

钟文文,葛朝晖,许俊杰. 剑兰叶斑病病原菌的分离与鉴定[J]. 江苏农业科学,2020,48(14):131-138.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.14.022

剑兰叶斑病病原菌的分离与鉴定

钟文文,葛朝晖,许俊杰

(临沂大学药学院,山东临沂 276000)

摘要:对山东省临沂市兰山区、罗庄区、河东区及北城新区的观赏花卉剑兰叶部病害进行了调查和研究,利用常规方法对叶部病原菌进行了分离纯化,得到 1 株纯培养物 lyxj012。利用该菌的形态学特征和 rDNA-ITS 基因序列系统发育分析,结合柯赫氏法则和叶部解剖特征观察,确认该叶斑病的病原真菌为葡萄壳小圆孢菌(*Coniothyrium vitivorum* Miura)。

关键词:剑兰;叶斑病;病原真菌;真菌鉴定;葡萄壳小圆孢菌

中图分类号: S432.4⁺4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)14-0131-07

剑兰又名菖兰、唐菖蒲,是鸢尾科多年生草本植物,唐菖蒲原产于南非和地中海地区,在世界各地广泛栽培^[1],常见的病害有根腐病、萎蔫病、叶枯病和病毒病等。我国通常作春植球根栽培,在栽培管理中病虫害防治非常重要,延误诊治或措施不当都会造成品质下降、减产甚至绝收^[2]。据相关文献记载,美国 1947 年曾有剑兰花枯萎叶斑病发生的报道,此病首先在佛罗里达州发现,之后,亚拉巴马州、纽约州、威斯康星州及太平洋西岸地区都有此病发生的报道。1986 年有资料报道,在深圳平湖区栽植剑兰花的年收入减少 20 万元,其中一个主要原因就是遭到剑兰花枯萎叶斑病的危害^[3]。由此看来,剑兰病害对剑兰的观赏种植、大面积推广栽培都有严重威胁,开展剑兰病害调查和病原物的研究有着重要的意义。

本试验对山东省临沂市兰山区、罗庄区、河东区及北城新区的观赏花卉剑兰的调查和病原物进行了研究,旨在为剑兰病害的防治提供理论依据和指导。

1 材料与方法

1.1 病害调查及样品采集

2016 年 4 月至 2017 年 8 月对临沂市兰山区、罗

庄区、河东区及北城新区剑兰叶斑病进行调查,在调查过程中对其侵染规律、流行状况、感病情况、发病症状等进行了观察、记录和拍照,同时采集具有代表性的感病叶片用于病原菌的分离。

1.2 病原菌的分离、纯化和鉴定

1.2.1 病原菌的分离、纯化 采用常规组织分离方法,挑取适量剑兰叶片病斑组织,置于 PDA 培养基平板上 25℃ 恒温培养 1~2 周,在体视镜下挑取单菌落,并制片观察,然后再利用单孢分离法进行纯化培养,由此得到的菌株为纯菌株。对分离物平板进行编号,同时记录其菌落特征和显微特征。

1.2.2 致病性测定 用 0.2~0.5 cm 的打孔器在分离得到的纯菌落上打孔,分别得到若干数量的菌饼。选择健康的剑兰植株中部、上部叶片进行接种,将剑兰叶片的表面用 75% 乙醇消毒,以菌饼为接种体进行接种,每种菌接 2 张叶,1 张刺伤(用无菌牙刷在叶片表面刷 3 下),另 1 张不刺伤,每张叶片接种 6~10 个菌饼,同时设置对照。接种后保湿 24 h,每隔 1~2 d 观察其致病情况,连续观察 15 d 以上,测定其致病性。

1.2.3 病原菌的确认

1.2.3.1 柯赫氏法则验证 将纯化后的致病性菌株回接种到健康的剑兰叶片上,观察有刺伤的叶片症状和无刺伤的叶片症状与田间自然发病是否相同,并设置对照。对发病叶片的病斑进行常规分离,以此确认接种菌是否为剑兰叶斑病的病原菌。

1.2.3.2 叶片病斑组织解剖观察 选取含有病斑的剑兰叶片,用清水冲洗干净,然后再用无菌水洗 1~3 遍,保证叶片表面没有附着其他微生物和尘土

收稿日期:2019-08-07

基金项目:山东省自然科学基金(编号:ZR2017LC001)。

作者简介:钟文文(1978—),女,山东临沂人,硕士,讲师,从事微生物学教学和研究。E-mail:Zhongwenwen@lyu.edu.cn。

通信作者:许俊杰,博士,副教授,从事真菌分类及真菌资源利用研究。E-mail:xujunjie@lyu.edu.cn。

颗粒。利用徒手切法切取病斑及其周围的叶片组织,选取合适材料制成玻片,用于病原菌的显微观察和验证。

1.2.4 病原菌形态学的特征观察 病原菌的培养性状观察,将病原菌移接于 PDA 平板上,25 ℃ 培养 7~14 d,记录菌落形态和颜色,检测分生孢子的形状和大小等形态学特征。

