

烟草赤星病菌(*Alternaria alternata* (Fr.)Keisskr)的生长和孢子产生条件及寄主范围的研究

杨玉范 华致甫 马贵龙

(吉林农业大学农学系,长春 130118)

摘要 本文研究了烟草赤星病菌(*Alternaria alternata* (Fr.)Keisskr)的生长条件,在主要营养条件中木糖、葡萄糖和蔗糖为最适碳源,蛋白胨为最适氮源,PDA和Czapek为最适培养基。环境条件中温度20~25℃、pH7和黑暗对生长最好。该菌分生孢子产生的最适宜条件和生长条件基本相同,即病菌生长好孢子形成量亦多,反之则少。经接种在15科30种植物中茄科植物中的马铃薯、蕃茄、茄子、龙葵、曼陀罗和蓼科中的本氏蓼可以被侵害而其他作物和杂草则不能侵害。

关键词 烟草赤星病

烟草赤星病(*Alternaria alternata* (Fr.)Keisskr)是我省烟草生产上的重要病害。1991年在柳河、东丰、榆树、农安、蛟河和敦化等6个市县调查平均发病率为31.61%,指数为13.14%。蛟河、敦化等地发病很重,有的地块甚至绝产。长期来我国对烟草赤星病研究较少,近来随着经济发展研究渐多。1991~1993年我们对赤星病菌的生理特性、发病条件及防治方法进行研究,现将病菌的生长和孢子产生条件及寄主范围研究结果报道如下。

1 材料与方方法

1.1 赤星病菌的生长和孢子产生条件

1.1.1 主要营养条件

1.1.1.1 碳源:用11种不同碳源按真菌营养研究培养基^[1]方法作成固体和液体的培养基(液),以不加碳源为对照,移植同量赤星病菌后置25℃培养,每天测量生长情况,10天测定菌落大小和菌丝干重。每皿加无菌水20mL作成孢子悬浮液用Neubauer血球计数板测定孢子数,各重复3次。

1.1.1.2 氮源:用4种不同氮源按上法进行培养并测定菌落大小、干重和产孢量。

1.1.1.3 培养基:用马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)、马铃薯蔗糖琼脂(PSA)、燕麦片、Czapek、烟秆、5%烟叶汁琼脂、10%烟秆汁琼脂、5%烟秆汁加PSA和高粱粒等9种不同培养基,灭菌后移入同大小菌丝块,25℃10天观察菌落生长情况,测定菌落大小、孢子形成量,各重复3次。

1.1.2 环境条件

1.1.2.1 酸碱度:用柠檬酸或硼酸缓冲液调节真菌营养研究培养液成pH3.01~11.10 9个不同等级,灭菌后再用上海雷磁仪器厂出品的pH B-4pH计测定酸碱度,移入同大小菌丝块,25℃10天观察菌落颜色,测菌丝干重、孢子产生量,各重复4次。

1.1.2.2 温度:用PDA培养基或培养液,移入同大菌丝块置2~40℃ 9个不同梯度的温度下,10天测定大小、干重和产孢量,各重复4次。

1.1.2.3 光照:将同大菌丝块移入PDA后分别置于强光(9000Lx)、弱光(150Lx)、黑暗(0Lx)持续7昼夜,25℃测定菌落大小和孢子形成量,各重复3次。

1.2 寄主范围测定

用赤星病菌悬浮液(26万个/mL)接种到茄子、蕃茄、龙葵和蓼等15科30种作物和田间杂草上,以接种烟草为对照,保温48小时,经7天后观察有否病斑出现,病斑均经分离、培养和接种烟叶予以确证。各植物均设不接种为对照。

2 试验结果

2.1 赤星病菌的生长和孢子产生条件

2.1.1 主要营养条件

2.1.1.1 碳源:结果表明(表1)甘露醇、淀粉等作为碳源在固体培养基中虽然生长很快,但菌丝层和对照(无碳源)一样很薄,菌丝干重也很少,而葡萄糖、蔗糖和木糖等则菌落生长紧密,无论在固体或液体培养中菌丝量多故而菌丝干重重。分生孢子的形成亦以生长致密的葡萄糖、蔗糖等为多,相反则少。

