

烟台地区樱桃茎腐病原菌、致病性及流行条件

于晓丽¹, 储昭辉², 李宝燕¹, 林霞^{1,3}, 王培松¹, 王英姿^{1*}

(¹烟台市农业科学研究院植物保护研究所, 山东烟台 265500; ²山东农业大学作物生物学国家重点实验室·山东省农业微生物重点实验室, 山东泰安 271018; ³烟台大学生命科学学院, 山东烟台 264000)

摘要:【目的】从田间分离并鉴定樱桃茎腐病原菌, 探究病菌对不同品种樱桃叶片、新梢及木质化枝条的致病性及病害的流行动态和流行条件, 为病害的防治及品种选育提供科学依据。【方法】从烟台地区樱桃苗圃分离得到樱桃茎腐病原菌菌株 P1639, 进行初步形态学和分子生物学鉴定; 通过室内试验测定菌株 P1639 对 5 个属和 1 个属间杂交种共 17 个樱桃品种的致病性, 测定对‘先锋’的叶片、新生枝条和木质化枝条的致病性; 连续 4 a(年)对樱桃茎腐病的发生情况进行田间调查, 分析病害流行动态及流行条件。【结果】从田间分离得到病原菌菌株 P1639, 通过形态学和分子生物学鉴定樱桃茎腐病的病原菌为烟草疫霉(*Phytophthora nicotianae*); 确定了菌株 P1639 对‘黑珍珠’‘红灯’‘艳阳’‘先锋’‘明珠’‘拉宾斯’‘萨米脱’‘美早’‘桑提娜’‘晚丰’‘布鲁克斯’11 个甜樱桃品种均致病, 而对‘大青叶’‘马哈利’‘吉塞拉 6 号’‘ZY-1’‘东北山樱’和‘樱砧王’6 个樱桃砧木品种均不致病; 菌株 P1639 能够侵染‘先锋’樱桃叶片和当年的新生幼嫩枝条, 不能侵染木质化枝条; 樱桃茎腐病的发生与温度、降雨量、湿度密切相关, 在 7 月多雨的年份容易大发生。【结论】烟台地区樱桃茎腐病的病原菌对欧洲甜樱桃(*Prunus avium*)具有较强的致病力, 而对中国樱桃(*P. pseudocerasus*)、马哈利樱桃(*P. mahaleb*)、山樱花(*P. serrulata*)、欧洲酸樱桃(*P. cerasus*)4 个属及酸樱桃(*P. cerasus*)和灰毛叶樱桃(*P. canescens*)的杂交种‘ZY-1’均不致病; 该病原菌能够侵染欧洲甜樱桃的叶片和当年生新梢, 不能侵染木质化枝条; 烟台地区樱桃茎腐病的发生与温度、降雨量、湿度密切相关, 大爆发于高温多雨年份的夏季。

关键词: 樱桃茎腐病; 烟草疫霉; 樱桃品种; 致病性; 流行条件

中图分类号: S662.5

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2017)11-1458-09

Pathogens, pathogenicity and epidemic conditions of cherry stem rot in Yantai

YU Xiaoli¹, CHU Zhao-hui², LI Baoyan¹, LIN Xia³, WANG Peisong¹, WANG Yingzi^{1*}

(¹Institute of Plant Protection, Yantai Academy of Agricultural Science, Yantai 265500, Shandong, China; ²State Key Laboratory of Crop Biology · Shandong Provincial Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Shandong Agricultural University, Taian 271018, Shandong, China; ³College of Life Science, Yantai University, Yantai 264000, Shandong, China)

Abstract: 【Objective】Cherry stem rot, whose pathogen is *Phytophthora nicotianae*, represents a serious disease in the early stage of cherry seedlings. In these studies, we isolated and identified the pathogens found in the field to investigate the disease resistance of different cherry varieties and the conditions of the disease epidemic. These researches can provide scientific strategies for disease control and breeding. 【Methods】The pathogen P1639 isolated from the cherry stem was collected from the field in the Fushan district of Yantai. The phenotypic characteristics (colony, mycelium, sporangium and chlamydospore morphology) of the pathogen were monitored by observation and using a microscope. We observed the morphology and color of the strain P1639 after being cultured on a PDA or 10% V8 medium plate for 3 d. The morphology and size of the mycelium on the slide glass were observed and measured with a microscope. Morphology and sizes of chlamydospores and sporangium were observed and measured with the micro-

收稿日期: 2017-03-22 接受日期: 2017-07-29

基金项目: 山东省中青年科学家科研奖励基金(BS2015NY004); 农业部公益性行业专项(201303018); 山东省现代农业产业技术体系果品产业创新团队病虫害防治与质量控制岗位专家(SDAIT-06-11)

作者简介: 于晓丽, 女, 农艺师, 研究方向为植物病原真菌致病机理及病害防控技术。E-mail: yuxiaoli92jn@126.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel: 0535-6352015, E-mail: ytnkyzbs@126.com

