



桑椹肥大性菌核病病原菌生物学特性及流行性

吕蕊花^{1,2}, 赵爱春¹, 余建¹, 王传宏¹, 刘长英¹, 蔡雨翔¹, 余茂德^{1*}

¹西南大学生物技术学院, 重庆 400715

²陕西中医药大学医学技术学院, 陕西 咸阳 712046

摘要:【目的】对桑椹灾害性真菌病害——桑椹肥大性菌核病病原菌, 即桑实杯盘菌(*Ciboria shiraiana*)的生物学特性进行研究, 分析其流行性。【方法】采用人工接种、调查等研究方法, 对 *C. shiraiana* 在无性生长阶段中菌丝侵染能力, 菌核的休眠期, 有性生长阶段中子囊孢子的结构、释放、数目以及萌发等进行研究, 并对菌核萌发的物候期进行调查。【结果】*C. shiraiana* 菌丝对桑雌花没有侵染能力; *C. shiraiana* 菌核具有休眠期, 低温处理 6 周以上的菌核才能萌发形成子囊盘; 1 个菌核可萌发 1–15 个子囊盘, 直径为 1.5 cm 的子囊盘能产生高达 $(5.6–6.3) \times 10^7$ 个子囊孢子; *C. shiraiana* 子囊孢子在酸性环境中的萌发率明显高于在中性和碱性环境中的萌发率; *C. shiraiana* 菌核萌发形成子囊盘产生子囊孢子的物候期, 从 1 月下旬开始到 4 月中旬结束, 其中在 3 月中旬萌发子囊盘的数目达到最高值。【结论】桑椹肥大性菌核病属于典型的流行性侵染病, 在果桑栽培上容易造成毁灭性危害, 生产上必须高度重视该病的防控。

关键词: *Ciboria shiraiana*, 流行性分析, 桑椹, 生物学特性, 植病

随着我国新农村建设的开发与乡村休闲旅游产业的不断兴起, 全国果桑种植面积也不断增加, 据不完全统计全国果桑种植面积已达 5.33 万 hm^2 。2015 年仅四川省已有 30 多个区县种植果桑, 种植面积已达 6667 hm^2 以上, 桑椹亩产收入 5000 元以上^[1]。而在果桑种植过程中, 桑椹极易爆发一种灾害性病害, 即桑椹菌核病(Mulberry fruit sclerotiniosis)。

桑椹菌核病最初是在 1922 年, 由 Siegler 和 Jenkins^[2]在美国发现并报道, 且发现该病仅在白桑品种(*Morus alba* L.)中发病, 而赤桑品种(*Morus rubra* L.)并未见发病。Whetzel 和 Wolf^[3]在 1945 年首次描述了该病的有性生殖阶段, 并将该病原菌归属为杯盘菌属(*Ciboria*)。在之后长达近半个世纪的时间内, 对该病害鲜有报道, 直到 20 世纪后期, 在韩国、日本、中国各大果桑种植地(江苏、

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项经费(201403064); 国家自然科学基金(31360190); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-22)

*通信作者。Tel: +86-23-68251309; E-mail: yumd@163.com

收稿日期: 2016-06-25; 修回日期: 2016-11-21; 网络出版日期: 2016-11-29

浙江、上海、四川、重庆、陕西广东、广西和台湾等地)相继报道了该病害的大面积爆发, 桑椹菌核病再次引起人们关注^[4-6]。2007年, 上海崇明近5000亩果桑园, 有70%的田块发病率在80%以上, 严重田块高达100%, 亩产量仅为80 kg, 果园内一片“白头”, 上海市民翘首以盼的“桑果节”也因该病的大面积爆发而落空。

桑椹菌核病属真菌性病害, 俗称白果病, 已报道的桑椹菌核病病原菌有4种, 目前公认且常见的病原菌有3种, 即桑实杯盘菌(白井杯盘菌)[*Ciboria shiraiana* (P. Henn.) Wketz.]引起的桑椹肥大性菌核病(Hypertrophy sorosis scleroteniosis), 白井地杖菌[*Mitrula shiraiana* (P. Henn) Ito et Imai.]引起的桑椹缩小性菌核病(Reduced sorosis scleroteniosis), 以及肉阜状杯盘菌[*Ciboria carunculoides* (Siegl. et Jenk.) Whetz. et Wolf.]引起的桑椹小粒性菌核病(Small particles sorosis scleroteniosis)^[7-8]。在这3种桑椹菌核病中, 其中桑椹肥大性菌核病的发病率最高, 危害也最为严重, 发病率占3种桑椹菌核病的80%以上。该病原菌以菌核在土壤中越冬, 菌核随病椹落地, 到次年3月上、中旬桑雌花开放时, 土壤中的菌核抽生出子囊盘。子囊盘上子实层着生子囊和子囊孢子, 成熟的子囊孢子弹射到空气中随风传播, 飘落到桑雌花上, 特异性地侵染桑雌花, 引起感染致病。病原菌侵入花器后, 菌丝大量繁殖, 最后由菌丝形成菌核。菌核随病椹掉落地面, 残留土壤中越冬, 如此周而复始, 反复循环。

近年来, 该病在长江流域、珠江流域及西部地区发病尤其严重, 以往研究文献虽然对桑椹肥大性菌核病病原菌有一些报道, 但是均集中在该病害造成的危害、发病症状和病原菌的识别方面。为此, 本研究在前期研究的基础上, 拟以危害桑

