

冬枣黑点病病原鉴定

宗淑萍^{1,2}, 杨文香^{1,2}, 刘大群^{1,2}, 张 汀^{1,2}

(1 河北农业大学 植物保护学院, 河北 保定 071001; 2 河北省农作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 河北 保定 071001)

摘要: 冬枣黑点病主要为害冬枣果实, 在果面上产生黑斑, 影响果实的外观及品质。2004~ 2005 年连续 2 年对河北省黄骅市的不同枣区采集的病果进行分离接种及再分离, 结果证实冬枣黑点病病原为: 桑壳小圆孢菌(*Coniothyrium fuscidulum* Sacc)、仁果茎点霉(*Phoma pomorum* Thüm) 以及细极链格孢(*Alternaria alternata* (Fr.) Keissler), 其中(*Coniothyrium fuscidulum* Sacc) 和(*Phoma pomorum* Thüm) 既可单独侵染, 也可混合侵染, (*Alternaria alternata*) 只参与混合侵染。

关键词: 冬枣; 黑点病; 桑壳小圆孢菌; 仁果茎点霉; 链格孢

中图分类号: S436. 65 文献标识码: A 文章编号: 1000- 7091(2006) 05- 0105- 03

Identification of the Pathogen of Dongzao Jujube Black_spot Disease

ZONG Shu_ping^{1,2}, YANG Wen_xiang^{1,2}, LIU Da_qun^{1,2}, ZHANG Ting^{1,2}

(1. College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China;

2. The Biological Control Center of Plant Diseases and Pests of Hebei Province, Baoding 071001, China)

Abstract: The symptoms of the dongzao jujube black_spot disease which induced the fruit black spot affect the fruit commercial value and its quality. The disease is named according to its characteristics of the symptoms. The pathogens were investigated by using Koch's Rule in a two_years_test from 2004 to 2005. With samples from four jujube farms in Huanghua city and three fungi related to the disease were identified. They were, *Coniothyrium fuscidulum* Sacc, *Phoma pomorum* Thüm and *Alternaria alternate* (Fr.) Keissler. *Coniothyrium fuscidulum* Sacc and *Phoma pomorum* Thüm could infect the dongzao jujube fruits singly and jointly, but *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler only could infect the dongzao jujube fruits jointly with other pathogens in the laboratory and field tests.

Key words: Dongzao; Black_spot disease; *Coniothyrium fuscidulum* Sacc; *Phoma pomorum* Thüm; *Alternaria alternate* (Fr.) Keissler.

冬枣黑点病又名黑斑病、黑疔病, 2003 年始见正式报道^[1]。在河北省黄骅市、沧县、献县, 山东沾化县、无棣等地的初步调查, 结果表明, 2003 年该病在上述冬枣区均有发生, 大多数冬枣园发病率在 20% ~ 50%, 发病严重的枣园发病率达 80% 以上^[2]。该病给冬枣生产造成重大损失, 严重损伤了果农栽培冬枣的积极性, 影响了冬枣产业的正常发展。关于该病的病原有细菌和真菌等多种报道^[1, 3, 4], 至今未获统一认识。为明确该病病原, 2004- 2005 年笔者从冬枣的主要产区黄骅市不同枣园采集新鲜标本进行分离接种试验。

1 材料和方法

1.1 供试材料

1.1.1 枣品种 黄骅冬枣。

1.1.2 采样地点 黄骅市李官庄、二科牛、辛庄、孔店 4 个枣园采集冬枣。

1.2 病原物的分离方法

从 2004- 2005 年于果实发病盛期, 采集新鲜病果进行多批次分离。分离按常规方法进行。每个 PDA 培养皿中大约含有 4~ 5 块组织块, 并在 25℃ 的恒温箱中培养。5 d 后检查菌落, 调查皿内分离物

收稿日期: 2006- 06- 20

作者简介: 宗淑萍(1970-), 女, 河北保定人, 硕士研究生, 主要从事植物病害生物防治方面的研究; 刘大群为通讯作者。

的种类和数量, 分别按果实个数和组织块数统计不同分离物的数量, 并及时纯化后转入试管保存^[5-7]。

1.3 分离物致病性试验方法

1.3.1 配置孢子悬浮液 将在 PDA 上培养 7~10 d 的各分离物分别配成孢子浓度为 1.0×10^6 个/mL 的孢子悬浮液。

1.3.2 室内接种方法 采集不同生育期新鲜健康的果实, 用 70% 酒精棉球将枣果表面消毒, 用打孔器将滤纸片切成 0.5 cm 的圆纸片, 分别蘸取单个分离物的孢子悬浮液及分离物混合后的孢子悬浮液, 轻贴于枣果表面, 每果接种 2 个位点, 每处理 20 个果实, 枣果分刺伤和无刺伤 2 种处理, 保湿 48 h, 以无菌水做对照^[6]。

