

新疆石河子加工番茄叶霉病菌生物学特性研究

李辉玲¹, 田丽萍², 薛琳³

(1. 石河子大学 生命科学学院, 新疆 石河子 832000; 2. 石河子大学 药学院, 新疆 石河子 832000;
3. 石河子天园科技有限公司, 新疆 石河子 832000)

摘要:以“TD4606”加工番茄品种为试材,对新疆石河子地区分离到的叶霉病菌的生物学特性及部分流行环节进行了初步研究。结果表明:病斑产孢适宜温度范围为15~25℃,在20℃产孢量最大,而在4、35℃几乎不产孢;其菌落在20~25℃范围内生长最好,温度低于15℃或高于30℃时菌落生长迟缓。在相对湿度范围为75%~100%内病斑能够产孢,产孢量随湿度的上升、保湿时间的延长而增加。在pH 6.0时菌落生长最好,产孢量最高。全黑暗条件下比光照条件下病斑产孢量高、菌落生长快;紫外线照射对病斑产孢、菌落生长均有抑制作用。分生孢子主要在夜间飞散,在株高范围20~90 cm内,70 cm处分生孢子数量最多。

关键词:加工番茄;叶霉病;病斑产孢;生物学特性

中图分类号:S 436.412 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)22-0122-04

新疆加工番茄产量占全国90%以上,为新疆重要的“红色产业”,其中石河子垦区番茄制品量占很大份额。随着产业发展、种植面积的扩大,新疆加工番茄的病害也日趋严重。番茄病害高达40多种,其中叶霉病菌分化最快,在番茄整个生育期均有发生,损失严重时导致绝收。叶霉病菌属半知菌亚门丝孢纲褐孢霉属,主要危害叶片,严重时也祸及果实。前人对于新疆石河子加工番茄叶霉病菌生物学特性方面的研究鲜有报道,该试验对新疆石河子加工番茄叶霉病菌的主要流行环节中病斑产孢及生物学特性进行初步研究,以期为加工番茄育种、叶霉病病害鉴定、预测及防治该病害提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试叶霉病菌于2012年7月从新疆石河子蔬菜研究所大田加工番茄罹病植株上分离得到,加工番茄品种为“TD4606”。

1.2 试验方法

1.2.1 病斑产孢试验

采集病斑大小相近的病叶,用自来水冲洗后再用无菌水洗去表面分生孢子及分生孢子

梗,用直径11 mm的打孔器取同等大小病斑,放入铺有灭菌滤纸的培养皿中,每个培养皿放4块病斑,每个处理4次重复。计算产孢量时,将病斑上孢子洗入相同大小的培养皿中,用低倍镜(10×10)测算1个视野内的平均孢子数,培养皿内的总孢子数即为1个视野内的平均孢子数×培养皿面积(该试验所用培养皿规格均为直径90 mm)与显微镜视野的面积比(该试验所用显微镜目镜视场10/18,物镜10×/0.25,即视野直径为1.8 mm)。温度试验:分别置于4、10、15、20、25、30、35℃温箱中培养,24 h后用20 mL无菌水将病斑上的分生孢子洗脱到无菌培养皿中,计算单斑产孢量。相对湿度与保湿时间试验:分别置于相对湿度75%~100%之间的某种湿度条件下(用干湿球温度计测量)产孢,24 h后用20 mL无菌水将病斑上的分生孢子洗脱到无菌培养皿中,计算产孢量。另外应用半斑法,每个处理都用24 h作对照,将一半病斑分别保湿4、8、12、16、20、24 h 6个处理,计算培养皿内的总孢子数以及处理孢子总数占对照孢子总数的相对产孢百分率。光照试验:分别置于24 h光照、光照-黑暗12 h交替、黑暗24 h条件下培养,用20 mL无菌水将病斑上的分生孢子洗脱到无菌培养皿中,计算单斑产孢量。紫外线试验:分别置于紫外灯下30 cm处开盖照射0、1、2、3、5、8、15 min,再黑暗培养24 h后用20 mL无菌水将病斑上的分生孢子洗脱到无菌培养皿中,计算单斑产孢量。

