

大豆黑色根腐病的鉴定与诊断*

盖钧镒 崔章林

林茂松

(南京农业大学大豆研究所)

(南京农业大学植物保护系)

提 要

1987年夏在南京农业大学江浦实验农场观察到一些大豆田内出现大豆植株根部与茎基部腐烂和上部“枯萎”现象。1988~1990年该现象逐年加重。经田间危害调查、症状观察、室内显微镜检查、病原菌分离鉴定、接种验证等过程,确诊为大豆黑色根腐病(Black root rot of soybean)。该病害在国外早有报道,但在国内尚未见正式报道。

关键词 大豆;黑色根腐病

一研究经过、

1987年发现大豆植株“枯萎”,连续4年在江浦实验农场等进行了田间危害调查及标本采集等工作。1988年在初步田间调查的基础上确认“枯萎”是一种病害。1989年从田间采集病株进行镜检、病原菌分离培养(PDA培养基,25℃恒温,黑暗,培养7~8天)、鉴定病原菌种类。1990年秋至1991年春,分别在光照培养箱、温室、田间对盆栽大豆进行了接种试验。方法是用分离并扩大培养的病原菌菌落与无菌水匀浆,接种于2个月左右苗龄的盆栽大豆根周土壤,并设空白作对照。接种时避免损伤大豆根系,接种后用塑料薄膜罩保湿,一星期后每天观察茎基部是否发生腐烂,检查发病情况。

二、调查与诊断结果

1. 病害调查结果

南京农业大学江浦实验农场大部分土地连作大豆近30年。过去曾见到过类似的“枯萎”植株,由于发生零星,未引起重视。近几年来,“枯萎”现象普遍发生,逐年加重。曾认为是“大豆白绢病”所致。1989~1990年危害特别严重,不同田块株发病率0.5~20%。病株

* 南京农业大学大豆研究所邱家驯、刘佑斌、任珍静和植物保护系龚浩、曹以勤、章元寿、陆悦健等多位专家先后参加了病害的调查和诊断工作,谨致谢意。

本文于1991年8月5日收到。 This paper was received on Aug. 5, 1991.

