

草乌白绢病菌生物学特性的初步研究

李小霞, 桑维钧^{2*}, 肖仲欠³, 宋宝安³, 熊继文, 杨汝, 任春光 (1. 贵州大学农学院, 贵州贵阳550025; 2. 教育部绿色农药与农业生物工程重点实验室, 贵州贵阳550025; 3. 遵义师范学院生物系, 贵州遵义563002)

摘要 对草乌白绢病病菌齐整小核菌(*Sclerotium rolfsii* Sacc.)的生物学特性进行了初步研究。结果表明, 30 ℃、pH值5.0~6.0及黑暗等条件适宜菌丝生长; 25~35 ℃、pH值4.0~6.0、光照、相对湿度100%加水等条件适合菌核萌发。

关键词 草乌; 白绢病; 生物学特性

中图分类号 S435.672 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)03-00760-02

Study on the Biological Characteristic of Southern Blight Pathogen (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) of *Aconitum kusnezoffii* Reichb Root
Li Xiaoxia et al (Agriculture College, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract The biological characteristics of *Aconitum kusnezoffii* Reichb root southern blight pathogen (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) were studied in the experiment. The results showed that hypha could grow when cultured at temperature 30 ℃, pH 5.0~6.0 and dark condition. Conditions such as temperature 25~35 ℃, pH 4.0~6.0, light, 100% relative humidity and added water were beneficial to sclerotia germination.

Key words *Aconitum kusnezoffii* Reichb; Southern blight; Biological Characteristics

草乌(*Aconitum kusnezoffii* Reichb)属毛茛科乌头属,藤本耐寒植物野生种,以根茎入药,性味辛、苦、热,有大毒,具祛风散寒、除湿止痛、麻醉等功效^[1]。近年来,因野生草乌经过长期的人工选育、大面积栽培和过度保护,野生草乌许多适应环境、防御病害的能力渐渐地被钝化、休眠甚至丧失,造成草乌白绢病严重发生,为此,笔者对草乌白绢病菌的生物学特性进行了研究,以期能为田间防治提供依据。

1 材料与方 法

1.1 供试菌株 病株采自贵州省横恒霸药业草乌种植基地,在PDA培养基上按常规方法进行组织分离和病原菌纯化^[2],获得纯培养菌。

1.2 病原菌生物学特性观察

1.2.1 温度对菌丝生长及菌核萌发的影响。在PDA培养基制成平板上培养2 d,用打孔器从菌落边缘切取同一菌龄、直径5 mm的菌丝块(下同),接于直径7.2 cm(下同)含10 ml PDA的培养皿中央,分别放入5~40 ℃,梯度为5 ℃的恒温箱中培养,每天用十字交叉法测菌落直径,计算菌落生长速率,10 d后记录产生的菌核量,重复3次(下同)。在PDA平板上接种同一菌龄的菌核20粒/皿^[2](下同),24 h后观察菌核萌发情况,连续观察5 d,计算萌发率。

1.2.2 pH值对菌丝生长及菌核萌发的影响。将PDA液体培养基灭菌后用1 mol/L NaOH和1 mol/L HCl将pH值分别调至1~12,梯度为1,取10 ml放入培养皿中,接种菌丝块,置于25 ℃恒温箱中培养,4 d后用纱布滤去培养液,将菌丝体挑入培养皿中,置于45 ℃干燥箱中烘干至恒重,称量菌丝体干重。

菌核萌发实验,在培养皿中放一张滤纸,再取5 ml液体培养基滴在滤纸上,使滤纸全部湿透,将菌核放在滤纸上,置于25 ℃恒温箱中培养,24 h后观察菌核萌发情况,连续观察5 d。

1.2.3 湿度对菌核萌发的影响。用恒温恒湿光照培养箱,分别调制不同相对湿度:50%、60%、70%、80%、90%、100%、100%+水。在培养皿中放一张滤纸(100%+水的滤纸用无菌水浸湿),将菌核放在滤纸上,放入相应25 ℃培养箱中,5 d后观察菌核萌发情况,计算萌发率。

