

牛角瓜叶斑病原菌分离鉴定和生物学特性的初步研究

谢美华^{1,2}, 李霖³, 李雪玲^{1,2}, 杨海艳^{1,2}, 陈华红^{1,2}, 王振吉^{1,2}

(1. 楚雄师范学院 化学与生命科学系, 云南 楚雄 675000; 2. 云南省高校应用生物学重点实验室, 云南 楚雄 675000

3. 楚雄医药高等专科学校 信息中心, 云南 楚雄 675000;)

摘要:从发生叶斑病的牛角瓜病叶片上分离到 1 株真菌, 菌株编号记为 CX008; 通过传统的形态学观察与现代分子生物学技术相结合的手段进行了病原菌鉴定, 并依据其形态特点对其培养性状进行了初步研究, 同时研究了不同杀菌剂对菌落生长的影响。结果表明: 该病原菌为丝孢纲 (Hyphomycetes) 丝孢目 (Hyphomycetales) 暗色孢科 (Dematiaceae) 交链孢属 (*Alternaria*) 细极链格孢络石生变种 [*Alternaria tenuissima* (Nees ex Fr.)]; 该菌对供试的 7 种氮源和碳源均能利用, 最佳碳源和氮源分别为葡萄糖和牛肉膏; 该病原菌在 15~40℃ 之间均能生长, 最适的生长温度是 25℃ 和 30℃, 在 5℃、10℃ 和 45℃ 条件下停止生长; 该病原菌孢子在 15~40℃ 之间均能萌发, 最适萌发温度为 28℃, 高于 40℃ 孢子无法萌发; 12 h/12 h 光暗交替有利于菌落生长, 有无光照对分生孢子萌发没有明显地影响; 5 种广谱杀菌剂对该菌落的生长均有抑制作用, 扑海因对该菌的抑制效果最好, 随后依次是恶霜锰锌、百菌清、代森锰锌, 效果最差的是敌克松。

关键词:牛角瓜; 叶黑斑病; 病原鉴定; 生物学特性

中图分类号:S 59 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0112-05

牛角瓜 [*Calotropis gigantea* (L.) Dryand. ex Ait. f.] 属萝藦科牛角瓜属植物, 又名断肠草、五狗卧花^[1]。分布于四川、广西、广东。产自云南元江、巧家、建水、南华、昆明、马关、西双版纳等地; 生于低海拔向阳山坡、旷野地。印度、斯里兰卡、缅甸、越南、马来西亚等地也有分布。牛角瓜是近年来发现的有利用潜力的能源植物之一, 有很好的开发利用价值^[2-3]。目前, 对牛角瓜的研究主要集中在产能分析、牛角瓜纤维、组织培养和栽培技术等方面^[4-10], 对牛角瓜大面积栽培中发生的病害和防治方法尚鲜见报道。黑斑病是牛角瓜栽培过程中常见的病害, 主要危害叶片, 引起叶片黑斑, 导致牛角瓜产能

效率减低。为此, 该研究采集了牛角瓜黑斑病发病叶片, 对病原菌进行了分离鉴定和生物学特性研究, 以及用不同的杀菌剂处理该病原菌, 以期牛角瓜病害的防治提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

牛角瓜叶斑病的病叶采自楚雄彝族自治州元谋县, 共 9 组。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌的分离 将采集到的 9 组牛角瓜叶斑病的病叶进行培养, 共分离到 3 个菌株, 其中, 1 株是黑曲霉属菌株, 1 株是青霉属菌株, 另 1 株是交链孢属菌株。

1.2.2 致病性鉴定 用纯培养得到的 3 个菌株孢子悬浮液接种到健康的牛角瓜叶片上, 每组 24 次重复。10 d 后, 接种了黑曲霉和青霉的植株依然健康, 而接种了交链孢属菌株的植株出现了叶斑病。从接种发病的牛角瓜植株上再分离到其纯培养, 性状与接种物相同。从而推测其为牛角瓜叶斑病的病原, 菌株编号为 CX008。

1.2.3 病原菌的鉴定 形态学鉴定: 分离纯化病原菌, 利用显微镜进行观察, 对其进行形态鉴定。分子生物学鉴定: 用 CTAB 法提取病原菌全基因组 DNA, 进行 ITS-PCR 扩增。引物序列为 ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATT-GATATGC - 3'; ITS5: 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAA-

第一作者简介:谢美华(1981-), 女, 云南楚雄人, 硕士, 实验师, 研究方向为植物病理学与微生物。E-mail:xiemeihua@cxtc.edu.cn.

