# 杜英疫病病原菌生物学特性\*

官莉莉 黄华毅 戴 坚 高成龙 赵 奕 王洋文 (广东省森林培育与保护利用重点实验室/广东省林业科学研究院,广东广州 510520)

摘要 为明确杜英疫病病原菌杜英生假隐丛赤壳 Pseudocryphonectria elaeocarpicola 的生物学特性及其对山杜英 Elaeocarpus sylvestris 的致病性,采用生长速率法测定了杜英疫病病原菌最适生长碳源、氮源、温度、pH 值等生物学特性,并通过烫伤接种的方法,以菌饼接种山杜英盆栽苗木探究其致病性。研究结果表明,杜英疫病病原菌最适生长碳源为可溶性淀粉、乳糖和纤维素粉,氮源为蛋白胨和酵母浸粉,pH 值为 4,生长温度为 30  $^{\circ}$ 0,其致死温度为 55  $^{\circ}$ 0,光照条件不影响其菌丝生长。接种实验结果表明该病原菌对山杜英具有致病性。

关键词 杜英疫病; 杜英生假隐丛赤壳; 生物学特性; 山杜英; 致病性

中图分类号: S763.15 文献标志码: A 文章编号: 2096-2053 (2024) 06-0090-05

DOI: 10. 20221/j. cnki. 2096-2053. 202406013

Biological Characteristics of the Pathogen for Stem Blight of *Elaeocarpus* 

GUAN Lili HUANG Huayi DAI Jian GAO Chenglong ZHAO Yi WANG Yangwen

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Silviculture, Protection and Utilization/Guangdong Academy of Forestry, Guangzhou, Guangdong 510520, China)

Abstract To identify the biological characteristics of *Pseudocryphonectria elaeocarpicola*, the pathogen for stem blight of *Elaeocarpus*, and to explain its pathogenicity to *Elaeocarpus sylvestris*, the biological characteristics such as carbon source, nitrogen source, temperature, pH and light exposure of the pathogen were measured by growth rate method. The pathogenicity of the pathogen was studied by inoculating the potted seedlings by scalding inoculation. The results showed that the optimum carbon source for the growth of the pathogen was soluble starch, lactose and cellulose, the optimum nitrogen source was peptone and yeast extract, the optimal pH value was 4, the optimal growth temperature was 30 °C, the lethal temperature was 55 °C and the light exposures did not significantly affect the fungal growth. The inoculation experiment results showed that the pathogen was pathogenic to *Elaeocarpus sylvestris*.

Key words stem blight of *Elaeocarpus*; *Pseudocryphonectria elaeocarpicola*; biological characteristics; *Elaeocarpus sylvestris*; pathogenicity

<sup>\*</sup>基金项目:广东省林业科技创新项目(2020KJCX004, 2023KJCX022)。

第一作者: 官莉莉 (1982— ), 女, 工程师, 主要从事古树名木健康诊断、监测和抢救复壮等技术研究, E-mail: 78728302@ qq. com。通信作者: 黄华毅 (1989— ), 男, 副研究员, 主要从事林业有害生物防控和古树名木保护研究, E-mail: huanghy@ sinogaf. cn。

杜英属 Elaeocarpus 植物为杜英科常绿乔木或 大灌木,是热带、亚热带常绿阔叶林森林群落的 重要组成树种, 在我国有38种和6变种, 其中广 东省共有 20 种和 2 变种[1-2]。杜英属植物速生, 树干通直, 冠层分层明显, 形态优美, 新叶萌发 或老叶脱落前多呈现鲜红的颜色, 花型雪白奇特, 果实形如珍珠而呈蓝绿色, 独具一格, 是珍贵的 观赏树种, 也是园林绿化的优良树种之一[1-3]。在 广东省,已有11种杜英属植物被广泛应用于庭院 观赏、道路绿化、小区及森林公园景观营造等方 面,包括尖叶杜英 E. rugosus、水石榕 E. hainanensis、秃瓣杜英 E. glabripetalus、中华杜英 E. chinensis、山杜英 E. sylvestis 等[2-3]。随着杜英属 植物在园林绿化上的应用越来越广泛,种植面积 的不断扩大和生长环境的变化,导致杜英属植物 的病虫害发生种类和概率也相应的增加[1]。

