

菊花白锈病菌冬孢子萌发的生物学特性

王顺利¹, 刘红霞², 戴思兰^{1*}

(1 北京林业大学林木花卉遗传育种教育部重点实验室, 国家花卉工程技术研究中心, 北京 100083;

2 北京林业大学省部共建森林培育与保护重点实验室, 北京 100083)

关键词: 菊花白锈病; 掘柄锈菌; 冬孢子; 萌发生物学特性

中图分类号: S682.1+1 文献标识码: A

A Study on the Germination of the Teliospores of *Puccinia horiana*

WANG Shun-li¹, LIU Hong-xia², DAI Si-lan¹

(1. Key Laboratory of Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants National Forestry Engineering Research Center

Beijing Forestry University, Beijing 100083 China 2 Key Laboratory of Forest Silviculture and Conservation of

Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083 China)

Abstract The white rust, caused by *Puccinia horiana* was one of the most important epidemic diseases on *Chrysanthemum*, and also was a quarantine action pest in the world. Trials determined the teliospores germinating biology of *P. horiana*: the teliospores were germinated between 4 °C and 32 °C, while the optimum temperature range was 15 °C to 24 °C, especially between 18 °C and 21 °C. Water was necessary for the teliospores germination. Without free water, it couldn't germinate in 24 h, even with 100% R. H. The propriety of pH for germination was pH 4 to 6.5, while pH 6 was the most favorite. 2% glucose solution promoted the germination of the teliospores evidently, whereas the fresh juice of chrysanthemum foliage restrained it prominently. Light didn't influence on the germination.

Key words chrysanthemum white rust *Puccinia horiana*; teliospore germination

菊花 (*Dendranthema × grandiflorum* (Ramat) Kitam.) 是中国传统名花, 其花色丰富, 花型各异, 深受人们的喜爱。同时菊花也是世界四大切花之一, 在国际花卉贸易中占有重要的经济地位。由掘柄锈菌 (*Puccinia horiana* Hennings) 引起的菊花白锈病是发生在菊花上的重要病害, 在美国、欧洲和地中海地区等被列为检疫性病害^[1]。菊花白锈病最早于 1895 年在日本发现^[2], 此后该病随着国际间菊花交流, 传播到世界各地^[1]。1965 年以后欧洲一些国家、英国、新西兰、南美、南非、澳大利亚、美国等相继报道该病的发生^[2]。我国曾于 1963 年在上海^[3]、1997 年在山东

潍坊地区^[4]、2000 年吉林市花圃中有该病发生^[5], 另外大连、辽宁、兰州有报道发生^[6,7]。*P. horiana* 是单主寄生菌, 专性寄生于菊属 (*Chrysanthemum* spp.) 植物上, 已知可寄生 13 种^[2] 菊属植物。该菌是短循环型锈菌, 只产生冬孢子和担孢子。担孢子存活时间很短, 只有在持续的高湿条件下, 才能引起新的侵染^[8]。国外曾有人对该菌冬孢子萌发条件进行了研究^[1,11], 但国内尚未有人做过此方面的系统研究。本文对该菌冬孢子的萌发生物学特性进行研究, 以期通过调节生态环境, 进而控制冬孢子的萌发、侵染以及病害的流行, 提供一定的理论依据。

收稿日期: 2005-07-11

基金项目: 国家林业局“948”项目 (No. 2001-24)

作者简介: 王顺利 (1980—), 女, 河北正定人, 硕士研究生。

* 通讯作者: sikanda@sina.com.cn

1 材料与方 法

1.1 冬孢子来源

供试冬孢子采自某农场。将感病的菊花品种‘神马’移栽于温室内,接种扩大繁殖病原菌。本试验均选取病叶背面未破之冬孢子堆。

1.2 方 法

1.2.1 温度对冬孢子萌发的影响 刮取菊花白锈病叶背的冬孢子堆于 1 mL 无菌水中,制成冬孢子悬浮液。在低倍镜(15 × 4)下调节冬孢子浓度为每视野 40~60 个,用一支无菌吸管吸取一滴冬孢子悬浮液滴于载玻片上。把载玻片放在铺有湿润滤纸的培养皿中的“U”形棒上,置于 4、9、12、15、18、21、24、27、32 ℃ 的恒温培养箱中培养,24 h 后镜检,观察孢子萌发数,计算各处理的萌发率。每个处理重复 3 次。每重复观察 300 个孢子。(以芽管的长度超过冬孢子直径长度的一半算作萌发)。

