

金丝小枣浆烂果病症状、危害及病原菌鉴定

刘春琴¹ 王庆雷¹ 张立震¹ 康绍兰² 孙玉英¹ 杨连和¹ 张平¹

(1. 沧州市农林科学院,河北 沧州 061001; 2. 河北农业大学 植保学院,河北 保定 071001)

摘要 金丝小枣浆烂果病严重危害我国北方枣树,并且逐年加重。本研究通过室内分离培养与田间调查,经多年多地试验,查明此病的症状、危害及病原菌。结果显示:金丝小枣浆烂果病在河北、山东、天津的产区普遍发生,以河北泊头市发病最重。该病在枣果进入白熟期(8月20日左右)开始发病,形成侵染点明显的红色近圆形软腐病斑。1998—2000年3年平均发病率和病情指数分别为36.7%和26.9。依据柯赫氏法则对金丝小枣浆烂果病病原菌进行了研究,根据病原菌形态特征,病原菌有性阶段鉴定为囊孢壳菌(*Physalospora obtuse*(Schw.)),无性世代鉴定为梭壳孢菌(*Fusicoccum* sp.)。经黑光灯诱导后,囊孢壳菌在室内PDA培养基上可形成子座与分生孢子器,有性世代的子囊壳与子囊孢子只发现于越冬后的病枣果中。

关键词 金丝小枣;浆烂果病;病原菌鉴定

中图分类号 S 663

文章编号 1007-4333(2004)02-0031-05

文献标识码 A

Study on the symptom, harm and pathogen identification of thick rotten disease of *Ziziphus jujuba* Mill. cv. Jinsixiaozao

Liu Chunqin¹, Wang Qinglei¹, Zhang Lizhen¹, Kang Shaolan²,
Sun Yuying¹, Yang Lianhe¹, Zhang Ping¹

(1. Cangzhou Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Hebei Cangzhou 061001, China;

2. Hebei Agricultural University, Hebei Baoding 071001, China)

Abstract The thick rotten disease of *Ziziphus jujuba* Mill. cv. Jinsixiaozao has been studied in the laboratory and field in many years. The study results are as follows: The thick rotten disease of *Z. jujuba* Mill. cv. Jinsixiaozao generally occurred in the production areas in Hebei province, Shandong province and Tianjin. It was most serious in Botou county, Hebei province. The thick rotten disease occur on the fruit in August 20, while the fruit become red and disciform thick rotten spot. The pathogens is *Physalospora obtuse*(Schw.), and the agamobium is *Fusicoccum* sp.

Key words *Ziziphus jujuba* Mill. cv. Jinsixiaozao; thick rotten disease; identification of pathogen

金丝小枣是我国北方栽培的主要果树树种之一,在国内外市场久负盛名。特别是河北沧州、山东乐陵等主产区,其收入占当地农业总收入的70%~80%以上,形成传统优势产业。但近年其浆烂果病日趋严重,迅速蔓延,由20世纪90年代初烂果率不足5%上升到现在的30%,严重的达80%,甚至绝收,金丝小枣面临毁灭性危险,应及时加以控制。但目前该病少见研究报道。苏安仁^[1]、阎振华^[2]等对金丝小枣浆枣病(浆烂果)进行了初步观察,认为轮

纹大茎点菌为致病菌,并提出了相应的防治措施。田敬义^[6]等做过枣浆果病药剂防治试验。但在生产实践中,金丝小枣浆烂果病发展日益严重局面未能得到有效控制。因此,全面系统研究金丝小枣浆烂果病尤为必要。

1 材料与方法

1.1 症状与危害

1) 系统调查。在沧州市南陈屯选一重病金丝

收稿日期:2003-07-17 修回日期:2004-01-12

基金项目:河北省重大科技攻关资助项目(95-98-05-02)

作者简介:刘春琴,副研究员,主要从事枣树病害研究。E-mail:wqlei02@163.com

小枣园,7月初—9月底进行调查。分5点取样,每点取5株枣树,每株按东、西、南、北、中等方位选5枝,每枝随机选50果,每株共选250个枣果,每10d调查1次,定株、定枝、定果系统观察浆烂果病症状及病害发展过程。