1.2.5 病原菌 rDNA-ITS 的 PCR 扩增和序列分析

1.2.5.1 病原菌总 DNA 的提取 试验菌株为 lyxjj012。菌丝培养用马铃薯葡萄糖液体培养基(PDB),28 ℃、150 r/min 振荡培养 3 d,离心收集菌丝体,经冷冻干燥后置于 -20 ℃ 冰箱保存。利用 Omega 公司试剂盒提取 DNA。

1.2.5.2 rDNA-ITS 的 PCR 扩增与序列测定 采用真菌核糖体基因转录间隔区(ITS)通用引物 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')扩增该病原菌的 ITS 和 5.8S rDNA。PCR 反应采用 50 μL 反应体系,包括模板 DNA 溶液 2.0 μL(约 10 ng)、10 × PCR buffer 5.0 μL、2.5 mmol/L dNTP 4.0 μL、7.5 pmol/μL ITS1 和 ITS4 引物各 1.5 μL、5 U/μL *Taq* 酶(含 MgCl₂)0.5 μL、加 ddH₂O 至 50 μL。扩增反应程序为:94 ℃ 预变性 3 min;94 ℃ 变性 1 min,55 ℃ 退火 1 min,72 ℃ 延伸 1.5 min,35 个循环;最后 72 ℃ 延伸 5 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测。切胶回收 PCR 产物,委托山东省农业科学院测

序中心进行纯化和序列测定。

1.2.5.3 病原菌 rDNA ITS 序列分析 将菌株 lyxjj 012 的 rDNA ITS 序列在 NCBI 网站上,用 BLAST 软件与 GenBank 中已知种属的 rDNA 进行序列比对和同源性分析,或者参照 DNAMAN 和 Mega 6.0 软件,构建系统发育树,用以辅助鉴定病原菌的种类。

2 结果与分析

2.1 剑兰叶斑病的危害与症状特点

剑兰叶斑病在各城区均有发生,发病严重的田块病叶率可达 20% 以上,特别是在 7—8 月,气温高,降雨多,该病可在 2 周左右暴发流行,造成大量的叶片快速感病。该病主要危害剑兰的叶片,也可危害茎部。通常是中部、下部叶片先发病,而且发病较为严重,病斑初为灰白色或者淡褐色小斑点,后扩展成近圆形、椭圆形或不规则形(图 1-B、图 1-C),病斑边缘不整齐,有明显轮生症状,灰褐色至灰白色,稍凹陷,有时可出现不规则的同心轮纹,病斑可相互连结成片,湿度大时叶片正面有橘红色黏质小点。有时叶尖先发病,病原菌通过流水、风或其他方式把孢子传播到其他部位,甚至导致整个叶片发病,最后严重时整片叶枯死。叶片干枯部分经雨后或者在冬季常常有黑色或者褐色颗粒点状物,该颗粒物为病原菌分生孢子器。通常下部叶片受害较为严重,危害症状见图 1-A。



图1 剑兰受害叶片

2.2 病原菌的鉴定

2.2.1 病原菌的分离和纯化 从临沂市各城区采集剑兰病叶若干,从中选取 12 张具有代表性的叶片,于 PDA 培养基平板上分离病原菌 25 ℃ 条件下培养,各标样均于 4~7 d 长出相似的灰白色、绒毛状菌落,5~7 d 菌落开始变成灰褐色。将纯化后的菌株分别编号为 lyxjj001~lyxjj012。

2.2.2 病原菌的确认

2.2.2.1 柯赫氏法则验证 将 12 个纯化后的菌株重新接种到健康的剑兰叶片上(图 2),回接 7~14 d,接种菌丝块的剑兰叶片全部发病,有刺伤的叶片发病比无刺伤的叶片早 1~4 d,症状与田间观察到的相同,对照不发病;用发病的病斑进行常规分离,再次获得与原分离菌完全一致的病原菌,根据

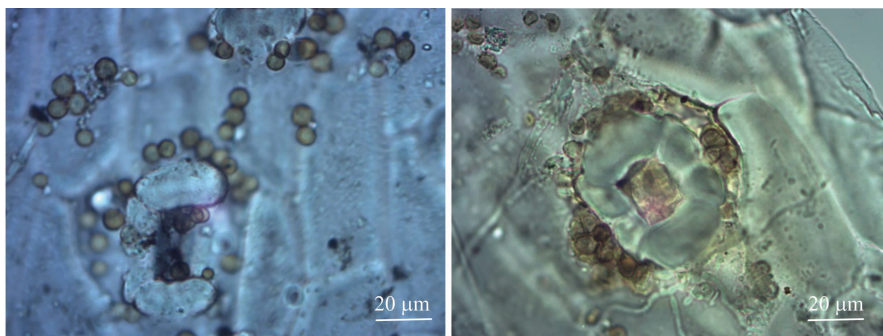


图2 柯赫氏法则验证剑兰叶片病原菌致病性

柯赫氏法则,证明接种菌即为剑兰叶斑病的病原菌。

2.2.2.2 叶片病斑组织解剖观察验证 选取含有病斑的剑兰叶片,用清水冲洗干净,然后再用无菌水洗 1~3 遍,保证叶片表面没有附着的其他微生物和尘土颗粒。利用徒手切法,切取病斑及其周围的叶片组织,选取合适材料制成玻片,用于病原菌的

