东北农业科学　2022，47（6）：85-88
Journal of Northeast Agricultural Sciences　DOI：10.16423/j.cnki.1003-8701.2022.06.017

高粱炭疽病菌生物学特性研究

曹　尚[1]，张　欢[1]，贺明阳[1]，汤振业[1]，邓　强[1]，高　婧[1]，台莲梅[1]*，
郭永霞[1,2]*
（1. 黑龙江八一农垦大学农学院，黑龙江 大庆 163319；2. 国家杂粮工程技术研究中心，黑龙江 大庆 163319）

摘　要：为了明确高粱炭疽病病菌（*Colletotrichum sublineola*）的生物学特性，采用生长速率法对其生长条件进行研究。结果表明，高粱叶煎汁培养基最适于病菌生长，其次为淀粉琼脂培养基、胡萝卜培养基；该病菌适宜生长的温度范围为20~35 ℃，最适温度为28 ℃，病菌的致死温度为54 ℃，10 min；病菌在pH 3~10均能生长，适宜pH为8~10，最适pH为9；适宜碳源为麦芽糖，适宜氮源为蛋白胨和酵母粉，铵态氮不利于菌丝生长；全黑暗条件更有利于菌丝生长。明确高粱炭疽病菌的生物学特性，以期为该病害的有效防治提供理论依据。

关键词：高粱炭疽病；高粱炭疽菌；生物学特性
中图分类号：S514　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：2096-5877（2022）06-0085-04

Study on the Biological Characteristics of Anthracnose Fungus of Sorghum Caused by *Colletotrichum sublineola*

CAO Shang[1], ZHANG Huan[1], HE Mingyang[1], TANG Zhenye[1], DENG Qiang[1], GAO Jing[1], TAI Lianmei[1]*,
GUO Yongxia[1,2]*
(1. *College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing* 163319; 2. *National Coarse Cereals Engineering Research Center, Daqing* 163319, China)

Abstract: In order to identify the biological characteristics of mycelium of anthracnose disease of sorghum, the growth rate method was used to study its growth conditions. The results showed that the agar medium of sorghum leaf decoction was most suitable for the mycelium growth of *Colletotrichum sublineola*, followed by starch agar medium and carrot agar medium. The suitable temperature was between 20 and 35 ℃, and the optimum temperature was 28 ℃,while the lethal temperature was 54 ℃, 10 min; The mycelium can grow in the range of pH 3-10, the appropriate pH-value of medium was 8-10 and the optimal pH was 9; The suitable carbon source for mycelium growth of *C. sublineola* was maltose, and the suitable nitrogen source were peptone and yeast powder. The biological characteristics of *C. sublineola* was studied in order to provide theoretical basis for effective control of the disease.

Key words: Sorghum anthracnose; *Colletotrichum sublineola*; Biological characteristics

高粱是世界上重要的禾谷类作物之一。在非洲，高粱被喻为“生命之谷”“救命谷”，在我国高粱具有“五谷之精、百谷之长”的美誉。高粱不仅是重要的粮食作物，还可用于生产酒精、饲料、提取淀粉、制备高粱色素、制糖、制醋、制板材、造纸、制日用品和编织品等，且具有良好的抗旱、抗涝、耐盐碱、耐高温、耐寒等多种抗逆性[1-3]。高粱炭疽病在国内外高粱产区均有发生，是制约产量提高的重要因素。炭疽病可发生于高粱各生育阶段，以为害叶片为主，也可侵染茎秆、穗枝梗和籽粒[4]。在肯尼亚西部高粱种植区，高粱炭疽病田间发病率可达44%~65%，且生产环境影响病害的流行[5]。病害严重指数与籽粒产量损失呈极显著正相关，显著降低高粱籽粒产量[6]。感病品种在病害严重发生年份会引起显著的籽粒产量损失，感病品种未经药剂喷施处理的产量损失高达55%~67%，其中籽粒重量损失为18%~36%[7]。种植抗病品种是防治高粱炭疽病最经济有效的途

