

刘培培, 张 冰, 程晓琴, 等. 红掌帚梗柱孢叶枯病菌的鉴定[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(9): 95–97.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.09.025

# 红掌帚梗柱孢叶枯病菌的鉴定

刘培培, 张 冰, 程晓琴, 王会会, 马 瑞, 谢昌平

(海南大学环境与植物保护学院, 海南海口 570228)

**摘要:**红掌真菌性叶枯病是近几年在海南新发现的一种病害, 在红掌病害中较严重。田间症状是多从叶缘发病, 发病初期叶片出现水渍状褪绿病斑, 病斑周围有黄晕, 后期叶片大面积枯萎, 甚至致植株枯死。从中国热带农业科学院周边采集红掌叶枯病病叶, 对该病菌进行分离培养。通过对该病原菌的形态鉴定以及 rDNA – ITS 序列分析, 确定引起该病害的病原菌为苞叶芋帚梗柱孢菌(*Cylindrocladium spathiphylli* Schouties, El – Gholl & Alfieri)。此病原菌引起红掌叶枯病在国内为首次报道。

**关键词:**红掌; 叶枯病; 病原菌鉴定; 苞叶芋帚梗柱孢菌

**中图分类号:** S436.8      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002–1302(2017)09–0095–02

红掌(*Anthurium andraeanum*)别称灯台花、花烛、安祖花, 为天南星科(Araceae)花烛属(*Anthurium*)多年生常绿草本花卉, 原产于南美洲的热带雨林地区, 现欧洲、亚洲、非洲皆有栽培。由于红掌花色艳丽, 花期长, 近年来逐步走进家居, 成为美化家庭的盆栽, 备受国内外消费者喜爱。目前, 我国已报道的红掌病害主要有根腐病(*Pythium splendens*)<sup>[1]</sup>、炭疽病(*Colletorichum destructivum/Colletorichum gloeosporioides*)、细菌性叶斑病(*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*)、细菌性叶枯病(*Pseudomonas/Xanthomonas*)<sup>[2]</sup>、灰霉病(*Botrytis cinerea*)、褐斑病(*Acremonium zonatum*)、叶霉病(*Cladosporium cladosporioides*)、茎基腐病(*Phytophthora parasitica/Pythium pringsh-cim*)、苗枯病(*Metathizium anisopliae*)、根茎溃疡病(*Cylindro-cladium* sp.)、藻斑病(*Cephaleuros virescens*)。国外已报道的红掌病害有露湿漆斑菌(*Myrothecium roridum*)引起的叶斑病<sup>[3]</sup>、由花叶万年青头孢菌(*Cephalosporium dieffenbachiae*)引起的叶斑病、根腐病(*Calonectria crotalariae*)、叶疫病(*Phytophthora nicotianae*)。但由苞叶芋帚梗柱孢菌(*Cylindrocladium spathiphylli*)引起的红掌叶枯病尚未见报道。

海南省儋州市红掌叶枯病在红掌病害中较严重, 多从叶缘发病, 引起叶片大面积枯萎, 弱化植株生长, 甚至致其枯死, 造成重大的经济损失。本试验主要是从形态观察和分子鉴定两方面进行研究, 确定引起红掌叶枯病病原真菌是苞叶芋帚梗柱孢菌(*C. spathiphylli* Schouties, El – Gholl & Alfieri), 从而为这种病害的防治提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 病叶采集及症状描述

红掌叶枯病病叶采于中国热带农业科学院周边。按常规

方法对田间病株症状进行描述及拍摄。

### 1.2 菌株分离

采用常规组织分离法分离, 无菌操作接种到马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)上, 置于室温下培养。

### 1.3 菌株的致病性测定

采用针刺法进行人工接种。具体方法: 先用灭菌针将叶片刺伤, 再将分离纯化菌株的菌饼(直径 0.45 cm), 贴在伤口上, 处理 10 株。同时设与菌饼同样大小的琼脂块作为对照, 最后表面覆盖已灭菌的吸水纸, 用保鲜袋套住保湿培养 4 ~ 7 d, 观察并记录发病情况。

