

百日草黑斑病病原菌的生物学特性研究

张爽 何子豪 孙健智 刘丽丽*

吉林农业科技学院

摘要:以百日草黑斑病样本为试验材料,通过研究不同培养基种类、光照条件、培养温度、pH值、碳氮源等条件对百日草黑斑病病原菌的影响,为百日草黑斑病的防治提供理论基础和技术支撑。结果表明,在PDA培养基中更适合菌丝的生长,菌丝生长的最适温度为25℃,且pH为7时最适宜菌丝生长和产生孢子,全黑暗情况下更有利于孢子产生,麦芽糖作为碳源时菌丝的生长最快,病原菌产孢最宜的碳氮源分别为乳糖和蛋白胨,在PSA培养基中最适合产生孢子。

关键词:百日草;黑斑病;细极链格孢菌;生物学特性

【DOI】10.12252/j.issn.2096-6288.2023.08.236

Biological characterization of *Zinnia elegans* black spot pathogens

ZHANG Shuang HE Zihao SUN Jianzhi LIU Lili*

Ji Lin Institute of Agricultural Science and Technology

Abstract: In this experiment, the *Zinnia elegans* black spot samples collected in Jilin Province were used as the test material, which studied the effects of different media species, light conditions, culture temperature, pH, carbon source and nitrogen source on the pathogen of *Zinnia elegans* black spot, which provided theoretical basis and technical support for the prevention and control of *Zinnia elegans* black spot disease. The results show that in PDA medium is more suitable for filament growth, filament growth temperature is 25℃, and pH is 7 is the most suitable for mycelium growth and spore production, all dark case is more conducive to spore production, maltose as carbon source, pathogen spore carbon, nitrogen source for lactose and protein respectively, the most suitable for spore production in PSA medium.

Key words: *Zinnia elegans*; Black spot; *Alternaria tenuissima*; Biological characteristics

百日草, 菊科, 百日草属, 因节节升高, 花越开越繁茂, 花开百日获诸多美名。百日草花量大, 花期长, 优良品种多为千层瓣, 花色极其丰富^[1]。花姿十分优美, 色彩鲜艳多变, 深受人们喜爱, 因此在很多景区比较常见, 然而百日草在种植过程中常易发生病虫害, 百日草黑斑病就是常见病害之一。

细极链格孢菌 (*Alternaria tenuissima*) 属于半知菌纲、链孢霉目、黑霉科、链格孢属的一种广泛存在于自然界的腐生丝状条件致病菌, 可引起植物、动物和人患病^[2]。截至目前, 全世界已经发表的链格孢菌种约500个, 且仍不断有新种发表^[3]。根据调查结果显示, 细极链格孢菌 (*A. tenuissima*) 可在多种植物上引起病害^[4], 是造成果蔬黑斑病的重要致病菌, 可侵染草莓^[5]、杏^[6]、梨^[7]、伽师瓜^[8]、苹果^[9]、冬枣^[10]等水果以及导致三七^[11]、棉花^[12]和铁皮石斛^[13]等诸多植物发

生黑斑病, 给农业生产带来巨大损失。链格孢菌菌落为絮状, 生长迅速, 初期呈白色, 老后变暗, 侵染水果后, 在水果表面形成黑色或深褐色病斑, 即黑斑病。

2020年9月在吉林省内各个景区采集百日草黑斑病样本, 这种病的症状和所报告的有所不同, 所以通过对百日草黑斑病病原菌的生物学特性进行了研究, 以期百日草黑斑病的防治提供理论基础和技术支撑。

一、材料与方法

(一) 供试菌株

百日草黑斑病病原菌菌株细极链格孢菌 (*A. tenuissima*)

(二) 病原菌的生物学特性研究

1. 培养基对病原菌菌丝的生长及产孢的影响

使用打孔器, 将一个直径为6 mm的菌饼块, 分别接种到PDA、SDA、CMA、CZA、SNA、CMA、OMA、PSA八种培

培养基中培养。每个处理3次重复，采用十字交叉的方法在5 d后测量菌落直径大小，并且在10 d后运用血球计数板来计算其病原菌菌丝的产孢数量^[14]。

2. 温度对病原菌菌丝生长及产孢的影响

使用打孔器，将一个直径为6 mm的菌饼块，分别放置在5、10、15、20、25、30、35、40℃恒温培养箱中，进行培养。计算、测量方法同上。

3. 光照对病原菌生长及产孢的影响

使用打孔器，将一个直径为6 mm的菌饼块，分别置于光照条件为24 h光照、24 h黑暗、12 h光暗交替3个处理。计算、测量方法同上。

4. pH对病原菌生长及产孢的影响

以PDA培养基为基础^[15]，pH值被设置为4、5、6、7、8、9、10、11一共8个处理，用NaOH和HCl来调整培养基的pH值，使用打孔器，将一个直径为6mm的菌饼块放置培养基上，在25℃恒温下进行培养，采用十字交叉的方法5d后对其进行测定。

