

浙贝母黑斑病病原菌生物学特性研究

何晓婵¹, 李玲², 周小军¹, 龙安琪², 李强², 路子琪², 朱丽燕^{1*}

(1. 金华市农业科学研究院, 浙江金华 321000; 2. 浙江农林大学, 浙江临安 311300)

摘要 为探究浙贝母黑斑病致病菌的生物学特性, 采用生长速率法研究了不同光照、温度、pH、碳源和氮源对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响。结果表明, 该菌的最适生长温度为 25 ℃; 最适生长 pH 为 7; 在全光照(光照:黑暗=24:0)条件下菌丝生长最快; 最适生长碳源为可溶性淀粉; 最适氮源为胰蛋白胨。该研究结果为进一步研究浙贝母黑斑病发生规律以及病害防治技术提供科学依据。

关键词 浙贝母; 黑斑病; 病原菌; 生物学特性

中图分类号 S435.672 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)23-0120-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.23.032



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on the Biological Characteristics of *Alternaria alternate* (Friss.) Keissler on *Fritillaria thunbergii*

HE Xiao-chan¹, LI Ling², ZHOU Xiao-jun¹ et al (1. Jinhua Academy of Agricultural Sciences, Jinhua, Zhejiang 321000; 2. Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300)

Abstract In order to study biological characteristics of *Fritillaria thunbergii* Miq., the effects of different culture mediums, photoperiods, temperatures, pH, carbon and nitrogen sources on the biological characteristics of *Alternaria alternate* (Friss.) Keissler, pathogen of *Fritillaria thunbergii* were studied. The results showed that the optimum temperature of mycelia was 25 ℃, and pH 7 was most suitable for mycelia growth. The optimal carbon source was soluble starch, and the optimal nitrogen source was tryptone, respectively. It can provide a scientific basis for the research on the disease control of *Fritillaria thunbergii*.

Key words *Fritillaria thunbergii*; *Alternaria alternate* (Friss.) Keissler; Pathogen; Biological characteristic

浙贝母(*Fritillaria thunbergii* Miq.) 又称大贝、元宝贝、象贝, 是百合科多年生草本植物, 为常用大宗中药材和“浙八味”之一, 在浙江、江西、湖南等省份均有大面积栽培^[1]。浙江的主产区主要包括鄞州、磐安、缙云等地, 种植面积约 3 670 hm², 占全国的 90% 以上, 是当地农民的主要收入来源^[2-4]。

近年来, 随着种植面积的不断扩大, 加上药农盲目引种, 导致浙贝母病害日益突出且呈现多样化, 严重影响了浙贝母的产量和质量^[5-7]。其中黑斑病是浙贝母的重要病害之一, 在田间常与灰霉病混合发生, 主要危害叶片, 叶片感病后从叶尖开始发病, 叶色变淡, 呈水渍状褐色病斑, 病部与健部有明显的界限, 接近健部有晕圈。此病由真菌半知菌亚门交链孢菌(*Alternaria alternate* (Friss.) Keissler) 侵染所致^[8]。在浙江常年于 3 月下旬开始发病, 直至植株地上部分枯死。如遇清明节前后春雨连绵, 病害则会加重。一般多雨年份有利于该病害的发生^[6]。

关于浙贝母黑斑病的发生、防治已有少量报道, 但对其病原菌生物学特性研究未见相关文献。笔者对浙贝母黑斑病病原菌生物学特性进行了系统性研究, 以期对病害深入研究及其防治提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 试验材料 2020 年 3 月, 浙贝母黑斑病样本采自浙江省金华市农业科学研究院基地, 供试菌株由浙贝母黑斑病样本中分离纯化获得, 并经浙江农林大学真菌-植物互作实验室准确鉴定并保存。在试验前, 转移到直径为 90 mm 的 PDA

培养基平板中间, 20 ℃ 活化培养得到试验用菌株。

1.2 试验方法

1.2.1 生长测定。 将直径 5 mm 的浙贝母黑斑病病原菌菌饼接种于 PDA 平板中央, 置于特定条件下培养, 数天后采用十字交叉法测量菌落直径, 设 6 次重复, 取平均值。

1.2.2 不同光照对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响。 共设完全光照(光照:黑暗=24 L:0 D)、光暗交替(光照:黑暗=12 L:12 D)和完全黑暗(光照:黑暗=0:24 D)3 个处理, 在 PDA 培养基上接入直径 5 mm 的菌丝块, 每个处理 6 次重复, 分别置于不同光照条件下培养, 测定方法同“1.2.1”。