1.2.2 湿度对冬孢子萌发的影响 方法与 1.2.1 相同,只是在直径 20 cm 的培养皿中注入饱和盐溶液控制湿度,每皿放 3 个载玻片,用双层保鲜膜密封。由 1.2.1 的试验结果知 18 ℃ 为最适宜的萌发温度之一,故将培养皿放于 18 ℃ 恒温箱中培养,24 h 后镜检。以后各试验培养温度均为 18 ℃。以上各处理的冬孢子取自同一病叶。

1.2.3 不同浮载剂对冬孢子萌发的影响 配制以下溶液:

(1) 10 g · L⁻¹ 葡萄糖:称取 0.1 g 葡萄糖溶于 10 mL 无菌水中,备用。

(2) 20 g · L⁻¹ 葡萄糖:称取 0.2 g 葡萄糖溶于 10 mL 无菌水中,备用。

(3) 菊花叶片煎汁:称取新鲜健康的菊花叶片 0.2 g 洗净后剪成小块放到干净的小烧杯中,加 10 mL 无菌水,用酒精灯加热煮沸 1 min,备用。

(4) 菊花鲜汁液:称取新鲜健康的菊花叶片 1.0 g 洗净后剪成小块,放在干净的研钵中,研磨,加无菌水 10 mL 稀释后过滤。取滤液备用。

菊花叶片取样部位均为从植株顶部向下数 2~4 片叶。

刮取菊花白锈病叶背冬孢子堆于载玻片上,加 1 滴上述配好的溶液,放于铺有湿润滤纸的培养皿中的“U”形棒上,于 18 ℃ 恒温箱中培养,24 h 后镜检。以无菌水处理作为对照。以上各处理的冬孢子均取自同一病叶。

1.2.4 不同 pH 值对冬孢子萌发的影响 用 pH 计测自来水的 pH 值为 7.5 作为对照。用 0.01 mol · L⁻¹ 的 HCl 溶液和 0.01 mol · L⁻¹ NaOH 溶液调节无菌水的 pH 值分别为 2.0、4.0、6.0、6.5、7.0、8.0。刮取菊花白锈病叶背冬孢子堆于载玻片上,加 1 滴上述配好的溶液,放于铺有湿润滤纸的培养皿中的“U”形棒上,于 18 ℃ 恒温箱中培养,24 h 后镜检。以上冬孢子取自同一病叶。

1.2.5 光照对冬孢子萌发的影响 方法与 1.2.1 相同,全黑暗 24 h 作为对照,另设两个处理:全光照 24 h、光暗 12 h 交替培养 24 h,每处理重复 3 次,放到 18 ℃ 恒温箱中培养,24 h 后镜检。

2 结果与分析

2.1 温度对冬孢子萌发的影响

P. horiana 冬孢子在不同的温度条件下,萌发率不同(见表 1)。4~32 ℃ 都能萌发,其中适宜萌发的温度范围是 15~24 ℃,尤其以 18~21 ℃ 最为合适。当温度高达 27 ℃ 时,冬孢子萌发率显著降低,不超过 10%,在 32 ℃ 条件下有极少量萌发。当温度在 12 ℃ 时该病菌冬孢子萌发率在 0.05 水平显著低于 15 ℃ 条件下的萌发率。温度下降到 4 ℃ 时,冬孢子有极少量萌发。

表 1 不同温度对 *Puccinia horiana* 冬孢子萌发的影响

| 温度 / (°C) | 观察总数 / 个 | 萌发数 / 个 | 萌发率 / % | 0.01 水平 | 0.05 水平 |
|-----------|----------|---------|---------|---------|---------|
| 4 | 300 | 7.7 | 2.6 | E | d |
| 9 | 300 | 76.7 | 25.6 | CD | c |
| 12 | 300 | 60.3 | 20.1 | D | c |
| 15 | 300 | 101.3 | 33.8 | BC | b |
| 18 | 300 | 116.7 | 38.9 | AB | ab |
| 21 | 300 | 137.7 | 45.9 | A | a |
| 24 | 300 | 107.7 | 35.9 | ABC | b |
| 27 | 300 | 22 | 7.3 | E | d |
| 32 | 300 | 1 | 0.3 | E | d |