### 1.4 病原菌菌落和形态观察

将菌种分别接种在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)和水琼脂培养基(WA)上, 室温下培养 5 d 后, 观察菌落的培养性状, 包括菌落的颜色、气生菌丝是否发达、分子孢子、不孕附属丝形态和大小, 以及是否存在厚垣孢子等。采用培养基表面划伤法来诱导病原菌分子孢子、不孕附属丝和孢囊的产生, 具体做法: 用灭菌的刀片在培养基表面划上几刀, 再置于常温下培养 5 ~ 10 d, 分生孢子、不孕附属丝和孢囊产生, 然后再观察分生孢子和不孕附属丝的形态以及测量分生孢子、分生孢子梗和孢囊的大小。

### 1.5 病原菌 rDNA – ITS 序列分析

用 CTAB 法提取菌丝的 DNA。采用通用引物 ITS1: 5′ – TCCGTAGCTGAACCTGCGC – 3′, ITS4: 5′ – TCCTCCGCTTATTGATATGC – 3′ 扩增菌株的 rDNA – ITS 片段, 并委托天根生化科技(广州)有限公司进行序列测定。对测得的供试菌株 rDNA – ITS 区段的序列, 分别运用 GenBank 核酸数据库中的 BLAST 工具软件, 在 DNA 序列数据库中搜索同源 DNA 序列并进行比较分析, 根据 BLAST 搜索和比较的结果, 进行同源性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 田间症状描述

该病原菌主要危害红掌叶片, 从叶片边缘开始发病。典型症状: 发病初期叶片出现水渍状褪绿病斑, 然后逐渐扩大为

收稿日期: 2016–05–27

基金项目: 海南省科技基金(编号: Rnd0524)。

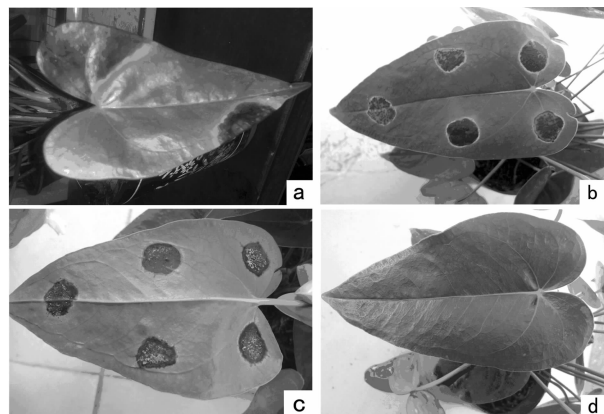
作者简介: 刘培培(1993—), 女, 河南安阳人, 硕士研究生, 主要从事热带果蔬病虫害研究。E – mail: 2459544388@qq.com。

通信作者: 谢昌平, 副教授。E – mail: xiechangping002@sina.com。

圆形、卵圆形和不规则的浅褐色至深褐色病斑,边缘有黄色的晕圈,发病后期多个病斑也会联合成片,造成叶片枯死(图 1-a)。

## 2.2 菌株的致病性测定

将分离纯化后的菌种接种到健康的叶片上,经过 4~7 d 后的观察,针刺法接种的叶片全部发病,且症状与初始分离所选叶片相同(图 1-b,图 1-c),对照叶片没有发病症状(图 1-d)。以接种后发病叶片作为分离材料再次分离,所得菌与初次分离所得菌落的分生孢子形态等相同,符合柯赫氏法则。



