

仙客来灰霉病病原鉴定及生物学特性研究

汤春梅¹, 杨庆森², 蔡继增²

(1. 甘肃省林业职业技术学院 甘肃 天水 741020; 2. 甘肃省小陇山林业实验局 森林病虫害防治检疫站 甘肃 天水 741020)

摘要: 对仙客来灰霉病病原及生物学特性进行了研究。结果表明: 仙客来灰霉病病原为灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea* Pers. ex Fr), 适宜孢子萌发的温度为 20℃, 在葡萄糖 1:10 及土壤浸提液 1:15 中萌发率最高; 菌丝生长的适温范围是 15℃~25℃, 最适温度为 20℃, 生长的 pH 值范围是 2~9, 最适为 3~6。光照对菌丝生长基本无影响, 该菌生长要求高浓度的碳源和低浓度的氮源。

关键词: 仙客来灰霉病; 鉴定; 生物学特性

中图分类号: S 436.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)01-0058-04

仙客来(*Cyclamen persicum* Mill.)又名萝卜海棠、兔耳花, 属多年生宿根草本, 具扁圆形多肉球茎, 叶丛生于球茎顶端, 具长柄, 叶片近心形; 表面绿色, 有银白色斑纹, 花单朵腋生。仙客来为冬季生长开花花卉, 是重要的温室花卉之一, 因其花期长, 从秋季可一直延续到第二年春天, 花色艳丽、花形别致、观赏价值高, 深受广大市民的喜爱而成为圣诞节、元旦以及春节等喜庆节日重要的礼仪用花^[1]。但是仙客来容易遭受病虫害的危害, 一旦发生就会造成植株严重受损, 轻则失去观赏价值, 重则大量死亡, 限制了仙客来的规模化发展^[2]。

仙客来灰霉病属常见病害之一, 发病范围广, 对于这方面的报道较多^[3-5], 主要报道了仙客来灰霉病的症状、发生原因、防治措施等, 但对病原菌的形态及生物学特性报道较少。因此, 对其病原进行分离、鉴定, 并且对孢子萌发条件、菌丝生长条件及对碳源和氮源的利用能力进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料: 仙客来灰霉病病株采自天水市高新科技示范园花卉生产基地。培养基: 用 PDA 培养基, 配方为: 15 g 葡萄糖、200 g 马铃薯、20 g 琼脂、1 000 mL 蒸馏水^[6]。

1.2 病原菌的分离和鉴定

1.2.1 分离培养 采用组织分离法。将仙客来灰霉病病株的叶片用自来水冲洗干净, 用 0.1% 的升汞溶液表面灭菌 2 min, 取出后用无菌水冲洗 3~4 次; 用无菌滤纸吸去表面水分, 用无菌的剪刀将病部剪成 5 mm 见方

的小块, 然后接种到 PDA 培养基上, 每皿 4~5 小块, 重复 3 次, 置于 20℃ 的恒温箱中培养, 逐日观察、记录病原菌的培养性状。

1.2.2 病原鉴定 将培养 10~15 d 的供试菌株制片, 在光学显微镜下观察分生孢子梗、分生孢子的形态特征, 测量分生孢子梗和分生孢子的大小(测定 50 个孢子)。根据在 PDA 培养基上的菌落形态、孢子形态、大小等有关资料, 鉴定其病原^[6-8]。

1.3 仙客来灰霉菌的相关生物学特性测定

1.3.1 不同温度对仙客来灰霉菌孢子萌发的影响 用无菌水配制孢子悬浮液, 孢子浓度为 1.2×10^5 个/mL, 悬滴法培养, 分别置于 5、10、15、20、25、30、35、40℃, 每处理 3 次重复。培养 4.8、12、24 h 后镜检各处理的孢子萌发率, 每处理检查至少 10 个视野, 100 个孢子。

1.3.2 不同营养液对仙客来灰霉菌孢子萌发的影响 配制不同营养液, 营养液种类及浓度分别配制葡萄糖 1:5、1:10、1:15 的溶液, 以及土壤浸提液 1:5、1:10、1:15, 做悬滴在 20℃ 下培养, 每处理重复 3 次。培养 4.8、12、24 h 后镜检各处理的孢子萌发率, 每处理检查至少 10 个视野, 100 个孢子。

1.3.3 温度对仙客来灰霉菌菌丝生长的影响 将培养好的仙客来灰霉菌用直径 0.6 cm 的打孔器切取菌饼, 接种于 PDA 培养基上, 在不同的温度 5、10、15、20、25、30、35℃ 下培养, 每处理 3 个重复, 5 d 后观察菌落形态, 并用十字交叉法测定菌落直径。