注:本文中方差分析均采用邓肯氏法检验,同列数字后面小写字母不同表示差异显著($P = 0.05$);大写字母不同表示差异极显著($P = 0.01$)。

2.2 湿度对冬孢子萌发的影响

试验表明,冬孢子的萌发与水滴存在与否有关(见表 2)。在 24 h 内冬孢子只能在水滴中萌发。即使是在相对湿度为 100% 的饱和水汽中而没有水滴存在,冬孢子在 24 h 内也不萌发,这说明自由水的存在是冬孢子迅速萌发的必要条件之一。

表 2 不同相对湿度对 *Puccinia horiana* 冬孢子萌发的影响

| 处理 | 湿度 % | 观察总数 / 个 | 萌发数 / 个 | 萌发率 % |
|---|------|----------|---------|-------|
| 水滴 | 100 | 300 | 101.3 | 33.8 |
| 饱和水汽 | 100 | 300 | 0 | 0 |
| 饱和 NH ₄ H ₂ PO ₄ | 93 | 300 | 0 | 0 |
| H ₂ SO ₄ (18.5%) | 90 | 300 | 0 | 0 |
| 饱和 NH ₄ Cl | 79.3 | 300 | 0 | 0 |
| 饱和 NaCl+KCl (1:1) | 70 | 300 | 0 | 0 |
| 饱和 NaNO ₃ | 65 | 300 | 0 | 0 |
| 浓 H ₂ SO ₄ | 0 | 300 | 0 | 0 |

2.3 不同浮载剂对冬孢子萌发的影响

试验结果表明,菊花白锈病菌的冬孢子在不同的浮载剂中萌发率不同(见表 3),这与浮载剂的营养条件有关。其中以 20 g·L⁻¹葡萄糖、10 g·L⁻¹葡萄糖为浮载剂的冬孢子萌发率与在对照(无菌水)中的萌发率在 0.01 水平上没有显著差异。而以叶片煎汁(煮沸 1 min)以及叶片鲜汁液为浮载剂的冬孢子萌发率在 0.05 水平上显著低于对照(无菌水)。这是否与破坏菊花叶片后,叶片中释放出一些抑制菊花白锈病菌冬孢子萌发的物质有关,尚待进一步确定。冬孢子在 20 g·L⁻¹葡萄糖中的萌发率在 0.05 水平显著高于对照,这与 20 g·L⁻¹葡萄糖溶液对冬孢子萌发提供了一定的营养有关。

表 3 不同浮载剂对 *Puccinia horiana* 冬孢子萌发的影响

| 处理 | 观察数 / 个 | 萌发数 / 个 | 萌发率 % | 0.01 水平 | 0.05 水平 |
|--------------------------|---------|---------|-------|---------|---------|
| 20 g·L ⁻¹ 葡萄糖 | 300 | 86 | 28.7 | A | a |
| 10 g·L ⁻¹ 葡萄糖 | 300 | 62 | 20.7 | AB | b |
| 无菌水 (CK) | 300 | 53.7 | 17.9 | AB | b |
| 叶片煎汁(煮沸 1 min) | 300 | 48.7 | 16.2 | B | b |
| 叶片鲜汁 | 300 | 8.3 | 2.8 | C | c |

2.4 不同 pH 值对冬孢子萌发的影响

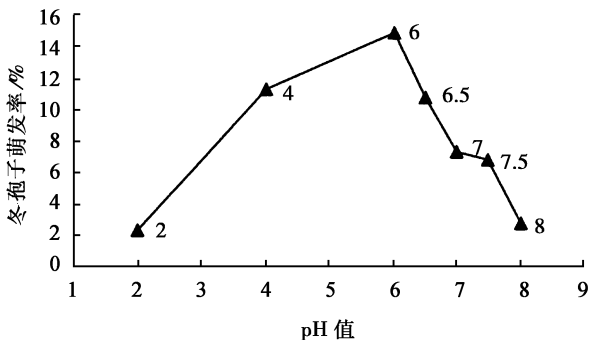


图 1 不同 pH 值条件 *Puccinia horiana* 冬孢子萌发率

由试验可知,冬孢子萌发因不同 pH 值条件而有

差异(见图 1)。冬孢子在弱酸条件下萌发率最高。而碱性条件(pH 值 8.0)和强酸性条件(pH 值 2.0)均不利于冬孢子的萌发。并且 pH 值 6.0 条件下冬孢子的萌发率在 0.05 水平显著高于其他 pH 值条件。