杜英疫病是笔者于 2022 年在广州市的尖叶杜 英和水石榕上新发现的一种严重危害的枝干病害, 可造成多种杜英属植物枝干腐烂和溃疡,严重时 会导致整株枯死。通过形态观察结合多基因序列 分析明确其致病菌为杜英生假隐丛赤壳 Pseudocryphonectria elaeocarpicola, 是首次报道的隐丛赤壳 科 Cryphonectriaceae 的新属新种植物致病真菌<sup>[4]</sup>。 杜英疫病在广东省珠三角地区的尖叶杜英和水石 榕上发生危害严重、据 2022 年的调查、广州市部 分地区的感染率达到88.89%~100%, 枯死率达到 15.38%~62.5%,造成了严重的景观、生态和经 济损失[4]。目前,对杜英疫病病原菌的生物学特 性研究还未开展,其对山杜英的致病性也未明确。 本研究于2022年4月—12月开展杜英疫病病原菌 生物学特性及对山杜英的致病性研究,旨在为有 效防治杜英疫病提供技术支撑和理论依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 供试病原菌和培养基

- 1.1.1 菌株 杜英疫病病原菌杜英生假隐丛赤壳 CFCC 57515,由广东省林业科学研究院森林保护研究所于 2022 年 3 月从广州市美华中学 (23°8′37.94″N,113°14′18.12″E)的尖叶杜英病株上分离鉴定,并保存于中国林业微生物菌种保藏管理中心。
- 1.1.2 培养基 参照方中达<sup>[5]</sup> 的方法,配置马 铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基和察氏 (Czapek)

培养基。

#### 1.2 病原菌生物学特性测定

- 1.2.1 菌株对碳、氮源的利用 以 Czapek 培养基为基础培养基,将培养基中的蔗糖分别替换成等量的葡萄糖、麦芽糖、可溶性淀粉、乳糖、半乳糖、果糖、木糖、纤维素粉、甘露醇,制成不同碳源的培养基平板(直径9 cm,下同),同样的方法通过将培养基中硝酸钠替换成等量的牛肉膏、蛋白胨、氯化铵、硫酸铵、酵母浸粉、丙氨酸、谷氨酰胺、胰蛋白胨、甘氨酸,制成不同氮源的培养基平板,分别以缺碳源和缺氮源的 Czapek 培养基为对照。再将直径6 mm 新鲜菌饼转接至各种培养基平板中央,于28℃恒温培养箱中倒置黑暗培养,培养5 d 后,观察病原菌的生长情况并采用十字交叉法测量菌落直径,每个处理重复3次,下同[6-7]。
- 1.2.2 不同 pH 值对菌株生长的影响 将直径 6 mm 新鲜菌饼分别接种于利用 1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 和 1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 调节 pH 为 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 和 13 的 PDA 培养基平板中央,于 28 ℃恒温培养箱中倒置黑暗培养,培养 5 d 后,观察病原菌的生长情况并采用十字交叉法测量菌落直径 $^{[6-7]}$ 。
- 1.2.3 光照对菌株生长的影响 将直径 6 mm 新鲜菌饼转接至 PDA 培养基平板中央,分别置于全黑暗、全光照和黑暗光照交替(12 h/12 h)3 种光照条件下,28 ℃恒温培养箱中倒置培养,培养5 d 后观察病原菌的生长情况并采用十字交叉法测量菌落直径<sup>[6-7]</sup>。
- 1.2.4 菌株致死温度的测定 挑取直径 6 mm 的新鲜菌饼转入装有 1.5 mL 无菌水的 2 mL 离心管中,分别置于 35、40、45、50、55 和 60 ℃的金属浴中 10 min,然后将处理后的菌饼分别转接到新的 PDA 培养基平板中央,于 28 ℃恒温培养箱中倒置黑暗培养,观察菌丝生长情况<sup>[6-7]</sup>。
- 1.2.5 温度对菌株的影响 将直径 6 mm 新鲜菌 饼转接至 PDA 培养基平板中央,分别置于 5、10、15、20、25、28、30、35、40、45 和 50 ℃的恒温 培养箱中倒置黑暗培养,5 d 后观察病原菌的生长 情况并采用十字交叉法测量菌落直径<sup>[6-7]</sup>。

