

研究报告

辣椒炭疽病菌生物学特性的研究

谢丙炎 欧阳本友 欧阳丰

(湖南省衡阳市蔬菜研究所, 衡阳 421005)

摘要 辣椒炭疽病菌在不同培养基中培养, 以 PDA、PCA、CFA、CLA 菌丝生长最佳, 在 CMA、PDA、CFA 中产孢量最多。病原菌生长和产孢的最适温度和 pH 值分别为 26—28℃ 和 pH4.5—6.5, 自然散光和完全黑暗有利于菌丝生长, 12 小时黑光灯与 12 小时黑暗交替处理有利于产孢。该菌对多种碳源和氮源均可利用, 其中木糖、葡萄糖和蔗糖作碳源, 天冬酰胺作氮源, 菌生长和产孢最佳。分生孢子于 25℃, pH6.0—8.0, 相对湿度 100%, 黑光灯照射, 以及 20% 辣椒叶煎汁或 1% 蛋白胨液中, 萌发率最高, 其致死温度为 50℃ 处理 10 分钟。

关键词 辣椒; 辣椒炭疽病菌; 生物学特性

辣椒刺盘孢菌 [*Colletotrichum capsici* (Syd.) Butl & Bisby] 俗称辣椒炭疽病菌, 是辣椒炭疽病的主要病原菌之一, 危害果实, 造成果腐, 对产量和品质影响很大^[1]。该菌于 1913 年由 Sydow 首次描述^[2], 以后报道了大约 176 种寄主植物上均有这种病原菌^[3-5]。鉴于此病在湖南为害严重, 已成为当地辣椒种植业发展的一大障碍, 我们于 1987 年开始对辣椒炭疽病菌的生物学特性进行了研究。其结果介绍如下。

材料和方法

(一) 病菌来源

从湖南省各地采集辣椒炭疽病果, 按常规方法在 PDA 培养基上培养, 分离出分生孢子为新月形的单孢菌株, 用柯赫氏法证明致病性后, 经 Sutton (1980) 的分类方法^[3]鉴定为辣椒炭疽病菌 [*Colletotrichum capsici* (Syd.) Butl & Bisby]。

(二) 各种因素对病原菌生长和产孢的影响

各种因素试验均在 25℃ 下培养 7 天后测菌落直径, 15 天后测产孢量。每个处理重复 3 次。

1. 培养基: 采用马铃薯葡萄糖琼脂 (PD-

A)^[6], 马铃薯胡萝卜琼脂 (PCA)^[6], 改良 Czapek-Dox 琼脂^[6], 玉米粉琼脂 (CMA)^[6], 20% 辣椒果煎汁琼脂 (CFA)^[7] 和 20% 辣椒叶煎汁琼脂 (CLA)^[7] 6 种培养基。菌丝接种用 4mm 移菌环取在 PDA 上培养 4—5 天的菌落边缘的菌丝块, 移入培养皿中央。

2. 温度: 将单孢菌株接种于 PDA 平板中央, 分别置 5—40℃ 下。

3. pH: 用 0.1N HCl 和 NaOH 调灭菌培养基 pH 至 2.5—11.5 的范围内。

4. 光照: 将单孢菌株接种于 PDA 平板上, 分别置于完全黑暗、连续荧光 (20W 日光灯, 距培养物 15cm)、12 小时黑光灯 (20W, 距培养物 15cm) 与 12 小时黑暗交替处理/日、12 小时日光灯 (20W, 距培养物 15cm) 与 12 小时黑暗交替处理/日、室内自然散光。

5. 碳、氮源的利用:

