

小麦链格孢中国菌株的生物学特性研究

王春江, 商鸿生, 王旭

S435.121.4

(西北农林科技大学 植物保护系, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 小麦链格孢(*Alternaria triticina*)中国菌株菌落在 5~35 ℃ 均可生长, 适温为 15~30 ℃, 25~30 ℃ 最适, 低于 15 ℃ 或高于 30 ℃ 时, 生长速度下降, 菌落异常。适于生长的 pH 值为 3.5~9.5, 最适 pH 值为 4.5~7.5。该菌能较好地利用蔗糖、淀粉、木糖、棉子糖、乳糖和葡萄糖做碳源, 最优氮源为硝酸钾、甘氨酸和乙酸铵。培养基的碳源或氮源种类不同时, 菌落形态发生明显变异。小麦链格孢中国菌株和印度菌株的生物学特性基本一致。

[关键词] 小麦; 小麦链格孢; 生物学特性; 中国菌株; 小麦叶疫病

[中图分类号] S432.1 **[文献标识码]** A

小麦叶疫病是小麦链格孢(*Alternaria triticina* Prasad and Prabhu)引起的危险性病害, 最早于 1924 年发现于印度的孟买和比哈尔, 60 年代以来, 曾在印度多次大流行^[1], 埃及、尼日利亚、墨西哥和意大利等国也有发生。商鸿生等^[2]证实我国黄河流域已有该病发生, 并进行了包括接种试验在内的病原学研究。我国黄河流域与印度分处温带和热带, 自然生态条件不同, 研究这一起源于热带的病原真菌在另一自然生态区域定殖以后, 生物学特性是否发生了变化, 不仅对病原菌的正确鉴定有所帮助, 而且对探讨该病流行规律和防治方法也有重要意义。为此, 作者等研究了我国菌株的培养温度、培养基 pH 值, 以及碳源和氮源的利用特性等, 现将研究结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 供试菌株

供试菌株 010, 046, 052 和 156 为小麦链格孢中国菌株, 其中 010, 052 和 156 采自陕西杨陵, 046 采自河南洛阳。小麦链格孢印度菌株, 编号 289962, CMI 引自印度, 干粉冰冻保存, 用作本试验的参照菌株。供试各菌株在 PSA 培养基平板上于 20 ℃ 培养, 7 d 后取其菌落用于试验。

1.2 试验方法

1.2.1 培养温度 取各供试菌株在 PSA 培养基平板上培养 7 d 的菌落, 用打孔器取直径 5 mm 的菌饼, 置于 PSA 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。7 d 后测量菌落直径, 记载菌落形态。

1.2.2 培养基 pH 值 将 PSA 培养基定量装入三角瓶中灭菌, 然后用 0.1 mol · L⁻¹

[收稿日期] 1999-07-14

[基金项目] 国家“八五”攻关项目(85-010-01); 国家动植物检疫总局口岸植检科研项目(85 植-01-03)

[作者简介] 王春江(1970-), 男, 农艺师, 硕士。

HCL 和 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 调节 pH 值,再倒入培养皿制成平板。培养基 pH 值分别为 3.5,4.5,6.0,6.7,7.5,8.5 和 9.5。移置供试菌饼后,在 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中黑暗培养,7 d 后检查。

1.2.3 碳源 以 Czapek 培养基作为基础培养基,以葡萄糖、乳糖、木糖、棉子糖、可溶性淀粉为替换碳源,以等量碳置换其中的蔗糖,做成不同碳源的培养基,设缺碳对照。灭菌前用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCL 或 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 调至 pH 7.0。将供试菌饼移至培养基平板中央,置于 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中黑暗培养。7 d 后测量菌落直径,记载菌落形态。

1.2.4 氮源 以 Czapek 培养基作为基础培养基,以谷氨酸、甘氨酸、尿素、乙酸铵、硫酸铵作为替换氮源,与其中的硝酸钾(KNO_3)以等当量氮进行置换,配制成含不同氮源的培养基,设缺氮对照。培养条件和调查记载同 1.2.3。

2 试验结果

2.1 温度对菌落生长的影响

供试菌株菌落生长的温度范围较宽,在 $5 \sim 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 均可生长,生长适温为 $15 \sim 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $25 \sim 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 最适。在此范围内,菌落生长最快,低于 $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 或高于 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$,菌落生长速率下降。 $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 菌落几乎停止生长(表 1)。