5. 碳源对菌丝生长的影响

以PDA培养基为基础，将麦芽糖^[16]、阿拉伯糖、蔗糖、木糖、乳糖、D-果糖等质量替换碳源基础培养基中的葡萄糖配制不同碳源培养基。用打孔器打成6 mm菌饼块，将菌饼块放置在各种碳源培养基中进行接种，方法同上。

6. 氮源对菌丝生长的影响

以马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）为基础，将硝酸钠、牛肉浸膏、蛋白胨、硝酸钙、硝酸铵、尿素^[17]等质量替换氮源基础培养基中的硝酸钾配制不同氮源培养基。用打孔器打成6mm菌饼块，将菌饼块放置在各种氮源中进行接种，方法同上。

二、结果与分析

（一）培养基对病原菌菌株的影响

百日草病原菌菌株在试验的8种培养基中都能够生存，经对培养基中的菌落直径测量比较可知：在PDA培养基中菌丝生长最快，在OMA和PSA培养基中菌丝生长最缓慢；在PSA培养基中产孢量最佳，在WA培养基中产孢量最低。

（二）温度对病原菌菌株的影响

温度对菌丝的生长影响较大，在20~30℃时菌丝生长良好，在25℃条件下生长最佳。病原菌在不同温度下产孢量也存在着很大差异，5~35℃时都可以产生孢

子。产生的孢子量最高为15℃，温度在40℃时便不会产生孢子。

（三）光照对病原菌菌株的影响

在完全光照条件下，病原菌的菌丝生长速度最快，而在半光照与全黑暗两种情况下，病原菌的菌丝生长速度没有显著的差别，在完全黑暗的情况下，其孢子产生的数量最高，在全光照条件下，其孢子产生的数量最低。

（四）pH对病原菌菌株的影响

用HCl和NaOH调配不同pH溶液培养菌丝。结果显示，病原菌的菌丝生长适应范围较大，在酸性和碱性条件下都能够生存，且pH值设置为7时，是最适合菌丝生长和产生孢子的。

（五）碳源对病原菌菌株的影响

病原菌在不同的碳源培养基下菌落直径也存在差别，病原菌菌丝以麦芽糖作为碳源培养基时生长速度最佳，以D-果糖为碳源时菌丝生长速度最缓慢；以乳糖作为碳源的培养基中产生的孢子数量是最高的；以木糖作为碳源培养基时孢子产生的数量是最低的。

（六）氮源对病原菌菌株的影响

在病原菌对氮源的利用试验中，在不同氮源培养基上均能生长。在硝酸钠培养基中菌丝生长速度最佳；在尿素培养基中其生长速度最缓慢；在以蛋白胨培养基中孢子产生数量最佳；在硝酸铵培养基中孢子产生数量最少。

三、讨论

实验结果显示，菌丝在PDA培养基中生长速度最佳，产孢量在PSA中最高。该菌在5~35℃均能存活，其中最适合菌丝生长温度为25℃，在40℃时便不会有孢子产生。菌丝在第15℃时达到最大值，之后菌丝的产孢数量开始缓慢下降。菌丝在pH值4~11范围内能够正常生长，最适pH为7。通过光照对病原菌菌丝的影响^[18]，表明光照在致病菌中起着重要的作用，在全暗条件下，病原菌的孢子产量是最高的，而光照强烈时，情况却恰恰相反。以乳糖为碳源的培养基具有最佳的孢子形成条件，麦芽糖为碳素培养基生长速度最快，以蛋白质为氮源的培养基中，其生长速率最快，以硝酸盐为氮源的培养基中生长缓慢。

链格孢属真菌种类繁多，适应能力强，大多数寄生在植物上。细极链格孢菌属是一类世界范围广泛分布的

真菌, 存在于自然界的不同基质上, 可以引起多种植物病害^[19]。此外很多经济作物都会感染黑斑病, 如烟草赤星病^[20]、高粱叶斑病^[21]、红枣黑斑病^[22]等。通过研究对吉林省内各个景区采集的百日草黑斑病病原菌选出了较好的培养基、最佳培养时间、温度和最适合的pH及其碳氮源, 分析了其生物学特性, 为百日草黑斑病的防治提供了理论基础和技术支撑。

