

肉桂枝枯病病原研究^{*}

文 新¹ 宋 力² 黎启枪²

张毓如¹ 吴泽文¹

(1 中华人民共和国梧州动植物检疫局 梧州 543002)

(2 广西梧州市林业局 梧州 543002)

摘 要 肉桂枝枯与可可毛色二孢(*Lasiodiplodia theobromae*)及肉桂泡盾盲蝽(*Pseudodoniella chinensis*)有关。后者吸食肉桂枝条的汁液,造成大量微小伤口,并携带该菌,是有效昆虫传媒,使肉桂枝条容易被该菌侵染,造成皮层坏死,引发极严重的枝枯病。

关键词 肉桂,枝枯病,虫媒,可可毛色二孢,肉桂泡盾盲蝽

肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl)是一种重要的经济作物。自1989年以来,在广西的藤县、岑溪、苍梧、容县和梧州市郊等肉桂种植区,陆续发生肉桂的枝枯现象,受害严重的林分整片焦枯,损失极大。仅梧州市郊和苍梧县发生枝枯的面积就达2000亩,严重受害的有1000亩,且这种态势正在蔓延,妨碍了肉桂生产的发展。作者对肉桂枝枯的原因进行了研究,本文论述的肉桂泡盾盲蝽(*Pseudodoniella chinensis* Zheng)和可可毛色二孢(*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl.)的关系,国内外还未见报道。可可毛色二孢菌能引起锡兰肉桂(*Cinnamomum zeylanicum* Nees.)梢枯、溃疡和苦皮在美国曾有报道^[1],但该菌在中国肉桂上引起极严重的溃疡、枝枯情况,在国内本文是首次报道。

1 材料和方法

1.1 枝枯发生季节的监测

1991—1992年,在梧州市郊扶典乡华堂村,选择6片肉桂林,定时观测其枝枯情况。

1.2 病原微生物的分离

将新鲜带褐斑枝条5—10cm,经95%酒精浸数秒钟,立即取出烧去表面酒精,重复一次,表面消毒即完成。用火焰灭菌过的手术刀削去褐斑表皮,于病健交界处取黄豆大小内皮层置PDA平板培养。

1.3 接种方法

参考Jaynes^[2]的方法,选取1—2年生枝,用直径4mm的木塞打孔器,旋至木质部,

* 广西科委立项课题(研910214)。

参加本项工作的还有中华人民共和国梧州动植物检疫局莫少坚、郭 强;广西梧州市林业局黎天峰、罗 布。
本文于1994年4月4日收到。

取出树皮, 洞内接种与之相同大小的 PDA 菌丝块 (菌丝面向内), 将树皮盖回并按压, 使菌丝充分与寄主组织接触, 枝条上接种点间相距 15cm, 一枝条上可随机排列接种多种微生物或多个菌株。野外接种时用塑料带包扎保湿 3d, 室内接种的将离体枝条置大标本瓶水培, 加盖保湿 16h。

野外无伤口接种, 用塑料带包裹菌丝块于枝条上, 10d 后松开检查侵染情况。

1.4 病菌生长适温测试

直径 10cm 培养皿, 加 20ml PDA 成平板, 接种直径 7mm 的菌落边缘菌丝块, 每个温度水平设 5 个平板重复, 分别于 12h 和 24h 测量菌落直径, 计算其平均生长速率 V (cm/d)。

1.5 肉桂泡盾盲蝽的野外套笼方法

用铁丝纱网制做直径 20cm、长 50cm 的圆筒形套笼, 参见图版 I-5, 试验时每笼套 1 根当年生健康枝条, 内放 4—6 只肉桂泡盾盲蝽, 对照则不放虫。

1.6 肉桂泡盾盲蝽的带菌检测法

新采回的肉桂泡盾盲蝽, 置 70% 酒精中数秒钟, 转置 1% 升汞作表面消毒 5min, 灭菌水漂洗虫体 3 遍, 置虫体于 PDA 平板培养, 逐日观察长菌情况, 统计带菌率。

2 结果和分析

2.1 肉桂枝枯的盛发季节

两年的观察结果表明, 肉桂枝枯春季零星发生于林分中, 盛发期为当年的高温季节, 在广西多为 6—10 月份, 通常在林分内爆发式发生, 短期内可使整片肉桂林焦枯 (图版 I-1)。