2) 普查。1998—2000年连续3年的9月中旬(发病盛期),在河北省的沧县、献县、泊头市、青县、大城市,天津静海县,山东乐陵市、无棣县、庆云县选择有代表性的金丝小枣园,按照上述调查方法,分级记载枣果,计算发病率及病情指数。

1.2 病原菌鉴定

1.2.1 标样采集及病组织分离 1997—1999年连续3年于果实发病期(08-20—09-20),选择上述有代表性的枣园,采集新鲜病果,进行多批次分离。病果分离按常规方法,每一病斑于病健交界处分离3~5块病组织,同一病斑的病组织块放于同一培养皿中,在25℃温箱内培养。1周后检查病组织的分离菌落,记录分离物的种类和数量,并及时纯化保存。

1.2.2 分离物致病性测定

1) 配置孢子悬浮液。将PDA培养10~15d的分离物分生孢子器(经黑光灯诱导产生)搅碎,加无菌水制成孢子悬浮液。悬浮液中孢子量为 10×40 倍显微镜下每视野20~40个分生孢子。

2) 室内接种。采集白熟期新鲜健康枣果(采果前半个月停止使用杀菌剂),用体积分数为70%酒精棉球对枣果表面消毒,无菌水冲洗3次,用打孔器取直径0.5cm的滤纸片,蘸取孢子悬浮液后轻贴于枣果表面,每果接种3个位点,每处理15~20个果,3次重复。采用刺伤(用灭菌医用针头刺伤果皮伤口接种)和无伤2种方式接种。无菌水作对照。接种后的枣果在25~30℃室温下保湿培养,每天观察果实发病情况,15d时统计发病率。

3) 田间接种。选发病轻的枣园进行分离物田间接种。在枣果白熟期(08-20—09-10)按室内接种方法接种后覆盖灭菌湿脱脂棉,套硫酸纸袋保湿。同一株树上随机取60个果,每处理选其中20个果,3次重复。无菌水作对照。9月下旬调查接种果发病情况,记录发病果数,统计发病率。

4) 回接病果再分离。对田间、室内接种后发病的枣果进行病组织再分离,方法同病组织分离方法。统计接种菌的回收率,确定分离物的致病性。

1.2.3 病原菌鉴定 将纯化的病原菌在PDA培养基上于25℃恒温黑暗条件下培养,观察菌落形态、颜色等。黑光灯诱导产生分生孢子器,田间采集产生子囊壳的越冬病枣果。对病原菌子实体制作切片,观察分生孢子器、分生孢子、子囊壳、子囊、子囊孢子形状、颜色、着生情况、产孢方式。测量子实体50个以上,子囊、孢子200个以上。子实体及孢子大小记述均采用长(L)×宽(W)按以下方式表示:除去大小两端各2%~3%的极端值,含有95%数值的数据用区间表示。依照病原菌培养性状及形态特征,按文献[3,4]将其鉴定到种。

2 结果与分析

2.1 金丝小枣浆烂果病的症状与危害

病症于08-20左右在枣果上开始显现。病斑初为黄褐色水浸状小点,迅速扩大形成侵染点明显的红色病斑,有的病斑表面有明显轮纹,少数病斑表皮下散生黑色小点(子座和分生孢子器)。病组织呈土黄色至浅褐色软腐,脓状,有酒糟味。9月上中旬为发病盛期。后期病果皱缩成深红色至黑色腐果。

枝干病斑多发生于二次枝向地一侧的枝腋中或针刺周围。病斑初期为深红色至褐色圆形小斑,逐渐扩大,成褐色椭圆形病斑,边缘清晰,病斑表面产生黑褐色至黑色小点(子座和分生孢子器)。干燥条件下,病斑易暴皮龟裂,严重时造成枝条枯死甚至死树。

1998—2000年连续3年的普查,从表1看出金丝小枣浆烂果病在两省一市9县的枣产区普遍发生,其中以河北省泊头市发病最重,3年平均发病率和病情指数为36.7%和26.9;沧县、献县、乐陵市发病次之,3年平均发病率和病情指数分别为26.4%和23.0,26.8%和21.2,27.4%和21.4;大城危害最轻,上述2指标3年平均为14.8%和6.8。3年中各产区均以2000年发病最重,1999年发病最轻。