1.2.2 病菌生长试验

加工番茄叶霉病菌先用PDA培养基单孢扩增繁殖后,用直径为6 mm、灭菌的打孔器取菌落,接种到PDA平板中央,每个处理4次重复。温度

第一作者简介:李辉玲(1988-),女,硕士,研究方向为番茄遗传育种。E-mail:lihuiling_0110@163.com。

责任作者:薛琳(1964-),男,本科,研究员,现主要从事蔬菜育种与栽培研究工作。E-mail:xuelin1806@163.com。

基金项目:兵团科技局资助项目(2011AB002);科技部“十二五”农村领域国家科技计划课题资助项目(2011BAD35B07(02))。

收稿日期:2013-07-24

试验:分别置于4、10、15、20、25、30、35℃温箱中培养,于7、15 d后测量菌落直径及产孢量。pH值试验:分别置于pH值为2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0的PDA培养基中培养,于7、15 d后测量菌落直径及产孢量。光照试验:分别置于24 h光照、光照-黑暗12 h交替、黑暗24 h条件下培养,于7、15 d后测量菌落直径及产孢量。紫外线试验:分别置于紫外灯下30 cm处开盖照射1、2、3、5、8、15 min,以避免紫外线照射为对照,于7、15 d后测量菌落直径及产孢量。

1.2.3 分生孢子飞散时空动态 分生孢子飞散时间动态:在大棚内种植加工番茄品种“TD4606”,经叶霉病菌侵染1个月充分发病后,选择4个合适的地点,用盛有30 mL清水、同等大小的培养皿捕捉孢子。捕捉时段为8:00~20:00和20:00~8:00。捕捉后计算孢子数,重复4个昼夜。对比白天和夜间孢子捕捉数量的差异。分生孢子飞散空间动态:在大棚中选择病情级别较重的加工番茄植株,在其垂直高度为20、30、40、50、60、70、80、90 cm处用盛有30 mL清水、同等大小的培养皿捕捉孢子,4次重复。计算孢子数,比较不同株高分生孢子相对数量的差异。

2 结果与分析

2.1 番茄叶霉病菌培养性状

加工番茄叶霉病菌菌落生长缓慢,呈圆形疣瘤状,外层为白色绒状菌丝,内层为墨绿色。在PDA培养基上生长15 d后,菌落中间部位有圆形凹陷且产生星状裂纹。该菌属半知菌亚门丝孢纲褐孢霉属,分生孢子梗呈暗橄榄绿色,具分枝,有隔膜。分生孢子串生,从产孢细胞膨大一侧产生,呈淡褐色椭圆形,光滑具隔膜。

2.2 不同条件对病斑产孢的影响

2.2.1 温度对病斑产孢的影响 由表1可知,病斑在10~35℃范围内均可产孢,在15~25℃范围内适宜产孢,在4~20℃范围内,随着温度升高,病斑产孢数量也增加,20℃以后,随温度的降低,产孢数量减少,在4、35℃时几乎不产孢。差异显著性分析表明,病斑产孢量相对值在20℃时最大,极显著高于其它温度的产孢量。

表1 温度对病斑产孢的影响

Table 1 Effects of temperature on lesion sporulation

温度 Temperature	产孢量相对值 Relative value of sporulation				差异显著性 Significance	
	/℃	I	II	III	IV	a=0.05 a=0.01
4	0	0	0	0	0	c C
10	946	384	544	212	521.5	c C
15	3 420	4 386	5 892	3 918	4 404.0	b B
20	7 038	6 906	9 714	7 740	7 849.5	a A
25	4 722	5 358	7 002	4 254	5 334.0	b B
30	286	547	314	232	344.8	c C
35	102	0	66	234	100.5	c C

2.2.2 相对湿度对病斑产孢的影响 由表2可知,湿度75%~100%范围内,病斑产孢数量随着湿度的加大而增

多。差异显著性分析结果表明,在湿度达到100%时即饱和湿度时病斑产孢量相对值最高,极显著高于其它相对湿度的产孢量。

表2 相对湿度对病斑产孢的影响

Table 2 Effects of relative humidity on lesion sporulation

相对湿度 Relative humidity/%	产孢量相对值 Relative value of sporulation				差异显著性 Significance	
	I	II	III	IV	平均 Average	a=0.05 a=0.01
75	1 050	1 460	1 320	1 248	1 269.5	e E
82	6 014	8 894	2 548	5 068	5 631.0	e E
85	27 234	29 244	27 942	25 692	27 528.0	d D
90	44 352	42 846	43 854	47 136	44 547.0	c C
95	53 064	57 318	54 708	52 158	54 312.0	b B
100	79 596	69 547	89 712	82 848	80 182.5	a A

