

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2015)01-0033-04

马铃薯黑痣病菌生物学特性测定

王文慧, 骆得功, 魏周全*

(甘肃省定西市植保植检站, 甘肃 定西 743000)

摘要: 马铃薯黑痣病是土传真菌性病害, 在定西市马铃薯种植区均有发生, 目前已成为影响马铃薯产量和品质的主要因素之一。本研究对马铃薯黑痣病菌从温度、光照、碳源、氮源以及pH方面进行了生物学特性的测定。结果表明: 该病原菌菌丝在无光25℃条件下生长最快, 在无光35℃条件下生长最慢; 室温条件下培养1 d后用紫外线照射处理2 h, 然后室温持续光照培养4 d的菌丝生长速率最大, 持续黑暗培养4 d的菌丝生长速率最慢; 不同碳氮源对该菌菌丝生长均有影响, 碳源为淀粉的培养基上菌丝生长最快、氮源为尿素的培养基上菌丝生长最快; 培养基pH中性时菌丝生长速率最大。

关键词: 马铃薯黑痣病; 菌丝; 生物学特性

Characterization of Biological Properties of Pathogen of Potato Black Scurf

WANG Wenhui, LUO Degong, WEI Zhouquan*

(Dingxi Plant Protection and Quarantine Station, Dingxi, Gansu 743000, China)

Abstract: The potato black scurf is a soil-borne fungal disease, which happens in all of the areas of Dingxi. It is one of the main factors influencing potato quantity and quality. This research was to characterize biological properties of the pathogen causing potato black scurf in terms of temperature, illumination, carbon source, nitrogen source and pH value. The mycelium grew the fastest at 25℃ and the slowest at 35℃ under dark conditions. When cultured for 1 d at 25℃, treated with UV for 2 h, and then kept under light for 4 d at room temperature, the mycelium grew the fastest, while the mycelium grew the slowest when kept under darkness for 4 d. The mycelium growth was affected by different sources of carbon and nitrogen. Starch was the best carbon source and urea was the best nitrogen source for the mycelium growth. The mycelium grew fastest when pH was set at 7.0.

Key Words: potato black scurf; mycelium; biological property

收稿日期: 2014-05-20

基金项目: 甘肃省星火项目(1205NCXJ219)。

作者简介: 王文慧(1989-), 女, 助理农艺师, 主要从事植保技术与开发。

*通信作者(Corresponding author): 魏周全, 高级农艺师, 主要从事植保技术与开发, E-mail: weizhouquan@126.com。

- =====
- | | |
|--|--|
| [5] Theron D J. <i>Fusarium</i> dry rot of potatoes: etiology, epidemiology, toxicity and control [D]. Bl- oemfontein: The University of the Orange Free State, 1999. | [9] Morrica S, Ragazzi A, Kasuga T, et al. Detection of <i>Fusarium oxysporium</i> f sp. <i>vasinfectum</i> in cotton tissue by polymerise chain reaction [J]. Plant Pahtology, 1998, 47: 486-494. |
| [6] 闵凡祥, 王晓丹, 胡林双, 等. 黑龙江省马铃薯干腐病菌种类鉴定及致病性[J]. 植物保护, 2010, 36(4): 112-115. | [10] Murillo I, Cavallarin L, Segundo B S. The development of a rapid PCR assay for detection of <i>Fusarium moniliforme</i> [J]. European Journal of Plant Pahtology, 1998, 104: 301-311. |
| [7] 李凤兰, 蒋先锋, 史丽娟, 等. 两株马铃薯干腐病原菌的分离和鉴定[J]. 作物杂志, 2013(4): 125-128. | [11] 张宝俊, 李志刚, 张家榕, 等. 4种镰刀菌基因组DNA提取方法的比较研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(31): 13599-13560. |
| [8] Doohan F M, Parry D W, Jenkinson N P. <i>et al.</i> The use of species-specific PCR-based assays to analyze <i>Fusarium</i> ear blight of wheat [J]. Plant Pahtology, 1998, 47: 197-205. | [12] 韩峰, 李凤兰, 李学湛, 等. 马铃薯干腐病主要致病菌DNA提取方法比较[J]. 中国农学通报, 2011, 27(1): 209-213. |

