

## 棉花黄萎病菌菌丝生长和产孢量的影响因素研究

纪文飞, 高智谋\*, 曹君, 邹艳, 杜雷, 陈伟 (安徽农业大学植保学院, 安徽合肥230036)

**摘要** 研究不同温度、pH值以及碳源、氮源对棉花黄萎病菌菌丝生长速率和分生孢子产生量的影响。结果表明,在0~33℃下,供试菌株均能生长,最适温度为25℃;在pH值为3~10时均能生长,最适pH值为5~8;葡萄糖作为碳源时,该病菌在培养基平板上生长最快,分生孢子的产生量最大;氮源以硝酸钠为最佳,其次为脲。硫酸铵作为氮源时菌丝生长速率低于无氮源对照,菌落不形成微菌核,产孢量少,这说明硫酸铵为氮源时不利于病菌菌丝生长及微菌核和分生孢子的形成。

**关键词** 棉花黄萎病菌;菌丝生长速率;产孢量

中图分类号 S435.63 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)17-4330-02

### Effect of Temperature, pH and Nutrient on the Mycelia Growth and Conidia Production of *Verticillium dahliae*

Ji Wenfei et al. (College of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036)

**Abstract** The effects of temperature, pH, carbon and nitrogen sources on the mycelium growth and conidia production of *Verticillium dahliae* Kleb and the pathogenic fungus causing Verticillium wilt of cotton in Anhui were studied respectively. The results showed that for the mycelium growth of *Verticillium dahliae*, the range of temperature was from 0 to 33 °C, with the optimum being 25 °C and the range of pH was from 3 to 10, with the optimum being 5 to 8. Glucose was the best carbon source for the mycelium growth of the fungus. Among the tested nitrogen sources, sodium nitrate was the best, next was urea. Ammonium sulfate was inhibitory to the mycelium growth, micro-sclerotium formation and conidia production of the pathogenic fungus.

**Key words** *Verticillium dahliae*; Mycelia growth rate; Conidia production

棉花黄萎病(*Verticillium dahliae* Kleb)是世界性重要棉花病害之一,为我国B类植物检疫对象<sup>[1-3]</sup>。该病属于土传病害,具有毁灭性,一旦发生很难根治。棉花受害后,植株叶片枯萎,蕾铃脱落,棉铃变小,重病株于花铃期枯死,一般减产20%~60%,同时病株棉花纤维缩短,强度降低,品质变劣。该病近年来在我国扩展较快,已成为安徽乃至全国棉花稳产高产的主要障碍<sup>[4]</sup>。关于棉花黄萎病菌的生物学特性已有一些研究<sup>[5]</sup>,但有关安徽省棉花黄萎病菌的生理生态迄今尚未见系统研究的报道。为此,笔者在对自安徽棉区采集分离获得的棉花黄萎病菌株进行鉴定的基础上,就温度、pH值及碳氮营养对棉花黄萎病菌生长速率和产孢量的影响进行研究,以期明确安徽棉区棉花黄萎病菌生理生态特性,为棉花黄萎病的检疫检测和综合治理提供依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 菌株** 棉花黄萎病菌菌株WZH1、WXH2、WWH2,均由安徽农业大学植保学院真菌研究室从安徽望江、无为棉区采集,经分离、纯化、鉴定后得到。

**1.2 培养基** 马铃薯葡萄糖培养基(PDA)和查氏(Czapek)培养基,按照文中表达方法配制<sup>[5]</sup>。

**1.3 温度** 供试菌株在PDA平板上25℃恒温培养5d,沿菌落边缘取直径7mm的菌丝块分别移植于PDA平板中央,置于0.5、10、15、20、25、30、33、35℃下培养,3次重复。分别于4、7d测定记载各个处理的菌落直径,并记录菌落色泽、菌丝浓密程度、菌落皿底色泽以及微菌核产生量。

**1.4 pH值** 将灭菌后的PDA培养基用灭菌的1ml NaOH和HCl分别调至pH值为2、2.5、3、4、5、6、7、8、9、10、11,然后每皿内倒入20ml的培养基。取供试菌株菌丝块(7mm)置于不同pH值的PDA平板中央,3次重复,25℃恒温培养,每天记载各个处理的菌落直径,连续记载7d。

## 1.5 营养条件

**1.5.1 不同碳源。**基础培养基为查氏(Czapek)培养基,其中蔗糖分别用等碳量的葡萄糖、乳糖、甘油和淀粉代替,配置成不同的碳源培养基,在无菌条件下将直径为7mm的菌碟接种到不同碳源的培养基平板上,置于25℃黑暗条件下培养,以后逐日观察菌落形态,并分别于3、7d测定各个处理的菌落直径,观察菌落形态,计算菌丝生长速率<sup>[6]</sup>。设置无碳源对照,每个处理3次重复。在15d时,取培养液在显微镜下测定分生孢子产生量。

