

## 亚麻炭疽病病原菌生物学特性的研究

宋喜霞<sup>1</sup>, 关凤芝<sup>1</sup>, 潘虹<sup>2</sup>, 王立群<sup>2</sup>, 黄文功<sup>1</sup>, 康庆华<sup>1</sup>, 赵东升<sup>1</sup>, 姜卫东<sup>1</sup>, 刘岩<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院 经济作物研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 东北农业大学 生命科学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:**对亚麻炭疽病病原菌(*Colletotrichum lini*)进行了生物学特性研究。结果表明:温度、pH、光照对其生长都有一定的影响,菌丝最适生长温度为25℃;最适pH为8.0;持续黑暗条件下菌丝生长最好,光照不利于其生长;该菌在供试6种培养基中,在PSA上生长状况最好;碳、氮源对菌丝生长有一定的影响,碳源以山梨醇和蔗糖最适合;氮源以蛋白胨和牛肉膏最适合。

**关键词:**亚麻炭疽病;亚麻毛盘孢菌;生物学特性

**中图分类号:**S435.63

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2010)11-0057-03

亚麻炭疽病病原菌(*Colletotrichum Lini-colum* Pethybr et Laff)为半知菌亚门,毛盘菌属<sup>[1]</sup>。亚麻炭疽病是亚麻苗期的重要病害,在黑龙江省种麻区均有不同程度发生,一般发病率为10%~30%,重病田植株枯死达30%以上,造成田间缺苗、断条,甚至毁种,给亚麻生产带来较大的损失<sup>[2]</sup>。种子和土壤带菌是发病的重要原因,据报道哈尔滨地区种子携带炭疽病病原菌的带菌率为11.8%<sup>[3]</sup>。目前对亚麻炭疽病病原菌生物学特性的研究未见报道。因此,该试验对亚麻炭疽病病原菌的生物学特性进行研究,为今后病害的防治研究提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试菌种来源

亚麻炭疽病病菌标本采自黑龙江省农业科学院经济作物所试验田,对所采集的标本常规组织分离法分离,切取5 mm大小病健交界组织,先在70%的酒精中浸5 s,用0.1%升汞溶液消毒2 min,再用灭菌水换洗4次,置于PSA培养基中,放在28℃生化培养箱中培养48 h。将培养后的菌种采用稀释纯化法进行单孢分离、纯化、接种、鉴定,并保存在PSA斜面培养基上备用<sup>[4]</sup>。

#### 1.2 生物学特性测定

1.2.1 温度对菌丝生长的影响试验 取直径为0.5 cm、菌龄为7 d的菌碟接种于PDA平板中央,分别置于5、10、15、20、25、30、35和40℃的恒温

培养箱中培养,5 d后采用“十”字法测量各处理的菌落生长直径<sup>[5]</sup>,每处理3次重复。

1.2.2 pH对菌丝生长的影响 以0.2 mol·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O和0.1 mol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸为缓冲液,用1 mol·L<sup>-1</sup>的NaOH和1 mol·L<sup>-1</sup> HCl适量混合配置成pH分别为2、3、4、5、6、7、8、9、10和11共10个梯度的PDA培养基,制成平板后接种菌碟,25℃恒温培养5 d后测量菌落直径。

1.2.3 光照对菌丝生长的影响 用PDA平板接种菌龄相同的菌碟,分别置于持续光照(日光灯,MT-3095)、持续黑暗和12 h光暗交替的培养箱中,25℃恒温培养5 d后测量菌落直径。

1.2.4 培养基对菌丝生长和产孢量及孢子萌发的影响 将马铃薯葡萄糖培养基(PDA)、马铃薯蔗糖培养基(PSA)、马铃薯麦芽糖培养基(PMA)、查氏培养基(Crapek)、马丁氏培养基(Martin)、沙氏培养基(Sabouraud's)分别制好平板后,接种菌龄相同的菌碟,25℃恒温培养5 d后测量菌落直径。

1.2.5 碳源对菌丝生长和产孢量及孢子萌发的影响 以Crapek(NaNO<sub>3</sub> 2 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g、KCl 0.5 g、MgSO<sub>4</sub> 0.5 g、FeSO<sub>4</sub> 0.01 g、蔗糖30 g、琼脂15~20 g、水1 000 mL、pH自然)为基础培养基<sup>[7]</sup>,分别以等碳量的蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、D-木糖、淀粉、甘露醇、果糖、山梨醇、乳糖作为供试碳源,配成含不同碳源的培养基,并设置无碳对照(CK1),制成平板接种菌碟,在25℃恒温培养5 d测量菌落直径。