scope after being induced and produced. The genomic DNA of the pathogen strain P1639 was extracted and then sequenced with ITS primers. The strain P1639 was inoculated on cherry leaves according to Koch's principle. A total of 17 different species (5 species and 1 intergeneric cross) of cherries were inoculated with P1639, and the pathogenicity was determined. P1639 was cultured on a solid plate of 10% V8 for 4 d and then the new cherry stems were inoculated using plugs of 6 mm diameter from the plate after surface sterilization. The stems were made moist with absorbent cotton after inoculation, and cultured in an incubator with 25 °C 12 h light conditions. The results were statistically analyzed after 3 to 7 d. The pathogenicity of the strain P1639 to the leaves, the new stems and the woody stems of the cherry variety 'Van' were further determined by laboratory tests. The leaves, new stems, and woody stems of the cherry variety 'Van' after surface sterilization were inoculated with plugs of 6 mm diameter from the plate. The leaves were moistened in Petri dishes with wet filter paper after inoculation. The stems were purified with absorbent cotton after inoculation. They were all cultured in the incubator with 25 °C 12 h light conditions. The results were statistically analyzed after 3 to 7 d. The occurrence of cherry stem rot in the cherry seedling field in Fushan district of Yantai was investigated for four years combining with local meteorological data (temperature, humidity and rainfall) and then we analyzed the epidemic dynamics and epidemic conditions of the disease. 【Results】The colony of the pathogen *Phytophthora nicotianae* strain P1639 causing cherry stem rot disease showed a white color and irregular edges and the aerial hyphae was exuberant showing a slow growth on the PDA plate. The colony displayed a white color and regular edges and the aerial hyphae were exuberant showing a much faster growth on the 10% V8 plate. Under the microscope, the hyphae were colorless and transparent, with a diameter of 2 to 6 μm; the sporangia (37.5–62.5 μm × 30–50 μm) were round or oval with obvious papillae; most of the chlamydospores (19–42 μm, average 30.4 μm) in the top or middle mycelium were round and a few were oval. The morphological and molecular identification showed that the strain P1639 was the cherry stem rot pathogen *Phytophthora nicotianae*. The pathogenicity of the isolated strain P1639 to 17 varieties of cherries was tested in the laboratory. The results showed that P1639 expressed different levels of pathogenicity to 'Wanfeng' 'Mingzhu' 'Lapins' 'Tieton' 'Brooks' 'Summit' 'Santina' 'Heizhenzhu' 'Hongdeng' 'Sunburst' and 'Van'. 'Wanfeng' 'Mingzhu' and 'Lapins' showed the strongest susceptibility with lesion length of 3.21 and 4.22 cm; 'Tieton' and 'Brooks' showed the second susceptibility with lesion length of 2.23 cm and 1.96 cm separately. 'Summit' 'Santina' 'Heizhenzhu' 'Hongdeng' 'Sunburst' and 'Van' showed lighter susceptibility with lesion lengths from 0.91 to 1.12 cm. The strains which showed no pathogenicity were 'Daqingye' 'Mahaleb' 'Gisela 6' 'ZY-1' 'Dongbei flowering cherry' and 'Yingzhenwang'. The pathogenicity of the isolated strain P1639 to the leaves, new stems and woody stems of the cheery variety 'Van' was further determined in the laboratory. The results showed that P1639 could successfully infect the leaves and new stems, but could not infect the woody stems. According to the investigative results of 4 years, the cherry stem rot disease began in the middle of July, and ended in the middle of August, which had the highest average temperature (above 25 °C) during the year. During the period of the middle to the end of July, if there was large rainfall and high humidity, the cherry stem rot disease would occur in a large outbreak, otherwise, the disease almost did not occur. 【Conclusion】All these results indicate that the pathogen showed a strong pathogenicity to *Prunus avium* but no pathogenicity to *P. pseudocerasus*, *P. Mahaleb*, *P. Serrulata*, *P. cerasus* and 'ZY-1', an intergeneric cross between *P. cerasus* and *P. canescens*. The pathogen could successfully infect the leaves and new stems but not the woody stems of *P. avium*. The epidemic conditions of cherry stem rot were closely related to temperature, rainfall and relative humidity. Meanwhile, great outbreaks could appear in the rainy summer with the presence of high temperatures.

Key words: Cherry stem rot disease; *Phytophthora nicotianae*; Cherry cultivars; Pathogenicity; Epidemic conditions

樱桃是落叶果树中成熟最早的树种,果实色泽艳丽、晶莹美观,果肉柔软鲜美,营养丰富。樱桃的铁含量比苹果、橘子、梨等高 20 倍以上,具有很高的食用价值。樱桃属于蔷薇科(Rosaceae),李属(*Prunus*),樱亚属(*Subgenus cerasus*)^[1],其主要栽培种有欧洲甜樱桃(*Prunus avium* L.)、欧洲酸樱桃(*P. cerasus* L.)、中国樱桃(*P. pseudocerasus* Lindl.)、马哈利樱桃(*P. Mahaleb* L.)、黑樱桃(*P. maximowiczii* Rupr.)、山樱花(*P. serrulata* L.)、草原樱桃(*P. runus fruticosa* Pall)等,多数分布在亚洲和欧洲,中国主要生产栽培中国樱桃和欧洲甜樱桃^[2]。中国樱桃俗称小樱桃,起源于我国,其栽培历史已有 3 000 多年^[3],果肉软,鲜果耐贮运性差。欧洲甜樱桃,俗称大樱桃,果实较大,肉质较硬,耐贮运^[4],鲜食加工均宜,是我国樱桃生产发展的主要种类。我国大樱桃的主产区是山东省的烟台和辽宁省的大连,以烟台栽培最早、面积最大、产量最高,约 1.2 万 hm²,年产约 24 万 t,分别占全国总量的 70%、80% 以上^[5-6],因此烟台大樱桃成为了烟台市的城市名片。

近年来樱桃栽培面积迅速扩展,市场上对樱桃苗木的需求日渐加大,随之而来的是樱桃苗木产业的大力发展。以往传统的育苗方式为第 1 年培育砧木苗,秋季嫁接,第 2 年出圃。为了快速繁育大樱桃苗木,许多苗木公司和农民采用了新的繁育方法,即春季播种,夏季嫁接,秋天培育出成苗^[7]。新的育苗方式为农民和苗木公司节约了时间和成本,但同时也产生了问题。自上世纪 90 年代以来,夏季嫁接樱桃苗木出现大批死亡甚至整片苗圃全部绝收情况^[8],当地农民称该病害为樱桃芽枯病,因为该病能够引起樱桃苗木茎部腐烂、叶片枯死,因而命名为樱桃茎腐叶枯病,简称樱桃茎腐病,病原菌为烟草疫霉(*Phytophthora nicotianae*)^[9]。笔者对烟台地区的樱桃茎腐病田间危害症状进行调查,室内分离并对病原菌进行鉴定;通过室内试验明确了病原菌对不同品种樱桃叶片、新梢、木质化枝条等的致病性;连续 4 a 对樱桃茎腐病的发生情况进行调查,结合当地天气情况,初步确定了该病的流行动态及流行条件;通过田间调查和室内试验相结合,为其田间诊断、樱桃品种培育、病害的综合防治提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