1.2.3 不同温度对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响。 将直径 5 mm 的供试菌株菌丝块接种于 PDA 平板上, 分别置于 7、22、25、28、30 和 33 ℃ 条件下培养, 每个处理设 6 次重复。测定方法同“1.2.1”。

1.2.4 不同 pH 对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响。 将配制好未添加琼脂的 PDA 培养基分装到 10 个三角瓶中, 每瓶量取 150 mL, 用 1 mmol/L HCl 和 5 mmol/L NaOH 将其 pH 分别调成 4、5、6、7、8、9、10、11, 按 50:1 的比例加入琼脂。再放至灭菌锅中高温高压灭菌, 将灭菌后的培养基倒板, 每个处理设 6 次重复。将直径 5 mm 的菌丝块接入到上述倒好的平板中, 置于 26 ℃ 条件下培养, 测定方法同“1.2.1”。

1.2.5 不同碳氮源对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响。 基础培养基为 Czapek, 其碳源为蔗糖, 1 L Czapek 培养基中含 30 g 蔗糖, 以等重量的果糖、木糖、葡萄糖、纤维素、麦芽糖、甘露醇、可溶性淀粉分别置换基础培养基中的蔗糖, 以制备不同碳源的培养基。以等重量的甘氨酸、牛肉浸膏、胰蛋白胨、硫酸铵、尿素、氯化铵、脯氨酸分别置换基础培养基中的硝酸钠, 以制备不同氮源的培养基。将配制好的培养基高温

基金项目 金华市农业类重大项目(2019-2-001a); 磐安县中药材绿色发展示范项目(磐中药发 202005)。

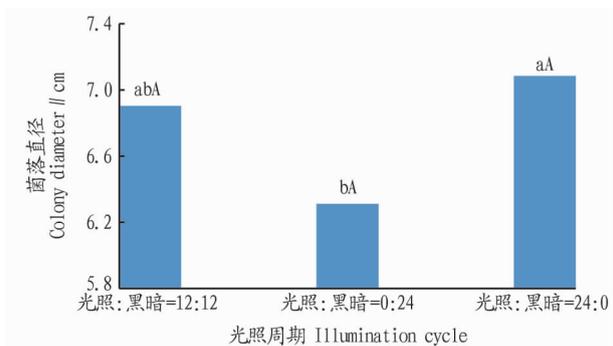
作者简介 何晓婵(1988—), 女, 浙江武义人, 农艺师, 从事植物保护综合治理技术研究。* 通信作者, 高级农艺师, 从事植物保护研究。

收稿日期 2022-02-09

高压灭菌后,倒平板,每个处理设 6 次重复,将直径 5 mm 的菌丝块接入到上述倒好的平板中,置于 26 °C 下培养。测定方法同“1.2.1”。

2 结果与分析

2.1 不同光照对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响 光照对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响见图 1。由图 1 可知,在 12 h 光暗交替处理、24 h 连续黑暗、24 h 连续光照条件下的菌落直径分别为 6.90、6.31、7.08 cm,则按照直径从小到大表现为全黑暗<12 h 光暗交替处理<全光照,由此可知,全光照处理的菌落直径显著大于黑暗处理,12 h 光暗交替处理与 24 h 连续黑暗、24 h 连续光照差异不显著(图 2)。



注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)

Note: Different lowercase letters indicated significant difference ($P<0.05$); different capital letters showed extremely significant difference ($P<0.01$)

图 1 不同光照对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响

Fig.1 Effects of different photoperiods on mycelium growth of *Alternaria alternata* (Friss.) Keissler

2.2 不同温度对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响 温度对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响见图 3。由图 3 可知,温度对病原菌菌丝生长有显著影响。浙贝母黑斑病病原菌对温度的适应范围较广,病原菌菌丝在 7~33 °C 条件下均能生长。在 22~30 °C 条件下,病原菌菌丝生长良好。该菌落的最适生长温度为 25 °C,其次为 28 °C,平均菌落直径分别为

