

文章编号:1001—7380(2021)01—0037—04

南京地区银杏叶枯病的发生及病原调查

尤 雯,张 波,朱丽梅*,徐 敏

(金陵科技学院,江苏 南京 210036)

摘要:于2017年10月—2018年11月间,对银杏叶枯病的发生以及银杏叶枯病发病原因进行了调查,结果表明:银杏叶枯病在南京地区发生较为普遍。从5月开始发生(平均病情指数为7.28),7、8月病害达高发期(平均病情指数分别为24.15、41.57),10月病害发生较为严重,此时大量病树叶枯黄脱落,平均病情指数达到62.35;对采集的银杏叶枯病病叶进行标本镜检,并参考相关的资料,认为叶枯病病原或致病因素包括真菌性病原、细菌性病原和环境因素,而真菌性病原包括链格孢菌、镰刀菌、盘多毛孢菌、盘圆孢和叶点霉菌;另有部分患病植株叶片,未发现和分离出相关病原。推测可能是由环境因素或营养条件所造成的非侵染性病害,具体原因尚需进一步研究。

关键词:银杏;叶枯病;病原菌;分离;鉴定;南京

中图分类号:Q93-331;S664.3;S763.11

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2021.01.008

Occurrence and diagnosis of *Ginkgo biloba* leaf blight in Nanjing

You Wen, Zhang Bo, Zhu Limei*, Xu Min

(Jinling Institute of Technology, Nanjing 210036, China)

Abstract: The *Ginkgo* leaf blight occurrence and its pathogenic factors were investigated from October 2017 to November 2018. The results showed that: 1. *Ginkgo* leaf blight was relatively common in Nanjing area, where it began to occur in May. The average disease index in May was 7.28. The disease entered the period of high incidence in July and August, with average disease index of 24.15 and 41.57 respectively. The disease occurred more severely in October when a large number of *ginkgo* leaves withered and shed. The average disease index in October was 62.35. 2. By the way of microscopic examination and pathogens separation, and referring to the relevant data, it was found that the pathogenic factors of leaf blight might include fungi, bacteria and environmental factors. Fungal pathogens might include *Alternaria* sp, *Fusarium* sp, *Pestalotia* sp, *Gloeosporium* sp and *Phyllosticta* sp. Yet, the related pathogen of some diseased leaves not been isolated, they might be caused by environmental factors or nutritional conditions. The specific reasons need further study.

Key words: *Ginkgo biloba*; Leaf blight; Pathogenic microbe; Isolation; Identification; Nanjing

银杏(*Ginkgo biloba*)为银杏科银杏属落叶乔木,其树姿挺拔,姿态优美,是一种观赏价值性很高的观赏树木,又因其适应性强、成活率高而被大量栽植于城市的街道2侧^[1-3]。银杏树生命力极强,俗称公孙树,但是,随着我国银杏的规模化种植,银杏病虫害危害程度也有加重的趋势^[4]。

银杏叶枯病是银杏叶部斑点病害的统称,贺平等^[5]将其病害症状分为叶缘型、中间型和混合型3种。目前有研究表明,该病病原菌有3种,其中,

链格孢属中1种(*Alternaria* sp)是主要的,炭疽菌(*Colletotrichum* sp)为次,多毛孢菌(*Pestalotia* sp)为最次^[6]。也有研究表明银杏叶枯病是一种非侵染性病害,2014年北京园林科学研究所对银杏焦枯叶片用PDA培养基进行了病原分离,结果证明了银杏叶焦枯现象不是由病原细菌或放线菌感染引起的病害,而是主要由于银杏树对热辐射、水分、光照等反应更为敏感引发的^[7]。

近年来,南京市作为行道树栽培的银杏树,

收稿日期:2020-07-19;修回日期:2020-09-10

基金项目:江苏省大学生创业创新计划项目(201613573037X)

作者简介:尤 雯(1997-),男,江苏南京人,硕士研究生。主要从事银杏病害的相关研究。E-mail:1421056342@qq.com。

* 通信作者:朱丽梅(1972-),女,甘肃酒泉人,教授,博士。主要从事园艺植物病虫害及防治的教学与科研工作。E-mail:910703164@qq.com。

在 6—9 月间会出现不同程度的叶片焦枯变黄的现象,对景观和绿化影响较大,朱克恭等曾报道南京地区银杏叶枯病病原主要是链格孢菌、炭疽菌和多毛孢菌等 3 种真菌^[8-10],但近年来发生的银杏叶枯病是否还有其他病原菌和发病原因缺乏进一步的相关研究。2017 年的调查表明银杏叶枯病在南京发生普遍,一般在 5—6 月开始发病。发病初期病情轻微,叶片仅先端部分黄化,到了 8—9 月,病情加重,有的全部叶片黄化,严重的甚至整株死亡^[11]。为此,有必要对其进行病害调查、病因分析及植物抗病性研究,为防病治病及银杏树木的修复养护等园林绿化工作提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