椹的主要病原, 桑椹肥大性菌核病病原菌 *C. shiraiana* 为对象, 对它的生物学特性进行较全面的研究, 并对其流行性进行分析。这对我国果桑产业的发展及果桑品种的改良都将具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株: 由本实验室分离并鉴定所得的桑椹肥大性菌核病病原菌 *C. shiraiana*^[9], 经“中国典型培养物保藏中心”审定并登记(菌株编号为: CCTCC AF 2014019 WCCQ01 *Ciboria shiraiana*)。

1.1.2 所用培养基: PDA (马铃薯葡萄糖琼脂)培养基; PDA+Bb 培养基[PDA 培养基中添加溴酚蓝(Bromophenol blue, Bb)至终浓度为 100 µg/mL]。

1.1.3 桑椹品种: ‘嘉陵 30 号’(*Morus atropurpurea* Roxb.)和‘嘉陵 40 号’(*M. atropurpurea* Roxb.)(为重庆市审定品种), ‘大十’(*M. atropurpurea* Roxb.), ‘红果 1 号’(*Morus alba* Linn.), ‘中桑 5801’(*M. atropurpurea* Roxb.), ‘珍珠白’(*M. alba* Linn.)。

1.2 *C. shiraiana* 菌丝侵染能力的测定

2013年春季, 用品种为‘嘉陵 40 号’的桑雌花进行接种。当桑树冬芽脱苞至开叶期, 桑雌花尚未露出芽尖时(3月初), 用硫酸纸袋套住饱满的冬芽枝条, 以防空气中的杂菌感染; 当雌花花穗的柱头完全展开时(3月中下旬), 用打孔器在 PDA 平板上打孔接种 5–6 d 的 *C. shiraiana* 菌丝, 用一次性注射器刺伤桑雌花, 菌丝面朝向桑雌花进行接种, 保鲜膜包裹接种的桑椹保湿, 再套上硫酸纸袋, 标上接种日期和时间, 以接种 PDA 培养基的桑椹作为对照。每隔 2 d, 在上午 8 点之前空气湿度较大时, 观察被接种桑椹的发病情况, 并记录、拍照。

1.3 菌核的休眠

收集 PDA 平板上产生的成熟菌核,按组织表面消毒方法^[10](先用 75%的酒精消毒 2 min,然后用 0.1%的 HgCl₂消毒 5 min,最后用无菌水清洗 6 次,每次 2 min)对其进行消毒;将消毒后的菌核放置在加水饱和、经高压蒸汽灭菌后的珍珠岩中,用镊子将菌核点播在距珍珠岩表面 0.3–0.5 cm 的距离,每个培养瓶中放置 20 个菌核;分别将培养瓶放置在 4–8 °C 冰箱、16 °C 培养箱(RH=90%,无光照)和 20 °C 培养箱中(RH=90%,无光照)^[11–12],每个处理放置 20 个培养瓶;从第 1 周开始,每周分别从不同温度处理下取出 2 个培养瓶,置于 15–20 °C 的培养箱(RH=90%,无光照)中,统计可以萌发为子囊盘的菌核数目。

1.4 菌核的萌发

通过观察大田中的菌核以及人工培养产生的菌核的休眠期,研究菌核萌发为子囊盘的萌发过程。将已经萌发为子囊盘的菌核,采用 1.3 所述的组织表面消毒方法进行消毒后,接种在 PDA+Bb 培养基上,检测萌发后的菌核是否还具有活力。

1.5 子囊盘

1.5.1 子囊盘结构:将 CCTCC AF 2014019 WCCQ01 *C. shiraiana* 的菌核经诱导产生的子囊盘制作玻璃装片,显微镜下面观察子囊、子囊孢子和侧丝的形态结构,并记录、拍照。

1.5.2 子囊盘内子囊孢子的数目及其释放:选取直径为 1.5 cm 的 10 个子囊盘(子囊盘完全舒展开)分别放入玻璃匀浆器中,加入 2 mL 蒸馏水将子囊盘研磨充分,使子囊盘内的子囊孢子释放出来。吸取子囊孢子悬浮液于血球计数板上,显微镜下面进行统计。根据统计结果,计算出每个子囊盘中子囊孢子的数量。从 PDA 培养基上收集成熟的

菌核,诱导菌核产生出子囊盘,将子囊盘置于玻璃培养皿中,定期观察其释放过程。

1.5.3 子囊孢子的萌发:取完全舒展的子囊盘放入玻璃匀浆器中,加 2 mL 2%的蔗糖溶液充分研磨,用 5 mL 离心管收集悬浮液,置于 25 °C 培养箱中,每 2 h 在光学显微镜下面观察子囊孢子的萌发情况。

1.5.4 pH 值对子囊孢子萌发的影响:用 2%的蔗糖溶液分别配制不同 pH 值梯度(pH 值=2、3、4、5、6、7、8、9)的溶液,选取生长时期一致的子囊盘放入玻璃匀浆器中。分别加入 2 mL 不同 pH 值的蔗糖溶液充分研磨,悬浮液置于 25 °C 培养箱中,每 2 h 在光学显微镜下面观察子囊孢子的萌发情况。