樱桃茎腐病病株采集自烟台市福山区樱桃苗

圃,不同品种樱桃叶片、枝条等均来源于山东省烟台市农业科学研究院樱桃种质资源圃。

1.2 培养基的制备

PDA(马铃薯葡萄糖琼脂)培养基:马铃薯 200 g,去皮切成小块加 1 000 mL 水煮沸后再煮 30 min,用纱布过滤,弃渣后补水至 1 000 mL,葡萄糖 2%,琼脂粉 1.5%,121 °C 高压灭菌 15 min 备用。

10% V8 固体培养基:10% V8 汁,0.02% CaCO₃,1.5% 琼脂粉,121 °C 高压灭菌 15 min 备用。

1.3 病害症状、病原菌的分离和培养

对田间樱桃病株发病症状进行观察和拍照。采用组织分离法,取感病樱桃枝条茎部的病健交界处,用手术刀片切取 5 mm² 的小片组织,用次氯酸钙消毒液(10 g 次氯酸钙,140 mL 无菌水)消毒,无菌水清洗 3 次后用无菌滤纸将水分吸干,放置于 10% V8 平板培养基上,25 °C 黑暗培养。3 d 后用灭菌的挑针挑取分离得到的菌落边缘菌丝至新的 10% V8 平板进行纯化,并将纯化的病原菌低温保存。

1.4 病原菌形态学鉴定

在 PDA 和 10% V8 培养基上培养病原菌并观察菌落形态、颜色。将菌丝挑到载玻片上在显微镜(麦克奥迪 BA310)下观察菌丝形态,测量并计算菌丝直径平均值。

参考 Tsao^[10]的方法,待菌丝丛产生大量的厚垣孢子后,显微镜下观察其形态特征,测量厚垣孢子的大小并计算其平均值。

参考杨军等^[11]的方法,诱导菌丝丛产生大量的游动孢子囊后,显微镜下观察孢子囊的形态特征,测量并计算其平均大小和长宽比值。

1.5 病原菌的分子生物学鉴定

病原菌基因组 DNA 的提取采用试剂盒(天根生化科技有限公司,北京)。利用扩增引物 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGC-3')/ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')对 rDNA-ITS 序列进行扩增。PCR 扩增产物送至上海生工生物工程有限公司测序。测序结果在 NCBI 数据库中进行 Blast 序列比对,并采用 MEGA7.0 软件构建系统发育树。

1.6 致病性测定

1.6.1 游动孢子接种叶片致病性测定 取樱桃叶片,表面消毒后,按照 1.4 中方法诱导得到游动孢子,计数后用移液器吸取 100 个游动孢子,将悬浮液滴

于无创叶片上保湿培养,25℃、12 h光照培养箱培养,3~7 d观察结果。

1.6.2 菌丝块接种叶片致病性测定 取樱桃叶片,表面消毒后,用直径为6 mm的打孔器将在10% V8固体平板培养基上培养4 d的病原菌打成菌饼,接种于无创叶片或无菌针头轻轻划伤表面的叶片上,滴水保湿,25℃、12 h光照培养箱培养,3~7 d观察结果。

1.6.3 新生枝条茎部致病性测定 取当年生幼嫩樱桃枝,茎部表面消毒后,进行无伤口的无创接种或者用无菌手术刀片在茎部切出伤口进行创伤接种,将6 mm的菌饼接种到无创或创伤的樱桃枝条茎部,用脱脂棉花进行包裹保湿,25℃、12 h光照培养箱培养,3~7 d观察结果。

木质化枝条茎部致病性测定方法同新生枝条茎部致病性测定。

1.7 病原菌对不同品种樱桃的致病性

为了比较菌株P1639对不同品种樱桃的致病性,在室内进行接种实验。取不同品种的新生健康樱桃枝条102个(17个品种,每个品种分别取6个枝条,4次重复,另外取2个枝条作为对照),用酒精表面消毒后,在茎部进行无创伤接种,方法参考1.6,接种后进行保湿,在25℃、12 h光照恒温培养箱中进行培养。

1.8 病原菌对樱桃叶片、当年新生枝条、木质化枝条的致病性测定

为了测定菌株P1639对樱桃植株不同生长部位的致病性,在室内对樱桃叶片、当年新生幼嫩枝条和木质化枝条进行接种试验。选取‘红灯’和‘美早’2个品种的叶片、当年新生枝条、木质化枝条各10个(其中4个采取创伤接种,4个采取无创伤接种,2个作为对照),用酒精表面消毒后,在叶片或者枝条茎部进行创伤和无创接种,试验方法参考1.6,接种后进行保湿,在25℃、12 h光照恒温培养箱中进行培养。

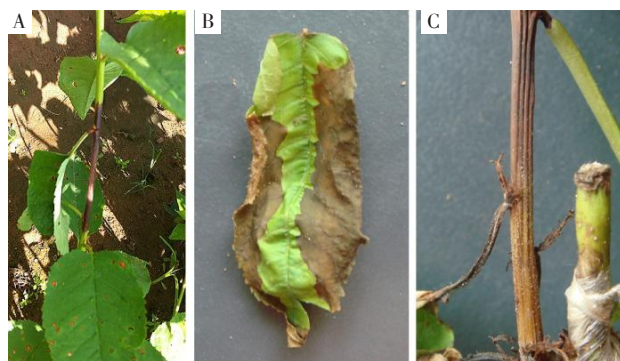
1.9 流行动态及流行条件

2012年至2015年,在烟台市福山区门楼镇西埠庄村固定1处樱桃苗圃,樱桃品种为‘美早’,自6月中旬起,采用5点取样法,每点调查50株,每6 d调查1次,记录发生樱桃茎腐病的病株数和总株数,计算发病率,同时测量和记录气温、相对湿度和降雨量等气象因素,分析病害流行动态与流行条件。

