

王晓敏,张燕,龚德勇. 贵州续随子主要病害病原菌的分离鉴定[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):121-122.

贵州续随子主要病害病原菌的分离鉴定

王晓敏,张燕,龚德勇

(贵州省亚热带作物研究所,贵州兴义 562400)

摘要:通过柯赫氏法则,采用组织分离法结合病原菌显微镜形态观察,对在贵州栽培种植的续随子发生的立枯病、褐斑病及灰霉病病原菌进行鉴定。结果表明,立枯病病原菌为木贼镰孢菌[*F. equiseti* (Corda) Sacc.],褐斑病病原菌为假尾孢属(*Pseudocercospora spegazzini*)真菌,灰霉病病原菌为灰葡萄孢真菌(*B. cinerea* Pers.)。

关键词:续随子;病害;病原菌;鉴定

中图分类号:S435.671 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)09-0121-02

续随子(*Euphorbia lathyris* L.),又叫千金子、小巴豆。为大戟科大戟属植物,在全国多个地区均有分布,可作为中药治疗小便不通、水肿等病症。近几年研究发现,续随子种子含油率达 45% 以上,提取的油脂以 C₁₆、C₁₈ 脂肪酸为主,与理想柴油替代品的分子组成相类似,是一种理想能源作物^[1]。

贵州亚热带作物研究所通过对续随子环境适应性、生物学特性及栽培技术等一系列的研究发现,续随子在贵州的生长环境为海拔 400~2 000 m,年均温 14~20℃ 的地区。但受高温高湿气候条件的影响,续随子在整个生育期均可发生病害。一般发病率 10%~15%,严重的高达 30%~40%。经调查,初步确定有立枯病、褐斑病、灰霉病等病害^[2-5]。但对这几种病害的病原菌种类尚不明确,为了有效控制续随子病害的发生及蔓延,本研究采用常规组织分离法结合病原菌形态观察,对续随子病害的病原菌进行分离、鉴定。

1 材料及方法

1.1 材料

供试续随子病样采集于贵州亚热带作物研究所兴义续随子种植试验基地。

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)。

1.2 病菌的分离培养与纯化

按常规组织分离法进行病菌分离,分离病原菌前准备好已经滴入 1~2 滴 25% 乳酸溶液 PDA 平板。采回发病植株,选取发病部位,用自来水冲洗干净,取病健交界处病斑组织数小块(3~5 mm),在无菌条件下先放入 70% 乙醇浸泡 10 s 再转移至 0.1% 升汞 2~3 min 浸泡进行消毒处理,经无菌水洗 3 次后移入 PDA 平板上,PDA 平板置 25℃ 培养箱培养,定期观察记载,并及时对分离组织长出的菌落进行纯化培养。

1.3 致病性测定

按柯赫氏法则,将分离纯化后得到的病原菌菌落转接斜面培养基进行扩大培养。待分生孢子大量产生后用无菌水配成孢子悬浮液,用小型喷雾器将孢子悬浮液喷洒在健康续随子的叶片正背面,使其充分湿润,喷毕立即放入人工气候箱进行保温(25~30℃)保湿(99%)培养直至出现初期症状,试验设喷清水作对照,并作相同管理。接种后,每天对植株发病情况进行观察记载,出现典型症状后,取发病部位进行再分离,并与原接种菌比较。

1.4 病原菌鉴定

将菌株接种于 PDA 平板,放入 25~30℃ 恒温条件下培养,待菌落长成后,观察菌落颜色、形状、气生菌丝的疏密程度等;产孢后在显微镜下观察其产孢结构及分生孢子的形态,并用带测微尺的显微镜测量分生孢子大小等。并取子实体进行显微镜观察,根据其形态特征和测量结果,参照文献[6],进行病原菌鉴定。

2 结果与分析

2.1 立枯病症状及病原菌特征

病害症状:续随子立枯病发病期主要在播种出苗至开花

收稿日期:2013-03-11

基金项目:贵州省农业科学院研究生创新基金[编号:黔农科合(创新基金)2010014号];贵州省科研院所创新能力建设项目[编号:黔科合院所创能(2010)4007号]。

作者简介:王晓敏(1982—),女,贵州安顺人,助理研究员,主要从事特种油料植物创新利用研究。E-mail:wxmgzu@163.com。

[5] Roberts D W, St Leger R J. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects[J]. Adv Appl Microbiol, 2004, 54: 1-70.

[6] 蒲蛰龙. 害虫生物防治的原理和方法[M]. 北京: 科学出版社, 1978.