1.6 桑椹肥大性菌核病病原菌物候期的调查

2012 年和 2013 年 4 月,从大田中收集完全成熟的、具典型桑椹肥大性菌核病的发病桑椹,然后将收集到的发病桑椹统一播种在桑园中一个偏僻的地表。2013 年和 2014 年 1 月初,从放置病椹的地表收集 1000 粒菌核,置于桑园中相对潮湿的地表,上面覆盖一层沙土,然后用杂草覆盖以保湿,做好标记。每 2 d 观察 1 次菌核萌发形成子囊盘的情况,并统计。2013 年 11 月份,收集 1000 粒在 PDA 培养基上产生的菌核,经组织表面消毒,按照同样的方法放置在桑园中,2014 年 1 月至 4 月观察并统计菌核的萌发。

1.7 桑椹肥大性菌核病发病症状

2010 年至 2015 年,连续多年观察桑椹肥大性菌核病发病规律及症状,记录、拍照。

1.8 数据统计与分析

采用 Microsoft Excel 2010 软件处理后期数据,统计得出的数据均采用 SPSS 17.0 中 Duncan 单因素方差分析及 LSD 显著性检验。

2 结果和分析

2.1 *C. shiraiana* 菌丝侵染能力的测定

用 *C. shiraiana* 菌丝块接种的桑椹并未见发病, 和阴性对照的桑椹生长无差别。我们在前期的研究过程中, 用子囊孢子接种的桑椹 90% 以上均出现典型的病症^[9]。因此, *C. shiraiana* 的菌丝侵染能力远远不及该病原菌子囊孢子的侵染能力, 其原因可能是由于桑椹的特殊结构, 使得菌丝不易在桑椹表面定殖。

2.2 菌核的休眠

PDA 培养基上产生的菌核, 放置在 16 °C 和 20 °C 培养箱中预处理的菌核, 再经 15–20 °C 培养均不能萌发形成子囊盘; 经 4–8 °C 处理 1–4 周, 置于 15–20 °C 培养箱中的菌核不能直接萌发产生子囊盘, 从第 5 周开始, 菌核逐渐开始萌发出子囊盘; 经 4–8 °C 低温处理 6 周, 置于 15–20 °C 培养箱中, 80% 以上的菌核均可以萌发产生子囊盘, 4–8 °C 预处理 6 周以上的菌核, 其萌发形成子囊盘的数量并没有随着预处理时间的增加而显著上升(图 1)。由此可见, *C. shiraiana* 和大部分 *S. sclerotiorum* 菌核萌发产生子囊盘的条件相同, 均需要在低温条件下预处理, 解除休眠后才能萌发形成子囊盘^[13–14]。因此, *C. shiraiana* 菌核萌发

的这一生物学特性, 是该菌生存繁衍的重要特性。因为桑椹肥大性菌核病的病椹在第 1 年的 4 月下旬至 5 月上旬掉落到地面, 菌核便开始休眠。经过 11 月下旬–1 月下旬的低温期(5–10 °C), 解除休眠的菌核便可以萌发产生子囊盘。

2.3 菌核的萌发

低温诱导从 PDA 培养基上收集的菌核萌发, 约有 80% 的菌核可以萌发产生子囊盘, 一个菌核可萌发产生 1–15 个子囊盘, 大部分菌核产生 1–3 个子囊盘(图 2-A, 2-B)。有些菌核产生的子囊盘柄上不能形成正常的子囊盘, 而是形成类似子囊盘柄的肉状柄(图 2-C)。菌核萌发形成子囊盘后,

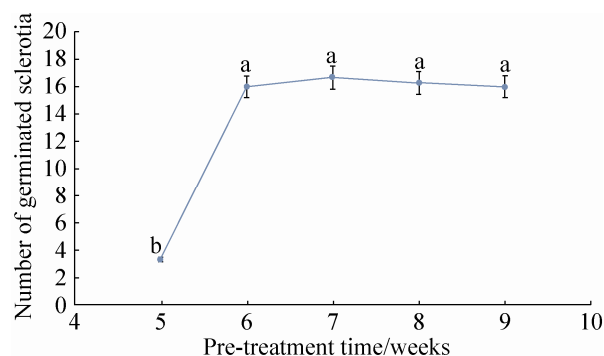


图 1. 低温预处理时间与 *C. shiraiana* 菌核萌发数量关系
Figure 1. The relationship between cool pre-treatment time and the number of germinated sclerotia of *C. shiraiana*. The graph shows means standard errors of values, a, b indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

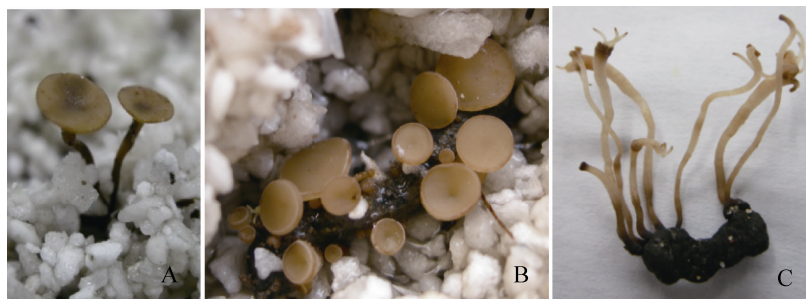


图 2. *C. shiraiana* 菌核萌发产生子囊盘

Figure 2. Sclerotia germinate to apothecia of *C. shiraiana*. A: germinated sclerotia with two apothecia formed; B: many apothecia produced from one sclerotium; C: abnormal apothecia produced from sclerotia.

