

# 不同来源的板栗栗疫病菌致病性差异研究

张 丹,宋晓斌\*

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

**摘 要:**为了探索我国板栗疫病发生区域病原菌之间的致病力差异,收集 46 株来源于我国 6 省 18 个县(市)的板栗疫病菌株,通过毒力比较和对同一株板栗枝条的接种试验,测定不同地域菌株间的致病性差异。结果表明,不同地域来源的栗疫病原菌的致病性具有显著差异,其中,北京怀柔、四川眉山等地来源的栗疫菌致病性最强,属于强毒力菌株,而陕西镇安来源的栗疫菌致病性最弱,湖北武汉和宜昌的栗疫菌致病性居中。

**关键词:**栗疫病;致病菌;致病性;差异

**中图分类号:**S763.15      **文献标志码:**A      **文章编号:**1001-7461(2016)03-0175-04

## Pathogenicity of *Cryphonectria parasitica* Strains from Different Regions

ZHANG Dan, SONG Xiao-bin\*

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** To understand the differences in pathogenicity within the same species occurring in different regions, 46 strains of *Cryphonectria parasitica* were collected from 18 counties of 6 provinces in China, by which the virulence of the strains was examined, and the pathogenicity was measured by inoculation test. Significant differences in pathogenicity among the strains collected from different regions were observed. Strains from Huairou in Beijing, Meishan in Sichuan demonstrated the strongest pathogenicity, while those from Zhenan in Shaanxi were the weakest.

**Key words:** *Cryphonectria parasitica*; strain; pathogenicity; difference

板栗(*Castanea mollissima*)具较高的食用与药用价值,栗木具有很高的实用性。板栗资源丰富,常分布于山区与半山区地区,土壤贫瘠的地方也能生长<sup>[1]</sup>。然而,板栗生产中会遭遇很多病虫害侵袭,其中栗疫病菌引起的栗疫病最为严重。

栗疫病又称溃疡病,是板栗的灾害性病害。其幼嫩的苗木、结果的树干都容易受到侵染,轻则导致造林成活率降低、果产量下降,导致造林失败,严重可使整片栗林绝收<sup>[2-3]</sup>。栗疫病的生物防治一般采用接种弱毒力菌株的方法。感染弱毒力病毒后,栗疫病菌的致病力降低,色素分泌减少,菌丝体由桔黄色浅化为白色<sup>[4-6]</sup>。本研究收集了北京、山东、陕西、四川等 18 个地区的 46 株疫病菌株,研究其致病性

差异分化现象,对调查我国不同板栗产区的栗疫病病原及危害性预测具有一定的指导意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

除 1 株采自陕西省镇安县栗园沟罹病枝条上分离的菌株由课题组自存外,其余板栗疫病原菌菌株均由中国林业微生物菌种保藏管理中心提供(表 1),菌株来源地分别用英文大写字母代表。供试寄主材料为安栗 1 号,均采自镇安县栗园沟村 1 株 23 年生无疫病发生的健康植株<sup>[7]</sup>。选择粗度 1.5~2.0 cm 粗的板栗树 2 年生枝条,用修枝剪剪下,截成大约 25 cm 的长枝段,置塑封袋中保湿备用。

收稿日期:2015-07-21 修回日期:2016-03-14

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划课题(2012BAD19B0804);中国科技基础条件平台课题(2005DKA21207-11)。

作者简介:张 丹,女,在读硕士,研究方向:森林病理。E-mail:kuailiezhangdandan@126.com

\* 通信作者:宋晓斌,男,副研究员,研究方向:森林病理学研究。E-mail:sxb88@nwsuaf.edu.cn

表 1 栗疫病菌来源地及中国林科院微生物保藏中心标号  
Table 1 Provenance and code names of *Cryphonectria parasitica* strains in Microbial Preservation Center of Chinese Academy of Forestry

