

赵文静, 惠林冲, 徐卫平, 等. 加拿大一枝黄花白粉菌病原鉴定[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(12): 72–74, 84.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.12.010

加拿大一枝黄花白粉菌病原鉴定

赵文静, 惠林冲, 徐卫平, 苏文英, 于守荣

(连云港市农业科学院, 江苏连云港 222000)

摘要:对加拿大一枝黄花上的白粉菌进行形态学和分子生物学分析, 通过观察记录病害症状和发病过程, 并在显微镜下观察病原菌形态特征, 用绘图仪绘制病原菌显微图片; 采用试剂盒法提取病原菌总基因组 DNA, PCR 扩增其 rDNA – ITS 序列并测序, 并通过 MEAG 软件构建系统发育树推演系统进化关系, 在分子水平鉴定该菌种并比较其与其他白粉菌菌种的亲缘关系。结果表明, 供试菌株与寄主为加拿大一枝黄花的 MH333274 (欧洲)、KC513763 (韩国) 菌株聚于同一分支, 亲缘关系最近。这是国内首次对加拿大一枝黄花白粉病的记录, 该白粉菌对加拿大一枝黄花的生长、蔓延有一定影响, 对加拿大一枝黄花的研究有利于从生态和生物学的角度减轻其对农业生产和生态环境的影响。

关键词:白粉菌; 加拿大一枝黄花; 分子鉴定; 形态学鉴定

中图分类号:S432.4⁺4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)12-0072-03

加拿大一枝黄花 (*Solidago canadensis* Linn.) 是菊科多年生草本植物, 原产于北美, 1935 年被作为观赏植物引进, 后逸为野生杂草。由于其繁殖能力强, 传播速度快, 适应能力强, 生长优势明显, 在国内迅速传播蔓延, 已经成为对我国农业生产造成严重威胁的恶性杂草。加拿大一枝黄花主要生长在河滩、荒地、路边、农田、坡地等, 与周围植物或农作物争光、争水、争肥料, 对生态系统和生物多样性造成了严重破坏和威胁, 目前已广泛分布在我国华东、华南、华中和西南等地区的十多个省份, 被列入《中国外来入侵物种名单》。调查表明, 加拿大一枝黄花已遍布江苏全省各地, 并呈由北向南逐渐严重的分布特征^[1-5]。

2018—2020 年在白粉菌普查中, 笔者发现加拿大一枝黄花白粉菌 [*Golovinomyces asterum* (Schwein.) U. Braun var. *solidaginis* U. Braun]。经观测表明, 加拿大一枝黄花白粉菌对宿主的生长和发育有一定的抑制和控制作用。由于该菌属专性寄生菌, 对其他近缘植物没有影响, 所以是寻找利用生物手段控制该恶性杂草的一种可能途径和方法。该菌在我国属于首次发现, 未见系统报道和

相关研究。为明确加拿大一枝黄花白粉菌的病原归属和发病特征, 对该菌的发生分布情况和生物学形态特征等进行系统调查和研究, 并结合 rDNA – ITS 序列分析, 对该菌进行菌原鉴定。

1 材料与方法

1.1 材料

2018—2020 年对江苏省 13 个市的加拿大一枝黄花白粉菌发生情况进行调查, 期间在各个地区共采集 11 份样本 (标本), 采集收集样本上的菌丝体和分生孢子 5 份, 于 2019 年进行分子鉴定。

1.2 病害症状观测和危害情况调查

观测加拿大一枝黄花白粉菌症状, 记录病害对加拿大一枝黄花的危害程度。

1.3 病原鉴定

1.3.1 病原菌形态观测 用普通载玻片, 以蒸馏水作为悬载剂, 在显微镜 (OlympusCX21) 下观测病原菌形态特征、测量大小, 用绘图仪 (OlympusU – DA) 绘制病原菌显微图片。

1.3.2 病原菌 rDNA – ITS 序列分析 利用真菌基因组提取试剂盒提取加拿大一枝黄花白粉菌的基因组 DNA。使用引物 ITS1 (5′ – TCCGTAGGTGAACCTGCGG – 3′); ITS4 (5′ – TCCTCCGCTTATTGATATGC – 3′) 对菌株进行序列扩增。PCR 反应体系: 1 μL *Taq* Plus 酶、5 μL 10 × *Taq* Plus Buffer、上下游引物各 1 μL、模板 1 μL、ddH₂O 定容至 50 μL。PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C

收稿日期: 2020-09-28

基金项目: 江苏省连云港市财政专项 (编号: QNJ1910)

作者简介: 赵文静 (1991—), 女, 江苏赣榆人, 硕士, 研究实习员, 主要从事植物病理学和植物育种研究。E-mail: ZWJ6691@163.com。

