

文章编号: 1000-5692(2003)01-0044-05

高节竹梢枯病病原菌及其生物学特性

马桂莲¹, 胡国良², 俞彩珠³, 吴继来², 徐炳潮²

(1. 浙江省台州市黄岩区林业特产局 林业技术推广总站, 浙江 黄岩 317400; 2. 浙江省临安市森林病虫害防治站, 浙江 临安 311300; 3. 浙江林学院 生命科学学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 高节竹梢枯病是浙江临安市首次发现的新病害, 国内外至今未见报道。经多年反复的分离培养, 从病竹组织中只分离到一种真菌, 是暗孢节菱孢菌 *Arthrinium phaeospermum* (Corda) M. B. Ellis。通过对当年新竹在室内外和有伤无伤的多次重复接种和再分离, 充分证明暗孢节菱孢有较强的致病力, 能引起与自然发病相一致的症状。病原菌菌丝生长的适宜温度为 15~30℃, 最适温度为 25℃; 适宜的 pH 值为 5~10, 最适的 pH 值为 6~8; 分生孢子萌发的适宜温度为 20~30℃, 最适温度为 28℃; 分生孢子萌发最适宜的 pH 值为 6, 分生孢子在竹汁水中萌发最适宜, 光照可促进分生孢子发芽。表 9 参 5

关键词: 高节竹; 梢枯病; 病原菌; 生物学特性; 暗孢节菱孢菌

中图分类号: S763.15 **文献标识码:** A

高节竹 *Phyllostachys prominens* 梢枯病是在浙江省临安市首次发现的新病害。该病在 80 年代末开始发生, 90 年代以来日趋严重, 已成为危害高节竹最严重的一种病害, 严重影响笋用竹的生产。该病国内外至今未见报道。90 年代来我们开始对该病进行了系统的研究。本文着重报道高节竹梢枯病病原和病原菌的生物学特性。

表 1 高节竹和雷竹梢枯病病组织分离结果

Table 1 Separating results of plum shoot wilt tissues of *Phyllostachys prominens* and *Phyllostachys pubeox*

分离次数	分离部位及寄生	分离块数	长菌落块数	分离率/ %
1	高节竹病枝节叉	37	37	100
2	高节竹病枝	33	24	72.7
3	高节竹竹秆	122	112	91.0
4	高节竹病枝	40	36	90.0
5	高节竹竹秆腔内菌丝	14	14	100
6	高节竹病上的分生孢子	20	20	100
7	雷竹竹秆	52	52	100
8	高节竹竹秆	32	31	96.9
9	尖头青竹秆	30	27	90.0
10	高节竹小枝节叉处	69	52	75.4

1 致病性测定

1.1 病组织的分离培养

几年来多次采集当年的新病株, 取病竹秆、病竹枝的病健交界组织, 削去表层组织, 然后剪成 2 mm × 3 mm 的小块组织, 在无菌操作条件下, 用常规分离法, 置于 PDA 培养基上^[1~3], 在 27℃ 的温度下培养, 3 d 后观察病组织的菌落和分离率(表 1)。

从表 1 可见, 对不同时期和不同地点采集的各种病竹进行多次组织分离, 得到的均是具有较高分离率的同一种暗孢节菱孢菌 *Arthrinium phaeospermum*, 分离率高达 72.7%~100%。

1.2 接种试验

几年来, 我们将分离所得的暗孢节菱孢菌进行室外活竹和室内离体水培竹接种。用 2 种方法接

收稿日期: 2002-06-27; 修回日期: 2002-11-04

作者简介: 马桂莲(1968-), 女, 浙江东阳人, 工程师, 从事森林病虫害防治研究。

种, 一种方法是把小枝掰下, 然后用镊子取一块带培养基的新鲜暗孢节菱孢菌菌落放在伤口处, 后用尼龙布包扎起来。20~30 d 后剥开尼龙布, 检查发病情况。另一种方法是当年新竹放枝展叶期, 用镊子取一块带培养基的新鲜暗孢节菱孢菌菌落, 直接放在小枝或枝梢节叉处, 后用尼龙布包扎起来, 20~30 d 后, 剥开尼龙布, 检查发病情况。对照分别用无菌培养基。接种情况见表 2。