在田间通常零散分布,重病区则在田间形成多个发病中心,发病中心可连片达几亩地几乎无收成。药剂(多菌灵+双效灵)防治无显著效果。田间发病症状见图1。

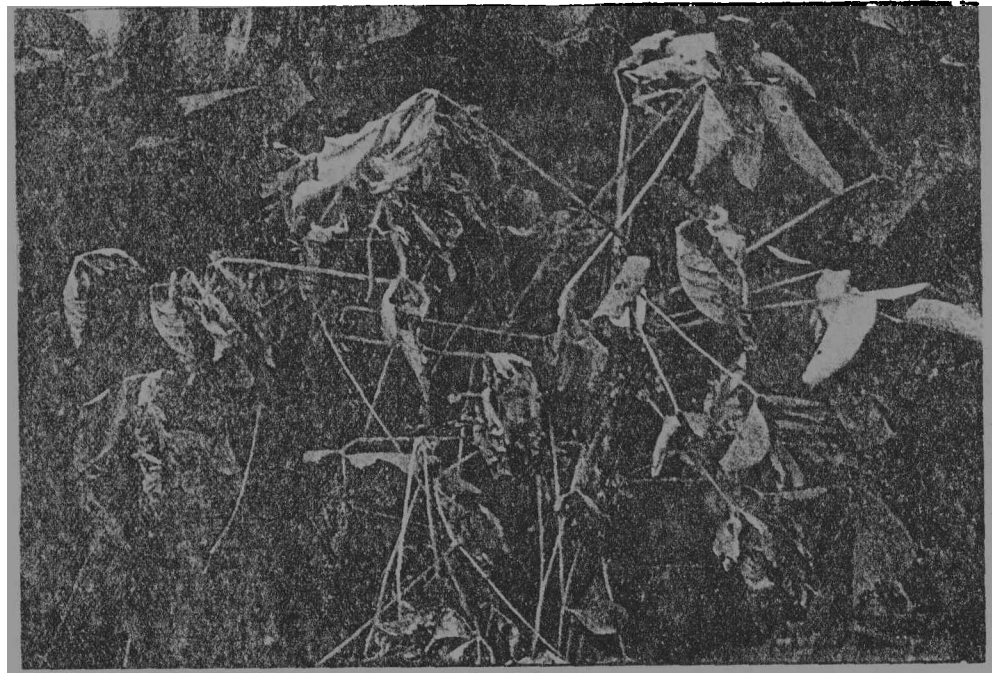


图1 田间发病症状

Fig. 1 Symptoms in the field

调查发现,大豆植株“枯萎”是由于根系及茎基部受到病菌侵染、发生严重的腐烂、输导组织遭到破坏、上部茎叶脱水所致。在江浦,春、夏大豆上均可发生该病害,通常萎蔫发生在大豆结荚期($R_3 \sim R_4$)之后,成熟前枯死。春大豆上约7月初便可见到病株,7月中旬前后病株大量枯死,夏大豆上约8月中旬开始发病,8月底至9月上旬病株大量枯死。多年连作大豆的田块发病较严重,水旱轮作的田块几乎见不到该病害,经过2年连作棉花,再播种大豆的田块,该病害明显减轻。大豆对该病害的抗性,品种间存在明显差异,泰兴黑豆、1138-2、南农86-4等大豆品种历年自然发病率高于南农73-935等大豆品种。

1989年从江浦实验农场、江浦县良种场、江浦县建设乡、南京市卫岗、南京市孝陵卫等地点大豆田采集到80株“枯萎”病株,在实验室进行镜检。结果其中76株(占95%)茎基部病组织表面检查到柱形分生孢子(图2A、B)、或桔红色子囊果(图2C、D)、或两者同时存在,成熟子囊果内含大量子囊和子囊孢子(图2E、F)。参考国内外文献,经鉴定,为柱孢霉(*Cylindrocylindrium crotalariae* (Loos) bell and Sobers),有性世代为丽赤壳菌(*Calonectria crotalariae* (Loos) Bell and Sobers)。

1990年在江浦实验农场对上年几个重发病地段的大豆进行了连续症状观测。60个标定植株在8月15日见到茎基部表面具有少许白色菌丝体,绒状,有的扩散至根周地表,其中53株茎基部镜检到柱孢霉的分生孢子,当时植株上部尚未表现症状。8月20日后植株茎基部出现红褐色病斑,有的产生褐色溃疡,皮层剥离,干旱时萎缩变细;叶片开始发生萎

