秦巴山区西洋参黑斑病病原 形态学及侵染来源研究

张天宇 白 滨 陈伟群

(西北农业大学植保系)

陈嘉孚 钱学聪

(陕西省水稻研究所) (汉中农业学校)

摘 要 用从陕西秦巴山区西洋参病组织及参床周围生境中分离到的9种链格孢(*Alternaria* spp.)接种西洋参叶片,除人参链格孢(*A. panax*)之外,其它均不能致病。从该地区采集的人参链格孢分离系,较Simmons(1982)根据模式标本描述者,成熟分生孢子的尺度明显偏大。且菌系之间,在形态上有一定分化,大致可分为两组。I组菌系分生孢子较粗,II组则较为窄细,喙部也较长。田间越冬死茎桩及病残体,是当地西洋参黑斑病的主要初侵染来源。土壤中的病菌也能正常越冬。文中对人参链格孢分类的历史和现状进行了讨论。

关键词 秦巴山区,西洋参,黑斑病,病原形态,初侵染来源,人参链格孢

中国分类号 S435.675

据Whetzel等推测,西洋参黑斑病至少从1904年起就有发生^[1]。尔后一直是北美西洋参主产区的主要病害之一。陕西秦岭、巴山山区自1978年开始引种西洋参时起就有发生,近年逐渐普遍,局部成灾。已知北美西洋参黑斑病的病原为人参链格孢(*Alternaria panax* Whetz.),具有顽强的适应性和致病力^[1]。除西洋参外,还为害五加科(*Araliaceae*)的数种植物,国内外已有关于该菌为害人参(*Panax ginseng*)、三七(*P. notoginseng*)、辽东楸木(*Aralia elata*)、八角金盘(*Fatsia japonica*)及鹅掌藤(*Schefflera arboricola*)等植物及病原菌某些生物学特性的报道^[2-4]。但由于病部常同时存在数种链格孢,容易混淆,较难准确鉴定。加之不同地区和寄主上的病原物形态变幅甚大^[4,5],致病性也可能存在差异,更增加了问题的复杂程度。本文报道陕西秦岭、巴山山区西洋参新种植区,黑斑病菌形态学及其初侵染来源方面的初步研究结果。

1 材料与方 法

1.1 标样采集

文稿收到日期:1990-03-21。

* 现在甘肃省农科院植保所工作。

1.1.1 时间、地点 1988年7~11月, 从留坝、宁强、商县、陇县等地参床及其周围地区采样。1989年春、夏再次补充采集。

1.1.2 标样类型 ①西洋参罹病茎、叶、花序及果实、种子; ②冬前遗落田间的病残体; ③参床及其周围环境中, 各种可能由链格孢 (*Alternaria* spp.) 引致的各种植物病害标本, 计18科28种植物; ④土壤样品: 早春从参床上以五点取样法取1~5 cm 表土, 各点样品充分混匀, 以四分法留取混合土样适量, 盛于洁净塑料袋中, 立即分离, 或置0℃左右冰箱中保存备用; ⑤栅架、篱笆等器物样品。

1.2 病原物的分离、培养

(1) 病组织分离: 常规方法。

(2) 土壤分离: 土样适当风干, 20目筛孔过筛。在无菌操作条件下, 取0.4 mg, 均匀撒于灭菌培养皿底, 然后倒入50℃左右的1/4PPA培养基, 摇匀。置25℃恒温箱中培养3~6 d, 镜检。链格孢分离物, 经纯化, 转入斜面管, 保藏备用。

1.3 分离物的鉴定

鉴于许多种链格孢的分生孢子和产孢器官形态, 在人工培养基上常与生长于自然基质上者有很大不同。在营养丰富的合成培养基上, 多个种的分生孢子有在形态上趋于一致的倾向, 作者在进行链格孢鉴定时遵循以下两点。(1) 尽量采用生长于自然基质, 如西洋参病组织上的分生孢子和产孢结构; (2) 在无法取自自然基质上时, 采用吸水纸培养法: 将生长有目的菌的菌落 (PDA 培养基) 切块, 倒放于皿中的湿润无菌滤纸上, 23~25℃温度下培养, 于第7~9 d期间制片镜检。此法可收到与自然基质上者相近之效果。