5.17 和 4.87 cm,当温度高于 30 °C 时,菌落生长速率明显下降(图 4)。

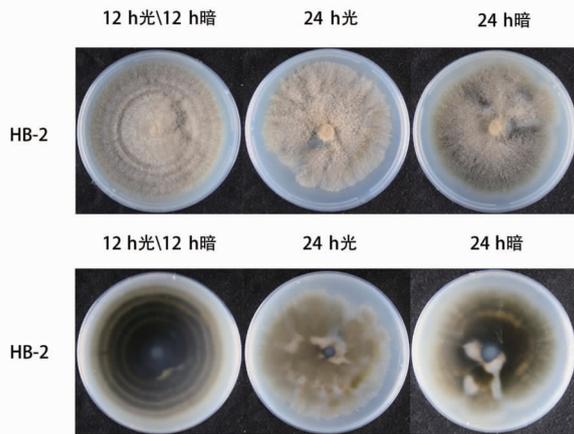
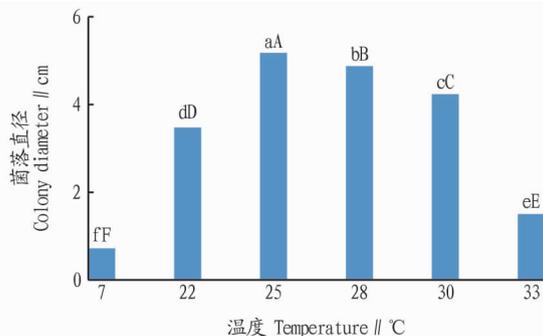


图 2 不同光照对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响(正、反)
Fig.2 Effects of different photoperiods on mycelium growth of *Alternaria alternata* (Friss.) Keissler



注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)

Note: Different lowercase letters indicated significant difference ($P<0.05$); different capital letters showed extremely significant difference ($P<0.01$)

图 3 不同温度对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响

Fig.3 Effects of different temperatures on mycelium growth of *Alternaria alternata* (Friss.) Keissler

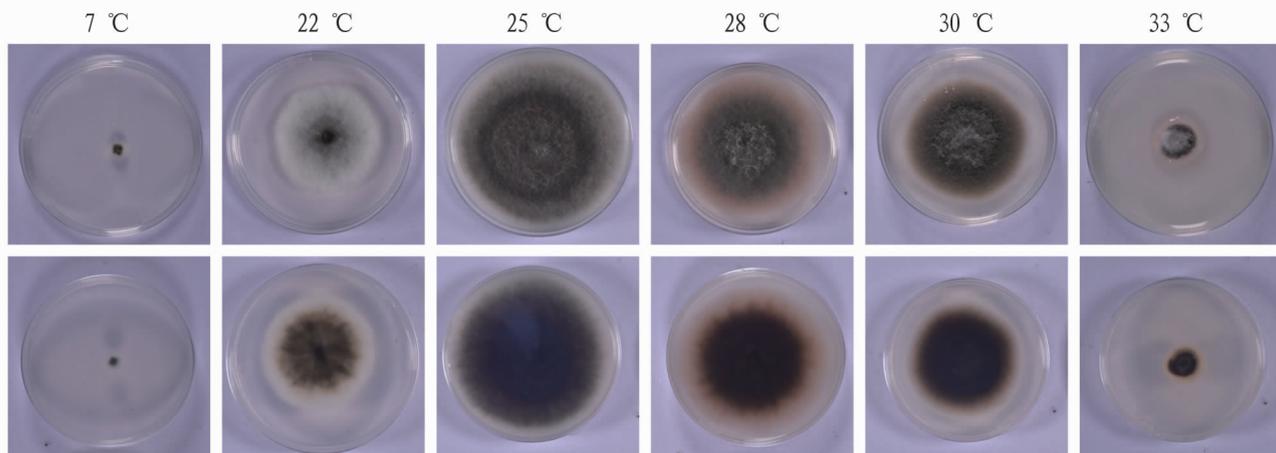
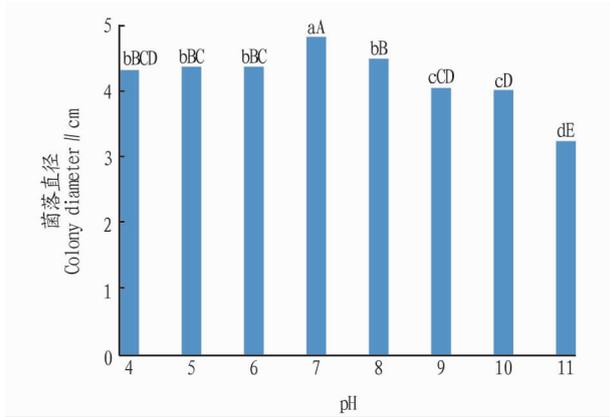