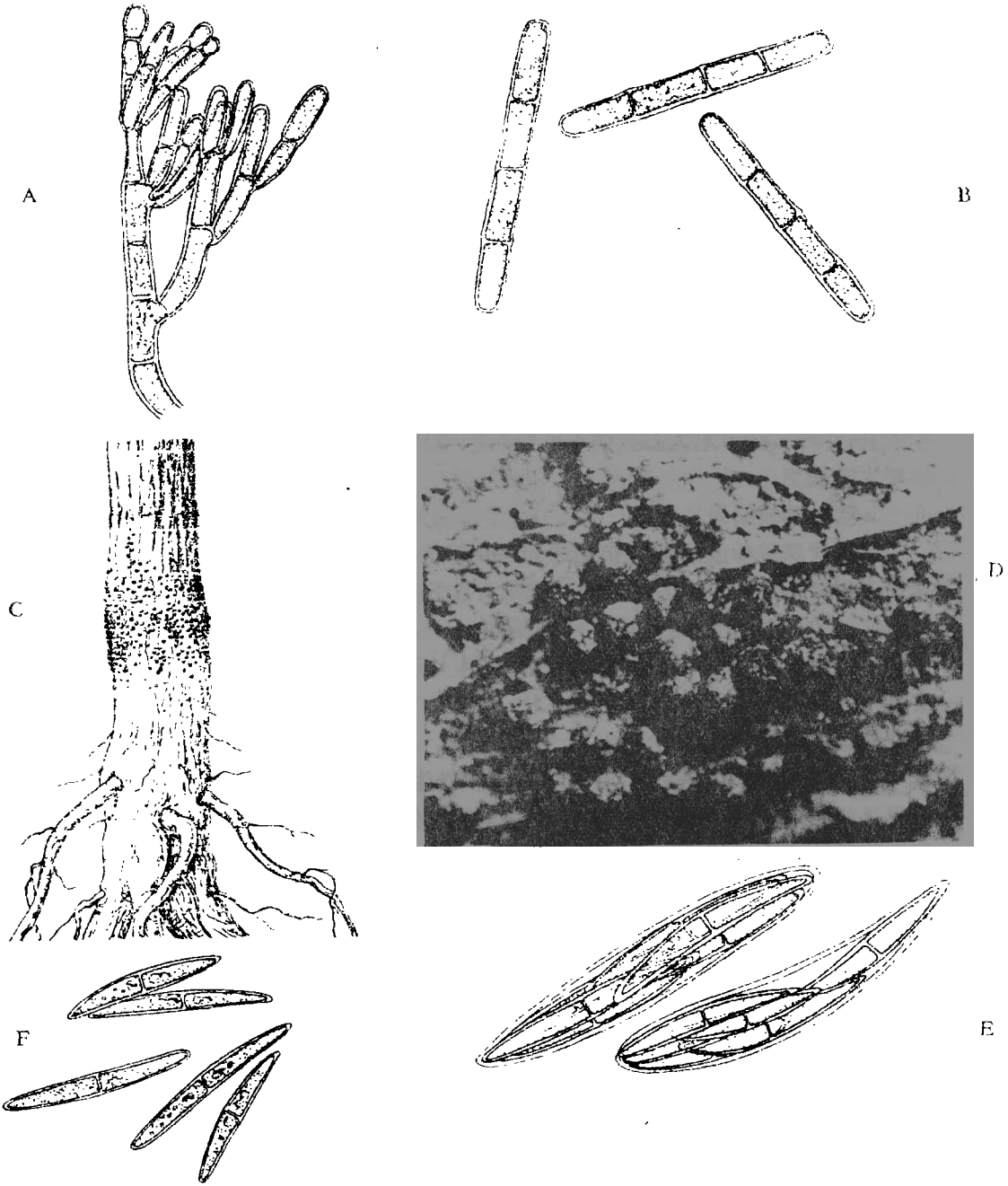


图 2 病原真菌 (C. crotalariae)

Fig. 2 *Calonectria crotalariae*, cause of black root rot of soybean

- A. 分生孢子梗 B. 分生孢子 C. 子囊果大量产生于大豆茎基部
D. 子囊果放大 E. 子囊 F. 子囊孢子
A. Conidiophore B. Conidia C. Discharging perithecia on soybean stem
D. Close-up of Perithecia E. Asci F. Ascospores

蔫,呈“青枯”状,有的夜间可以恢复。8月29日,60个标定植株均表现萎蔫症状,不能恢复;茎基部粗看上去鲜红色,仔细观察实际上是大量桔红色球状子囊果;此时根系黑色、腐烂;茎基本木质部变成褐色。9月15日之前标定植株全部枯死。

2. 病原菌分离结果

1989年对来自6个地点的56个表现“枯萎”的病株进行了病原菌分离培养。结果在56只培养皿中病组织上长出菌丝而未受细菌污染的有30皿,其中19皿检查到柱孢霉的分生孢子;8皿检查到镰刀形、椭圆形分生孢子等,另3皿未检查到分生孢子,经鉴定这后11皿中包括下列病原菌:大豆枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *tracheiphilum* (E. F. Smith) Snyder and Hansen),大豆菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary),大豆白绢病菌(*Corticium rolfsii* Sacc.),大豆炭腐病菌(*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid)等。其余26皿受到各种细菌污染而未作检查。1990年在江浦实验农场重病区大量采集典型的病株标本进行分离,结果绝大多数病株的病组织中分离出柱孢霉,上述其他几种病菌出现的频率则均较低。