由表 2 可看出, 近几年来, 将高节竹、尖头青竹 *Phyllostachys acuta* 和雷竹 *Phyllostachys praecox* 上分离的梢枯病病菌, 在临安板桥、高虹、集贤、城关和实验室内外, 分别对高节竹、尖头青和雷竹进行室内外接种 7 次, 共接 63 株, 发病率达 100%。

1.3 病组织的再分离

将接种后发病的病竹或病枝进行再分离^[2~3]。分离 6 次, 共分离 233 片, 长暗孢节菱孢菌菌落的 225 片, 分离率达 94.8%。对照分离 176 片, 均不长菌落。接种株发病症状同自然发病症状, 再分离得到的菌形态与接种菌相同, 均是暗孢节菱孢菌, 符合柯赫定律, 从而证明此菌是引起梢枯病的致病菌(表 3)。

可见, 接种后病组织再分离率最低为 88%, 多数都在 90% 以上。对照均不长菌, 出现的症状与自然发病相同。

2 致病菌的鉴定

经鉴定, 梢枯病的致病菌为暗孢节菱孢菌 *Arthrinium phaeospermum* (Corda) M. B. Ellis, 属于半知菌亚门丝孢纲节菱孢属^[1]。在 PDA 培养基上气生菌丝发达, 棉絮状, 初为白色, 尔后逐渐为灰白色, 直径为 0.8~2.4 μm 。菌落底部可呈褐色。分生孢子单细胞, 圆形、椭圆形或透镜状(橄榄形), 以圆形为多, 而透镜状(橄榄形)分生孢子中间有 1 条无色的发芽缝。分生孢子暗褐色, 圆形

孢子直径为 3.0~6.6 μm , 椭圆形或橄榄形(透镜状)分生孢子为 4.8~6.6 $\mu\text{m} \times 3.0 \sim 3.6 \mu\text{m}$ 。分生孢子梗纤细, 无色不分枝, 长 2.2~55.0 μm , 宽 1.0~1.5 μm , 具有少量淡褐色横隔。分生孢子梗从烧瓶状的母细胞伸出, 顶生 1 个分生孢子后, 分生孢子梗从基部不断伸长, 侧生一系列向基性陆续形成的分生孢子。

3 病原菌生物学特性测定

从高节竹的病秆和病枝中分离所得的菌落(菌丝体和分生孢子)进行下列各项试验^[2~5]。

3.1 温度对病原菌菌落生长的影响

将菌落圆片移殖于 PDA 培养基上, 放置于 0~40 $^{\circ}\text{C}$ 的不同温度下, 每一温阶设 3 个重复, 每隔 3 d, 5 d, 7 d, 分别测量菌落大小(表 4)。由表 4 可知, 暗孢节菱孢菌的菌丝适宜生长温度为 15~30 $^{\circ}\text{C}$, 最适宜为 25~28 $^{\circ}\text{C}$, 低于 10 $^{\circ}\text{C}$ 或超过 30 $^{\circ}\text{C}$ 生长不好。

表 2 病原菌室外接种试验结果

Table 2 Results of outdoor pathogenic fungoid inoculation experiment

次序	方法	接种对象	接种株数/株	接种部位	发病株数/株	发病率/%
1	伤口	高节竹	6	竹秆下部	6	100
	对照		4		0	0
2	伤口	高节竹	16	竹秆节叉处	16	100
	对照		4		0	0
3	伤口	高节竹	8	竹秆节叉处	8	100
	对照		4		0	0
4	无伤	高节竹	8	竹秆节叉处	8	100
	对照		8		0	0
5	伤口	尖头青竹	8	竹秆节叉处	8	100
	对照		4		0	0
6	伤口	雷竹	11	竹秆节叉处	11	100
	对照		3		0	0
7	伤口	高节竹	6	竹秆节叉处	6	100
	对照		3		0	0