待子囊盘完全枯萎，菌核仅残留类似种皮一样的黑色皮层在土壤表面，活性测定结果表明萌发后的菌核是没有活性的，这样它便完成了其有性生殖阶段的生活史。

2.4 子囊盘

2.4.1 子囊盘结构：菌核萌发形成的子囊盘从刚开始舒展时，便产生子囊、子囊孢子和侧丝。在PDA+Bb平板上检测结果表明，此时的子囊孢子可以萌发产生菌丝，表明其已具有活性。当子囊盘完全舒展开时，大量的子囊分布在子囊盘中(图 3-A)。子囊棒状，每个子囊里面均含有 8 个子囊孢子，子囊孢子呈单列排列在子囊的顶部。子囊盘刚开始舒展时，子囊大小为： $(75-150) \mu\text{m} \times (6.3-4.5) \mu\text{m}$ ，

子囊孢子单列分布在子囊顶部 4/5 位置(图 3-B)。随着子囊盘逐渐长大，子囊也随之伸长，完全舒展开的子囊盘，其子囊大小为 $(115-225) \mu\text{m} \times (7.5-12.5) \mu\text{m}$ ，子囊孢子单列分布在子囊顶部 2/5 位置(图 3-C)，这时的子囊底部有一个兜状结构(图 3-D)，可能与子囊在子囊盘上的附着以及子囊孢子的释放有关。

对子囊盘内的子囊孢子和侧丝观察结果显示，子囊孢子无色、透明，圆形至椭圆形，大小为 $(6-10) \mu\text{m} \times (3-5) \mu\text{m}$ 。侧丝细长，与子囊的形态相像，大部分基部具分枝(图 4-A)。子囊孢子在子囊中的排列方式有多种，但都呈一竖列排列(图 4-B-E)。



图 3. *C. shiraiana* 子囊形态结构

Figure 3. The morphology of ascus of *C. shiraiana*. A: apothecium section; B: unmaturing ascus and ascospores; C: matured ascus and ascospores; D: the pocket-like structure at the bottom of ascus. Bars=10 μm .

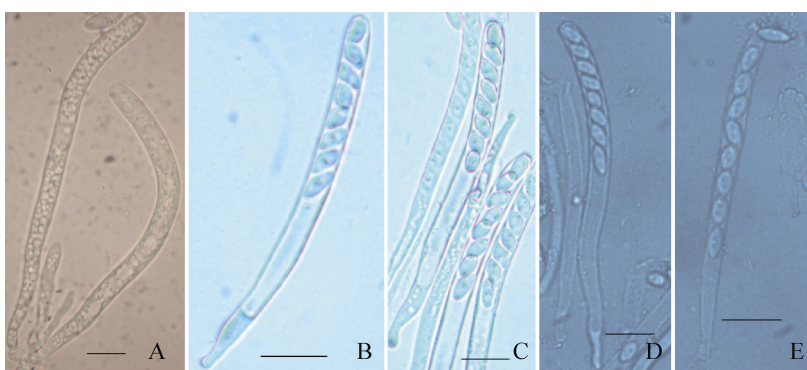


图 4. *C. shiraiana* 子囊盘中的侧丝及子囊孢子

Figure 4. The paraphysis and ascus in apothecia of *C. shiraiana*. A: the morphological of paraphysis; B-E: the arrangement forms of ascospore in ascus. Bars=10 μm .

2.4.2 子囊盘内子囊孢子数目及其释放：我们通过显微镜观察并统计 10 个直径为 1.5 cm 的子囊盘研磨而成的悬浮液内的子囊孢子数，统计结果显示，每个子囊盘内含有的子囊孢子总数为 $(5.6-6.3) \times 10^7$ 个。一亩投产的果桑，其桑椹约 15-20 万个，因此，如此大的病原基数是该病在短期内爆发的一个重要因素。人工培养条件下对子囊孢子的释放进行研究，当培养子囊盘的局部湿度环境与外界湿度环境不一致，存在湿度差异，或者成熟的子囊盘受到外界机械振荡力时，大量的子囊孢子会立即从子囊盘中被释放，以孢子雾的形式

弥漫到空气中(图 5)，并随气流分散开。温度较高的白天比温度低的夜晚释放的子囊孢子数量要多，且子囊盘直径较大、成熟的子囊盘可以释放较多的子囊孢子。

2.4.3 子囊孢子的萌发：对 *C. shiraiana* 子囊孢子的萌发观察结果显示，子囊孢子在 2%蔗糖溶液中萌发很迅速。图 6-A 展示了还未从子囊中释放的子囊孢子萌发 2 h 的状态。单个子囊孢子萌发如图 6-B 所示，芽管从子囊孢子的一端开始萌发，4 h 后其芽管长度可达 66 μm 以上(图 6-C)，经 8 h 培养，从子囊孢子的另一端萌发长出第 2 个芽管(图 6-D)。