a—红掌帚梗柱孢叶枯病的症状; b、c—人工接种在叶片上的症状; d—对照

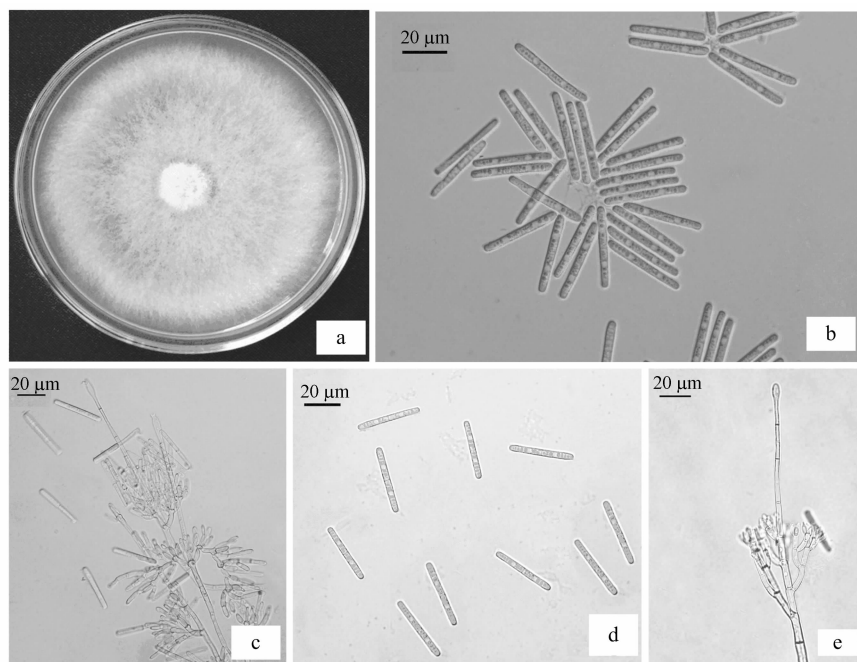
图1 帚梗柱孢菌在红掌叶片田间发病和人工接种后的症状

## 2.3 病原菌菌落和形态观察

在 PDA 上培养,病原菌的菌落圆形,红棕色,边缘整齐且颜色较浅,气生菌丝发达(图 2-a)。而通过在培养基表面划伤后,菌落的刮伤处会散生许多白色粉状物,即为病原菌的不孕附属丝、分生孢子梗和大型分生孢子。孢囊为无色,棍棒状,大小为  $4.2 \sim 5.9 \mu\text{m}$ (图 2-c);分生孢子梗扫帚状,一级分枝长度为  $14.3 \sim 22.7 \mu\text{m}$ ,二级分枝长度为  $10.1 \sim 14.7 \mu\text{m}$ ,三级分枝长为  $8.6 \sim 12.3 \mu\text{m}$ (图 2-c);大型分生孢子无色,圆柱状,两端圆形,多数无分隔,少数 1~2 个分隔,其长为  $35.3 \sim 46.5 \mu\text{m}$ ,宽为  $3.5 \sim 4.7 \mu\text{m}$ (图 2-b);还可见厚垣孢子,未见有小型分生孢子产生。在 WA 上培养时,产生的大型分生孢子与 PDA 上培养产生的大型孢子基本一致(图 2-e),分生孢子梗末端膨大(图 2-d),未见有小型分生孢子产生<sup>[4]</sup>。通过对培养性状和形态学的观察,进行查阅相关资料,初步鉴定引起该病害的病原菌所在属为帚梗柱孢属(*Cylindrocladium*)。

## 2.4 病原菌 rDNA-ITS 测序分析与同源性比较

以提取病原菌的基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增,3 个样品均可扩增出 1 条大小与预计长度符合约 600 bp 的特异片段。以转化后收集的菌液进行 PCR 扩增,克隆的结果与基因片段 PCR 扩增结果一致,长度约为 600 bp。片段经克隆、测序后放到 NCBI 进行 BLAST 比对(GenBank:EU285-555.1),结果表明,该病原菌目的片段的序列与数据库中已有的苞叶芋帚梗柱孢菌(*C. spathiphylli* Schouties, El-Gholl & Alfieri) ITS 核苷酸序列(GQ280627.1)有极大的相似性,同源性高达 99%。



a—PDA培养基上的菌落; b—PDA培养基上分生孢子; c—PDA培养基上分生孢子梗、孢囊和不孕附属丝; d—WA培养基上分生孢子; e—WA培养基上的分生孢子梗、孢囊和不孕附属丝