本试验的鉴定材料是从南京 5 个地点分别采摘的银杏叶枯病病叶,采集点包括定植于金陵科技学院幕府校区内的银杏林,栽植于新庄、晓庄、玄武湖和中山陵等处的行道树。

1.2 研究方法

1.2.1 南京地区银杏叶枯病发生动态的调查 2018 年 4—12 月间选取了南京市新庄、晓庄、玄武湖、金陵科技学院幕府校区、和中山陵等 5 个地点的银杏树进行银杏叶枯病的发生动态调查,每个地点选取 5 株银杏树作为调查对象。其中,新庄南和新庄西 2 处的银杏树为行道树,金陵科技学院幕府校区内、中山陵和玄武湖的银杏树为片植。每株树对角线 5 点取样,每次每点调查叶片 20 张,测量每个叶片发病情况,根据分级标准统计各级叶片数,并计算病情指数。从发病初期开始调查,每个月调查 3 次记录数据并拍照,同时记录叶枯病病叶的发病症状,至落叶为止。分级标准参考^[11]如下:

0 级:无病斑;1 级:病斑面积占叶面积 10% 以下;2 级:病斑面积占叶面积 10%—25%;3 级:病斑面积占叶面积 25%—50%;4 级:病斑面积占叶面积 50%—80%;5 级:病斑面积占叶面积 80% 以上,全叶将枯死。病情指数 = $100 \times \sum (\text{各级病叶数} \times \text{各级代表值}) / (\text{总叶数} \times \text{最高级代表值})$ 。

1.2.2 银杏叶枯病的初步诊断和病原物的分离 根据采集病叶病症的有无,将银杏叶片分为 2 大类:一类是具明显的霉状物、粒状物的病叶,通过镜检,再参考相关文献进行初步诊断;另一类无明显病症,通过保湿处理长出子实体后再镜检,参考相关文献进行初步诊

断^[12]。将患病的银杏病叶,于病健交界处切下小块(长、宽约 1—2 cm),放入 70% 酒精中浸 3—5 s 后,再用 0.5% 次氯酸钠消毒 3—5 min,于灭菌水中连续漂洗 3 次。用无菌操作法,将病部组织移至 PDA 培养基平面上,每培养皿内放 3 个,呈三角形,每个处理 3 个重复(即灭菌时间 3,4,5 min),翻转培养皿,放入 25 ℃ 恒温箱内培养 4—5 d,自培养皿中选择菌落,挑取少许菌丝及孢子,接种到 PDA 斜面上。每个菌落分别标记,并详细纪录菌落形态特点^[13]。

2 结果与分析

2.1 南京银杏叶枯病的发生动态

如图 1,南京银杏叶枯病的始发期是 5 月,平均病情指数为 7.28,6 月为 12.60,7 月为 24.15,8—9 月叶枯病病害进入发病高峰期,9 月平均病情指数为 56.42,10 月为 62.35,11 月病害不继续发展,染病叶片开始枯黄脱落。