1.3.3 田间接种方法 选择发病较轻的果园, 从中选择新鲜健康的果实, 按照室内接种的方法分别或混合接种分离物, 套袋保湿 48 h, 设刺伤和无刺伤 2 种处理, 均以无菌水做对照, 每次每处理接种 20 个枣果^[6]。

接种后定期检查发病情况, 每处理 15 d 后统计发病率。

1.4 分离物的鉴定方法

将纯化菌种转到 PDA 培养基上(*Phoma pomirum* Thüm 用燕麦或麦芽琼脂培养基), 黑光灯照射和黑暗交替培养 7~10 d, 观察分生孢子器和分生孢子等特征, 并显微测量其大小, 按文献[8, 9] 标准将其鉴定到种。

2 结果与分析

2.1 病原物的分离培养

2004–2005 年连续 2 年从河北黄骅 4 个不同的枣园采集具有典型黑点病症状的病果进行室内分离培养, 从病果中分离出的 3 种真菌分别为: 病原菌 I、病原菌 II 和病原菌 III, 其中以病原菌 I 为最多。

2.2 分离物对枣果致病性试验

将分离到的 3 种真菌分别在室内和田间进行了接种试验, 结果表明, 3 种真菌均可使刺伤的枣果致病, 但是无刺伤的果实未见明显的发病症状单独接种病原菌 II 产生的症状与自然发病的果实症状有所不同, 其余接种均可产生和田间同样症状。因此, 推断病原菌 II 只参与混合侵染。

对接种后发病的枣果进行再分离试验, 结果表明, 无论单一菌接种的枣果, 还是混合接种的枣果均能在发病部位重新分离出接种到的真菌, 并且经过

鉴定证实是与所接的菌同属同种。

2.3 病原菌的分类地位和形态描述

通过以上试验充分证明, 本试验所分离到的 3 种真菌是冬枣黑点病病原菌, 菌种的培养特性和形态特征描述如下:

病原菌 I 菌落圆形, 边缘整齐, 气生菌丝毡毛状, 初为浅灰色, 后为黄褐色, 老熟菌落背观黑色。菌落表面产生黑色小点, 有时呈轮状排列, 为其分生孢子器, 分生孢子器形状不一, 大多为球形、少数扁球形, 黑褐色, 直径大小为 $112.5 \sim 170 \mu\text{m}$, 分散或集生, 单腔。分生孢子椭圆形或卵形, 浅褐色, 大小为 $(4.5 \sim 5.5) \mu\text{m} \times (3.0 \sim 3.25) \mu\text{m}$, 有或无油球。根据形态特征, 病原菌 I^[8-11] 鉴定为: 桑壳小圆孢菌 (*Coniothyrium fuscidulum* Sacc)。

病原菌 II 菌落圆形、规则, 初为浅灰色, 后为黑黄色, 后期产生大量小黑点, 为其分生孢子器, 在光暗交替条件下进行培养, 黑点呈轮纹状排列, 分生孢子器为球形、扁球形, 深褐色, 大小为 $(75 \sim 150) \mu\text{m} \times (70 \sim 112.5) \mu\text{m}$ 。分生孢子椭圆形或圆形, 大小为 $(4.5 \sim 5.25) \mu\text{m} \times (2.5 \sim 2.88) \mu\text{m}$, 有或无油球。厚垣孢子多胞, 交链孢状, 串生。根据形态特征, 病原菌 II^[8-11] 鉴定为: 仁果茎点霉 (*Phoma pomirum* Thüm)。

病原菌 III 菌落铺展, 圆形, 灰色或墨绿色, 气生菌丝初为白色, 后为淡褐色或褐色。12 h 黑光灯照射与 12 h 黑暗交替照射, 菌落可形成明显的轮纹, 背观黑色。分生孢子梗分枝或不分枝, 褐色或深褐色。分生孢子常聚为长链, 一般有 10 个孢子, 分生孢子有喙或无喙, 形状变化很大, 一般为倒梨形, 椭圆形, 淡橄褐色或深橄褐色, 光滑或具瘤, 大小为 $(12.5 \sim 37) \mu\text{m} \times (7.5 \sim 20) \mu\text{m}$, 常具 3~4 个横隔膜、1~2 个纵隔膜, 喙大小为 $(3 \sim 5) \mu\text{m} \times (3 \sim 21.5) \mu\text{m}$, 最适生长温度为 $25 \sim 32^\circ\text{C}$ 。根据形态特征, 病原菌 III 鉴定为^[8-11]: 细交链格孢 (*Alternaria alternata* (Fr.) Keissler.)。