图2 红掌帚梗柱孢菌叶斑病菌的菌落和形态

## 3 结论与讨论

目前,国内尚未对由苞叶芋帚梗柱孢菌引起的红掌叶枯病报道,黄志朋对红掌茎基腐病病原进行研究,提出帚梗柱孢

霉(*Cylindrocladium* sp.)可侵染红掌根茎部或茎基部引起根茎溃疡病<sup>[5]</sup>,但未提到该病原可危害红掌叶片,也未确定病原具体种。毕可可等对白掌病害进行研究,确定苞叶芋帚梗柱孢菌是白掌褐腐病的致病菌<sup>[6-7]</sup>,但在红掌上还未见报道。

魏 珍,岳彩鹏,常岳旻,等. 入侵植物黄顶菊的繁殖生物学特性[J]. 江苏农业科学,2017,45(9):97-100.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.09.026

# 入侵植物黄顶菊的繁殖生物学特性

魏 珍,岳彩鹏,常岳旻,李秋洁,许雪敏,朱世新

(郑州大学生命科学学院,河南郑州 450001)

**摘要:**黄顶菊 [*Flaveria bidentis* (L.) Kuntze] 是近年来恶性入侵我国的一种菊科植物。本研究通过探讨黄顶菊的繁殖生物学特性,为科学预防和治理黄顶菊的入侵扩散提供理论基础。于 2013 年 8 月至 2015 年 11 月,对在郑州大学生命科学学院栽培的黄顶菊种群进行繁殖生物学特征研究,包括综合形态学、花序开花动态、花粉胚珠比和交配系统类型等,并对河南省郑州市东风渠附近的黄顶菊自然种群的访花昆虫进行观察研究。结果表明,黄顶菊具有灵活的交配系统,有性繁殖方式为兼性异交型,即自交和异交授粉均能产生可育瘦果,也可通过无融合生殖方式产生瘦果。瘦果体积小[千粒质量仅为  $(0.17 \pm 0.01)$  g] 且数量庞大,发育成熟时间短,开花 5 d 后便可观察到成熟的瘦果。在开花盛期,观察到访花昆虫有蝶类、蝇类、蛾类和蜂类等。本研究从繁殖生物学的角度揭示黄顶菊的快速入侵机制,为控制和治理黄顶菊由河南省向南扩散蔓延提供了重要理论依据。

**关键词:**菊科;交配系统;黄顶菊;入侵物种;花粉胚珠比;繁殖生物学

**中图分类号:** S451;Q945 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)09-0097-04

黄顶菊 [*Flaveria bidentis* (L.) Kuntze] 原产于南美洲,在分类上隶属菊科 (Asteraceae) 堆心菊族 (Helenieae) 黄顶菊属 (*Flaveria*)<sup>[1]</sup>。刘全儒曾将黄顶菊定名为二齿黄菊<sup>[2]</sup>,《中国植物志(英文版)》将它译为“黄顶菊”,并归属为向日葵族 (*Heliantheae*)<sup>[3]</sup>。2001 年,在南开大学附近路边首次发现黄顶菊,虽然入侵我国的时间较短,但表现出非常强的入侵性,在入侵等级上属于 1 级,即恶性入侵类<sup>[1,4]</sup>。目前黄顶菊在河南省的黄河以及沿岸地区(包括安阳市、濮阳市、新乡市、郑州市等)的入侵比较严重,已经对该地区造成了一定规模的生态破坏,而且蔓延形势相当严峻。有研究预测,黄顶菊在

