

# 马蹄金白绢病生物学特性的研究

毕璋友, 檀根甲, 姜晓斌 (1. 安庆职业技术学院, 安徽安庆246003; 2. 安徽农业大学, 安徽合肥230036)

**摘要** 研究了马蹄金白绢病的生物学特性, 结果表明: 马蹄金白绢病菌在5~35℃条件均能生长, 以25℃生长最优; 在pH值为3.0~10.0均能生长, 适宜生长的pH值为5.0~6.0。马蹄金白绢病菌的菌丝能较好地利用不同碳源, 但利用程度不同, 以蔗糖利用效果最好, 其次为葡萄糖和半乳糖, 果糖次之, 可溶淀粉最差; 马蹄金白绢病菌能不同程度地利用有机氮源和无机氮源, 在固体培养基中对硝态氮的利用能力最好, 有机氮(尿素、乙酸铵)次之, 无机铵盐(硫酸铵)最差; 不同光照时间对马蹄金白绢病的影响不同, 以全部黑暗条件下培养菌丝生长最快, 光和暗交替培养菌丝生长速度次之, 全部光照条件下培养菌丝其生长速度最低。

**关键词** 马蹄金; 白绢病; 生物学特性

中图分类号 S436.8 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)01-0009-03

## Study on the Biological Characteristic of Southern Sclerotium Blight in *Dichondra repens*

Bi Zhangyou et al (Anqing Vocational College, Anqing, Anhui 246003)

**Abstract** The biological characteristics of southern sclerotium blight in *Dichondra repens* were studied and the results showed that *Sclerotium rolfsii* in *D. repens* could grow in 5~35℃ and its growth at 25℃ was best, and it could grow in pH values of 3.0~10.0 and the suitable pH value for its growth was in 5.0~6.0. The hypha of *S. rolfsii* in *D. repens* could utilize different carbon sources better to different degrees, the utilization effect was best on sucrose, secondary on glucose and galactose, tertiary on fructose and worst on soluble starch. *S. rolfsii* in *D. repens* could utilize organic and inorganic nitrogen sources to different degrees, in solid medium, its utilization ability was best on nitrate nitrogen, secondary on organic nitrogen (urea and ammonium acetate) and worst on inorganic ammonium salt (ammonium sulfate). Different illumination time had different influences on *S. rolfsii* in *D. repens*, the growth velocity of hypha cultured in complete dark was fastest, that cultured in alternation of light and dark was secondary and that cultured in complete light was lowest.

**Key words** *Dichondra repens*; *Sclerotium rolfsii*; Biological characteristics

草坪起源于天然放牧地, 最初用于庭院来美化环境, 后来随着社会的发展和体育、旅游、娱乐等设施的建设而得到迅速发展, 成为现代社会持续发展不可缺少的组成部分。改革开放以后, 我国草坪业步入了规模发展的新时期。但由于草坪业科学发展滞后, 在草坪的建植和营护等方面尚存在不少急待解决的问题, 其中草坪病害尤为突出<sup>[1]</sup>。

马蹄金(*Dichondra repens* Horst) 又称美国马蹄金、金钱草, 属旋花科, 马蹄金属, 多年生。马蹄金形态美观, 四季常绿, 易繁殖, 喜温暖湿润气候, 耐热, 能耐一定的低温, 在-8℃条件下叶片变黄褐色, 但能安全越冬, 耐干旱, 但不耐潮湿, 对土壤要求不严, 较耐荫, 耐践踏, 践踏或低割剪后, 叶片更为细小, 植株更加低矮, 观赏性提高, 常用于庭院观赏草坪和休闲活动草坪, 也可用于公路、街道、居住区的绿化。马蹄金在保湿条件下, 生长迅速, 侵占性较强, 耐粗放管理, 但栽培2~3年后, 因根系密集而容易造成土壤板结, 再加上土壤中菌核量的增加, 马蹄金白绢病的危害问题日益突出。