2.2.3 保湿时间对病斑产孢的影响 由表3可知,在24 h内,病斑产孢量相对值受保湿时间的影响很大,在低于24 h内,病斑产孢率随着保湿时间的延长而不断提高。

表3 保湿时间对病斑产孢的影响

Table 3 Effects of humidity keeping time on lesion sporulation

保湿时间 Time of keeping humidity/h	产孢量相对值 Relative value of sporulation		差异显著性 Significance		产孢率 Rate of sporulation
			a=0.05	a=0.01	/%
4	718	22 351	a	A	3.21
8	6 274	20 993	b	B	29.89
12	14 075	25 638	c	C	54.90
16	13 572	24 238	d	D	56.00
20	17 218	20 268	e	E	84.95
24	20 796	21 286	f	F	97.70

2.2.4 光照对病斑产孢的影响 由表4可知,病斑产孢在黑暗条件下最高,光照-黑暗各交替12 h处理后的产孢量位于二者之间,且黑暗条件下的产孢量是光照条件下的2.67倍。对4次重复数据进行差异显著性分析表明,3种光照条件下的产孢量差异显著,说明黑暗条件有利于病斑产孢。

表4 光照对病斑产孢的影响

Table 4 Effects of light on lesion sporulation

光照条件 Condition of light	产孢量相对值 Relative value of sporulation				差异显著性 Significance	
	I	II	III	IV	平均 Average	a=0.05 a=0.01
光照 24 h	402	564	486	582	508.5	c C
光照-黑暗 交替 12 h	1 068	996	1 038	924	1 006.5	b B
黑暗 24 h	1 632	1 254	1 128	1 410	1 356.0	a A

2.2.5 紫外线对病斑产孢的影响 由表5可知,在试验设定的紫外线照射时间段内,病斑产孢量随着照射时间的延长而减少,在照射时间1 min内,病斑产孢量受抑制度不高,而在1 min后,紫外线对病斑产孢量的影响随着时间的增加抑制程度升高。当照射时间超过8 min后,抑制率达94%以上。

表 5 紫外线对病斑产孢的影响

Table 5 Effects of ultraviolet rays on lesion sporulation

紫外线照射时间 Irradiation time of ultraviolet rays/min	产孢量相对值 Relative value of sporulation				差异显著性 Significance	
	I		II		IV	平均 Average
	1	2	3	5	8	15
0(CK)	1 205	1 438	1 374	1 630	1 411.75	a A
1	1 106	1 084	1 062	1 193	1 111.25	b B
2	882	819	903	873	869.25	c C
3	336	296	282	308	305.50	d D
5	166	196	182	203	186.75	e DE
8	83	62	89	103	84.25	ef EF
15	36	38	24	22	30.00	f F

2.3 不同条件对病菌生长的影响

2.3.1 温度对病菌生长的影响 表 6 表明,加工番茄叶霉病菌在 15~30℃ 范围内均能生长,在 20~25℃ 生长最好,7 d 菌落直径达到 16.1 mm 以上,产孢量达到 $2.27 \times 10^7 / 6\text{mm}^2$ 以上;15 d 后达到 26.8 mm 以上,产孢量达到 $3.25 \times 10^7 / 6\text{mm}^2$ 以上。温度在 15℃ 以下及 30℃ 以上时病菌生长明显迟缓,产孢量也明显减少。

表 6 温度对菌落生长及产孢量的影响

Table 6 Effects of temperature on the growth of mycelial and the quantity of spore

温度 Temperature /℃	菌落直径 Colony diameter /mm		产孢量相对值 Relative value of sporulation/ $\times 10^7$		差异显著性 Significance	
	7 d	15 d	a=0.05	a=0.01	7 d	15 d
					a=0.05	a=0.01
4	0	0	c	B	—	—
10	0.2	0	c	B	—	—
15	12.8	20.3	b	A	1.85	2.97
20	16.1	26.8	ab	A	2.27	3.25
25	17.2	29.4	a	A	2.62	3.89
30	12.7	17.7	b	A	1.62	2.73
35	0	0	c	B	—	—

2.3.2 pH 值对病菌生长的影响 病菌在 pH 值为 3.0~11.0 内均能生长,在 pH 为 6.0 时生长最好,7 d 菌落直径达到 21.2 mm,产孢量达到 $2.89 \times 10^7 / 6\text{mm}^2$;15 d 后达到 27.9 mm,产孢量达到 $3.87 \times 10^7 / 6\text{mm}^2$ 。当 pH 值高于 10 或低于 3 时,病菌基本不生长。