我国的潜在适生区为南方诸省<sup>[5]</sup>,而河南省是黄顶菊从北向南蔓延的必经区域和关键区域。如果黄顶菊的蔓延得不到控制,不仅会对入侵地的粮食生产、生物多样性保护和生态环境等均造成严重的危害,也会加剧黄顶菊向南方入侵的速度。

菊科植物是我国入侵种类最多的类群之一,多数具有生长发育快,果实数量大且有适宜传播扩散的结构和机制等生物学特性,有些植物还能分泌特殊物质抑制其他植物的生长<sup>[6]</sup>。对黄色星菊 (*Centaurea solstitialis* L.)、窄叶千里光 (*Senecio inaequidens*) 和三叶鬼针草 (*Bidens pilosa* L.)<sup>[7-9]</sup> 等菊科入侵植物的繁殖生物学研究表明,菊科入侵物种呈现出多样化的繁殖类型,如营养繁殖、无融合生殖、自交不亲和、自交亲和以及不完全自交亲和等。与繁殖有关的特征,在外来入侵植物种群建群时将直接影响其归化或入侵是否成功<sup>[10]</sup>,因此研究入侵物种的繁殖生物学特性对控制种群扩散分布具有重要意义。本研究通过探讨黄顶菊的综合形态学特征及花序开花动态、交配系统类型和访花昆虫等特征,鉴定黄顶菊的交配系统类型并评估其繁殖能力,为科学预测、预防和治理黄顶菊

收稿日期:2016-11-01

基金项目:国家大学生创新创业计划(编号:201410459051);河南省教育厅科学技术研究重点项目基础研究课题(编号:14A180037)。作者简介:魏 珍(1986—),女,河南郑州人,博士,讲师,主要从事植物学研究。E-mail:weizhen@zzu.edu.cn。

通信作者:朱世新,博士,副教授,主要从事菊科植物分类学研究。E-mail:sxzh@zzu.edu.cn。

本研究针对红掌叶枯病进行了病原菌分离,通过对分离菌株的形态特征和 rDNA-ITS 序列同源性的分析,将分离的菌株鉴定为苞叶芋帚梗柱孢菌 (*C. spathiphylli* Schouties, El-Gholl & Alfieri),本结论为国内首次报道。该研究为有效防治红掌叶枯病提供了理论依据,使用何种药剂及如何有效防治有待进一步研究。此外,由于真菌引起的红掌叶枯病和细菌引起的红掌叶枯病在病株上产生的症状十分相似,所以在鉴别红掌叶枯病原时,可首先通过切取叶片病斑组织做显微镜检查,如果发现有细菌溢留现象,则为细菌性叶枯病。

## 参考文献:

[1] 周晓云,游春平. 红掌根腐病原菌鉴定及其 PCR 检测方法[J]. 园艺学报,2013,40(5):989-996.

[2] 梁丽雯,任希望,高志亮,等. 红掌细菌性叶枯病原菌的分离与鉴定[J]. 热带生物学报,2013,4(4):327-331.

[3] Ben H Y, Zhao Y J, Chai A L, et al. First report of *Myrothecium roridum* causing leaf spot on *Anthurium andraeanum* in China[J]. Journal of Phytopathology, 2015, 163(2):144-147.

[4] Crous P W, Wingfield M J. A monograph of *Cylindrocladium*, including anamorphs of *Calonectria*[J]. Mycotaxon, 1994, 51(27):393-404.

[5] 黄志朋. 红掌茎基腐病原菌鉴定及防治药剂的筛选[D]. 广州:仲恺农业工程学院,2013.

[6] 毕可可,周佳暖,习平根,等. 匙叶天南星根茎腐烂病原菌鉴定[C]//中国菌物学会. 中国菌物学会 2009 学术年会议论文集, 2009.

[7] 马凯生. 广州白掌主要土传真菌病害鉴定及防治药剂的筛选[D]. 广州:仲恺农业工程学院,2015.