

诱导苹果轮纹病菌大量产生分生孢子器的方法

The methods for inducing a large number of pycnidia of *Botryosphaeria dothidea*

刘媛媛 牟洪香 庞久帅 李会平*

(河北农业大学林学院, 保定 071000)

Liu Yuanyuan Mu Hongxiang Pang Jiushuai Li Huiping*

(College of Forestry, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, Hebei Province, China)

近年来,苹果轮纹病成为一种危害我国苹果枝干和果实的最主要病害(林月莉等,2011)。其病原菌的生物学特性、室内药剂筛选等研究均需要较多的分生孢子器。目前,分生孢子器的常规诱导方法主要通过改变培养基、pH、温度、光照等培养条件、扫刷营养体和放置健康植物组织等获得(张定法等,2008),但上述方法获得的分生孢子器多数裹挟在菌丝体中,不易获取。本研究除利用常规诱导方法外,拟在病原菌菌落上放置发病植物组织和半透性玻璃纸诱导产生大量分生孢子器,以期后续有关分生孢子的试验研究提供基础材料。

1 材料与方法

1.1 材料

供试病原菌和植物:苹果轮纹病菌 *Botryosphaeria dothidea* 自河北省易县苹果园苹果树发病枝条上分离;于河北省易县苹果园采集健康和发病富士苹果树树皮,将其剪成 30 mm×5 mm 小块,121℃ 高压灭菌锅中连续灭菌 3 次,每次 25 min,备用。

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基:马铃薯浸粉 7 g、葡萄糖 20 g、琼脂粉 20 g、蒸馏水 1 L;马铃薯蔗糖琼脂(potato saccharose agar, PSA)培养基:马铃薯浸粉 7 g、蔗糖 20 g、琼脂粉 20 g、蒸馏水 1 L;水琼脂培养基(water agar, WA):琼脂粉 20 g、蒸馏水 1 L。苹果树皮煎汁(apple bark agar, ABA)培养基:健康苹果树皮 150 g、琼脂粉 20 g、蒸馏水 1 L。

1.2 方法

培养基对苹果轮纹病菌分生孢子器数量和大小影响:将直径为 8 mm 的苹果轮纹病菌菌饼分别接种到 4 种培养基上,25℃ 培养箱中黑暗培养,待菌丝长满培养皿时刮除菌丝,置于 12 L:12 D 培养箱

中培养,每个处理重复 4 次。15 d 后统计每皿分生孢子器数量,每种培养基上随机选择 30 个分生孢子器,统计其数量并记录大小。

光照对苹果轮纹病菌分生孢子器数量和大小影响:将直径 8 mm 的轮纹病菌菌饼接种到 PSA 培养基上,待菌丝长满培养皿时刮除菌丝放到 3 块已灭菌的苹果树发病树皮组织上,置于 25℃ 培养箱中,分别于 0 L:24 D、24 L:0 D、12 L:12 D 三个光照下培养,每个处理重复 4 次,统计分生孢子器数量并记录大小。

介质对苹果轮纹病菌分生孢子器数量和大小影响:将直径 8 mm 的轮纹病菌菌饼接种到 PSA 培养基上,待菌丝长满培养皿刮除菌丝后,进行 4 个处理:铺放玻璃纸,其上放 3 块健康树皮;铺放玻璃纸,其上放 3 块发病树皮;不铺玻璃纸,放 3 块健康树皮;不铺玻璃纸,放 3 块发病树皮;玻璃纸大小与菌饼相同,每个处理重复 4 次,置于 25℃、12 L:12 D 培养箱中培养,统计分生孢子器数量并记录大小。

1.3 数据分析

采用 DPS 7.05 软件进行数据统计分析,利用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 培养基对苹果轮纹病菌分生孢子器的影响

ABA 培养基上产生的分生孢子器数量显著高于其它培养基上产生的分生孢子器数量,WA 培养基上不产生分生孢子器,但不同培养基上分生孢子器的大小差异不显著(表 1)。

2.2 光照对苹果轮纹病菌分生孢子器的影响

12 L:12 D 光照下苹果轮纹病菌分生孢子器数量最多;无论何种光照条件下,植物组织较培养基更易诱导产生分生孢子器;不同光照条件下分生孢子器

的大小差异不显著(表2)。

表1 不同培养基对苹果轮纹病菌分生孢子器数量和大小影响

Table 1 Effects of different media on number and size of pycnidia of *Botryosphaeria dothidea*

