

板栗疫病菌致病力分化的研究

文 新

(梧州动植物检疫局 梧州 543002)

陈育新 梁棉勇* 刘伟钊*

(广西农业大学植保系, 南宁 530005)

中国板栗 (*Castanea mollissima* Blume) 对板栗疫病菌 (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr) 具有强的抗病力^[1~3]。但近十多年来,我国许多省份均发现有板栗疫病^[4~6],据调查,广西有 19 个县市存在栗疫病,有的地方发病还相当严重。为了解释疫病发生的上述情况,并为生产和该病菌的更深入研究提供指导,作者在广西桂林、南宁、柳州、梧州、河池等地收集菌株,对疫病菌致病性的分化进行了研究,现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 毒力参照菌株

法国已知弱毒株 EPF 为毒力参照株。

1.2 栗疫病菌的采集、分离和单孢纯化

1.2.1 标本采集: 1988 年 12 月~1989 年 6 月,采自广西桂林、南宁、柳州、梧州、河池等地板栗病株。

1.2.2 菌株分离和纯化: 将病枝或病树皮,用经火焰灼烧过的刀片削去表皮,取坏死内皮约 $5 \times 5 \text{ mm}^2$,压于 PDA 上,28℃,光照培养,产孢后用微块法进行单孢纯化^[7]。

1.3 接种方法

1.3.1 接种体: 将菌株移置 PDA 平皿,待长成直径 5 cm 菌落,用内径 7 mm 的木塞钻孔器钻取菌落边缘菌丝块用于接种。

1.3.2 接种的寄主植物: 为生长在广西隆安县林科所的中国板栗 7 个品种或种源,每个品种(种源)设 4 株重复。

1.3.3 接种方法: 在 3 年生直径约 4 cm 栗枝上,接种所有要分析的 8 个菌株,并设一个空白对照,每个接种点之间相距 15 cm,使有足够的组织供各菌株扩展而不致相互干扰。每一栗枝上各菌株的位置是随机确定的。用内径 7 mm 的木塞钻孔器在栗枝上打一洞,将同样大小的菌丝块置于洞内(菌丝面朝里),将原树皮圆片压回,用塑料带捆缚保湿 48 h。

42 d 后,用单面刀片将接种部位的表皮削去,可见皮层坏死。由于病健部分界清晰,可在其上放上硫酸纸,画下坏死部分,回室内将硫酸纸置于标准计算纸上,计算坏死面积,进行统计分析。

1.3.4 混合接种方法: 基本同 1.3.3,只是一个接种点接两种毒力有差异的菌株的菌丝块。

1.4 双链核酸(dsRNA)检测

对试验菌株采用 Morris 等^[10]的方法检测其菌体内 dsRNA 情况。

2 结果和分析

2.1 品种对菌株致病性的反应

本文于 1995 年 2 月 6 日收到。

* 90 届毕业生。

试验结果(表 1)表明:(1)所测试的 7 个品种(种源)间抗病性有显著差异,小果红油栗为低抗病品种,它与别的 6 个品种的抗病性有极显著差异,处暑红为抗病品种,山东薄壳栗和阳朔 37 号为中等抗病品种(种源),而九家种、大果乌皮栗和河北迁西栗这 3 个品种(种源)的抗病性介于中抗病和抗病品种之间,说明多数品种(种源)其抗病力均达到中等以上。(2)所测菌株间的致病力差异显著,可分三种类型,即:弱毒株 EP2,它与其他 7 个菌株均有极显著差异;毒性株,包括 EP14、EP16、EP12,它们与 EP1 有显著差异;强毒株 EP1。EP15、EP18 和 EP10 则是由毒性株到强毒株的过渡类型,说明疫病菌的致病力大小在不同菌株中是一个连续的变化过程。(3)菌株与品种间不存在交互作用,说明菌株尽管在致病力上有强毒型、毒性型和弱毒型的差别,但不存在生理小种的分化。

表 1 菌株间和品种间溃疡面积平均数比较

菌株	平均数	q0.05	q0.01	品种	平均数	q0.05	q0.01
EP1	1425.6	a	A	小果红油栗	1862.8	a	A
EP15	1177.9	ab	A	山东薄壳栗	1092.8	b	B
EP18	1122.1	ab	A	阳朔 37 号	1074.6	b	B
EP10	1054.5	ab	A	九家种	998.7	bc	B
EP12	1012.3	b	A	大果乌皮栗	786.8	bc	B
EP16	981.2	b	A	河北迁西栗	730.2	bc	B
EP14	941.3	b	A	处暑红	665.1	c	B
EP2	526.3	c	B				

注:每个(品种×菌株)处理设 4 个重复,每一菌株平均数为 28 个观测值的均值,每一品种平均数为 32 个观测值的均值,单位 mm^2 ,作用时间 1989.10.15~1989.11.25。平均数后字母相同的菌株(或品种)间差异不显著,下同。

2.2 国内广西菌株与国外已知弱毒株毒力比较

将强毒株 EP1、毒性株 EP16、弱毒株 EP2 以及法国弱毒株 EPF 等菌株接种于同一栗枝上,设 10 个重复,其中 EP1 + EPF, EP1 + EP2 表示混合接种,以研究其毒力大小或混合接种的毒力变化,结果如表 2。