1.2.4 通气条件对病菌菌丝生长的影响。以PDA为基础培养基,倒入250 ml三角瓶中,每瓶100 ml,每处理3次重复,在无菌条件下接入培养时间相同、直径5 mm的菌丝块,将通气处理置于25 ℃、120 rpm/min振荡培养箱中培养,另一处理置于同样温度恒温箱中静止培养,6 d后测定菌丝生长量。

1.2.5 不同培养基对菌丝生长的影响。供试培养基: PDA; 肉汁冻培养基; OMA; CMA; 寄主组织汁培养基; 寄主组织汁+蔗糖培养基; 查氏培养基; WA共7个处理^[4],将上述培养基高温灭菌后倒成含10 ml培养基的平板,然后接入菌龄相同直径为5 mm的菌丝块,3次重复,置于25 ℃的恒温箱中培养,2 d后测量菌落直径,10 d后记录产生的菌核量。对菌核萌发的影响,实验方法与1.2.1同。

表1 温度对菌丝生长及产核的影响

| 温度 | 菌落状况 | 菌落平均值/mm | 生长速率/mm/d | 产核量/个/皿 |
|----|------|----------|-----------|---------|
| 5 | - | 5.0 | 0 eE | 0 dD |
| 10 | + | 6.0 | 0.50 eE | 0 dD |
| 15 | +++ | 15.8 | 5.40 dD | 0 dD |
| 20 | ++++ | 33.1 | 14.05 cC | 149 cC |
| 25 | ++++ | 47.6 | 21.25 bB | 281 bB |
| 30 | ++++ | 58.8 | 26.75 aA | 340 aA |
| 35 | ++++ | 48.5 | 21.75 bB | 114 cC |
| 40 | + | 6.0 | 0.50 eE | 0 dD |

注:1.接种菌饼直径为5 mm;2.“++++”最好,“+++”较好,“++”差,“+”最差,“-”不能生长,以下各表同;3.小写字母为0.05显著水平,大写字母为0.01显著水平(下同)。

2 结果与分析

2.1 温度对菌丝生长及菌核萌发的影响 菌丝生长温度10~40 ℃,在25~35 ℃条件下菌丝生长速度明显大于其他温度处理,其中以30 ℃下菌丝生长最快,培养48 h后菌落直径达到58.8 mm,生长速度为26.75 mm/d。方差分析表明,不同温度对菌丝生长的影响差异显著(表1)。菌丝在20~35 ℃均

