

## 组培速生楸青枯病及病原调查

李成凯<sup>1</sup>,邵云华<sup>2\*</sup>,薛德山<sup>3</sup>,战鑫<sup>2</sup>,熊雄<sup>2</sup>

1. 山东省莱芜市林业局, 山东 莱芜 271100
2. 山东农业大学 植保学院, 山东 泰安 271018
3. 山东省海阳市林业局, 山东 海阳 265100

**摘要:** 组培速生楸青枯病主要危害地茎和根部, 症状类型: 1. 地茎变黑坏死, 上部萎焉死亡, 坏死地茎处出现许多小菌核; 2. 随苗木木质化增高, 根部腐烂坏死, 植株死亡, 坏死病部出现粉状孢子。在温度高湿度大的情况下发病重。经组织分离和接种试验, 主要病原菌为 *Macrophomina phaseolina*, 其次是 *Fusarium oxysporum*。

**关键词:** 组培速生楸; 青枯病; 症状; 病原

**中图分类号:** S436.412.1+5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-2324(2018)03-0000-03

## Investigation into Bacterial Wilt and Pathogenesis of *Catalpa bungei* C. A. Mey. Made of Tissue Culture Rapidly

LI Cheng-kai<sup>1</sup>, SHAO Yun-hua<sup>2\*</sup>, XUE De-shan<sup>3</sup>, ZHAN Xin<sup>2</sup>, XIONG Xiong<sup>2</sup>

1. Laiwu Forestry Bureau of Shandong Province, Laiwu 271100, China
2. College of Plant Protection/Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China
3. Haiyang Forestry Bureau of Shandong Province, Haiyang 265100, China

**Abstract:** Bacterial wilt from *Catalpa bungei* C. A. Mey. Made of tissue culture rapidly mainly injures stems and roots and symptom types show that stems become black necrosis and there are many small sclerotia on it, upper parts wilt till death; with the lignification of seedlings increasing, Root decays necrosis and powdery spores on necrotic parts to death. There are more serious diseases in high temperature and humidity. The main pathogens were identified as *Macrophomina phaseolina* firstly and then *Fusarium oxysporum* by means of tissue isolation and inoculation test.

**Keywords:** *Catalpa bungei* C.A.Mey.; bacterial wilt; symptom; pathogenesis

楸 (*Catalpa bungei* C.A.Mey.) 紫葳科乔木, 高 8~10 m, 我国广泛分布, 是优良的用材、庭院观赏、园林绿化树种。随着国家绿色发展和山东生态区域建设综合开发造林的需要, 上海杉一植物科技公司, 连续 4 年经多代组培和定向优选出的楸树优良新品系, 其生根能力强, 特别速生、优质、干直, 深受欢迎。2015 年发现田间苗期植株不断枯死, 先是地茎部变黑, 逐步向上向下蔓延, 最后整株死亡。关于对该病的研究, 国内未见报道<sup>[1]</sup>。为此, 结合全省林业有害生物普查, 我们对该病进行了全面调查和研究, 现将结果报道如下。

### 1 危害症状

2015 年从组培速生楸苗圃中发现植株青枯, 2016 年调查, 在山东、河南、河北栽培区均有零星发生, 以栽植后 50 cm 左右的幼苗发展速度最快, 见叶萎焉, 几天就会死亡; 另一种情况是随着苗木木质化程度增高, 生长在 70~100 cm 的苗木, 根部变黑死亡, 导致整个植株枯萎。特别是进入 7 月高温高湿发病重<sup>[2]</sup>。

该病主要危害速生楸的地茎处, 逐步向上扩展, 导致植株枯死。一种情况是初期, 地茎表皮出现浅色小溃疡, 后渐变暗褐色至黑色水渍状病斑, 随即扩大包围全茎, 这时上部叶片萎焉, 顶芽枯死, 以后下部叶片也相继枯死下垂但不脱落; 另一种情况是随着苗木木质化程度增高, 生长在 80 cm 左右的苗木, 根部坏死, 导致植株死亡。剖开受害干茎, 可见皮层肥肿皱缩, 内皮组织腐烂呈海绵状, 灰白色, 其中生有许多小菌核, 木质部也有少量菌核。根部坏死, 拔出苗木, 皮层容易脱离, 病部有粉状孢子。

**收稿日期:** 2017-04-12

**修回日期:** 2017-04-29

**基金项目:** 山东林业有害生物普查

**作者简介:** 李成凯(1964-),男,本科,高级工程师,主要从事林木病虫害防治工作. E-mail:IW6214047@163.com

**\*通讯作者:** Author for correspondence. E-mail:shaoyunhua@163.com



图 1 速生楸青枯病危害状

Fig.1 The injured state of bacterial wilt from *Catalpa bungei* C.A.Mey.