马铃薯黑痣病, 又称茎基腐病、黑色粗皮病、丝核菌溃疡病、立枯丝核菌病, 是一种土传性病害。主要危害马铃薯的幼芽、茎基部、块茎, 造成缺苗断垄, 严重时甚至导致整株死亡。该病害由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kuhn)引起, 全国各马铃薯产区均有发生^[1,2]。

近年来, 随着种植结构的调整, 马铃薯产业发展迅速, 马铃薯种植面积也逐年上升, 所带来的重茬问题严重, 导致马铃薯黑痣病发生日益严重, 该病害正在成为马铃薯种植的“头号杀手”^[3]。一般可造成马铃薯减产15%左右, 严重时甚至可造成全田毁灭。影响马铃薯的产量与品质, 阻碍马铃薯产业的发展^[4,5]。

1 材料与方法

1.1 材料

采集临洮县站滩乡泉头村新鲜带菌马铃薯块茎。取新鲜带菌马铃薯块茎上病原菌菌核, 于0.1%升汞溶液消毒30~50 s, 再用无菌水冲洗4次, 置于PDA培养基中, 室温条件下于培养箱中培养2 d。待长出的菌丝经镜检确认是丝核菌后再转移到PDA培养基上备用^[6,7]。

1.2 方法

1.2.1 温度对立枯丝核菌菌丝生长的影响

取培养4 d的菌落, 沿菌落边缘用打孔器打取直径1.0 cm菌饼, 并移入PDA平板培养基中, 置于培养基中央, 每皿一块, 置于温度为15, 20, 25, 30, 35, 40℃条件下, 每个处理条件下5个重复, 黑暗保湿培养, 从接菌第2 d开始, 用十字交叉法每隔1 d测量1次菌落的直径, 计算每处理条件下菌丝生长速度。

1.2.2 光照对立枯丝核菌菌丝生长的影响

接菌于PDA培养基上, 并分为6组, 每组5个重复, 在室温条件下培养1 d后作如下处理: 于光照培养箱中, 25℃条件下持续光照培养4 d; 于光照培养箱中, 25℃条件下持续黑暗培养4 d; 25℃条件下, 12 h光照与黑暗交替培养4 d; 紫外线照射处理2 h后, 于25℃条件下持续黑暗培养4 d; 紫外线照射处理2 h后, 于25℃条件下持续光照培养4 d; 紫外线照射处理2 h后, 于25℃条件下12 h光照与黑暗交替培养4 d。接菌第2 d开始, 用十字交叉法每隔1 d测量菌落的直径并计算每处理条件下菌丝

生长速度。

1.2.3 不同碳源对立枯丝核菌菌丝生长的影响

试验所用培养基为查彼培养基: 蒸馏水1 L、 KH_2PO_4 1 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g、蔗糖30 g、KCl 0.5 g、 NaNO_3 2 g。制作平板培养基时, 1 L培养液中加入17 g琼脂。分别以相同质量的淀粉、乳糖、麦芽糖、葡萄糖、山梨醇和甘露醇替换基本培养基中的蔗糖, 制成不同碳源的培养基, 并以蔗糖为碳源的的培养基作为对照。沿菌落边缘取直径为1.0 cm菌饼接入平板培养基中央, 室温12 h光暗交替培养, 每个处理重复5次^[6,8]。用十字交叉法每隔1 d测量1次菌落的直径并计算每处理条件下菌丝生长速度。

1.2.4 不同氮源对立枯丝核菌菌丝生长的影响

分别以相同质量氮的硝酸铵、尿素、氯化铵、牛肉浸膏和DL-蛋氨酸代替基本培养基中的 NaNO_3 , 制成不同氮源的培养基, 以不加氮源和加0.1 mol/L NaCl 2 g的培养基为对照, 每个处理5个重复, 接菌后, 室温12 h光暗交替条件下培养^[6]。接菌第2 d开始, 用十字交叉法每隔1 d测量1次菌落的直径并计算每处理条件下菌丝生长速度。