2.2 肉桂枝枯的症状

枝条上由于肉桂泡盾盲蝽 (*Pseudodoniella chinensis*) 的居留和吸食汁液, 产生褐色圆斑, 褐斑再沿枝条上下扩展成褐色梭形斑和段斑, 环绕枝条, 破坏皮层的功能, 嫩枝 (梢) 不久即表现枝枯, 2—5 年生枝 (干) 则顶部不能抽梢, 枝干褐斑皮层通常肿胀、开裂、坏死, 患部以上枝叶逐渐黄化, 最终也枯死。

褐斑的发生部位与 *P. chinensis* 的居留或吸食汁液有关, 因而在当年生枝条上出现最多, 更常见于叶腋、枝叉处 (图版 I-2)。

表 1 褐斑组织内的微生物及其致病性

Table 1 Species and pathogenicity of the microbe isolated from the brown spot tissue						
微生物种类 Species	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	<i>Pestalotia</i> sp.	<i>Phomopsis</i> sp.	<i>Verticillium</i> sp.	细菌 Bacteria	无生长物 No microbe
分离概率 Isolation possibility	0.666	0.098	0.022	0.050	0.050	0.114
对肉桂离体 枝的致病性 Pathogenicity to cassia bra- nch in vitro	具强的侵染力 supervirulence	无侵染力 nonvirulence	具轻微的侵染力 slight virulence	无侵染力 nonvirulence	无侵染力 nonvirulence	

褐色段斑表面经检查, 没有任何肉眼可见的破损, 在适当的条件下, 褐斑表面可见极小的疣状突起, 突破表皮开裂, 露出黑色粉状物, 为可可毛色二孢 (*Lasiodiplodia theobromae*) 的分生孢子器和分生孢子。

2.3 褐斑组织的病原分离和致病性的室内测定

对采自苍梧县、岑溪县、梧州市郊的 400 多个褐斑进行了组织分离, 统计各种菌的分离概率, 每种菌选 2 个分离菌株, 在室内用肉桂离体枝条测定其致病性, 结果如表 1。

从表 1 看出, 可可毛色二孢是褐变皮层组织内的高频菌种。在 27—31℃ 的条件下, 用肉桂离体枝条进行的致病性测试表明, 接种后 5d, 2 株可可毛色二孢 (LT2 和 LT9) 形成的梭形褐斑, 其 13 个重复的长度均值为 2.7cm 和 3.4cm。试验证实, 接 PDA 的对照无扩展斑, 肉桂离体枝在水培状态下, 30d 内仍呈绿色, 一些枝条还能抽芽展叶, 而接种枝条已枯死, 说明可可毛色二孢对肉桂枝条有强的侵染力。

2.4 可可毛色二孢的形态、培养性状和生物学

2.4.1 形态: 肉桂枯枝的表皮下, 可可毛色二孢形成极小的疣状突起, 为分生孢子器。适当条件下, 孢子器突破表皮开裂, 散出黑色粉状物, 为双细胞褐色椭球状的分生孢子。根据对 60 个分生孢子进行的统计表明, 可可毛色二孢有色孢子的大小为 $22.5\text{—}32.5 \times 11.3\text{—}15.0\mu\text{m}$, 均值为 $27.4 \times 12.9\mu\text{m}$ 。当孢子器未开裂时, 对病部切片, 可见处于不同发育阶段大小不同的无色分生孢子; 通常同一孢子器内的孢子大小发育是同步的。孢子器具侧丝, 生理成熟的孢子 (可以无色无隔或有色有隔) 在水滴中极易萌发 (图版 I-3)。

2.4.2 可可毛色二孢的培养性状: 在 30℃ 的条件下, 可可毛色二孢在 PDA 平板上生长极快, 菌落直径扩展速率可达 7cm/d, 初期菌落白色, 第 4d 产生草绿色素, 以后逐渐加深而成为黑色, 孢子器的产生则需要 20d 左右, 为黑色颗粒状, 周围有绒状灰黑色菌丝, 无喷溢孢子现象, 可以产生双胞褐色分生孢子。生理成熟的分生孢子, 在适当条件下能在孢子器内萌发。