2.5 不同光照条件对冬孢子萌发的影响

如表 4 所示,不同光照条件对 *P. horiana* 冬孢子萌发影响不大。全光照处理和 12 h 光暗交替培养条件下, *P. horiana* 冬孢子萌发率与对照(全黑暗)相比没有显著差异。

表 4 不同光照处理对 *Puccinia horiana* 冬孢子萌发的影响

| 处理 | 观察总数 / 个 | 萌发数 / 个 | 萌发率 % | F 值 |
|-------------|----------|---------|-------|------|
| 12 h 光暗交替处理 | 300 | 139.3 | 46.4 | 0.77 |
| 全光照处理 | 300 | 131.3 | 43.8 | |
| 全黑暗处理 (CK) | 300 | 144 | 48.0 | |

注: $F_{0.01}(2,6) = 10.9$, $F_{0.05}(2,6) = 5.14$

3 结论与讨论

对该病菌孢子萌发的适宜温度的研究,英国报道孢子萌发适宜温度为 4~21 °C,但日本研究认为是 6~21 °C^[1];本研究发现:冬孢子在 4~32 °C 均可萌发,适宜的萌发温度为 15~24 °C,尤其以 18~21 °C 最为合适。由于该病菌存在不同的生理小种^[1],这种萌发温度的差异是否是由于 *P. horiana* 不同的生理小种造成,尚不确定。但是从这些研究结果来看,菊花白锈病菌属低温型病菌。另外,本试验研究确定自由水是冬孢子萌发的必要条件之一,故在低温高湿条件下该病发生严重。一般在秋季昼夜温差较大,早晨易形成露水,或者冬季温室栽培通风少,棚室内相对湿度大,在这两种低温情况下,叶片上易形成水膜,常常导致该病大爆发。不同浮载剂对冬孢子萌发的影响以及萌发适宜的 pH 值,目前尚未见到相关报道,本文确定 20 g·L⁻¹葡萄糖溶液有利于冬孢子萌发,但叶片鲜汁液对冬孢子萌发有抑制作用;萌发的最适 pH 值为 6。关于光对孢子萌发的影响,众说不一^[3]。据本试验观察,光对冬孢子的萌发无显著影响。

近年来,中国已经有一批切花菊生产单位供应国际市场,并且与国外花卉企业有频繁的菊花交流和贸易往来,这必然增加了中国菊花发生菊花白锈病的危险性。因此,我国首先应该在检疫上严格把关,杜绝可疑苗木或者切花产品进入生产。其次,对病原物与寄主之间的微观关系进行研究,通过控制生态条件,降低病原菌数量,制约病原孢子的萌发和

侵入,从而降低病害流行是一条行之有效的途径。我国是菊花的故乡,现有品种约 4 000 个^[9],这对于抗病育种来说是一个巨大的种质资源宝库。如何挖掘利用这些宝贵资源,值得深入研究。

参考文献:

- [1] CAB I 与 EPPO. 欧洲检疫性有害生物-欧洲和地中海植物保护组织采用的检疫性有害生物“数据单”[M]. 中国-欧洲联盟农业技术中心译. 北京:中国农业出版社, 1997: 457~ 459
- [2] Whipp s IM. A review of white rust (*Puccinia horiana* Henn.) disease on chrysanthemum and the potential for its biological control with *Verticillium lecanii* (Zimm.) V égas [J]. Ann Appl Biol 1993, 122 173~ 187
- [3] 陶灵珠, 黄习军, 何敏. 菊花白锈病的检疫与防治 [J]. 中国进出境动植检疫, 1996(3): 15~ 16
- [4] 丁世民, 席敦芹. 菊花白锈病发生规律与药剂防治 [J]. 植物保护, 2001, 27(2): 20~ 22
- [5] 范文忠, 魏国先, 孙艳梅. 菊花白锈病在吉林市严重发生 [J]. 植物保护, 2002, 28(2): 20
- [6] 田秀玲, 夏炳强, 罗凤霞, 等. 菊花白色锈病的病原菌和侵染途径的初步研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 1999, 30(3): 379~ 380
- [7] 梁伟. 兰州地区引进菊花品种的抗锈性调查结果及防锈病措施 [J]. 甘肃农业科技, 2003(9): 41~ 43
- [8] 全国农业技术推广服务中心. 植物检疫性有害生物图鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 410~ 411
- [9] 陈俊愉. 中国花卉品种分类学 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2001: 218~ 219
- [10] 方中达. 植病研究法 (第三版) [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998