1.3.4 pH 值对仙客来灰霉菌生长的影响 将 PDA 培养基分别用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 调到 pH 值为 2、3、4、5、6、7、8、9 共 8 个 pH 梯度, 灭菌后在无菌条件下接种供试菌饼, 置 20℃ 下培养, 每处理 3 个重复, 5 d 后测量菌落直径。

1.3.5 光照对仙客来灰霉菌生长的影响 将供试菌饼

第一作者简介: 汤春梅(1977-), 女, 硕士, 讲师, 现从事植物病虫害防治专业的教学与研究工作。E-mail: hazel1977@126.com。

收稿日期: 2008-08-10

接种于 PDA 培养基上,分别设置连续 24 h 光照、12 h 光照和 12 h 黑暗交替以及连续 24 h 黑暗 3 个处理培养,其中光照强度为 10 000 lx,每处理 3 个重复,置 20℃ 下培养,5 d 测量菌落直径。

1.3.6 碳源对仙客来灰霉菌生长的影响 将供试菌饼分别接种于含有 0.1% 不同碳源培养基上,20℃ 下培养

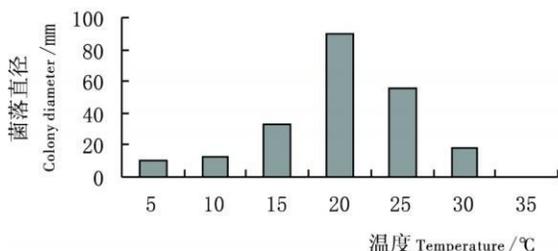


图1 温度对菌丝生长的影响

Fig. 1 The temperature for mycelial growth

5 d 后观察菌落形态,并用十字交叉法测定菌落直径,对照为贫瘠培养基(只有琼脂)。

1.3.7 氮源对仙客来灰霉菌生长的影响 将供试菌饼分别接种于含有 0.01% 不同氮源培养基上,20℃ 下培养 5 d 后观察菌落形态特征,用十字交叉法测定菌落直径 对照为贫瘠培养基。

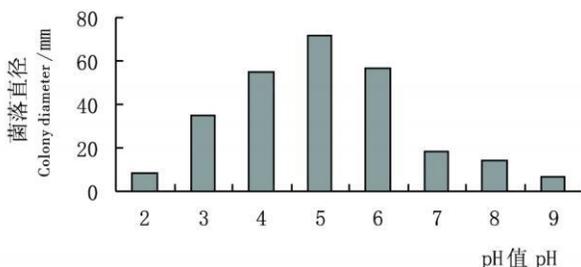


图2 pH 值对菌丝生长的影响

Fig. 2 The pH for mycelial growth

2 结果与分析

2.1 仙客来灰霉菌的鉴定结果

2.1.1 症状观察 初期叶片背面沿主脉开始褪绿黄化,未发病部分变成淡紫色,随病斑扩大几乎覆盖整个叶片时,只剩下叶缘呈现鲜艳的紫色晕圈。叶正面初期发病部位比健部颜色深,后逐渐变褐干枯,并有一层灰白色霉层。

2.1.2 病原鉴定 经观察,病菌分生孢子梗细长,直立,有分枝,长 1~3 mm,顶端膨大成球形,上面有许多小梗,分生孢子聚生成葡萄穗状;分生孢子卵形或椭圆形,少数球形,无色至淡褐色,单胞;释放的分生孢子是干燥疏水的,但最终还是能够进入水中开始萌芽,萌芽时可产生 1~2 个萌发管,偶尔可多达 5 个;孢子大小,(8~14)μm × (6~9) μm。结合病害症状、病原形态,参考有关资料,将其鉴定为灰葡萄孢菌 (*Botrytis cinerea* Pers. ex Fr.), 属半知菌亚门,丛梗孢目^[8]。

表 1 营养条件对孢子萌发率的影响

Table 1 Nutrition conditions of the spore germination rate

| 时间 Time/h | 葡萄糖不同浓度的萌发率 | | | 土壤不同浓度的萌发率 | | |
|--------------|----------------------------------|------|------|----------------------------------|------|------|
| | Germination rate under different | | | Germination rate under different | | |
| | glucose concentration/% | | | Soil concentration/% | | |
| | 1:5 | 1:10 | 1:15 | 1:5 | 1:10 | 1:15 |
| 4 | 3.5 | 23 | 15 | 0 | 4 | 7.5 |
| 8 | 5 | 63.5 | 45.5 | 2.5 | 14 | 33.5 |
| 12 | 8 | 77.5 | 59 | 4 | 28 | 49 |
| 24 | 15 | 86 | 80.5 | 8 | 50 | 66.5 |