显微观察和验证,验证结果如图 3-A、图 3-B。从图 3 可以看出,表面除病原菌菌丝和孢子之外,未见其他菌丝和孢子。气孔周围的孢子形态特征和病原菌分离物形态完全一致。从导管、筛管以及无明显病斑的叶片中也观察到孢子的存在。由此可证明,该菌为致病菌。



A. 气孔周围存在圆形孢子

B. 气孔周围细胞菌丝分布

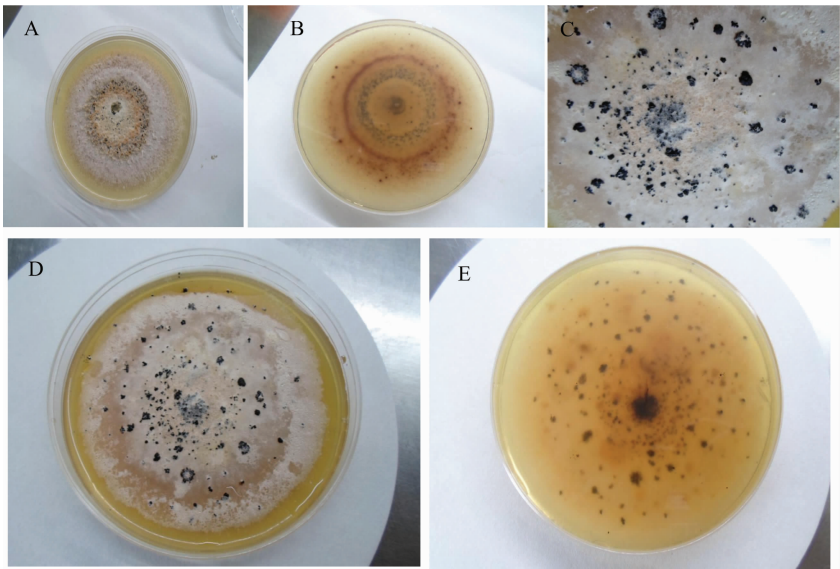
图3 叶片解剖平面示意

2.2.3 病原菌的形态特征

2.2.3.1 病原菌的菌落特征 分离到的 12 个菌株的形态特征基本一致,在 25 ℃ PDA 培养基上培养 5 d,形成圆形菌落,菌落平展,生长速度中等,菌落灰白色至淡褐色,菌丝部分埋生、部分表生,背面淡褐色(图 4-A、图 4-B)。在 15 ℃ PDA 培养基上,培养 2~4 周后,菌落颜色呈白色至淡褐色,短绒毛状,较致密,4 周后可见菌丝下面的颗粒状分生孢子器(图 4-C、图 4-D、图 4-E)。

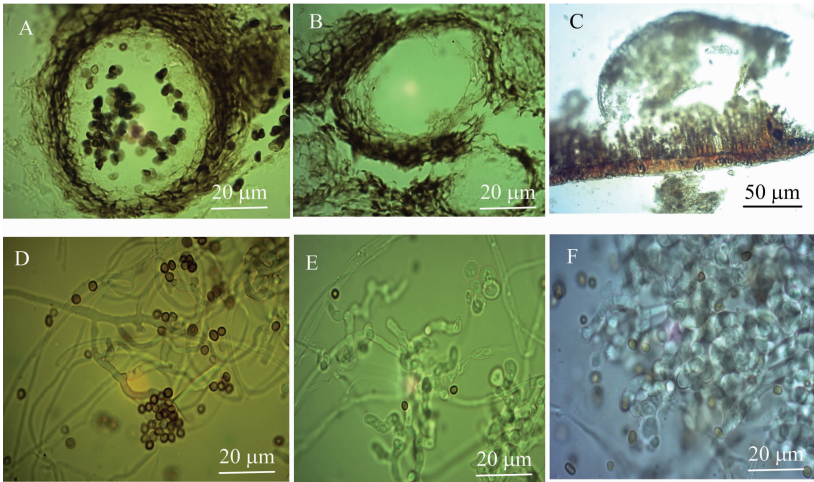
2.2.3.2 显微特征观察 对 25 个病害标样的 12

个病原菌株的鉴定均获得基本一致的结果,表明病原菌组成比较单一。通过徒手切片法切取带有病斑和黑色点状分生孢子器的剑兰新鲜叶片,制片在显微镜下观察,观察结果见图 5,孢子和菌丝在叶片表面均有分布,而且孢子多聚集在气孔周围,其他部位有零星分布;菌丝淡色在叶片表面呈不规则分布,淡色,有分枝,偶见膨大厚垣细胞和褐色细胞的集合体,菌丝体与分离培养物的特征较为一致,菌丝宽度 2~10 μm,膨大细胞端部宽度达 18 μm。由此可确认,导致叶片病害的病原菌是单一的真菌



