草菇褐腐病病原细菌种的鉴定及防病研究

刘坚真 罗吟珍 (植保系)

摘要 前文已报道草菇(Volvariella volvacea)褐腐病病原细菌为黄单孢菌属(Xanthomonus sp.)。根据此菌的生理生化特性,本研究进一步认为与草莓黄单孢菌(Xanthomonus fragariae)关系密切。据此病菌的生理特性和防治试验结果,作者认为通过培养料进行巴氏消毒是控制病害发生的简易、有效方法,产量增加60.4%。

关键词 草菇褐腐;草莓黄单孢菌;巴氏消毒

草菇营养丰富,质嫩味美是一种高蛋白,低脂肪的保健食品,深受国内外市场欢迎。但由于病害尤其褐腐病发生严重,直接影响其质量和产量。1989年作者对此病病原细菌进行了分类鉴定研究,并定为黄单孢属^[3]。本文是对该病原细菌种的归属,致死温度、发病规律和防治措施进一步的研究结果报告。

1 材料和方法

1.1 病原细菌

是作者从感染草菇褐腐病的草菇子实体分离纯化、回接、再分离纯化所得;白叶枯菌 (Xanthomonas campestris PV. oryzae) 由本系植病教研室细菌组提供。

1.2 病原菌的生理生化试验

- 1.2.1 采用常规试验法^[1,2] 将此病原菌和白叶枯菌在35℃下进行培养并进行水解七叶灵、营养葡萄糖洋菜培养、明胶液化、牛奶解朊、从蛋白质产生硫化氢、尿酶生成、耐盐性和糖产酸等试验。
- 1.2.2 我死溫度測定 用常规法^[1]将上述两菌的悬浮液分别置于36℃,40℃,50℃,51℃,52℃,53℃,54℃和55℃下恒温水溶10 min,然后将各处理的悬液分别接种于营养琼脂,放在30℃下培养2天,观察生长情况,并以不接种作对照,试验重复2次。
- 1.2.3 此病原细菌和草菇菌丝体初始生长的 pH 值的测定 采用 PDA 综合培养基灭菌后用5%NaOH 和5%HCI 分别调配培养液 pH 值为1~14,分别接入病原细菌或草菇菌种,于30℃下培养,并用不接种的培养基作对照。

1.3 防治试验

- 1.3.1 草菇不同生育期感病性试验 用针刺法,分别在不同生育期的10个草菇子实体上接入10°个/ml 的本病原细菌悬浮液并用无菌水接种作对照。
- 1.3.2 普通栽培自然发病试验 用1%石灰水浸废棉和稻草6 b,再堆制半天后上床,直接

1992-12-08收益

接入草菇菌种,观察各潮菇发病情况。

1.3.3 巴氏消毒法 如上法将培养料浸湿后上床,用煤炭火加温并密封菇房升温至70℃恒温2h,随后让其自然降温至35℃时接入草菇菌种。对照处理培养料浸湿后上床,直接接入草菇菌种作对比栽培。

2 结果

2.1 生理生化试验

水稻白叶枯病菌(对照)和本病原细菌相同之处在于: (1) 在营养葡萄糖培养基上出现 黄色粘稠状物; (2) 在35℃下生长良好; (3) 都水解七叶灵、液化明胶和牛奶解朊; (4) 都 不分泌尿酶; (5) 都耐0.5%~1%浓度的氯化钠溶液,此浓度为较明显产生黄色素; (6) 都 能使葡萄糖和甘露糖产酸。它们的不同之处在于: 第一, 前者能而后者不能使蛋白质产生硫 化氢; 第二, 前者能而后者不能使阿拉伯糖、纤维二糖、乳糖产酸。(见表1)

表 1 草菇褐腐病病原细菌和水稻白叶枯菌以及前人已报道的草莓黄单孢菌 和野油菜黄单孢菌特征[6]列表比较 1

	草菇黄单孢菌	草莓黄单孢菌	野油菜黄单孢菌	水稻白叶枯菌
	Xanthomonas sp.	X. fragariae	X. campestris	X. campestris
	+	+	+	pv. oryzoe +
水解七叶灵	+	+	+	+
营养 葡萄 糖洋菜粘生长物	+	+	+	+
明胶液化	+	+	+	+
牛奶解朊	+	-	+	+
从蛋白胨产 H,S	_	_	+	+
尿酶	~		-	_
耐 NaCl 的百分比浓渡(%)	0.5~1 (黄色素明显)	0.5~1	2.0~0.5	0.5~1 (黄色素明显
产酸阿拉伯糖	- CACA-7127	—	+	+
葡萄糖	+	+	+	+
甘露糖	+	+	+	+
甘露醇	+		+	+
纤维二糖		_	+	+
乳糖	_	_	+	+