1.4 致病性测定

配制分生孢子悬浮液, 浓度掌握在每16×10显微镜视野30~40个孢子。以毛笔蘸孢子液, 涂抹于供试西洋参叶片上。涂无菌水者为对照。重复3次, 每重复至少3张叶片。接种后, 于17~24℃环境中保湿48 h。

经试验, 采用插入水中的离体复叶接种, 获得与植株上叶片接种同样之效果, 且更为方便, 易于控制管理。

2 结果与分析

2.1 9种链格孢对西洋参叶片的致病性测定

用从西洋参病组织、越冬病残体及参床周围生境中分离到的9种链格孢, 即人参链格孢 (*Alternaria Panax* Whetz)、桂竹香链格孢 (*A. Cheiranthi* (Lib.) Wilts.)、细链格孢 (*A. tenuis* Nees)、细极链格孢 (*A. tenuissima* (Fr.) Wilts.)、土生链格孢 (*A. humicola* Oudemans) 簇生链格孢 (*A. facciculata* (Cke. et Ell.) Jones et Grout) 及三个未定名的链格孢种 (*A. spp.*), 接种西洋参叶片, 证明只有人参链格孢 (*A. panax*) 的五个分离系对西洋参有致病力, 引起典型的黑斑病, 并经再分离证实。其它8种链格孢均无致病性。用人参链格孢与常常在病部相伴而生的细链格孢 (*A. tenuis*) 和细极链格孢 (*A. tenuissima*) 分别混合接种, 未表现有加重或减轻病情的作用。本试验结果再次证明了Whetel^[1]关于西洋参黑斑病病原只有*A. panax*一种之

论断的正确性。

2.2 秦巴山区西洋参黑斑病菌的形态学

分离得到的五个人参链格孢分离系在培养特征和致病性方面基本相同。在PDA培养基上,菌落初灰白色,后渐变为墨绿色,气生菌丝绒状,菌落表面显示不规则的同心轮纹。25℃下培养12d仍极少产孢,经刮去培养基表面的气生菌丝,数日后产生较多的分生孢子。分生孢子梗2~13枝簇生,顶端稍膨大而色淡,分隔,不分枝,32~54×5~8μm,或更长;分生孢子单生或2~5个链生,倒棒状,黄褐至褐色,横隔2~9个,纵隔1~5个,分隔处显著隘缩,30~103×8~28μm;孢顶渐细延长为喙,喙长为孢身长度的1/2至等长,色淡,不分枝,0~5分隔。

在西洋参病斑上,分生孢子梗多单生,有时2~14根簇生,10~80×4~6.5μm,或更长;分生孢子单生,经保湿处理的病斑上,可2~3链生,长倒棒形,淡黄褐至黄褐色,50~220×10~27.5μm,孢子体2~14横隔,0~12纵隔,隔膜处明显隘缩,孢身至喙部渐细;喙与孢身等长或更长,色淡,不分枝,具1~9横,隔20~125×3~6.5μm(附图)

附图 陕西秦巴山区人参链格孢 (*Alternaria panax*) 的形态分化

组 I. 分生孢子较粗; 组 II. 分生孢子较细

五个分离系,按分生孢子形态和大小,大致可区分为两组:Ⅰ组孢子较粗;Ⅱ组分生孢子相对地较为窄细,喙部较长。在西洋参叶斑上(接种)的大小分别为 $51\sim 193\times 12\sim 28\mu\text{m}$ 和 $65\sim 218\times 10\sim 23\mu\text{m}$,其中喙部尺度分别为 $20\sim 162\times 4\sim 5\mu\text{m}$ (1~9横隔)及 $22\sim 125\times 3\sim 6.5\mu\text{m}$ (1~8横隔)。

与国内外已报道的人参链格孢^[8-10]相比,秦巴山区西洋参上的分离系,分生孢子尺度明显偏大,喙部分隔数也较多。

2.3 病菌初侵染来源

2.3.1 田间越冬死茎及地面病残体带菌问题 春季从与西洋参、人参越冬宿根芦头相连的死茎桩,及遗落地面的病残组织上,分离到6种链格孢(*Alternaria* spp.)。其中均以人参链格孢(*A. panax*)出现机率最高(附表)。说明越冬死茎桩及地面病残体上存活的病菌,是秦巴山区西洋参黑斑的重要初侵染来源。