图 4 不同温度对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响

Fig.4 Effects of different temperatures on mycelium growth of *Alternaria alternata* (Friss.) Keissler

2.3 不同 pH 对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响 由图 5 可知,浙贝母黑斑病病原菌对酸碱度适应范围较广,病原菌在 pH 4~11 时均能生长。在相同的培养时间内,pH 为 7 时该菌的菌落直径最大,为 4.80 cm,显著高于其他 pH 处理,表明该菌生长的最适 pH 为 7。随着 pH 的升高,菌落直径逐渐下降。当 pH 为 11 时,菌落直径最小,为 3.23 cm(图 6)。



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$);不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)

Note: Different lowercase letters indicated significant difference ($P < 0.05$); different capital letters showed extremely significant difference ($P < 0.01$)

图 5 不同 pH 对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响

Fig.5 Effects of different pH on mycelium growth of *Alternaria alternate* (Friss.) Keissler

2.4 不同碳氮源对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响 浙贝母黑斑病病原菌可利用多种碳、氮源。但在供试碳源中,可溶性淀粉作为碳源的基础培养基最适合病原菌菌丝的生长,其菌落直径为 3.82 cm,显著高于其他碳源培养基上的菌落直径,其次为甘露醇、葡萄糖、果糖;再次为蔗糖、木糖;该菌株在以纤维素为碳源的基础培养基上生长最差(图 7~8)。

在不同氮源处理中,病原菌菌丝在胰蛋白胍培养基上生长最快,菌落直径为 4.38 cm,显著高于其他氮源培养基上的菌落直径,其次为牛肉浸膏、硝酸钠、脯氨酸、硫酸铵、甘氨酸、氯化铵,而在以尿素为氮源的基础培养基中生长最慢(图 9~10)。

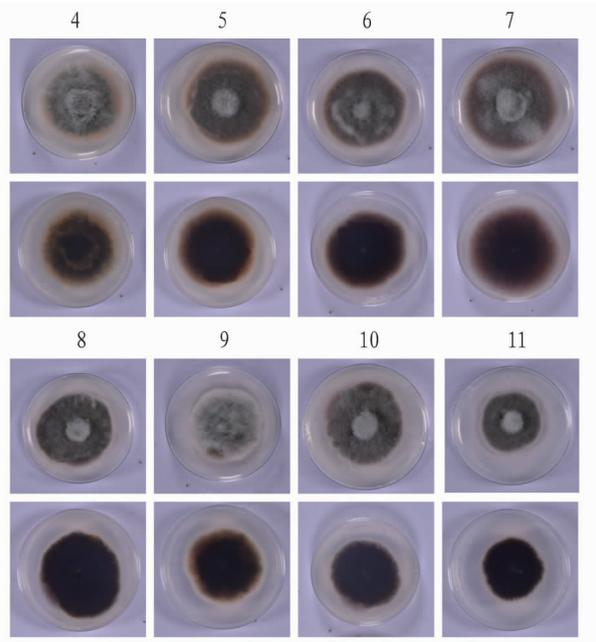
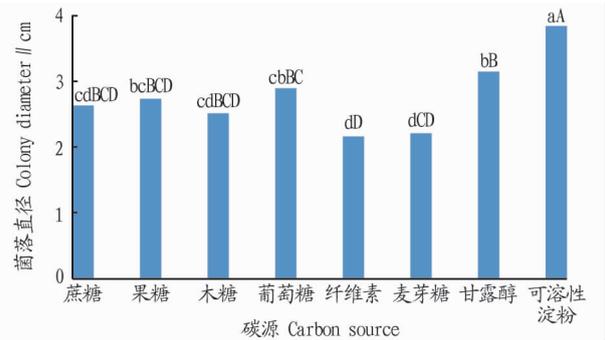


图 6 不同 pH 对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响

Fig.6 Effects of different pH on mycelium growth of *Alternaria alternate* (Friss.) Keissler



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$);不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)

Note: Different lowercase letters indicated significant difference ($P < 0.05$); different capital letters showed extremely significant difference ($P < 0.01$)

图 7 不同碳源对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响

Fig.7 Effects of carbon source on mycelium growth of *Alternaria alternate* (Friss.) Keissler