马蹄金白绢病的病原属半知菌亚门, 无孢目(*Mycelia Serilia*), 小菌核菌属(*Sclerotium* Tode ex Fr.), 罗氏白绢小菌核菌(*Sclerotium rolfsii* Sacc)<sup>[13]</sup>。有性世代为罗氏白绢病菌 [*Pellicularia rolfsii* (Sacc.) West.], 不常发生。罗氏白绢小菌核菌在PDA培养基上产生的菌落特征是: 菌丝白色, 疏松, 紧贴于培养基的表面, 形状呈圆形, 边缘整齐; 菌丝有直角分枝, 分枝附近有分隔, 且该处略缢缩; 菌核褐色, 球形或椭圆形, 直径0.5~1.0 mm, 有时达3 mm, 平滑而有光泽如油菜籽, 先呈白色后渐变黄褐色, 内部灰白色, 构成细胞多角形, 直径6~8 μm, 表面细胞的颜色深而小, 且不规则。该病原菌的寄主范围极广, 寄主约有百余种, 包括大豆、棉花、烟草、向日葵、花生、马铃薯、茄、桃、梨、苹果、番茄、白菜、黄瓜、胡萝卜

等, 引起幼苗猝倒、成株根腐、茎腐或果腐等。基部或茎秆受害, 可使上部枯黄, 发病部位变褐色、干枯, 上生白色绳索状菌丝索, 后形成大量菌核。国内关于马蹄金白绢病的公开报道较少<sup>[2-7]</sup>, 且仅限于马蹄金白绢病危害症状和化学防治方法方面的研究。关于马蹄金白绢病生物学特性的研究未见报道, 笔者就上述问题进行研究。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 供试草坪品种为美国马蹄金(*Dichondra repens* J.R et G.Horst)。供试菌株从发病的茎秆上利用PDA培养基分离纯化, 并经安徽农业大学植保学院鉴定。

## 1.2 方法

**1.2.1 温度对菌丝生长的影响试验。** 取在PDA培养基平板上培养5 d的供试菌株的菌落, 用打孔器制成直径4 mm的菌饼, 置于PDA培养基平板中心, 分别在5、10、15、20、25、30和35℃恒温培养箱中黑暗培养, 3次重复。5 d后用十字交叉法测量菌落直径, 并对结果进行统计分析<sup>[8-12]</sup>。

**1.2.2 pH值对菌丝生长的影响试验。** 将PDA培养基定量装入三角瓶中灭菌, 然后用0.1 mol/L HCl和0.1 mol/L NaOH调节pH值至3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0, 再分别倒入灭菌的培养皿中制成平板, 取在PDA培养基上培养5 d, 用打孔器制成直径为4 mm的菌饼, 放于培养皿中央, 3次重复, 置于25℃恒温培养箱中黑暗培养。5 d后, 用十字交叉法测量菌落直径。

**1.2.3 碳源对菌丝生长的影响试验。** 以查彼(Czapek)培养基为基础培养基, 以葡萄糖、半乳糖、果糖和可溶性淀粉为替换碳源, 以等量的碳置换其中的蔗糖, 配制成含有不同碳源的培养基。灭菌前用0.1 mol/L HCl和0.1 mol/L NaOH将上述培养基调pH值至7.0, 灭菌后倒入培养皿中制平板, 共5个处理, 3次重复。取供试菌株在PDA培养基平板上培养5 d的菌落, 用打孔器制成直径为4 mm的菌饼, 分别置于上述5种培养基平板中心, 每皿放1块菌饼。放入25℃恒温培养

箱中黑暗培养。5 d 后,用十字交叉法测量菌落直径。

**1.2.4 氮源对菌丝生长的影响试验。**以 Czapek 培养基为基础培养基,以尿素、乙酸铵、硫酸铵为替代氮源,与其中的硝酸钾等量的氮进行置换,配制成含不同氮源的培养基,共4个处理,3次重复。取供试菌株在PDA培养基平板上培养5d的菌落,用打孔器制成直径为4 mm的菌饼,分别置于上述4种培养基平板中心,每皿放1块菌饼。放入25℃恒温培养箱中黑暗培养。5 d 后,用十字交叉法测量菌落直径。