A、B—在 25 °C 下培养 5 d 的菌落；C、D—在 15 °C 下培养 4 周的菌落；
E—菌丝下面长出的颗粒状黑色分生孢子器

图4 菌落及分生孢子器



A、B、C—分生孢子器；D、E、F—分生孢子、产孢细胞及菌丝

图5 lyxjj012 菌株的显微特征

种类。

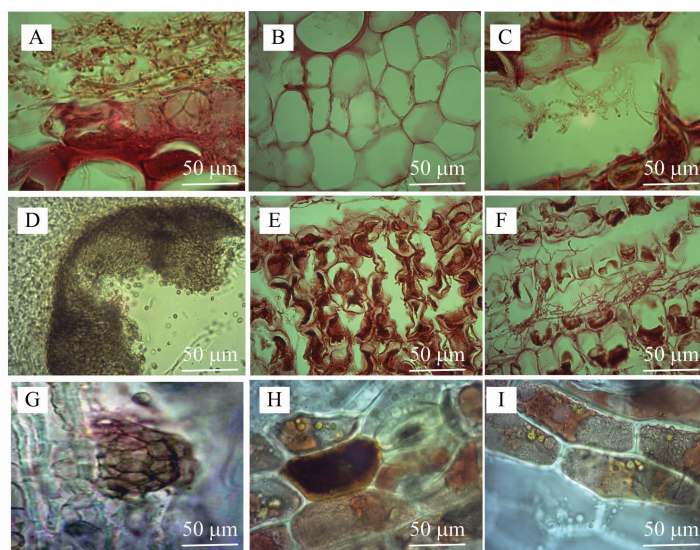
菌丝无色,表面光滑,多分枝,菌丝端部细胞多膨大,且菌丝体常呈枝状(图 5 - F)。菌丝宽度 2.5 ~ 25.0 μm ,无孢子产生,应该属于无性阶段。这种特殊结构的存在可能有助于有性阶段分生孢子器的形成。该菌在温度为 15 °C 条件下培养,菌落生长缓慢,14 d 后菌落直径可达 2.5 ~ 4.5 cm,菌落灰白色至淡褐色,菌丝体短绒毛状,其下可见黑色分生孢子器颗粒(图 4 - C、图 4 - E)。挑去分生孢子器在显微镜下观察,可见圆球状或者椭球状的分生孢子器,分生孢子器黑色,单生,球形,直径 200 ~ 360 μm ,分生孢子器开口不甚明显,成熟的或者挤

压后分生孢子器会产生 1 个以上的裂口,释放出分生孢子(图 5 - A、图 5 - B、图 5 - C)。菌丝淡色,有分枝,菌丝端部常膨大呈球状或者椭球状,菌丝宽度 2 ~ 10 μm ,光滑(图 4 - D、图 4 - E)。菌丝端部特化成产孢细胞,柱状、光滑、淡色、4 ~ 8 μm ,分生孢子梗短,孔口和分生孢子梗有时特化不明显,在分生孢子器中的产孢结构与培养物基本相同。分生孢子梗直或者弯曲,结构见图 4 - D、图 4 - E、图 4 - F。分生孢子褐色,圆球形或者椭圆形,光滑,直径 3 ~ 9 μm 。菌落、产孢细胞、分生孢子和分生孢子器的特征与丝兰褐疽病菌(*Paraphaeosphaeriopsis recurvifoliae*)^[4]的特征非常相似,但是,丝兰褐疽病

菌有子囊壳和子囊,而分离物 lyxjj012 没有子囊壳和子囊,所以不属于丝兰褐疽病菌。该菌的形态学特征与丝兰小壳霉(*C. concentricum*)^[5]、葡萄壳小圆孢菌(*C. concentricum*)。丝兰小壳霉分生孢子卵形至近球形,黄色,后变褐色,3.5 μm \times 3.0 ~ 4.5 μm ,而本分离物孢子多为球形,大小直径 3 ~ 9 μm ,由此可以看出该分离物不属于丝兰小壳霉,但与核桃内生葡萄壳小圆孢菌(*C. vitivorum*)^[6]更为相似,故将其暂定为葡萄壳小圆孢菌(*C. vitivorum*)。

2.2.4 病原菌致病机理的初步观察 在植物与病原菌的亲合互作中,一些真菌利用寄主表面的气孔或创伤入侵。通常会产生一些由特化菌丝形成的侵染结构,如侵染垫(infection cushion)、附着胞(appressorium)、吸器(haustorium)等帮助病原真菌入侵并与寄主建立寄生关系,造成植物感染^[7-8]。