收稿日期：2020-01-13
基金项目：黑龙江省大学生创新创业训练计划项目（201810223035）；黑龙江省农垦总局重点项目（HNK135-02-16）；黑龙江八一农垦大学“三纵三横”团队支持计划（TDJH201801）
作者简介：曹　尚（1997-），男，在读硕士，从事高粱病害研究。
通讯作者：台莲梅，女，博士，教授，E-mail: tailianmei@sina.com
郭永霞，女，博士，教授，E-mail: gyxia@163.com

径，通过小垄双行高粱高产制种新技术能够有效提高抗病品种制种产量[8]。张长伟等对高粱炭疽病的严重度、品种抗性分级标准进行报道，制定了以株为基本取样单位的炭疽病分级标准[9]。调整播期也可作为高粱炭疽病防治措施，早播的相对湿度与病害严重程度之间存在显著相关性，但早播高粱产量要高于晚播，只有与其他防治措施(抗病品种的使用等)相结合才有意义[10]。目前，化学药剂的使用依然是防治高粱炭疽病的主要措施，周永洪等[11]对长宁县高粱炭疽病防治药剂进行筛选，表明5%肟菌·戊唑醇水分散粒剂与300 g/L苯甲·丙环唑乳油可起到良好的防治效果。滕立平等[12-13]对病菌孢子萌发侵染、潜育显症、病斑扩展及杀菌剂筛选、分生孢子盘产孢、孢子飞散传播等若干问题进行报道，并对此病的重要流行环节进行初步定量分析。国外对该病病菌的报道多为抗病资源和生理小种鉴定，国内则多为品种抗性和田间药剂防治方面的研究，对该菌的生物学特性研究未见报道。能引起高粱炭疽病的病原菌有禾生炭疽菌[*Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils][12]和高粱炭疽菌(*Colletotrichum sublineola*)[14]。本试验采集病样，经组织分离、单孢纯化后，通过形态学和分子生物学鉴定，确定为高粱炭疽菌，针对此病菌进行生物学特性的研究，以期进一步为该病菌及病害的防治研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试病菌：高粱炭疽病菌(*Colletotrichum sublineola*)，实验室分离保存。供试培养基：马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基、马铃薯蔗糖琼脂(PSA)培养基、查氏培养基、胡萝卜培养基[15]、燕麦培养基[15]、玉米粉培养基[15]、葡萄糖蛋白胨琼脂培养基和淀粉琼脂培养基[16]、高粱叶煎汁培养基(200 g高粱叶和100 mL蒸馏水加入榨汁机中搅碎，加蒸馏水煮沸20 min，4层纱布过滤定容至1 000 mL，加入琼脂粉15 g，待琼脂粉完全融化后分装，高压灭菌20 min)，高粱粒煎汁培养基(高粱粒30 g，加蒸馏水煮沸1 h后过滤，加水定容至1 000 mL，加入琼脂粉15 g搅拌，待琼脂粉完全融化后分装，高压灭菌20 min)。

1.2 方法

1.2.1 不同培养基对病菌生长的影响

在培养5 d的病菌菌落边缘，用打孔器打取直径为6 mm的菌饼，无菌条件下移入直径90 mm各处理培养基中央，28 ℃恒温全黑暗培养，7 d后采用十字交叉法测量菌落直径，每处理4次重复。

1.2.2 不同温度对病菌生长的影响

采用直接测量法[17]，在培养5 d的病菌菌落边缘，用打孔器打取直径为6 mm的菌饼，无菌条件下移入直径90 mm的PDA平板中央，分别置于5、10、15、20、26、28、30、35、40 ℃等9个温度梯度下，恒温全黑暗培养7 d后用十字交叉法测量菌落直径，每处理4次重复。

1.2.3 不同pH对病菌生长的影响

用0.1 mol/L HCl和0.1 mol/L NaOH溶液，将灭菌后的PDA培养基的pH分别调节至3、4、5、6、7、8、9、10、11、12共10个梯度，将直径为6 mm的菌饼移至PDA平板中央，28 ℃全黑暗培养7 d后测量菌落直径，每处理4次重复。