2.4.3 温度对可可毛色二孢营养生长的影响: 可可毛色二孢的生长适温为 22.5—34.5℃, 生长最适温为 30.5—32.5℃, 属高温适生菌。

2.5 野外接种试验

1991 年 4 月 10 日, 用 LT2 (广平株) 和 LT9 (华堂株) 的菌丝进行无伤和有伤接种, 当时的气温变化于 21—33℃。10d 后, 无伤接种法不能导致任何皮层坏死, 有伤接种法 LT2 的 20 个病斑长度均值为 1.8cm, LT9 的为 2.0cm (图版 I-4), 病斑的分离也只得到可可毛色二孢, 接 PDA 的对照不扩展, 伤口孔径仍为 0.4cm。但随后的观察表明, 病斑的扩展受到寄主的抑制, 寄主围绕病斑产生木栓形成层, 病斑不能继续延伸, 不能造成肉桂枝条的枯死。适当条件下, 褐斑表面可见疣状突起及黑色粉状物, 为可可毛色二孢菌的孢子器及分生孢子。

2.6 肉桂枝枯、肉桂泡盾盲蝽和可可毛色二孢三者之间的相互联系

2.6.1 肉桂泡盾盲蝽的野外套笼试验: 1992 年 8 月 12 日, 置虫套笼 23 只, 对照 7 只, 7d 后观察, 笼内盲蝽均已死亡, 9d 后观察, 虫笼 22 枝的皮层均表现褐斑坏死, 皮层坏死枝率为 95.7%, 一个月后焦枯率为 70.6% (图版 I-5), 其发展速度、症状与自然焦枯的相似, 对照 7 枝均健康。说明皮层褐变、枝叶焦枯与肉桂泡盾盲蝽有关。

2.6.2 分离自野外套笼试验坏死枝的可可毛色二孢及其致病性: 上述套笼试验第 9d 出现褐斑坏死的枝条, 组织分离 21 个褐斑, 其中 3 个褐斑的组织长出可可毛色二孢 (简称 CCLT), 其余的 18 块组织未长任何菌, 带菌率为 14.3%, 野外接种试验证实其对肉桂枝条皮层有侵染致病性, 致病力与 LT2 相等。说明初期褐斑内已有可可毛色二孢, 而分离概率低与侵染初期褐斑内菌量尚少和火烧作表面消毒有关。

2.6.3 肉桂泡盾盲蝽携带的可可毛色二孢及其致病性: 对 19 只新鲜肉桂泡盾盲蝽进行分离, 有 4 只带可可毛色二孢, 其余 15 只未长任何菌, 带菌率 21.5%。野外接种试验表明, 这 4 株虫携带可可毛色二孢 (简称 PCLT) 的致病力都很强 (图版 I—6), 接种后 18d, 其 5 个重复的褐斑长度均值分别为 2.8, 2.6, 4.2 和 3.5cm, 而 3 株 CCLT 的 5 个重复的褐斑长度均值分别为 1.6, 2.0 和 2.3cm。PCLT 的致病力较 CCLT 的强。

3 讨论

广西种植肉桂有悠久的历史, 肉桂发生严重的枝枯现象, 是近几年才发现的。肉桂泡盾盲蝽是一个新种, 它的寄主除肉桂外, 可能还有别的植物, 这是值得研究的。可可毛色二孢是一种寄主范围极广, 能寄生于 280 个属的植物上, 世界上南北纬各 40° 范围内都有分布的病原微生物^[3], 这种病原微生物需要有肉桂泡盾盲蝽这样的虫媒才能对肉桂造成大的危害。

可可毛色二孢的野外人工接种病斑长度约为 2—5cm, 采用本文的接种方法^[2], 该菌单个的接种点通常不能形成环割枝条的皮层坏死, 因为桂枝会产生木栓形成层抑制病斑的扩展; 而在自然条件下, 可可毛色二孢的有效传播和侵染主要是由肉桂泡盾盲蝽完成, 该虫的吸食可在枝上形成众多的接种点, 也能在木栓形成层上产生新的接种点, 使可可毛色二孢在皮层迅速扩展, 形成环割枝条的皮层坏死、造成枝叶焦枯, 危害极大。

肉桂枝枯盛发于 6—10 月份的高温季节, 可能与可可毛色二孢的高温适生性和此时期肉桂泡盾盲蝽繁殖数量多有关。

肉桂泡盾盲蝽的卵产于枝条皮层内, 有两根呼吸线伸出外面, 其卵与坏死树皮的接触是极紧密的。研究结果表明, 坏死树皮内有 0.666 的可能性含有可可毛色二孢, 因而该虫的带菌性是可以肯定的。由于该虫带菌检测时, 用升汞对虫体作表面消毒, 因而该虫 21.5% 的带菌率, 代表该虫自然带菌的最低水平, 至于可可毛色二孢和该虫进一步的关系以及其生活史等还有待研究。

