

普通油茶对炭疽病抗性的病理学研究

张 常 青

关键词 普通油茶、油茶炭疽菌、抗病类型、孢子萌发与侵入

由于油茶炭疽病菌(*Colletotrichum camelliae* Massee) 的危害, 使普通油茶(*Camellia oleifera* Abol) 大量落花落果, 这是严重影响油茶林产量的重要原因之一。但在普通油茶林中存在对油茶炭疽菌不同抗性的类型。因此, 近年来采用选择对炭疽病抗性强、结实性状优良的单株建立无性系林的方法, 提高了油茶林产量^[1~3]。国内对不同油茶物种叶面抗炭疽病的组织病理学观察, 曾有过报道^[4]。但对油茶炭疽病菌在普通油茶不同抗病类型植株果实表面的萌发习性, 侵入途径和产孢能力尚未见有报道。本文就这些方面作如下报道。

1 材料与方法

1.1 菌种

取普通油茶林中感病果实, 用常规病原分离方法, 在 PDA 培养基上培养 12 d 的菌落, 用无菌水洗下孢子, 四层纱布过滤, 稀释成每 160 倍视野 50~60 个分生孢子的悬浮液。

1.2 接种方法

1.2.1 林间接种 7 月下旬在普通油茶林中标定经 3 a 人工测定为高度抗病和高度感病的单株各 6 株, 每株 20 个果。用固定在橡皮塞上的大头针(露出针尖<1 mm)对果实中部刺一小孔, 喷上孢子悬浮液, 套上装有湿棉球的塑料袋, 保湿 17 h, 接种后 20 d 将果实采下。

1.2.2 室内接种 7 月下旬选择上述高抗和高感普通油茶单株各 1 株, 各采果实 10 个, 立即在室内用 0.1% 升汞水消毒 3 min, 无菌水冲洗 3 次, 放入上下置有灭菌湿滤纸的搪瓷盖盘内, 用上述同样方法接种。

1.3 扫描电镜样品的制备

分别于室内接种后 2、5、7、10、12、15、17、20、22、24 h, 取出抗、感病植株果实各 1 个, 以刺孔为中心, 切取边长各为 5 mm 大小的果皮 1 块, 放入 20% 戊二醛液中固定, 再按扫描电镜的常规制片方法处理, 在扫描电镜下观察、拍摄。

1.4 孢子萌芽率

接种后 20 h, 在扫描电镜下观察每个视野的孢子萌芽数与总数之比, 每个样品观察 4 个视野。

1.5 芽管长度

接种后 20 h, 在扫描电镜下测量萌发孢子的芽管长度, 每个样品测量 8 个孢子。

1.6 产孢数量测定及计算

将林间接种 20 d 的果实采回, 分开抗、感类型, 将病斑切下。每类型各随机抽取 60 个病

斑, 每 10 块为一组, 分为 6 组, 每组用 10 mL 蒸馏水洗下孢子, 充分摇匀, 倾入 9 cm 直径的玻璃皿内, 在 120 倍光学显微镜下随机检查 10 个视野的孢子数, 按公式 $x_2 = x_1 \cdot r_2^2 / A \cdot r_1^2$ 计算^[5] 每平方毫米病斑上的分生孢子数。式中: x_1 = 每视野平均孢子数; x_2 = 单位病斑面积上的孢子数; A = 10 个病斑的总面积(mm^2); r_1 = 显微镜视野半径(mm); r_2 = 玻璃皿半径(mm)。

2 结果与分析

2.1 分生孢子在果实表面的萌发情况

电镜观察表明, 果实接种后 2、5 h, 抗病和感病类型果皮上的孢子均未萌芽。接种后 7 h, 感病类型果皮上的孢子开始萌芽(图 1-1)。接种后 12 h, 抗病类型果皮上的孢子才开始萌芽, 图 1-2 为接种 20 h 后抗病类型果皮上的孢子萌芽状。两种类型果实表面的孢子萌芽形态无明显差异, 芽管均自孢子一端或二端长出, 但两者均未观察到明显的附着胞。这些现象表明, 高感类型果皮比高抗类型果皮更适于炭疽菌分生孢子的萌发。

2.2 分生孢子的萌芽率

虽然抗病果皮上的分生孢子萌芽比感病果皮上迟, 但到接种后 20 h, 两种类型果实表面的平均孢子萌芽率分别为: 高抗类型 63%; 高感类型 69%。经 F 值检验, $F_{\text{类型间}} = 0.86 < 1$, 无显著差异。

2.3 分生孢子的芽管长度

接种后 20 h, 高抗果实表面的分生孢子芽管长度平均为 32 μm (图 1-2), 高感果实表面的为 51 μm (图 1-3)。经 F 值检验, $F_{\text{类型间}} = 14.34^{**} > F_{0.01}(12, 25)$, 差异极显著。这主要是由于孢子萌发时间抗病果面上的比感病果面上的迟所致。