1.2.5 不同pH对立枯丝核菌菌丝生长的影响

用0.1 mol/L的NaCl或HCl调节PDA培养基的pH为5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 5个梯度, 再灭菌, 用已灭菌的内径为1.0 cm的无菌打孔器, 沿菌落边缘打取菌饼, 每皿1块接入PDA平板培养基中央, 每个处理5个重复^[6]。在室温12 h光照与黑暗交替条件下培养, 同上方法测量菌丝生长。

1.3 统计分析方法

按单因素完全随机设计进行统计分析, 平均数多重比较采用新复极差法。

2 结果与分析

2.1 温度对马铃薯黑痣病菌丝生长的影响

在无光条件下, 20~30℃的温度范围内菌丝生长较好, 其中25℃生长最快, 在1%显著水平下, 与30℃差异不显著, 与15, 20, 35℃条件下差异极显著; 温度为40℃, 该菌被致死(表1)。

2.2 光照对菌丝生长影响

该菌在25℃条件下培养24 h后进行不同光照处理后菌丝生长存在一定差异。在紫外线照射处理2 h后, 室温条件下持续光照培养4 d的菌丝生

表1 温度对马铃薯黑痣病菌丝生长的影响

Table 1 Effect of temperature on mycelium growth of *R. solani* isolates

温度 (°C) Temperature	生长速率 (cm/d) Growth rate	5%显著水平 5% level of significance	1%极显著水平 1% level of significance
25	2.4033	a	A
30	2.2933	a	AB
20	2.1533	b	B
15	1.1033	c	C
35	0.2433	d	D

长速率最大，在紫外线照射处理2 h后，12 h光暗交替培养4 d菌丝生长速率次之，未经紫外线处理12 h光暗交替培养4 d菌丝生长速率居第三，在紫外线照射处理2 h后，持续黑暗培养4 d的菌丝生长速率最小。在未经紫外线处理条件下，12 h光暗交替培养的菌丝生长最快，持续黑暗培养的菌丝生长居中，持续光照的菌丝生长相对最慢，12 h光暗交替培养与后两者在5%显著水平差异显著，后

两者差异不显著(表2)。

2.3 碳源对马铃薯黑痣病菌丝生长的影响

该病原菌在碳源为淀粉、乳糖、麦芽糖、甘露醇、山梨醇和蔗糖培养基上都能生长，与以蔗糖为碳源的培养基相比，其他碳源对马铃薯黑痣病菌丝生长均有促进作用。最适碳源为淀粉，其次为乳糖、麦芽糖、甘露醇，病菌在以蔗糖为碳源的培养基上生长最慢(表3)。

表2 光照对马铃薯黑痣病菌丝生长的影响

Table 2 Effect of illumination on mycelium growth of *R. solani* isolates

光照条件 Illumination	生长速率 (cm/d) Growth rate	5%显著水平 5% level of significance	1%极显著水平 1% level of significance
紫外照射2 h后持续光照 Treated with UV for 2 h, then kept under light	2.5933	a	A
紫外照射2 h后12 h光暗交替 Treated with UV for 2 h, then kept 12 h light and darkness	2.5533	a	A
12 h光暗交替 12 h light and darkness	2.5133	a	AB
持续黑暗 Kept under darkness	2.3933	b	B
持续光照 Kept under light	2.3767	b	BC
紫外照射2 h后持续黑暗 Treated with UV for 2 h, then kept under darkness	2.2367	c	C