表1 不同碳源对赤星菌生长和孢子产生的影响

不同碳源	固体培养基			液体培养基	
	菌落大小 (mm)	平均每天 生长(mm)	产孢量 (万个/mL)	菌丝干重 (mg)	产孢量 (万个/mL)
甘露醇	80.0	3.83	0.17	21.8	3.5
淀粉	76.0	3.60	69.50	12.5	4.0
菊糖	74.6	3.50	57.04	13.0	5.0
甘油	78.5	3.75	164.84	14.5	3.5
蔗糖	44.0	2.33	141.41	43.5	27.0
果糖	40.0	2.00	127.34	32.5	15.5
麦芽糖	39.3	1.93	153.13	34.5	12.0
半乳糖	37.3	1.75	108.88	30.1	3.0
葡萄糖	36.5	1.70	185.18	29.8	61.5
木糖	41.3	2.07	217.19	34.0	6.5
阿拉伯糖	52.0	3.00	114.06	39.5	3.5
无碳	79.0	3.75	35.38	0.1	0.6

2.1.1.2 氮源:在二种有机氮、二种无机氮的氮源中,以蛋白胨对赤星菌生长最好,生长量最多,孢子形成量也最多,其他氮源则较少。无氮源时赤星菌虽也可生长并形成一定量的孢子,但数量很少(表2)。

表2 不同氮源对赤星菌生长和孢子产生的影响

不同氮源	固体培养基			液体培养基	
	菌落大小 (mm)	平均每天 生长(mm)	产孢量 (万个/mL)	菌丝干重 (mg)	产孢量 (万个/mL)
天门冬	53.0	2.9	31.0	27.3	7.5
蛋白胨	74.0	3.9	122.5	41.5	290.1
硝酸铵	55.0	2.9	26.0	25.3	3.0
硫酸铵	48.5	2.5	26.0	27.0	0.6
无氮	56.5	2.45	19.0	10.7	0.5

2.1.1.3 培养基:在9种不同培养基中 Czapek、PDA 的菌落黑色、菌丝致密生长最好,孢子形成量最多。燕麦片的菌落较厚,孢子量形成较多,而高粱粒培养基菌丝层生长较薄,孢子量却形成很多。用烟叶或烟秆作培养基并不能刺激赤星菌生长和孢子的形成(表3)。

表3 不同培养基对赤星菌的生长和孢子产生的影响

培养基	菌落直径(mm)	菌落生长情况	产孢量(万个/mL)
燕麦片	40.3	菌落较厚,黑灰色	108.13
PDA	84.0	菌落厚,致密黑灰色	158.98
PSA	53.5	菌落较厚,黑灰~黑绿	57.44
PSA+5%烟秆汁	41.0	菌落厚,致密,黑色	74.87
Czapek	74.3	菌落厚,致密,黑色	389.84
5%烟叶汁	65.3	菌落薄,不密,黑灰	64.95
10%烟秆浸液	74.7	菌落较薄,浅灰色	26.54
烟秆	—	菌落较厚,致密黑绿色	86.29
高粱粒	—	菌落较薄,灰白色	155.85

2.1.2 环境条件

2.1.2.1 酸碱度:试验表明(表4)赤星菌的适应酸碱度范围很广,从 pH3.01~10.14 均可生长并可形成孢子,但在碱性条件下生长较差。孢子形成量亦少。以 pH5~7 生长最好而孢子形成以 pH6~7 为最适。以柠檬酸缓冲液配的 pH8.00 (灭菌后为 7.81)和用硼酸缓冲液配的 pH8.13(灭菌后为 7.90)培养液二者菌丝生长量和孢子形成量基本相似。