责任作者:杨海艳(1979-), 女, 云南昆明人, 博士, 副教授, 研究方向为植物病理学真菌分类。E-mail:haiyanyang@cxtc.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31300370); 云南省应用基础计划资助项目(2011FZ186); 云南省应用基础计划项目青年资助项目(2012FD049); 云南省重点建设学科楚雄师范学院重点建设学科基金资助项目(05YJJSXK03); 云南省高校科技创新团队支持计划资助项目(IRTSTYN); 楚雄师范学院院级资助项目(05-YJRC04); 楚雄师范学院大学生创新创业训练计划资助项目(2013cxcy04)。

收稿日期:2014-01-20

CAAGG-3'。PCR 反应体系总体积 25 μ L, 反应各成分终浓度为: *Taq* 酶 0.02 U/ μ L; 引物 0.4 μ mol/L; DNA 模板 20 ng/ μ L; dNTPs 0.4 μ mol/L; 2 \times PCR 反应缓冲液。PCR 扩增程序为: 预变性 95 $^{\circ}$ C, 3 min; 变性 94 $^{\circ}$ C, 30 s, 退火 52 $^{\circ}$ C, 45 s, 复性 72 $^{\circ}$ C, 45 s, 30 个循环; 延伸 72 $^{\circ}$ C, 10 min。扩增产物送北京百泰克生物技术公司测序, 所得序列在 NCBI 上比对, 下载与其相似性较高的序列及其近似属的序列, 用 BioEdit、Clustal x 和 MEGA 4.1 软件采用 NJ 法进行系统分析, 构建系统进化树。

1.2.4 生物学特性研究 不同碳源和氮源对菌落生长的影响: 以察氏培养基为基础培养基, 分别以葡萄糖、甘油、D-果糖、D-半乳糖、乳糖、可溶性淀粉等量取代其碳源; 分别以硫酸铵、硝酸铵、甘氨酸、L-苯丙氨酸、牛肉膏、蛋白胨取代氮源。每种培养基中分别接种直径为 5 mm 的菌块, 25 $^{\circ}$ C 恒温黑暗培养 5 d 后, 用十字交叉法测量菌落直径。每个处理 3 次重复。不同温度对菌落和分子孢子萌发的影响: 取直径为 5 mm 的菌块接种于察氏培养基中央, 分别在 5、10、15、20、25、28、30、32、35、40、45 $^{\circ}$ C 黑暗下恒温培养, 5 d 后测量菌落直径。用无菌水制备菌悬液, 滴于载玻片上, 培养条件同菌落培养, 24 h 后镜检孢子萌发率, 每次镜检 100 个孢子。每个处理 3 次重复。不同 pH 对菌落和分子孢子萌发的影响: 将高压灭菌后的察氏培养基 pH 值分别调为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、10.9 倒平板, 取直径 5 mm 的菌块接种于察氏培养基中央, 黑暗条件下 25 $^{\circ}$ C 培养 5 d 后测量菌落直径。用 0.2 mol/L 磷酸氢二钠和 0.2 mol/L 柠檬酸缓冲液将分生孢子悬浮液 pH 值调配为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、10.9, 置于 25 $^{\circ}$ C 恒温箱黑暗培养, 24 h 后镜检萌发率, 每次检 100 个孢子。每个处理 3 次重复。不同光照处理: 取直径为 5 mm 的菌块接种于察氏培养基中央, 分别置于 24 h 光照、12 h/12 h 光暗交替、24 h 黑暗环境中, 25 $^{\circ}$ C 培养 5 d 后测量菌落直径。用无菌水制备菌悬液, 滴于载玻片上, 培养条件同菌落培养, 24 h 后镜检孢子萌发率, 每次镜检 100 个孢子。每个处理 3 次重复^[11-12]。

1.2.5 不同杀菌剂对菌落生长的影响 将代森锰锌、百菌清、敌克松、恶霜锰锌和扑海因用无菌水按其常用倍数稀释, 每 10 mL 培养基中加入 1 mL 药液制成含药液的平板, 对照组加入等量无菌水。取 5 mm 菌块置于察氏培养基平板中央, 25 $^{\circ}$ C 黑暗培养 5 d 后测量菌落直径。每个处理 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 CX008 病原菌的鉴定