基金项目 贵州省中药材现代化产业专项重点项目[黔科合中药专字(2003)25号];贵州重点攻关项目[黔科合农社字(2001)1110号]。

作者简介 李小霞(1979-),女,贵州六盘水人,硕士研究生,研究方向:真菌及真菌病害研究。*通讯作者,硕士生导师,副教授,从事真菌病害研究。

收稿日期 2006-09-28

可产生菌核,30 ℃ 时产生的菌核最多。菌核在10~40 ℃ 均可萌发,30 ℃ 为萌发的最适温度,在这个温度范围内菌核萌发快而整齐(图1)。

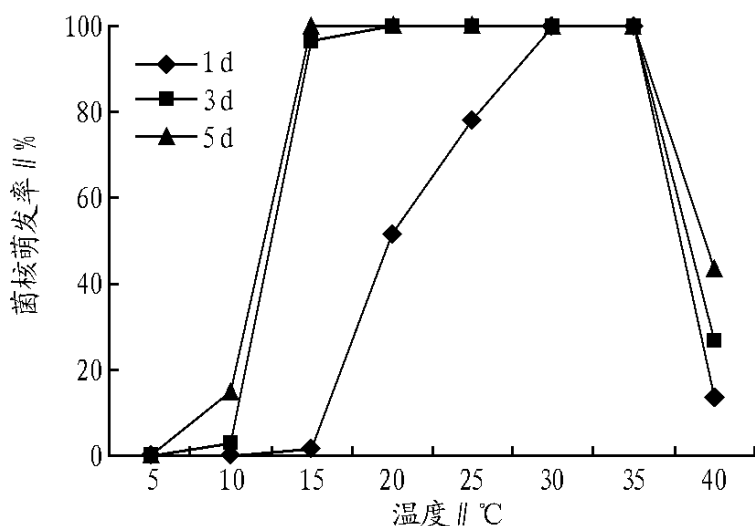


图1 温度对菌核萌发的影响

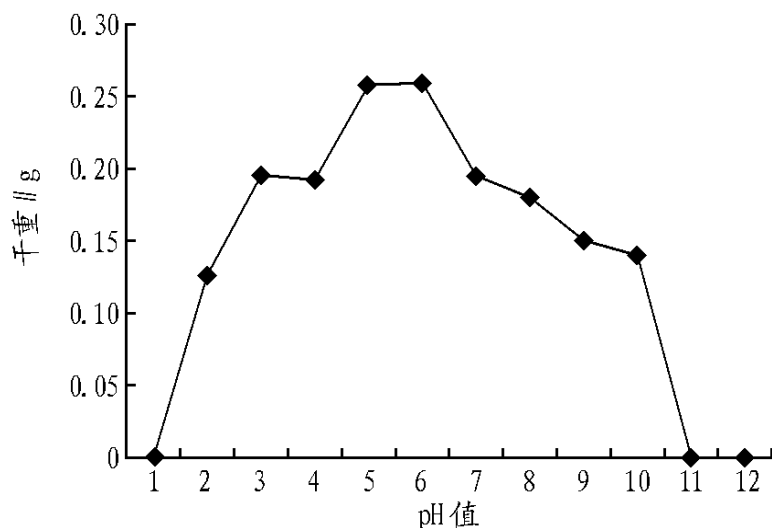


图2 pH值对菌丝生长的影响

2.2 pH值对菌丝生长及菌核萌发的影响 菌丝生长适宜pH值2.0~10.0,最适pH值5.0~6.0(图2);菌核萌发的适宜pH值2.0~11.0,最适pH值4.0~6.0,在此范围内,菌核萌发快而整齐(图3),培养2d萌发率即达到100%。由此可见,病菌较适宜在酸性条件下生长。

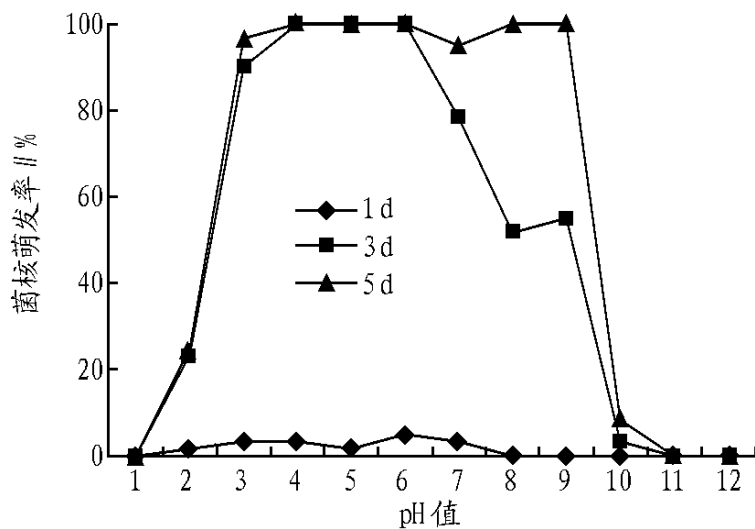


图3 pH值对菌核萌发的影响

2.3 湿度对菌核萌发的影响 菌核只有在相对湿度100%和100%加水的情况下才能萌发(图4),这表明菌核萌发需要极高的湿度。

2.4 通气对菌丝生长的影响 通气条件对齐整小核菌菌

丝生长影响不大,振荡培养(通气)菌丝生长量为0.9936g,静止培养生长量为0.9715g,2种条件下菌丝生长差异不显著。

2.5 不同培养基对菌丝生长及菌核形成的影响 研究结果表明(表2),齐整小核菌菌丝在PDA上生长最快,其次是CMA;在WA上生长最慢,长势最差;其中OMA、CMA、寄主组织+蔗糖、PDA培养基均能促进病菌的产核量。

