

板栗溃疡病菌生物学特性的研究*

陈秀虹

(西南林学院)

前言

自1983年笔者在云南省玉溪县发现该病菌为害板栗树皮,引起枝、干病害,形成典型的溃疡病斑以来,至今研究工作已开展近四年。笔者亲自参加了云南各地(州)及四川、贵州、广西三省部分地区共六十个点的调查工作,有病的点为三十三个,占55%。本省东北方向至镇雄县,西北至维西、贡山县,西南至畹町、瑞丽县,南至勐海县,东南至富宁县,遍及全省,其中以滇中地区取点最多。外省调查地区与本省相邻,如,四川渡口市,贵州毕节、安顺和兴义三地区,广西柳州市,阳朔县和白色地区等。各地(州)取点2~3个,从该病的为害情况看以云南海拔1700米的山地石砾土中的栗园为害较严重。此外,四川渡口市,贵州织金和广西阳朔县谨发现极少数枯枝上有极少量病菌的有性阶段子实体。

云南板栗上的溃疡病菌除枯枝上有大量病菌两阶段子实体外,还在板栗的主、侧活枝的病斑上有很多饱满的两性子实体。而外省

*参加课题的毕业生有:唐志科、程仕泽、夏昌新、伍小蕾、何庆生、许春霞、周德才和李亮等。参加1985年毕业生论文指导的教师还有盛世法和周德群同志。调查所到之处,均受有关单位大力协助和支持,谨此一并致谢。

板栗溃疡病菌生物学特性的研究*

陈秀虹

(西南林学院)

前言

自1983年笔者在云南省玉溪县发现该病菌为害板栗树皮，引起枝、干病害，形成典型的溃疡病斑以来，至今研究工作已开展近四年。笔者亲自参加了云南各地(州)及四川、贵州、广西三省部分地区共六十个点的调查工作，有病的点为三十三个，占55%。本省东北方向至镇雄县，西北至维西、贡山县，西南至畹町、瑞丽县，南至勐海县，东南至富宁县，遍及全省，其中以滇中地区取点最多。外省调查地区与本省相邻，如，四川渡口市，贵州毕节、安顺和兴义三地区，广西柳州市，阳朔县和白色地区等。各地(州)取点2~3个，从该病的为害情况看以云南海拔1700米的山地石砾土中的栗园为害较严重。此外，四川渡口市，贵州织金和广西阳朔县谨发现极少数枯枝上有极少量病菌的有性阶段子实体。

云南板栗上的溃疡病菌除枯枝上有大量病菌两阶段子实体外，还在板栗的主、侧活枝的病斑上有很多饱满的两性子实体。而外省

*参加课题的毕业生有：唐志科、程仕泽、夏昌新、伍小菁、何庆生、许春霞、周德才和李亮等。参加1985年毕业生论文指导的教师还有盛世法和周德群同志。调查所到之处，均受有关单位大力协助和支持，谨此一并致谢。

的板栗树上仅枯枝上找到大量无性子实体，极少量有性子实体。这些子囊壳多干瘪、瘦弱，且几乎无子囊孢子，处于腐生状态。

云南板栗多为直播实生苗，适应性强，如，龙陵县横山区和寻甸县柯渡区均有上千亩早已投产的板栗林。生势好，产量高，现已有部分进入衰老（100多年生）阶段，虽衰而无大的病虫害发生。该两地群众种板栗有丰富的栽培经验。板栗树的立地环境好，一年管理2~3次，而其他县、区多把板栗种在水土流失严重的瘠薄石砾土上，又无较好的栽培措施，基本上成活就不管，采摘时对树枝伤害又较严重，造成该病的蔓延。