[·]试验重复3次

2.2 致死温度

此病菌悬液在36~52℃水溶液恒温处理后接种于培养基上在30℃下培养2天都能见生长,但在53℃,54℃和55℃处理的接种后均不生长,水稻白叶枯菌在36~51℃恒温水浴后接种的均能生长;而在52~55℃的则不能生长,可见草菇褐腐病原菌的耐热力比白叶枯菌稍

强。本试验白叶枯菌致死温度较文献报道低1度,这可能与试验所用试管壁厚薄和温度计差 导所致。

2.3 本病原细菌和草菇菌初始生长的 pH 值测定试验

本病原细菌和草菇菌接种在不同的 pH 值的液体培养基里24 h 后 pH5, 6, 7和8的液体培养基里开始表现混浊,5天后底部有沉淀物,在其余的 pH 的培养液则不生长。草菇菌丝体在 pH6和7的液体培养基中48 h 后开始生长,7天后生成白木耳状菌团,在其余 pH 值的液体培养液内未见有明显的菌丝生长,这表明草菇褐腐病原细菌的初始生长 pH 值比草菇菌初始生长的 pH 值广。

2.4 防治试验

- 2.4.1 不同生育期感病性 草菇子实体在初钮扣期和小钮扣期接种的20个子实体2天后全部变褐萎缩,在大钮扣期接种的10个子实体虽在1~2天内还能生长,但在3~4天后逐渐变形,在菌幕和菌体变褐萎缩,里面充满菌脓;而用无菌水接种的子实体除在初钮扣期出现变褐外(这是由于子实体幼嫩受接种机械损伤所致),其余在小钮扣期和大钮扣期接种的子实体则正常生长。这表明在草菇生长过程中整个钮扣期可感染此病原菌。
- 2.4.2 普通栽培法草菇的发病情况 第1潮("潮"是指较为明显的一段子实体收获期) 菇 体未见明显发病,第2潮菇的发病率为10%~20%,第3潮菇的发病率高达40%~50%(见表2)。

888	874	896	V ₇	
0. 85	0. 90	0. 85	1. 15	
0	. 0	0	0	
0.40	0. 30	0. 30	0. 45	
25	15	20	20	
5	3	3 .	2	
20	20	15	10	
0.20	0. 60	0.10	0. 10	
12	11	10	10	
6	5	4	4	
50	45	40	40	
	0. 85 0 0. 40 25 5 20 0. 20 12 6	0. 85 0. 90 0 0 0. 40 0. 30 25 15 5 3 20 20 0. 20 0. 60 12 11 6 5	0. 85 0. 90 0. 85 0 0 0 0. 40 0. 30 0. 30 25 15 20 5 3 3 20 20 15 0. 20 0. 60 0. 10 12 11 10 6 5 4	0. 85 0. 90 0. 85 1. 15 0 0 0 0 0. 40 0. 30 0. 30 0. 45 25 15 20 20 5 3 3 2 20 20 15 10 0. 20 0. 60 0. 10 0. 10 12 11 10 10 6 5 4 4

表2 各潮菇发病情况:

- * 1 每品种用培养料 10 kg
- 2. 试验日期1990年9月20日 第1潮10月2日~4日; 第2潮10月9日~11日;第3潮10月15~16日
- 3 病菇如在小钮扣期出现症状是不能收获的。
- 2.4.3 培养料巴氏消毒的效果 经巴氏消毒处理的草菇未见发病,出菇早2~3天,出菇整齐,基本上在3天内收完,生长期比未经巴氏消毒的对照处理缩短2~3天,而产量增加

60.4%,转化率提高46%。而未经巴氏消毒处理的第1潮菇已明显发病,出菇迟,生长期延长,生长不整齐,产量明显低,第2潮菇普遍发病变黄,不可能再有收获(见表3)。