2 结果与分析

2.1 田间发病症状

春季播种,夏季5、6月嫁接的樱桃苗,在多雨年份的7、8月常发生叶片和嫩梢枯死,进而大面积死苗的现象。如在多雨的2001、2013年,发病严重的苗圃受害率超过70%,有些苗圃几乎毁园,该病成为烟台地区樱桃苗圃的第一大病害。樱桃茎腐病主要危害樱桃苗叶片和新生幼嫩枝条茎部(图1-A)。在田间,病原菌孢子入侵后,叶片首先表现出症状,从接穗新梢下部叶片开始,逐渐向上扩展。感病叶片表面出现多个近圆形病斑,病斑为褐色,中间有枯白色圆心;病斑沿叶脉和边缘迅速扩展,病斑相连后,几天内便可危害整个叶片,导致叶片干枯死亡(图1-A、B)。病原菌直接侵染或沿着感病叶片的叶柄侵染樱桃新梢茎部,产生褐色病斑,病斑迅速扩展,当围绕茎部扩展一周时,新梢死亡(图1-A、C)。



A. 樱桃苗症状; B. 叶片症状; C. 茎部症状。

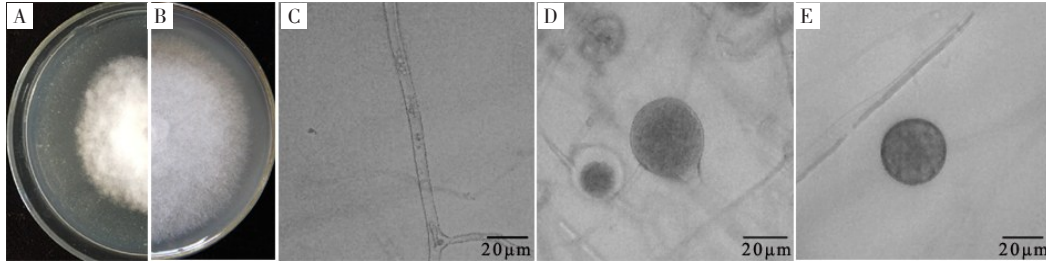
A. Symptoms of cherry seedlings; B. Necrosis on cherry leaves; C. Necrosis on cherry stems.

图1 田间樱桃苗圃中樱桃茎腐病症状

Fig. 1 Symptoms of cherry stem rot in the cherry seedlings in the fields

2.2 病原菌形态学测定

从田间樱桃茎腐病发病植株上采集分离的病原菌菌株P1639在PDA培养基上菌落白色,边缘不规则,气生菌丝旺盛,菌落呈花瓣状,生长缓慢(图2-A);在10% V8培养基上菌落白色,呈边缘规则的圆形,气生菌丝旺盛,生长速率较快(图2-B);显微镜下观察,菌丝无色透明无隔,直径为2~6 μm(图2-C);孢子囊为圆形或卵圆形,有乳突,乳突明显,大小为(37.5~62.5) μm×(30~50) μm,长宽比为1.2(图2-D);厚垣孢子位于菌丝的顶端或中间,大多为圆形,少数为卵圆形,大



A. 在 PDA 培养基平板上的菌落; B. 在 10% V8 培养基平板上的菌落; C. 菌丝; D. 孢子囊; E. 厚垣孢子。
A. The colony on PDA plate; B. The colony on 10% V8 plate; C. Hypha; D. Sporangium; E. Chlamydospore.

图 2 樱桃茎腐病菌菌株 P1639 形态特征

Fig. 2 The morphological characteristics of pathogen P1639 causing cherry stem rot

小为 19~42 μm, 平均为 30.4 μm(图 2-E)。通过以上形态学特征, 可以判断该分离菌隶属于疫霉属。

2.3 分子生物学鉴定

用 ITS 通用引物 ITS1/ITS4 扩增出病原菌 P1639 的 ITS 序列, 长度约为 900 bp, 测序后将得到的序列

在 NCBI 上进行 BLAST 分析, 并用 MEGA7.0 软件的邻接法 (neighbor-joining, NJ) 构建系统发育树。研究表明, 分离菌 P1639 与樱桃茎腐病病原菌烟草疫霉 (*P. nicotianae*) 相似率为 100% (图 3)。因此, 可以确定该分离菌 P1639 为烟草疫霉。

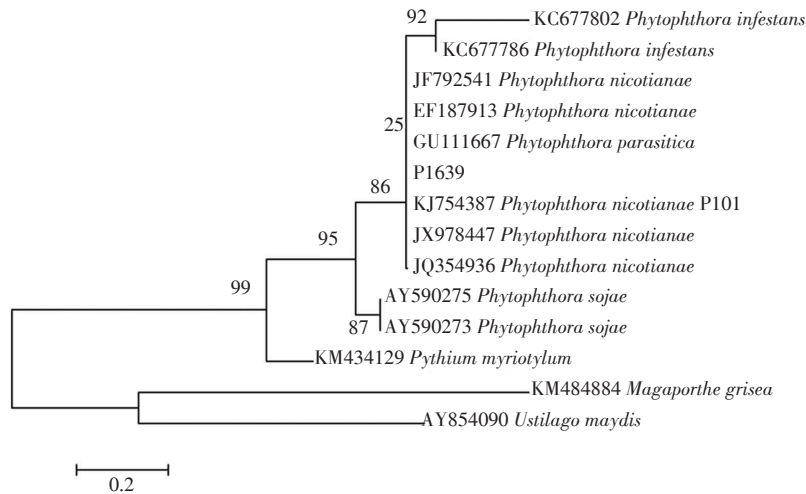


图 3 菌株 P1639 基于 rDNA ITS 序列通过邻接法构建的系统发育树

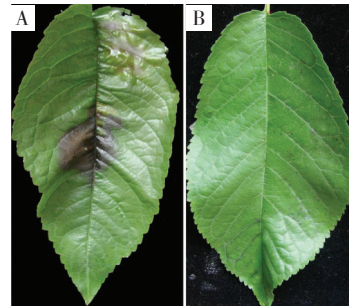
Fig. 3 Phylogenetic tree of isolate P1639 generated by the neighbor joining method on the basis of sequences of rDNA ITS region

2.4 分离菌回接测定致病性

将分离得到的菌株 P1639 的游动孢子人工接种到健康无创樱桃叶片上测定其致病性。樱桃品种为‘先锋’, 无菌水接种叶片作为对照。在叶片接种部位出现了典型的褐色病斑, 症状与自然条件下的发病症状相同 (图 4-A), 对照叶片不发病 (图 4-B)。从接种发病的部位可重新分离得到与 P1639 形态特征相同的菌株, 根据柯赫氏法则, 该分离菌株 P1639 为樱桃茎腐病的病原菌烟草疫霉。