板栗溃疡病多发生在2~5年生时期失管的山地果园中，病树常有丛生畸形现象。畸形株中有几年甚至是十几年前已染病死去的主干立在丛生的萌枝之中无人修整。这种萌生枝可以多到30~40余根。长成灌木丛状的板栗植株，晋宁、楚雄和祥云县的一些果园中均有这样的病树。种植了二十年，仅有两米高，胸茎十余公分。5~10年生时期失管的重病果园中可见扫帚状分枝树型的植株。虽主干、主枝只有2~4个，但一级侧枝可多达50~60根，原因是主枝染了溃疡病，生长受抑。侧芽萌生，又没及时进行修剪整形和防治病害之故。病树虽分枝多，而冠幅较小，枝细，枯枝梢多，几无产量。玉溪玉白顶林场富良棚分场2500株板栗中有五分之一是这样的帚状栗树。1986年总产仅7000公斤。该园为20年生树，正应是盛果期。然而每株单产仅2.8公斤。10年以上栗树，前期管理得当，后失管才发生病害的果园，病树分枝和冠幅得当，但由于某1~2个骨干枝染病，需锯去而形成偏冠。病害蔓延后冠幅外围枯枝很多，产量急骤下降。如，禄丰县一平浪大平地果园，1966年亩产135.2公斤，1967年开始下降，后产量很难上升。

到1982年亩产仅7.1公斤〔1〕。我国小面积丰产园，亩产可达500公斤。

病原为子囊菌亚门。核菌纲。球壳菌目。间座壳科。类黑腐皮壳菌属的一未知种 *Pseudovalsellia* sp. 该属真菌为植物病原在我国是一新分布。其无性阶段是半知菌亚门。腔菌纲。黑盘孢目。黑盘孢科。棒盘孢属的栗蠹壳盘霉菌 *Coryneum kunzei* Corda. Var. *castaneae* Sacc. & Roum. 两者已通过分离。培养〔1〕。接种得到证明。无性阶段为害我国板栗在1936年和1964年有过采集和调查。但对该病原的生物学特性未研究过，特别是该病原的有性阶段在我国尚未见报道〔1〕。为了探讨该病原的特性，给防治提供理论依据，我和三届森保专业，一届经济林专业共八名毕业生，分三年做了些工作。本文着重介绍病原的生物学特性。

一。观察项目，材料和方法

(一) 项目

1. 孢子的传播；
2. 病原生命力观察；
3. 孢子萌发条件。形态及菌落生长情况；
4. 病原菌致病性测定。

(二) 材料。方法

供试菌种是1984年从板栗溃疡病病斑上分离获得的，经转管2~4次纯化培养的菌落，供萌发试验的子囊孢子是1985年1月和5月从晋宁县郑和公园的板栗树上采的病皮。置于5℃的冰箱中处理两个月后备用；分生孢子是1985年和1986年3月采的新鲜材料。离体培养的新鲜材料是1987年3月初采自郑和公园，试验

时将病斑中有性和无性阶段的子实体挑出来，用自来水制成孢子悬浮液，悬滴法做孢子萌发试验。各重复6次，设自来水的为对照，五点法镜检。菌落生长测定所用培养皿为9 cm直径，1.5 cm高，倒入约10 ml以半组合培养基〔2〕为基础的不同营养源的培养基。接种时，从转管培养的试管中挑取少许菌丝接于各种培养基上，重复5次，设空白对照，并取上述材料进行致病性测定，将子囊孢子和菌落分别接于郑和公园和林院板栗活枝和水培枝上，以无伤接种为对照。

二、结果与分析

(一) 孢子的传播

自1984年3月起至1986年6月采取各月定期挂片，并分旱季、雨季重点连续十天每天挂取一次，每次20片。还不定期地用透明胶纸贴在病斑上等方法了解孢子成熟散发和传播情况。调查结果几乎每月均可捕捉到少量孢子，数量太少，且无规律可循。旱季孢子是明显太少，而雨季，尤其是雨后1~3天捕捉到的孢子量是平常的十几倍到几百倍。从雨季时连续10天所捕捉的孢子量（两年类似）分析，头天降雨持续时间长，中雨程度，次日捕捉到的子囊孢子量大，而分生孢子的传播需在降雨后2~3天才多。说明，子囊孢子喷出子囊壳的速度比分生孢子盘的孢子脱离要快。分生孢子盘可能被湿度刺激后孢子才大量产生。如，从胶贴孢子来看，干旱天气也可贴到孢子，两种孢子数量均不多，但雨季后贴到的无性孢子往往是有性孢子的6~300倍（贴胶纸位置是主、侧枝），均由风雨传播。一年可多次侵染。侵入的病原多为无性孢子（从后面的孢子萌发率可说明）。

