

# 梔子花叶斑病病原菌生物学特性研究

秦恩华 (湖北民族学院生物科学与技术学院, 湖北恩施 445000)

**摘要** 梔子花叶斑病是一种真菌性病害, 菌丝生长的最适温度为24.8℃, pH值为7.0, 碳源为葡萄糖, 湿度为75%。孢子产生时对营养条件要求不高, 特别是不需要丰富的碳源, 用紫外线照射菌丝5 min左右有利于产生孢子。孢子萌发对营养条件的要求也不高, 葡萄糖最适宜孢子的萌发。

**关键词** 梔子花; 叶斑病病原菌; 生物学特性

中图分类号 Q949.781.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)12-03602-03

## Study on the Biological Characteristics of Leaf Blotch Pathogen of *Gardenia jasminoides*

QIN En-hua (School of Biological Science and Technology of Hubei Institute for Nationalities, Enshi, Hubei 445000)

**Abstract** The leaf spot of *Gardenia jasminoides* is a kind of fungal disease. The most suitable temperature for mycelium growth is 24.8℃, pH 7.0, the carbon source is glucose and the relative humidity is 75%. It doesn't need too much nutritious to produce conidia, especially for carbon source. It can produce conidia with ultraviolet radiation mycelium within a about 5 minutes. It also needn't too much nutritious to sprout conidia and the suitable nutritious is glucose.

**Key words** *Gardenia jasminoides*; Leaf blotch pathogen; Biological characteristics

梔子花(*Gardenia jasminoides*) 别名黄梔子、黄枝、山梔、雀舌花、木丹、卮子、支子、山枝花、白蟾花, 茜草科梔子属植物, 花期为5~8月, 果实成熟期为8~11月。

梔子花原产我国长江流域以南, 喜温暖、湿润气候, 不耐寒(年平均温度在14℃以上), 喜光, 但忌强烈阳光, 在蔽荫下叶色好, 喜疏松、肥沃、排水良好的酸性土壤, 最适pH值为5.0~5.5, 是典型的酸性植物。

梔子花花香浓郁, 四季常青, 叶色美, 对H<sub>2</sub>S有吸收作用, 历来是绿化、美化城乡的优良树种。恩施地区在春末夏初雨水特别多, 使得空气中湿度上升。同时此阶段气温上升较明显(日平均气温在19~23℃)。这些条件都利于病害的发生<sup>[1]</sup>, 造成梔子花叶斑病发病相当严重, 影响了绿化带的美观。该病主要发生在叶片上, 特别是下部叶片往往首先出现稀疏轮纹。几个病斑愈合后形成不规则大斑, 使叶片枯萎, 叶表面后期产生众多小黑点, 埋生于表皮下, 受害叶片逐渐脱落<sup>[2]</sup>。笔者主要对梔子花叶斑病病原菌的生态学特性进行初步研究, 以期找出好的防治方法。

## 1 材料与方 法

**1.1 试验材料** 梔子花叶斑病病原菌: 取自湖北民族学院实验楼前梔子花发病的叶片, 进行常规组织分离, 于25℃ PDA培养, 获病原菌纯培养。

**1.2 主要仪器设备** YXQ LS 30SI 立式压力蒸汽灭菌器, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂; SKP-01 电热恒温培养箱, 湖北省黄石市医疗器械厂; SWCJ-2FD 超净工作台, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂。

**1.3 供试药剂** 0.1%升汞, 70%~75%酒精, 无菌水, 84消毒液。

## 1.4 梔子花叶斑病病原菌生物学特性研究

**1.4.1 碳源对菌丝生长的影响。** Czapek 培养液: MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0 g/L, KCl 0.5 g/L, NaNO<sub>3</sub> 2.0 g/L, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g/L, 蔗糖20~30 g/L。分别用等量的葡萄糖、可溶性淀粉、D-甘露醇替代蔗糖作碳源, 分装灭菌, 冷却备用。用

打孔器打出4 mm的菌饼, 每皿3块菌饼移入培养皿内, 呈“品”字形排列, 根据碳源的不同贴上标签放入25℃的恒温培养箱内培养, 隔12、24、36 h记录菌落直径。

**1.4.2 温度对菌丝生长的影响。** 在培养好的梔子花叶斑病菌菌落边缘, 用已灭菌的直径为4 mm的打孔器打取菌饼接种到培养皿中, 每皿放菌饼3块, 菌丝面朝下, 均匀排成“品”字形, 然后将其分别放在32.0、27.0℃的恒温培养箱内培养和放在室内(经测算平均温度23.5℃)培养和室外培养(经测算平均温度19.5℃, 忌放在有强光直射和可能淋雨的地方)。经12、24和36 h测量菌落直径(d)。