2.2 金丝小枣浆烂果病病原

1) 病果的分离。1997—1999年连续3年采集典型病果进行室内分离培养,主要分离出真菌 *Fusicoccum* sp., 3年分离率均在94%以上,最高为98.8%,平均分离率为97.0%,其他菌(主要为交链孢菌和毁灭茎点霉菌)分离率极低,平均分离率仅为3.4%。

表 1 1998—2000 年金丝小枣产区浆烂果病的为害

Table 1 The harm of the thick rotten disease in different area 1998—2000

地点	发病率/ %				病情指数			
	1998 年	1999 年	2000 年	平均	1998 年	1999 年	2000 年	平均
沧县	24.1	19.6	35.5	26.4 b	17.9	15.7	29.2	23.0 b
献县	26.5	17.3	36.7	26.8 b	18.2	14.2	31.2	21.2 b
泊头市	28.5	24.3	57.2	36.7 a	21.3	17.2	42.3	26.9 a
青县	11.6	5.1	29.7	15.5 cd	4.5	1.5	15.4	7.1 d
大城县	9.6	5.1	29.6	14.8 d	3.7	1.9	23.7	9.8 c
静海县	11.5	9.0	32.3	17.6 c	5.9	4.2	24.8	11.6
乐陵市	25.1	21.5	35.7	27.4 b	18.0	15.2	31.1	21.4 b
无棣县	17.5	14.3	24.0	18.6 c	11.7	4.3	9.3	8.6 cd
庆云县	15.1	11.7	28.6	18.5 c	8.2	6.5	14.3	9.7 c

注: LSD_{0.05}

表 2 多年、多地金丝小枣浆烂病病果分离结果

Table 2 The isolated results of Jinsixiaozao in different years and places

年份	分离果数	病组织块数	<i>Fusicoccum</i> sp. 分离率/ %	其他菌分离率/ %
1997	38	627	98.3	1.8
1998	41	763	94.0	5.5
1999	40	762	98.8	2.0
平均分离率/ %			97.0	3.4

2) 分离物的致病性测定。1998—1999 年连续 2 年, 将分离物分别在室内和田间进行回接及再分离(表 3), 结果表明, 不论室内或田间, 分离物接种枣果均可导致枣果发病, 并表现典型症状。室内条

表 3 分离物致病性测定结果

Table 3 The results from pathogenicity of the isolation

接种地点	接种时间	接种果数	接种方式	回接发病率/ %	再分离率/ %
室内	1998-09-15	15	刺伤	100	100
	1999-09-04	24		100	100
	平均/ %			100	100
室内	1998-09-15	15	无伤	100	100
	1999-09-04	22		100	100
	平均/ %			100	100
田间	1998-09-01	20	刺伤	95.0	98.7
	1999-08-28	20		100	95.1
	平均/ %			97.5	96.9
	1998-09-01	20	无伤	64.0	91.2
	1999-08-28	20		65.0	89.8
平均/ %			64.5	90.5	

件下, 不论刺伤、无伤, 发病率均为 100%。田间枣果接种发病率刺伤高于无伤, 刺伤处理中, 最高发病率为 100%, 平均为 97.5%, 无伤处理的最高发病率为 65.0%, 平均为 64.5%。并且, 不论室内或田间接种发病的枣果, 均能重新分离到接种菌, 并经鉴定证实与所接菌相同。室内接种再分离率均为 100%。田间接种平均再分离率为 94.2%, 最高再分离率为 100%。