病树上的昆虫会携带病菌传播吗？1987年3~4月，从病树

上收集到常年活动的栗大蚜和黑蚂蚁若干，分为25个接种点，接到PDA培养基内，经15天观察有盘多毛孢菌 *Pestalotia* spp. 交链孢菌 *Alternaria* spp. 和根霉菌 *Rhizopus* sp. 等，就是没长该病原菌。说明昆虫可能不传播该菌。

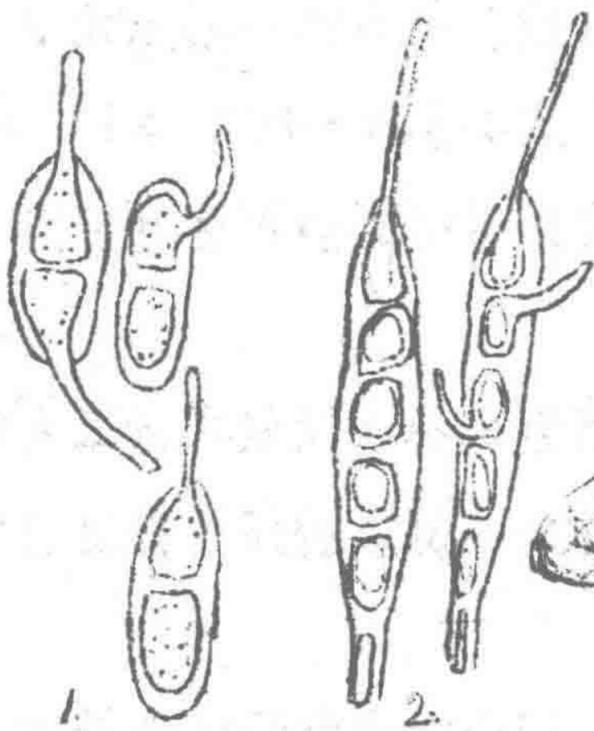
(二) 病原生命力观察

通过病皮离体培养和人工诱发致病（参看后面）两试验的两年前采的旧材料和转管四次菌丝块可获得成功，分析该病菌生命力较强，是兼性寄生菌。

病皮离体培养试验，材料采自晋宁郑和公园，无性子实体采自1987年3月的越冬枯枝。有性子实体分1985年6月采后冰冻两个月备用标本和1987年3月采的新病斑，健康皮（对照）即新病斑附近的健康部位和林院板栗树（林院无该病）皮。