1.2.6 氮源对菌丝生长和产孢量及孢子萌发的影响 以Crapek为基础培养基,分别以等氮量的

收稿日期:2010-08-06

第一作者简介:宋喜霞(1979-),女,吉林省长春市人,硕士,研究实习生,从事亚麻育种及病害研究。E-mail: songxixia6@yahoo.com.cn。

硝酸钠、尿素、牛肉膏、蛋白胨、L-天冬酰胺(L-Asn)、L-半胱氨酸(L-Cys)、DL-苯丙氨酸(DL-Phe)、L-组氨酸(L-His)、L-赖氨酸(L-Lys)作为供试氮源,配成含不同氮源的培养基,并设置无氮对照(CK2),制成平板接种菌碟,在 25℃ 恒温培养 5 d 测量菌落直径。

1.3 分析方法

菌落直径测量:菌落直径/cm=菌落测量直径/cm-菌碟直径/cm;使用 DPS v7.05 软件<sup>[8]</sup> 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 温度对菌丝生长的影响

在 PDA 培养基上,温度对炭疽病菌生长影响较大,该菌株在 10~35℃ 均可生长,以 25℃ 培养下生长最快,且差异显著,其次为 20℃,低于 5℃ 或高于 40℃ 菌丝无生长(见表 1)。

表 1 温度对菌丝生长的影响

温度 /℃	菌落直径 /cm	差异显著性		生长级别
		LSD <sub>0.05</sub>	LSD <sub>0.01</sub>	
5	0	d	D	—
10	0.185	d	D	—
15	2.268	c	C	+++
20	3.710	b	B	+++
25	4.642	a	A	+++
30	2.433	c	C	++++
35	0.258	d	D	++++
40	0	d	D	—

注:+++表示菌丝生长浓密,++表示菌丝生长较浓密,+表示菌丝生长稀疏,—表示菌丝不生长。下同。

2.2 pH 对菌丝生长的影响

炭疽病菌在 pH 2~11 均能生长,最适 pH 为 8,菌丝生长茂盛,菌落直径达到 6.045 cm,差异显著,其次为 pH 7,菌落直径达到 5.067 cm(见表 2)。

表 2 pH 对菌丝生长的影响

pH	菌落直径 /cm	差异显著性		生长级别
		LSD <sub>0.05</sub>	LSD <sub>0.01</sub>	
2	3.390	e	DE	++
3	3.488	de	DE	++
4	3.805	cde	CDE	++++
5	4.130	cd	CD	++++
6	4.218	cd	BCD	++++
7	5.067	b	B	++++
8	6.045	a	A	++++
9	5.043	b	B	++++
10	4.430	bc	BC	++++
11	3.222	e	E	++

2.3 光照对菌丝生长的影响

在各光照条件处理下菌丝均能生长,其中在持续黑暗条件下菌丝生长最快菌落直径达到 2.445 cm,光暗交替次之,连续光照最差,表明黑暗有利于菌丝生长,光照则产生抑制作用(见表 3)。

表 3 光照对菌丝生长的影响

光照处理	菌落直径 /cm	差异显著性		生长级别
		LSD <sub>0.05</sub>	LSD <sub>0.01</sub>	
连续光照	0.825	c	C	+++
连续黑暗	2.445	a	A	+++
光暗交替	1.480	b	B	+++

2.4 不同培养基对菌丝生长的影响

PMA、PSA、Sabouraud's 3 种培养基均有利于菌丝生长,其中最适培养基为 PSA,菌落直径均达到 6.417 cm,PMA 和 Sabouraud's 也能较好地供给营养促进菌丝生长(见表 4)。

表 4 不同培养基对菌丝生长的影响

培养基	菌落平均 直径/cm	差异显著性		生长级别
		LSD <sub>0.05</sub>	LSD <sub>0.01</sub>	
PDA	4.228	d	D	++++
PSA	6.417	a	A	++++
PMA	5.733	b	B	+++
Crapek	4.787	c	C	++++
Martin	1.652	e	E	++++
Sabouraud's	5.697	b	B	+++

2.5 碳源对菌丝生长的影响

在供试的 9 种碳源中,菌丝在以甘露醇、蔗糖、山梨醇、淀粉为碳源的培养基上生长较快。在以麦芽糖、果糖、葡萄糖、D-木糖、乳糖为碳源的培养基上生长相对缓慢,在 CK1 无碳培养基上菌丝没有生长,说明碳源是病原菌生长的必需元素(见表 5)。