### 1.3 菌株对山杜英的致病性

选取胸径大小接近的 3 a 生山杜英幼苗, 用无菌水对幼苗主干接种部位进行清洗, 再用 75%的

酒精进行表面消毒,然后用无菌水对主干进行冲洗。对处理好的苗木在高度接近的位置用烧红的直径为6 mm 打孔器进行烫伤处理,然后挑取新鲜的直径6 mm 的病原菌菌饼菌丝面朝内接种至烫伤部位,以接种直径6 mm 无菌的 PDA 培养基块为对照,接种后用蘸无菌水的脱脂棉保湿,用保鲜膜将其固定;然后将所有接种完的苗木移入 25 ℃、相对湿度 70%~80%的培养室中,光照和黑暗交替培养,2 d 后解除保湿,处理组和对照组每组分别接种 5 株供试苗木,每个处理重复 3 次,分别在5 d 后调查发病率,15 d 后调查山杜英的枯死率<sup>[4]</sup>。

#### 1.4 数据分析

采用 Excel 2016 软件统计数据并绘制图表,运用 SPSS 23 软件并采用 Duncan's 新复极差法进行单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 碳源对菌株生长的影响

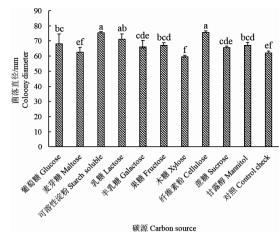
如图 1 所示,不同碳源对杜英疫病病原菌菌 丝生长的影响差异显著 (P<0.05)。在 Czapek 培养基中,菌丝生长均较差,菌丝较薄,气生菌丝不发达,呈现透明状。其中,碳源为可溶性淀粉、乳糖和纤维素粉的培养基中,病原菌菌丝生长速率最快,菌落直径分别为 75.15、71.25 和 75.75 mm;碳源为麦芽糖、木糖,及无碳源培养基中病原菌菌丝生长速率最慢,菌落直径分别为 62.50、59.50 和 62.00 mm。

### 2.2 氮源对菌株生长的影响

如图 2 所示, 氮源对杜英疫病病原菌菌丝生长的影响差异显著 (P<0.05)。氮源为蛋白胨和酵母浸粉的条件下, 病原菌菌丝生长速率最快, 菌丝生长旺盛, 菌丝较厚, 菌落呈灰白色, 直径分别为 74.50 和 73.25 mm; 而其他氮源的培养基中, 病原菌长势较弱, 菌丝薄, 菌落呈透明状。菌丝生长速率最慢的氮源培养基为硫酸铵, 菌落直径为 24.50 mm。

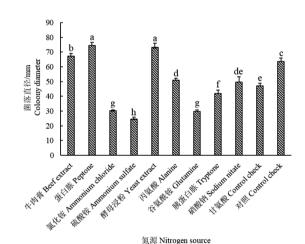
## 2.3 pH 值对菌株生长的影响

如图 3 所示, 杜英疫病病原菌在 pH 为 4~12 的条件下均能生长, 其中 pH 值为 4 时, 菌丝生长速率最快, 菌落直径为 85.00 mm; 随着 pH 的逐渐增大, 菌丝生长速率逐渐减缓; pH 为 4~10 时, 适宜病原菌菌丝的生长; 在 pH 为 13 及以上的条



注:不同小写字母表示处理间差异性显著 (*P*<0.05)。 Note: The different lowercase letters indicate significant difference (*P*<0.05) among treatments.

图 1 不同碳源杜英疫病病原菌菌落直径比较 Fig. 1 Comparison of colony diameters of Pseudocryphonectria elaeocarpicola on different carbon sources



注:不同小写字母表示处理间差异性显著 (*P*<0.05)。 Note: The different lowercase letters indicate significant difference (*P*<0.05) among treatments.