2.4 侵入

在抗、感类型果实表面分生孢子芽管均对伤口有明显的趋向性。电镜观察可见, 在高感果实表面芽管伸向果皮裂缝(自然伤口)并侵入的情况(图 1-3), 在高抗果皮人工接种的针刺伤口处也可见到菌丝的侵入(图 1-4), 病菌从伤口侵入是显而易见的。在高抗果面接种后 24 h, 观察到也有菌丝越过伤口不侵入的现象(图 1-5)。这说明无论是自然伤口或是人工伤口都是炭疽菌的侵入途径。

2.5 分生孢子的产生数量

在高抗与高感植株果实表面, 同一炭疽菌在单位面积上产生分生孢子的数量存在明显差异。在高抗果实表面产生的孢子数量平均为 336 个/ mm^2 , 而在高感果实表面产生的孢子数量平均为 3 346/ mm^2 , 经 F 值检验, $F_{\text{类型间}} = 16.64^{**} > F_{0.01}(16, 26)$, 差异极显著(见表 1)。以上说明, 在抗性植株果实表面不仅病原菌的扩展受到抑制, 而且, 其产生孢子的数量也明显比感病果皮上少。

表 1 产孢量比较变量分析

变异原因	自由度	平方和	变量	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
类型间	1	26 635 240	26 635 240	16.64**	6.61	16.26
区组间	5	2 150 298	430 059	0.268		
机误	5	8 002 987	1 600 597			
总和	11	36 788 525				



图1 普通油茶抗、感类型果实表面油茶炭疽菌分生孢子萌发及侵入的电镜观察

1. 接种后 7 h 高感病油茶果表面孢子萌芽(7 050 \times); 2. 接种后 20 h 高抗病油茶果表面孢子萌芽(1 420 \times); 3. 高感病油茶果表面孢子芽管趋向果皮自然裂缝(1 010 \times); 4. 高抗病油茶果表面人工针刺伤口处孢子芽管侵入(1 010 \times); 5. 高抗病油茶果接种 24 h 后, 菌丝越过伤口(1 050 \times)。

3 讨 论

不同抗病类型普通油茶植株果实表面, 油茶炭疽菌分生孢子萌发的差异可能与果实表面的结构或分泌物有关。在果实表面炭疽菌分生孢子萌发未观察到附着胞的原因是由于接种保湿方法或是由于菌株等的原因, 可作进一步的探讨。

普通油茶果面接种后 20 h, 观察到的孢子芽管长度和抗性的关系, 与在不同油茶物种叶面的孢子芽管长度与抗性关系的结论不一致^[4], 主要是由于观察的时间不同所致。

油茶炭疽菌的分生孢子是病害初侵染和再侵染的主要来源, 因此, 林间菌源的数量直接影响到病害的严重程度。抗、感病单株果实病斑上产孢数量的差异, 可以作为抗病单株选择的又一指标。它对于选择具有水平抗性的油茶单株来说尤为重要。

参 考 文 献

1 全国油茶病虫科研协作组. 油茶物种类型和单株抗炭疽病人工鉴定试行方法. 亚林科技, 1979, (2) : 3 ~ 5.

2 余健铮, 吴光金. 油茶高抗病优株 —— “175 ”. 林业科技通讯, 1982, (7) : 24 ~ 27.

3 蒯世英, 张常青. 普通油茶果实抗感炭疽病表型分析. 亚林科技, 1984, (1) : 105 ~ 111.

4 朱建华. 不同油茶物种抗炭疽病的组织病理学初步研究. 福建林学院学报, 1989, 9(4) : 353 ~ 356.

5 朱朝贤, 吴安全, 代法超, 等. 八个玉米自交系对小斑病(0 小种) 田间成株期水平抗性因素的观察研究. 植物病理学报, 1981, 11(3) : 43 ~ 48.

Preliminary Study on Pathology of Resistance to Anthracnose
in Different Oil-tea Camelliae Type

Zhang Changqing

Abstract The resistant and susceptible fruits of the oil-tea camelliae were inoculated by anthracnose-causing fungus (*Colletotricum camelliae* Masee) and observations were made under scanning electron microscope and bright-field microscope. The result showed that the germination time of conidia on the fruits surface of high-resistant type were later than that on the high-susceptible type, but the difference in the percentage of conidia germination between the two type was not evident. However the length of germ tubes seems to be contrary in relation to resistance after inoculation for twenty hours. The germ tubes grew toward the wound and infected the fruit surface of both types. The numbers of the conidia on the fruits surface of high-resistant type seemed to be under control.

Key words oil-tea camelliae, *Colletotrichum camelliae*, resistant type, conidia germination and infection

Zhang Changqing, Assistant Professor (The Research Institute of Subtropical Forestry, CAF Fuyang, Zhejiang 311400).