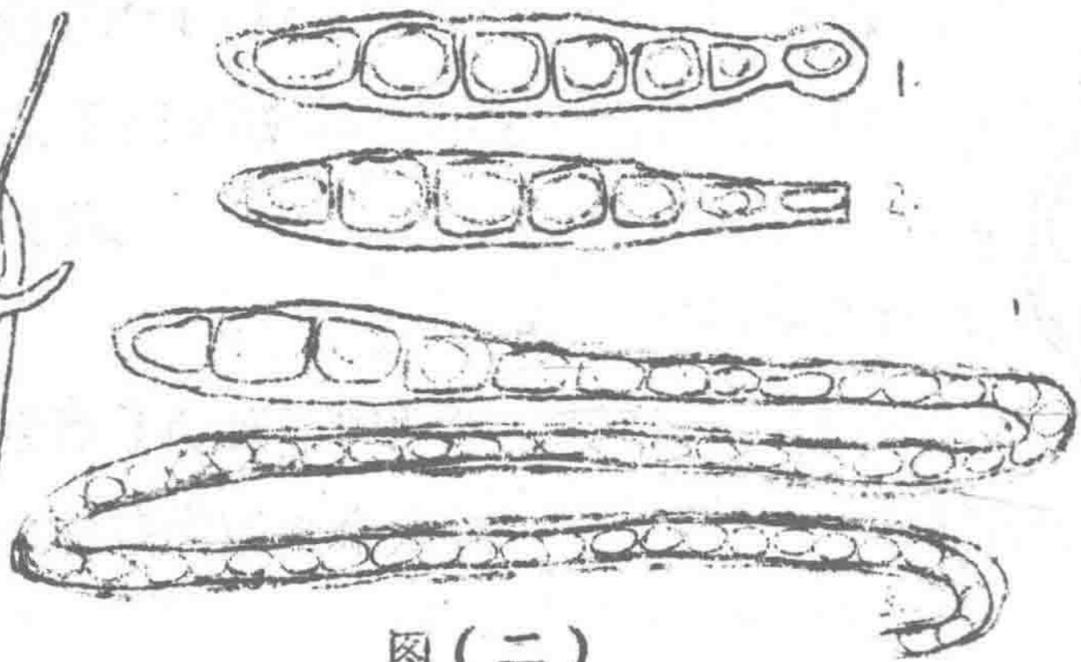
方法：将材料剪成 0.5×0.4 cm小块，消毒后垂直或平行地置入PDA培养基中，再放入 20°C 、 25°C 、 30°C 恒温箱中培养两天，取出放到室温下供观察，5天后长出菌丝，15天后长无性子，对照近半数长了该病菌的菌落和分生子（刚好是病园的健康皮大部分发病）。

结果是上述各种树皮材料均长了分生子，菌丝形态是芽管延长成纤细的浅灰色双层壁的较均匀一致的菌丝，逐渐变老均匀地变粗呈现为深灰色。菌丝部位的分隔相当密，老菌丝先端逐渐膨大，隔变稀，细胞变大，先端色略深形成分生子雏形，分生子成熟时与菌丝断开，断开处孢子末端细胞膨大，这点与天然分生子有不同之处。见图（1）。菌落初为淡灰色长满绒絮状物呈圆形，后期菌落为深灰色，由于分生子增多，绒絮状菌落表面可见细粉状的灰色粉状细粒。



图(一)

1. 有性孢子萌发状;
2. 无性孢子萌发状。



图(二)

1. 菌丝上断裂的无性孢子;
2. 分生孢子梗上产生的无性孢子;
3. 分离培养在PDA上的菌丝。

分析, 该病菌在板栗死皮上的腐生性较强, 树皮一旦离体其养分极适合该病菌生长, 故在PDA培养基中的小块无论竖放或平放, 树皮上均能生长菌落和分生孢子, 甚至连对照的健皮也发病。这是由于郑和公园病菌较多, 孢子飞溅到树皮皮孔内或皮缝中, 消毒时未彻底肃清之故。说明, 果园中堆放病死枝也是侵染源。

(二) 不同温度对病原菌的影响

在 5° 、 10° 、 20° 、 25° 、 30° 、 35° 、 40°C 和昆明3月份室温(约 15°C)下试验, 用1%蔗糖液为营养。子囊孢子萌发时, 多见一个细胞侧面(横向)长出芽管来, 芽管色浅或无色, 见(图2)。很少有两个细胞均能萌发的现象。分生孢子萌发向顶部长出芽管, 其它细胞也较少都萌发。见(图2)。试验结果见表1。