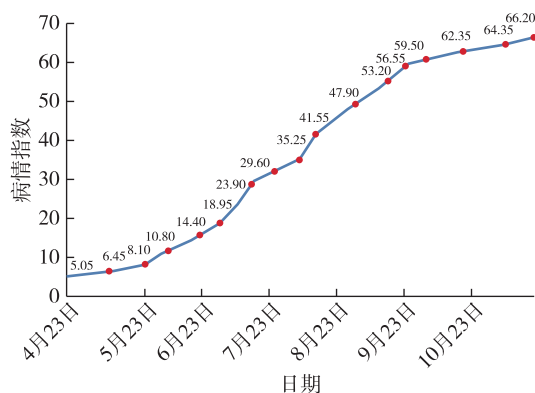


图 1 南京城北地区银杏叶枯病发生情况

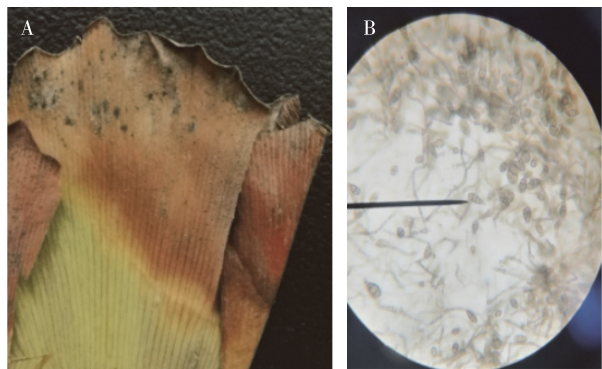
2.2 南京地区银杏叶枯病的症状及病害诊断

通过镜检和病原菌分离,并参考相关文献对其进行鉴定,南京城北地区银杏叶枯病包括侵染性病害和非侵染性病害,侵染性病害系真菌性病原和细菌性病原所致,真菌性病原包括链格孢菌、盘圆孢(*Gloeosporium* sp)、盘多毛孢菌、叶点霉菌(*Phyllosticta* sp)和镰刀菌(*Fusarium* sp)5 种。另有部分叶片无明显病症,经镜检也没有发现溢菌现象,推测为非侵染性病害,其成因可能包括环境因素和营养条件。

2.2.1 银杏链格孢 由该病原侵染的病叶上形成大小不一的病斑,初为淡黄褐色,后期逐渐呈现为暗褐色。病斑从叶缘发生,后期病斑向叶片中央扩展。病斑无明显轮纹状,周围有黄色的晕圈,天气潮湿时病斑上散生黑色毛绒状霉状物(如图 2-A)。

从患病叶片上镜检出链格孢菌,分生孢子梗丛

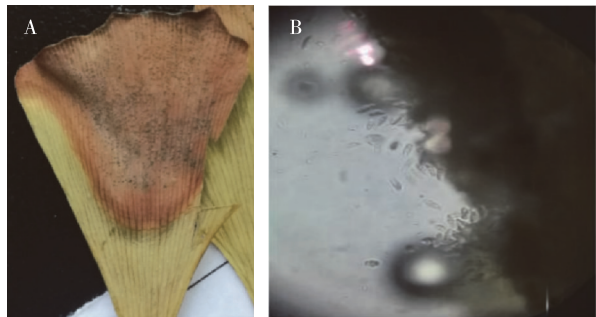
生,一般不分枝,分生孢子卵形、椭圆形或棒头形(如图2-B),大小为 $(5.0—17.5) \mu\text{m} \times (2.9—5.2) \mu\text{m}$ 。分生孢子淡褐色,壁砖式分隔,顶端有喙,横隔膜3—6个,纵隔膜1—5个。



A. 病叶特征; B. 分生孢子

图2 链格孢引起的银杏叶枯病病叶症状及分生孢子

2.2.2 银杏盘圆孢 由该病原侵染的病叶上发病初期病斑呈黄绿色,渐变为黄褐色,扩展为近扇形或不规则形,叶片背面病斑会着生少数小黑点(如图3-A)。患病叶片上镜检出盘圆孢,分生孢子椭圆形或卵圆形,大小为 $(9.3—14.9) \mu\text{m} \times (4.3—5.8) \mu\text{m}$,单细胞,分生孢子有时稍弯曲,两端为略钝圆的长椭圆形(如图3-B)。

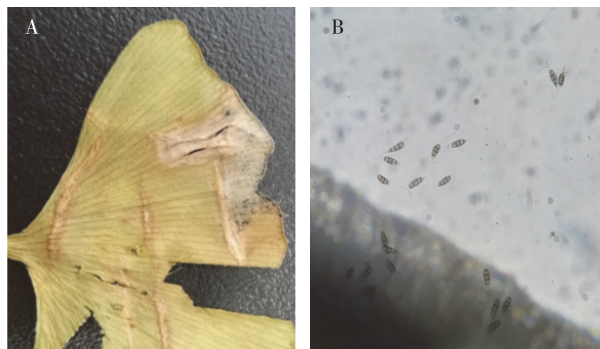


A. 病叶特征; B. 分生孢子

图3 盘圆孢引起的银杏叶枯病的病叶症状及分生孢子

2.2.3 银杏盘多毛孢 由该病原侵染的病叶上病斑呈现不规则形或近圆形,先在叶缘发展再向内扩展。病斑从叶子周缘按扇形或楔形扩展,浅黄色或浅褐色。交界处有鲜明黄色带,波纹状。病斑色变深后,斑上散生小黑点(如图4-A)。