图 2 不同氮源杜英疫病病原菌菌落直径比较 Fig. 2 Comparison of colony diameters of Pseudocryphonectria elaeocarpicola on different nitrogen sources

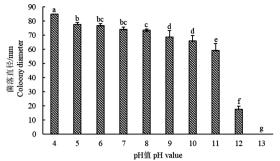
件下,病原菌菌丝不生长。

### 2.4 光照对菌株生长的影响

从图 4 中可以看出,光照条件不影响病原菌菌丝生长,在全黑暗、全光照和黑暗光照交替(12 h/12 h)3 种光照条件下,病原菌菌丝生长差异不显著。

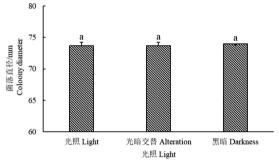
## 2.5 菌株的致死温度

杜英疫病病原菌经过 35、40、45 和 50 ℃处理 后的菌饼均能在 PDA 培养基平板中生长, 而 55 和



注:不同小写字母表示处理间差异性显著 (*P*<0.05)。 Note: The different lowercase letters indicate significant difference (*P*<0.05) among treatments.

## 图 3 不同 pH 值杜英疫病病原菌菌落直径比较 Fig. 3 Comparison of colony diameters of Pseudocryphonectria elaeocarpicola on different pH values



注:不同小写字母表示处理间差异性显著 (*P*<0.05)。 Note: The different lowercase letters indicate significant difference (*P*<0.05) among treatments.

## 图 4 不同光照条件杜英疫病病原菌菌落直径比较 Fig. 4 Comparison of colony diameters of Pseudocryphonectria elaeocarpicola on different illumination

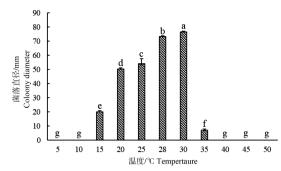
60 ℃处理后的菌饼不再生长,因此,55 ℃即为杜 英疫病病原菌的致死温度。

### 2.6 温度对菌株生长的影响

从图 5 中可以看出,不同温度对杜英疫病病原菌菌丝生长的影响差异显著(P<0.05)。30 ℃条件下菌丝生长速率最快,菌落直径为 76.67 mm;当温度低于 15 ℃和高于 35 ℃时,病原菌菌丝生长速率减缓,菌落直径显著下降;10 ℃及以下温度和 40 ℃及以上温度,病原菌菌丝不再生长。

### 2.7 菌株对山杜英的致病性

杜英疫病病原菌菌丝块接种烫伤的山杜英苗木,5 d 后所有接种病原菌的苗木接种部位都有明显的褐变坏死,而对照组苗木未出现褐变坏死情况,发病率达100%;接种15 d 后山杜英处理组苗



注:不同小写字母表示处理间差异性显著 (*P*<0.05)。 Note: The different lowercase letters indicate significant difference (*P*<0.05) among treatments.

图 5 不同温度杜英疫病病原菌菌落直径比较 Fig. 5 Comparison of colony diameters of mycelial growth of *Pseudocryphonectria elaeocarpicola* on different temperatures

木均出现整株枯死情况,与田间症状相似,同时接种坏死部位出现大量杜英疫病分生孢子角,而对照组苗木均未发病(图6)。



图 6 杜英疫病菌株对山杜英的致病性 Fig. 6 Pathogenicity of Pseudocryphonectria elaeocarpicola on Elaeocarpus sylvestris