**1.2.5 光照对菌丝生长的影响试验。**取在PDA培养基平板上培养5d的供试菌株的菌落,用打孔器制成直径4 mm的菌饼,置于PDA培养基平板中心。采用24 h 黑暗、12 h 黑暗+12 h 光照、24 h 光照3个处理,3次重复,置于25℃恒温培养箱中培养。5 d 后,用十字交叉法测量菌落直径。

## 2 结果与分析

**2.1 温度对病菌菌丝生长的影响** 由表1可知,病菌在5~35℃内均能生长,最适温度为20~25℃。在5~25℃时,随着温度升高,菌丝生长速度加快;超过25℃时,随着温度的升高,菌丝生长速度变慢。统计分析表明,除了10℃和35℃时菌落直径无显著差异外,各处理梯度间均存在0.05水平显著差异。从菌丝生长情况看,25℃时的菌落生长最好,生长速度最快;5℃的菌落菌丝浓密,35℃培养的菌丝较稀疏。

表1 温度对白绢病菌菌丝生长影响

Table 1 Effects of temperature on the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii*

温度 Temperature	直径 Diameter cm	差异显著性 Significant differences		生长情况 Growth status
		0.01	0.05	
5	1.13	F	f	+
10	2.47	E	e	++
15	4.53	C	c	+++
20	6.10	B	b	+++
25	7.70	A	a	++++
30	3.23	D	d	+++
35	2.27	E	e	+

**2.2 pH值对病菌菌丝生长的影响** 由表2可知,病菌在pH值3.0~10.0时均能生长。pH值在3.0~6.0时,随着酸性的减弱,菌丝生长速度加快;pH值在7.0~10.0时,随着碱性的增强,菌丝生长速度变慢;最适pH值为5.0~6.0。统计表明,pH值为5.0和6.0时,菌落直径无显著差异,pH值为8.0~10.0时菌落直径也无显著差异,其他处理均有0.05水平显著差异。从菌丝生长情况看,pH值为5.0~7.0时,菌丝生长良好;当pH值为3.0~4.0时,培养的菌丝较紧密,中央隆起,边缘不整齐;pH值4.0时,培养5 d后,菌丝停止生长,7 d后菌丝开始变黑,10 d后全部死亡;pH值3.0时,培养4 d后,菌丝停止生长,5 d后菌丝开始变黑,7 d后全部死亡。

**2.3 碳源对病菌菌丝生长的影响** 由表3可知,罗氏白绢病小菌核菌的菌丝均能较好地利用不同碳源,但利用程度不同,其中以蔗糖效果最好,其次为葡萄糖和半乳糖,果糖次之,可溶淀粉最差。就生长情况来看,菌丝在含有蔗糖、葡萄糖的培养基上生长最好,在含有半乳糖的培养基上生长次之,在含有果糖和可溶性淀粉的培养基上的生长情况较差。

**2.4 氮源对病菌菌丝生长的影响** 由表4可知,马蹄金白

绢病菌能不同程度地利用有机氮源和无机氮源,在固体培养基中对硝态氮的利用能力最好,有机氮(尿素、乙酸铵)次之,无机铵盐(硫酸铵)最差。统计分析表明,白绢病菌在4种氮源的培养基上生长速度均存在0.01水平显著差异。就生长情况来看,白绢病菌在含有硫酸铵的培养基上长势较差,在其他含氮物质的培养基中长势良好。

表2 pH值对白绢病菌菌丝生长的影响

Table 2 Effects of pH value on the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii*

pH值 pH value	直径 Diameter cm	差异显著性 Significant differences		生长情况 Growth status
		0.01	0.05	
3.0	0.70	E	e	+
4.0	1.23	D	d	+
5.0	6.63	A	a	++++
6.0	6.83	A	a	++++
7.0	4.60	B	b	+++
8.0	3.77	C	c	++
9.0	3.47	C	c	++
10.0	3.40	C	c	++

表3 5种碳源对白绢病菌菌丝生长的影响

Table 3 Effects of 5 kinds of carbon sources on the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii*

碳源 Carbon source	直径 Diameter cm	差异显著性 Significant differences		生长情况 Growth status
		0.01	0.05	
蔗糖 Sucrose	6.50	A	a	++++
葡萄糖 Glucose	6.00	B	b	++++
半乳糖 Galactose	5.93	B	b	+++
果糖 Fructose	5.17	C	c	++
可溶性淀粉 Soluble starch	4.50	D	d	++