表 7 pH 值对菌落生长及产孢量的影响

Table 7 Effects of pH on the growth of mycelia and the quantity of spore

pH	菌落直径 Colony diameter /mm		产孢量相对值 Relative value of sporulation/ $\times 10^7$		差异显著性 Significance	
	7 d	15 d	a=0.05	a=0.01	7 d	15 d
					a=0.05	a=0.01
2.0	0	0	f	E	—	—
3.0	1.1	2.9	ef	E	0.47	1.05
4.0	2.3	5.7	e	DE	0.87	1.18
5.0	6.1	12.7	c	C	1.22	1.98
6.0	21.2	27.9	a	A	2.89	3.87
7.0	13.3	19.4	b	B	2.14	2.91
8.0	9.3	14.1	c	BC	1.43	2.52
9.0	5.4	9.8	cd	CD	1.04	1.45
10.0	0.9	1.7	ef	E	0.27	0.71
11.0	0.2	0.8	ef	E	—	—
12.0	0	0	f	E	—	—

2.3.3 光照对病菌生长的影响 由表 8 可知,通过对比光照和黑暗条件下菌落直径及产孢量相对值,表明光照对该菌具有生长抑制作用,黑暗处理下 15 d 后的菌落直径是光照处理的 1.5 倍,产孢量相对值是光照处理的 1.4 倍。并且试验结果表明,光照对菌落生长及产孢量的抑制作用随着时间的延长而增加。

表 8 光照对菌落生长及产孢量的影响

Table 8 Effects of light on the growth of mycelia and the quantity of spore

光照条件 Condition of light	菌落直径 Colony diameter /mm		产孢量相对值 Relative value of sporulation/ $\times 10^7$		差异显著性 Significance	
	7 d	15 d	a=0.05	a=0.01	7 d	15 d
					a=0.05	a=0.01
光照 24 h	16.8	19.4	b	B	2.19	2.83
光照-黑暗 交替 12 h	20.5	23.1	ab	AB	2.97	3.14
黑暗 24 h	22.3	28.7	a	A	3.09	3.83

2.3.4 紫外线对病菌生长的影响 由表 9 可知,随着紫外线照射时间的增加,菌落生长及产孢量明显降低。当处理时间在 1 min 内时,菌落基本不受影响,当处理时间在 2~5 min 内,紫外线对菌落生长及产孢量的抑制作用显著增强,当处理时间超过 5 min 后,抑制作用基本达到 100%。

表 9 紫外线对菌落生长及产孢量的影响

Table 9 Effects of ultraviolet rays on the growth of mycelia and the quantity of spore

紫外线照射时间 Irradiation time of ultraviolet rays/min	菌落直径 Colony diameter /mm		产孢量相对值 Relative value of sporulation/ $\times 10^7$		差异显著性 Significance	
	7 d	15 d	a=0.05	a=0.01	7 d	15 d
					a=0.05	a=0.01
0(CK)	23.6	29.2	a	A	3.34	3.95
1	22.7	28.3	a	A	3.13	3.70
2	16.4	20.4	b	B	2.04	2.88
3	7.2	10.5	c	C	1.27	1.56
5	3.9	5.1	d	CD	1.09	1.18
8	0.7	0.9	e	D	—	0.17
15	0.2	0	e	D	—	—

2.4 分生孢子飞散时空动态

2.4.1 分生孢子飞散时间动态 表 10 结果表明,对 4 次数据进行差异显著性分析,叶霉病菌的分生孢子主要在夜间飞散,其产孢量相对值是白天的 4 倍。

表 10 时间与分生孢子数量的关系

Table 10 Relationship between time and conidia quantity

光照条件 Condition of light	产孢量相对值 Relative value of sporulation				差异显著性 Significance	
	I	II	III	IV	平均 Average	a=0.05 a=0.01
	Night (20:00~8:00)	14 220	11 580	17 820	20 520	16 035 a A
Day (8:00~20:00)	3 060	4 380	2 340	6 300	4 020	b B

2.4.2 分生孢子飞散空间动态 对 4 次数据进行方差

分析,由表 11 可见,在 20~70 cm,分生孢子数量先是随着高度的增加而增加,在 70~90 cm,随着高度的增加分生孢子数量逐渐下降。40、50、60、80、90 cm 等高度处分生孢子数量差异不显著。

表 11 高度与分生孢子数量的关系

Table 11 Relationship between height and conidia quantity

Height /cm	产孢量相对值				差异显著性	
	Relative value of sporulation				Significance	
	I	II	III	IV	平均 Average	a=0.05 a=0.01
20	13	9	11	19	13.00	d C
30	33	21	17	43	28.50	cd C
40	128	117	143	29	104.25	bc BC
50	157	211	137	132	159.25	b B
60	276	172	158	117	180.75	b AB
70	304	339	190	293	281.50	a A
80	291	118	93	207	177.25	b AB
90	170	72	69	135	111.50	b BC