(上接封二)

刊物简介: 刊载林业经济方面的研究论文。涉及领域包括: 林业管理问题、林业协调与合作、管理经济、林业工业分析、工业组织问题、林业产品国际贸易等。投稿地址: Dr. Ola Carlén, Managing Editor, Journal of Forest Economics, SLU Department of Forest Economics SE-901 83 Umeå, Sweden. E-mail: ola.carlen@sekon.slu.se or soren.wib@sekon.slu.se

(7) JOURNAL OF FOREST RESEARCH

ISSN: 1341-6979 6期/年。

刊物简介: 刊载所有林业科学领域方面的应用和基础研究论文、综述论文和通讯文章。投稿地址: S. Nagata, c/o Center for Academic Publications Japan, 2-4-16 Yayoï Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan. E-mail: fores@capj.or.jp

(8) NEW FORESTS

ISSN: 0169-4286 1986年创刊, 6期/年; IF: 2004: 0.694

刊物简介: 论述荒山造林和更新造林的基础和应用研究, 涉及有关的生理学、遗传学、生态学、经济学、森林的防护和管理。投稿地址: <http://nefo.edmgr.com>

(9) PLANT ECOLOGY

ISSN: 1385-0237 1948年创刊, 12期/年; IF: 2004: 1.275

刊物简介: 刊载植物学方面的研究论文, 涉及植被学理论和方法及其应用等方面的问题, 兼载述评、会议文摘和会议消息。投稿地址: <http://vege.edmgr.com>

(10) TREES- STRUCTURE AND FUNCTION

ISSN: 0931-1890 1987年创刊, 8期/年; IF: 2004: 1.386

刊物简介: 刊载树木的生理、生化、机能、解剖、结构、生态, 以及相关病理与技术方面的问题的研究论文和评论。投稿地址: <https://www.editorialmanager.com/trees/>

(11) WOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY

ISSN: 0043-7719 1967年创刊, 6期/年; IF: 2004: 0.803

刊物简介: 发表木材科学学科的研究论文和评述。包括木材的结构、生理学、生物学、物理学和化学; 木材的机械加工、燃烧、干燥和浸渍、纸浆制造和漂白, 以及木材力学和流变学等。投稿地址: <http://mc.manuscriptcentral.com/wstj>

4 投稿

研究人员在源期刊中查找到与自己稿件的专业方向相吻合的期刊后, 再根据这些期刊的影响因子 (Impact Factor) 选择适合自己稿件水平的期刊。影响因子越大, 相对来说期刊的影响力越大, 学术水平也越高, 对来稿的要求也越高。

确定目标期刊后, 首先要熟悉并掌握其特色和规则。作者在投稿前, 应对拟投期刊作充分的了解, 除仔细阅读该期刊的“Guide for Authors”外, 还应多阅读该期刊近年来发表的论文。除充分了解编辑部对投稿的一般要求外, 还应对该期刊所刊载论文的类型、内容偏好、专业特色、作者(读者)群、年发表期数、期刊载文数、图表刊用量等作全面了解, 并且根据要求修改原稿。这样才能使拟投稿件在题材、内容和形式上符合该期刊的要求和侧重。

待稿件整理完整后, 即可根据期刊的要求进行投稿, 对于提供网络投稿 (Online Submission) 的刊物, 可以到相应的网站上进行投稿, 如期刊 AGROFORESTRY SYSTEMS 投稿网址为 <http://agro.edmgr.com>, 在该网页上进行用户信息注册即可投稿, 还可以随时查看稿件被评审的状况。如不提供在线投稿服务的刊物, 可以采用邮件的方式投稿, 根据刊物的要求选择通过传统的邮政寄送或电子邮件。无论选择哪种方式都需要为稿件附信, 一般来说, 附信要语言简练, 词句明了, 不能有歧义, 还要注意礼节。