参考文献

- [1] 张境北. 浅谈百日草栽培管理技术[J]. 当代生态农业, 2011, 3: 140-144.
- [2] 彭彦, 杨超, 姜尧章, 等. 肉牛源链格孢菌的分离鉴定[J]. 中国预防兽医学报, 2020, 42(1): 80-83.
- [3] 唐岚, 江厚利, 王义勋, 等. 链格孢属真菌分类研究进展[J]. 湖北林业科技, 2013, 42(4): 47-49.
- [4] 孙子荀, 倪照君, 高志红, 等. 外源褪黑素提高草莓黑斑病抗性的效果和作用机制初探[J]. 西北植物学报, 2020, 40(10): 1679-1687.
- [5] Bagherabadi S, Zafari D, Soleimani M J. First report of leaf spot of strawberry caused by *Alternaria tenuissima* in Iran[J]. Journal of Plant Pathology Microbiology. 2015, 6(3): 258.
- [6] 郑香香. 芽孢杆菌对杏和桃采后链格孢菌的防治效果及抑菌作用研究[D]. 天津商业大学, 2019.
- [7] 何琴恩, 白露超, 侯璐, 等. 青海省同仁市黄果梨黑斑病病原菌鉴定[J]. 现代园艺, 2023, 46(5): 53-55.
- [8] 玛尔哈巴·帕尔哈提, 白羽嘉, 王瑾, 等. 采后伽师瓜和86-1甜瓜果实抗链格孢菌侵染研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(12): 135-140.
- [9] 王迪, 李永才, 毕阳, 等. 外源一氧化氮对苹果采后黑斑病的控制[J]. 食品工业科技, 2015, 36(18): 358-361.
- [10] 江梦薇, 兰维杰, 屠康, 等. 冬枣黑斑病的光学特性检测方法建立[J]. 食品工业科技, 2023, 44(18): 321-330.
- [11] 李宏伟, 郭富贵, 刘洋, 等. 三七病虫害研究现状与展望[J]. 草业科学, 2019, 36(5): 1415-1427.
- [12] 陈凯, 刘爱荣, 吴尚英, 等. 棉花黑斑病病原鉴定及生防木霉菌株的筛选[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(9): 1793-1796.
- [13] 汪正红, 李祥, 杨文超, 等. 细极链格孢发育及其侵染铁皮石斛的显微观察[J]. 红河学院学报, 2016, 14(5): 49-51.
- [14] 朱迎迎, 李敏, 高兆银, 等. 火龙果炭疽病病原菌的鉴定及生物学特性研究[J]. 南方农业学报, 2016, 47(1): 59-66.
- [15] 何世芳, 孙光军, 曾陨涛, 等. 烟草附球菌叶斑病的病原及生物学特性[J]. 南方农业学报, 2022, 53(6): 1645-1653.
- [16] 王军芳, 宋国月, 高悦, 等. 野生菌核侧耳生物学特性及驯化栽培[J]. 菌物学报, 2023, 42(1): 395-407.
- [17] 何晓婵, 李玲, 周小军, 等. 浙贝母黑斑病病原菌生物学特性研究[J]. 安徽农业科学, 2022, 50(23): 120-123.
- [18] 庞久帅, 王雪菲, 田菲菲, 等. 河北核桃溃疡病病原及生物学特性研究[J]. 林业与生态科学, 2019, 34(2): 167-175.
- [19] 冯中红, 孙广宇. 链格孢属及相关属分类研究新进展[J]. 菌物研究, 2020, 18(4): 294-303.
- [20] 彭希文, 刘光珍, 杨永柱, 等. 云南省烟草赤星病(Tobacco brown spot)病原研究及其防治药剂的筛选[J]. 西南农业大学学报, 2000, 22(2): 153-156.
- [21] 赵艳琴, 于华荣, 石凯, 等. 高粱链格孢叶斑病病原鉴定[J]. 植物病理学报, 2017, 47(2): 282-285.
- [22] 范盈盈, 王富兰, 王帅, 等. 红枣黑斑病链格孢属真菌的生物学特性[J]. 西北农业学报, 2020, 29(12): 1913-1921.

基金项目: 吉林省大学生科技创新科研项目(编号: SJ2022042)

作者简介: 张爽(2001—), 女, 吉林通化人, 学士, 研究方向: 植物病害研究。

通讯作者: 刘丽丽(1990—), 女, 吉林农安人, 硕士, 讲师, 研究方向: 园林植物病害研究。