

枣缩果病病原研究

徐 樱

郑晓莲 赵光跃 茆正川

(中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100081)

(河北农业大学植物保护系, 保定 071001)

摘 要 1992~1994年在河北省和河南省8个县采集枣缩果病病果,经柯赫法则程序诊断及对分离菌的鉴定,查明导致枣缩果病原主要是:1. 盾壳霉属的一种真菌 *Coniothyrium* sp.; 2. 细链隔孢菌 *Alternaria tenuis* Nees; 3. 半知菌亚门无孢目有隔有色丝状菌; 4. 一种细菌。前三种均属半知菌亚门的弱寄生菌,年份和地区的不同分离菌出现频率不完全一致。上述四种菌三年累计分离率分别为14.90%、12.96%、11.47%和11.11%,而这四种菌占已出现的菌落比率分别为30.28%、25.79%、23.30%和20.63%。

关键词 枣缩果病 分离培养 接种 病原鉴定

枣缩果病又名枣干腰缩果病,雾抄病,雾落头、褐腐病等,近几年在北方一些地区日趋严重,1994年河北省严重发生,重病区落果率达60%以上,仅唐县木兰村减少产值约50万元,有的绝产弃林。关于枣缩果病原河南新郑县陈贻金等^[1]报导为噬枣欧氏杆菌(*Erwinia jujubovora* Wang Cai Feng Gao),北京林业大学曲俭绪等^[2]报导为聚生小穴壳菌(*Dothiorella gregaria* Sacc)与我们对病原的诊断结果差异较大。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 标样采集 1992~1994年从河北唐县、河南新郑县等八县采集病鲜果和病落果,置冰箱中待分离。

1.1.2 病果分离 病果用75%酒精消毒→置0.1%升汞水中1min→无菌水洗三次→取病组织放入P.D.A培养基中→25℃温箱中7~10天检查。

1.2 方法

1.2.1 大田接种 1993年7月7日~9日在唐县羊角乡从未发生缩果病的枣园接种;对真₁、真₂及细菌用孢子悬浮液接种,对真₃不产孢用条状菌落贴于枣果表面,在接种枝条上放一个吸了水的脱脂棉,外套塑料袋扎紧保湿24h,有太阳光时塑袋外以报纸遮阴。

1.2.2 室内离体接种 从无病区采枣果,接种方法同大田,接种后在保湿器内保湿置25℃温

箱中。

1.2.3 再分离 将大田及离体接种的病枣果再分离,观察并镜检分离菌。

1.2.4 真菌鉴定 真₁的分生孢子器用冷冻切片测量,其它真菌挑菌制片测量。

2 结果与分析

2.1 枣缩果病病果分离菌种类及其归属

1992~1994年共分离病枣果431个,分离病组织2382块,集中出现了三种真菌及一种细菌,分别用真₁、真₂、真₃及细表示,其培养性状及分类地位(表1)如下:

真₁:菌落近圆形,初表面浅灰色后黄褐色,菌落表面产生黑亮小点,为分生孢子器,老熟菌落背观黑色。镜检菌丝浅褐色平均宽 5.73μ 。分生孢子器长椭圆形、圆形或洋梨形不一,孔口略突起,在PDA培养基上半埋生(病果上未见子实体),分生孢子器尺度 $135\sim 300\mu(178\mu)\times 85\sim 215\mu(134\mu)$ 。器壁厚平均 $23.96\mu(15\sim 30\mu)$,器孔口宽平均 $41.7\mu(35\sim 50\mu)$,分生孢子卵圆形灰-褐色,平均 $6.05\mu\times 4.71\mu$,全壁芽生式产孢。据此鉴定为半知菌亚门盾壳霉属的一个种 *Conithyrium* sp。

真₂:菌落近圆形表面墨绿色,背观黑色。菌丝暗黑色,砖隔或多隔锥形,啄尖和啄长不超过孢子长的 $1/3$,分生孢生串生尺度 $8.86\sim 20.95\mu(4.77\sim 12.20\mu\times 10.61\sim 47.75\mu)$ 分生孢子梗明显曲膝状。鉴定为半知菌亚门细交链孢菌 *Alternaria tenuis* Nees。

真₃:菌落近圆形,正面灰白色,背观黑色,气生菌丝旺盛纠集成灰白色块状菌丝团。菌丝暗色,具隔,锐角分支,粗细不均,平均宽 $4.8\mu(2.65\sim 7.43\mu)$,经各种方法诱导均不产孢,初步鉴定为半知菌亚门无孢目有隔有色丝状菌。金丝小枣软果病分离菌全部是真₃。

细菌:菌落近圆形,表面光滑乳白色-土黄色边缘不整齐,呈锯齿状。此菌待鉴定。

2.2 枣缩果病分离菌出现频率

1992~1994年三年累计真_{1,2,3}及细菌出现频率分别为14.90%、12.69%、11.47%和10.66%(表1),这四种菌所占比重分别为30.28%、25.79%、23.30%的20.63%。不同年份各菌种出现频率不尽相同,表现出年份间侵染的随机性,但三年累计或分年计算从高到低的顺序均为真₁、真₂、真₃及细菌。