(1) 碳源: 用改良 Czapek-Dox 培养基作基础培养基, 分别用等量的葡萄糖、麦芽糖等 9 种碳源置换其中的蔗糖, 配制成不同碳源培养基。

(2) 氮源: 分别用等量的天冬酰胺, 硫酸铵等 9 种氮源置换改良 Czapek-Dox 培养基中的硝酸钠, 配制成不同氮源培养基。

(三) 各因素对孢子萌发的影响

各因素试验均在 25℃ 保湿 24 小时观察孢子萌发率,每处理重复 3 次。

1. 温度: 将单孢菌株产生的孢子置于 1% 蛋白胨液(低倍镜下每视野 80—100 个孢子)中,用悬滴法^[8]置于 10—40℃ 不同温度下进行孢子萌发试验。

2. pH: 用柠檬酸与磷酸氢二钠,三羟甲基氨基甲烷与盐酸,硼砂与氢氧化钠制成 pH 2.2—9.97 的三种缓冲液^[9]。将单孢菌株产生的孢子放入不同 pH 的缓冲液中。

3. 光照: 将 1% 蛋白胨液配制成孢子悬浮液(低倍镜下每视野 80—100 个孢子),分别置室内自然散光,黑光灯(20W, 距离 15cm),荧光灯(20W, 距离 15cm)和黑暗条件下。

4. 湿度: 用小容器空气湿度调节法^[9],设相对湿度为 75、82.9、88.5、92.9、96.1、100% 和悬滴共 7 个处理。

5. 不同营养液: 用 1% 蛋白胨,1% 葡萄糖,1% 蔗糖,改良 Czapek-Dox^[6] 和 20% 辣椒叶煎汁液^[7] 5 种营养液,分别配成孢子悬液(低倍镜下每视野 80—100 个孢子),以无菌水作对照。

6. 孢子致死温度测定: 分别取 1% 蛋白胨液制成孢子悬液(低倍镜下每视野 80—100 个孢子) 10ml,置于 40、45、50、53、55 和 60℃ 的恒温水浴中处理 10 分钟^[9]。

结果与讨论

(一) 各因素对病原菌生长和产孢的影响

1. 不同培养基: 病原菌在供试 6 种培养基

上均能生长和产孢,其中以 CFA、CLA、PCA、PDA 生长最佳,CMA、PDA、CFA 产孢最佳(表 1)。

2. 温度: 图 1 说明病原菌在 12—36℃ 均能生长,20—32℃ 均能产孢。生长和产孢的最适温度均为 26—28℃。

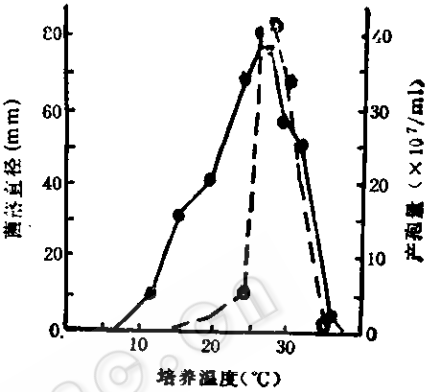


图 1 温度对病原菌生长和产孢的影响
●——● 菌落直径 ○——○ 产孢量

3. pH: 从图 2 可知,病原菌在 pH 3.0—11.5 均能生长和产孢,但最适 pH 为 4.5—6.5,说明该菌生长和产孢喜偏酸性。

4. 光照: 完全黑暗和自然散光处理有利于病原菌菌丝生长,其次为黑光灯和黑暗各处理 12 小时/日,荧光灯处理对病原菌的生长有抑制作用。黑光灯和黑暗各处理 12 小时/日则有利于病原菌的产孢(表 2)。

5. 碳、氮源: 从表 3 可见,菌丝生长以木糖、葡萄糖最好;果糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、甘露糖和半乳糖次之;以淀粉作碳源的最差。该菌

表 1 培养基对病原菌生长和产孢的影响

培养基	菌落直径 (mm)	差异显著性		产孢量/ml	差异显著性	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
PDA	69.7	b	B	86.2×10^7	ab	A
PCA	71.7	ab	AB	5.4×10^7	c	B
Czapek-Dox	57.0	d	D	11.6×10^7	c	B
CMA	61.3	c	C	90.8×10^7	a	A
CFA	74.3	a	A	65.2×10^7	b	A
CLA	68.0	b	B	12.4×10^7	c	B