表 1 不同温度对病菌的影响

时 间	孢子	温 阶(°C)	5	10	20	25	30	35	40	室 温	备 注
1985.4		菌落直径(mm)	2.0	3.0	14.5	20.4	43	4.0	3.0	13.5	“+”为产心 “-”为大量
1985.4	无 性	产 心 情 况	-	-	+	++	+	-	-	+	产心 “-” 为未产心, 以 后同注。
1986.4	无 性	孢子萌发率(%)	3.6	8.7	5.1	0.2	6.2	2.9	2.8		1985年的72 小时后镜检。
1986.4	有 性	孢子萌发率(%)	0	0	1.7	3.0	5.3	12.1	0.3		1986年的48 小时后置于室 温下24小时 后镜检。
1985.4	有 性	孢子萌发率(%)	0	0	1.46	2.1	3.9	14.3	0		

表1说明, 菌丝生长温度范围是 $15 \sim 30^{\circ}\text{C}$, 产孢的最适温度是 25°C 。子囊孢子在 $20 \sim 35^{\circ}\text{C}$ 为萌发适温。由于病区的极端最高温未达到过 35°C , 故其萌发率只达 $3 \sim 5\%$ 。分生孢子萌发适温较广, 在滇中地区常年均可萌发。但萌发率也不算高。因此病原菌量少的果园, 该病害不易蔓延。如, 秋木园板栗现没该病。

(四) 不同碳素营养对病原菌的影响

在半组合培养基〔2〕内, 天门冬素 (Asparagine) 为氮素营养, 分别以麦芽糖、葡萄糖、蔗糖、甘露醇为不同碳源, 并设不加碳素的培养基为对照。孢子萌发营养 (不加琼脂和淀粉) 为液体。菌落在各种培养基中虽深浅有异, 但菌落颜色和性状差别不太大。孢子形态与前同。结果见表2。

表 2 不同碳素营养对病菌的影响 (30°C)

时 间	子	碳 源	蔗 糖	麦 芽 糖	葡 萄 糖	甘 露 醇	对 照	备 注
1985年4月		菌落直径(mm)	40.3	37.3	32.9	24.3	14.8	9天后未产孢。
1985年4月	无性	产孢(室温)	++	—	—	+	+	降温处理(室温 各2皿, 25°C 下各3皿)3天
1985年4月	无性	产孢(25°C)	—	+	—	+	+	后观察(1/3=1 皿)。
1986年4月	无性	萌发率(%)	4.9	3.1	5.8	3.5	8.6	
1986年4月	有性	萌发率(%)	0.2	0.2	1.6	0.7	2.1	

表2说明, 菌丝对蔗糖利用最好, 麦芽糖、葡萄糖次之, 甘露醇最差。而产孢又以含甘露醇和蔗糖的较好, C素对孢子萌发影响不大。

(五) 不同氮素营养对病菌的影响

在半组合培养基内以蔗糖为碳源, 分别以硝酸铵、天门冬素、蛋白胨、硝酸钾等为不同的氮源, 设氮空白对照。萌发试验为液态培养。结果见表3。

表 3 不同氮素营养对病菌的影响 (30°C)

时 间	孢 子	氮 源	蛋白脲 (1)	硝酸铵 (2)	天门冬素 (3)	硝酸钾 (4)	对 照 (0)	备 注
1985年4月		菌落直径 (mm)	41.4	38.4	33.1	27.7	36.4	4天后(1)3皿和(2)1皿少量产孢, 其余10天未产孢, 降温处理, 4天后观察。
1985年4月	无性	产 孢 (室温)	+	—	++	—	±+	
1985年4月	无性	情 况 (25°C)	—	—	++	±+	—	
1986年4月	无性	萌发率 (%)	2.7	3.2	5.8	7.0	2.6	
1986年4月	有性	萌发率 (%)	0.1	0.4	0.2	0.7	0	