2.1.1 形态学鉴定 病害发生时叶片出现浅褐色近圆形病斑, 中部枯白色至淡褐色, 边缘暗褐色。严重时病斑相互汇合, 使整个叶片变黑枯萎。在 PDA 培养基上,

菌落灰褐色、铺展, 其上分布灰白色五角星形状, 菌丝橄榄色或无色, 絮状, 菌落圆形、规则, 边缘整齐; 背面黑色。菌落生长较快, 生长一段时间后, 菌落上有水珠泌出(图 1)。不形成子座; 分生孢子梗分化明显, 不分枝, 淡褐或无色, 散生, 孢子梗长 \times 宽为(27.0~66.2) μ m \times (2.8~7.5) μ m。产孢细胞孔生式产孢, 多育, 合轴式延伸, 或有时不再延伸, 孢痕明显; 分生孢子串生(向顶系列)或单生, 卵形或倒棍棒形, 多具喙, 淡橄榄褐色至橄榄褐色, 光滑, 具纵隔膜 2~4 个, 纵、斜隔膜 1~3 个, (3.8~16) μ m \times (1.9~7) μ m。分生孢子顶端或喙部, 常孔生式产生新的分生孢子, 如此连续产生, 形成不分枝或分枝的孢子链(图 2、3)。

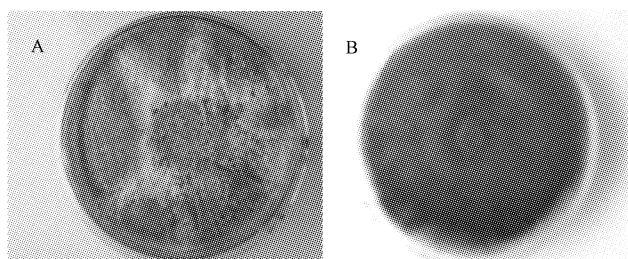


图 1 病原菌在 PDA 培养基上的菌落形态

注: A: PDA 培养基正面; B: PDA 培养基背面。

Fig. 1 Conial morphology of pathogen on the PDA medium

Note: A: The front of PDA medium; B: The back of PDA medium.

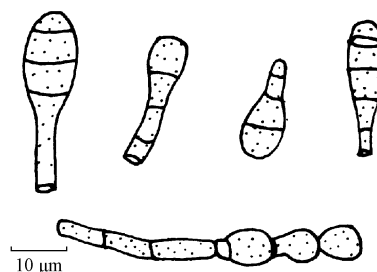


图 2 病原菌分生孢子

Fig. 2 Conidia of pathogen

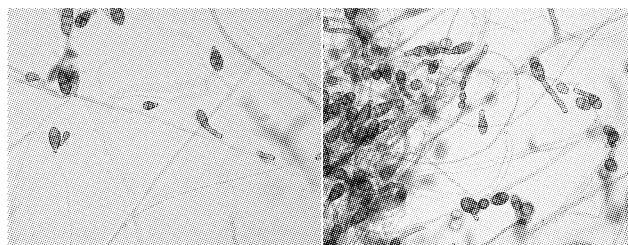


图 3 病原菌分生孢子和分生孢子梗(40 倍镜下观察)

Fig. 3 Conidiophores and conidia of pathogen

2.1.2 病原菌 rDNA-ITS 序列分析 将 CX008 菌株的 5.8S rDNA-ITS 序列在 NCBI 里进行序列比对, 结果显示 CX008 与 *Alternaria arborescens*、*Alternaria alternata*、*Alternaria tenuissima* 和 *Alternaria* 同源性最高, 下载它们的序列, 以 *Colletotrichum gloeosporioides* 和 *Sphace-*

loma erythrinae 为外群,用 BioEdit、Clustal x 和 MEGA 4.1 软件采用 NJ 法进行系统分析,构建系统进化树。结果显示与其遗传距离较近的有 4 个种,属内节点支持率为 1.00。结合其形态特征的研究,鉴定为丝孢纲 (Hyphomycetes) 丝孢目 (Hyphomycetales) 暗色孢科 (Dematiaceae),交链孢属^[13-14] 细极链格孢络石生变种 *Alternaria tenuissima* (Nees ex Fr.)^[15-25]。