## 3 结论与讨论

本研究通过测定明确了杜英疫病病原菌的生物学特性,其菌丝生长最适碳源为可溶性淀粉、乳糖和纤维素粉,氮源为蛋白胨和酵母浸粉,pH

值 4,生长温度为 30 ℃。其致死温度为 55 ℃,光 照条件不影响其菌丝生长。此外,还明确了该病 原菌能危害山杜英。

杜英生假隐丛赤壳是新发现的隐丛赤壳科新 属新种林木病原真菌[4]。隐丛赤壳科中的很多真 菌已被报告是重要的林木病原菌, 主要引起林木 溃疡病[8-9]。其中,最被人们所熟知的板栗疫病病 原菌寄生隐丛赤壳菌 Cryphonectria parasitica, 是 我国林业检疫性有害病原菌, 其在全世界广泛危 害栗属植物,导致果实产量和质量下降,严重时 导致植株整株死亡, 20 世纪初期该病害的暴发曾 导致美洲及欧洲栗树大规模减产, 北美栗树种植 产业濒临崩溃[10-11]。再如引起桉树发生严重枝干 溃疡病的桉树暗隐丛赤壳 Celoporthe eucalypti、广 东暗隐丛赤壳 C. guangdongensis 和类古巴黄隐丛 赤壳 Chrysoporthe deuterocubensis[8-9]。紫薇金隐 丛赤壳菌 Chrysomorbus lagerstroemiae 是近年来在 广东和海南的大花紫薇 Lagerstroemia speciosa 上发 现的病原菌,能引起枝条溃疡和枯死[13]。

目前的研究结果表明,杜英生假隐丛赤壳均能危害尖叶杜英、水石榕和山杜英这 3 种杜英属植物<sup>[4]</sup>。鉴于我国及广东省目前还有很多其他杜英属植物分布,应开展针对性调查研究,进一步明确杜英生假隐丛赤壳对其他杜英属植物的致病性,为杜英疫病的有效防控提供依据。目前,对隐丛赤壳科病原菌引起的林木病害的防控,主要包括物理防控、化学防控、生物防控、抗性育种等技术手段,此外,营林措施在病害的长效防控中也至关重要<sup>[8,13]</sup>。

本研究明确了杜英疫病病原菌杜英生假隐丛 赤壳的生物学特性及其对山杜英的致病性,为未 来杜英疫病的科学防控提供了理论支撑。

## 参考文献

- [1] 毛子翎,伍慧雄,王军. 杜英 *Elaeocarpus* spp. 病虫害发生现状及防治研究综述[J]. 广东园林,2018,40(6):67-70.
- [2] 廖浩斌,冯志坚,杨之彦.广东省11种杜英属园林植物的识别及其园林应用[J].福建林业科技,2012,39(1):127-131.
- [3] 廖浩斌, 冯志坚, 戴磊, 等. 广东省 11 种杜英属植物园 林观赏特性评价 [J]. 广东园林, 2012, 34(3):66-69.
- [4] HUANG H Y, HUANG H H, ZHAO D Y, et al. *Pseudo-cryphonectria elaeocarpicola* gen. et sp. nov. (Cryphonectriaceae, Diaporthales) causing stem blight of *Elaeocarpus* spp. in China[J]. MycoKeys, 2022, 91:67–84.
- [5] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业出版社, 1988:46-50.
- [6] 王成,赵丹阳,扈丽丽,等. 苹婆炭疽病病原菌生物学特性及室内毒力测定[J]. 林业与环境科学,2023,39(5): 21-26
- [7] 黄华,冯金艳,陆建康,等. 无瓣海桑叶斑病及其病原菌的生物学特性研究[J]. 林业与环境科学,2022,38(4): 176-180.
- [8] 王文,陈帅飞. 隐丛赤壳科病原菌物种多样性及其对我国桃金娘科树木的危害[J]. 桉树科技,2017,34(2):45-58.
- [9] 姜宁,范鑫磊,田呈明. 间座壳目分类学研究现状与展望[J]. 菌物研究,2018,16(4):191-197,188.
- [10] 杨旺,韩光明,罗晓芳. 我国板栗疫病研究初报[J]. 北京林业学院学报,1979:74-77.
- [11] JIANG N, FAN X L, YANG Q, et al. Two novel species of *Cryphonectria* from *Quercus* in China[J]. Phytotaxa, 2018,347(3):243-250.
- [12] CHEN F S, LIU L Q, LI Q G, et al. A new genus of Cryphonectriaceae isolated from *Lagerstroemia speciosa* in southern China [J]. Plant Pathology, 2018, 67 (1): 107–123.
- [13] ANAGNOSTAKIS S L. Measuring resistance of chestnut trees to chestnut blight [J]. Canadian Journal of Forest Research, 1992, 22(4):568-571.