## 2 病原

### 2.1 组织分离

2015 病害出现后, 我们先后从山东、河北采集材料, 用常规方法组织分离 4 次, 分离病组织 248 块。先用清水冲洗, 后用 4%有效氯漂白粉液和 70%酒精表面消毒, 最后用无菌水冲洗 3 次, 置于 PDA 培养基上, 分别置于 25 °C、27 °C、29 °C、31 °C、33 °C 下培养, 10 d 后检查结果(表 1)。病组织经分离培养, 得到 3 种不同的真菌菌落, 其中主要有球壳孢菌和镰孢霉菌, 同时出现少量链格孢菌, 发现镰孢霉菌 27 °C、球壳孢菌 31 °C~33 °C 生长最盛。

表 1 组培速生楸青枯病组织分离结果

Table 1 Tissue separation results of bacterial wilt against *Catalpa bungei* C.A.Mey. cultured rapidly

供试材料 Test material	分离块数 Isolated blocks	出现菌落数 Number of appeared colonies			未出现菌落数 Number of disappeared colonies
		球壳孢菌 <i>Sphaeropsis</i> sp.	镰孢霉菌 <i>Fusarium</i> sp.	链格孢菌 <i>Alternaria</i> sp.	
		地茎病组织	248	130	
根部病组织	248	106	92	31	19
合计	496	240	173	57	30

### 2.2 接种试验

用病组织分离培养得到地球壳孢菌和镰孢霉菌单孢纯培养, 将获得的孢子分别配制孢子悬浮液(×100 视野含 50 个左右孢子); 把速生楸当年枝条和根部进行表面消毒, 无菌水冲洗; 用烫伤和不烫伤两种方法喷洒接种, 无菌水作对照; 保湿 24 h 后, 放入 27 °C 温箱中水培 5 d, 再放入 31 °C 温箱中水培 5 d 检查结果见表 2。再分离发病枝条的组织, 获得原病菌见表 3。由表 2、3 可知, 两种病原菌都有明显的致病性。烫伤和不烫伤接种, 前者更容易接种。

表 2 组培速生楸青枯病室内接种试验

Table 2 Inoculation of bacterial wilt to *Catalpa bungei* C.A.Mey. Made of tissue culture rapidly indoor test

供试菌种 Test strains	接种方法 Inoculation method	接种部位 Inoculation site	接种枝条数 Inoculated branches	发病枝条数 Diseased branches
球壳孢菌	烫伤	地茎/根部	50/50	41/29
	无伤	-	20/20	7/3
镰孢霉菌	烫伤	地茎/根部	50/50	28/35
	无伤	-	20/20	5/7
对照	烫伤	地茎/根部	20/20	0/0
	无伤	-	20/20	0/0

表 3 室内接种组织再分离结果

Table 3 Results of isolation from the inoculated tissues in laboratory once again

接种部位 Inoculation site	供试菌种 Test strains	分离组织块数 Isolated blocks	出现菌落数 Bacterial colonies	无菌组织数 No colonies	其它 Other
地茎	<i>Macrophomina</i> sp.	86	56	19	11
	<i>Fusarium</i> sp.	72	41	21	10
	CK	48	0	41	7
根部	<i>Macrophomina</i> sp.	50	37	8	5
	<i>Fusarium</i> sp.	48	35	5	8
	CK	30	2	20	8

为进一步证实两种病菌的致病性,在2016年试验苗圃于6、7、8月分别进行了3次苗木接种试验,接种方法同室内。接种后20 d检查结果见表4。苗圃接种组织分离结果见表5。两种病菌在无伤情况下,都未成功;有伤口时,易侵染诱发病害,其症状与原来发现的症状相同。