1.2.4 不同光照对病菌生长的影响

将直径6 mm的菌饼接种到PDA平板中央，分别置于连续光照、连续黑暗、光/暗12 h/12 h，28 ℃恒温培养7 d后测量菌落直径，每处理4次重复。

1.2.5 不同碳源对病菌生长的影响

采用查氏培养基(KNO_3 1.00 g，KH_2PO_4 1.00 g，$MgSO_4·7H_2O$ 0.50 g，$FeSO_4$ 0.01 g，KCl 0.50 g，蔗糖30.00 g，琼脂粉20.00 g，蒸馏水1 000 mL)，以KNO_3为氮源，测定葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、可溶性淀粉、乳糖、D-果糖、D-甘露糖、木糖等8种碳源对菌丝生长的影响，28 ℃全黑暗培养7d后测量菌落直径，每处理4次重复。

1.2.6 不同氮源对病菌生长的影响

采用查氏培养基，以蔗糖为碳源，测定蛋白胨、酵母粉、硝酸钾、硝酸钠、L-丙氨酸、L-天冬酰胺、尿素、硫酸铵8种氮源对菌丝生长的影响，28 ℃全黑暗培养7 d后测量菌落直径，每处理4次重复。

1.2.7 病菌致死温度测定

在灭菌试管中加入2 mL灭菌水，分别放入45、50、51、52、53、54、55、60 ℃水浴锅内预热，取直径为6 mm的菌饼于试管中处理10 min，取出后立即用冷水冷却至室温，将处理后的菌饼接种到PDA平板中央，以未经热处理的菌饼为对照，28 ℃恒温箱中培养5 d后观察菌丝生长情况，每处理重复4次，以菌丝不生长的最高温度为致死温度。

1.3 数据分析

采用SPPS 19.0软件进行试验数据的统计分析，Duncan氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对病菌生长的影响

高粱炭疽病菌在不同培养基上均可以生长。

该菌在葡萄糖蛋白胨琼脂培养基上生长最差,菌落直径最小。在高粱叶煎汁培养基和淀粉琼脂培养基上生长最快、菌落直径最大,菌落直径分别为68.75、68.00 mm。这两种培养基与其他培养基处理菌落直径差异极显著(表1)。

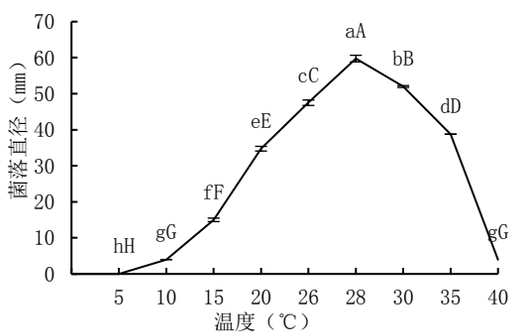
表1　不同培养基对病菌菌丝生长的影响

处理	菌落直径(mm)
高粱叶煎汁培养基	68.75±1.26aA
淀粉琼脂培养基	68.00±1.15aA
胡萝卜培养基	64.75±0.50bB
燕麦培养基	63.75±2.63bcBC
玉米粉培养基	62.00±1.41cdBCD
高粱粒煎汁培养基	61.00±1.41dCD
PDA培养基	60.25±2.63dD
PSA培养	52.75±0.96eE
葡萄糖蛋白胨琼脂培养基	43.00±0.82fF

注:表中数据为"平均数±标准差",大写字母不同表示差异极显著(P<0.01),小写字母不同表示差异显著(P<0.05),下同

2.2　不同温度对病菌生长的影响

炭疽病菌在5~40 ℃均能生长,0 ℃菌丝不生长,适宜生长温度范围为20~35 ℃,最适宜温度28 ℃。28 ℃菌落平均直径为59.75 mm,与其他处理差异极显著,其次是30 ℃有利于病菌的生长,菌落平均直径为52.00 mm,与其他处理差异极显著。5~28 ℃病原菌生长速率随温度的升高而加快,28~40 ℃病原菌生长速率随温度升高而减慢。温度低于5 ℃菌丝不生长;高于40 ℃菌丝生长速度缓慢(图1)。