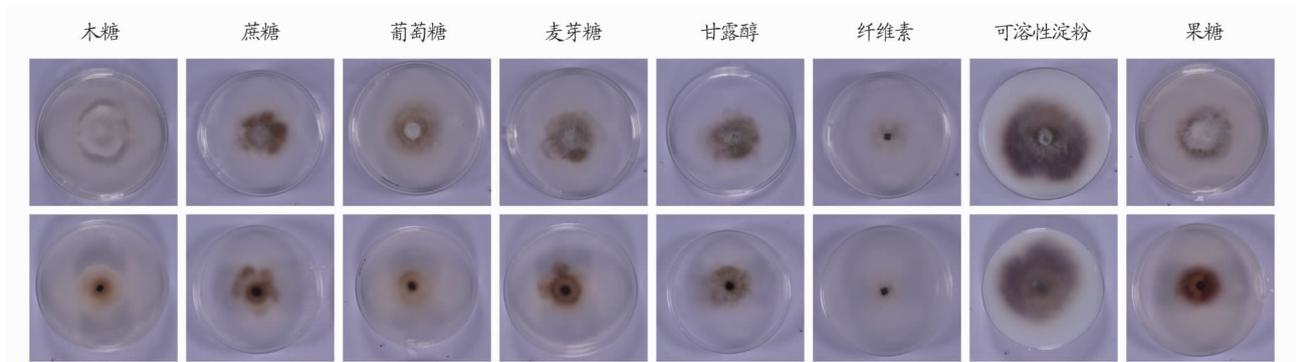
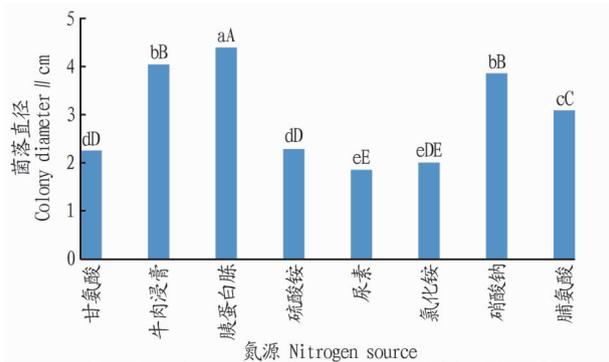


图 8 不同碳源对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响

Fig.8 Effects of carbon source on mycelium growth of *Alternaria alternate* (Friss.) Keissler



注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$);不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)

Note: Different lowercase letters indicated significant difference ($P < 0.05$); different capital letters showed extremely significant difference ($P < 0.01$)

图9 不同氮源对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响

Fig.9 Effects of nitrogen source on mycelium growth of *Alternaria alternata* (Friss.) Keissler

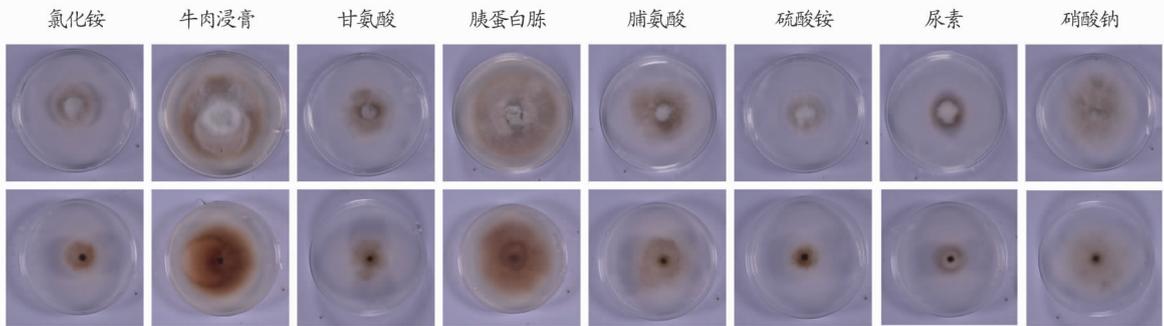


图10 不同氮源对浙贝母黑斑病病原菌菌丝生长的影响

Fig.10 Effects of nitrogen source on mycelium growth of *Alternaria alternata* (Friss.) Keissler

参考文献

- [1] 朱静坚.浙贝母种植模式调查与探讨[J].浙江农业科学,2018,59(3):380-381,387.
- [2] 刘玉红,陈淑淑,孙彩霞,等.浙贝母病虫害发生及农药使用现状调查[J].浙江农业科学,2020,61(3):448-450.
- [3] 何伯伟,姜娟萍,徐丹彬.道地药材浙贝母和延胡索生产技术[J].新农村,2020(9):21.
- [4] 何琛晔,张春椿,李石清,等.浙贝母品质现状及中药材生态适宜性的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(2):220-225.
- [5] 黄雅俊,宋会鸣,丁佩,等.325 g/L 苯甲·啉菌酯悬浮剂防治贝母黑斑