表4 4种氮源对白绢病菌菌丝生长的影响

Table 4 Effects of 4 kinds of nitrogen sources on the mycelial growth of *Sclerotium rolfsii*

氮源 Nitrogen source	直径 Diameter cm	差异显著性 Significant differences		生长情况 Growth status
		0.01	0.05	
KNO <sub>3</sub>	6.70	A	a	+++
NH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>	6.50	B	b	+++
CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	6.10	C	c	+++
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3.13	D	d	++

**2.5 光照对病菌菌丝生长的影响** 由表5可知,不同光照时间对马蹄金白绢病菌的影响不同,其中以全部黑暗条件下培养菌丝生长最快,光和暗交替培养生长速度次之,全部光照条件培养生长速度最低。统计分析表明,3个光处理下菌落直径均有0.05水平显著差异,全黑暗条件培养菌落直径在0.01水平显著高于全光和光暗交替处理下菌落直径。就生长情况来看,在3个光照处理下菌丝均能生长良好。

## 3 讨论

试验表明,马蹄金白绢病的致病病菌的生长温度范围为5~35℃,生长的pH值范围为5.0~10.0,能很好地利用无机

氮、有机氮,在不同碳源上均能较好生长,有无光照都能生长良好,说明该病菌对环境适应范围较广,条件适宜全年都可发生。特别是随着草坪年限的增长,土壤菌核量的增多,有可能加重危害,所以应注意监测,加强防治。

表5 不同光照条件下白绢病菌的生长情况

Table 5 Growth conditions of *Sclerotium rolfsii* under different light conditions

光处理 Light processing	直径 Diameter cm	差异显著性 Significant differences		生长情况 Growth status
		0.01	0.05	
24 h 黑暗 24 h dark	6.87	A	a	+++
12 h 光照+12 h 黑暗 12 h light + 12 h dark	6.20	B	b	+++
24 h 光照 24 h light	6.00	B	c	++

关于马蹄金白绢病发病的部位,从公开报道的资料来看,只是在马蹄金的茎部。但据笔者调查,发现马蹄金的叶部也是白绢病发病的重要部位。出现这种偏差的原因可能与马蹄金的种植密度有关。种植密度较低,植株之间不上下重叠交错,菌核萌发产生的菌丝只能侵染地表附近的茎秆,导致茎秆发病。该试验调查的马蹄金草坪密度很高,达到2.0万~2.5万株/m<sup>2</sup>,植株之间上下重叠交错,因此叶部发病较多。

(上接第8页)

大吸收峰值出现在450 nm。试验结果与夏树林等的研究结果<sup>[5-6]</sup>基本一致,与盛爱武等的研究结果<sup>[7]</sup>相同。所以,确定以450 nm作为测定黄槐花叶黄素 OD 值的波长。

表3 不同提取条件对黄槐花叶黄素吸光度的影响

Table 3 Effects of different extraction conditions on lutein absorbance of *Cassia surattensis* Burn. F. flowers

试验号 Test number	温度 Temperature	时间 Time h	溶剂浓度 Extractant concentration %	料液比 Material-liquid ratio g/ml	OD <sub>450</sub>
1	20	1	30	1:10	0.001
2	20	2	60	1:15	0.006
3	20	3	90	1:20	0.042
4	35	1	60	1:20	0.004
5	35	2	90	1:10	0.046
6	35	3	30	1:15	0.002
7	50	1	90	1:15	0.015
8	50	2	30	1:20	0.013
9	50	3	6	1:10	0.018
均值1 Mean1	0.016	0.007	0.005	0.022	
均值2 Mean2	0.017	0.022	0.009	0.008	
均值3 Mean3	0.015	0.021	0.034	0.020	
极差 Range	0.002	0.015	0.029	0.014	