[7] 蒲蛰龙. 昆虫病理学[M]. 广州: 广东科学技术出版社, 1994: 348-356.

[8] 徐庆丰. 白僵菌的防虫作用及其在应用上的一些问题[J]. 昆虫知识, 1964, 8(6): 296-299.

[9] 关志苗. 水分活度及其在水产食品保藏上的意义[J]. 水产科学, 1996, 15(2): 35-37.

[10] 田甜, 李瑞军, 陆秀君, 等. 保定蝗区土壤绿僵菌对飞蝗高毒力菌株的筛选[J]. 植物保护, 2009, 35(5): 65-69.

[11] 张立红, 李瑞军, 陆秀君, 等. 对张北小菜蛾高毒力白僵菌菌株的筛选[J]. 植物保护, 2009, 35(1): 121-123.

[12] 孙鹏飞, 陈斌, 李正跃, 等. 球孢白僵菌不同菌株生物学特性及对小菜蛾的毒力研究[J]. 云南农业大学学报, 2007, 22(5): 635-638, 644.

结实前(一般为当年8月至次年3月),从幼苗期到结实期都可发生,特别是幼苗期发病较重,容易造成猝倒死苗。在子叶期到3~5片真叶期受高温高湿影响连续子立枯病发生严重,发病部位为茎部和叶片。发病初期叶片变暗绿,近土面的幼茎基部呈红褐色或黑褐色的水渍状病斑,有的环绕茎部感染蔓延,有的在茎的一侧感染蔓延呈长条状,感病部位缢缩腐烂,然后整株逐渐枯死,但叶片不脱落,雨天倒地死亡,晴天因基部输导组织受害而失水枯死。结实期立枯病多从根部和茎基部开始发生,然后发展到茎部或分支部位。

病原菌特征:分离的菌株在PDA培养基上的菌落呈白色,气生菌丝绒状,分生孢子梗无色,无隔膜,有两种类型孢子,大型分生孢子镰刀形,弯曲度大,顶孢尖,顶端3~5隔,基部有突起,小型分生孢子椭圆形或短圆柱形,无色,单孢。鉴定为半知菌亚门镰刀菌属(*Fusarium* Link)木贼镰孢菌[*F. equiseti* (Corda) Sacc.] (图1)。

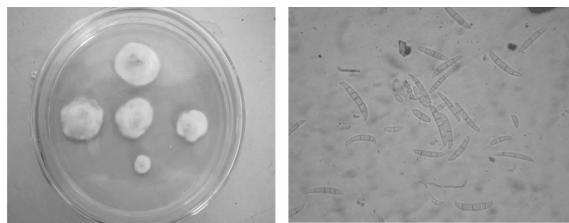


图1 连续子立枯病原菌落特征及分生孢子形态

2.2 褐斑病症状及病原菌特征

病害症状:连续子褐斑病传播途径以病原菌在种子或病残植株上越冬,叶片受侵染为害后,首先形成褪绿的褐色小点,在病斑外围的叶片呈淡黄绿色,明显浅于病斑颜色,而叶背面病斑颜色为浅棕色,明显浅于正面病斑的颜色。然后逐渐扩展成斑径为1~5 mm、不规则、不同形状的黑褐色病斑,有轮纹,病斑进一步扩展后,多个病斑会连成一块更大的不规则病斑。随着病斑的扩大,有些叶片卷曲、枯萎、提早脱落,影响开花和结实,严重时部分植株早衰或枯死。到后期,叶片正面病斑上可以看到许多小黑点,而叶背面较少见,茎部病斑颜色从中间往外由棕色逐渐加深到黑色。

病原菌特征:连续子褐斑病原菌在PDA上的菌落成圆形,边缘整齐、菌丝有隔、分枝。刚形成的菌落,气生菌丝较平伏,呈淡黄色或浅黄绿色,培养基不呈色。随着菌落扩大,菌丝呈淡灰黄色,棉絮状。再过数天,菌落边缘的菌丝呈灰白色,中间部分呈灰绿色,培养基仍不呈色。而后期老化的菌落则全部呈黑色。菌丝体内生,近无色至淡青黄色、分枝、具隔膜。分生孢子梗浅至中度褐色,顶端颜色较浅,基部颜色较深,紧密簇生在子座上。分生孢子梗的顶端较细,宽度不规则,有时局部膨大,直立或稍弯,0~1个曲膝状折点,分枝或不分枝,具有0~3个分隔,多数为1~3个分隔,大小为 $3.55 \sim 36.22 \mu\text{m} \times 1.24 \sim 4.66 \mu\text{m}$ 。在顶端着生分生孢子,分生孢子单生,倒棍棒形,无色,具隔膜,孢痕和脐点不加厚,有0~9个分隔(其中4~7个分隔较常见),大小范围为 $16.77 \sim 103.30 \mu\text{m} \times 1.11 \sim 3.48 \mu\text{m}$ 。鉴定该菌为半知菌亚门丝孢纲假尾孢属(*Pseudocercospora* Spegazzini)真菌(图2)。