菌株来源地	保藏中心标号	菌株来源地	保藏中心标号
北京怀柔/A	Cfcc6925	四川雅安/I	Cfcc8772
	Cfcc81776		Cfcc8776
	Cfcc82599		Cfcc8781
北京密云/B	Cfcc5057	四川古蔺/J	Cfcc87821
	Cfcc81777		Cfcc8789
	Cfcc82606		Cfcc8799
北京昌平/C	Cfcc81778	四川石棉/K	Cfcc8817
	Cfcc82597		Cfcc8821
	Cfcc82602		Cfcc8828
湖北宜昌/H	Cfcc88327	四川眉山/L	Cfcc8829
	Cfcc88327		Cfcc8834
	Cfcc88330		Cfcc8839
重庆忠县/M	Cfcc40	重庆开县/O	Cfff8857
	Cfcc8844		Cfcc8860
	Cfcc8848		Cfcc8865
重庆江津/P	Cfcc8866	重庆铜梁/Q	Cfcc8877
	Cfcc8871		Cfcc8862
	Cfcc8872		Cfcc8863
重庆丰都/N	Cfcc887	陕西北宁/E	Cfcc8891
	Cfcc8849		Cfcc81623
	Cfcc8852		Cfcc81624
山东泰安/D	Cfcc8856	湖北武汉/G	Cfcc88326
	Cfcc80889		Cfcc88326
		陕西镇安/R	课题组自存

1.2 方法

制备 PAD 培养基<sup>[8]</sup>,趁热倾倒入直径 12 cm 的培养皿后冷却,制成平板培养基。把采集到的菌株分别接种到备好的培养基平板上,倒置于 28℃ 的培养箱中活化培养 5 d。用经过灭菌的打孔器(Φ7 mm)在菌落边缘取菌饼,按不同菌株分别接种到另 1 套 PDA 平板上,于 28℃ 恒温培养箱内倒置培养 5 d<sup>[9]</sup>。据菌株培养过程中的颜色进行毒性等级划分(表 2),而后用 SPSS 软件进行分析。

表 2 栗疫病菌菌株毒力分级标准

等级	代表值	菌落边缘颜色	程度
I	1	菌落边缘呈白色	+
II	2	菌落边缘呈淡黄色	++
III	3	菌落边缘呈桔黄色	+++

将供试枝条分 2 个处理。用熔化的石蜡液对枝条一端蜡封处理和把枝条两端均蜡封<sup>[10]</sup>。而后用打孔器在枝条上打直径为 7 mm 圆孔至木质部,去掉韧皮部后,用直径相同的菌饼接种于此,用胶带封住后在室温条件下放置。7 d 后,取掉胶带,用刀片轻轻刮除接种部位,颜色褐变部分为病原菌危害部位,用游标卡尺测量横向直径与纵向直径,计算病斑面积,依照横向直径、纵向直径和病斑面积判断病原

菌致病力强弱。每菌株 3 次重复,对照仅接种无菌的培养基圆饼。

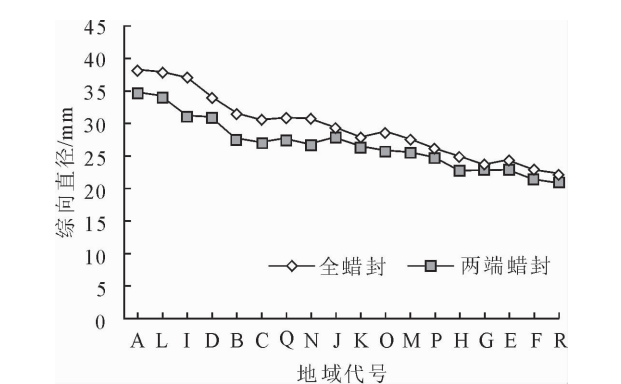
2 结果与分析

2.1 菌株毒力比较

北京怀柔、山东泰安、四川雅安、眉山 4 地来源的菌落颜色呈桔黄色,毒力等级>2.67,继续培养颜色逐渐变深,变为黄褐色,菌丝生长较快且产孢旺盛。而陕西镇安、宁陕、商南等地来源的菌落颜色较浅,基本呈白色,毒力等级为 1,继续培养颜色变化亦不明显,菌丝生长缓慢且不产生分生孢子。陕西镇安、宁陕、商南 3 地的菌株的毒力等级与北京怀柔、山东泰安、四川雅安、四川眉山来源的毒力等级具显著性差异。武汉宜昌与北京怀柔、四川雅安来源的菌株的毒力等级存在显著性差异;而其他地区之间的差异不显著(表 3)。

2.2 致病力测定

2.1.1 病斑纵向直径 全枝蜡封条件下,北京怀柔、四川眉山、四川雅安、山东泰安、北京昌平、北京密云、重庆铜梁、丰都、四川古蔺、石棉、重庆开县、忠县、江津、湖北宜昌、武汉及陕西北宁、商南、镇安来源的菌株接种后,病斑纵向直径大小依次减小;在两端蜡封的条件下,除四川石棉、重庆开县、忠县来源的菌株外接种后病斑纵向直径有所变化外,其余菌株接种后,病斑纵向直径大小表现出与全蜡封条件下趋势相同(图 1)。