2.2 不同提取溶剂对黄槐花叶黄素提取的影响 根据正交试验设计,在450 nm条件下研究不同提取溶剂、提取温

马蹄金白绢病的致病病菌的菌丝在全暗条件下生长最好,有光条件下也能生长,所以该病主要侵染茎基部,也能侵染叶片。这与笔者对该病发病部位的调查结果相一致。马蹄金白绢病的致病病菌在碱性(pH值8.0~10.0)环境中生长较慢,可以利用石灰水浇灌发病中心来防止白绢病的蔓延扩散。

### 参考文献

- [1] 安徽省植物病理学会.有害生物综合治理策略与展望[M].北京:中国农业出版社,2002:63-66.
- [2] 陈培昶,倪桂菊.应用25%敌力脱防治马蹄金白绢病[J].植物保护,1998(3):31.
- [3] 严巍,倪桂菊,陈培昶,等.马蹄金白绢病的防治研究[J].森林病虫通讯,1999(1):26-27.
- [4] 马惠民,沈龙元,张建明,等.不同药剂防治马蹄金白卷病效果初报[J].上海农业科技,2002(4):59.
- [5] 黄普乐,吕江江,张琦,等.马蹄金草坪主要病虫害及防治措施[J].浙江农业科学,2002(3):139-140.
- [6] 张贵平.马蹄金草坪主要病虫害的防治[J].四川农业科技,2003(4):31.
- [7] 毕璋友,檀根甲.氮磷钾对马蹄金白绢病的影响[J].安徽农业科学,2006,34(12):2799-2871.
- [8] 南京农学院.田间试验和统计方法[M].北京:农业出版社,1982:85-119,194-218.
- [9] 王春江,商鸿生,王旭,等.小麦链格孢中国菌株的生物学特性研究[J].西北农业大学学报,2000,28(3):7-10.
- [10] 王疏,白元俊.稻曲病菌白化菌株生物学特性研究[J].植物病理学报,1997,27(4):321-327.
- [11] 柴兆祥,李金花.砖红镰孢生物学特性研究[J].植物病理学报,2004,34(5):409-413.
- [12] 赖传雅,梁钧.阳春砂仁叶枯病菌基本生物学特性研究[J].植物病理学报,1993,23(4):293-298.
- [13] 魏景超.真菌鉴定手册[M].上海:上海科学技术出版社,1982:647-648.

度、提取时间和料液比对黄槐花中叶黄素提取的影响。

由表3可知,在试验条件下,当提取温度为35℃,提取时间为2 h,提取溶剂浓度为90%,料液比为1:10时,黄槐花中叶黄素在450 nm条件下有最大OD值。提取时间、提取温度、料液比和溶剂浓度的极差分别为0.015、0.002、0.014和0.029。因此,上述提取条件对黄槐花中叶黄素在450 nm下吸光度的影响程度依次为溶剂浓度>时间>料液比>温度。

### 3 结论

研究表明,叶黄素标准品在丙酮中的溶解性最好。黄槐花中叶黄素出现最大吸收峰值的波长为450 nm。不同提取条件对黄槐花中叶黄素提取的影响大小依次为溶剂浓度>时间>料液比>温度。当提取溶剂为90%丙酮、提取温度为35℃、料液比为1:10、浸提2 h时,在波长为450 nm条件下,黄槐花中叶黄素出现最大吸收峰值。

### 参考文献

- [1] 秦品章.从苏丹红事件剖析食品安全与卫生问题[J].中国预防医学杂志,2006,7(3):233-234.
- [2] 雷然,庄华梅,付惠.黄槐花黄色素的提取及性质研究[J].食品科技,2006(11):178-180.
- [3] 蔡建秀.我国天然植物色素的开发利用研究[J].泉州师范学院学报:自然科学版,2000,18(4):56-59.
- [4] 郑华,张弘,张忠和.天然动植物色素的特性及其提取技术概况[J].林业科学研究,2003,16(5):628-635.
- [5] 夏树林,季本华.从万寿菊花中提取叶黄素的工艺研究[J].安徽农业科学,2006,34(19):5029-5031.
- [6] 宋昊,何泽超,章杰,等.万寿菊花中叶黄素的提取[J].化工设计,2003,13(4):10-12.
- [7] 盛爱武,陈翠云,谢应毅,等.万寿菊色素浸提方法及其性质的初步研究[J].仲恺农业技术学院学报,2001,14(4):38-41.