注:大写字母不同表示差异极显著(P<0.01),小写字母不同表示差异显著(P<0.05),下同

图1　不同温度对病菌菌丝生长的影响

2.3　不同pH对病菌生长的影响

高粱炭疽病菌对酸碱度的适应范围较广,适宜在中性、碱性环境下生长。高粱炭疽病菌在pH值3~10均能生长,且随pH的升高,病原菌的生长速率呈先升高后下降趋势。pH为9菌丝生长最好,与其他处理差异极显著,菌落平均直径为64.00 mm,其次是pH为8和pH为10,与其他处理差异极显著,菌落平均直径分别为59.50、60.25 mm。pH为11时菌丝不生长,表明高粱炭疽病菌不适宜在极碱性环境下生长(图2)。

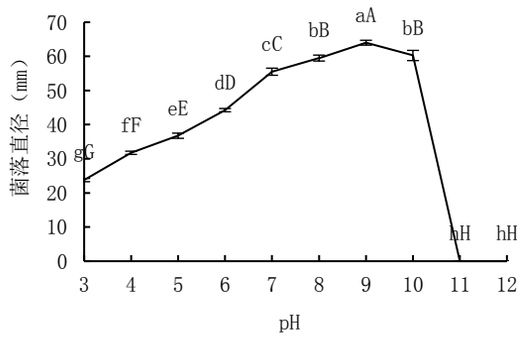


图2　不同pH对病菌菌丝生长的影响

2.4　不同光照对病菌菌丝生长的影响

高粱炭疽病菌在3种不同光照环境均可生长,且生长良好。病原菌在全黑暗条件下生长最好,菌落直径为62.50 mm,与其他处理差异显著(表2)。全光照处理菌落生长最慢,12 h光暗交替与全光照处理差异不显著。由此可见,持续光照不利于病菌的菌丝生长。

表2　不同光照对病菌菌丝生长的影响

处理	菌落直径(mm)
全黑暗	62.50±1.00 aA
光/暗 12h/12h	58.25±1.26 bAB
全光照	56.50±3.00 bB

2.5　不同碳源对病菌菌丝生长的影响

高粱炭疽病菌在供试8种碳源培养基上营养体均可生长。由表3可知,麦芽糖最适宜高粱炭疽病菌生长,菌落平均直径为74.25 mm,其次是葡萄糖和D-甘露糖,病菌菌落平均直径分别为69.00、56.75 mm,这3种碳源与其他碳源相比差异极显著。

表3　不同碳源对病菌菌丝生长的影响

处理	菌落直径(mm)
麦芽糖	74.25±1.71aA
葡萄糖	69.00±1.15bB
D-甘露糖	56.75±3.30cC
蔗糖	53.00±0.00dD
D-果糖	50.75±2.75dD
乳糖	50.75±2.06dD
可溶性淀粉	44.25±0.96eE
木糖	42.00±0.82eE

2.6 不同氮源对病菌菌丝生长的影响

表4结果表明，供试8种氮源均可使高粱炭疽病菌正常生长。蛋白胨、酵母粉2种有机氮可显著促进菌丝生长，其中蛋白胨效果最好，酵母粉次之，菌落直径分别为61.25、60.25 mm，与其他处理差异极显著。硫酸铵、尿素最不适宜菌丝生长。氮源对该菌生长的影响为：蛋白胨>硝态氮>氨基酸>尿素>铵态氮。

表4 不同氮源对病菌菌丝生长的影响

处理	菌落直径(mm)
蛋白胨	61.25±0.96aA
酵母粉	60.25±3.09aA
硝酸钾	48.25±0.50bB
硝酸钠	46.25±2.87bB
L-丙氨酸	40.50±1.73cC
L-天冬酰胺	40.25±3.50cC
尿素	35.00±5.42dCD
硫酸铵	33.00±0.82dD

2.7 病菌菌丝致死温度

高粱炭疽病菌菌饼53 ℃以下恒温水浴处理10 min后，在28 ℃恒温培养箱中培养5 d，菌丝仍能正常生长。54 ℃及以上温度恒温水浴处理10 min后再培养，菌丝完全没有生长。判定高粱炭疽病菌菌丝的致死温度为54 ℃(表5)。