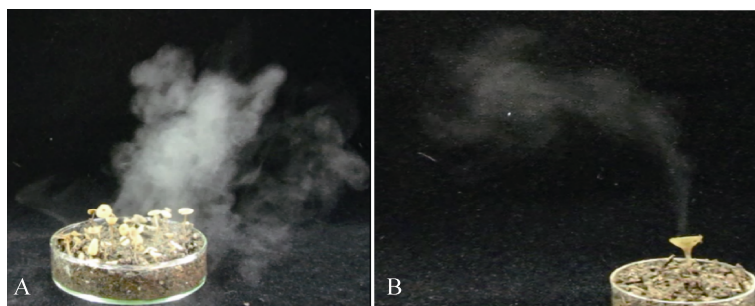


图 5. *C. shiraiana* 子囊孢子从子囊盘中释放

Figure 5. Ascospore released from apothecia of *C. shiraiana*. A: ascospore released from many apothecia; B: ascospore released from one apothecium.

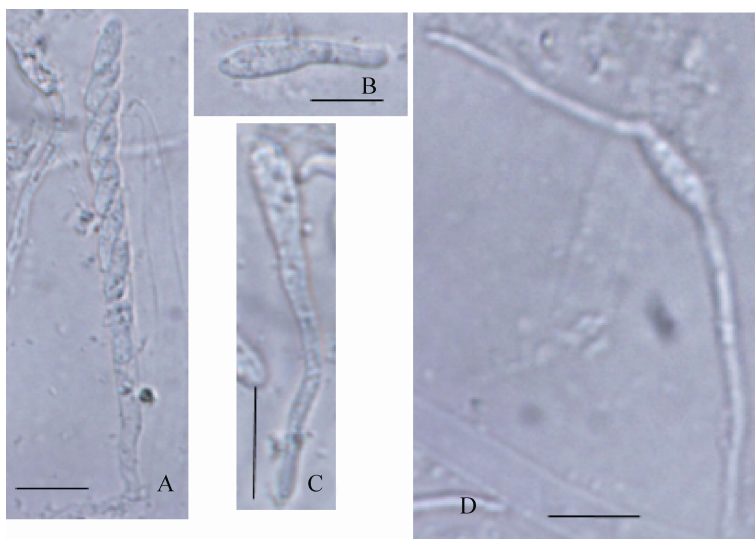


图 6. 子囊孢子在 2%的蔗糖溶液中萌发形态

Figure 6. The germination morphology of ascospore in 2% sucrose solution. A: the morphology of ascospores in ascus after germinate 2 h; B-D: the morphology of single ascospore after germinate 2 h, 4 h and 8 h respectively. Bars=10 μm .

2.4.4 pH 值对子囊孢子萌发的影响 :*C. shiraiana* 子囊孢子在不同 pH 值的蔗糖溶液中,其萌发率有显著差异,总体来讲,子囊孢子在酸性环境中的萌发率明显高于在中性和碱性环境中的萌发率(图 7)。当 pH 值为 2–6 时,萌发率均在 70%以上,当 pH 值 ≥ 7 时,其萌发率显著下降。子囊孢子是在桑椹开花期侵染桑雌花,我们测定的处于盛花期‘大十’、‘嘉陵 30 号’、‘嘉陵 40 号’、‘红果 1 号’和‘中桑 5801’桑树品种的雌花 pH 值均在 2.5–3.5 范围内。此时,桑雌花的 pH 值对 *C. shiraiana* 子囊孢子萌发是相当有利的。一旦 *C. shiraiana* 子囊孢子在桑雌花及青椹上面定殖,便可利用桑雌花柱头的营养物质萌发产生芽管。桑雌花柱头为湿型柱头,开花时,柱头左右伸开呈牛角状,表面产生分泌液,含有水分、糖类、脂类、激素、酶及蛋白质,盛花期的柱头发白发亮^[15]。从这一形态特征观察,我们认为,桑雌花柱头表面是该病子囊孢子萌发的最好培养基,也是子囊孢子入侵致病的重要窗口之一。

2.5 桑椹肥大性菌核病病原菌物候期的调查

2013 年和 2014 年对 *C. shiraiana* 菌核萌发形成子囊盘的时间进行统计,结果表明:病椹产生

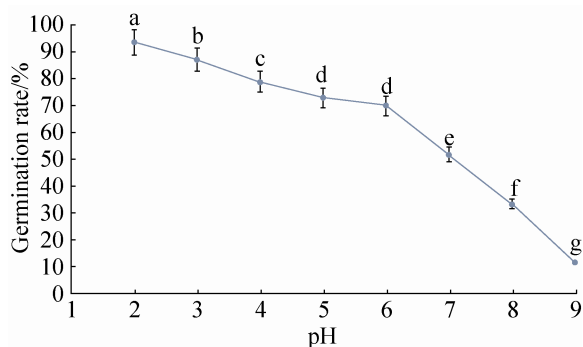


图 7. pH 值与子囊孢子萌发率的关系

Figure 7. The relationship between pH value and germination rate of ascospore. The graph shows means standard errors of values, different letters indicate statistically significant differences ($P < 0.05$).