依照柯赫氏法则, 充分证明分离物为金丝小枣浆烂果病的病原菌。

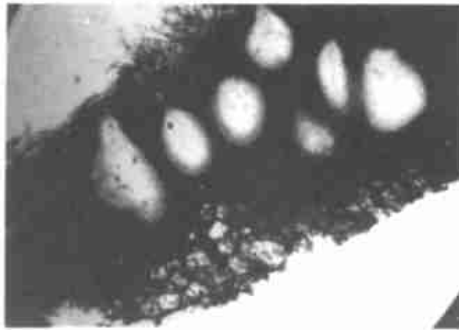
3) 病原菌形态鉴定(图 1)。在 PDA 培养基上菌落近圆形或不规则形, 初为灰白色, 后为灰黑色, 背观黑色。气生菌丝发达, 灰白色。经黑光灯照射后, 菌落表面可产生灰黑色颗粒为子座, 内生分生孢子器。分生孢子器球形、椭圆形或不规则形, 多腔。黑光灯连续照射 10 d 时, 分生孢子器: 209 ~ 495 μm \times 167.1 ~ 417.6 μm ; 分生孢子梗无色, 棒状, 细长, 顶端芽生式产孢, 孢子大小: 15.5 ~ 20.0 μm \times 2.0 ~ 2.5 μm ; 分生孢子纺锤形、梭形, 单孢无色, 16.9 ~ 24.2 μm \times 4.1 ~ 6.3 μm 。

田间越冬后枣果上形成的分生孢子器和子囊壳生于同一子座内。分生孢子器及分生孢子比培养基上的略小些。分生孢子器 1 ~ 3 腔, 大小: 199.4 ~ 309.1 μm \times 114.9 ~ 271.5 μm , 分生孢子大小: 18.0 ~ 21.6 μm \times 4.6 ~ 6.4 μm 。子囊壳洋梨形, 黑色, 孔口突出, 196.8 ~ 331.5 μm \times 155.1 ~ 237.8 μm ; 有拟侧丝, 后期消失。子囊长棒形, 顶壁厚, 束生, 119.6 ~ 143 μm \times 15.6 ~ 23.4 μm , 内含 8 个子囊孢子。子囊孢子卵形或长椭圆形, 单孢, 无色, 18.6 ~

31.2 μm \times 7.8 ~ 13.0 μm 。子囊孢子单列。

根据形态特征,病原菌有性阶段鉴定为:囊孢壳菌 *Physalospora obtuse* (Schw.) Cke., 无性阶段鉴定为:梭壳孢菌 *Fusicoccum* sp. 分类地位:有性阶段

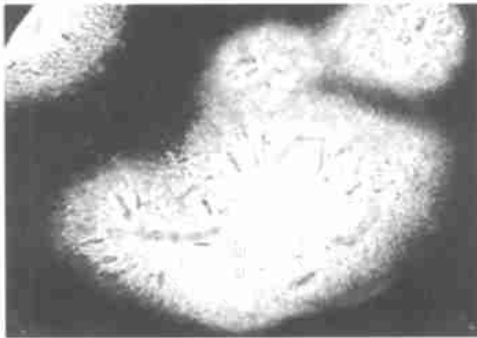
——Ascomycotina, Loculoascomycetes, Dothideales, Botryosphaeriaceae 和 *Physalospora*; 无性阶段——Deuteromycotina, Coelomycetes, Sphaeropsidaels, *Fusicoccum*。



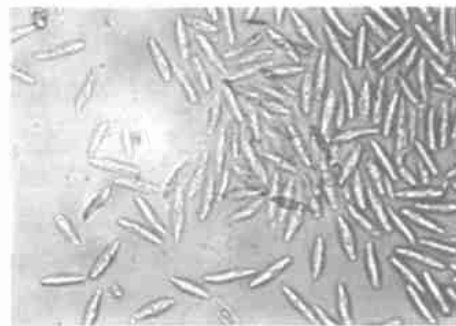
(a) 枣果上囊孢壳菌子座及分生孢子器



(b) 枣果上囊孢壳菌子囊壳及束生子囊



(c) 枣果上囊孢壳菌多腔分生孢子器



(d) 枣果上囊孢壳菌分生孢子

图1 囊孢壳菌子实体

Fig. 1 Sporocarp of *Physalospora obtuse*

4) 囊孢壳菌子囊壳的形成。囊孢壳菌在室内培养基上难以形成子实体。经黑光等诱导后,在培养基表面可行成子座及分生孢子器,但从未见子囊壳形成。在田间,越冬后的一部分病枣果可形成子囊壳。不同年份可形成子囊壳的越冬病枣果比例不同:2000年7月下旬—8月下旬采集的越冬病枣果中,形成子囊壳的占27.5%;而2001年同时、同地采集的越冬病枣果中形成子囊壳的仅占2.1%。在枣树枝条病斑及其它树体枝条病斑中未见形成有性世代的子囊壳。