表4 不同酸碱度对赤星菌生长和孢子产生的影响

pH (灭菌后)	菌丝干重 (mg)	菌落颜色	产孢量 (万个/mL)
3.01	42.83	十分薄,淡褐色	3.25
4.00	48.83	十分薄,淡褐色	5.87
5.00	52.50	褐色	14.00
6.00	50.83	褐色~深褐色	114.06
7.00	49.50	深褐色	140.63
7.81	43.50	褐色	13.13
7.90	34.16	褐色	14.00
8.90	33.33	褐色	1.75
9.74	26.00	褐色~深褐色	0.38
10.14	4.16	深褐色	1.75

2.1.2.2 温度:温度自 5℃就可生长直到 35℃,2℃和 40℃均不能生长,以 20~25℃为最好。孢子形成 10℃才产生直至 35℃,以 25℃形成量最多(表5)。

表5 不同温度对赤星菌的生长和孢子形成的影响

温度 ℃	固体培养基		液体培养基	
	菌落直径 (mm)	产孢量 (万个/mL)	菌丝干重 (mg)	产孢量 (万个/mL)
2	0	0	0	0
5	1.40	0	0.2	0
10	6.25	12.50	5.9	0
15	17.25	13.75	9.2	4.0
20	50.00	89.06	23.0	62.5
25	51.38	169.54	20.0	150.0
30	23.13	78.13	21.0	48.0
35	12.75	24.00	1.3	10.5
40	0	0	0	0

2.1.2.3 光照:赤星菌在三种不同光照下生长有差异,以在黑暗中生长最好但三者相差不十分显著。在孢子形成量上黑暗的较有光的显著多,散光又较强光为多(表6)。

表6 不同光照对赤星菌生长和孢子形成的影响

光 照	菌落直径 (mm)	菌落生长情况	产孢量 (万个/mL)
强光(9000Lx)	5.87	黑绿色,生长较致密	15.0
散光(150Lx)	6.20	灰绿色,生长较致密	21.5
黑暗(0Lx)	6.63	黑绿色,生长致密,较厚	119.0

2.2 寄主范围测定

在15科30种作物和田间杂草的人工接种下马铃薯、茄子、蕃茄、龙葵和曼陀罗等茄科作物和蓼科中的本氏蓼均和对照烟草一样可以被感染,而其他13科24种作物和田间杂草均不能被感染(表7)。不接种的各对照植物均无病斑。

表7 烟草赤星病菌对15科31种植物人工接种结果

科	植 物 名 称	接种株数	发病程度	
禾本科	小麦 <i>Triticum aestivum</i> L.	44	0	
	稗 <i>Echinochloa crusgalli</i> L.	9	0	
茄 科	马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i> L.	5	++	
	茄 子 <i>Solanum melongena</i> L.	5	+	
	辣椒 <i>Capsicum annuum</i> L.	5	0	
	蕃茄 <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	6	++	
	龙葵 <i>Solanum nigrum</i> L.	7	++	
	曼陀罗 <i>Datura stramonium</i> L.	5	++	
	烟草 <i>Nicotiana Tabacum</i> L.	5	++	
藜 科	甜菜 <i>Beta vulgaris</i> L.	7	0	
	灰菜 <i>Chenopodium album</i> L.	6	0	
菊 科	向日葵 <i>Helianthus annuus</i> L.	5	0	
	苣荬菜 <i>Sonchus brachyotus</i> DC.	5	0	
	蒲公英 <i>Taraxacum mongolicum</i> Hand-Mazz.	5	0	
	小薊 <i>Cirsium arvensis</i>	5	0	
	蒿 <i>Artemisia argyi</i> Levl. et vant.	9	0	
	牛蒡 <i>Atractium lappa</i> L.	6	0	
	苍耳 <i>Xanthium sibiricum</i> Patrín	13	0	
	生菜 <i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>romana</i> Hort.	5	0	
	蓼 科	本氏蓼 <i>Polygonum bungeanum</i> Twrcz.	5	+
		扁蓄 <i>P. aviculare</i> L.	5	0
十字花科	白菜 <i>Brassica pekinensis</i> Rupr.	5	0	
锦葵科	苘麻 <i>Abutilon theophrasti</i> Medic.	5	0	
葫芦科	黄瓜 <i>Cucumis sativus</i> L.	5	0	
伞形科	芹菜 <i>Apium graveolens</i> L.	5	0	
蔷薇科	龙芽草 <i>Agrimonia pilosa</i> Ledeb.	5	0	
车前科	车前 <i>Plantago asiatica</i> L.	5	0	
苋 科	苋 <i>Amaranthus retroflexus</i> L.	5	0	
百合科	玉簪 <i>Hosta plantaginea</i> (Lam.) Aschers.	5	0	
鸭趾草科	鸭趾草 <i>Commelina communis</i> L.	11	0	
酢浆草科	酢浆草 <i>Oxalis corniculata</i> L.	12	0	