注:致病菌来源 A:北京怀柔,B:北京密云,C:北京昌平,D:山东泰安,E:陕西北宁,F:陕西南商,G:湖北武汉,H:湖北宜昌,I:四川雅安,J:四川古蔺,K:四川石棉,L:四川眉山,M:重庆忠县,N:重庆丰都,O:重庆开县,P:重庆江津,Q:重庆铜梁,R:陕西镇安。下同。

图 1 全蜡封、两端蜡封枝条接种不同来源菌株的病斑纵向直径  
Fig. 1 Scab longitudinal diameter on branches infected by strain from diferent region under all wax-sealing and ends wax-sealing

2.1.2 病斑横向直径 在全蜡封情况下,不同地域栗疫菌所致病斑大小顺序依次为:北京怀柔、北京密

云、四川雅安、北京昌平、四川石棉、四川眉山、山东泰安、四川古蔺、重庆开县、铜梁、忠县、湖北宜昌、重庆丰都、江津、湖北武汉、陕西商南、宁陕、镇安。在两端蜂蜡的情况下,除中间几个区域的菌株致病病斑横径有微小变化外,横径比较大的几个地域依然

是北京、四川菌株所致病斑,横径比较小的仍然为陕西商南、宁陕和镇安来源的菌株所致病斑(图 2)。表明来自北京和四川的菌株毒力高,致病性强,而来自陕西的菌株毒力小,致病力弱。病斑横径扩展速度相对于纵向生长要慢得多。

表 3 不同来源地的栗疫病菌株毒力等级与毒力指数									
Table 3 Virulence index of <i>C. parasitica</i> strains from different regions									
菌株来源地	标号	等级	代表值	毒力指数	菌株来源地	标号	等级	代表值	毒力指数
北京怀柔/A	Cfcc6925	Ⅲ	3	3a	四川雅安/I	Cfcc8772	Ⅲ	3	3a
	Cfcc81776	Ⅲ	3			Cfcc8776	Ⅲ	3	
	Cfcc82599	Ⅲ	3			Cfcc8781	Ⅲ	3	
北京密云/B	Cfcc5057	I	1	2. 33abc	四川古蔺/J	Cfcc87821	Ⅱ	2	2. 33abc
	Cfcc81777	Ⅲ	3			Cfcc8789	Ⅲ	3	
	Cfcc82606	Ⅲ	3			Cfcc8799	Ⅱ	2	
北京昌平/C	Cfcc81778	Ⅲ	3	2. 33abc	四川石棉/K	Cfcc8817	Ⅱ	2	2abc
	Cfcc82597	Ⅱ	2			Cfcc8821	Ⅱ	2	
	Cfcc82602	Ⅱ	2			Cfcc8828	Ⅱ	2	
湖北宜昌/H	Cfcc88327	15	I	1. 33bc	四川眉山/L	Cfcc8829	Ⅱ	2	2. 67ab
	Cfcc88327	16	Ⅱ			Cfcc8834	Ⅲ	3	
	Cfcc88330	17	I			Cfcc8839	Ⅲ	3	
重庆忠县/M	Cfcc40	I	1	1. 67abc	重庆开县/O	Cfff8857	Ⅱ	2	1. 67abc
	Cfcc8844	Ⅱ	2			Cfcc8860	Ⅱ	2	
	Cfcc8848	Ⅱ	2			Cfcc8865	I	1	
重庆江津/P	Cfcc8866	Ⅱ	2	1. 75abc	重庆铜梁/Q	Cfcc8877	Ⅱ	2	1. 75abc
	Cfcc8871	I	1			Cfcc8862	Ⅱ	2	
	Cfcc8872	Ⅱ	2			Cfcc8863	I	1	
	Cfcc887	Ⅱ	2			Cfcc8891	Ⅱ	2	
湖北宜昌/H	Cfcc88327	I	1	1. 33bc	山东泰安/D	Cfcc80889	Ⅲ	3	2. 67ab
	Cfcc88327	Ⅱ	2				Ⅲ	3	
	Cfcc88330	I	1				Ⅱ	2	
湖北武汉/G	Cfcc88326	Ⅱ	2	1. 67abc	陕西商南/F	Cfcc81624	I	1	1c
	I	1				I	1		
陕西北/E	Cfcc81623	I	1	1c	陕西镇安/R	无标号	I	1	1c
		I	1				I	1	
		I	1				I	1	
重庆丰都/N	Cfcc8849	Ⅱ	2	2abc					
	Cfcc8852	Ⅱ	2						
	Cfcc8856	Ⅱ	2						