3 讨论

冬枣黑点病是近年来危害冬枣果实的一种严重病害, 目前有关该病病原存在很大争议。本研究经过广泛采集标样, 经过多次分离、回接和再分离试验, 按照柯赫氏法则诊断冬枣黑点病病原为 3 种真菌。根据形态特点, 3 种真菌鉴定为: 桑壳小圆孢菌 (*Coniothyrium fuscidulum* Sacc); 仁果茎点霉 (*Phoma*

pomirum Thüm); 细交链格孢 (*Alternaria alternate* (Fr.) Keissler)。

本研究结果是针对取样地点在河北省黄骅市主要冬枣园所取得的, 其他冬枣产区黑斑病病原与本研究结果是否一致有待于进一步研究。

多次回接试验中, 3 种真菌的非刺伤发病率均未见明显的发病症状, 推断可能由于接种时期果实的自愈能力非常强, 如果没有伤口已经不易侵入到果实内部, 或者可以推断冬枣黑斑病病菌由伤口侵入, 不能由自然孔口侵入, 田间发病就可能与枣园中绿盲椿象等昆虫对果实的刺伤有关。其结论有待于进一步研究验证。

致谢: 真菌鉴定承蒙河北农业大学植物保护学院田世民教授指导, 特此感谢。

参考文献:

- [1] 辛玉成, 王贵禧, 崔卫东, 等. 沾化冬枣果实病害的发生与生态相关性研究[J]. 莱阳农学院学报, 2003, 20 (4): 255- 257.

- [2] 宗淑萍, 杨文香, 毛永民, 等. 河北省黄骅市冬枣主要病害调查初报[J]. 华北农学报, 2005, 20(增刊): 252- 255.
- [3] 李晓军, 张 勇, 曲健禄, 等. 杀菌剂对冬枣黑斑病原细菌的室内抑菌效果[J]. 落叶果树, 2004, (2), 50- 51.
- [4] 吴玉柱, 季延平, 刘殷, 等. 冬枣黑斑病发生规律的研究[J]. 山东林业科技, 2004, (3), 1- 2.
- [5] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [6] 康绍兰, 邸垫平, 李兴红, 等. 枣铁皮病病原鉴定[J]. 植物病理学报, 1998, 28(2): 165- 171.
- [7] 徐 攸, 郑晓莲, 赵光耀, 等. 枣缩果病病原诊断初报[J]. 植物保护, 1995, 21(2): 19- 21.
- [8] 张中义. 植物病原真菌学[M]. 成都: 四川科技出版社, 1988.
- [9] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [10] Ellis M B, Ellis J P. Microfungion Land Plants[M]. 1985.
- [11] Sutton B C. The Coelomycetes Fungi Imperfecti with Pycnidia Acervuli and Stromata[M]. CMI. Kew, England, 1980.

欢迎订阅 2007 年《特产研究》

《特产研究》是中华人民共和国农业部主管、中国农业科学院特产研究所和中国农学会特产学会联合主办的国家级农牧特产业学术期刊, 为国家科技部中国科技核心期刊、《CAJ—CD 规范》执行优秀期刊。主要报道野生经济动、植物的引种驯化、遗传育种、饲养繁殖、栽培管理、病虫害防治、产品加工、贮藏保鲜等方面的最新科研成果; 介绍农牧特产业的新技术、新方法、新经验等。辟有研究报告、应用技术、测试分析、专论综述、译文等栏目。适合各级从事特产科技工作的院校师生、科研人员、生产技术人员及广大农村种植业和养殖业专业户参阅。欢迎投稿、欢迎刊登广告。

季刊, 16 开本 64 页, 季末月出版。每期定价 5.00 元, 年价 20.00 元(含邮费)。全国各地邮局(所)均可订阅, 邮发代号 12- 182。也可通过当地邮局汇款至本刊编辑部直接订阅。

地 址: 吉林省吉林市左家镇鹿鸣大街 15 号

单 位: 中国农业科学院特产研究所《特产研究》编辑部

联系人: 刘鹏举

邮 编: 132109

电 话: (0432) 6513067 6513069(传真)

E-mail: tcyjbjb@126.com