附表 越冬茎桩及病残体上链格孢分离出现机率

菌名	西洋参越冬茎桩 (364块)		西洋参地面越冬病 残体(64块)		人参越冬茎桩 (64块)	
	菌落数	占总链格 孢菌落%	菌落数	占链格孢 总菌落%	菌落数	占链格孢 总菌落%
<i>Alternaria panax</i>	226	73.86	24	42.11	39	60.94
<i>A. Cheiranthi</i>	15	4.90	5	8.77	5	7.81
<i>A. tenuis</i>	40	13.07	25	43.86	12	18.75
<i>A. tenuissima</i>	14	4.57	5	2.51	5	7.81
<i>A. fasciculata</i>	4	1.31	1	1.75		
<i>A. sp.</i>	4	1.31			3	4.69
合计	303		57		64	

2.3.2 土壤带菌问题 关于病菌可在土壤中的上年病残体中越冬^[12,81],及落入土壤的病菌分生孢子可作为当年再侵染源^[12,82,83],前人已有肯定结论。但直接落入土壤中的病菌能否越冬,成为春季病害初侵染来源则未见报道。作者于1989年3月下旬,从秦岭南坡的留坝县二年生参床采土,进行分离。3块参床土样中,有2块分离到人参链格孢。另一未分离到病菌的参床深秋(10月)挖苗时翻动过。说明在秦岭山区人参链格孢在参床土壤中越冬,作为春季病害初侵染来源是完全可能的。

2.3.3 病菌在参园棚架、篱笆上越冬的可能性 秋季采集的上述材料样品,在 $0\sim 1^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存4个月后,5份样品均未能分离到人参链格孢。初步证明病菌在参园棚架、篱笆材料上越冬的可能性是比较小的。

2.3.4 生境中其它植被带菌的可能性 对上述生境中采到的生有叶斑病的14科28种植物标本,进行认真检查鉴定的结果表明,除五加科的西洋参(*Panax quinquefolium*)、人参(*Panax ginseng*)、三七(*P. pseudoginseng* va. *nologinseng*)、钮子七(*P. transitorius*)等4种植物带有*Alternaria panax*之外,其它13科24种植物均未发现带有人参链格孢。它们是:菊科的向日葵(*Helianthus annuus*)、艾蒿(*Artemisia argyi*)、田野千里光(*Senecio oryzetorum*);茄科的茄(*Solanum melongena*)、辣椒(*Capsicum frutescens*);蔷薇科的苹果(*Malus pumila*)、蔷薇(*Rosa multiflora*);胡桃科的胡桃(*Juglans regia*);壳斗科的栲栲(*Quercus*).

*glandalifera*青岗栎)、板栗 (*Castanea mollissima*) ; 漆树科的黄栌 (*Cotinus coggygna*) ; 忍冬科的吊子银花 (*Lonicera similis*, 大金银花) ; 马桑科的马桑 (*Coriaria sinica*, 千年红) ; 伞形科的黄蒿 (*Carum carvi*) ; 唇形科植物香薷 (*Elsholtzia ciliata*, 野苏麻)、紫背金盘 (*Aiuga nipponensis*, 石灰菜) ; 毛茛科的大火草 (*Anemone tomertota*, 野棉花)、野棉花 (*Anemone hupehensis*, 山棉花) ; 豆科植物刺槐 (*Robinia pseudoacacia*) 等3种及禾本科植物2种。

3 小结与讨论

1) 从陕西秦巴山区西洋参生境中分离到的9种链格孢 (*Alternaria* spp.) 中, 只有人参链格孢 (*A. panax*) 能够侵染西洋参, 引起黑斑病。用当地最常见的细链格孢 (*A. tenuis*) 与细极链格孢 (*A. tenuissima*) , 分别与其混合接种西洋参叶片, 亦未发现对病情有任何影响。