表 3 病组织再分离结果

Table 3 Re-separation results of sick tissue

分离次序	寄主名称	分离部位	分离块数/块	长菌块数/块	再分离率/%
1	高节竹	病竹秆	34	30	88.0
		对照	46	0	0
2	尖头青	病竹秆	35	33	94.0
		对照	25	0	0
3	高节竹	病枝	72	68	94.4
		对照	30	0	0
4	雷竹	枝叉	18	17	94.4
		对照	15	0	0
5	高节竹	竹秆	42	42	100
		对照	30	0	0
6	高节竹	竹秆	32	32	100
		对照	30	0	0

表4 温度对病原菌菌落直径生长的影响

Table 4 Temperature's effect on the diameter of pathogenic fungoid colony

温度/ °C	第3天				第5天				第7天			
	重复I	重复II	重复III	平均	重复I	重复II	重复III	平均	重复I	重复II	重复III	平均
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	1.00	1.00	1.00	1.00	4.00	4.00	3.00	3.67	17.00	11.00	15.00	14.33
15	5.00	2.00	6.00	4.33	15.00	10.00	14.00	13.00	28.00	23.00	27.00	26.00
20	21.00	17.00	15.00	17.67	25.00	24.00	26.00	25.00	33.00	31.00	35.00	33.00
25	17.00	23.00	21.00	17.00	26.00	37.00	37.00	33.33	43.00	56.00	31.00	43.33
27~28	15.00	15.00	15.00	15.00	32.00	48.00	28.00	36.00	33.00	42.00	56.00	43.67
30	16.00	17.00	12.00	15.00	19.00	30.00	22.00	23.67	31.00	35.00	25.00	30.33
35	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	4.00	4.00	3.67	6.00	4.00	4.00	4.67
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3.2 温度对分生孢子萌发的影响

将分生孢子制成竹汁水悬浮液, 孢子浓度每视野 (8×10) 20~30个, 用滴管滴入凹形玻片中, 置于20~30 °C的不同温度下, 12 h后检查孢子萌发率(表5)。

从表5可得, 分生孢子萌发适宜温度为20~30 °C, 最适宜温度为28 °C。

表5 温度对孢子萌发的影响

Table 5 Temperature's effect on the sprouting of spore

温度/°C	萌发率/%			
	重复I	重复II	重复III	平均萌发率
15	10.3	12.7	21.7	14.9
20	40.1	44.1	45.1	43.1
25	46.7	53.3	52.2	50.7
28	77.1	86.4	81.8	81.8
30	29.2	20.0	25.0	24.7

3.3 pH值对病原菌菌落生长的影响

用0.1 mol·L⁻¹HCl和0.1 mol·L⁻¹NaOH将PDA培养基的pH值分别调节到2~12, 然后将菌落圆片移殖于培养皿中, 每皿1块, 3个重复, 放入25 °C培养箱中培养, 在第3天、第5天和第7天观察菌落情况(表6)。可知, 暗孢节菱孢菌生长对pH值的适宜范围较大, 在pH值2.5~11.5内均能生长, 但pH值以5.0~9.0生长最好, 当pH值低于2.5或高于11.5时, 均不生长。