从本研究的观察结果可知,该病原菌侵染机制有所不同,分生孢子从分生孢子器中释放出来后,随雨水或者风力等散播作用首先聚集在气孔周围(图 6-B、图 6-G、图 6-H),之后分泌一种红色或者褐色球状体,紧靠在细胞上;这些球状体内含叶绿素和其他褐色物质,多聚集在气孔周围,而且气孔周围的小球与其他位置相比较大。最大的直径 70 μm ,小球慢慢往其他细胞扩散,同时细胞也慢慢变成褐色,气孔周围的细胞内积累大量的褐色物质,这些褐色物质可能是酚类物质。致病因子一般包括各种酶类,如胞壁降解酶、毒素、生长调节物质及其类似物。至于这种红色球和褐色球是液泡还是其他什么物质,是不是直接侵染因子,有待于进一步研究。受害部位褐变后,细胞丧失正常功能而变为深褐色病斑,有时也特化成分生孢子器(图 6-A、图 6-C、图 6-D、图 6-E、图 6-F、图 6-I)。



A—正常细胞; B、E、F—感染后的细胞寄生菌丝; C—分生孢子器及破裂后释放孢子; D—感病细胞的形态; G—叶片表面的分生孢子; H、I—叶片表面细胞病变

图6 病原菌侵入叶片的机制

2.2.5 病原菌 rDNA - ITS 的序列分析及同源性

因为真菌形态学特征受培养基和基质影响较大,所以单纯进行形态学分类还缺乏一定的科学性。为进一步确定该分离物是否为丝兰小壳霉,本研究从 12 个菌株中随机选取菌株 lyxjj012,克隆并分析该菌的 rDNA - ITS 序列。菌株 lyxjj012 的 PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测,得到 1 个 568 bp 的基因序列片段(图 7)。将菌株 lyxjj012 的 rDNA ITS 基因序列与 GenBank 中已有的 21 个亲缘关系较为相近的 DNA 序列进行同源性比较,构建系统进化树,

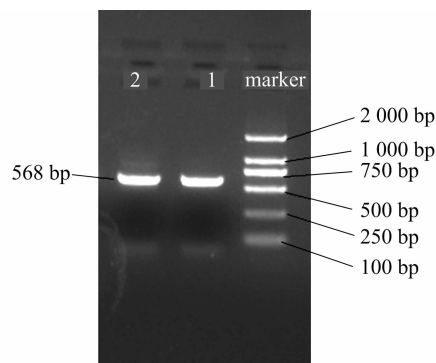
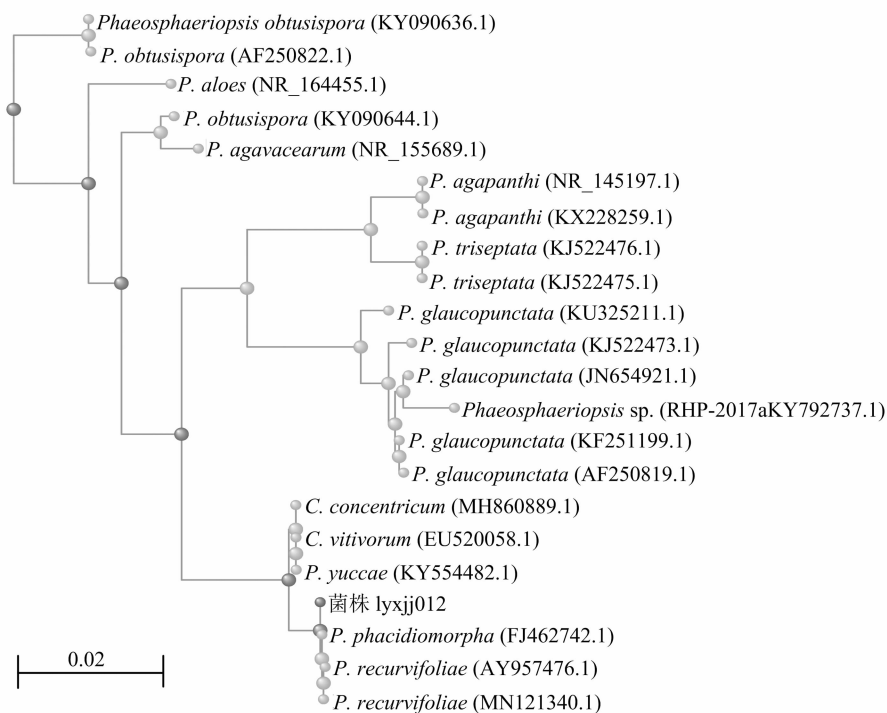