表 2 菌株间溃疡面积平均数比较

菌株	平均数	q0.05	q0.01
EP1	1091.2	a	A
EP18	715.7	b	B
EP16	577.6	b c	B C
EP1+EP	451.6	b c d	B C D
EP1+EP2	432.6	b c d	B C D
EP2	265.4	c d e	C D
EPF	169.2	d e	C D
EP25	85.5	e	D

注:作用时间为 1990.3.23~1990.5.3,数据为 10 重复均值,单位 mm^2 ,所有 CK 值为 0。

统计结果表明:(1)EP1 的致病力最强,它与其他几个菌株均有极显著差异,属强毒株;(2)EP2、EPF 和 EP25 的致病力最弱,它们与 EP1、EP18 均有极显著差异,属弱毒株;(3)强毒株的 EP1 若与弱毒株的 EP2 或 EPF 混合接种,则其对板栗的强致病力被极显著地降低(降低到与弱毒株无显著差异的程度)。

2.3 试验菌株 dsRNA 检测结果

由真菌病毒 dsRNA 检测结果(图 1)可以看出,所有试验菌株,均有一条分子量为 6.2×10^4 的

dsRNA 带。在同等重量菌丝体的情况下, EP1、EP12、EP14、EP18、EP10 和 EP20 的 dsRNA 带颜色较深,说明 dsRNA 含量高;而 EP2、EP15 和 EP16 的 dsRNA 带颜色浅,说明 dsRNA 含量低。此结果表明致病力的大小与 dsRNA 的存在及含量的高低不相关。

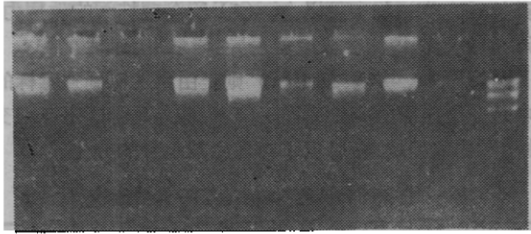


图1 板栗疫病菌株 dsRNA 的聚丙烯酰胺凝胶电泳
从左到右分别为 EP14,EP18,EP16,EP25,EP12,EP2,EP10,EP1,EP15 和 EPF, EPF 为分子量对照,最上端的带分子量为 6.2×10^4 。

3 讨论

疫病菌对中国板栗的品种(种源)不形成寄生专化性,中国板栗的不同品种(种源)对疫病菌的抗性尽管存在差异,但多数品种都有较强的抗性,只要栽培管理得当,减少打果时造成的树皮伤害,防护好嫁接接口,疫病的危害就能大大减轻。

各试验菌株均含有 dsRNA,有报道认为 dsRNA 是通过菌体间菌丝融合而传递^[7],因而国内菌株间可能存在较好的亲和性。

致谢 中国科学院微生物研究所梁平彦研究员帮助分析菌体内 dsRNA,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Anagnostakis S L, Jaynes R A. *Plant Dis Rep*, 1973, 57:225~226.
- [2] Van Alfen N K, Jaynes R A, Anagnostakis S L et al. *Science*, 1975, 189:890~891.
- [3] Day P R, Dodds J A, Elliston J E et al. *Phytopathology*, 1977, 67: 1393~1396.
- [4] Van Alfen N K, Jaynes R A, Bowman J T. *Phytopathology*, 1978, 68: 1075~1079.
- [5] Dodds J A. *Virology*, 1980, 107:1~12.
- [6] 杨 旺,韩光明,罗晓芳. 北京林学院学报, 1979(1): 1~4.
- [7] 北京林学院主编. 林木病理学. 北京: 农业出版社, 1979. 149~151.
- [8] 中国林业科学研究院主编. 中国森林病害. 北京: 中国林业出版社, 1984. 177~178.
- [9] 梁继浓. 植物保护, 1982,8(5): 32.
- [10] Morris T J, Dodds J A. *Phytopathology*, 1979, 69:854~858.

STUDIES ON THE VIRULENCE DIFFERENTIATION OF CHESTNUT BLIGHT FUNGUS *CRYPHONECTRIA* *PARASITICA*

Wen Xin

(*Wuzhou Animal and Plant Quarantine Bureau, Wuzhou 543002*)

Chen Yuxin Liang Mianyong Liu Weizhao

(*Department of Plant Protection, Guangxi Agriculture University, Nanning 530005*)

Abstract According to the results of inoculations on seven Chinese chestnut varieties with nine selected strains of chestnut blight fungus obtained from five regions in Guangxi the strains could be divided into supervirulent strains, virulent strains and hypo-virulent strains, but they had no differentiation of physiologic races. The virulence in chestnut varied with different virulence types. If the mycelia of a hypo-virulent strain was mixed with the mycelia of a supervirulent strain, the later virulence could be weakened greatly. All of nine tested strains contained fungal virus RNA (dsRNA), it proved that the hypo-virulence was not controlled by dsRNA. Most Chinese chestnut varieties had high resistance to chestnut blight fungus, although there were some differences among these varieties.

Key words Chinese chestnut, Chestnut blight fungus, Strain, Virulence differentiation