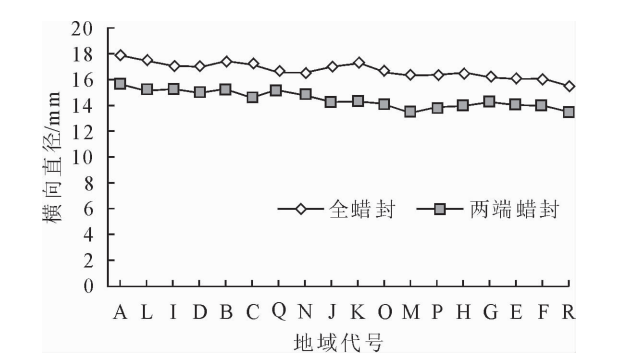


图 2 全蜡封、半蜡封枝条接种不同来源菌株的病斑横向直径

Fig. 2 Scab short diameter on branch infected strains from different region under all wax-sealing and ends wax-sealing

2. 1. 3 病斑面积 不论在板栗枝条全部蜡封和两

端蜡封的情况下,接种不同区域菌株所产生病斑的面积大小次序依次为:北京怀柔、四川雅安、四川眉山、山东泰安、北京密云、昌平、重庆铜梁、丰都、四川古蔺、石棉、重庆开县、中县、江津、湖北宜昌、武汉、陕西北、商南、镇安。在全蜡封情况下,北京怀柔、四川雅安、四川眉山、山东泰安菌株所致病斑面积超过 2 000 mm<sup>2</sup>,来源于这些区域的菌株表现出强的致病力,为高毒力菌株;陕西北、商南、镇安的菌株所致病斑面积在<1 300 mm<sup>2</sup>,表现出比较弱的致病力,为低毒力菌株;来源于北京密云、昌平、湖北宜昌、武汉、重庆铜梁、丰都、四川古蔺、石棉、重庆开县、中县、江津来源的菌株所致病斑面积超过 1 300 ~2 000 mm<sup>2</sup> 之间,菌株的致病力和毒力介于前 2 者之间,为中等致病力和中等毒力。两端蜡封枝

条接种后的情况与此相似(图 3)。

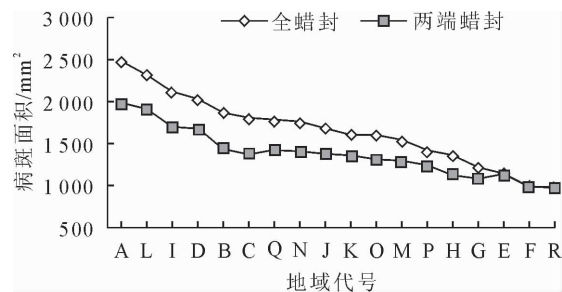


图 3 全蜡封、半蜡封枝条接种不同来源菌株的病斑面积  
Fig. 3 Scab acreage on branch infected by strains from different region under all wax-sealing and ends wax-sealing

3 结论与讨论

就毒力评价和病斑面积而言,北京怀柔、四川雅安、四川眉山及山东泰安 4 地的栗疫病菌致病性较强,属于强毒力菌株;湖北武汉、宜昌及陕西商南、镇安、宁陕等地来源的菌株致病能力相对较弱,属于弱毒力菌株。因此,在生产中板栗苗木调运应考虑到地域间板栗疫病病菌毒力和致病性的差异,宜杜绝从高毒力地域向低毒力地域调运板栗苗木,以防调入地侵入性疫病的发生。

从 46 个菌株的来源地理分布位置分析,陕西的低致病性菌株处于高毒力菌株和中等毒力菌株的“U”半包围之中。可能是由于秦岭山脉从太白山开始由西向东海拔逐渐降低,经商洛山向东南方向海拔同样逐渐降低,而且是陕西向东南的江汉平原的运输通道,可以推测陕西的板栗疫病极有可能经此通道传入到商洛山区,并在传入过程中由中等毒力逐渐弱化为弱致病力菌株。

在寄主同一抗病水平之下,环境因素如水分、光照、温度、气候等诸多因子都可能影响到病原菌的致病性,但菌株本身的致病性占很大成分<sup>[12-14]</sup>。可通过一定的技术手段把栗疫病病原菌株高毒力菌株转化为低毒力菌株,利用低毒力菌株的提前接种抑制高毒力菌株的侵入,从而达到防治栗疫病的目的<sup>[15-16]</sup>。

参考文献:

[1] 赵苏娴,韩伟,艾呈祥,等. 板栗的研究现状[J]. 落叶果树,2011(5):15-18.