表4 苗圃接种试验

Table 4 Inoculation test in nursery

供试菌种 Test strains	接种方法 Inoculation method	接种部位 Inoculation site	接种枝条数 Inoculation branches	发病枝条数 Diseased branches
<i>Macrophomina</i> sp.	烫伤	地茎枝条	72	48
	无伤	-	22	1
<i>Fusarium</i> sp.	烫伤	地茎枝条	58	32
	无伤	-	22	3
对照	烫伤	地茎枝条	25	0
	无伤	-	25	0

表5 苗圃接种组织再分离结果

Table 5 Results of isolation from inoculated tissues in nursery once again

接种部位 Inoculation site	供试菌种 Test strains	分离组织块数 Isolated blocks	出现菌落数 Bacterial colonies	无菌组织数 No colonies	其它 Other
地茎	<i>Macrophomina</i> sp.	30	22	6	2
	<i>Fusarium</i> sp.	30	18	5	7
	CK	30	1	22	7

### 3 病原菌鉴定<sup>[3]</sup>

#### 3.1 *Macrophomina* sp.

该菌主要寄生于速生楸植株的地茎。分生孢子埋生于寄主组织中,孔口露出组织外,分生孢子单胞,大小为 $19.5\sim 29.0\times 6.0\sim 7.5\ \mu\text{m}$ ,无色,长椭圆形,先端稍弯曲。多数情况下,分生孢子不产生或很少产生,主要出现的是菌核。菌核黑褐色,扁球形和椭圆形,表面光滑,直径 $49.5\times 200.7\ \mu\text{m}$ 。初步确定为菜豆球壳孢菌(*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid)。

#### 3.2 *Fusarium* sp.

该菌在PDA培养基上,菌落开始为灰白色,后渐变紫色,10 d左右变为深紫罗兰色。25℃下,经5 d培养,菌落直径平均为4.0 cm。小型孢子卵形至椭圆形,单细胞,少有一分隔,大小为 $5.0\sim 11.7\times 2.2\sim 4.2\ \mu\text{m}$ ,着生在短而分枝少的孢子梗单瓶口瓶梗上。小梗长 $5.0\sim 39.5\ \mu\text{m}$ ;大型孢子生在短而多分枝的孢子梗上,近月牙形至镰刀形,两端尖,弯曲,一般3~5分隔。3隔孢子 $18.2\sim 49.0\times 2.5\sim 4.0\ \mu\text{m}$ ,5隔孢子 $36.0\sim 54.5\times 3.0\sim 4.7\ \mu\text{m}$ 。厚垣孢子多,一般生在菌丝中间,偶尔可呈链状。根据Booth·C的分类系统,该菌形态与尖镰孢菌基本一致,初步确定为尖镰孢菌(*Fusarium oxysporum* Schlecht)。

### 4 结果与讨论

(1) 组培苗速生楸青枯病其症状表现,初期主要发生于当年生苗速生楸地茎,后期根部。一种是起初地茎表皮水渍状变黑坏死,后上部嫩枝叶萎焉死亡,坏死地茎内皮组织腐烂处生有许多小菌核;另一种是随苗木木质化增高,根部内皮组织腐烂坏死,植株死亡,坏死根部苗木皮层易脱离,病部出现粉状孢子。在高温高湿情况下两种类型发病重。

(2) 经症状观察、组织分离和接种试验初步鉴定,组培苗速生楸青枯病病原主要有菜豆球壳孢菌(*M. phaseolina*)和尖镰孢菌(*F. oxysporum*)两种,从2种病菌对速生楸危害程度观察,*M. phaseolina*菌地茎处重,后期根部出现*F. oxysporum*菌多,*Alternaria* sp.在组织分离中有少量出现,但没有致病性。尖镰孢菌专化型较多,尖镰孢菌在速生楸上的专化型,待深入研究。在组织分离时,这两种病原菌出现的频率都很高,地茎和根部相连,这两种菌之间的关系以及互作对植物的危害等,有待进一步深入研究探讨。

### 参考文献

- [1] 方中达.植病研究方法[M].北京:农业出版社,1977
- [2] 中国林业科学研究院.中国森林病虫害[M].北京:中国林业出版社,1984
- [3] 魏景超.真菌鉴定手册[M].上海:上海科学技术出版社,1979