3 讨论

番茄叶霉病在加工番茄的整个生育期内均能发生,主要以菌丝体或者附着在土壤或种皮内的分生孢子作为传播源,流行性强,传播迅速,危害严重,大面积蔓延时造成损失巨大。该试验对该叶霉病菌的生长及产孢等的初步研究结果表明,病斑产孢适宜温度范围为 15~25℃,当温度高于 30℃ 时不利于该菌的生长及产孢;在相对湿度为 85%~100% 范围内适宜产孢,且保湿时间越长,病斑产孢量越高;黑暗条件有利于病菌生长及产孢,紫外线照射时间超过 8 min 对该病菌的抑制率高达 94%。pH 值适宜病菌生长及产孢的范围为 3.0~10.0。该研究结果与资料报道上不完全一致,即温度为 20~25℃,pH 值为 5.0~6.0,且相对湿度低于 86% 时孢子不萌发^[1],光照对该菌生长几乎没有影响^[2],分析原因可能是由于试验条件、地理环境及气候等条件不同,加之加

工番茄叶霉病菌的生理小种繁多、分化迅速^[3],导致研究结果略有差异。因此,在防治措施上,需根据当地病害的具体情况来采取相应的防治措施。在晴天时可以通过高温闷棚来抑制叶霉病的发生,种植中控制白天温度在 30℃ 以上,下午降温并降低相对湿度至 85% 以下,合理密植,在连天阴雨天气下,光照弱且湿度大,应及时通风降温降湿。

该研究结果表明,植株冠层附近孢子垂直分布规律为,在株高 20~90 cm 范围内,分生孢子数量先是随着株高的增加而增加,70 cm 以后随着株高的增加,分生孢子数量逐渐下降。这与刘洋等^[4]对贵州省不同气候区烟草赤星病菌孢子分布研究结果不一致,即孢子数随着株高的增加呈指数关系减少。分析其原因,可能是位于 70 cm 处的叶片交叠遮挡,拦截了相当多的孢子所致。而与白庆荣等^[5]对番茄叶霉病重要流行环节初步研究Ⅱ中的结果相似。该研究中的加工番茄叶霉病菌采自石河子蔬菜研究所,研究结果仅描述了加工番茄叶霉病菌的一些定量指标,而对该菌种的生理分化情况以及孢子飞散与环境条件的关系等还有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 顾沛雯,张军翔,徐红敏.番茄叶霉病菌生物学特性研究[J].宁夏农学院学报,2004,25(3):21-23.
- [2] 王美琴,王海荣,刘慧平,等.番茄叶霉病菌的生物学特性研究[J].山西农业大学学报,2003(4):303-307.
- [3] 洪瑞,李景富.番茄叶霉病生理小种研究进展[J].东北农业大学学报,2010,41(2):143-147.
- [4] 刘洋,陈庆园,曾琛,等.贵州省不同气候区烟草赤星病菌孢子分布研究[J].河南农业科学,2012,41(11):100-102.
- [5] 白庆荣,翟亚娟.番茄叶霉病重要流行环节初步研究Ⅱ.病斑产孢、孢子飞散[J].吉林农业大学学报,2010,32(3):249-253.

Study on the Biological Characters of *Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri of Processing Tomato in Shihezi of Xinjiang

LI Hui-ling¹, TIAN Li-ping², XUE Lin³

(1. College of Life Science, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000; 2. College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000;
3. Shihezi Tianyuan Technology Co. Ltd., Shihezi, Xinjiang 832000)

Abstract: Taking processing tomato variety ‘TD4606’ as material, the biological characters and lesion sporulation of *Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri from Shihezi city of Xinjiang province were preliminary studied. The results showed that the suitable temperature for lesion sporulation was 15~25℃, 20℃ was the optimal temperature. Lesions hardly sporulated at 4℃ and 35℃. The optimum temperature for the colony growth was 20~25℃, and colony grew slowly below 15℃ or above 30℃. Lesions could sporulate under the relative humidity of 75% to 100%, and the quantity of sporulation increased with the time and the going up of humidity. The optimal pH of colony growth and lesion sporulation was 6.0. Lesions sporulated more and colonies grew faster in dark than in light. The ultraviolet rays inhabited the lesion sporulation and the colony growth. Spores mainly dispersed at night. The highest quantity of spores was found at 70 cm parts within the tomato plant from 20 cm to 90 cm.

Key words: processing tomato; *Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri; lesion sporulation; biological characters