[2] 王毅,张跃宁,宋晓斌,等. 陕西板栗病虫害调查与主要病害发生特点[J]. 西北林学院学报,2005,20(3):120-123.

WANG Y,ZHANG Y N,SONG X B, *et al.* Investigation on pests and characteristics of main diseases of chestnut in Shaanxi [J]. Journal of Northwest Forestry University,2005,20(3):120-123. (in Chinese)

[3] 张荣锋,任德唐,朱白玉. 栗疫病致病性研究和栗疫菌混合体系探讨[J]. 浙江林业科技,1998,18(3):8-12.

[4] 周而勋,王克荣,陆家云. 栗疫病研究进展[J]. 果树科学,1999,16(1):66-71.

[5] 商巾杰,陈保善. 低毒病毒及板栗疫病病毒力机制[J]. 基因组学与应用生物学,2009,28(5):835-844.

[6] 郭世保,徐瑞富,刘鸣韬. 栗疫病研究进展[J]. 中国农学通报,2005,21(5):339-340.

[7] 史明欣,张曦,宋晓斌. 板栗内生真菌的分离及其鉴定[J]. 西北林学院学报,2010,25(4):115-119.

SHI M X,ZHANG X,SONG X B. Isolation and identification of endophytic fungi from *Castanea mollissima* [J]. Journal of North-west Forestry University,2010,25(4):115-119. (in Chinese)

[8] 刘国民,吴兴亮,李娟玲,等. 野生热带灵芝 *Ganoderma atropicum* (Jungh.) Bres. 菌种分离与驯化研究[J]. 海南大学学报:自然科学版,2009,27(3):24-29.

LIU G M,WU X L,LI J, *et al.* Study on the spawn isolation and domestication of the wild *Ganoderma atropicum* (Jungh.) Bres. [J]. Journal of Hainan University:Natural Science,2009,27(3):24-29. (in Chinese)

[9] 刘常宏,王美楠,商鸿生等. 麦类作物抗全饰病室内苗期接种方法与评价指标[J]. 植物保护学报,2001,28(3):223-228.

LIU C H,WANG M N,SHANG H S. Inoculation methods and evaluation indicators of cereal resistance to ‘take-all’ disease at stage in greenhouse[J]. Journal of Plant Protection,2001,28(3):223-228. (in Chinese)

[10] 景耀,刘香慧. 杨树和核桃溃疡病菌交叉接种试验[J]. 森林病虫害通讯,1987(2):11-13.

[11] 何秀娟,徐育海,杨晓平,等. 栗疫病病原菌致病性及生长特性研究[J]. 长江大学学报:自然科学版,2012,9(1):1-4.

HE X J,XU Y H,YANG X P. Pathogenicity and growth characteristics of chestnut blight by *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr [J]. Journal of Yangtze University: Natural Science Edition,2012,9(1):1-4. (in Chinese)

[12] 李琳,陈鸿宇,柳风,等. 马拉巴栗疫病病原的分离与鉴定[J]. 园艺学报,2011,38(12):2395-2400.

LI L,CHEN H Y,LIU F, *et al.* Isolation and identification of the pathogen causing phytophthora blight of *Pachira macrocarpa* [J]. Acta Horticulturae Sinica,2011,38(12):2395-2400. (in Chinese)

[13] 周而勋,王克荣,陆家云. 栗疫病菌不同毒力菌株生物学特性的研究[J]. 植物病理学报,1996,26(3):263-268.

ZHOU E X,WANG K R,LU J Y. Some biological characteristics of *Cryphonectria parasitica* isolates with different virulence levels[J]. Acta Phytopathologica Sinica,1996,26(3):263-268. (in Chinese)

[14] 吴群,程中平,黄俊斌,等. 温度、光照及杀菌剂对板栗疫病菌生长的影响[J]. 中国南方果树,2011,40(1):20-24.

[15] 周而勋,王克荣,陆家云. 栗疫病病毒力与弱毒力菌株的抗逆性[J]. 南京农业大学学报,1996,19(2):106-108.

ZHOU E X,WANG K R,CHEN J Y. Difference of resistance to environmental stress between virulent and hypovirulentis isolates of *Cryphonectria parasitica* [J]. Journal of Nanjing Agricultural University,1996,19(2):106-108. (in Chinese)

[16] CHOIS G H,NUSS D L. Hypovirulence of chestnut blight fungus conferred by an infectious viral cDNA [J]. Science,1992,257,5071:800-803.