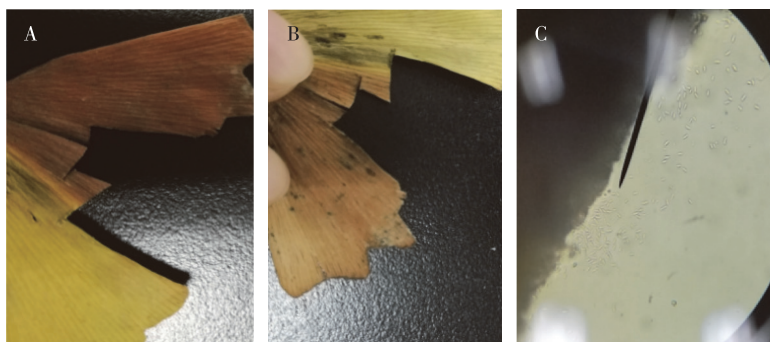
患病叶片上镜检出盘多毛孢菌,病菌的分生孢子盘生于表皮下,分生孢子纺锤形,中间细胞为褐色,两端细胞接近无色,大小为 $(16.0—23.5) \mu\text{m} \times (3.8—5.1) \mu\text{m}$,有4个分隔,分隔处略溢缩,顶端有附属毛2—3根,通常为3根(如图4-B)。根据文献记载,盘多毛孢菌引起的这种银杏叶枯类病害,被称作为银杏环斑病,又称为轮纹病。



A. 病叶特征; B. 分生孢子

图4 盘多毛孢菌引起的银杏叶枯病的病叶症状及分生孢子

2.2.4 银杏叶点霉 由该病原侵染的病叶周缘形成类似扇形的病斑,黄褐色(如图5-A),发病后期叶背面常出现小黑点(如图5-B),即病菌分生孢子器。患病叶片上镜检出叶点霉菌,其分生孢子器椭圆形,有孔口。在显微镜下可以观察到大量明显的分生孢子,卵形或长圆形,大小为 $(3.6—6.3) \mu\text{m} \times (2.3—3.9) \mu\text{m}$,单胞,无色(如图5-C)。



A. 病叶正面特征; B. 病叶背面特征; C. 分生孢子

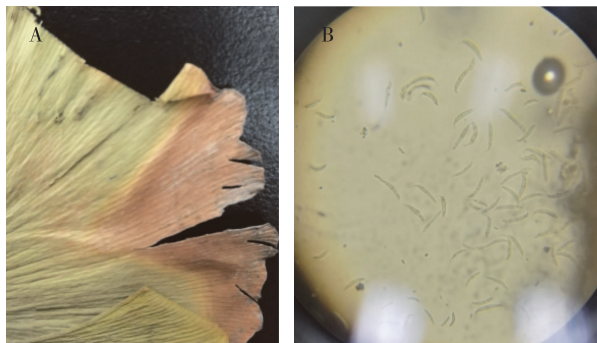
图5 叶点霉菌引起的银杏叶枯病的病叶症状及分生孢子

2.2.5 银杏镰刀菌 病叶发病初期一半首先会失绿发黄后皱缩,患病部位变成浅黄褐色,后期会观察到霉状物(如图 6-A)。

患病叶片上镜检出银杏镰刀菌,大型分生孢子镰刀状,同时具小型分生孢子。大型镰刀状分生孢子,大小为 $(5.5-25.6) \mu\text{m} \times (2.1-3.7) \mu\text{m}$,顶端略尖,稍弯曲,只有横隔,横隔数为 1—6 个(如图 6-B)。小型孢子卵圆形,无色,单胞。

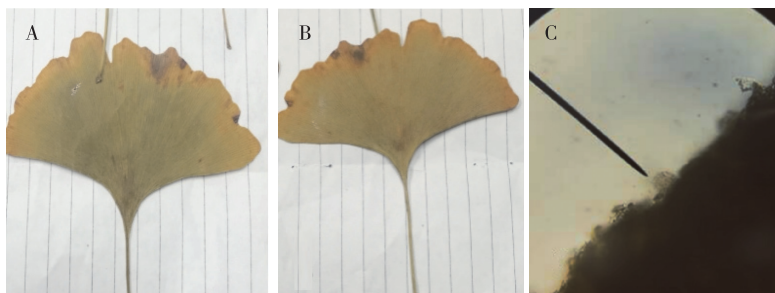
2.2.6 细菌 由细菌感染的病叶病斑,从叶缘开始发生,呈棕褐色,病斑周围有明显的黄色晕圈。后期病斑从叶缘逐步向内扩展,周围出现水渍状病斑,叶片上无明显霉状物、粒状物(如图 7-A,B)。镜检发现有细菌溢菌现象,可以观察到明显的细菌跳动(如图 7-C)。