2.2 仙客来灰霉菌的相关生物学特性测定

2.2.1 温度对孢子萌发的影响 孢子萌发对温度的适应范围较窄,在 5、10、15、25、30、35、40℃ 下均不易萌发,萌发率极低,但在 20℃ 较好,表明 20℃ 为孢子萌发的最

适温度。

2.2.2 营养条件对孢子萌发的影响 由表 1 可知,灰葡萄孢在葡萄糖溶液中的萌发率普遍比在土壤浸提液中的萌发率高。在葡萄糖溶液中,葡萄糖 1:10 中的萌发率最高,24 h 即达 86%,其次为葡萄糖 1:15,葡萄糖 1:5 中萌发率最低。在土壤浸提液中,土壤 1:15 中的萌发率最高,24 h 达到 66.5%,其次为土壤 1:10,土壤 1:5 中萌发率最低。

2.2.3 温度对菌丝生长的影响 由图 1 可知,在 5~30℃ 条件下该菌均可生长,适温范围为 15~25℃,20℃ 对其生长最为有利,5~10℃ 菌丝生长缓慢,35℃ 时,菌丝生长完全受到抑制。菌落为白色,在不适宜温度下,培养基基部出现黑色小菌核,菌落生长缓慢且菌落很快变为灰白色。在最适温度下培养 5 d 后,菌落就可长满培养基,在 15℃ 以下和 25℃ 以上菌落直径皆较小。可见该菌菌丝生长的温度范围较宽,生长速度较快,最适温度 20℃ 即为温室内的温度,所以一旦发生,就会造成仙客来灰霉病的大量发生。

2.2.4 pH 值对菌丝生长的影响 由图 2 可知,灰葡萄孢菌生长的 pH 值范围较宽,在 pH 2~9 范围内均可生长,适宜范围为 pH 3~6,在 pH 5 的条件下,菌丝生长最快,菌落直径为 72 mm。

2.2.5 光照对菌丝生长的影响 病菌在连续光照、连续黑暗和光暗交替 3 种不同处理条件下,菌丝生长情况基本一致,菌落直径分别为 62、60、61 mm。看来病菌对光照不敏感,生长时基本不受其影响。

2.2.6 碳源对菌丝生长的影响 由图 3 可知,灰葡萄孢菌在 8 种不同浓度碳源培养基上菌落直径均大于对照,即此菌对碳源的要求不严格,能利用多种碳源,但利用

能力有差异,在 0.1%碳源培养基上,灰葡萄孢菌在木糖培养基上生长较快,方差分析与对照有极显著差异($P < 0.01$),其他碳源对菌丝生长的作用差异不显著($P < 0.05$),作用大小依次为木糖>乳糖>甘露糖>菊糖>葡萄糖>淀粉>果糖>蔗糖,在贫瘠培养基上生长最差;1%碳源培养基上,灰葡萄孢菌在葡萄糖、果糖、木糖、甘露糖培养基上生长较快,菌落直径均大于 61 mm,方差分析与对照有极显著差异($P < 0.01$),其他碳源:乳糖、淀粉、菊糖、蔗糖对菌丝生长的作用差异与对照不显著($P < 0.05$);另外,经统计分析,灰葡萄孢菌丝在 1%的葡萄糖、果糖、木糖、甘露糖中比在 0.1%的葡萄糖、果糖、木糖、甘露糖中长的更好,其他碳源在 1%和 0.1%两种浓度下差异不大,由此可知,高浓度的葡萄糖、果糖、木糖、甘露糖对灰葡萄孢菌丝的生长有促进作用,而其他碳源

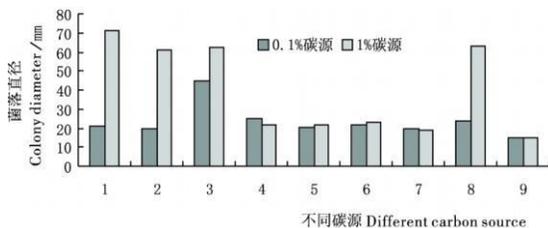


图3 不同碳源对菌丝生长的影响

Fig. 3 Different carbon sources on mycelial growth

注: 1. 葡萄糖 2. 果糖 3. 木糖; 4. 乳糖; 5. 淀粉
6. 菊糖 7. 蔗糖 8. 甘露糖; 9. CK。

3 结论与讨论

3.1 结合根据病害症状、病原形态,参考有关资料,对仙客来灰霉病进行鉴定,结果表明仙客来灰霉病病原为灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea* Pers. ex Fr)。该菌孢子萌发的温度范围较窄,最适温度是 20℃,且在清水中不易萌发,其萌发需要一定浓度的营养液;该菌生长的适温范围是 15~25℃,20℃对其生长最为有利,适宜生长的 pH 范围是 3~6,最适为 5;光照对菌丝的生长基本无影响。