2.5 对樱桃不同品种的致病性

烟草疫霉菌株 P1639 对 17 个樱桃品种枝条茎部无创接种进行致病性测定, 结果显示, 对‘晚丰’



A. 游动孢子接种叶片; B. 无菌水接种叶片的对照。
A. Inoculating leaves using zoospores; B. Inoculating leaves using sterile water.

图 4 分离菌株 P1639 对樱桃叶片的致病力测定
Fig. 4 The pathogenicity test of strain P1639 infecting the leaves of cherry

‘明珠’‘拉宾斯’‘美早’‘布鲁克斯’‘萨米脱’‘桑提娜’‘黑珍珠’‘红灯’‘艳阳’和‘先锋’11个品种均致病,其中‘晚丰’‘明珠’和‘拉宾斯’最感病,病斑长度为3.21~4.22 cm,‘美早’‘布鲁克斯’次之,病斑长度分别为2.23 cm和1.96 cm,‘萨米脱’‘桑提娜’‘黑珍珠’‘红灯’‘艳阳’和‘先锋’6个品种发病较轻,病斑长度为0.91~1.12 cm;菌株P1639对‘大青叶’‘马哈利’‘吉塞拉6号’‘ZY-1’‘东北山樱’‘樱砧王’6个品种均不致病(表1)。图5为菌株P1639和对照琼

表 1 烟草疫霉菌株 P1639 对樱桃不同品种的致病性
Table 1 The pathogenicity of *Phytophthora nicotianae* isolate P1639 to different varieties of cherries

种质 Germplasm	种 Species	来源 Origin	病斑长度 Length of lesion/cm
晚丰 Wanfeng	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	宾库×日出 Bing × Hinode	4.22 a
明珠 Mingzhu	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	那翁×早丰 Napoleon × Zaofeng	3.52 a
拉宾斯 Lapins	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	先锋×斯坦勒 Van × Stella	3.21 a
美早 Tieton	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	斯坦勒×布莱特 Stella × Early Burlat	2.23 b
布鲁克斯 Brooks	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	雷尼×布莱特 Ranier × Early Burlat	1.96 b
萨米脱 Summit	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	先锋×萨姆 Van × Sam	1.12 c
桑提娜 Santina	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	斯坦勒×萨米脱 Stella × Summit	1.05 c
黑珍珠 Heizhenzhu	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	萨姆实生苗 Seedling of Sam	0.91 c
红灯 Hongdeng	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	那翁×黄玉 Napoleon × Governor Wood	0.97 c
艳阳 Sunburst	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	先锋×斯坦勒 Van × Stella	0.75 c
先锋 Van	欧洲甜樱桃 <i>P. avium</i>	Empress Eugenie 自然实生苗 Seedling of Empress Eugenie	0.91 c
大青叶 Daqingye	中国樱桃 <i>P. pseudocerasus</i>	大青叶实生苗 Seedling of Daqingye	0 d
马哈利 Mahaleb	马哈利樱桃 <i>P. mahaleb</i>	马哈利实生苗 Seedling of Mahaleb	0 d
吉塞拉6号 Gisela 6	种间杂交 Intergeneric cross	酸樱桃×灰毛叶樱桃 <i>Prunus cerasus</i> × <i>Prunus canescens</i>	0 d
ZY-1	欧洲酸樱桃 <i>P. cerasus</i>	ZY1实生苗 Seedling of ZY1	0 d
东北野山樱 Dongbei flowering cherry	山樱花 <i>P. serrulata</i>	东北山樱实生苗 Seedling of Dongbei flowering cherry	0 d
樱砧王 Yingzhenwang	山樱花 <i>P. serrulata</i>	樱砧王实生苗 Seedling of Yingzhenwang	0 d

注:不同小写字母表示在5%水平上差异显著。

Note: Different small letters mean significant difference at $P < 0.05$.

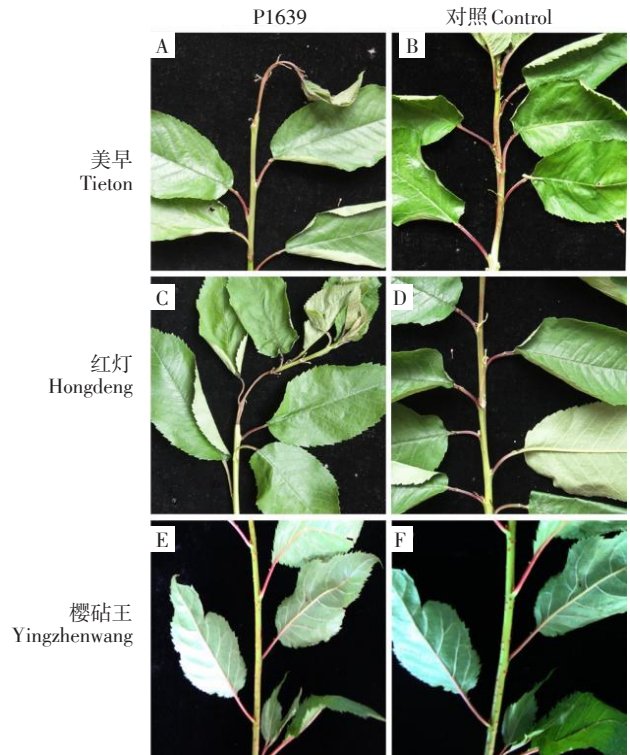


图 5 菌株 P1639 对樱桃不同品种的致病性
Fig. 5 The pathogenicity of P1639 to the different varieties of cherries

脂块接种‘美早’(图5-A、B)‘红灯’(图5-C、D)和‘樱砧王’(图5-E~F)的试验图片。
A. The new stems of Tieton inoculated with isolate P1639; B. The new stems of Tieton inoculated with blank agar plugs; C. The new stems of Hongdeng inoculated with isolate P1639; D. The new stems of Hongdeng inoculated with blank agar plugs; E. The new stems of Yingzhenwang inoculated with isolate P1639; F. The new stems of Yingzhenwang inoculated with blank agar plugs.