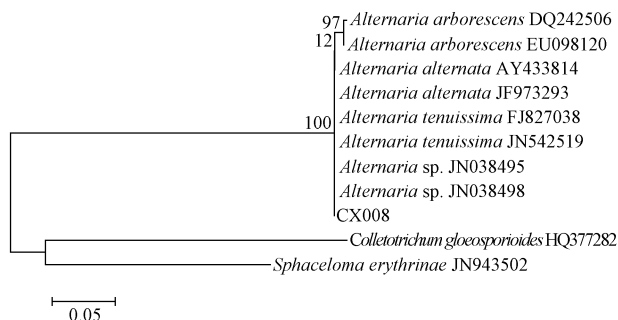


图 4 基于 5.8S rDNA-ITS 碱基序列构建的系统树

Fig. 4 Construction phylogenetic tree of CX008 based on 5.8S rDNA-ITS of nucleotide sequence

2.2 不同氮源和碳源对 CX008 菌落生长的影响

由图 5、6 可以看出,该菌对供试的 7 种氮源和碳源均能利用,菌落在不同氮源和碳源培养基上菌落直径有明显差异:最适的氮源是牛肉膏和蛋白胨,其次是甘氨酸,最差的氮源是硫酸铵;最适的碳源是蔗糖,其次是甘油,最差的是 D-半乳糖。

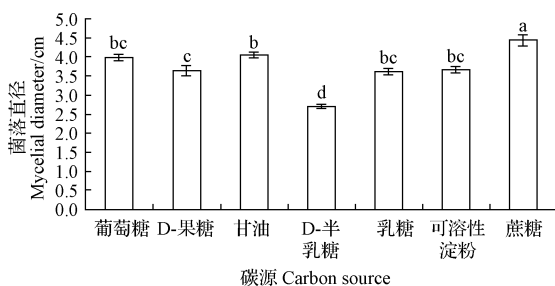


图 5 不同碳源对 CX008 菌株生长的影响

Fig. 5 Effect of different carbon source on CX008 growth

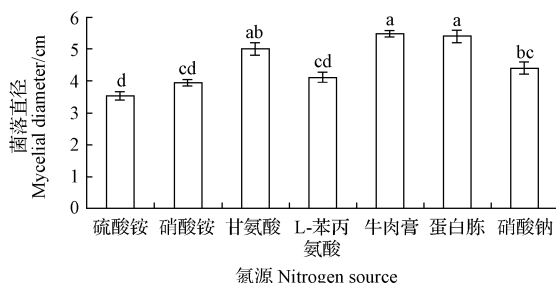


图 6 不同氮源对 CX008 菌株生长的影响

Fig. 6 Effect of different nitrogen source on CX008 growth

2.3 不同光照处理对 CX008 菌株生长的影响

由表 1 可知,有无光照对菌落生长的影响极其显著,12 h 光/暗交替处理能促进菌落生长,全光照和黑暗

处理间菌落生长无显著差异,但 2 个处理与 12 h 光/暗交替处理的菌落直径均差异显著,菌丝生长缓慢。有无光照对分生孢子均能萌发,3 种处理方式对分生孢子萌发的影响无显著差异。

表 1 光照对菌落和孢子萌发的影响

Table 1 Effect of different light on colony and the spore germination

处理条件	菌落直径	分生孢子萌发率
Treatment condition	Mycelial diameter/cm	Spore germination rate/%
光照	1.61±0.07 b	7.53±1.57 a
光/暗	2.25±0.22 a	7.92±1.90 a
黑暗	1.29±0.04 b	4.45±0.96 a

2.4 不同温度对 CX008 菌落生长和孢子萌发的影响

由表 2 可知,该病原菌在 15~40℃ 均能生长,最适生长温度是 25℃ 和 30℃,与 20℃、28℃ 和 32℃ 在 5% 水平存在显著差异,与其它处理在 1% 水平差异显著;该病原菌在 5℃、10℃ 和 45℃ 条件下停止生长。该病原菌孢子在 5~40℃ 均能萌发,最适萌发温度为 28℃,高于 40℃ 孢子无法萌发。