表 1 不同温度下 PSA 培养基平板上供试菌株菌落生长速率

$\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$

供试菌株	温度/ $^{\circ}\text{C}$						
	5	10	15	20	25	30	35
010	0.07	1.87	3.00	4.09	5.68	5.70	2.00
046	0.09	1.49	3.09	4.10	4.78	4.87	2.07
052	0.08	1.40	2.70	4.52	4.81	5.58	2.00
156	0.06	1.54	2.59	3.79	5.25	4.14	1.82
289962	0.06	1.34	2.91	3.98	5.20	4.36	2.84

注:表中数值为供试菌株菌落半径的增长速率(3次重复的平均值),下表同。

温度为 $15 \sim 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,各供试菌株培养性状稳定,菌落全缘、完整、丝绒状,表面具稀疏的蛛网状或棉絮状白色菌丝,中心附近较茂密,菌落呈墨绿色,边缘呈褐黄色,底色为黑色。低于 $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 或高于 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$,所有供试菌株异常,菌落表面均为茂密的白色棉絮状菌丝。

2.2 培养基 pH 值对菌落生长的影响

小麦链格孢能在较宽的 pH 值范围内生长,以 pH 4.5~7.5 最适,即中性偏酸的环境更为有利(表 2)。

表 2 培养基 pH 值不同时菌落的生长速率($25 \text{ }^{\circ}\text{C}$)

$\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$

供试菌株	培养基 pH 值						
	3.5	4.5	6.0	6.7	7.5	8.5	9.5
010	1.88	5.92	5.71	5.69	5.43	3.57	1.96
046	1.83	5.31	5.96	5.50	5.86	3.25	2.86
052	1.92	5.96	5.64	5.43	5.57	2.65	2.02
156	2.11	5.31	4.95	5.21	—	4.28	3.78
289962	1.73	5.86	5.00	4.93	3.32	4.50	1.71

各供试菌株在 pH 值为 4.5~7.5 时培养性状稳定,菌落丝绒状,表面具蛛网状白色

菌丝。菌落呈黑绿色到黑色,底色呈灰黑色到黑色,pH 值低于 4.5 或高于 7.5,菌落较小且白色气生菌丝增多。

2.3 碳源对菌落生长的影响

小麦链格孢对所有供试碳源都可很好地利用,在以蔗糖、淀粉和木糖为碳源的 Czapek 平板上生长最快,葡萄糖、棉子糖、乳糖次之(表 3)。

表 3 碳源不同时菌落的生长速率(25 ℃)

mm · d⁻¹

供试菌株	蔗糖	淀粉	木糖	棉子糖	乳糖	葡萄糖	缺糖(对照)
010	5.29	5.42	4.98	4.68	4.75	4.68	0
046	5.61	5.25	4.94	4.71	4.68	4.60	0
052	4.86	5.37	5.29	4.71	4.59	4.56	0
156	5.39	5.19	5.11	4.63	4.25	5.36	0
289962	5.10	4.96	4.98	4.59	4.66	4.91	0

各供试菌株在以淀粉、棉子糖、葡萄糖为碳源的 Czapek 培养基平板上,菌落表面具绒状白色菌丝,菌落呈浅褐黄色,中心附近颜色更深,有的呈黑褐色。培养物底色为黑褐色到褐黄色。以蔗糖、乳糖为碳源时菌落表面具绒状或蛛网状白色菌丝,呈褐色到黑褐色,略显浅绿色,培养物底色呈灰黑色到黑褐色。以木糖为碳源培养 7 d 后,菌落表面具蛛网状白色菌丝,菌落半径 2 mm 范围以内呈浅黑色,以外则呈红褐色,底色为黑色到红褐色。

2.4 氮源对菌落生长的影响

小麦链格孢各菌株能利用供试的各种氮源。以硝酸钾、甘氨酸、乙酸铵为氮源时生长最快,以硫酸铵为氮源时生长最慢。缺氮时生长速率中等(表 4)。

表 4 氮源不同时菌落的生长速率(25 ℃)

mm · d⁻¹

供试菌株	硝酸钾	甘氨酸	乙酸铵	缺氮(CK)	谷氨酸	尿素	硫酸铵
010	5.29	5.64	5.41	4.82	4.27	4.07	2.78
046	5.61	4.97	5.55	4.68	4.18	4.59	1.82
052	4.86	5.64	5.39	5.00	3.87	4.32	3.07
156	5.39	5.04	5.32	4.39	5.23	5.04	3.23
289962	5.10	5.00	4.79	4.75	4.43	4.36	2.52