3. 接种试验结果

根据病株镜检及病原分离结果,1990年秋至1991年春,分别在田间、温室和光照培养箱中用病株分离并扩大培养的柱孢霉对盆栽大豆(南农86-4和泰兴黑豆)进行接种试验。在25℃恒温、光照培养箱中,接种后10天,接种豆株均发病,表现根部及茎基部腐烂、上部萎蔫症状。此时未接种的对照植株则生长正常。在冬季温室内温度维持10~20℃的条件下,接种后90天仍未见明显症状,但当春季温室温度升至20~30℃时,几天内接种株便陆续表现根腐与萎蔫症状。接种后约120天,少数病株上形成了接种病原菌的有性世代—桔红色子囊果。在同样条件下,对照植株生长正常。在田间条件下对盆栽豆苗接种,获得类似结果,症状表现与大田自然发病的病株完全一致。接种发病植株茎基部均可检查到柱孢霉的分生孢子。病组织再次分离仍得到柱孢霉。将分离到的菌丝体接种到水洋菜平板上的灭菌大豆茎秆上,照黑光培养7~10天后,可在豆秆上产生与田间同样的桔红色子囊果。

根据以上田间危害调查、症状观察、室内显微镜检查、病原菌分离鉴定、接种验证等结果,在国内文献中未查到对应的病害报道,最后在国外文献中查到^[2,13],一些国家和地区大豆上发生的黑色根腐病(Black root rot of soybean,又名Red crown rot of soybean, *Calonectria* root rot of soybean, *Cylindrocladium* root rot of soybean)无论是症状,还是病原物形态均与在江浦实验农场大量发生的“枯萎”病害完全一致,因此,诊断为大豆黑色根腐病。

最初之所以认为是“大豆白绢病”,是因为大豆白绢病的症状与大豆黑色根腐病有一些相似之处,如上部的“枯萎”症状相同,前期茎基部均可产生白色菌丝体。但从病原菌分离鉴定与接种结果看,在江浦实验农场等地普遍发生的“枯萎”,并非“大豆白绢病”。

三、讨 论

1. 有关大豆黑色根腐病发生的报道

大豆黑色根腐病在国内尚未见发生与危害的正式报道。本研究除在江浦县、南京市发现该病害外,还从江苏省扬州、泰兴、靖江、南通、盐城、淮阴、泗洪、灌云等市、县采集到典

型的大豆黑色根腐病的病株标本,均检查到柱孢霉的存在,说明其在江苏省的分布有一定广泛性。至于我国其他地区是否有此病的分布,因缺少报道,有待调查研究。

据国外文献报道,大豆黑色根腐病在美国东南部、巴西、朝鲜、日本、卡迈隆、东欧等地均有发生,造成大豆产量损失可从轻微到 50% 不等^[13,15]。在美国, North Carolina 和 Virginia 两州自 1972 年首次报道大豆黑色根腐病以来,该病以惊人的速度在该两州蔓延^[8];在 Louisiana 州,它现已成为大豆的一种主要病害^[3];1989 年 Mississippi 州也报道了大豆黑色根腐病^[11]。随着该病在一些大豆产区的危害加重,八十年代以来对它的研究报道逐渐增多。