2.2.7 生理性病害 部分患病叶片无明显病症,叶片均匀黄化(如图 8)。镜检也未发现溢菌现象,推测为非侵染性病害。其成因可能包括环境因素和营养条件,如高温、干旱、缺素症等。



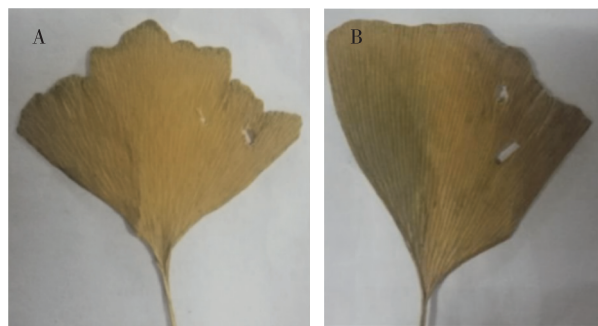
A. 病叶特征; B. 分生孢子

图 6 银杏镰刀菌引起的银杏叶枯病的症状及分生孢子



A. 病叶正面特征; B. 病叶反面特征; C. 溢菌现象

图 7 细菌引起的银杏叶枯病的症状及分生孢子



A. 病叶一; B. 病叶二

图 8 生理性银杏叶枯病的病害叶片

3 结论与讨论

近年来,南京地区银杏叶枯病发生较为普遍,危害严重。本研究结果显示,其从 5 月开始发生,平均病情指数为 7.28。7—8 月病害达高发期,平均病情指数分别为 24.15 和 41.57。10 月病害发生较为严重,此时大量病树叶片枯黄脱落,平均病情指数达到 62.35。该病严重影响了银杏的观赏价值和经济价值。调查和鉴定发现,南京银杏叶枯病包括侵

染性病害和非侵染性病害。侵染性病害系真菌性病原和细菌性病原所致,其中真菌性病原包括链格孢菌、镰刀菌、盘多毛孢菌、盘圆孢、叶点霉菌,其他没有子实体的患病叶片,推测为非侵染性病害,其成因可能包括高温、干旱、缺素症等。

有报道表明,病原菌种类的获得与病叶采摘时间有关。炭疽菌和多毛孢菌分别在发病中期(9 月)和发病晚期(10 月)容易分离得到,而链格孢菌在整个发病季节都是主要侵染性病原菌。另外,PDA 培养基上链格孢极易生长,其他的几种病原菌对 PDA 培养基的适应性未知,所以无法确定几种病原菌的主次是否与这些因素有关^[14-15]。本文对南京地区银杏叶枯病病原真菌只是进行了初步研究,所发现的真菌性病原菌,除了链格孢菌和盘多毛孢菌,也包括盘圆孢菌和叶点霉菌等,但这些病原真菌之间存在何种关系,分离的病原菌是否与采摘时间有关,以及各种病原菌发生盛行期,都还有待进一步研究和探讨。

(下转第 45 页)