从表1可以看出,枣缩果病菌分布具有地区性。同是1993年病果,从河北羊角村的标样中分离出四种菌,而从永清县的标样中,只分离到真₁及细菌,从河南新郑县分离到真₃及细菌,说明枣缩果病的四种菌在各个地区的侵染及发病不平衡。

图1显示了病果分离菌的消长。对表1的1994年7月7日~9月10日河北唐县木兰村分期采样分离菌消长情况绘成图1,从图中可以看出,在7月24日前枣果无分离

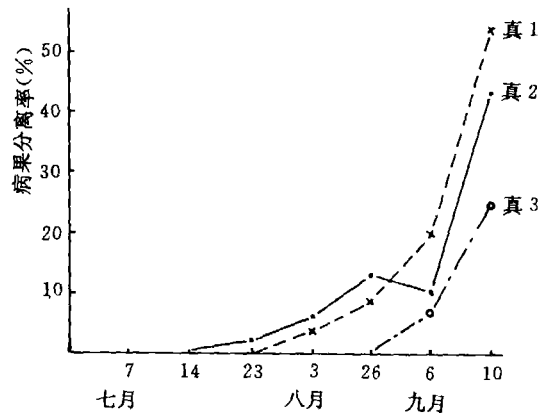


图1 病果分离菌的消长

菌,此时未受侵染;从8月3日~8月26日分离菌明显增长,至9月10日达到高峰,此时正值发病期并开始落果。我们曾用套袋法研究枣缩果病的侵染时期,但套袋后枣果陆续萎蔫,试验难以进行。

2.3 分离菌的接种及再分离

大田接种 1993年7月9日~7月11日在羊角村一块从未发生过缩果病的枣园接种,到7月19日只有一个枣果呈水浸状,以后陆续发病,8月初病果脱落(表2)

表1 1992~1994年枣缩果病病果分离结果

采 样 时 间	采 样 地 点	分离枣果 数(个)	分离组织 计数(块)	分 离 菌 落								种 类
				真 ₁		真 ₂		真 ₃		细		
				菌落数(个)	分离率(%)	菌落数(个)	分离率(%)	菌落数(个)	分离率(%)	菌落数(个)	分离率(%)	
1993-08-09	河北唐县羊角村 (鲜)	50	410	19	4.63	13	3.17	21	5.12	156	38.04	大枣
1993-12-29	河北唐县单城村 (落)	32	159	0	0	11	6.92	2	1.26	34	21.38	大枣
1993-08-28	河北唐县木兰村 (鲜)	33	214	31	14.50	58	27.10	0	0	4	1.97	大枣
1993-09-27	河北唐县羊角村 (鲜)	20	100	48	48.00	2	2.00	30	30.00	2	2.00	大枣
1993-11-01	河北永清县大清 堡村(落)	17	85	26	30.59	0	0	0	0	5	5.88	大枣
1993-11-25	河北曲阳县青山 村(落)	14	70	27	38.57	0	0	0	0	0	0	大枣
1993-09-13	河南省新郑县孟 庄(鲜)	44	220	0	0	0	0	147	66.81	15	6.82	大枣
1994-07-07	河北唐县木兰村 (鲜)	40	200	0	0	0	0	0	0	0	0	大枣
1994-07-14	河北唐县木兰村 (鲜)	11	55	0	0	0	0	0	0	0	0	大枣
1994-07-23	河北唐县木兰村 (鲜)	20	100	0	0	2	2.00	0	0	0	0	大枣
1994-08-03	河北唐县木兰村 (鲜)	25	125	5	4.00	8	6.40	0	0	0	0	大枣
1994-08-26	河北唐县木兰村 (鲜)	20	100	9	9.00	13	13.00	0	0	0	0	大枣
1994-09-06	河北唐县木兰村 (鲜)	27	135	27	20.00	14	10.37	10	7.14	0	0	大枣
1994-09-10	河北唐县木兰村 (鲜)	15	94	51	54.26	40	42.55	23	24.47	0	0	大枣
1994-08-26	河北唐县羊角村 (鲜)	20	100	23	23.00	28	28.00	0	0	0	0	大枣
1994-08-10	河北省沧县(鲜)	9	45	9	20.00	8	17.78	0	0	0	0	大枣
1994-08-25	河北省河间县 (鲜)	15	75	20	26.67	45	60.00	0	0	0	0	金丝小枣
1994-08-15	河北省献县(鲜)	10	50	11	22.00	15	30.00	5	10.00	0	0	金丝小枣
1994-09-14	河南省濮阳(鲜)	9	45	11	24.44	13	28.89	6	13.32	0	0	大枣
	∑	431	2127**	317	335.03	270	278.18	244	157.74	216	10.66	