3 讨论与小结

3.1 病菌的生长和孢子产生条件是病害研究的基础,烟草赤星菌的生长需要有营养和适合的环境条件,试验中的葡萄糖、蔗糖和木糖等是 11 种碳源中生长最好的碳源,而甘露醇、淀粉等虽生长很快但菌丝层薄、干重轻。在 4 种氮源中蛋白胨生长最好,其他则较差,PDA 和 Czapek 培养基生长最好。在环境条件中温度 5~35℃均可生长,以 20~25℃为最适,这与 Lucas 报道相一致^[5],但与朱有勇等报道最低温度为 7℃^[2]有一定距离。pH 从 3.01~10.14 均可生长,以 pH7 生长最好,这与 Wilsme^[6]、张超冲等^[3]报道一致。王智发^[4]、朱有勇^[2]等认为 pH4 以下不能生长。这种差异可能是由于赤星菌存在广泛,菌株不同的缘故^[5]。光照强弱亦可影响菌落生长但差异不大。

3.2 Pound and Lucas 认为烟草赤星菌分生孢子的产生取决于分离、湿度、温度和光照^[5]。试验表明不同营养,pH 等条件同样影响到孢子产生的多寡。单糖类并不如 Wilson 指出的不利于产孢,相反葡萄糖、果糖产孢量均较多,在培养基试验中结果亦与此一致。

3.3 Reley 曾将烟草赤星菌接种到几种茄科植物上都能轻微感染^[7],本试验对 15 科 30 种作物或田间杂草的接种表明龙葵、蔓陀萝、蕃茄、茄子、马铃薯和本氏蓼均能被感染,有的甚至较重如龙葵等,但对田间发病的作用需进一步研究。

参 考 文 献

- 1 俞大维. 植物病理学和真菌学技术汇编(卷一). 人民教育出版社. 1959
- 2 朱有勇等. 烟草赤星病菌生理及农药毒力测定研究. 烟草科技. 1991, 8
- 3 张超冲等. 烟草赤星菌的生物学特性. 广西烟草侵染性病害研究汇编. 1992
- 4 王智发等. 培养条件对烟草赤星病菌生长能力的影响. 山东农学报. 1991. 9
- 5 Lucas G. B. Diseases of tobacco 1975
- 6 Wilson J. H. Thesis, N. C. Slate Univ Raleigh, NC, 1959
- 7 Riley E. A. Pathological and physiological studies on the brown spot disease of tobacco caused by *Alternaria longipes*(Ell. & Ev.)Mason. RAM 1950

征 订 启 事

《四平农业科技》是综合性农业科技刊物,主要刊载农作物遗传育种、栽培、土肥、植保、畜牧兽医、果树蔬菜(园艺)和农业机械等方面的生产经验、先进技术措施、生产建议、试验研究报告、科研成果、经营管理方法及学术论文,同时介绍国内外的先进技术、科技发展水平和动向等,主要服务对象为各级农业科技人员、农业院校师生和各级农业领导干部及广大农民。

本刊为双月刊,逢双月末出刊,16 开本,每期 40 页,定价 3.00 元,全年订费 18.00 元。用户可通过邮局汇款至吉林省公主岭市公伊路 28 号四平市农科所沙静波同志收,欢迎订阅。邮政编码:136101