2.3 灰霉病症状及病原菌特征

病害症状:连续子灰霉病发病期主要为开花结实期。该

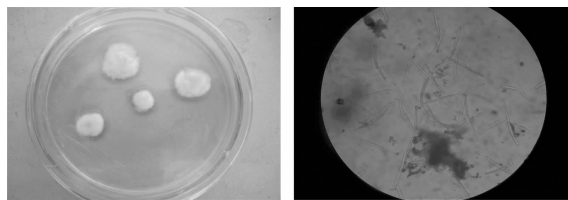


图2 连续子褐斑病原菌落特征及分生孢子形态

病主要为害叶片和蒴果,特别在清明节前后遇低温阴雨天气发病率较高,天气潮湿病组织上长出许多灰色霉层,往往出现灰霉病与褐斑病交互感染发病。果实受害,变褐腐烂或病果干枯,籽粒空瘪。花序受害,连同花轴形成无定形腐腐,不能结实。叶片受害形成失绿斑块,干时病部易破碎,植株早衰。

病原菌特征:灰霉病原菌在PDA上的菌落扩展生长,初为白色至深灰色,后变暗褐色。菌丝无色至褐色,任意分枝,具隔膜。分生孢子梗细长,顶端分枝,分枝末端膨大,呈树枝状分枝,从膨大体或分枝末端小突起上聚生多数分生孢子,外观呈葡萄穗状,无色,具隔膜,分生孢子球形,单胞 $9 \sim 16 \mu\text{m} \times 6 \sim 10 \mu\text{m}$ 。鉴定为葡萄孢属(*Botrytis* Micheli)灰葡萄孢真菌(*B. cinerea* Pers.) (图3)。

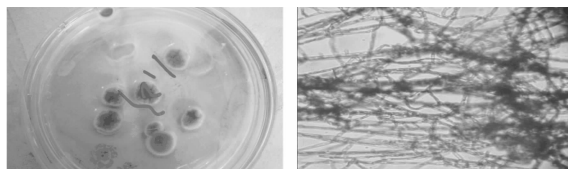


图3 连续子灰霉病原菌落特征及菌丝体形态

3 结论

按照柯赫氏法则,将分离纯化后的立枯病病原菌、褐斑病原菌、灰霉病原菌3种病原菌接种到健康植株,发病后分离得到的病原菌与原病原相同。连续子立枯病、褐斑病及灰霉病是连续子全生育期中常发生的主要病害,这几种病的发生,严重影响了连续子产量的提高。连续子立枯病从苗期到结果期均可发生,发病部位主要是离地以上2~3 cm处茎基部,病原菌鉴定为半知菌亚门镰刀菌属(*Fusarium* Link.)木贼镰孢菌[*F. equiseti* (Corda) Sacc.]。连续子褐斑病和灰霉病发病部位主要是叶片,这两种病害叠加发生,病原菌分别为半知菌亚门的假尾孢属(*Pseudocercospora* spegazzini)和葡萄孢属(*Botrytis* Micheli)真菌。

参考文献:

- [1] 龙春林,宋洪川. 中国柴油植物[M]. 北京:科学出版社,2012.
- [2] 王晓敏,张燕,龚德勇. 不同播种期连续子主要病害发生情况[J]. 天津农业科学,2011,17(4):74~76.
- [3] 龚德勇,张燕,欧珍贵,等. 能源油料植物连续子褐斑病的发生及防治[J]. 安徽农业科学,2010,38(18):9589~9590,9645.
- [4] 高丽丽,胡德禹,龚德勇,等. 中药材连续子病害的调查与室内药剂毒力测定[J]. 贵州农业科学,2009,37(2):43~44.
- [5] 龚德勇,张燕,欧珍贵,等. 能源油料植物连续子的综合性状分析[J]. 贵州农业科学,2010,38(1):53~56.
- [6] 陆家云. 植物病原真菌学[M]. 北京:中国农业出版社,2004.