表3 碳源对马铃薯黑痣病菌丝生长的影响

Table 3 Effect of carbon source on mycelium growth of *R. solani* isolates

碳源 Carbon source	生长速率 (cm/d) Growth rate	5%显著水平 5% level of significance	1%极显著水平 1% level of significance
淀粉 Starch	2.5200	a	A
乳糖 Lactose	2.4833	ab	A
麦芽糖 Maltose	2.4333	ab	A
甘露醇 Mannitol	2.4267	ab	A
山梨醇 Sorbitol	2.3533	b	AB
葡萄糖 Glucose	2.3367	b	AB
蔗糖 Sucrose	2.1700	c	B

表4 氮源对马铃薯黑痣病菌丝生长的影响
Table 4 Effect of nitrogen source on mycelium growth of *R. solani* isolates

氮源 Nitrogen source	生长速率(cm/d) Growth rate	5%显著水平 5% level of significance	1%极显著水平 1% level of significance
尿素 Urea	2.7333	a	A
DL-蛋氨酸 DL-methionine	2.5100	b	B
牛肉浸膏 Beef extract	2.4667	b	B
氯化铵 Ammonium chloride	2.2633	c	C
缺氮 Lack of nitrogen	1.6600	d	D
氯化钠 Sodium chloride	1.2533	e	E
硝酸铵 Ammonium nitrate	1.2500	e	E

表5 pH对马铃薯黑痣病菌丝生长的影响
Table 5 Effect of pH on mycelium growth of *R. solani* isolates

pH	生长速率 (cm/d) Growth rate	5%显著水平 5% level of significance	1%极显著水平 1% level of significance
7.0	2.2167	a	A
6.0	1.7500	b	B
5.0	1.6833	b	B
8.0	1.5667	b	B
9.0	1.5000	b	B

2.4 氮源对马铃薯黑痣病菌丝生长的影响

在不同氮源的 Czapek 平板培养基上，病原菌的培养状况差异较大。在尿素培养基上菌丝生长最快，与其他氮源差异极显著；缺氮培养基菌丝生长速率居中、菌落密度较小、菌丝细弱；氯化钠和硝酸铵上的菌丝生长最慢，同时生长也较差（表4）。

2.5 pH对马铃薯黑痣病菌丝生长的影响

pH为中性的培养基菌丝生长最快，与其他处理差异极显著；pH在5.0~7.0之间和在7.0~9.0之间，该菌菌丝均能生长。培养基pH为5.0，6.0，8.0和9.0条件下，菌丝生长差异不显著（表5）。

3 讨 论

通过室内测定马铃薯黑痣病病原菌立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani* Kuhn)的生物学特性，确定适宜马铃薯黑痣病菌生长的温度、光照、碳源、氮源、pH，有利于掌握马铃薯黑痣病病原菌生长适宜条件、从而掌握病害发生流行气候土壤条件，为控制马铃薯黑痣病发生流行、防治大田马铃薯黑痣病等

方面提供有效依据。在室内病原菌生物学特性测定的基础上，下一步将从农业措施等方面来试验控制马铃薯黑痣病。

[参 考 文 献]

[1] 霍茂林. 要注意防治马铃薯丝核菌病 [J]. 现代农业, 1988(4): 26-27.

[2] 陈万利. 马铃薯黑痣病的研究进展 [J]. 中国马铃薯, 2012, 26(1): 49-51.

[3] 张智芳, 米丰, 杨海鹰, 等. 5种杀菌剂对马铃薯黑痣病病菌的抑菌效果比较 [J]. 内蒙古农业科技, 2011(6): 78-79.

[4] 邱广伟. 马铃薯黑痣病的发生与防治 [J]. 粮食作物, 2009(6): 133-134.

[5] 马永强, 李继平, 惠娜娜, 等. 2种药剂不同施药方式对马铃薯黑痣病防效比较 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41(1): 120-122.

[6] 杨克泽, 徐秉良, 梁巧兰, 等. 南瓜叶枯病病原菌生物学特性研究 [J]. 植物保护, 2009, 35(3): 66-69.

[7] 方中达. 植病研究方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1988.

[8] 邹凤莲, 汪志平, 卢钢. 番红花链格孢菌的分离及其生物学特性研究 [J]. 浙江大学学报, 2006, 32(2): 162-167.