的菌核从 1 月 20 日开始萌发,到 4 月 20 日结束萌发(图 8)。其中,3 月 10 日–3 月 25 日为菌核萌发为子囊盘的盛期,3 月 25 日以后,菌核萌发的数目逐渐减少。PDA 培养基上产生的菌核萌发为子囊盘的时间较大田中的菌核萌发时间晚 7–10 d。这个时间段刚好全部覆盖了现有果桑品种的开花期。在这个时间段内,大田中的菌核源源不断地萌发形成子囊盘,产生出侵染活性很强的子囊孢子,漂流在空气中,等待桑雌花的开放。一旦子囊孢子飘落到雌花柱头上便会很快萌发产生芽管,侵染桑椹。

观察结果表明,大田中的菌核从 1 月底开始萌发形成子囊盘。最初萌发形成子囊盘的地点为:被枯叶或杂草覆盖、低洼潮湿的地方或避风的坡下,可能是因为这些地方温度和湿度较其它地方高的原因。大田中菌核萌发形成的子囊盘多呈圆盘状,颜色由浅褐色至深褐色不等(图 9-A),子囊盘距地面的距离为:0.2–1.7 cm,1 个菌核可萌发产生 1–13 个子囊盘,大部分菌核产生的子囊盘为 2–5 个,平均 3–4 个(图 9-B 和 C)。大田中子

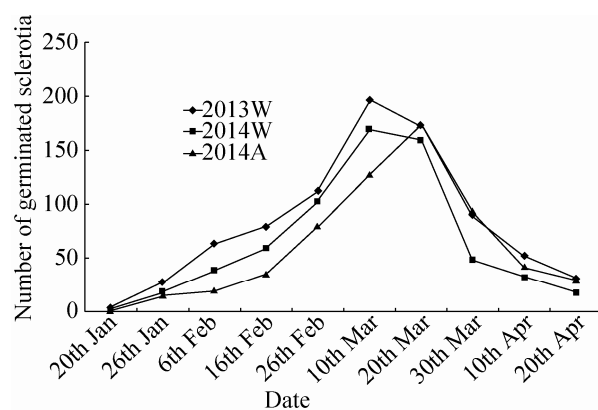


图 8. 萌发的菌核个数与时间的关系

Figure 8. The relationship between the number of germinated sclerotia and date. 2013W, 2014W: sclerotia derived from diseased mulberry fruits in 2013 and 2014; 2014A: sclerotia collected under artificial cultivation.

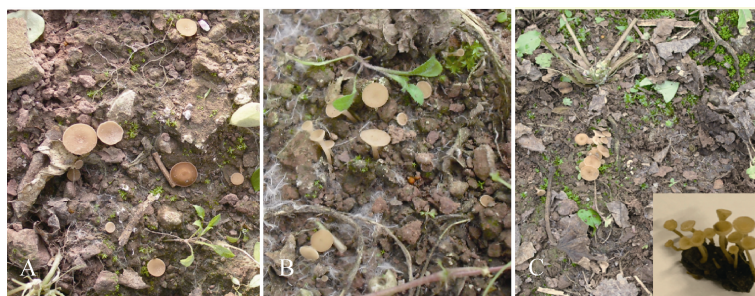


图 9. 大田中 *C. shiraiana* 萌发的子囊盘

Figure 9. Germinated apothecia of *C. shiraiana* in the field.

囊盘中子囊孢子释放时间是不定期的，多受空气振荡的影响。这一观察结果表明，具有很强致病能力的子囊孢子早已在等待桑雌花的开放。

2.6 桑椹肥大性菌核病的发病症状

在重庆地区，桑椹肥大性菌核病的发病桑椹

从 3 月底便可观察到，刚开始发病时，桑椹中有几个小核果最先发病，其它大部分的小核果开始发黄(图 10-A)。由此可知，被子囊孢子侵染的小核果先开始发病，随后这种病症传染到同一个桑椹的其它小核果，从而引起整个桑椹发病。与病

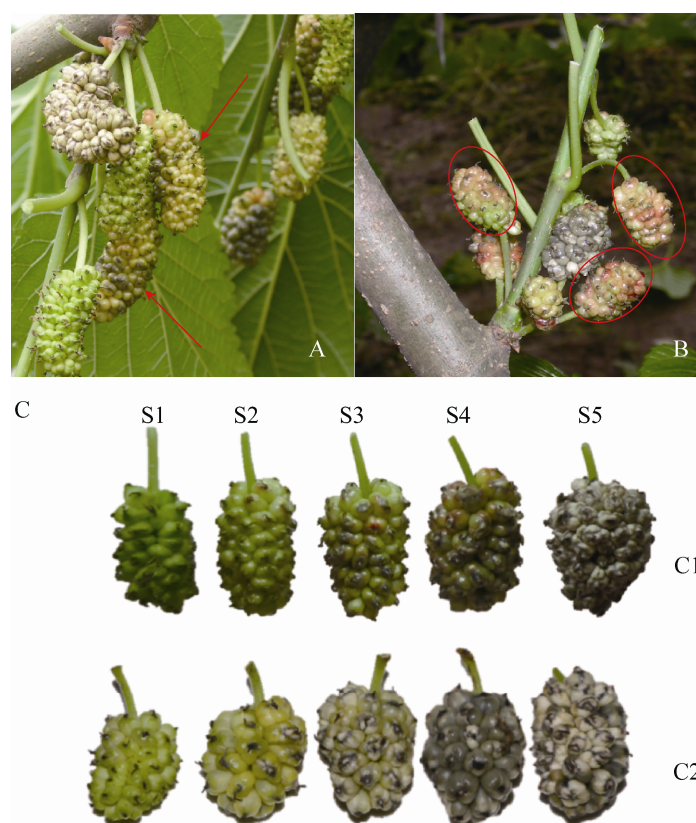


图 10. 桑椹肥大性菌核病发病症状

Figure 10. The onset symptoms of hypertrophy sorosis scleroteniosis. A and B: the onset of mulberry fruits; C: the onset five stages of hypertrophy sorosis scleroteniosis; C1: the diseased mulberry fruits of “Da10” variety; C2: the diseased mulberry fruits of “Zhenzhubai” variety.