3.2 菌丝生长对营养的要求较高,在低浓度的碳源和高浓度的氮源培养基上,菌丝生长相对缓慢;而在高浓度的碳源与低浓度的氮源培养基上,菌丝生长较快,说明高浓度的碳源和低浓度的氮源适合菌丝生长的要求。

3.3 测孢子萌发的适宜温度时,用无菌水制作了孢子悬浮液,尽管从趋势上能看出孢子萌发的最适温度,但在各种温度下其萌发率都不高。因此,在以后的试验中采用营养液作孢子悬浮液。

3.4 该试验中,由于时间的关系,对灰葡萄孢菌孢子培养性状及生物学特性的很多方面还未涉及,比如适宜孢

对菌丝生长的影响与浓度无关。

2.2.7 氮源对菌丝生长的影响 由图 4 可知,亮氨酸、精氨酸、硝酸铵、甘氨酸、氯化铵、蛋白胨和硝酸钠对灰葡萄孢菌菌丝的生长有促进作用,方差分析与对照有显著差异($P < 0.05$),而尿素对灰葡萄孢菌菌丝生长有抑制作用,与对照有显著差异($P < 0.05$)。方差分析可知灰葡萄孢菌在 0.1%的硝酸铵和氯化铵氮源培养基上比在 0.01%的硝酸铵和氯化铵上长的好,而灰葡萄孢菌在 0.01%的亮氨酸、精氨酸、尿素、甘氨酸、蛋白胨、硝酸钠氮源培养基上均比在 0.1%的氮源培养基上长的好,尤其是硝酸钠,说明高浓度的硝酸钠对菌丝生长有抑制作用,而高浓度的其他氮源对菌丝生长均不利。因而,可知灰葡萄孢菌生长所需要得氮源浓度不应很高,在低浓度下反而长的更好。

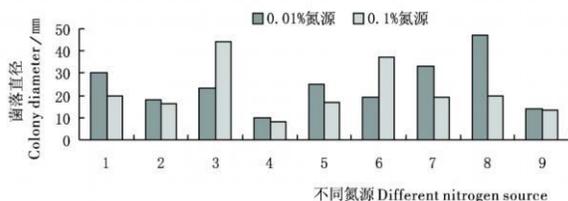


图4 不同氮源对菌丝生长的影响

Fig. 4 Different nitrogen sources on mycelial growth

注: 1. 亮氨酸 2. 精氨酸; 3. 硝酸铵 4. 尿素 5. 甘氨酸
6. 氯化铵 7. 蛋白胨; 8. 硝酸钠 9. CK。

子萌发的 pH 值、光照条件、湿度条件以及适宜菌丝生长的其他营养条件,在以后的学习过程中还应做进一步的研究。

3.5 尿素对灰葡萄孢菌菌丝的生长有明显的抑制作用,在生产中施用尿素是否会抑制灰葡萄孢菌的生长而达到防病效果有待于进一步研究。

参考文献

[1] 康黎芳,王云山.仙客来[M].北京:中国农业出版社,2002.
[2] 原国辉,高一凤,程玉琴,等.仙客来几种主要病害的识别与防治[J].农业科技通讯,2001(2): 26.
[3] 孙文英,周丽.仙客来主要病害诊断与防控措施[J].辽宁农业科学,2007(5): 45-46.
[4] 周成刚,齐海鹰,刘振宇.名贵花卉病虫害鉴别与防治[M].山东科学技术出版社,2001.
[5] 林焕章,张能唐.花卉病虫害防治手册[M].北京:中国农业出版社,1997.
[6] 方中达.植病研究法[M].北京:农业出版社,1979,83: 114-115.
[7] 戴芳澜.真菌鉴定手册[M].上海:上海科学出版社,1979.
[8] 陆家云.植物病原真菌学[M].北京:中国农业出版社,2001.