表5 病菌菌丝致死温度

水浴处理温度(℃)	菌落直径(mm)				
	1	2	3	4	平均值
45	42	41	46	45	43.5±2.4
50	42	43	42	41	42.0±0.8
51	42	40	39	40	40.3±1.3
52	43	38	38	40	39.8±2.4
53	34	36	34	35	34.8±0.9
54	0	0	0	0	0.0±0.0
55	0	0	0	0	0.0±0.0
60	0	0	0	0	0.0±0.0

3 结论与讨论

本研究表明，高粱叶煎汁培养基最适于高粱炭疽菌生长，其次为淀粉琼脂培养基、胡萝卜培养基；高粱炭疽菌在pH 3~10均能生长，最适pH为9；较适宜生长的温度为20~35 ℃，最适宜菌丝生长的温度为28 ℃；适宜碳源为麦芽糖，适宜氮源为有机氮蛋白胨和酵母粉，铵态氮不利于菌丝生长；全黑暗条件更有利于菌丝生长，致死温度为54 ℃，10 min。本研究与张宇等[14]报道的菌落培养性状结果一致。研究表明高温有利于病菌的生长，因此，高温天气可能有利于病害发生，要加强田间防治。光照不足有利于菌丝生长，如田间高粱种植密度过大易造成透光不良，为病菌生长提供有利条件。研究结果为该病菌的深入研究及病害防治提供一定理论依据。

参考文献：

[1] 刘晓辉，高士杰，杨 明，等. 浅谈甜高粱的利用价值[J]. 种子，2006，25(9)：98-99.

[2] 刘方明，高玉山，孙云云，等. 高粱抗旱性鉴定研究进展[J]. 东北农业科学，2016，41(3)：5-7.

[3] 王 栋，孙 峰，陈吉宝. 甜高粱抗逆性研究进展[J]. 河南农业，2017(14)：26-28.

[4] 徐秀德，刘志恒. 高粱病虫害原色图鉴[M]. 北京：中国农业科学技术出版社，2012：112-118.

[5] Ngugi H K, King S B, Abayo G O, et al. Prevalence, incidence, and severity of sorghum diseases in western kenya[J]. Plant Disease, 2002, 86(1): 65-70.

[6] Ali M E K, Warren H L, Latin R X, et al. Relationship between anthracnose leaf blight and losses in grain yield of sorghum [J]. Plant Disease, 1987, 71(9): 803-806.

[7] Thomas M D, Sissoko I, Sacco M. Development of leaf anthracnose and its effect on yield and grain weight of sorghum in West Africa[J]. Plant Disease, 1996, 80(2): 151-153.

[8] 赵 德，杨 微，梁 军，等. 小垄双行高粱高产制种技术[J]. 东北农业科学，2019，44(3)：9-10.

[9] 张长伟，潘学贤，汪远宏，等. 高粱炭疽病的严重度和品种抗性分级标准[J]. 云南农业大学学报，1998，13(1)：37-42.

[10] Ekeleme F, Kamara A Y, Omoigui L O, et al. Effect of sowing date on striga infestation and yield of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cultivars in the sudan savanna of northeast Nigeria [J]. African Journal of Agricultural Research, 2001, 6(14): 3240-3246.

[11] 周永洪，黄明利. 长宁县高粱炭疽病防治药剂的筛选[J]. 四川农业与农机，2015(2)：40-41.

[12] 滕立平，于 林，高 洁. 高粱炭疽病重要流行环节研究Ⅰ. 孢子萌发侵染、潜育显症和病斑扩展[J]. 江苏农业科学，2011，39(3)：128-131.

[13] 滕立平，于 林，高 洁. 高粱炭疽病重要流行环节的初步研究Ⅱ. 分生孢子盘产孢、孢子飞散传播[J]. 河南农业科学，2012，41(7)：80-83.

[14] 张 宇，吴 晶，粟 寒，等. 对进境高粱种子中高粱炭疽病菌疏纹刺盘孢的检疫[J]. 菌物学报，2017，36(8)：1083-1088.

[15] 孙广宇，宗兆峰. 植物病理学研究技术[M]. 北京：中国农业出版社，2002：203.

[16] 刘 凡. 白术根腐病病原鉴定、生物学特性和防治研究[D]. 成都：四川农业大学，2012.

[17] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京：中国农业出版社，1998：140-141.

(责任编辑：王 昱)