賽3	培养	料巴	氏消	毒效果:
----	----	----	----	------

 处 理	发病率 (%)	产量 (kg)	转化率 (%)	生长周期 (天)
巴氏消毒	0	11. 27	30. 82	14
对 照	15	6. 96	21. 09	17

* 1. 每处理用培养料16. 5kg; 2. 试验品种888; 3. 试验日期1992年9月20日; 4. 表中数字是整个生长期数,其中对照病菇63个,总菇数420个

3 讨论

- 3.1 根据本试验结果与贝捷氏的《鉴定细菌学手册》第八版中黄单孢菌分类有关文献[1]比较 (表1) 草菇褐腐病菌与草莓叶斑病黄单孢菌在主要生理生化特征上基本相同,只有个别试验(如牛奶解朊)有异,因此两病原细菌的种是基本相同的,将草菇褐腐病菌初步归为草菇黄单孢菌 (X. fragariae) 是合理的。
- 3.2 据初始生长 pH 值测定, 草菇初始生长的 pH 值为6~7, 而草菇褐腐病原细菌初始生长 pH 值范围较宽为 pH5~8, 因此企图在培养料堆制过程中加入石灰以增加培养料的碱性来控制病害的发生, 这种措施是不可取的。但在实践上培养料在制作初期所调配的 pH 值虽然往往较高, 可是由于在堆制过程中, 经过多种微生物对复杂有机材料的发酵起作用, 使培养料的 pH 值有很大的缓冲性, 所以不但不影响草菇菌丝的生长, 而且还间接抑制其它有害杂菌和线虫的繁殖。
- 3.3 陆荣廷[4]刘波[5]等曾报道用四环素、青霉素和链霉素等来防治蘑菇黄单孢病害,而草菇褐腐病是否也用抗菌素来防治本文未作试验,但从减少环境污染,生产无公害食品方面来考虑,我们认为还是通过栽培方法来控制该病为好。本试验结果表明此病原细菌的致死温度为53℃。为此在栽培的对培养料进行70℃的巴氏消毒是杜绝初侵染来源的重要途径之一;通过巴氏消毒还能对培养料中其它杂菌和线虫起到一定的杀害作用[7],而且经过巴氏消毒的培养料腐熟度较高,更有利于草菇菌丝生长发育,使菇子实体生长速度加快,生长周期缩短,产量明显提高。目前不少菇农已采用此法,且已获得显著的经济效益。

致谢 本文承蒙范怀忠教授、郑冠标教授、曾完铭付教授提出宝贵意见;吴家强、辛建忠、吴东明、陆文 波、黄子洪等同学协助做部分试验工作,谨此致谢。

参考文献

- 1 方中达. 植病研究法. 北京: 农业出版社, 1979. 160~272
- 2 中国科学院微生物研究所,一般细菌常用鉴定法,北京,科学出版社,1987,11~153
- 3 刘坚真等, 华南草菇褐腐病及其病原细菌初步鉴定, 华南农业大学学报, 1989, 10 (1): 17~22
- 4 刘波等. 蘑菇病害.中国食用菌, 1986, 21 (5): 13~14
- 5 陆荣廷等. 蘑菇黄单孢菌病初探.食用菌, 1984. 26 (6): 26~27
- 6 Holt, J.G. The shorter Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th. 1977: 28~83
- 7 J R Bloom, Roslym Levine mushroom news. 1985 (10): 12~13

IDENTIFICATION OF PATHOGENIC BACTERIA OF STRAW MUSHROOM BROWN ROT DISEASE AND ITS CONTROL

Liu Jianzhen Luo Yinzhen (Department of plant protection)

Abstract A serious demage was caused by the brown rot disease of straw mushroom (Volumiella volucea). Based on its cultural physiological and biochemical characteristics the pathogenic bacterium was identified as a pathogenic variety of Xauthomonas fragariae.

The Pasteurization method was found to be the convenient and effective method for controlling the disease. After treatment of Pasteurization the yield of straw mushroom increased about 60 percent.

Key words Straw mushroom (Volvariella volvacea); Brown rot; Bacteria (Xanthomonas Fragariae); Pasteurization