**1.4.3 pH值对病原菌菌丝生长的影响。** 取9 ml已熔化的培养基与1 ml pH值为4.0缓冲液的培养基混合均匀, 冷却得到pH值为4.0的培养基。pH值为5.0、6.0、7.0、8.0的以此类推。各不同pH值的培养基制作好后移入直径为4 mm的菌饼3个, 菌丝面向下呈均匀“品”字形排列, 置于25.0℃恒温培养箱中隔12、24、36 h测量菌落直径。

**1.4.4 湿度对病原菌丝的影响。** 选择25%、50%、75%、90% 4个相对湿度, 保湿液的配制方法见文献[3-4]。以干燥器为湿度试验的容器(容器容积约为6 L), 所用硫酸溶液的量为100 ml, 经湿度测量实际相对湿度与所设相对湿度很接近。用打孔器打出4 mm的菌饼, 将菌饼转到PDA平板上, 贴好标签放入对应温度的干燥器中培养。

**1.4.5 不同碳源对孢子萌发的影响。** 首先制作孢子悬浮液, 以悬滴法<sup>[5]</sup>进行孢子萌发试验, 孢子培养液碳源分别为蔗糖、葡萄糖、D-甘露醇, 浓度均为3%; 然后盖上盖玻片, 将载玻片置于培养皿内, 放在25.0℃的恒温培养箱中培养, 培养4 d后, 测量菌落直径, 记录孢子产生情况。下同。

**1.4.6 病原菌孢子的产生。** 梔子花叶斑病在较长时间(18 d左右)还不见孢子的产生, 因此在试验过程中采用划破菌丝法和紫外线照射的方法促进了孢子的产生。划破菌丝法不见明显效果, 但用紫外线照射菌丝的方法产生了孢子。其具体操作为: 将培养基面向紫外线与放在恒温培养箱培养一样, 照射时间为5 min, 然后放入恒温培养箱中培养。

## 2 结果与分析

**2.1 温度对病原菌菌丝生长的影响** 不同温度下经12、24

**作者简介** 秦恩华(1964-), 女, 湖北恩施人, 实验师, 从事微生物及生物资源开发研究。

**收稿日期** 2007-01-16

和36 h 后菌丝生长状况见表1。

温度	12 h	24h	差值	36 h	差值
32.0	5.4	6.3	1.9( D)	6.9	0.6( D)
27.0	15.4	27.2	11.8( D)	43.5	16.3( D)
23.5( 室内)	10.3	25.4	15.1( D)	34.2	8.8( D)
19.5( 室外)	9.4	21.1	12.7( D)	29.7	8.6( D)

表1 显示,27.0 恒温培养菌丝生长情况最好,但事实并不如此。对比数据可知只有在32.0 时病原菌的生长受到明显抑制,这与温度的上升,椴子花叶斑病症状明显减轻相吻合。但这种温度的变化影响到了病原菌的生长,比较D<sub>3</sub>与D<sub>2</sub>及D<sub>4</sub>与D<sub>3</sub>差距很明显地有别于D<sub>2</sub>与D<sub>1</sub>的差距。可以肯定地说27.0 不是病原菌丝生长的最适温度。因为D<sub>3</sub>明显大于D<sub>2</sub>,而D<sub>4</sub>又与D<sub>2</sub>非常接近,说明19.5~27.0 都适于病原物的生长,最适于病原物生长的温度应该在23.5 左右。具体为哪一温度,不妨假设:病原菌的生长除需要丰富的有机物质外,还需要外界的能量供应,即热效应。即在丰富的有机物质条件下,接种一定的菌种给定一个时间段并记为t,温度恒定且为最适合菌丝生长的温度,质量变化量为W,对应的从外界吸收热量N。若其他条件不变,温度为环境温度(但最高值、最低值均不抑制病原菌生长)。在时间段t内从外界吸收热量N,则其质量变化为W。

那么有  $N > N$ ,  $W > W$ ;  $N = N$ ,  $W = W$ ;  $N < N$ ,  $W < W$ 。

因为D<sub>3</sub> > D<sub>2</sub>, D<sub>2</sub> > D<sub>4</sub> 所以最适温度在23.5 左右。在该试验期间,从7:00~19:00 有很长时间温度集中在24.8,因此确定最适温度为24.8。