图7 lyxjj012 菌株 rDNA-ITS 基因序列 PCR 扩增产物电泳

结果见图 8。从同源性比较可知,该菌株与丝兰小壳霉(菌株登录号为 MH860889.1)同源性 100%,与拟暗球腔菌 *P. phacidiomorpha* (菌株登录号为 FJ462742.1)、丝兰褐疽病菌(菌株登录号为 AY957476.1 和 MN121340.1)、葡萄壳小圆孢菌(菌株登录号为 EU520058.1)和 *P. yuccae* (菌株登录号为 KY554482.1)同源性均为 99%。由图 8 可知,与该菌株亲缘关系较近的是拟暗球腔菌和丝兰褐疽

病菌,其次是丝兰小壳霉、*P. yuccae* 和葡萄壳小圆孢菌。该菌与丝兰褐疽病菌、*P. yuccae* 和拟暗球腔菌的同源性达 99%,但是由于本分离物不产子囊和子囊孢子,所以该分离物不属于此三者。除此之外,该菌与丝兰小壳霉同源性为 100%,但是形态特征明显不同。综上所述,该分离物 lyxj012 与葡萄壳小圆孢菌种类最为接近,故将其鉴定为葡萄壳小圆孢菌。



P. recurvifoliae—丝兰褐疽病菌; *C. concentricum*—丝兰小壳霉; *C. vitivorum*—葡萄壳小圆孢菌;
Phaeosphaeriopsis sp.—拟暗球腔菌属

图8 lyxj012 菌株基因序列系统进化树

3 结论与讨论

利用该菌的形态特征和 rDNA - ITS 基因序列系统发育分析,结合柯赫氏法则和叶部解剖特征观察,确认了剑兰叶斑病的病原真菌为葡萄壳小圆孢菌。

3.1 剑兰病原菌的种类存在多样性

深圳动植物检疫所剑兰花枯萎叶斑病调查组 1986 研究报道,剑兰花枯萎叶斑病病原菌为弯孢霉属 [*Curvularia lunata* (Wakker)]。梁丽华报道,3 种剑兰病害颈腐病 (*Pseudomona marginata*)、叶枯病 (*Botrytis gladiolorum*) 和镰刀菌烂病 (*Fusarium oxysporum*)^[9],表明剑兰上的病害不止 1 种。丝兰和剑兰为同一科植物,形态特点较为相似。田雪亮等

研究报道,丝兰轮纹斑菌为丝兰褐斑病病原菌^[10],贾海燕报道,曾在丝兰上发病,并命名褐疽病^[11],于丽娜采用核糖体转录间隔区 (ITS) 对冬枣 (*Zizyphus jujuba*) 黑点病病原菌进行分子水平上的鉴定,利用通用引物扩增了病原菌桑壳小圆孢菌 (*C. fusciculatum* Sacc),该菌属半知菌亚门腔孢纲球壳孢目盾壳霉属^[12]。问小强研究了核桃内生菌葡萄壳小圆孢菌的次生代谢物^[6]。呼洪图报道了葡萄白腐菌 [*C. diplodiella* (Speg.) Sacc]^[13]。徐文涛报道了核桃内生真菌葡萄壳小圆孢菌^[14],这为研究剑兰病原菌的鉴定提供了资料。李晓琴对上海地区唐菖蒲 (剑兰) 干腐病病原种类进行了分离鉴定,研究了病原菌的生物学特性,将唐菖蒲 (剑兰) 干腐病病原初步鉴定为唐菖蒲尖镰孢 (*F. oxysporum*)^[15],从

剑兰叶片上未发现该病原菌,但是笔者在研究的同时也发现 1 株剑兰内生菌,该菌为变红镰刀菌(*F. incarnatum*),至于该菌是否为剑兰叶片致病菌还有待于进一步研究。葡萄壳小圆孢菌在剑兰上尚属首次报道。以上研究结果表明,不同地区剑兰叶部病害的病原菌种类的确存在不同。所以,明确各地的病原菌种类,对进一步研究该病的发生与流行,以及通过品种改良来提高品种的抗病性均具有重要意义。

3.2 侵染机制和生物学特性

本试验对菌丝侵染机制和生物学特性进行了初步研究,未发现该分离菌 lyxj012 产生子囊和子囊孢子,但 Câmara 等报道,拟暗球菌属(*Phaeosphaeriopsis*)真菌可产生 3~5 个子囊孢子^[16],这与本研究结果葡萄壳小圆孢菌的特点是不同的。Lee 等也未报道有子囊和子囊孢子的存在,因此须要对 lyxj012 分离菌的其他特点继续开展深入研究^[4]。

3.3 分子鉴定的辅助作用

本研究利用培养特征鉴定菌种的同时,对剑兰叶片制备切片进行观察,给柯赫氏法则提供了解剖特征方面的依据。相关学者认为,仅根据形态学特征来进行病原菌种的鉴定与分类通常是不适当的,所以在此基础上,笔者研究了 lyxj012 菌株的 rDNA-ITS 基因序列。DNA ITS 是介于 18S rDNA、5.8S rDNA 和 28S rDNA 之间的区域,该区域进化速度较编码区快,可以提供足够多的变异来进行种间或种内的分子系统研究。随着分子生物学技术的发展,rDNA-ITS 序列分析已广泛应用于植物病原真菌的分类和系统发育研究。本试验以传统的形态学特征为基础,并对临沂市剑兰叶部病原菌 rDNA-ITS 序列进行分析和比对,从分子生物学水平上将病原菌鉴定为葡萄壳小圆孢菌,为进行该病害的防治和抗性品种选育研究提供理论依据。