表 3 说明, 菌丝对蛋白脲的利用最好, 硝酸铵, 天门冬素次之, 而对硝酸钾利用最差。若对板栗加施钾肥, 增强树势, 对病害的抵抗能力可能会加强。

(六) 不同营养对病菌的影响

用栓皮栎和板栗树等树皮的20%煮液或10%浸出液分别配制的PDA培养基或孢子悬浮液进行上述试验。结果见表4。

表4 不同培养基对病菌的影响

培养基	时间	孢子萌发率(%)		菌落直径(mm)	产孢情况		备注
		无性	有性		室温	25°	
20%板栗树皮液	1985年4月		8.5	16.7	+	—	孢子萌发不加琼脂
10%板栗树皮液	1986年4月	2.6	1.3				1985年4月试验
20%栎树皮液	1985年4月		11.1	15.3	+	+	置于25°C下, 72
20%松树皮液	1985年4月		8.3				小时镜检, 1986.4
10%梨树皮液	1986年4月	4.9	2.5				置于30°C下48小
20%梨树皮液	1985年4月			19.9	—	—	时后降至室温24
20%蔗糖液	1985年4月			54.7	—	—	小时后镜检。
10%蔗糖液	1986年4月	9.2	2.3				菌落和产孢置于30
10%葡萄糖液	1985年4月		13.7				°C下6天后降至室温
自来水	1986年4月	1.1	1.1				和25°C4天。
	1985年4月		1.1				
普通PDA	1985年4月			32.4	++	++	

表4说明, 孢子萌发需一定的培养基, 有点培养基后分生孢子比于霉孢子萌发得好; 20%蔗糖PDA中的菌丝生长最好, 但产生的分生孢子量还以普通PDA的为好。

(4) 不同PH值对病菌的影响

在PH值1—1.1间取几个值的缓冲液代替PDA培养基中的水量, 先用较少的水制PDA, 在灭菌时将PDA和缓冲液分别灭菌, 稍降温时将缓冲液在无菌操作下倒入PDA中混匀(孢子萌发的缓冲培养基不加PDA), 以用精密试纸测定此时的PH值为准, 结果见表5。

種別別採集地リスト

種名	採集地	採集日	採集者	備考
スズクサ	高野山 (山頂)	1958. 8. 2	佐々木 謙三	標本 No. 101
スズクサ	高野山 (山頂)	1958. 8. 2	佐々木 謙三	標本 No. 102
スズクサ	高野山 (山頂)	1958. 8. 2	佐々木 謙三	標本 No. 103
スズクサ	高野山 (山頂)	1958. 8. 2	佐々木 謙三	標本 No. 104
スズクサ	高野山 (山頂)	1958. 8. 2	佐々木 謙三	標本 No. 105
スズクサ	高野山 (山頂)	1958. 8. 2	佐々木 謙三	標本 No. 106
スズクサ	高野山 (山頂)	1958. 8. 2	佐々木 謙三	標本 No. 107
スズクサ	高野山 (山頂)	1958. 8. 2	佐々木 謙三	標本 No. 108
スズクサ	高野山 (山頂)	1958. 8. 2	佐々木 謙三	標本 No. 109
スズクサ	高野山 (山頂)	1958. 8. 2	佐々木 謙三	標本 No. 110

表5 不同PH值对病菌的影响 (30℃)

时 间	处 理	P H 值	1	2	3	4	4.3	4.7	5	6	7	8	8.5	9	10	11	备 注
1985年4月	缓冲液	菌落直径 (mm)	11.9	13.2	17.6		29.4	32.0	33.2	20.8	15.4	13.4	A	B			A未形成菌落
	+PDA	产孢情况(室温)	+	+	+		-	-	-	-	-	++	+C	-			B菌丝受抑制
	(同上)	产孢情况(25℃)	+	+	+		1/3+	2/3+	-	-	-	++	-	-			C还有少量有性
	自来水	萌发率(%)	(为无性孢子)						(26.6)								孢子。
1985年4月	缓冲液	无性孢子萌发率 (%)				59.4			0	0						0	1985年4月用
	(同上)	有性孢子萌发率 (%)		0	0	0			0.1	0	0.4	1.2		0.2	0.1		10%葡萄糖缓冲
1986年4月	10%蔗糖	无性孢子萌发率 (%)		0	0.7	6.1			2.7	1.4	0.4	0.2		0	0		液作萌发试验均
	缓冲液	有性孢子萌发率 (%)		0.1		0.2			0.2	0.7	1.0	3.9		0.3	0		无萌发。