图 5 菌株 P1639 对樱桃不同品种的致病性
Fig. 5 The pathogenicity of P1639 to the different varieties of cherries

脂块接种‘美早’(图5-A、B)‘红灯’(图5-C、D)和‘樱砧王’(图5-E~F)的试验图片。

2.6 樱桃叶片和枝条的致病性测定

将病原菌菌株P1639人工接种到健康的樱桃叶片、新生幼嫩枝条茎部和木质化枝条茎部。采用非创伤接种和创伤接种2种方式,樱桃品种为‘先锋’,不含病原菌的琼脂块接种叶片和枝条作为对照。非创伤接种(图6-A)和创伤接种(图6-B)菌株P1639的樱桃叶片均发病,产生褐色病斑,与田间发病症状相同,叶片非创伤接种部位产生的病斑比创伤接种部位的病斑小,只接种琼脂块的对照叶片不发病(图6-C);非创伤接种(图6-D)和创伤接种(图6-E)菌株P1639的新生幼嫩枝条均发病,产生褐色病斑,与田间发病症状相同,非创伤接种比创伤接种的病斑

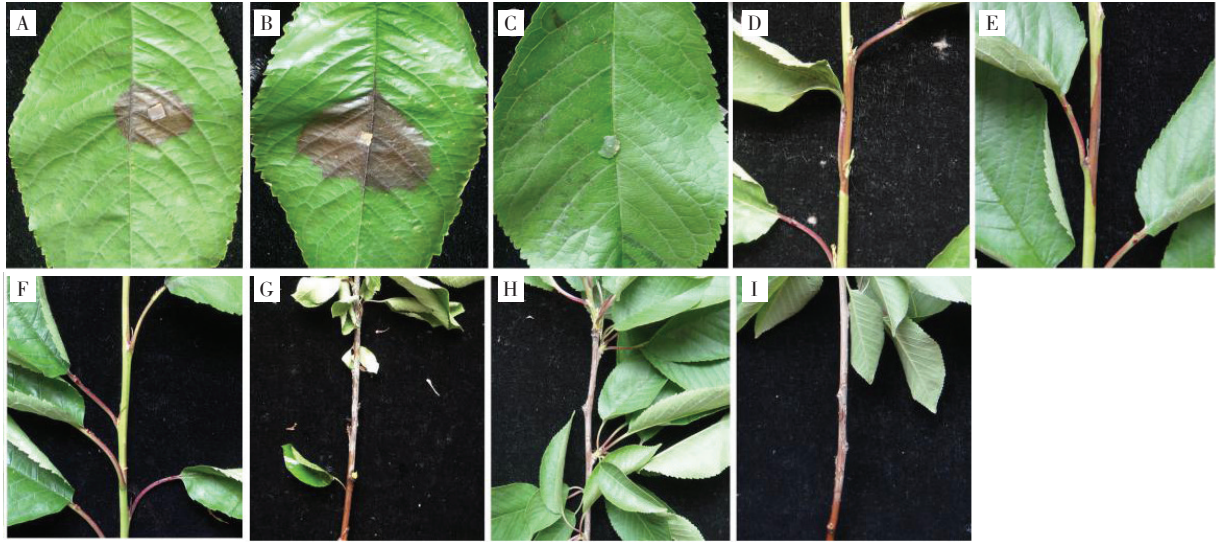


图 6 菌株 P1639 接种‘先锋’品种樱桃的叶片、当年新生枝条和木质化枝条的致病性测定

A. 叶片无创接种菌丝块; B. 叶片创伤接种菌丝块; C. 对照叶片接种琼脂块; D. 新生枝条无创接种菌丝块; E. 新生枝条创伤接种菌丝块; F. 新生枝条接种琼脂块; G. 木质化枝条无创接种菌丝块; H. 木质化枝条创伤接种菌丝块; I. 木质化枝条接种琼脂块。

A. Inoculating leaves using mycelial plugs with no wound; B. Inoculating leaves using mycelial plugs with wound; C. Control leaves inoculated with agar plugs; D. Inoculating new stems using mycelial plugs with no wound; E. Inoculating new stems using mycelial plugs with wound; F. Control new stems inoculated with agar plugs; G. Inoculating woody stems using mycelial plugs with no wound; H. Inoculating woody stems using mycelial plugs with wound; I. Control woody stems inoculated with agar plugs.

图 6 菌株 P1639 接种‘先锋’品种樱桃的叶片、当年新生枝条和木质化枝条的致病性测定

Fig. 6 The pathogenicity test of P1639 infecting the leaves, new stems and woody stems of the cherry variety ‘Van’

长度短,只接种琼脂块的对照枝条茎部不发病(图 6-F);非创伤接种(图 6-G)和创伤接种(图 6-H)菌株 P1639 的木质化枝条茎部均不发病,只接种琼脂块的对照枝条(图 6-I)也不发病。