3.4 应用开发前景

国内外有关盾壳霉属(*Coniothyrium*)内真菌的研究多集中在其次生代谢物和生防功能的研究方面,葡萄壳小圆孢菌具有重要的开发前景。Siu 等研究报道,盾壳霉属内真菌可以引起人类暗色丝孢菌病^[17]。目前,国内外研究较多的是盾壳霉(*C. minitans*)。该菌是油菜菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)重要的重寄生菌,同时还会产生少量的抗真菌物质^[17]。盾壳霉 *cmsit1* 基因在菌核寄生盾

壳霉菌中不间断表达,导致其生长抑制和增强抗真菌能力^[18]。用盾壳霉真菌可以防治由油菜菌核病菌引起的大豆白腐病,减少农药的使用^[19]。盾壳霉(*C. minitans*)是植物丝核病原菌的丝核和菌丝寄生菌^[20-21]。海洋生物内生真菌谷类锥孢菌(*C. cereale*)可以产生 phenalenone 类次生代谢物^[22]。医用植物裸茎橐木(*Aralia nudicaulis*)盾壳霉属内生菌可以产生天然抗菌活性物质^[23]。cmpacC 因子是盾壳霉重寄生作用调节的活化剂,也是草酸降解和抗真菌活性的抑制剂^[24]。海洋藻生真菌谷类锥孢菌可以产生多种 phenalenone 物质^[25]。总之,有关盾壳霉的研究报道较多,而有关该菌的研究报道较少,因此,对该菌进一步研究具有广阔的前景。

参考文献:

- [1] 潘冬梅,张 静. 唐菖蒲常见病虫害及其防治[J]. 河北林业, 2005(4): 42.
- [2] 王嘉祥. 唐菖蒲主要病虫害防治[J]. 江西园艺, 2005(3): 38-39.
- [3] 深圳动植物检疫所剑兰花枯萎叶斑病调查组. 平湖区剑兰花枯萎叶斑病的初步观察[J]. 植物检疫, 1986, 3(1): 49-52.
- [4] Lee H B, Kim K M, Jung H S. *Paraphaeosphaeria recurvifoliae*, a new species causing leaf spots and necrosis on *Yucca recurvifolia* [J]. Fungal Diversity, 2005, 20: 71-81.
- [5] 邓叔群. 中国的真菌[M]. 北京: 科学出版社, 1963.
- [6] 问小强. 核桃属两种植物内生真菌次生代谢产物的抑菌活性研究 II [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2009: 1-70.
- [7] 高 芬, 褚建梅, 李静虹, 等. 植物病原真菌致病机理研究进展 [J]. 江苏农业学报, 2014, 30(5): 1174-1179.
- [8] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 433-434.
- [9] 梁丽华. 剑兰病害[J]. 广东园林, 1988, 4(1): 40-42.
- [10] 田雪亮, 刘鸣韬, 徐瑞富. 丝兰轮纹斑菌生物学特性研究[J]. 西北农业学报, 2006, 15(6): 201-203.
- [11] 贾海燕. 我国北方主要花卉新病害及病原鉴定[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008.
- [12] 于丽娜. 冬枣黑点病病原物分子鉴定与致病机理初探[D]. 保定: 河北农业大学, 2007: 1-52.
- [13] 呼洪图. 为害葡萄的几种主要病原真菌镜下识别[J]. 河北林业科技, 1990, 8(4): 50-52.
- [14] 徐文涛. 核桃内生真菌 G8 次生代谢产物及其生物活性的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008.
- [15] 李晓琴. 唐菖蒲干腐病 (*Fusarium oxysporum* Schlecht. var. *gladioli* Mas.) 研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2008.
- [16] Câmara M P, Ramaley A W, Castlebury L A, et al. *Neophaeosphaeria* and *Phaeosphaeriopsis*, segregates of *Paraphaeosphaeria* [J]. Fungal Biology, 2003, 107(5): 516-522.
- [17] Siu K, Izumi A K. *Phaeohyphomycosis* caused by *Coniothyrium* [J]. Cutis, 2004, 73(2): 127-130.