表 2 温度对菌落生长和孢子萌发的影响

Table 2 Effect of temperature on mycelial growth and spore germination

温度	菌落直径	分生孢子萌发率
/℃	Mycelial diameter/cm	Spore germination rate/%
5	— d	1.01±0.60 ef
10	— d	4.12±0.59 ef
15	1.12±0.56 c	7.21±0.59 ef
20	3.34±0.20 ab	16.13±1.18 cd
25	4.42±0.08 a	18.88±2.04 c
28	3.62±0.09 ab	49.10±1.46 a
30	4.05±0.24 a	8.35±1.18 de
32	3.00±0.07 ab	32.46±3.35 b
35	2.84±0.26 b	30.28±3.28 b
40	1.09±0.03 cd	1.74±0.34 ef
45	— d	— f

2.5 不同杀菌剂对菌落生长的影响

5 种广谱杀菌剂对该菌落的生长均有抑制作用,由图 7 可知,扑海因对该菌的抑制效果最好,随后依次是恶霜锰锌、百菌清、代森锰锌,效果最差的是敌克松,且扑海因与其它杀菌剂之间达到显著差异水平。

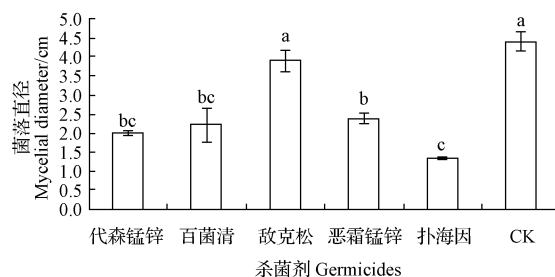


图 7 不同杀菌剂对菌丝生长的影响

Fig. 7 Effect of different getrmicides on mycelial growth

3 讨论与结论

3.1 病原菌的分离鉴定

由于核酸序列在遗传进化中高度保守且结构基因

也最为保守,从而被广泛应用于真菌的系统发育和分类鉴定研究中^[26]。牛角瓜是近年来发现的有利用潜力的能源植物之一,有很好的开发利用价值。但是目前对牛角瓜叶片黑斑病的病原菌尚鲜见报道。为此,该文通过对牛角瓜叶片黑斑病病原菌的形态学特征观察并结合分子生物学手段进行研究,结果表明,二者的鉴定结果相互吻合一致。经分离鉴定,初步推测 CX008 为丝孢纲(Hyphomycetes)丝孢目(Hyphomycetales)暗色孢科(Dematiaceae)交链孢属(*Alternaria* Nees)细极链格孢络石生变种 *Alternaria tenuissima* (Nees ex Fr.)。

3.2 病原菌生物学特性研究

研究结果表明,该菌对供试的 7 种氮源和碳源均能利用,菌落在不同氮源和碳源培养基上生长速度有明显差异,最适的氮源是牛肉膏,最适宜生长的碳源为蔗糖;该病原菌在 15~40℃ 之间均能生长,最适的生长温度是 25℃ 和 30℃,该病原菌在 15~40℃ 均能生长,最适的生长温度是 25℃ 和 30℃,在 5℃、10℃ 和 45℃ 条件下停止生长;该病原菌孢子在 5~40℃ 均能萌发,最适萌发温度为 28℃,高于 40℃ 孢子无法萌发;12 h 光/暗交替有利于菌落生长,有无光照对分生孢子萌发影响差异不显著。该病害常在 6~10 月迅速传播蔓延,此期间是雨季,温度和湿度都较高,该研究结果与此病害田间的发病规律一致。

3.3 广谱杀菌剂对该菌生长的影响

5 种广谱杀菌剂是农业上常用的杀菌剂,在该研究中对菌落的生长均有抑制作用。扑海因对该菌的抑制效果最好,随后依次是恶霜锰锌、百菌清、代森锰锌,敌克松对该菌基本没有抑制作用。该研究是在实验室中的恒温培养箱中进行,对该菌株的最适广谱杀菌剂的检测也是针对在培养基上的单一菌株,处理的环境单一,和大田生长的牛角瓜复杂的环境和其它因素的影响有很大的差异,因此,所检测的杀菌剂对大田生长的牛角瓜黑斑病是否起到同样的效果还有待于深入研究和进一步的验证。

参考文献

- [1] 中国科学院华南植物研究所. 海南植物志[M]. 3 卷. 北京:科学出版社,1974:255.
- [2] 中国科学院植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 63 卷. 北京:科学出版社,1977:384-386.
- [3] 傅登祺,黄宏文. 能源植物资源及其开发利用简况[J]. 武汉植物学

研究,2006,24(2):183-190.