表6 pH值对病菌菌落生长的影响

Table 6 pH value's effect on the sick fungoid colony

pH值	第3天				第5天				第7天			
	重复I	重复II	重复III	平均	重复I	重复II	重复III	平均	重复I	重复II	重复III	平均
2.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	0	4.0	5.5	4.5	4.67	7.0	8.0	5.0	6.69
3.0	5.5	5.0	5.5	5.33	9.0	8.5	11.0	9.5	18.0	14.5	17.5	16.67
4.0	11.0	12.5	15.0	12.83	28.0	31.5	29.8	29.76	45.0	43.0	44.0	44.0
5.0	38.5	38.5	39.5	38.83	70.0	68.0	70.0	69.33	90.0	90.0	90.0	90.0
6.0	46.5	48.0	45.0	46.50	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
7.0	44.0	52.0	54.0	50.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
8.0	53.0	52.5	44.5	50.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
9.0	33.0	33.0	32.0	32.67	79.0	80.0	81.0	80.0	90.0	90.0	90.0	90.0
10.0	22.0	19.5	20.0	20.5	46.0	52.0	59.5	52.5	90.0	90.0	74.0	84.67
11.0	10.0	11.0	12.5	11.7	19.0	22.5	23.5	21.67	38.5	38.5	34.0	37.5
11.5	0	0	0	0	4.0	5.5	4.5	4.67	11.0	11.0	8.5	10.0
12.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3.4 pH值对孢子萌发的影响

先将竹汁水的pH值分别调节到3, 4, 6, 8, 10, 12, 13, 然后将病菌孢子制成悬浮液, 滴到凹形玻片上, 温度在25 °C下培养18 h后, 镜检孢子萌发率(表7)。从上表可见, pH值在4~12范围内孢子均能萌发, 其中以pH值6最合适, pH值小于4或大于12几乎不能萌发。

3.5 培养液对孢子萌发的影响

分别用清水、5%葡萄糖水、5 mg·kg⁻¹的萘乙酸水和 20%的竹汁水配制孢子悬浮液, 然后用滴管滴入凹形玻片中, 每种 3 个重复, 放入 25 °C 的培养箱内, 然后在 9 h, 14 h, 18 h, 30 h, 36 h, 40 h 观察孢子萌发情况 (表 8)。从表 8 可看出, 分生孢子在竹汁液中萌发快, 萌发率最高, 其次是 5%葡萄糖水, 清水中孢子萌发最差。

表 7 pH 值对孢子萌发的影响

pH 值	Table 7 pH value's effect on the sprouting of spore						平均
	重复 I		重复 II		重复 III		
	左→右	上→下	左→右	上→下	左→右	上→下	
3	2.0	0	0	0	0	0	0.33
4	24.0	26.0	26.0	22.0	27.0	25.0	24.30
6	100.0	100.0	98.0	100.0	99.0	100.0	299.50
8	80.0	84.0	80.0	74.0	79.8	81.0	79.80
10	52.0	48.0	48.0	56.0	55.0	52.0	51.83
12	12.0	8.0	8.0	10.0	9.0	11.0	9.70
13	0	0	0	0	0	0	0

表 8 培养液对孢子萌发的影响

培养液	9 h		14 h		18 h		30 h		36 h		40 h	
	萌发率/%	芽管长/ μm	萌发率/%	芽管长/ μm	萌发率/%	芽管长/ μm	萌发率/%	芽管长/ μm	萌发率/%	芽管长/ μm	萌发率/%	芽管长/ μm
清水	0	0	3.3	1.2	7.6	1.86	8.7	2.7	9.6	2.8	9.6	2.99
竹汁液	49.8	10.2	100	53.6	100	菌丝	100	菌丝	100	菌丝	100	菌丝
5%葡萄糖	31.2	5.44	48.8	12.24	67.6	24.28	96	43.6	100	菌丝	100	菌丝
5 mg·kg ⁻¹ 的萘乙酸	0	0	0	0	18	4.08	29.2	10.8	30.0	15.2	35	20.0

3.6 光照对孢子萌发的影响

选用 20%竹汁水, 20%竹汁水+5 mg·kg⁻¹萘乙酸, 20%竹汁水+5%葡萄糖, 20%竹汁水+5 mg·kg⁻¹萘乙酸+5%葡萄糖, 清水, 将孢子分别配成悬浮液, 滴入凹形玻片中, 3 个重复, 分别放入 25 °C 的有光照和无光照的培养箱中, 经过 8 h, 11 h, 20 h 后观察孢子发芽情况 (表 9)。