2) 链格孢引致西洋参叶疫 (blight) 病最先由 Whetzel (1906) 报道。他于1909年正式提出为害西洋参的为人参链格孢 (*A. panax*) 新种, 但未予描述或图示。直到1912年才描述了这一真菌, 并附有分生孢子图。E.G. Simmons^[6]认为1912年才是该新种正式确定的年代, 种名正确表述为: *Alternaria panax* Whetzel (1912) 。Simmons还对生于五加科植物 (Araliaceae) 上的链格孢属真菌, 进行了较为系统的分类研究^[6]。在认真研究比较有关模式标本之后认为, 所谓五加链格孢 (*A. araliacae* Greene) 和鹅掌藤链格孢 (*A. actinophylla* J.W. Miller) , 实际上与 Whetzel 的模式标本 (CUP, No4852) 无异, 均应作为 *A. panax* Whetzel 的异名。而 *A. panacis* Whetzel 是 Saccardo (1931) 在引用 Whetzel 1912 年文献时, 作了不必要的种加词拼写变更造成的^[7], 应予废弃。

Simmons (1982) 在重新描述这种真菌时, 充分注意到自然基质上和人工培养时分生孢子形态的不同, 并从动态的角度描述不同生长阶段孢子形态的变化^[6]。这对正确理解不同作者, 在不同的时间、地点、条件和基质背景下, 描述的人参链格孢形态和分生孢子大小的差异是很有帮助的。

陕西秦巴山区西洋参上的人参链格孢, 较 Simmons 根据 Whetzel (1909) 的模式标本重新描述的充分成熟孢子 (150~160×12~20μm) 尺寸还要偏大。按照分生孢子的形态与大小, 可区分为 I、II 两组。经多次转接培养和接种, 性状仍各自保持稳定。

3) 当地西洋参黑斑病菌的主要初侵染来源为田间越冬死茎桩及其它病残体。参床土壤中的病菌, 也可作为初侵染的来源之一。除几种五加科植物外, 未发现人参链格孢的新寄主。这方面的结果与前人在其他地区的研究^[1-3, 5]基本一致。

徐芳琦同志帮助绘图, 特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Whetzel H H, Rosenbaum J. The diseases of ginseng and their control. In: U S Dept Agric, Bur Plant Ind Bulletin 1912, (250), 44
- 2 赵日丰, 朱桂香, 王蕴等, 人参黑斑病菌生物学性状的研究, 植物病理学报, 1987, 17 (2), 112~117

- 3 王献季, 于拱军. 三七黑斑病的综合防治研究. 植物病理学报, 1981, 11 (2): 45~52
- 4 Seung Hun Yu, Syoyo Nishimura, Hirozawa T. Morphology and pathogenicity of *Alternaria panax* isolated from *Panax schinseng* in Japan and Korea. 日本植物病理学会报, 1984, 50: 313~321
- 5 王崇仁, 吴友三, 卜增山等. 人参黑斑病的研究. 沈阳农业大学学报, 1986, 17(3), 11~21
- 6 Simmons E G. *Alternaria* Themes and Variations(7-10). *Mycotaxon*, 1982, 44, 30~43
- 7 Saccardo P A. *Sylloge Fungorum*. *Abbellini*, 1931, 23, 1093

Pathogen Morphology and Primary Infection Sources of *Alternaria* Blight of *Panax quinquefolium* in Qinling Bashan Mountain Area in Southern Shaanxi

Zhang Tianyu Bai Bin Chen Weiqun

(Institute of Plant Pathology, Northwestern Agricultural University)

Chen Jiafu

Qian Xuecong

(Rice Institute of Shaanxi province) (Hanzhong Agricultural School)

Abstract Inoculations indicated that among 9 *Alternaria* spp. isolated from *panax quinquefolium* and ginseng fields in Qinling, Bashan mountain area in southern Shaanxi, only *A. panax* Whetzol caused early blight of American ginseng. The mature conidia (on natural substrate) of the isolates from this area were much bigger than that of Simmons's redescription (1982) according to the Whetzol "Type" collection (#4852, CUP). Variations in conidial morphology and size among isolates occurred. Some of them (Group I) were thicker spored with long beak, whereas others (Group II) were with relatively thinner conidia and the beaks were even longer. Primary infection sources of the disease in this area were overwintered old stem stakes, debris and inocula in the soil. The scientific name and taxonomic history of the pathogen were discussed in this paper.

Key words Qinling, Bashan mountain area, *Panax quinquefolium* L., *Alternaria* early blight, pathogen morphology, primary infection sources, *Alternaria panax* Whenz.