3 结论与讨论

金丝小枣浆烂果病又名浆枣病、轮纹烂果病、浆包。曾报道该病病原菌为 *Macrophoma kawatsukai* Hara 及 *Botryosphaeria berengeriana*。本研究经多年、多地广泛采集病果标样,依据柯赫氏法则进行分

离、回接、再分离,得到致病菌。本研究的分离物囊孢壳菌,子囊壳洋梨形,有拟侧丝;子囊顶壁厚,束生;子囊孢子单列,从这些病原菌形态特征上均明显区别于 *Botryosphaeria berengeriana*。而分生孢子器均生于子座内,多腔,球形、椭圆形或不规则形,明显区别于 *Macrophoma kawatsukai* Hara。根据这些独特的形态特征,参照有关文献,我们确定金丝小枣浆烂果病的病原菌为囊孢壳菌 *Physalospora obtuse* (Schw.) Cke., 无性世代为梭壳孢菌 *Fusicoccum* sp.。

囊孢壳菌致病力强,在生产上造成多种植物病害,也是金丝小枣的主要病原菌,危害严重。但囊孢壳菌做为枣树重要病原菌尚未见报道,尤其是本菌不但无性世代侵染危害枣果,田间越冬后的病枣果上还可形成有性世代。通过室内和田间接种证明本菌有性世代的子囊孢子也可侵染危害金丝小枣

果。有性世代的参与不但可加重浆烂果病的发病程度,还可能产生致病力更强的生理类型,应引起高度重视。

本囊孢壳菌在室内培养基上、枣树枝条病斑和其他树体枝条病斑中未见子囊壳形成,在田间越冬后的一部分病枣果可形成子囊壳,影响囊孢壳菌子囊壳形成的环境条件还有待于进一步研究。

病原菌鉴定工作得到河北农业大学植物保护学院张志铭教授指导,谨表谢忱

参 考 文 献

- [1] 苏安仁,王秀荣. 浆枣及其防治技术[J]. 落叶果树, 1994, 2:33
- [2] 阎振华. 枣轮纹烂果病的发生及防治[J]. 北方果树, 1997, 2:37~38
- [3] 魏景超著. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1979. 780p
- [4] 张中义,冷怀琼,张志铭,等 编著. 植物病原真菌学[M]. 成都:四川科学技术出版社, 1988. 517p
- [5] 康绍兰,邱垫平,李兴红,等. 枣铁皮病病原鉴定[J]. 植物病理学报, 1998, 28(2):165~171
- [6] 田敬义,刘建花,田志宏. 枣浆果病药剂防治试验[J]. 中国果树, 1997(2):45~47
- [7] 李晓军,徐颖,阴启忠,等. 50%轮纹宁可湿性粉剂防治鲁北冬枣黑斑病和枣果浆烂病试验[J]. 落叶果树, 2004(1):53~55
- [8] 仁国兰 主编. 枣树病虫害防治[M]. 北京:金盾出版社, 1995. 10~30

科研简讯

我校“蛋鸡全阶段可利用必需氨基酸需要及理想蛋白模式”科研成果通过北京市科委鉴定

2004年3月北京市科委组织的此项鉴定会一致认为,该项目整体达到国际先进水平。由动物科技学院计成教授主持建立的“可利用氨基酸为基础、完整蛋白和小肽营养为补充,包括蛋鸡饲养各阶段的氨基酸需要量和理想蛋白模式”体系,更能适应蛋鸡实际生产的需要。该研究还提出了,通过体外二步酶法测定氮消化率预测不同饲料原料氨基酸利用率的技术参数和回归方程,与国内外已有预测方法相比,具有测定简单快速、准确度高、容易标准化的优点。

(科技处供稿)