通信作者: 于守荣, 高级农艺师, 主要从事植物病理学研究。

E-mail: lygysr@163.com。

退火 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 35 个循环。反应结束后将 PCR 产物通过 1% 琼脂凝胶电泳检验, 样品送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。将所得到的核苷酸序列上传至 GenBank 获得序列号。在 NCBI 里进行同源性比较, 利用 MEGA 5.0 软件采用邻接法(Neighbor - Joining, NJ) 构建系统发育树, Bootstrap 检验的重复次数为 1 000 次^[6-11]。

2 结果与分析

2.1 病害症状及发病过程

加拿大一枝黄花白粉菌菌丝体叶两面生, 也生于茎、花穗等部位, 初为白色圆形或无定形斑点, 后逐渐扩展连片并布满全叶, 叶面均匀覆盖一层明显的白粉层, 展生, 存留或近存留(图1)。通常病害由中下部叶片逐渐向上叶片蔓延, 中后期可均匀覆盖全株叶片, 严重时叶片因失水等枯黄而死(图2)。根据加拿大一枝黄花群落的生长分布情况, 病害常呈点线、点片或连片发生, 后期受感染的植株花穗生长明显迟缓和减少, 叶片枯死, 个别可致植株枯死(图3)。一般情况下, 病害在该地区 4 月开始发病, 由南向北时间逐渐推迟, 5 月进入发病高峰, 一直持续到夏季高温来临之前, 夏季病害停止发展或缓慢发展(图4)。该地区加拿大一枝黄花白粉菌以无性阶段越冬和越夏, 没有发现有性阶段产生。



图1 发病初期症状

2.2 病原菌形态学特征

菌丝无色, 光滑, 粗 4 ~ 8 μm, 附着胞乳头形; 分生孢子梗脚胞柱状, 直或基部略弯曲, 光滑, 上下近等粗, (44 ~ 100) μm × (9 ~ 12) μm, 上接 1 ~ 3 个细胞; 分生孢子串生, 椭圆形、卵椭圆形、卵形, 无色, (28 ~ 43) × (17 ~ 22) μm, 长宽比为 1.4 ~ 2.3, 平均为 1.7; 未见有性阶段产生(图5)。将以上结果与白粉菌鉴定手册比对, 符合白粉菌的描述^[12-13]。



图2 发病中期



图3 发病后期



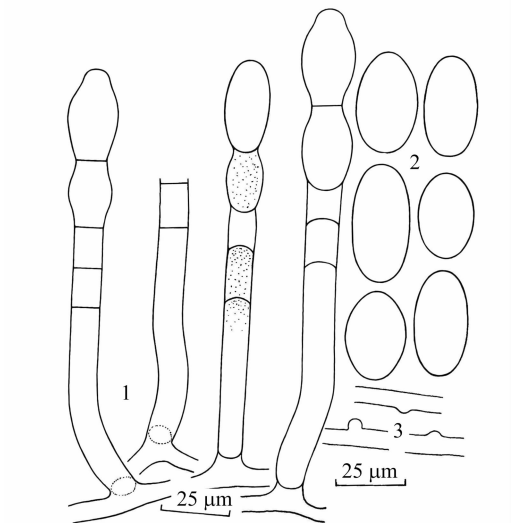
图4 群体发病情况

2.3 分布情况

根据调查, 江苏省 13 个市: 苏州、无锡、常州、南京、镇江、扬州、南通、泰州、盐城、淮安、宿迁、徐州和连云港均有加拿大一枝黄花生长分布, 除了徐州、连云港 2 个城市到目前没有采集到加拿大一枝黄花白粉菌病株外, 其他 11 个城市均有白粉菌发生。其中, 淮河以南地区发病较以北地区发病重且普遍, 以苏南地区最重, 徐州、宿迁、淮安、连云港地区最轻, 与寄主在不同地区的气候和发生数量相关。

2.4 分子生物学鉴定

通过 rDNA ITS 基因序列扩增和测序, 获得大小



1—分生孢子梗和分生孢子；2—分生孢子；3—附着胞
图5 紫菀高氏白粉菌一枝黄花变种

约为 532 bp, 登录号为 MT929350 的序列。将获得的序列与 GenBank 中的白粉菌属不同来源病原菌的核苷酸序列进行同源性比较, 并构建系统发育树 (图 6)。通过系统发育分析, 供试菌株与寄主为加拿大一枝黄花的 MH333274 (欧洲)、KC513763 (韩国) 菌株聚于同一分支, 说明其亲缘关系最近。结合形态学特征和分子鉴定, 确定加拿大一枝黄花白粉菌为 *Golovinomyces asterum* (Schwein.) U. Braun var. *solidaginis* U. Braun。