表 9 光照和培养液对病菌孢子萌发的影响

Table 9 Lighting and culture liquid's effects on the sprouting of spore

培养液	光照培养箱						普通培养箱 (暗)					
	8 h		11 h		20 h		8 h		11 h		20 h	
	萌发率/%	芽管长/ μm	萌发率/%	芽管长/ μm	萌发率/%	芽管长/ μm	萌发率/%	芽管长/ μm	萌发率/%	芽管长/ μm	萌发率/%	芽管长/ μm
竹汁水	48.0	11.0	96	41.8	100	50.0	26	6.6	94	30.8	100	52.0
竹汁水+5 mg·kg ⁻¹ 萘乙酸	0	0	0	0	88.0	41.8	0	0	0	0	14.0	13.2
竹汁水+5%葡萄糖	0	0	0	0	86.0	33.0	0	0	0	38.0	44.0	
竹汁水+5 mg·kg ⁻¹ 萘乙酸+5%葡萄糖	0	0	0	0	50.0	61.6	0	0	0	0	14.0	8.8
清水	0	0	10	0	54.0	37.4	0	0	18.0	11.0	60.0	37.4

从表 9 可以看出, 光照可以促进孢子的萌发。

4 结论

①经多年反复的分离培养试验, 从自然发病的病竹组织内分离到一种菌种, 经鉴定是暗孢节菱孢菌。②通过对当年新竹在室外室内和有伤无伤多次重复接种和再分离试验, 充分证明暗孢节菱孢菌有较强的致病力, 能引起与自然发病相一致的症状。③通过测定, 分生孢子萌发适宜的温度为 20~30 °C, 最适宜温度为 28 °C。菌丝生长的适宜温度为 15~30 °C, 最适宜温度为 25~28 °C。④分生孢子萌发最适宜的 pH 值为 6; 菌丝生长最适宜的 pH 为 6~8。⑤孢子在竹汁液中萌发快, 萌发率高。光照可促进孢子萌发。

参考文献:

- [1] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [2] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1979.
- [3] 陈继团, 汪祖潭, 俞彩珠. 香果树苗木湿腐病的研究[J]. 浙江林学院学报, 1991, 8(1): 85-92.
- [4] 姜凤丽. 朱顶兰红斑病发病规律及防治的研究[J]. 浙江林学院学报, 1993, 10(4): 427-432.
- [5] 俞彩珠, 林明旺, 李荣标. 山楂枝枯病初步研究[J]. 浙江林学院学报, 1995, 12(3): 268-270.

Phyllostachys prominens plum shoot wilt pathogenic fungoid and its biological characteristics

MA Gui-lian¹, HU Guo-liang², YU Cai-zhu³, WU Ji-lai², XU Bing-chao²

(1. Forest Enterprise of Huangyan of Taizhou City, Huangyan 317400 Zhejiang China; 2. Forest Disease and Insect Pest Control and Quarantine Station of Lin'an City, Lin'an 311300 Zhejiang China; 3. Faculty of Life Science, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300 Zhejiang China)

Abstract: *Phyllostachys prominens* plum shoot wilt is a new disease first discovered in Lin'an, Zhejiang. There are no concerned reports domestically and abroad. After years repeated separating culture, *Arthrinium phaeospermum* (Corda) M. B. Ellis, a fungoid is separated from sick *Phyllostachys prominens* tissue. By repeated inoculation and re-separation in different conditions, *Arthrinium phaeospermum* (Corda) M. B. Ellis is proved to have a rather strong pathogenic ability, which can cause the same symptoms as those caused by natural disease. The suitable temperature for the growth of pathogenic fungoid is 15~30 °C and the best temperature is 25 °C. The suitable pH value is 5~10, and the best pH value is 6~8. The suitable temperature for the sprouting of conidia is 20~30 °C, and the best temperature is 28 °C. The best pH value is 6. It's suitable for conidia to sprout in the bamboo juice. Lighting can promote the sprouting of conidia.

Key words: *Phyllostachys prominens*; plum shoot wilt; pathogenic fungoid; biological characters; *Arthrinium phaeospermum*