注: 统计分析用 Duncan's 新复极差测验,其中小写和大写字母分别表示 0.05 和 0.01 的显著水平。

表 2 光照对病原菌生长和产孢的影响

光照处理	菌落直径 (mm)	差异显著性		产孢量/ml	差异显著性	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
自然散光	68.0	a	A	37.1 10	b	B
连续荧光	57.4	c	B	30.5 10	b	B
黑光灯、黑暗各 12 小时	62.4	b	AB	67.1 10	a	A
荧光、黑暗各 12 小时	58.6	c	B	38.8 10	b	B
完全黑暗	66.0	a	A	30.5 10	b	B

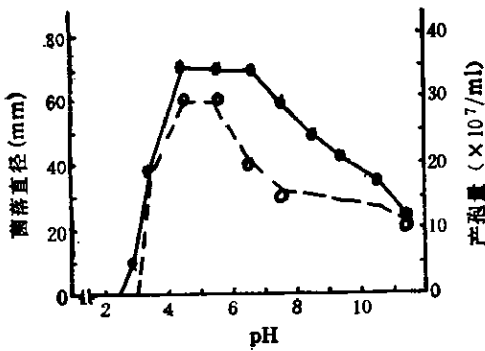


图 2 pH 值对病原菌生长和产孢的影响
●——● 菌落直径 ○——○ 产孢量

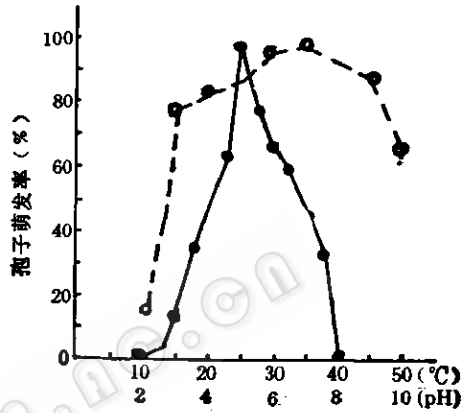


图 3 温度和 pH 对病原菌孢子萌发的影响
●——● 温度 ○——○ pH

产孢以木糖、葡萄糖和蔗糖作为碳源最好；甘露糖次之；以半乳糖、乳糖、麦芽糖、果糖和淀粉最差。菌丝生长以天冬酰胺作为氮源最好；苯丙氨酸、脲、组氨酸、胱氨酸次之；以天冬氨酸，赖氨酸和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 最差。以天冬酰胺作为氮源产孢量最多；其次为苯丙氨酸、脲、组氨酸、天冬氨酸；以赖氨酸、胱氨酸、 NaNO_3 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 作为氮源产孢量最少。

(二) 各因素对孢子萌发的影响

1. 温度和 pH: 从图 3 可知, 13—18℃ 孢

子均能萌发, 较适宜温度为 23—32℃, 最适温度为 25℃。在 pH2.2—10 之间孢子均能萌发, 最适 pH 为 6.0—8.0, 说明在中性条件下有利于孢子萌发。

2. 相对湿度: 从表 4 可见, 孢子在相对湿度 88.5—100% 和水滴中都能萌发, 以相对湿度 100% 时孢子萌发率最高。相对湿度低于 82.9% 时孢子不能萌发。镜检中发现水滴中萌发的孢