榭相接触的健康桑榭也可被侵染致病, 表现为: 与病榭接触的花柱先发病从而引起整个桑榭发病(图 10-B)。

我们以‘大十’桑榭品种为研究材料, 将桑榭肥大性菌核病的发病顺序分为 5 个阶段(图 10-C1): 其中, S1 为健康的桑榭; 在 S2 时期, 桑榭受 *C. shiraiana* 子囊孢子侵染, 随着菌丝在小核果里面的大量繁殖, 病榭表现为小核果开始发白; 到 S3 时期, 随着菌丝的繁殖, 菌核开始在小核果里面形成, 因此小核果的顶部出现黑色的斑点; S4 时期, 小核果里面菌核颜色逐渐加深, 因此, 表现在病榭上的症状为整个桑榭发黑, 这时的病榭是软的, 弄破后一股霉臭味; 直到 S5 时期菌核便成熟, 小核果的果皮由于失去水分而变为白色。‘珍珠白’桑榭的发病阶段与‘大十’桑榭稍有不同(图 10-C2), 具体表现为: 洁白的桑榭开始发黄(S2), 随着菌丝的繁殖, 桑榭变为灰白(S3), 菌核慢慢形成, 整个桑榭呈黑色(图 S4), 最终形成一个个被白色果皮包裹的黑色菌核(S5)。因此, 果农形象地把该病害称为“白果病”, 到 4 月上旬至中旬, 桑榭肥大性菌核病大范围爆发, 整个桑枝上 90% 以上均为病榭, 严重影响了桑榭的质量、产量及留种。

3 讨论

种植果桑的农户, 第 1 年桑榭可以丰产, 第 2 年桑榭发病减产, 第 3 年大减产甚至绝收, 这与桑榭肥大性菌核病病原菌生物学特性及流行性侵染密切相关。结合本研究的结果, 我们认为在果桑的栽培中, 桑榭肥大性菌核病属于比较典型的流行性侵染病, 一是它的传播途径为空气传染, 有利于病原物的传播, 二是 *C. shiraiana* 致病性强, 且数量大, 三是寄主(桑花和桑榭)的感病性强。因此在果桑栽

培中容易引起毁灭性危害, 生产上必须高度重视。

由于果桑品种特性不同, 其开花时期差异较大, 在重庆, 桑树开花时间可以从 2 月下旬(‘大十’)一直持续到 4 月初(‘白玉王’)。一个花芽里含有 2–8 个桑榭, 这些同一个花芽里的雌花开放后形成桑榭, 其成熟时间前后相差近 15 d 左右。据我们观察, 子囊孢子侵染健康的桑榭 15 d 即可表现出典型的病症。从 3 月中旬开始便可陆续观察到桑榭肥大性菌核病的病榭, 在桑树开花这么长的时期内, 发病的桑榭引起二次侵染的可能性是存在的。加之, 果桑为多年生木本植物, 第 1 年产生的发病桑榭内的菌核可作为第 2 年的侵染源, 如此反复循环。根据我们对桑榭肥大性菌核病病榭发病阶段的描述, 可以根据该病的症状进程, 一旦发现感病的桑榭, 必须及时摘除, 集中深埋, 以免发病的桑榭再次感染健康的桑榭。

由于桑榭肥大性菌核病是由子囊孢子作为初始侵染源, 经空气传播而引起发病, 菌核能很好地储存水分和营养物质, 并在土壤中能持续地保持活力长达 8 年之久^[16–17], 加之因为缺少确定的致病因子研究, 桑树抗菌核病的栽培品种还未被选育出来。在中国台湾及内地先后有桑榭菌核病的发生及危害报道, 因此该病的防治一直是农业生产中让人头疼的难题。目前普遍认为较有效的方法: 一是清除病榭, 减少感染源; 二是在桑树开花期, 交替喷 70% 甲基托布津可湿性粉剂和 50% 腐霉利。近年来, 中药防治和生物防治也逐渐被用于该病害的防治方面^[18–19]。总体来讲, 目前桑榭菌核病的防治仍然是我国果桑种植中的一大难题, 对于桑榭菌核病的防治也仅停留在防控阶段, 因而桑榭菌核病抗性品种筛选的研究工作任重而道远。