2. 病原菌及其侵染循环

据文献^[2,13]与观察和试验,大豆黑色根腐病的病原真菌有性世代为 *Colonectria crotalariae* (Loos) Bell and Sobers, 属子菌囊亚门,核菌纲,球壳目,肉座菌科,丽赤壳属;无性世代为 *Cylindrocladium crotalariae* (Loos) Bell & Soybers, 属半知菌亚门,丝孢纲,丝孢目,丝孢科,柱孢属。分离培养的菌丝体白色,分枝不规则,端生细长的小梗。小梗通常有明显的开张顶端,菌丝能分泌红褐色物质,菌落逐渐变为红褐色。分生孢子长柱状,无色,三个分隔, $58-107 \times 4.8-7.1 \mu\text{m}$, 产生于病株茎基部表面,培养的菌落上也能形成分生孢子。成熟的子囊果桔红色,表面粗糙,球状,直径约 0.5mm,产生于发病后期的豆株茎基部和根部,也可产生于水洋菜培养基中的豆杆上。子囊棍棒状, $95-138 \times 13-19 \mu\text{m}$, 内含 8 个子囊孢子。子囊孢子弯曲,两端略尖,无色,多数 3 个分隔, $34-58 \times 6.7-7.8 \mu\text{m}$ 。小菌核差异较大, $33-331 \times 22-1338 \mu\text{m}$, 大量存在于病残体和根周土壤中。

大豆黑色根腐病的病原菌除 *Cylindrocladium crotalariae* 外,在巴西报道有 *C. clavatum* C. S. Hodges and May^[5];在美国报道有 *C. floridanum* Sobers and Seymour 和 *C. scoparium* Morgan^[14]。国内大豆上是否存在后三者尚不清楚。在国外, *C. crotalariae* 寄主有 *Acacia*, *Arachis*, *Carice*, *Crotalariae*, *Eucalytus*, *Glycine*, *Leea*, *Medicago*, *Nerium*, *Vaccinium* 等属的植物^[13],但在国内除大豆以外的寄主作物尚不明。

据报道,病原菌以小菌核在病残体和土壤中越冬而成为来年的初侵染源和传播繁殖体,可随人、机械、土壤、水流等媒介扩散^[13]。子囊孢子的传播作用已有报道,但分生孢子的作用及小菌核在大豆田间的侵入途径、侵入时期、潜育期、发病条件等均未见报道^[13]。前文接种试验表明潜育期与温度等条件关系极大,在 25℃ 条件下潜育期约为 10 天,在 10~20℃ 下可达 90 天以上观察到。接种与未接种盆钵于同一培养箱中,10 天后接种的发病而未接种的未发病,但 20 天后未接种的也开始发病,该迹象表明分生孢子有可能是再侵染源之一。

3. 防治途径

据报道,南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood) 可加重大豆黑色根腐病的病危害^[6];本病田间小菌核密度及其对大豆的侵染效应与轮作作物的种类及品种有关^[4];防治方法主要有采用抗(耐)病品种、与非寄主作物轮作、推迟播种期、土壤熏蒸剂使用等^[1,4,7,9,10,12,13]。

几年来田间观察与调查结果显示,多年连作大豆的田块发病较重,水旱轮作的田块几

乎找不到病株,经过 2 年种植棉花的田块,大豆黑色根腐病明显减轻;早播、生长茂密的大豆发病较重;大豆品种间存在对黑色根腐病抗性的差异。故轮作(尤其水旱轮作)、培育推广抗病良种是控制大豆黑色根腐病的经济有效的途径。