3 讨论

病原菌生物学特性是病害早期诊断、预测与防治的基础^[9-10]。浙贝母黑斑病病原菌交链孢菌(*Alternaria alternata* (Friss.) Keissler)的生物学特性目前国内外未见报道。该试验结果表明,浙贝母黑斑病病原菌菌丝在7~33℃条件下均能生长,该菌的最适生长温度为25℃,这与金华当地黑斑病发病规律相吻合。3月温度较低、雨水较多、湿度较大,越冬病原菌开始活跃,随着温度升高病害迅速扩展蔓延至高峰。即温湿度是影响该病害发生和流行的主要因素。病原菌在pH 4~11时均能生长,以pH 7最适,说明该病原菌喜好中性环境。在光照:黑暗=24:0条件下菌丝生长最快;最适菌落生长碳源为可溶性淀粉,最适氮源为胰蛋白胨。

该试验对浙江省金华市磐安县浙贝母黑斑病病原菌进行分离鉴定,对贝母黑斑病病原菌的生物学特性进行研究,试验结果有利于植物病害的预报预警,为有效预防浙贝母黑斑病提供有力的技术支撑。

- 病田间药效评价[J].农药科学与管理,2017,38(8):44-47.
- [6] 吕先真,郑永利,潘兰兰,等.浙贝母主要病害及其综合防治[J].安徽农学通报,2006,12(2):85-86.
- [7] 郑明子,叶海军,俞仪阳,等.生防菌剂“宁盾”对浙贝母的防病促生作用[J].中国现代中药,2020,22(11):1871-1874.
- [8] 徐云飞,祁依佳,温思思,等.浙贝母黑斑病病原菌的分离鉴定及分子检测[J].浙江中医药大学学报,2020,44(2):111-118.
- [9] 刘倩丽,周国英,刘成锋,等.檀香炭疽病病原鉴定及其生物学特性研究[J].热带作物学报,2014,35(11):2266-2273.
- [10] 孔前前,阮柳,刘东霞,等.河北首蓿镰孢菌根腐病病原菌生物学特性研究[J].中国农业大学学报,2018,23(8):59-76

(上接第102页)

参考文献

- [1] 刘波,杨梓桐,杨荔,等.上海共青森林公园药用植物资源调查[J].绿色科技,2017(19):82-89,91.
- [2] 王爱民,李新国.上海共青国家森林公园[J].中国城市林业,2007(1):35-36.
- [3] 罗丽,戴晓会.富顺县常见园林植物病虫害调查及防治建议[J].安徽农业科学,2021,49(23):143-145,148.
- [4] 廖永林,李传瑛,黄少华,等.鹰嘴蜜桃病虫害调查与防控策略[J].环境昆虫学报,2020,42(4):1005-1009.
- [5] 田艳,张国豪,张龙成,等.重庆油茶主要病虫害调查[J].安徽农业科学,2021,49(20):163-165,180.
- [6] 徐颖,池杏珍,严巍,等.上海城区新建绿地病虫害和寄生补充名录[J].上海交通大学学报(农业科学版),2005,23(4):410-415,445.
- [7] 王继龙,刘建良.上海园林植物常见蚜虫种类检索[J].上海交通大学学报(农业科学版),2003,21(1):58-63.

- [8] 姚红梅,林祥文,吕慧,等.上海地区草坪主要害虫防治技术研究[J].世界农药,2002,24(5):24-30.
- [9] 朱天辉,周成刚.园林植物病虫害防治[M].2版.北京:中国农业出版社,2015.
- [10] 程保中,刘曙雯,张凯.昆虫学基础与常见种类识别[M].北京:科学出版社,2011.
- [11] 张巍巍,李元胜.中国昆虫生态大图鉴[M].重庆:重庆大学出版社,2011.
- [12] 赵友文,杭德龙,夏必文.灯下昆虫图鉴[M].北京:中国农业出版社,2014.
- [13] 吴鸿,吕建中.浙江天目山昆虫实习手册[M].北京:中国林业出版社,2009.
- [14] 徐颖,严巍,池杏珍,等.金叶女贞叶斑病的研究[J].中国森林病虫,2002,21(5):12-14.
- [15] 黄程.旅游活动对城市森林公园的环境影响研究:以上海共青森林公园为例[D].上海:上海师范大学,2010:1-97.