- [J].林业科技开发,2006,20(1):69-71.
- [2] 国家质量监督检验检疫总局,国家标准化管理委员会 GB/T6435—2006 饲料中水分和其他挥发性物质含量的测定[S].2006:1-8.
- [3] 国家质量监督检验检疫总局,国家标准化管理委员会 GB/T6432—1994 饲料中粗蛋白测定方法[S].1994:1-4.
- [4] 国家质量监督检验检疫总局,国家标准化管理委员会 GB/T6433—2006 饲料中粗脂肪的测定[S].2006:1-12.
- [5] 国家质量监督检验检疫总局,国家标准化管理委员会 GB/T6438—2007 饲料中粗灰分的测定[S].2007:1-7.
- [6] 国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局. GB/T5009.124-2016 食品安全国家标准-食品中游离氨基酸的测定[S].2016:1-8.
- [7] 赵法伋,郭俊生,陈洪章,等.大豆平衡氨基酸营养价值的研究[J].营养学报,1986,8(2):153-158.
- [8] 姚曦,岳永德,汤锋.竹叶中多种无机元素的 ICP-MS 测定[J].林业科学,2009,45(11):26-31.
- [9] 毛燕,王学利.毛竹等9种竹叶中蛋白质和总糖含量的测定[J].竹子研究汇刊,1998,17(2):18-20.
- [10] 郭良珍,王润莲,梁爱萍,等.长须水龟虫的营养成分分析与评价[J].昆虫知识,2003,40(4):366-368.
- [11] 刘力,林新春,孙培金,等.苦竹笋、叶营养成分分析[J].竹子研究汇刊,2004,24(2):15-18.
- [12] 黄成林,姚玉敏,赵昌恒.安徽休宁倭竹竹叶主要营养成分的研究[J].竹子研究汇刊,2004,23(3):42-46.
- [13] 施海娜,梁万鹏,刘雨田.杂交构树饲用营养价值分析[J].营养与饲料,2019,39(1):25-28.
- [14] 侯金波,石冠旗,杨柳君,等.槐叶营养成分研究粮食[J].科技与经济,2019,44(1):51-52.
- [15] 刘利娥,宋少华,刘金盾.芝麻叶营养成分分析[J].食品科技,2012,37(2):45-48.
- [16] 李玉鹏,黄燕,谢惠定.大青叶营养成分分析[J].安徽农业科学,2008,36(27):11787,11921.
- [17] 王传槐,陈锐.竹叶氨基酸及生物转化的研究[J].竹类研究,1987(3):16-19.
- [18] 周峰.构树叶花序及果实的氨基酸分析[J].药学实践杂志,2005,23(3):154-156.
- [19] 张传惠,周忠泽.霜桑叶的食用价值的研究[J].食品科学,2001,22(10):64-65.
- [20] 黄文,王益.竹叶的化学成分及应用进展[J].中国林副特产,2002(3):65-66.
- [21] 欧阳吾乐,雷福红,杨亚晋,等.4种竹叶营养成分分析及其黄酮提取物体外抗氧化活性研究[J].天然产物研究与开发,2019,31(10):1669-1674,1830.
- [22] 徐梦瑶,赵祥颖,张立鹤,等.甘薯的营养价值及保健作用[J].中国果菜,2017,37(5):17-21.
- [23] Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. Energy and protein requirement. Report of joint FAO/WHO[R].Gneve:WHO,1973:62-64.
- [24] 王永奇,唐婕,李斐然.林麝放牧区野生饲用植物叶营养成分的综合分析[J].草业科学,2013,30(5):752-758.
- [25] 杨超英.桑叶的化学成分及在食品工业中的应用[J].食品研究与开发,2003,24(2):8-11.

(上接第40页)

参考文献:

- [1] 梁晨.北京市区行道树银杏叶焦枯现象初步研究[D].北京:北京林业大学,2016.
- [2] 陈翟胜.银杏的价值及其苗木繁育技术[J].现代农业科技,2013(13):191-192.
- [3] 李月娣.银杏价值及其产业现状分析[J].长春大学学报,2017,27(2):32-37.
- [4] 王月,高国平,王钦.沈阳地区银杏病害的种类及其防治措施[J].辽宁林业科技,2006(2):12-15.
- [5] 贺平均,周升卿,周兆生,等.银杏叶枯病的发生影响因子与防治技术研究[J].中国植保导刊,2004,24(10):5-8.
- [6] 石峰云,朱克恭.银杏叶枯病的研究:Ⅱ.发病规律[J].林业科技开发,1990(2):30-33.
- [7] 景秋枫,王永格,王茂良,等.银杏夏季生长表现与气象、立地环境的关系[J].北京园林,2015(3):39-52.
- [8] 朱克恭,石峰云.银杏叶枯病病原的研究[J].南京林业大学学报,1990,14(3):43-46.
- [9] 朱克恭,石峰云.银杏叶枯病病原菌形态及分类[J].南京林业大学学报,1991,15(1):36-39.
- [10] 朱克恭.银杏叶枯病初侵染的研究[J].南京林业大学学报,1993,17(4):53-55.
- [11] 张孜博,尤雯,朱丽梅,等.南京城北地区银杏叶枯病发生情况的调查[J].江苏林业科技,2019,46(1):34-37.
- [12] 陆家云.植物病害诊断[M].北京:中国农业出版社,1997.
- [13] 方中达.植病研究方法[M].北京:中国农业出版社,1996.
- [14] 黄金光,张万里,赵川德,等.银杏叶枯病病原菌的分离鉴定及生物测定[J].莱阳农学院学报(自然科学版),2006,23(3):208-209.
- [15] 陈丽完.四川银杏叶部真菌病害调查与银杏轮斑病的研究[D].雅安:四川农业大学,2010.