在不同氮源的 Czapek 培养基平板上,小麦链格孢的培养性状差异较大。缺氮时,菌落平展,黑褐色,底部菌丝体生长旺盛,菌落表面尤其是中心附近具有蛛网状或絮状白色菌丝,子实体不明显。谷氨酸为氮源时,菌落粉状,深黑色,气生菌丝稀少。硫酸铵为氮源时,菌落边缘锯齿状或裂片状,菌落米黄色,表面尤其是中央附近表面具较茂密的短丝状白色菌丝,底色呈米黄色,有的略显红色。尿素为氮源时,菌落全缘,丝绒状,表面具丝状或柳絮状白色菌丝。培养 7 d 后,中国菌株菌落半径 10 mm 内锈黄色,10~22 mm 呈黑色,22 mm 以外黄绿色;另外,菌落半径 23 mm 以内,菌落底色呈灰黑色到深黑色,23 mm 以外褐黄色。印度菌株稍有差异,菌落呈黑绿色,边缘浅绿色,底色呈灰黑色。甘氨酸/乙酸铵为氮源时,菌落丝绒状,表面具丝状或棉絮状白色菌丝,菌落呈桔黄色到桔红色,菌落半径 30 mm 内底色黑褐色,30 mm 以外深红褐色。

3 讨 论

本文系统研究了小麦链格孢中国菌株菌落生长与温度、pH 值、碳素和氮素营养的关系。结果表明,中国菌株与本研究中所用印度菌株的生物学特性相同,亦与印度学者的测试结果基本一致^[1,3~5],这表明该菌具有较强的遗传稳定性。这一结果不仅为中国黄河流域小麦叶疫病病原菌的“种”的正确鉴定,同时也为探讨其来源提供了有力的旁证。

从小麦链格孢菌落生长与温度的关系来看,该菌最适温度虽然较高,但适温范围较宽,对 pH 值的适应范围和对碳源、氮源的需求也较宽,这表明该菌对环境的适应性较强,这是该菌能够在与原产地生态条件不同的黄河流域发生的重要依据,在进一步研究小麦叶疫病的流行规律和流行分区时应予重视。

当变换培养基的碳源和氮源种类时,小麦链格孢的菌落形态和色泽发生了明显变异,这一特点有可能用于研制和开发适宜的鉴别性培养基,进行病原菌的快速鉴定。

[参考文献]

- [1] Prahu A S, Prasada R. Pathological and epidemiological studies on leaf blight of wheat by *Alternaria triticina* [J]. Indian Phytopathology, 1996, 19: 95—113.
- [2] 商鸿生, 王春江, 王树权. 小麦叶疫病检疫研究[J]. 植物检疫, 1994, 12(2): 73—75.
- [3] Bhandari J K S, Singh R S. Effect of carbon and organic nitrogen source on the growth of *Alternaria triticina* [J]. Indian Phytopathology, 1976, 29(1): 88—89.
- [4] Kumar V R, Arya H C. Nutritional requirements of *Alternaria triticina* causing leaf blight of wheat [J]. Geobios, 1978, 5(1): 12—15.
- [5] Singh M, Tyagi P D. Growth and sporulation of *Alternaria triticina* in relation to nutrition [J]. Indian Phytopathology, 1978, 31(1): 107—110.

Biological characters of the isolates of *Alternaria triticina* from China

WANG Chun-jiang, SHANG Hong-sheng, WANG Xu

(Department of Plant Protection, Northwest Science and Technology University
of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The important biological characters of the isolates of *Alternaria triticina* from China were studied under controlled environment conditions. The results showed that the temperature range for fungal colony growth on PSA plate was 5—35 °C with the optimum temperature at 25—30 °C. The rate of fungal colony development would get slower and colony morphology abnormal at a temperature of <5 °C or >30 °C. In the range of pH 3.5—9.5 the fungal colony was able to grow, and the suitable pH value was 4.5—7.5. The fungus could use sucrose, starch, xylose, raffinose, lactose and glucose as carbon source in Czapek's medium. The suitable nitrogen source was potassium nitrate, glucine or aminoacetate. Changing component of carbon or nitrogen, the characters of fungal colony showed remarkable variation. The important biological characters of isolates from China were similar to that of isolate from India.

Key words: wheat; *Alternaria triticina*; biological character; Chinese isolates