**2.2 pH 对病原菌丝的影响** 在不同pH值下经12、24、36 h 后菌丝的生长状况见图1。

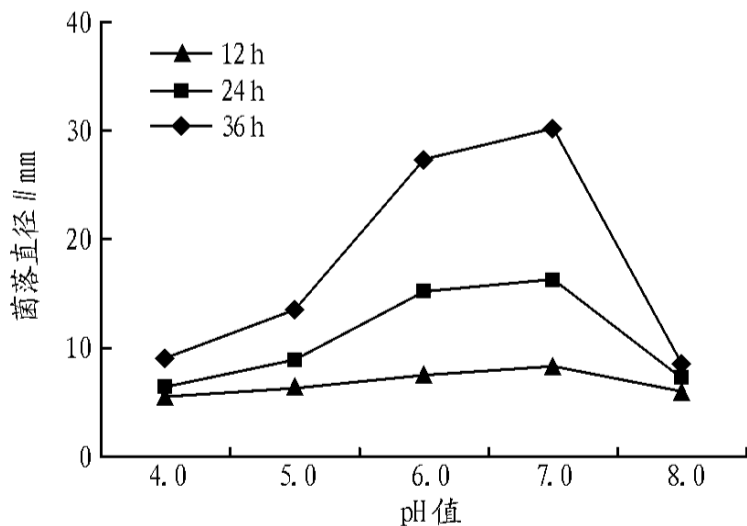


图1 不同pH值下病原菌丝的生长曲线

图1 显示,pH4.0~8.0 菌丝均可生长,但以6.0~7.0 菌丝生长为最佳,即病原喜中性偏微酸性的环境,碱性或酸性太强均不利于菌丝的生长。

**2.3 不同碳源对病原菌丝的影响** 在不同碳源下经12、24、36 h 后菌丝生长状况见图2。

图2 显示,葡萄糖和蔗糖是较好的碳源,特别是葡萄糖作碳源时菌丝生长最好,也较粗。D-甘露醇作为碳源与其他三者存在较显著的差异。

**2.4 不同湿度对病原菌丝生长的影响** 不同湿度下病原菌

丝经过12、24、36 h 的生长状况见图3。

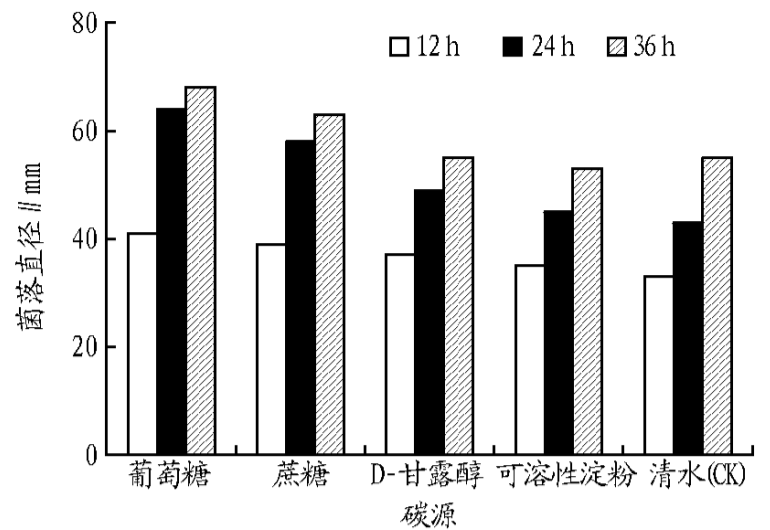


图2 不同碳源对病原菌丝生长的影响

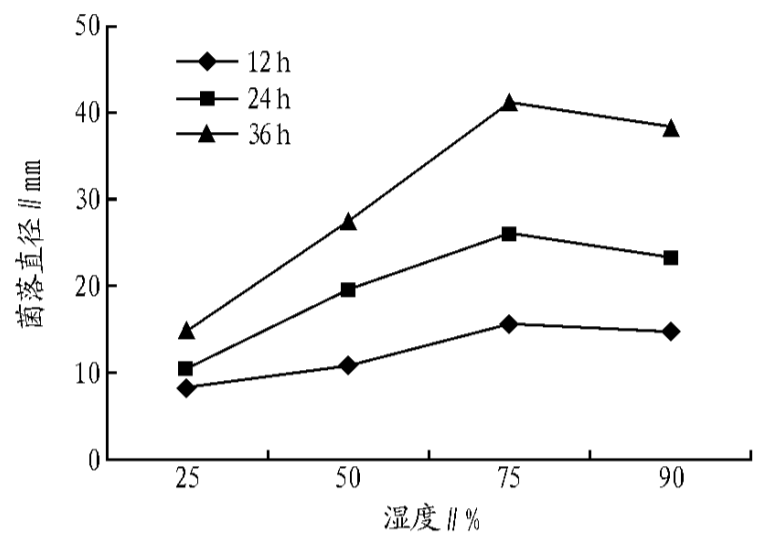


图3 不同湿度对病原菌丝生长的影响

图3 显示,相对湿度在50%~90%,病原菌丝生长良好,其中以75%时生长最好。

**2.5 温度对孢子萌发的影响** 不同温度下经过12、24、36 h 后孢子萌发情况见图4。

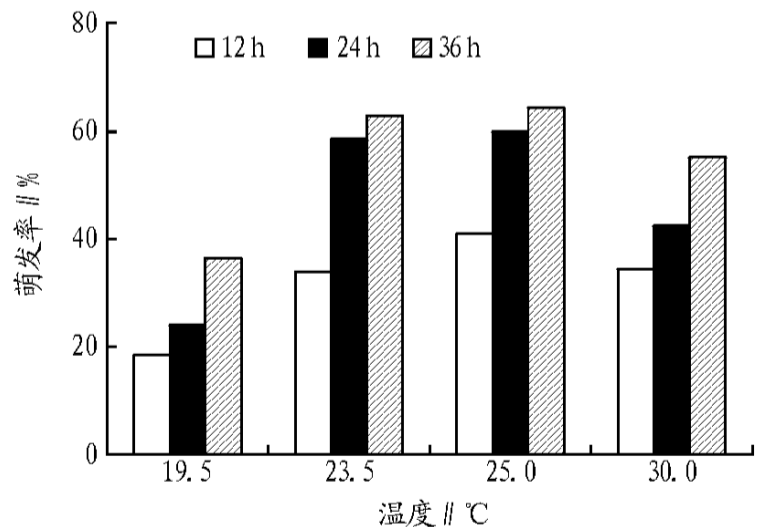


图4 不同温度下孢子萌发率(3%葡萄糖为培养液)

图4 显示,在25.0 时孢子的萌发率最高,由于23.5 与25.0 差异很小,因此二者萌发率非常接近。由室内温度与25.0 的孢子萌发情况可看出,温度适宜时经24 h 孢子基本萌发,均温19.5 和恒温30.0 与25.0 的最适温度差异不是很明显,但孢子萌发的效果差异显著,说明病原孢子的萌发对温度的反应很敏感,尤其低温对孢子萌发抑制趋势明显。

