH 5~9范围内均能生长,但在微酸至中性条件下生长最好(表3);菌体可利用多种碳源,在4种碳源培养基中均能生长,其中以蔗糖和葡萄糖为碳源的最好(表4);两种菌在各种氮源的培养基中均能生长,但以蛋白胨、NH₄NO₃为N源的最好,其次为NaNO₃(表5);病原菌在4种培养基中均能生长,但在PDA、PSA培养基上生长最好(表6)。

表3 不同pH值对菌落生长的影响(单位:cm)

病原菌	温度(℃)						
	3	4	5	6	7	8	9
<i>F. oxysporum</i>	0.9	2.6	4.6	5.8	6.1	5.7	4.5
<i>F. solani</i>	0.1	2.3	4.0	4.3	4.3	4.0	3.5

表5 不同N源对菌落生长的影响

(单位:cm)

病原菌	尿素	NaNO ₃	NH ₄ NO ₃	蛋白胨	乳蛋白
<i>F. oxysporum</i>	5.9	6.3	6.6	6.6	6.5
<i>F. solani</i>	3.5	4.2	4.2	4.3	4.1

表2 不同温度对菌落生长的影响(单位:cm)

病原菌	温度(℃)							
	5	10	15	20	25	28	30	35
<i>F. oxysporum</i>	0	0.4	2.7	3.6	4.0	6.3	5.4	2.2
<i>F. solani</i>	0	0.1	1.5	2.8	4.3	4.4	4.1	1.6

表4 不同C源对菌落生长的影响

(单位:cm)

病原菌	甘露醇	葡萄糖	蔗糖	麦芽糖
<i>F. oxysporum</i>	5.9	6.2	6.4	6.0
<i>F. solani</i>	3.8	4.3	4.4	4.1

表6 不同培养基对菌落生长的影响

(单位:cm)

病原菌	PSA	PDA	CMA	燕麦
<i>F. oxysporum</i>	6.5	6.6	5.8	5.4
<i>F. solani</i>	4.1	4.0	3.7	3.4

3 结论与讨论

(1) 山东沿海地区刺槐溃疡病的主要病原菌是尖镰孢,其次为腐皮镰孢。目前尚未见有由尖镰孢引起刺槐溃疡病的报道。

(2) 刺槐溃疡病菌,可从根、干基、枝干及枝桠等部位伤口侵入,但以干基、根部为主,最后

导致全株或局部枝条枯萎、死亡。不同发病部位的症状略有不同,但病部都具有白色菌丝层着生有桔红色分生孢子座的病症。

(3) 该两菌均为土壤习居菌,在适温 25~30 条件下,湿度是发病的关键因素。在接种试验中,盆栽苗在室内保湿较好的情况下,发病早,发病率高,症状典型,病情严重;在室外,因大气湿度低,症状及病情较轻。在山东沿海,一般年份 7~8 月是该病原菌生长繁殖的适温时期,根据荣城市 1965~1992 年的气象数据,经筛选分析确认,7~8 月份的温、湿度与刺槐溃疡病发生流行密切相关,它是影响病原菌流行的主要因素,而 1 月份降温幅度和 6~7 月份降水量若都过大,可直接影响到刺槐树体本身,给病原菌的侵入创造了条件。1979 年和 1990 年刺槐溃疡病两度大流行,就是在这种综合条件下发生的。

参 考 文 献

- 1 黄世钰,王建国. 刺槐干腐病的研究. 林业科学, 1983, 19(4): 366~370.
- 2 Matuo T, Sakurai Y. Ann. Phytopath. SOC. Japan., 1965, 30: 31~36.
- 3 C 布斯(陈其斌译). 镰刀菌属. 北京: 农业出版社, 1988.
- 4 A N 拉依洛(王云章等译). 镰刀菌. 北京: 科学出版社, 1958.
- 5 张素轩. 镰刀菌属分类进展. 真菌学报, 1991, 10(2): 85~94.
- 6 魏景超. 真菌鉴定手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.

Studies on Pathogenic Fungus of Canker of Black Locust

Hong Ruifen Ji Yanping

Abstract Serious black locust canker occurs in Shandong coastal areas. Pathogenic fungi are identified as *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani*. Microconidia of the first aggregate a capitulum and develop on the single ampuliform conidiophore. Microconidium are elliptic and botuliform in shape, $7.6 \sim 15.4 \mu\text{m} \times 2.5 \sim 3.8 \mu\text{m}$ and macroconidium are falciform and cambiform with 3~5 septum, $28.2 \sim 38.4 \mu\text{m} \times 4.6 \sim 5.1 \mu\text{m}$. The diameters of chlamydospore are $8.9 \sim 12.8 \mu\text{m}$. For the second, microconidia grow on the elongated conidiophore and the shapes are broad-ovate and elliptic, $5.1 \sim 10.2 \mu\text{m} \times 2.5 \sim 4.8 \mu\text{m}$. Conidiophore are $30 \sim 80 \mu\text{m}$ in length. Macroconidium is blunt at both ends with 3~5 septum, $20.1 \sim 33.3 \mu\text{m} \times 2.6 \sim 5.4 \mu\text{m}$. Chlamydospore are $7.7 \sim 10.2 \mu\text{m}$ in diameters. The appropriate temperature for the colony growth is 25~30 with 28 as the optimum. The range of pH is 5~9 and micro-acid or neutrality is the most favourable. The best origin of carbon is sucrose or glucose, and peptone is best nitrogen source. *F. oxysporum* has stronger pathogenicity and is the main pathomycete of black locust canker.

Key words black locust, canker, pathogenetic fungus, *Fusarium oxysporum*