*“鲜”是指从树上采的病鲜枣,“落”是指采的病落果 ** 不包括1994年7月7日及7月14日两次未分出任何菌的组织块。

离体接种 离体接种与田间症状不完全相同,特点是枣果先变红后局部变软到全果变软。

表2 分离菌大田接种结果

接种菌	接种枣果数(个)	发病数(个)	病果率(%)	落果时间
真 ₁	69	21	30.43	8月中开始落果
真 ₂	156	135	86.54	8月上旬落果
真 ₃	47	6	12.77	8月中有落果
细菌	133	56	42.11	8月中落果较多
对照(清水)	128	0	0	

表3 离体接种结果 (1993年10月接种)

接种菌	接种枣果数(个)	病果数(个)	病果率(%)
真 ₁	50	36	72
真 ₂	50	40	80
真 ₃	50	22	44
细菌	50	17	34

表4 大田接种病果再分离

枣果接种菌	分出枣果数(个)	分出组织数(块)	出现原接种菌落数(个)	分离率(%)
真 ₁	52	286	38	13.29
真 ₂	43	234	94	40.17
真 ₃	16	80	9	11.75
细菌	13	114	13	11.40

表5 离体接种枣果再分离

枣果接种菌	分出枣果数(个)	分出组织数(块)	出现原接种菌落数(个)	分离率(%)
真 ₁	17	128	32	25.00
真 ₂	20	98	40	40.82
真 ₃	15	45	6	13.33
细菌	19	63	6	9.52

接种病枣果再分离 从表2~5可以有如下结论:(1)用四种菌大田回接及室内离体接种均导致发病,病果率大田12.77%~86.54%,离体34.00%~80.00%,表明接种成功;(2)大田及离体接种病果再分离均出现原菌种分离率大田9%~94%,离体6%~40%,说明四种菌均是枣缩果病病原菌;但从病果分离率、回接病果率及再分离出现率都说明真₁(*Coniothyrium* sp.),真₂(*Alternaria tenuis* Nees)是枣缩果病的主要病原。

3 结论与讨论

1992~1994年对河北省和河南省的八个县枣缩果病分离出431个病果,2127块组织,集中出现三种真菌及一种细菌,三年累计平均分离率真₁为14.90%,真₂12.69%,真₃11.47%、细菌10.66%;这四种菌之间比例为32.28:25.79:23.30:20.63。

用四种分离菌在大田、离体接种均可发病,回接病果再分离出现原分离菌;因此经柯赫法则程序证明以上四种菌为枣缩果病病原。经鉴定,真₁为半知菌亚门盾壳霉属的一个种*Coniothyrium* sp.(种待鉴定);真₂为半知菌亚门细链格孢*Alternaria tenuis* Nees;真₃为半知菌亚门无孢目有隔有色丝状菌。细菌待鉴定。此外枣缩果病分离菌还出现*Fusarium* sp.,分离率约1%~4%,用此菌接种也可以导致发病。因此枣缩果病是由*C.* sp.,*A. tenuis* Nees等3、4种真菌和一种细菌侵染所致的病害;这几种真菌都是半知菌亚门的弱寄生菌。从此病的病原及为害性分析类似于苹果霉心病,病原种类多,发病迅速,防治难度大。

关于枣缩果病病原河南新郑县、北京林业大学以及本研究的结果之间都很不一致。枣缩果病病原种类多,其侵染及侵染后的相互关系和发病的内在因素,以及枣缩果病发病规律,流行条件等问题尚待深入研究。

鸣谢:真菌鉴定承沈阳农大植保系白金铠教授、河北农大植保系张志铭教授指导,特此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 陈贻金等. 枣缩果病及其防治技术研究. 林业科技通讯, 1989(8): 1~4
- 2 曲俭绪等. 枣褐腐病病原研究. 森林病虫通讯, 1992(2): 1~4
- 3 魏景超. 真菌鉴定手册. 上海科学出版社, 1977
- 4 张中义等. 植物病原真菌. 成都: 四川科技出版社, 1988
- 5 巴尼特 HL 著, 沈崇尧译. 半知菌分类图解. 北京: 科学出版社, 1977
- 6 方中达. 植病研究法. 北京: 农业出版社, 1977

Aetiologic Studies on Fruit Shrink of Jujube

Xu Ying

(Chinese Academy of Agricultural Sciences , Beijing)

Zheng Xiaolian Zhao Guangyao Mao Zhengchuan

(Department of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding)

Abstract Diseased fruits of jujube fruit shrink were collected in eight counties of Hebei and Henan provinces. Pathogens which were isolated from diseased fruits were diagnosed and identified according to Koch's principles. The pathogens are *Coniothyrium* sp. , *Alternaria tenuis* Nees, a fungus belonged to Agonomycetales and a kind of bacterium. The former three are all weak parasitic fungi belonged to Deuteromycotina. Different appearing frequencies were obtained in different years and locations. From 1992 to 1994 the total isolating rates of the four pathogens were 14. 9%, 12. 96%, 11. 47% and 11. 11%, respectively. The proportions among the four pathogens were 30. 28%, 25. 79%, 23. 30% and 20. 63%.

Key words: Fruit shrink of jujube; Isolation and culture; Inoculation; Identification of pathogens