3 讨论

通过形态学和分子生物学鉴定, 结果表明, 加拿大一枝黄花白粉菌是紫菀高氏白粉菌一枝黄花变种 (*Golovinomyces asterum* var. *solidaginis*), 属于国内白粉菌新记录种, 该菌应该是随着加拿大一枝黄

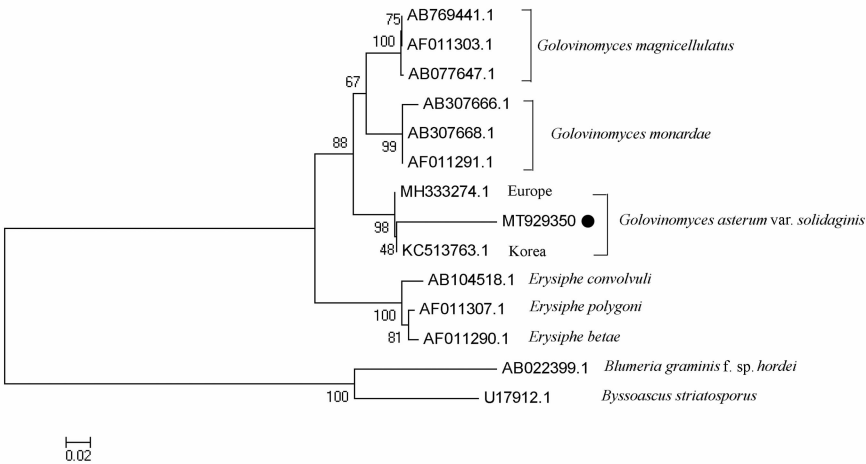


图6 根据 ITS 序列构建的系统进化树

花进入我国境内的, 是加拿大一枝黄花的专性寄生菌。观测结果表明, 该菌对加拿大一枝黄花的感病性和致病性都很高, 发病后病害蔓延迅速, 菌粉层很快覆盖叶面和叶背直至整个植株体。显著影响

植株光合作用, 造成叶片失水, 并导致叶片逐渐枯黄死亡 (图 7), 植株生长、穗花发育、开花结实等都受到明显影响和抑制, 严重时后期病株不能正常开花结实。根据笔者所在课题组的观测, 加拿大一枝



图7 发病后期病株 A 和未发病对照 B

草,减少越冬代叶蝉和蓟马种群基数,10 月底开始在园区周边及中间悬挂黄板诱集桃蚜和橘小实蝇,在园区周边悬挂橘小实蝇性诱剂诱杀成雄虫,并于桃蚜高峰期,采用内吸性杀虫剂,喷洒桃树,消灭越冬卵,12 月进行冬季枝干涂白。另外有文献利用成虫的趋性^[7],在夜间利用灯光诱杀趋光性成虫,释放天敌如异色瓢虫^[8]、大草蛉、蜘蛛^[9]、东亚小花蝽^[10-11]、蚜茧蜂^[12-13]等可有效防控叶蝉、蚜虫、蓟马等害虫,此方法在有条件的果园可以适时开展,对桃园生态有很好的调控效果^[14]。此外也可利用白僵菌防控桃蚜^[15-16],采用趋避剂和性诱剂相结合防控橘小实蝇^[17-18]。2019 年秋季气温较往年偏高,蚜虫的峰期较往年延迟,数量偏高,甚至在后期叶片上发现少量无翅蚜危害。因此,准确把握害虫防控时期,是有效防控害虫危害、减少损失的重要条件。而害虫的发生与气候条件有直接相关性,因此监测气候环境变化是预测害虫发生的前提,利用性诱剂、色板等材料监测害虫发生量,可以预测害虫危害时期,从而适时采取防控措施。

参考文献:

- [1] 朱学超. 上海郊区桃重大虫害发生规律与绿色防控技术[J]. 上海农业科技,2018(4):124-125,130.
- [2] 李小小,刘伟,徐严,等. 桃树主要病虫害测报技术研究与应[J]. 中国果菜,2018,38(4):20-24.
- [3] 陈苏臻. 桃一点叶蝉种群消长规律及综合防控技术[J]. 福建果树,2012(2):32-34.
- [4] 张安盛,于毅,张思聪,等. 桃园山楂叶螨、桃一点斑叶蝉及其主要天敌生态位[J]. 华东昆虫学报,2005,14(1):44-47.
- [5] 吴利民,柴立英,杜连营. 五种药剂对小绿叶蝉的防效试验研究[J]. 河南科技学院学报(自然科学版),2008,36(3):41-43.
- [6] 华曹杰,陈伟,高寒,等. 不同药剂防治桃蚜田间药效试验[J]. 现代农业科技,2019(8):96-97.
- [7] 顾爱祥,周福才,陈学好,等. 黄板在设施蔬菜害虫预警和诱杀中的应用技术[J]. 长江蔬菜,2019(9):58-60.
- [8] 邱晓红,陈雅婷,熊凯凡,等. 不同防控方法对江苏句容桃园桃蚜防效研究[J]. 中国植保导刊,2018,38(12):53-56.
- [9] 邹运鼎,周夏芝,毕守东,等. 草间小黑蛛与桃一点叶蝉之间的数量关系[J]. 安徽农业大学学报,2003,30(3):231-234.
- [10] 王然,王晓灵,王甦,等. 东亚小花蝽对西花蓟马的控害能力评价[J]. 环境昆虫学报,2014,36(6):983-989.
- [11] 尹哲,李金萍,董民,等. 东亚小花蝽对西花蓟马、二斑叶螨和桃蚜的捕食能力及捕食选择性研究[J]. 中国植保导刊,2017,37(8):17-19.
- [12] 翟颖妍,张家韬,张强,等. 烟蚜茧蜂寄生蚜虫种类范围研究[J]. 现代农业科技,2017(17):97-98.
- [13] 谷星慧,杨硕媛,余砚碧,等. 云南省烟蚜茧蜂防治桃蚜技术应用[J]. 中国生物防治学报,2015,31(1):1-7.
- [14] 刘军和,赵紫华. 昆虫视觉在寄主寻找及定位过程中的作用[J]. 植物保护学报,2017,44(3):353-362.
- [15] 朱虹,骆绪美,宋仅星,等. 球孢白僵菌对桃蚜及其两种捕食性天敌的影响[J]. 应用生态学报,2011,22(9):2413-2418.
- [16] 奚广生,李海涛. 人参茎叶、根部皂苷对桃蚜解毒酶活性影响及作用对比[J]. 江苏农业科学,2019,47(11):151-155.
- [17] 全金成,陈贵峰,江一红,等. 广西桃李梨橘小实蝇为害调查及其田间防控试验[J]. 中国南方果树,2019,48(6):86-91.
- [18] 席涵,刘秀,舒海娟,等. 推拉策略在橘小实蝇防治中的研究进展[J]. 农药,2019,58(4):245-249.

(上接第 74 页)

黄花上除了一种小型椿象和白粉菌 2 种病虫害外,没有发现其他病虫害危害。进一步研究调查发现,白粉菌具有对加拿大一枝黄花生长、蔓延的影响和控制其危害的作用,从生态和生物学的角度减轻和缓解对农业生产和生态环境的影响具有重要意义。

参考文献:

- [1] 刘启新. 江苏植物志[M]. 南京:江苏凤凰科学技术出版社,2015.
- [2] 孙晓方. 浅析入侵植物加拿大一枝黄花的人侵机理[J]. 园艺与种苗,2020,40(1):20-22.
- [3] 左希,董红刚,陈银凤,等. 扬州市邗江区加拿大一枝黄花发生现状及防治对策[J]. 现代农业科技,2020(3):139-140.
- [4] 吴承东,江丰,林玉清,等. 加拿大一枝黄花社会化防控探索实践[J]. 中国植保导刊,2017,37(12):90-91.
- [5] 何祖传,周健,张洪泉,等. 化学除草剂对加拿大一枝黄花的防除效果试验[J]. 现代农业科技,2020,768(10):82,88.
- [6] 张菊,张怡,曹鹏,等. 艾草白粉病的病原菌鉴定[J]. 江苏农业科学,2016,44(8):178-180.
- [7] 陆依琳,赵晴雨,彭学. 2 株固氮菌的分离与鉴定[J]. 江苏农业科学,2020,48(16):298-302.
- [8] 刘闰,周暄,邢帅,等. 百日菊白粉菌的分子检测与鉴定[J]. 江苏农业科学,2020,48(6):98-103.
- [9] 管颀萍,Munkhbayar E,黄紫贝,等. 茶叶中 23 株真菌的分离鉴定[J]. 江苏农业科学,2020,48(16):285-290.
- [10] 文静,刘铁志,赵冰. 内蒙古 4 种白粉菌的 ITS 序列分析[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):50-52.
- [11] 贾桥东,张保全,王卫民,等. 烟草白粉病的研究进展[J]. 江苏农业科学,2019,47(4):94-97.
- [12] Braun U, Cook R T A. Taxonomic manual of the Erysiphales (powdery mildews)[M]. Centraalbureau voor Schimmelcultures 2012:1-707.
- [13] 郑儒永,余永年. 中国真菌志 第一卷:白粉菌目[M]. 北京:科学出版社,1987:1-552.