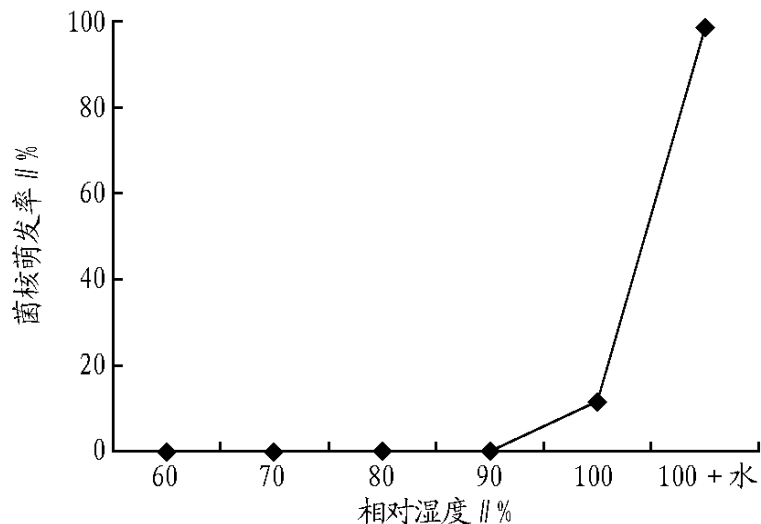


图4 相对湿度对菌核萌发的影响

表2 不同培养基对菌丝生长及菌核形成的影响

| 处理 | 菌落状况 | 菌落平均值 | 生长速率 | 产核量 |
|----|------|-------|----------|----------|
| | | mm | mm/d | 个/皿 |
| | ++++ | 72.0 | 24.0 aA | 188.7 bB |
| | +++ | 42.3 | 14.1 cB | 0.0 cC |
| | ++++ | 62.7 | 20.9 abA | 319.3 aA |
| | ++++ | 71.3 | 23.8 aA | 202.3 bB |
| | ++ | 64.3 | 21.4 abA | 46.3 cC |
| | +++ | 66.3 | 22.1 abA | 210.0 bB |
| | +++ | 40.3 | 13.4 cB | 0.0 cC |
| | + | 61.3 | 20.4 bA | 13.3 cC |

3 结论与讨论

草乌白绢病菌菌丝生长的温度范围为10~40 ℃,菌核萌发的最适温度为30 ℃。菌丝生长适宜范围pH值2.0~10.0,最适pH值5.0~6.0;菌核萌发适宜范围pH值2.0~11.0,最适pH值4.0~6.0。菌核只有在相对湿度100%和100%加水的情况下才能萌发,这表明菌核萌发需要极高的湿度。通气条件对齐整小核菌菌丝生长影响不大,振荡培养菌丝生长量为0.9936g,静止培养生长量为0.9715g,2种条件下菌丝生长差异不显著。菌丝在PDA上生长最快,其次是CMA;在WA上生长最慢,长势最差;其中OMA、CMA、寄主组织+蔗糖、PDA培养基均能促进病菌产核量。

参考文献

- [1] 柳惠庆,高克祥,史靖,等.山植扦插苗白绢病的研究[J].河北林学院学报,1995,10(1):54-61.
- [2] 方中达.植物研究方法[M].北京:农业出版社,1979:122-124.
- [3] 王琪,赖传雅,廖咏梅,等.龙眼褐斑病原及其生物学特性[J].植物病理学报,2003,33(5):406-410.
- [4] 覃丽萍.广西茉莉花病害调查及主要病害的病原生物学特性和防治技术研究[D].南宁:广西大学,2005.