表5说明,病菌菌丝在酸性条件下生长较好(PH=5),当PH值高于8.5时菌丝几乎不生长。但随着酸度加强,菌丝生长缓慢,当PH=1时,只能形成很小的菌落,产孢却在弱碱的环境中,PH=8产生大量分生孢子,分生孢子在PH=4时萌发较好,子囊孢子在PH为8时萌发率最高。

(八) 自然状态下孢子萌发情况

分别于1985年和1986年雨季到来时在雨后用透明胶纸贴于病斑处,过一段时间取回镜检。结果见表6。

Year	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
Yield (kg/ha)	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
Planting date	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
Harvest date	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
Planting date	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
Harvest date	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990

Table 1.1 shows the yield of rice (kg/ha) from 1980 to 1990. The yield increased steadily from 1.0 kg/ha in 1980 to 6.0 kg/ha in 1990. The planting and harvest dates are also listed for each year.

表6 自然界的孢子萌发情况

年、月 (小时)	1986.6	1985.6	1986.6	1985.6	1986.6	1985.6	1986.6	1985.6	备注	
	(24小时)	(24小时)	(48小时)	(48小时)	(72小时)	(72)	(96)	(204)		
萌发率 (%)	无性	9.1	5.5	15.8	19.5	17.5	24.0	20.0	54.8	*
	有性	0	0	0	0	0	0	0	0	

* 1985年5月24日至6月6日和1986年6月15至19日期间有雨水便在当天贴片观察。

表6说明, 子囊孢子在自然界还未开始萌发; 分生孢子在雨季萌发较好, 已接近人为给予的最佳条件的萌发率。看来, 该病害主要由分生孢子传播, 萌发 侵染, 而子囊孢子萌发条件更高, 可能和菌丝团子囊壳等是在树皮的保护下继续伸展萌发为害的。因此, 该病蔓延较慢。
及孢子

(九) 不同相对湿度对孢子萌发的影响

用不同盐的饱和溶液〔3〕来控制不同的相对湿度(玻环内密闭空间, 外加培养皿)。结果见表7。

表7 分生孢子萌发与相对湿度的关系

1986年4月

相对湿度(%)	20	32	45	55	65	81	90	98	100
萌发率(%)	0.9	2.7	0.5	4.9	5.7	3.6	3.2	1.1	2.4
备注	1985年4月的试验, 分生孢子萌发率极低, 两年试验子囊孢子未萌发。								

表7说明,分生孢子在相对湿度为65%时萌发率较高。云南省各地的雨天过后均可满足该湿度。

(十) 光照对孢子萌发的影响

用10%蔗糖液配的孢子悬浮液,进行光、暗反应。结果见表8。

表8 不同光照对孢子萌发的影响 (30℃)

处 理		黑暗	自然散射光	紫外光*	*紫外光照射0.5小时后置于自然散射光下
萌发率 (%)	无性	0	3.2	10.7	(即恒温箱只关玻璃门透光),暗反应还须包黑纸等。
	有性	0	0.2	0.3	

表8说明,孢子萌发时需要光照,在紫外光下萌发率提高较大。在滇中高海拔地区易找到病菌的有性阶段(见前言)可能与该区的紫外线较强有关。

(十一) 综合最佳条件对孢子进行萌发试验

将上述最佳条件,相对湿度65%,温度为35℃(子囊孢子),为30℃(分生孢子)。悬滴液用10%板栗树皮浸出液。PH=8的10%蔗糖缓冲液(子囊孢子);PH=4的10%蔗糖缓冲液(分生孢子)分悬滴法和培养基法两种试验,用紫外光照射0.5小时后,置于自然散射光下,培养48小时,移于室温下24小时进行镜检。结果见表9。(材料为1986年5月采于郑和公园的新鲜板栗病斑上的子实体)。