参 考 文 献

- [1] Bailey, J. E., & Matyac, C. A., 1989. A Decision Model for Use of Fumigation and Resistance to Control *Cylindrocladium* Black Rot of Peanut. *Plant Disease* 73:323—326
- [2] Bell, D. K. & E. K. Sobers, 1966. A Peg, Pod, and Root Necrosis of Peanut Caused by a Species of *Caloneutria*. *Phytopathology* 56: 1361~1364
- [3] Berner, D. K., Berggren, G. T., Pace, M. E., White, E. P., Gerabey, J. S., Freedman, J. A., Sauw, J. P., 1986. Red Crown Rot: Now a Major Disease of Soybean. *La. Agric.* 29: 4~5, 24
- [4] Black, M. C. & Beute, M. K., 1984. Effect of Rotations with Susceptible and Resistant Peanuts, Soybeans, and corn on Inoculum Efficiency of *Cylindrocladium crotalariae* on Peanuts. *Plant Disease* 68:401~405
- [5] Dianese, J. C., Ribeiro, W. R. C., & Urban, A. F., 1986. Root Rot of Soybean Caused by *Cylindrocladium clavatum* in Central Brazil. *Plant Disease* 70: 977~980
- [6] Fortnum, B. A. & Lewis, S. A., 1983. Effects of Growth Regulators and Nematodes on *Cylindrocladium* Black Root Rot of Soybean. *Plant Disease* 67: 282~284
- [7] Phipps, P. M. & M. K. Beute, 1977. Influence of Soil Temperature and Moisture on the Severity of *Cylindrocladium* Black Rot in Peanut. *Phytopathology* 67: 1104~1107
- [8] Phipps, P. M. & M. K. Beute, 1979. Population Dynamics of *Cylindrocladium crotalariae* Microsclerotia in Naturally Infested Soil. *Phytopathology* 69:240~243
- [9] Phipps, P. M., 1990. Control of *Cylindrocladium* Black Rot of Peanut with Soil Fumigants Having Methyl Isothiocyanate as the Active Ingredient. *Plant Diseases* 74:438~441
- [10] Rowe, R. C., M. K. Beute, J. C. Wells, and J. C. Wynne, 1974. Incidence and Control of *Cylindrocladium* Black Root Rot of Peanuts in North Carolina During 1973. *Plant Dis. reprints* 58:348~352
- [11] Roy, K. W., Mclean, K. S., Patel, M. V., & More, W. F., 1989. First Report of Red Crown Rot on Soybeans in Mississippi. *Plant Disease* 73:273
- [12] Sidebottom, J. R., & Beute, M. K., 1989. Control of *Cylindrocladium* Black Rot of Peanut with Cultural Practices That Modify Soil Temperature. *Plant Disease* 73: 672~676
- [13] Sinclair, J. B. ed. 1975 (1st edition), 1982 (2nd edition), 1989 (3rd edition), *Compendium of Soybean Diseases*. American Phytopathological Society. 3340 Pilot Knob Road, St. Paul, Minnesota.
- [14] Sobers, E. K. & R. H. Littrell, 1974. Pathogenicity of Three Species of *Cylindrocladium* to Select Hosts. *Plant Dis. Reprints* 58: 1017~1019
- [15] Sung, J. M., & Chung, K. W., 1983. Yield Loss Associated with Disease Severity of Soybean Black Root by *Cylindrocladium crotalariae*. *Korean J. Mycol.* 11:99~101

A REPORT ON BLACK ROOT ROT OF SOYBEANS IN JIANGSU, CHINA

Gai Junyi Cui Zhanglin

(*Soybean Research Institute, Nanjing Agricultural University*)

Lin Maosong

(*Plant Protection Department, Nanjing Agricultural University*)

Abstract

Black Root Rot of Soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.) caused by *Cylindrocladion crotalariae* (Loos) Bell & Sobers (teleomorph *Calonectria crotalariae* (Loos) Bell & Sobers) was first observed in soybean fields in Jiangpu Experiment Station of Nanjing Agricultural University in 1987. Symptoms included chlorosis and interveinal necrosis of the top leaves, defoliation, wilting, reddening of the crown and root rot. Reddish orange perithecia were found on many infected stems near the soil surface. *C. crotalariae* was isolated from root and stem tissue. Koch's postulates were fulfilled by growing plant in the growth chamber, greenhouse and field where the soil was artificially inoculated with *C. crotalariae*. Since 1987, the disease in Jiangpu Experiment Station has become more and more serious. Small or large patches of infected plants were randomly distributed in the fields. The rate of the infected plant was about 0.5~20% in different fields. The disease incidences were in Nanjing, Yangzhou, Taixing, Jinjiang, Nantong, Yancheng, Huaiyin, Sihong, Guanyun etc. of Jiangsu province.