参 考 文 献

- [1] Yang YP, Xie ZL, Zhang N. Thinking of promote the development of fruit mulberry in Sichuan. *Sichuan Sericulture*, 2014, 42(3): 4–5. (in Chinese)
杨远萍, 谢忠良, 张楠. 推进四川果桑产业化发展的思考. *四川蚕业*, 2014, 42(3): 4–5.
- [2] Siegler EA, Jenkins AE. A new sclerotinia on mulberry. *Science*, 1922, 55(1422): 353–354.
- [3] Whetzel HH, Wolf FA. The cup fungus, *Ciboria carunculoides*, pathogenic on mulberry fruits. *Mycologia*, 1945, 37(4): 476–491.
- [4] Gray E, Gray RE. Observations on popcorn disease of mulberry in south central Kentucky. *Castanea*, 1987, 52(1): 47–51.
- [5] Hong SK, Kim WG, Sung GB, Nam SH. Identification and distribution of two fungal species causing sclerotial disease on mulberry fruits in Korea. *Mycobiology*, 2007, 35(2): 87–90.
- [6] 黄尔田, 田立道, 肖练章. 实用桑树保护学. 成都: 四川科学技术出版社, 1992.
- [7] 中国农业科学院蚕业研究所. 中国桑树栽培学. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.
- [8] Kuai YZ, Wu FA. A review on pathogens of mulberry fruit sclerotiniosis and its control technology. *Science of Sericulture*, 2012, 38(6): 1099–1104. (in Chinese)
蒯元璋, 吴福安. 桑椹菌核病原及病害防治技术综述. *蚕业科学*, 2012, 38(6): 1099–1104.
- [9] Lü RH, Zhao AC, Li J, Wang XL, Yu YS, Lu C, Yu MD. Biological study of hypertrophy sorosis sclerotiniosis and its molecular characterization based on LSU rRNA. *African Journal of Microbiology Research*, 2013, 7(26): 3405–3411.
- [10] 方中达. 植病研究方法. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [11] Saito I. Studies on the maturation and germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, a causal fungus of bean stem rot. Report of Hokkaido Prefectural Agricultural Experiment Stations, 1977: 26.
- [12] Sun P, Yang XB. Light, temperature, and moisture effects on apothecium production of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 2000, 84(12): 1287–1293.
- [13] Dillard HR, Ludwig JW, Hunter JE. Conditioning sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* for carpogenic germination. *Plant Disease*, 1995, 79(4): 411–415.
- [14] Kohn LM. Delimitation of the economically important plant pathogenic *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 1979, 69(8): 881–886.
- [15] 周云龙. 植物生物学. 第 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2004.
- [16] Young N, Ashford AE. Changes during development in the permeability of sclerotia of *Sclerotinia minor* to an apoplastic tracer. *Protoplasma*, 1992, 167(3/4): 205–214.
- [17] Bell AA, Wheeler MH. Biosynthesis and functions of fungal melanins. *Annual Review of Phytopathology*, 1986, 24: 411–451.
- [18] Liang Y, Xu L, Ma XM, Wen FF, Yu MD, Wu FA, Huang XZ. Screening of Chinese herbal medicine with inhibitory activity to *Ciboria shiraiana*. *Science of Sericulture*, 2011, 37(2): 187–192.
梁杨, 徐立, 马晓敏, 温斐斐, 余茂德, 吴福安, 黄先智. 对桑椹肥大性菌核病菌具有抑制活性的中草药筛选. *蚕业科学*, 2011, 37(2): 187–192.
- [19] Sultana R, Kim K. *Bacillus thuringiensis* C25 suppresses popcorn disease caused by *Ciboria shiraiana* in mulberry (*Morus australis* L.). *Biocontrol Science and Technology*, 2016, 26(2): 145–162.

Biological and epidemiological characteristics of the pathogen of hypertrophy sorosis scleroteniosis, *Ciboria shiraiana*

Ruihua Lü^{1,2}, Aichun Zhao¹, Jian Yu¹, Chuanhong Wang¹, Changying Liu¹, Yuxiang Cai¹, Maode Yu^{1*}

¹ College of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715, China

² College of Medical Technology, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi Province, China

Abstract: [Objective] We studied the biological and the epidemiological characteristics of the pathogen of hypertrophy sorosis scleroteniosis, which is a devastating fungal disease of mulberry. [Methods] We studied the asexual and sexual reproductive phase stages of *C. shiraiana*, including the infection ability of hyphal, dormancy of sclerotia, the structures, release, number and germination of ascospores from apothecia, as well as the phenology of sclerotial germination. [Results] In *C. shiraiana*, hyphae had no infection ability toward the female flowers of mulberry. Sclerotia of *C. shiraiana* must undergo cold treatment above 6 weeks, then the dormancy-breaking sclerotia could germinate to apothecia. One to fifteen apothecia were germinated from one sclerotium, and the number of ascospores in a 1.5 cm diameter apothecia could contain up to $(5.6-6.3) \times 10^7$. Ascospore *C. shiraiana* had significantly higher germination rates in acid than in neutral and alkaline environments. From late January to middle April, sclerotia germinated to apothecia, and got the highest value in the middle of March. [Conclusion] *C. shiraiana* is a formidable pathogen to cause epidemic disease and damage in mulberry.

Keywords: *Ciboria shiraiana*, epidemiological analysis, mulberry, biological characteristics, plant pathogen

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the China Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (201403064), by the National Natural Science Foundation of China (31360190) and by the China Agriculture Research System (CARS-22)

*Corresponding author. Tel: +86-23-68251309; E-mail: yumd@163.com

Received: 25 June 2016; Revised: 21 November 2016; Published online: 29 November 2016