- [4] 李瑞,曾建立,王晓东,等. 耐盐碱植物牛角瓜产能成分分析[J]. 过程工程学报,2007,7(6):1217-1220.
- [5] Ahmed U A M, Bashier N H H, Shi Z H. Evaluation of insecticidal potentialities of extracts from *Calotropis procera* Ait. against *Henosepilachna elaterii* Rossi[J]. 浙江文学学报(农业与生命科学版),2006,32(3):292-299.
- [6] 魏静,赵元藩,张燕平. 牛角瓜的组织培养[J]. 林业调查规划,2013,38(2):112-115.
- [7] 李克烈,罗联忠,陈伟,等. 牛角瓜的栽培管理技术及应用前景[J]. 广西农业科学,2007,26(3):247-249.
- [8] 王茂媛,戴好富,王祝年. 牛角瓜根脂溶性成分的 GC-MS 分析[J]. 热带作物学报,2010,31(11):2039-2042.
- [9] 高柱,王小玲. 牛角瓜开发价值及栽培技术研究[J]. 北方园艺,2011(18):202-206.
- [10] 李璇,费魏鹤,李卫东,等. 牛角瓜纤维/粘胶混纺产品定量分析方法[J]. 上海纺织科技,2013,41(4):13-21.
- [11] 方中达. 植物研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1998.
- [12] 陆家云. 植物病原真菌学[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
- [13] 张中义,冷怀琼,张志铭,等. 植物病原真菌学[M]. 成都:四川科学技术出版社,1988:172,374-376.
- [14] 巴尼特 H L,亨特 B B. 半知菌属图解[M]. 沈崇尧,译. 北京:科学出版社,1977:66-67,78-79,82-83,130-131,132-133,152-153.
- [15] 张天宇,张敬泽,陈伟群,等. 中国真菌志(第十六卷,链格孢属)[M]. 北京:科学出版社,2003.
- [16] 刘晓龙. 三十种真菌病害检索表[J]. 中药材,1987(2):34.
- [17] 严吉明,叶华智. 四川药用植物病害调查与病原鉴定Ⅱ. 四川药用植物病害[J]. 西南农业学报,2008,21(2):359-363.
- [18] 童晓茹,王学翠,温学森,等. 植物叶片真菌病害生物防治的研究进展[J]. 山东科学,2008,21(1):41-46.
- [19] 刘艳,叶建仁. 植物病害潜伏侵染研究进展[J]. 南京林业大学学报,2002,24(5):69-72.
- [20] 刘纪凤,范运梁. 植物叶片病害的发生与防治[J]. 植物保护,2008(20):115.
- [21] 马琼,秦恩华,李又萍. 魔芋白绢病病原菌的分离鉴定[J]. 安徽农业科学,2006,33(12):2307,2320.
- [22] 赵国柱,张天宇. 中国砖格丝孢菌研究 I. 砖格孢属[J]. 菌物系统,2003,22(1):19-22.
- [23] 高芬,吴元华. 链格孢属(*Alternaria*)真菌病害的生物防治研究进展[J]. 植物保护,2008,34(3):1-6.
- [24] 严清平,袁善奎. 5 种链格孢属植物病原真菌对 10 种杀菌剂的敏感性比较[J]. 植物保护,2008,34(2):124-127.
- [25] Von Arx J A. Die Arten der Guttg *Collettrichum*[J]. Phytopahtol Z, 1957,29:413-468.
- [26] 孙广宇,彭友良,李振歧,等. 核苷酸序列分析在真菌系统学研究中的应用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2003,31(6):187-192.