向日葵菌核病发病规律及防治措施

苑战利

(宁安市东京城镇农技站 黑龙江 宁安 157421)

中图分类号: S 435.655 文献标识码: B

文章编号: 1001-0009(2009)01-0061-01

向日葵菌核病俗称烂头病,在宁安市发生较重。向日葵菌核病可造成向日葵茎折,花盘及果仁腐烂,一般减产 10%~30%,严重的高达 80%左右,对向日葵生产威胁很大。

1 向日葵菌核病为害症状

向日葵菌核病有 4 种症状,即根腐型、茎腐型、叶腐型和花腐型。其中以根腐型和花腐型为害较大。

根腐型从苗期到收获都可发生。苗期发病时幼芽和胚根有水浸状褐色病斑,病斑很快扩展,腐烂。幼苗不能出土。病轻的出土后,随着病斑扩大扣环,幼苗萎蔫死亡。成株期发病时根或茎基部产生褐色病斑,有同心轮纹,以后病斑部分长出白色菌丝,后形成黑色菌核,重病株萎蔫枯死,茎组织腐朽易断,内部有黑色菌核。

花腐型是在花盘背面产生褐色圆形水浸状病斑,逐渐扩大可达全花盘,使组织变软腐烂。空气潮湿时可出现白色菌丝,在瘦果与果座之间蔓延,形成网状黑色菌核。花盘内外都可形成黑色的大小不等的菌核。最后花盘腐烂脱落,果仁不能成熟,有的果实内外也存在菌核。籽仁褐色,味苦,多数不能发芽。

作者简介:苑战利(1967-),男,农艺师,现从事农业技术推广工作。

E-mail: yzl.0610@163.com.

收稿日期: 2008-08-13

2 发病原因

2.1 气候条件

6~9 月份雨水多、湿度大,温度在 10℃左右,有利于致病真菌的菌丝侵染和子囊萌发形成子囊孢子。一般春季低温多雨,根腐、茎腐重,开花期多雨,花盘受害重。

2.2 栽培条件

不同向日葵品种其抗病性有一定差异。如龙葵杂 1 号对菌核病的抗性优于美葵。在种植豆科或茄科以及重茬的地块中,土壤中菌核数量积累的过多,在适宜的条件下,就可形成侵染源,侵染向日葵、大豆等寄主植物。地势低洼,施氮肥量过多,植株繁茂,田间郁蔽,湿度大,利于菌核病发生,植株脆嫩,也利于病菌的侵入。

3 防治措施

向日葵菌核病菌源广、传染渠道多(种子、土壤、气流都可传染),防治难度大。因此,必须进行综合防治。

3.1 预防措施

精选种子,将种子过筛 2 次,清除种子间夹杂的菌核,选用抗病品种,如龙葵杂 1 号,并用 50~60℃水恒温浸种 10~20 min,也可用种子量的 0.5%的 50%福美双可温性粉剂或 50%速克灵拌种处理;轮作:向日葵不能连作,可与禾本科作物实行 5 a 以上轮作;深翻:收获后及时深翻地,深度 25~27 cm,将土中菌核埋入地下,同时使病株残体也腐烂掉;中耕除草和铲趟:通过中耕和铲趟可切断子囊盘柄,并移动菌核黄素的位置,使子囊盘不能形成或数量较少,减轻发病,在田间发现病株及时拔除深埋或烧毁,可减少越冬菌数量;增施磷钾肥提高抗病性。一般施有机肥 30 t/hm² 作基肥,磷酸二铵 150 kg/hm² 作种肥施用,中耕时追尿素 120 kg/hm²,钾肥 225 kg/hm²,满足向日葵生长期需要。土壤处理:播种前施石灰氮 45 kg/hm²,撒施浅耙在土中。

3.2 田间防治

结盘初期,可用 50%菌核净 500 倍液,50%速克灵或 50%乙烯菌核利 800~1 000 倍液或 40%纹枯利 500 倍液喷在花盘上。盛花期后连续喷 2~3 次,间隔 7 d,可收到良好效果。

Identification and Biological Characteristics of the Pathoge of *Botrytis cinerea* on Cyclamen

TANG Chun-mei¹, YANG Qin-seng², CAI Ji-Zeng²

(1. Gansu Forestry Technological College, Tianshui Gansu 741020 China; 2. Forestry Pest Management and Quarantine Station of Gansu Xiaolongshan Forestry Experimental Bureau, Tianshui Gansu, 741020, China)

Abstract: In this paper, pathogen and biological characteristics of Cyclamen was study. According to its symptom, morphologic characters, cultural characteristics, it was shown that the pathogen was *Botrytis cinerea* Pers. The sprout grow fast on media with glucose 1 : 10 and soil 1 : 15, with the optimum temperature 20℃. The temperature for mycelial growth was from 15℃ to 25℃, with the optimum 20℃; the pH values ranged from 2 to 9, with the optimum from 3 to 6; the different light had no significant effect on mycelial growth; the mycelial grow fast on high concentration of carbon and low concentrations of nitrogen.

Key words: *Cyclamen Botrytis cinerea*; Identification; Biological characteristics