肉桂的病虫情况比较复杂, 除肉桂泡盾盲蝽和可可毛色二孢能迅速造成极严重的大面积分枝枯外, 能危害肉桂枝梢干的害虫还有肉桂双瓣卷蛾、肉桂木蛾^[5,6]、肉桂种子小蜂、肉桂瘿蚊和肉桂天牛, 它们也能造成不同程度的枝梢枯萎。这些病虫通常混合发生, 给肉桂生长带来极大危害。

肉桂枝枯既然与害虫有关, 肉桂枝枯包括由可可毛色二孢引起的枝枯病的防治有可能通过防治害虫而达到目的, 有关的研究正在进行中。

致谢 可可毛色二孢由中国科学院微生物研究所郭英兰研究员鉴定; 肉桂泡盾盲蝽种名系经核对广西岑溪县林业科学研究所冼旭勋同志昆虫标本 (南开大学郑乐怡教授定种

名)而定;广西农业大学张永强、陈育新教授对本工作提出宝贵意见,特此一并致谢。

参 考 文 献

- [1] Wellman F L. Dictionary of Tropical American Crops and Their Diseases. Metuchen; The Scarecrow Press. 1977.
- [2] Jaynes R A, Van Alfen N K. *Phytopathology*, 1974, 64: 1479.
- [3] 张中义. 植物病原真菌学. 成都: 四川科学技术出版社, 1988. 449.
- [4] 林石明, 戚佩坤. 热带作物学报, 1993, 34 (1): 91—97.
- [5] 马超如. 农业科技情报, 1991, (11): 1.
- [6] 彭石水. 广东农业科学, 1991, (3): 30—33.

STUDIES ON THE PATHOGEN OF BRANCH-ROT OCCURRED ON CHINESE CASSIA TREE

Wen Xin¹ Song Li² Li Qiqiang²

Zhang Yuru¹ Wu Zewen¹

(1 Wuzhou Animal and Plant Quarantine Bureau of The People's Republic of China, Wuzhou 543002)

(2 The City's Forestry Bureau of Wuzhou, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Wuzhou 543002)

Abstract The branch-rot occurred on Chinese cassia tree is associated with a insect named *Pseudodoniella chinensis* Zheng and a fungus named *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. The fungus infects the bark through wounds and causes cankers on the branches of cassia trees. The insect sucks the juice in the green branches, creates a large number of tiny wounds on the cassia trees and it is the carrier of the fungus so it makes the fungus infect the trees easily and results in serious branch-rot.

Key words Chinese cassia tree, Branch-rot, Carrier, *Lasiodiplodia theobromae*, *Pseudodoniella chinensis*

图 版 说 明

Explanation of plate

1. 肉桂枝枯的严重性; 2a. 肉桂泡盾盲蝽与枝枯初期褐斑; 2b. 发生于3年生枝干上的褐斑; 3a. 病枝组织内可可毛色二孢菌的分生孢子器及分生孢子; 3b. 可可毛色二孢菌分生孢子的萌发; 4a、4b. LT2和LT9野外人工接种表现的侵染性; 5a. 肉桂泡盾盲蝽套笼9d引起的枝条皮层坏死; 5b. 肉桂泡盾盲蝽套笼试验,一个月后所表现的枝枯; 6. 三株肉桂泡盾盲蝽携带的可可毛色二孢人工接种表现的致病性,病斑长度约4.5cm,左边贴标签的示自然病斑。

1. The seriousness of the branch-rot on Chinese cassia trees; 2a. The insect *Pseudodoniella chinensis* and the initial brown spots of branch-rot; 2b. The brown spot occurred on the 3-year-old branch of Chinese cassia tree; 3a. Pycnidium and pycnidiospores of *Lasiodiplodia theobromae* in the branch-rot tissue; 3b. Germination of the pycnidiospores; 4a, 4b. The pathogenicity of the strains LT2 and LT9 showed by artificial inoculation in field; 5a. The cortex necroses on the branch 9 days after the branch and the insect *Pseudodoniella chinensis* being enveloped with a insect-resist net; 5b. The branch-rot on the branch 1 month after the branch and the insect *P. chinensis* being enveloped with a insect-resist net; 6. The pathogenicity of 3 strains of *L. theobromae* isolated from the insect *P. chinensis* showed by artificial inoculation in field. The canker length is about 4.5 cm. The left branch labeled shows natural brown spots.