培养基 Medium	分生孢子器大小 Size of pycnidia (mm)	分生孢子器数量 No. of pycnidia
PSA	0.978±0.034 a	404.000±18.330 b
PDA	0.955±0.018 a	310.667±5.487 c
ABA	0.957±0.062 a	518.667±15.025 a
WA	0.000±0.000 b	0.000±0.000 d

表中数据为平均数±标准差。同列不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

表2 不同光照条件对苹果轮纹病菌分生孢子器数量和大小影响

Table 2 Effects of different light conditions on number and size of pycnidia of *Botryosphaeria dothidea*

光照条件 Light condition	分生孢子器大小 Size of pycnidia (mm)	分生孢子器产生数量 No. of pycnidia	
		植物组织 Plant tissue	培养基 Medium
0 L:24 D	0.886±0.031 a	286.333±10.929 a	21.667±1.764 a
24 L:0 D	0.879±0.024 a	182.000±9.074 b	22.000±5.132 a
12 L:12 D	0.885±0.013 a	336.333±18.977 a	28.000±5.132 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.3 介质对苹果轮纹病菌分生孢子器的影响

铺有玻璃纸其上放发病树皮时,苹果轮纹病菌分生孢子器产生数量最多,均高于其它处理。不同

处理下分生孢子器的大小仅在不铺玻璃纸放发病树皮的处理与铺玻璃纸其上放健康树皮的处理之间差异显著(表3)。

表3 不同介质对苹果轮纹病菌分生孢子器数量和大小影响

Table 3 Effects of different media on number and size of pycnidia of *Botryosphaeria dothidea*

植物组织 Plant tissue	处理 Treatment	分生孢子器大小 Size of pycnidia (mm)	分生孢子器产生数量 No. of pycnidia	
			植物组织 Plant tissue	培养基 Medium
健康树皮 Healthy bark	铺玻璃纸 Laying cellophane paper	0.733±0.042 b	274.000±3.512 b	268.667±30.835 b
	不铺玻璃纸 Not laying cellophane paper	0.847±0.023 ab	295.000±16.442 b	21.667±6.692 c
发病树皮 Sick bark	铺玻璃纸 Laying cellophane paper	0.820±0.071 ab	383.333±9.280 a	432.333±17.477 a
	不铺玻璃纸 Not laying cellophane paper	0.966±0.009 a	346.667±11.260 a	19.000±5.508 c

表中数据为平均数±标准差。同列不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

3 讨论

张定法等(2008)研究发现 12 L:12 D 光照、ABA 培养基最有利于苹果轮纹病菌分生孢子器的产生,与本试验结果基本一致。另外,本研究还发现,在相同光照条件下,植物组织比培养基更易产生分生孢子器,这可能由于真菌更易在寄主组织上产孢子器。放置发病植物组织更易诱导分生孢子器的产生,这可能是由于发病植物组织营养匮乏,菌丝营养生长受到阻碍,刺激了繁殖生长。同时铺放玻璃纸的处理产生分生孢子器数量较多,可能是铺放玻璃纸后,皿内湿度相对升高,也可能是由于减少了菌丝的干扰,进而促进了分生孢子器的产生。本研究获得的分生孢子器较干净,更利于后续有关分生孢

子的试验研究。

参 考 文 献 (References)

- Lin YL, Huang LL, Suolang LM, Gao XN, Chen YC, Kang ZS. 2011. A rapid laboratory evaluation system for apple ring rot. *Journal of Plant Protection*, 38(1): 37-41 (in Chinese) [林月莉, 黄丽丽, 索朗拉姆, 高小宁, 陈银潮, 康振生. 2011. 苹果轮纹病室内快速评价体系的建立. *植物保护学报*, 38(1): 37-41]
- Zhang DF, Liu QL, Zhang JX, Zhu DL, Qin YX. 2008. Study on the conditions of pycnidium production of *Physalospora piricola*. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 17(6): 214-216 (in Chinese) [张定法, 刘起丽, 张建新, 朱冬丽, 秦伊晓. 2008. 苹果轮纹病分生孢子器产生条件研究. *西北农业学报*, 17(6): 214-216]

(责任编辑:张俊芳)