Study on Pathogen Identification and Biological Characteristics of the Leaf Spot of *Calotropis gigantean*

XIE Mei-hua^{1,2}, LI Lin³, LI Xue-ling^{1,2}, YANG Hai-yan^{1,2}, CHEN Hua-hong^{1,2}, WANG Zhen-ji^{1,2}

(1. Department of Chemistry and Life Science, Chuxiong Normal University, Chuxiong, Yunnan 675000; 2. Yunnan Province Applied Biology Key Laboratory of University, Chuxiong, Yunnan 675000; 3. Information Center, Chuxiong Pharmaceutical College, Chuxiong, Yunnan 675000)

姜蒜汁液及其可培养内生菌对苹果腐烂病的拮抗筛选研究

侯晓杰

(衡水学院 生命科学系,河北 衡水 053000)

摘要:以苹果腐烂病菌菌丝生长为研究对象,研究了姜研磨液、蒜研磨液、姜内可培养内生细菌和蒜内可培养内生细菌对苹果腐烂病的拮抗作用。结果表明:姜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝的抑制效果较好,蒜研磨液对苹果腐烂病菌菌丝生长没有抑制效果;蒜内分离到2株可培养的内生细菌对苹果腐烂病菌菌丝生长有明显的抑制效果,姜内没有分离到对此病害有抑制效果的可培养内生细菌。

关键词:苹果腐烂病;姜、蒜研磨液;可培养内生细菌;拮抗

中图分类号:S 436.611 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0116-04

苹果腐烂病又称烂皮病、臭皮病,主要分布在中国、日本、韩国等苹果主要栽培区。该病危害苹果等苹果属树木以及梨、桃、樱桃、梅等,主要侵染结果树的枝干,幼树、苗木和果实亦可受害。苹果腐烂病已成为当前苹果生产上的最严重病害之一,严重影响苹果生产的产量与质量,从而影响果农的收益。

姜蒜是人们喜爱的调味品,是家庭烹调菜肴不可少的香辛料,姜蒜的成分大体相似,既含有糖、蛋白质、维生素等营养物质,又含有植物杀菌素,杀菌作用极为相似。生姜大蒜提取物对蔬菜均具有保鲜作用,乙醇提取物的保鲜效果明显好于水提取物,保鲜有效成分含有水不溶性物质^[1-4]。宫春波等^[5]通过研究证明了鲜姜汁可以作为安全、可靠、保健的防腐剂应用于食品、饮料

等工业中;抑制腐败菌的繁殖,延长产品保质期。赵晋^[2]研究表明,姜辣素、姜精油及其混合物对猪油和大豆油具有一定的抗氧化作用,且有一定的抑菌效果。姜蒜的应用已不仅仅只局限在生活调料品上,在食品保鲜、防腐、制药、抑制腐败菌等方面发挥着越来越重要的作用。

内生真菌的研究历史比较悠久,自从1898年Vog^[6]从禾本科植物毒麦种子中分离到的第一株内生真菌开始人们就对内生真菌展开了一定的研究。关于内生细菌对植物病原菌的拮抗作用,前人研究已证明,植物内生细菌中存在大量的对植物病原菌具有拮抗作用的菌株,不同植物含有对病原菌具有拮抗作用的内生细菌的种类有所不同^[7]。何红等^[8]研究表明辣椒体内含有对多种植物病原菌具有拮抗作用、并对植物病害有防治效果的内生细菌。邓振山等^[9]通过对木霉-病原菌的对峙培养作为对照发现银杏中的内生真菌对苹果腐烂病有明显的抑制作用。乔红萍等^[10]研究表明小麦的

作者简介:侯晓杰(1981-),女,博士,讲师,研究方向为园林植物病虫害防治。E-mail:houxiaojie23@163.com.

收稿日期:2013-12-18

Abstract:One fungal strains was separated from the leaf spot of *Calotropis gigantean*, noted for CX008. It was identified through the combination of morphological observation and modern molecular biological technique, the culture traits of it were studied based on the morphological characteristics. The results showed that: the pathogen is *Alternaria tenuissima* (Nees ex Fr.). The fungi was able to use 7 kinds of carbon and nitrogen sources. The best carbon and nitrogen source for its growth were glucose and beef extract respectively. The mycelial could grow at 15~40°C, the appropriate temperature for its growth was 25~30°C, mycelial stopped growing at 5°C, 10°C and 45°C. Its spore was able to germinate at 15~40°C, the appropriate temperature was 28°C, it could not germinate when temperature exceed 40°C. 12 h light and dark alternative was helpful to mycelial growth, photoperiod had little influence on spore germination. In laboratory test, there were inhibitory action for 5 kinds broad-spectrum fungicide on mycelial growth. Iprodione was the best getrmicides on the tested, then Metalaxyl mancozeb, Chlorothalonil and Mancozeb as follow, the worst was Fenaminosulf.

Key words: *Calotropis gigantea*; leaf spot; pathogen identification; biological characteristics