周 洋,蓝国兵,余小漫,等. 海南 17 个辣椒品种对疫病抗性的鉴定[J]. 江苏农业科学,2020,48(14):138-141.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.14.023

海南 17 个辣椒品种对疫病抗性的鉴定

周 洋^{1,2}, 蓝国兵², 余小漫², 周冬梅³, 金宝红¹, 何自福^{1,2}

(1. 海南省东方市农业服务中心, 海南东方 572600; 2. 广东省农业科学院植物保护研究所, 广东广州 510640;

3. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏南京 210014)

摘要:辣椒疫病是辣椒生产上主要病害之一, 种植抗病品种是防治该病害最经济有效和绿色的措施。采用孢子悬浮液苗期灌根接种法, 对海南生产上推广应用的 17 个辣椒品种进行鉴定与评价。结果表明, 不同辣椒品种对疫病的抗病性差异较大, 金艳、泰丽、长艳 3 个品种表现免疫, 红妃、热辣 4 号 2 个品种表现为高抗, 金骄红玉、湘辣十七号、金骄 M6、权御天下 4 个品种表现为抗病, 金骄 3.0 表现为中抗, 而热甜 3 号、热甜 5 号、湘研珍丽、热辣 3 号、湘研 6A、金骄神龙和热辣 2 号 7 个品种表现为高感。可见, 朝天椒类对疫病的抗性优于其他辣椒, 线椒次之, 而牛角椒和甜椒抗性较差。

关键词:海南; 辣椒; 疫病; 抗病性; 孢子悬浮液苗期灌根法; 病情指数

中图分类号: S436.418 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)14-0138-04

辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 是茄科辣椒属的 1 年生或多年生作物, 起源于中南美洲热带地区, 明末清初时传入我国^[1]。近年来, 我国辣椒种植面积

在 150 万 ~ 200 万 hm^2 /年, 占全国蔬菜总面积的 8% ~ 10%, 居于各种蔬菜首位^[2]。辣椒因富含丰富的维生素并有芬芳的辛辣味而广受消费者欢迎, 世界有近 3/4 的消费者经常食用辣椒或辣椒制品^[3-5]。辣椒是海南省冬种主要作物之一, 自 1987 年起海南就开始栽培辣椒, 种植面积达 3 000 hm^2 /年, 且逐年增加, 2017 年海南省辣椒播种面积达 45 489 hm^2 , 占蔬菜种植面积的 17.29%, 居于各种蔬菜种植面积之首^[6]。

辣椒疫病是由辣椒疫霉菌 (*Phytophthora capsici* L.) 侵染引起的土传病害, 是辣椒生产上一种毁灭性病害^[7-8]。1918 年, 首次在美国新墨西哥州发现

收稿日期: 2019-08-21

基金项目: 国家重点研发计划 (编号: 2018YFD0201200); 广东省果菜产业技术体系创新团队项目 (编号: 2019KJ110)。

作者简介: 周 洋 (1984—), 男, 山东聊城人, 硕士, 农艺师, 主要从事农作物病虫害防控等技术推广。Tel: (0898) 25510439; E-mail: 279489688@qq.com。

通信作者: 何自福, 博士, 研究员, 主要从事植物病理学研究, Tel: (020) 87597476, E-mail: hezf@gdppri.com; 金宝红, 高级农艺师, 主要从事农业技术推广, Tel: (0898) 25510439, E-mail: dfjbhong@sina.com。

- [18] Sun X P, Ying Z, Jia J C, et al. Uninterrupted expression of CmSIT1 in a sclerotial parasite *Coniothyrium minitans* leads to reduced growth and enhanced antifungal ability[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2208.
- [19] Mohamed E, Elkhaky M T, Shaban R S, et al. Integrated control of white rot disease on beans caused by *Sclerotinia sclerotiorum* using contans and reduced fungicides application[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2017, 24(2): 405-409.
- [20] Yang X X, Hui C, Cheng J S, et al. A HOPS protein, CmVps39, is required for vacuolar morphology, autophagy, growth, conidiogenesis and mycoparasitic functions of *Coniothyrium minitans* [J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(11): 3785-3797.
- [21] Wei W, Zhu W J, Cheng J S, et al. Nox complex signal and MAPK cascade pathway are cross-linked and essential for pathogenicity and conidiation of mycoparasite *Coniothyrium minitans*[J].

Scientific Reports, 2016, 6(1): 24325.

- [22] Mahmoud E, Hazem G, Mohamed M. Unusual nitrogenous phenalenone derivatives from the marine-derived fungus *Coniothyrium cereale*[J]. *Molecules*, 2016, 21(2): 178.
- [23] Li H X, Doucet B, Flewelling A J, et al. Antimycobacterial natural products from endophytes of the medicinal plant *aralia nudicaulis* [J]. *Natural Product Communications*, 2015, 10: 1461-1462.
- [24] Yi L, Han Y C, Long Y, et al. CmpacC regulates mycoparasitism, oxalate degradation and antifungal activity in the mycoparasitic fungus *Coniothyrium minitans* [J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(11): 4711-4729.
- [25] Mamona N, Fayrouz E M, Stefan K, et al. Phenalenones: insight into the biosynthesis of polyketides from the marine alga-derived fungus *Coniothyrium cereale*[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2015, 13(29): 8071-8079.