2.7 樱桃茎腐病的流行动态和流行条件

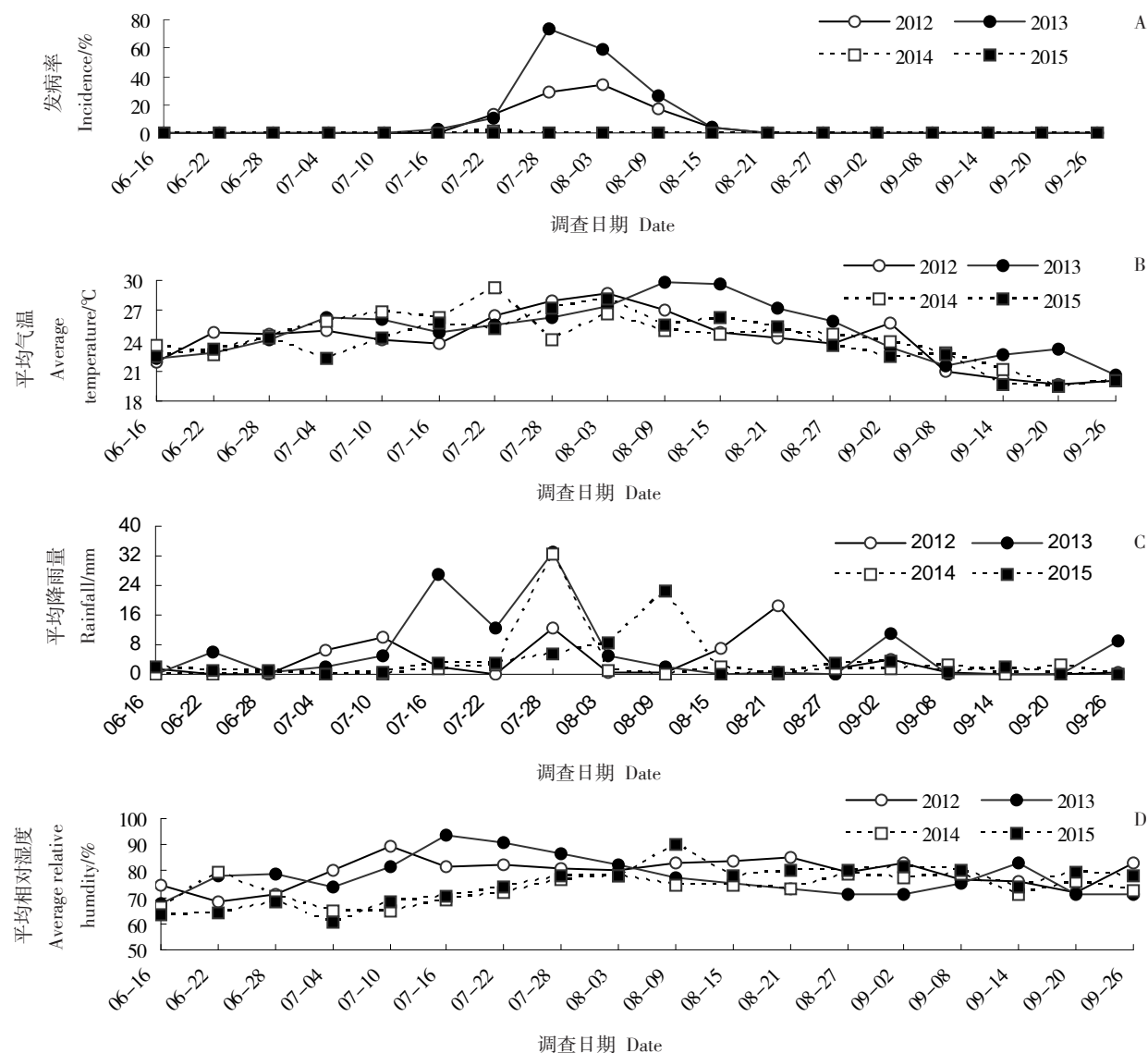
2012—2015 年连续 4 a 对烟台市福山区门楼镇樱桃苗圃樱桃茎腐病流行动态进行调查:2012 年于 7 月中旬开始发生,7 月下旬至 8 月上旬发生严重;2013 年 7 月中旬始见发生,7 月底大爆发;2014 年发病很轻,只有少量零星发病;2015 年未检测到樱桃茎腐病的发生(图 7-A)。

分析 2012—2015 年温度、湿度和降雨量等气象因素,对樱桃茎腐病的流行条件进行初步分析:从 4 a 的调查结果来看,樱桃茎腐病开始发生于 7 月中旬,截止于 8 月中旬,这段时间平均气温为当地全年气温最高期,平均气温在 25 ℃ 以上(图 7-B);2012、2013 年 7 月中旬至 8 月中旬平均相对湿度很高,7 月中下旬湿度尤为高,均在 80% 以上,而 2014、2015 年 7 月中旬至 8 月上旬平均相对湿度明显偏低(图 7-C);2012、2013 年 7、8 月份降雨较多,2014、2015 年 7 月雨水偏少(图 7-D)。因此,可初步确定樱桃茎腐病发生于夏季气温最高的 7 月中旬至 8 月中旬,7 月

中下旬这段时间内,若降雨量很大,空气湿度大,则樱桃茎腐病容易大爆发,反之,则几乎不发病。

3 讨 论

在前人的研究中,桂氏疫霉(*P. cambivora*)、大雄疫霉(*P. megasperma*)和掘氏疫霉(*P. drechsleri*)等疫霉属的病原菌都曾被报道从樱桃中分离得到^[12],最近笔者研究室报道了烟草疫霉(*P. Nicotianae*)侵染樱桃并引起樱桃茎腐病^[9]。樱桃树树体生长迅速,苗期时间较短,因此苗期病害常被忽视。目前苗期主要防治的病害为细菌性穿孔病和穿孔性褐斑病^[13]。由于传统樱桃育苗方式的改变,苗期病害樱桃茎腐病逐渐成为了樱桃苗期的一个重大病害。该病能引起樱桃苗猝倒死亡,病情扩展十分迅速。之前对该病致病性、流行动态及流行条件等均无相关研究报道,导致在田间防治时存在不能预见病害的大爆发、防治不及时、盲目用药等问题。在本研究中,通过室内实验测定了樱桃茎腐病病菌对 5 个属、1 个属间杂交品种共 17 个品种的致病性,试验结果显示,该病原菌对供试的‘黑珍珠’‘红灯’‘艳阳’‘先锋’‘明珠’‘拉宾斯’‘晚丰’‘美早’‘布鲁克斯’‘萨米脱’‘桑提娜’11 个欧洲甜樱桃属的品种全部致



A. 2012—2015年6月16日至9月26日调查福山区樱桃苗圃樱桃茎腐病发病率;B. 4 a病害调查期间每6 d平均气温;C. 4 a病害调查期间每6 d平均降雨量;D. 4 a病害调查期间每6 d平均相对湿度。

A. The occurrence investigation of cherry stem rot in Fushan cherry seedlings from Jun. 16 to Sept. 26 of 2012 to 2015; B. The average temperature every 6 d during the investigation; C. The average rainfall every 6 d during the investigation; D. The average relative humidity every 6 d during the investigation.