表 3 碳、氮源对病原菌生长和产孢的影响

碳源	菌落直径 (mm)	差异显著性 $\alpha = 0.05$	产孢量/ml	差异显著性 $\alpha = 0.05$	氮源	菌落直径 (mm)	差异显著性 $\alpha = 0.05$	产孢量/ml	差异显著性 $\alpha = 0.05$
火 糖	50.0	a	34.4×10^7	a	NaNO_3	53.1	bc	11.6×10^7	c
葡萄糖	50.0	a	41.1×10^7	a	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	27.3	d	3.0×10^7	c
果 糖	48.0	b	13.9×10^7	b	天冬酰胺	59.3	a	103.9×10^7	a
半乳糖	34.0	g	2.7×10^7	b	天冬氨酸	15.3	e	24.3×10^7	bc
甘露糖	36.0	f	27.8×10^7	ab	组 氨 酸	54.7	b	25.5×10^7	bc
蔗 糖	45.8	c	37.2×10^7	a	胱 氨 酸	52.0	bc	3.0×10^7	c
麦芽糖	42.0	d	17.2×10^7	b	苯丙氨酸	49.3	c	37.3×10^7	b
乳 糖	38.0	e	10.1×10^7	b	赖 氨 酸	25.3	d	15.1×10^7	c
淀 粉	26.0	h	10.2×10^7	b	脲	52.7	bc	29.1×10^7	bc

子多是在浮于水面或水滴边缘的,沉在水下的孢子很少萌发,说明病菌孢子的萌发需要一定的湿度和空气。

表4 温度对孢子萌发的影响

相对湿度 (%)	检查孢子数 (个)	萌发孢子数 (个)	萌发率 (%)
75.0	300	0	0.0
82.9	300	0	0.0
88.5	300	14	4.7
92.9	300	33	11.0
96.1	300	48	16.0
100	300	112	37.3
H ₂ O	300	71	23.7

3. 光照: 从表5可知, 孢子在黑光灯照射下萌发率最高, 其次是自然散光和荧光灯, 黑暗情况下孢子萌发率最低, 说明光照对孢子萌发有促进作用。

表5 光照对孢子萌发的影响

光照处理	检查孢子数 (个)	萌发孢子数 (个)	萌发率 (%)	差异显著性 $\alpha = 0.05$
黑光灯	300	215	71.7	a
自然散光	300	192	64.0	b
荧光灯	300	189	63.0	b
黑暗	300	91	30.3	c

4. 不同营养液: 从表6结果看出, 在供试的5种营养液中, 孢子萌发率以20%辣椒叶煎汁和1%蛋白胨液最高。另外, 发现1%蔗糖液的孢子萌发率比水的低, 这可能是由于蔗糖对病原菌孢子萌发有一定的抑制作用, 其机理

表6 不同营养液对孢子萌发的影响

营养液种类	检查孢子数 (个)	萌发孢子数 (个)	萌发率 (%)	差异显著性 $\alpha = 0.05$
20%辣椒叶煎汁	300	300	100	a
1%蛋白胨液	300	300	100	a
改良 Czapek-Dox	300	148	49.3	b
1%葡萄糖液	300	116	38.7	b
1%蔗糖液	300	15	5.0	d
H ₂ O (对照)	300	67	22.3	c

待研究。

5. 孢子致死温度的测定: 在40—50℃均能萌发, 萌发率为0.67—13.4%, 53℃以上孢子不能萌发。孢子的致死温度约为53℃10分钟。

通过室内研究, 我们明确了辣椒炭疽病菌 [*C. capsici* (Syd.) Buti & Bisby] 辣椒分离菌株的生物学特性, 为研究病害的流行规律, 制定病害防治措施提供了依据。

参考文献

- 王就光主编: 蔬菜病理学, 农业出版社, 北京, 158—160页, 1979。
- Sydow H: Ann. Mycol. 11:329—330, 1913.
- Sutton B C: CMI Kew, Surrey, England, p. 523—537, 1980.
- 戴芳澜著: 中国真菌总汇, 科学出版社, 北京, 924页, 1979。
- 黄齐望等: 植物保护学报, 3(3): 317, 1964。
- Johnston A & Booth C: Plant Pathologist's Pocket-book, 2nd ed, CMI, England, p. 393—398, 1983.
- 谢丙炎等: 湖南农学院学报, 18(增刊): 177—184, 1992。
- 方达编: 植物研究方法, 农业出版社, 北京, 第45—50, 70, 143页, 1979。