**2.6 碳源对病原孢子萌发的影响** 图5 显示,葡萄糖和蔗糖均有利于病原孢子的萌发,但以葡萄糖效果最佳。虽然D-甘露醇、可溶性淀粉、清水与葡萄糖、蔗糖作碳源孢子萌发率有差异,但是在不同时间的条件下孢子萌发率均较高,说明孢子萌发对营养要求不高。

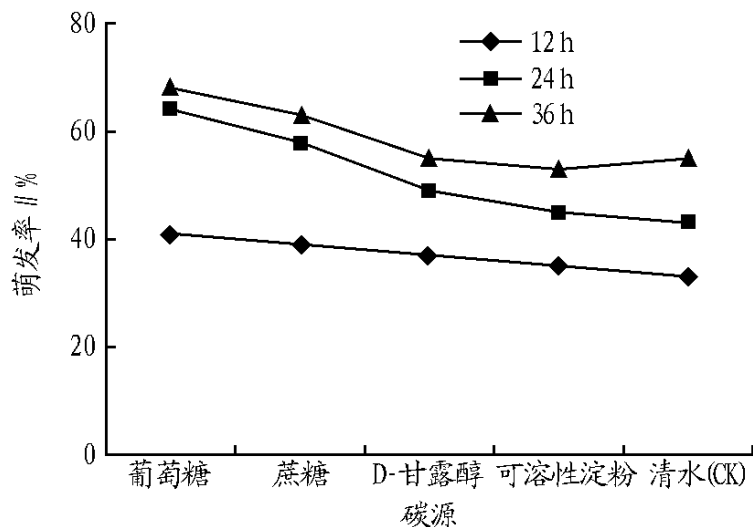


图5 不同碳源对孢子萌发率的影响

### 3 结论与讨论

(1) 通过分析不同湿度对病原菌丝生长的影响可知,湿度对病原生长影响较大,在进行温度试验时,由于温度有差异,小环境内空气湿度不一致,培养基水分的散失速度也不一致,因此在进行温度试验时要注意湿度的稳定性。

(2) 在研究不同碳源对栀子花叶斑病原菌丝生长影响时,发现D-甘露醇虽然不利于球菌和丝的横向生长,但在垂直方向菌丝生长旺盛,后期甚至长到菌盖上。所以用菌落直径来衡量并不全面,如果用质量变化来度量,菌丝从培养基中难以完全洗出,同时无法比较下一时间段的生长情况。这一试验设计有待进一步改进。

(3) 在研究不同温度对病原菌丝生长影响时,人为设定一系列温度,然后通过一定时间内菌落直径的变化,来判断某一温度最适合病原物生长,这有失偏颇。

### 参考文献

- [1] 埃·高又曼. 植物侵染性病害原理 M. 北京: 农业出版社, 1958.
- [2] 王瑞灿, 孙企农. 园林花卉病虫害防治手册 M. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [3] 李阜棣, 喻子牛. 农业微生物学实验技术 M. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [4] 方仲达. 植病研究方法 M. 北京: 农业出版社, 1979.
- [5] 周德庆. 微生物实验手册 M. 上海: 上海科技出版社, 1996.