**1.5.2 不同氮源。**基础培养基为查氏培养基,其中硝酸钠分别用等量的硝酸钠、脲、磷酸氢二铵、硫酸氨、磷酸铵代替,配置成不同的氮源培养基,在无菌条件下将直径为7mm的菌碟接种到不同氮源的培养基平板上,置于25℃的恒温条件下培养,以后逐日观察菌落形态,并分别于3、7d记载各个处理的菌落直径,观察菌落形态,计算菌丝生长速率<sup>[7]</sup>。设置无氮源对照,每个处理3次重复。在15d时,取培养液在显微镜下用血球计数板测定分生孢子产生量。

## 2 结果与分析

**2.1 温度对病菌生长的影响** 试验结果表明,3个供试菌株在PDA培养基上均以25℃生长最快,在5~30℃均能生长,30℃时生长明显受到抑制,在低于0℃和高于33℃时不能生长(图1)。

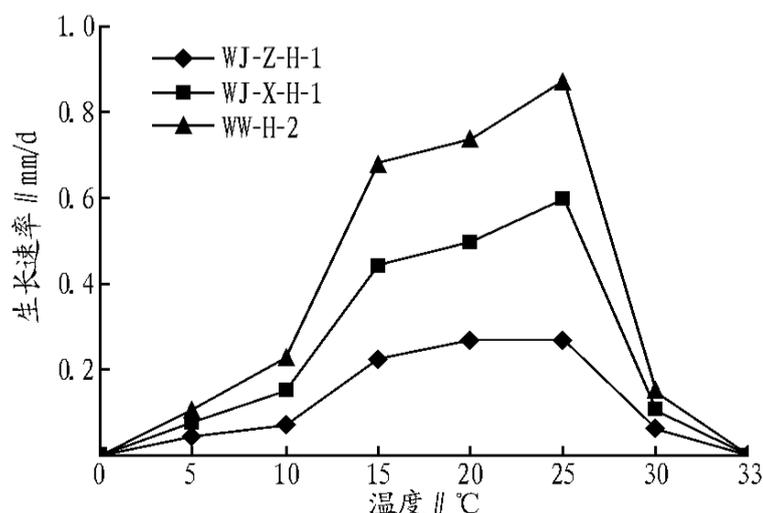


图1 不同温度棉花黄萎病菌丝的生长

基金项目 安徽省高校拔尖人才基金(200322);安徽省“十五”科技攻关计划项目(01013011)。

作者简介 纪文飞(1981-),女,北京人,硕士研究生,研究方向:真菌学及植物真菌病害。\* 通讯作者,博士生导师,教授,E-mail: zngao@ah163.com。

收稿日期 2006-05-15

**2.2 pH 值对病菌生长速率的影响** 试验结果表明,棉花黄萎病菌在pH 值为3~10 的PDA 培养基上均能生长,最适pH 值为5~8,且pH 值5、6、7 与pH 值8 的差异不大,其生长量约为其他处理的2 倍(图2)。在pH 值为2.5、11 时,各菌株均停止生长。

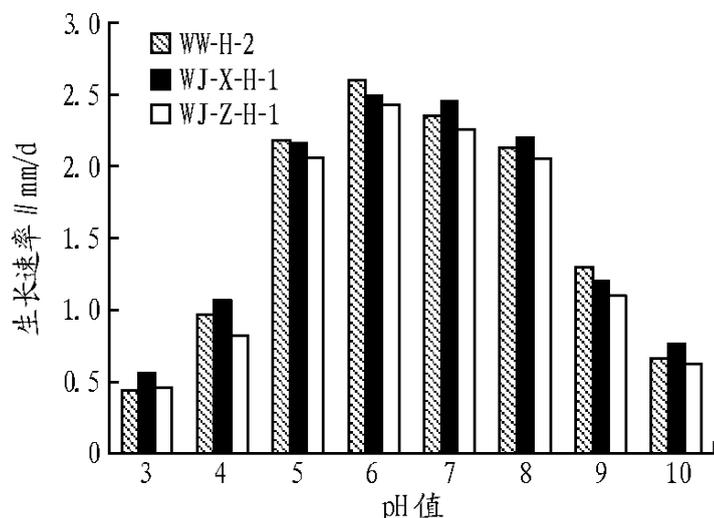


图2 不同pH 值棉花黄萎病菌菌丝的生长

**2.3 碳源对菌丝生长及产孢量的影响** 测定结果表明,在供试的4 种碳源中,供试菌株在葡萄糖、乳糖、可溶性淀粉为碳源的培养基上菌丝生长较快,在以甘油为碳源的培养基上生长相对较慢,无碳源对照的生长与可溶性淀粉相似,但其菌丝不产生微菌核,而且菌丝稀疏,贴附生长。葡萄糖作为碳源时菌丝生长最快,甘油作为碳源时菌丝生长最慢,两者之间存在显著差异。葡萄糖作为碳源时供试菌株产孢量最大,可溶性淀粉其次,而无碳源对照最差。因此,在产孢试验中,葡萄糖为最佳碳源(表1)。