图 7 樱桃茎腐病发生与气象因素的关系

Fig. 7 The regularity occurrence of cherry stem rot

病,这 11 个品种均为市场上常见的鲜食甜樱桃品种;对‘大青叶’‘马哈利’‘吉塞拉 6 号’‘ZY-1’‘东北山樱’‘樱砧王’4 个属、1 个属间杂交种共 6 个品种均不致病,这 6 个品种均为田间常见的樱桃砧木品种。田间调查时,也同样发现樱桃苗的砧木不发病,而砧木上部嫁接的甜樱桃品种枝条发病,这与室内致病力测定结果一致,因此田间防病过程中应该对欧洲甜樱桃品种的樱桃茎腐病进行重点防控。室内致病力测定试验结果显示,樱桃茎腐病病原菌对中国樱桃、马哈利樱桃、欧洲酸樱桃、山樱花 4 个属及

酸樱桃与灰毛叶樱桃的杂交种‘ZY-1’都不致病,对欧洲甜樱桃属的樱桃品种致病,但对供试的 11 个甜樱桃品种的致病性有差异,造成这种致病力有无和大小差异的原因,还需要进一步深入研究。

笔者研究室还对烟台地区樱桃茎腐病进行了长期的调查研究。2012—2015 年连续 4 a 对烟台市福山区门楼镇樱桃苗圃樱桃茎腐病流行动态进行调查,并结合气象条件等对该病的流行因素进行分析,结果显示樱桃茎腐病常发生于高温多雨年份的夏季。因此防治苗期的樱桃茎腐病,要结合气象因素,

夏季高温多雨年的年份尤其谨慎防范,提前做好防治准备。另外,田间调查结果还显示,樱桃茎腐病在当年5、6月份嫁接的樱桃苗上发生严重,而春季嫁接苗及成熟结果树上并未发现有茎腐病的发生。通过室内致病力测定实验,确定了樱桃茎腐病病菌只能感染叶片和当年的新生幼嫩枝条,产生病斑,造成植株枯死,而对木质化的枝条不致病,这与田间调查结果一致。因此对5、6月份嫁接苗上的樱桃茎腐病应当重点防控。

4 结 论

通过室内实验对樱桃茎腐病病原菌形态特征进行初步分析,并确定了该病原菌对常见樱桃品种及樱桃叶片、枝条的致病性;通过田间调查确定了病害田间发病症状,连续4 a对病害发生情况进行调查,结合气象资料分析确定了病害流行动态及流行条件,并与室内实验结果相结合确定了该病害感染樱桃并造成危害的途径。该研究为樱桃茎腐病田间病害诊断、樱桃品种培育及田间防治策略确定提供了重要的理论依据和科学指导。

参考文献 References:

- [1] 蔡宇良. 野生樱桃种质资源的遗传分析及其栽培品种的 DNA 指纹鉴定[D]. 西安:西北大学,2006.
CAI Yuliang. Genetic analysis of the wild cherry germplasm and identification of cultivated cherry varieties using DNA fingerprints [D]. Xi'an: Northwest University, 2006.
- [2] 于亚军,代汉萍,李宝江,陈丽君. 世界樱桃育种进展[J]. 果树学报,2003,20(2):135-139.
YU Yajun, DAI Hanping, LI Baojiang, CHEN Lijun. Status of cherry breeding in the world[J]. Journal of Fruit Science, 2003, 20 (2): 135-139.
- [3] 俞德浚,李朝奎. 中国植物志第 38 卷[M]. 北京:科学出版社, 1986.
YU Dejun, LI Chaoluan. Thirty-eighth volumes of plant flora in China[M]. Beijing: Science Press, 1986.
- [4] 陈秋芳,田建保,王敏,王国平. 晚熟抗裂果甜樱桃新品种‘晶玲’[J]. 园艺学报,2009,36(12):1839-1840.
CHEN Qiufang, TIAN Jianbao, WANG Ming, WANG Guoping. A new latematuring and crack resistance sweet cherry cultivar ‘Jingling’[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2009, 36(12): 1839-1840.
- [5] 阎立江,荆亚玲. 烟台市大樱桃生产现状、发展优势及对策[J]. 北方果树,2006(5):37-39.
YAN Lijiang, JING Yaling. The present situation, development superiority and countermeasure of sweet cherry in Yantai[J]. Northern Fruits, 2006(5): 37-39.
- [6] 胡正刚. 中国樱桃的分布及生产现状[J]. 落叶果树,1996(3): 29-30.
HU Zhenggang. Distribution and production status of cherry in China[J]. Deciduous Fruits, 1996(3): 29-30.
- [7] 孔繁勇. 大樱桃快速育苗技术研究[J]. 辽宁农业职业技术学院学报,2006,8(1): 21-22.
KONG Fanyong. Study on technique of fast breeding sweet cherry [J]. Journal of Liaoning Agricultural College, 2006, 8(1): 21-22.
- [8] 王培松,官本义,许平. 樱桃苗木芽枯病的发生及防治[J]. 烟台果树,2002(2): 54.
WANG Peisong, GONG Benyi, XU Ping. Occurrence and control of seedling cherry blight[J]. Yantai Fruits, 2002(2): 54.
- [9] YU X L, LIU X Q, WANG P S, WANG Y Z. First report of cherry stem rot and leaf necrosis disease caused by *Phytophthora nicotianae* in Yantai, China [J]. Plant Disease, 2015, 99(2): 284.
- [10] TSAO P H. Chlamyospore formation in sporangium-free liquid cultures of *Phytophthora parasitica* [J]. Phytopathology, 1971, 61 (11): 1412.
- [11] 杨军,田香华,罗朝鹏,魏春阳,金立峰. 烟草根际土壤浸出液刺激烟草疫霉产孢和接种研究[J]. 中国烟草学报,2011, 17 (2): 71-74.
YANG Jun, TIAN Xianghua, LUO Chaopeng, WEI Chunyang, JIN Lifeng. Methods for inoculation and inducing sporogenesis of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* by soil suspension from tobacco rhizosphere[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2011, 17(2): 71-74.
- [12] MIRCETICH S M, MATHERON M E. *Phytophthora* root and crown rot of cherry trees[J]. Phytopathology, 1976, 66(5): 549-558.
- [13] 洪海林. 樱桃苗期病虫害防治技术[J]. 植物医生,2004,17(2): 13-14.
HONG Hailin. Prevention and control technology of cherry seedlings diseases and insect pests[J]. Plant Doctor, 2004, 17(2): 13-14.