表 5 碳源对菌丝生长的影响

碳源	菌落直径 /cm	差异显著性		生长级别
		LSD <sub>0.05</sub>	LSD <sub>0.01</sub>	
蔗糖	4.243	ab	AB	++++
葡萄糖	3.895	bc	BC	++++
麦芽糖	2.828	d	E	++++
D-木糖	2.807	d	E	++++
淀粉	4.192	ab	AB	++++
甘露醇	4.540	a	A	+++
果糖	2.912	d	DE	++++
山梨醇	4.253	ab	AB	++++
乳糖	3.547	c	CD	++++
CK1	0.500	e	F	—

2.6 氮源对菌丝生长的影响

在供试的 9 种氮源中,炭疽病菌对蛋白胨的利用最好,菌落直径达到 6.285 cm。牛肉膏次之,其它各种氮源的培养基菌丝生长缓慢。

表 6 氮源对菌丝生长的影响

氮源	菌落直径 /cm	差异显著性		生长级别
		LSD <sub>0.05</sub>	LSD <sub>0.01</sub>	
硝酸钠	3.635	c	C	++++
尿素	2.808	d	D	+++
牛肉膏	5.575	b	B	+++
蛋白胨	6.285	a	A	++
L-天冬酰胺	3.603	c	C	++++
L-半胱氨酸	1.837	e	E	++++
DL-苯丙氨酸	2.668	d	D	+++
L-组氨酸	2.617	d	D	++++
L-赖氨酸	1.895	e	E	++++
CK2	2.910	d	D	+

3 结论与讨论

研究表明,菌丝在 10~35℃ 均能生长,最适生长温度为 25℃,菌丝生长茂盛;在 pH 2~11 梯度范围内均有不同程度生长,最适 pH 为 8;持续黑暗条件下菌丝生长最好,光照不利于其生长;在 6 种供试培养基中,该菌在 PSA 上生长状况良好,其次为 PMA 和 Sabouraud's 也能较好地供给营养促进菌丝生长;此菌能有效利用多种碳、氮源,碳源以山梨醇和蔗糖最适合;氮源以蛋白胨

和牛肉膏最适合。

调查发现,在温度偏高或偏低、偏酸或偏碱环境下,菌落均有不同程度的生长和萌发,表明亚麻炭疽病菌对环境的适应能力较强。多年连作会使土壤感染度增加、理化性状劣变,因此多以玉米、小麦、谷子、高粱、大豆等作物轮作,是防治亚麻枯萎病的有效措施。

生物学特性的研究是亚麻炭疽病深入研究的基础,该试验从温度、pH、光照、不同培养基、不同碳源、不同氮源等 6 个方面对亚麻炭疽病原菌菌丝生长的影响进行了研究,这为亚麻炭疽病化学防治和抗病育种研究提供一定的理论依据。

参考文献:

[1] 杨学. 亚麻炭疽病发生特点及防治[J]. 黑龙江农业科学, 2003(2):13-14.  
[2] 杨荣权,宋兴梅,张丽娟,等. 亚麻炭疽病的发生特点及防治方法[J]. 中国植保导刊,2002(4):26-30.  
[3] 宋喜霞. 我国亚麻种子携带真菌情况初探[J]. 中国麻业科学,2009(2):137-139.  
[4] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1998:56.  
[5] 张海英,张明会,刘志恒,等. 草莓炭疽病原鉴定及其生物学特性研究[J]. 沈阳农业大学学报,2007,38(3):317-321.  
[6] 唐启义,冯明光. DPS 数据处理系统:实验设计、统计分析及数据挖掘[M]. 北京:科学出版社,2007.

Research on Biological Characteristics of  
Pathogen Flax *Colletotrichum Lini*

SONG Xi-xia<sup>1</sup>, GUAN Feng-zhi<sup>1</sup>, PAN Hong<sup>2</sup>, WANG Li-qun<sup>2</sup>, HUANG Wen-gong<sup>1</sup>,  
KANG Qing-hua<sup>1</sup>, ZHAO Dong-sheng<sup>1</sup>, JIANG Wei-dong<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>1</sup>

(1. Industrial Crops Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Life Sciences College of Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

**Abstract:** The biological characteristics of the pathogen of flax *Colletotrichum* disease(*Colletotrichum Lini*) were studied. The results showed that temperature, pH and light affected the mycelial growth; the optimum growth temperature was 25℃; the suitable pH was 8; it grew the best under constantly dark conditions, light was not conducive to the growth of mycelium; the mycelia grew fastest in the PSA among the six testing culture mediums; both carbon and nitrogen sources had an effect on mycelial growth, the growth of mycelia was the fastest with sorbitol and sucrose; beef extract and peptone were the most suitable for the growth of mycelia.

**Key words:** flax *Colletotrichum* disease; *Colletotrichum lini*; biological characteristics