表1 碳源的棉花黄萎病菌菌丝生长速率和产孢量

碳源	菌丝生长速率 mm/d	产孢量 Mfu/ml
无碳 CK	-	3.10
葡萄糖	5.02 Aa	60.30
可溶性淀粉	4.71 Aab	57.30
乳糖	4.05 Aab	14.00
甘油	2.48 Ab	27.00

注:同列标有相同小写字母的测定值间无显著差异,标有相同大写字母的测定值间无显著差异。下表同。

表2 氮源的棉花黄萎病菌菌丝生长速率及产孢量

碳源	菌丝生长速率 mm/d	产孢量 Mfu/ml
无氮 CK	-	5.10
脲	2.95 Aa	18.40
硝酸钠	2.99 Aa	16.20
磷酸铵	2.38 Aab	15.00
磷酸氢二铵	2.25 Aab	9.50
硫酸铵	1.27 Ab	11.30

**2.4 氮源对菌丝生长及产孢量的影响** 在供试的5 种氮源中,供试菌株在以脲和硝酸钠为氮源的培养基上菌丝生长较

快,磷酸铵次之,硫酸铵作为氮源时菌丝生长最慢。对于产孢量而言,在供试的氮源中,以脲最好,硝酸钠和磷酸铵次之,磷酸氢二铵和硫酸铵作为氮源不利于产孢(表2)。

### 3 小结与讨论

(1) 温度和pH 值对棉花黄萎病菌的影响,有关报道认为该病菌生长温度范围为10~30℃,最适宜的温度为22.5℃,在pH 值为4~10 均可生长,最适宜的pH 值为5.2~7.2。试验结果表明:供试棉花黄萎病菌在5~30℃ 均能生长,最适温度为25℃,温度低于0℃ 和高于33℃ 均停止生长;病菌在pH 值为3~10 均可生长,而在pH 值5~8 均生长良好。pH 值对病菌的影响的试验结果与有关报道基本一致,但在病菌生长温度范围、最适温度上略有差异,其原因可能与供试菌株来源不同有关。

(2) Bed 等在研究田间病害发生与温度的关系中指出,夏季棉花黄萎病菌的临界温度为28℃<sup>[8]</sup>。Garber 等的研究认为,棉花黄萎病菌的温度28℃ 时就会降低黄萎病菌的种群数量及毒力<sup>[9]</sup>。另据报道,大丽轮枝菌在35℃ 就停止生长<sup>[2]</sup>。不同研究所显示的棉花黄萎病菌的生长温度、pH 值的差异可能主要与供试菌株的个体差异有关,而后者又与遗传和环境有关。

(3) 有关棉花黄萎病菌营养生理的研究迄今报道较少。试验结果表明,供试菌株在蔗糖、乳糖、可溶性淀粉为碳源的培养基上生长较快,其中葡萄糖作为碳源时生长最快,且产孢量最大,所以最佳碳源为葡萄糖。硝酸钠和脲为氮源时菌丝生长快,产孢量大,是培养棉花黄萎病菌的适宜氮源;硫酸铵作为氮源时菌丝生长速率低于无氮源对照,菌落不形成微菌核,产孢量小,这说明硫酸铵为氮源时不利于病菌菌丝生长及微菌核和分生孢子的形成。

(4) 试验结果明确了安徽棉区棉花黄萎病菌生理生态特性,对于棉花黄萎病的检疫检测和综合治理具有重要的参考价值。

### 参考文献

- [1] BELL A A. Verticillium wilt [C]// HILLOCKS R J. Cotton disease, Wallingford, UK, 1992: 82-126.
- [2] 沈其益. 棉花病害- 基础研究与防治 [M]. 北京: 科学出版社, 1992.
- [3] 陈利锋, 徐敬友. 农业植物病理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [4] 简桂良, 邹亚飞, 马存. 棉花黄萎病连年流行的原因和对策 [J]. 中国棉花, 2003, 30(3): 13-14.
- [5] 方中达. 植病研究方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [6] 潘月敏, 郭敏, 高智谋, 等. 安徽省棉花红腐病菌生物学特性研究 [J]. 植物病理学报, 2005, 35(6) (ZK): 113-115.
- [7] 曹君, 高智谋, 汪涛, 等. 安徽省棉花枯萎病菌生物学特性及酯酶同工酶分析 [J]. 安徽农业大学学报, 2005, 32(2): 224-229.
- [8] BED P S, PRESLEY J T. Temperature effects upon resistance and phytoalexin synthesis in cotton inoculated with Verticillium albo-atrum [J]. Phytopathology 1969, 59: 141-146.
- [9] GARBER P S, PRESLEY J T. Relation of air temperature to development of Verticillium wilt on cotton in the field [J]. Phytopathology, 1971, 61: 204-207.