

黑龙江省玉米茎基腐病病原菌 及其接种方法的研究

张瑞英 张 坪

(黑龙江省农科院玉米研究中心)

摘要 1988~1991年,从全省各玉米主产区的11个市县,采集了192株玉米茎基腐病典型病株进行病原菌分离培养和致病性测定。同时进行了三种接种方法的比较试验。结果表明:黑龙江省玉米茎基腐病的主要致病菌,是禾生腐霉菌(*Pythium graminicola* Subram.)和禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum* Schw.)。这两种病菌混合接菌时表现致病力增强。

接菌方法的关键是接种定量和调查的分级标准及技术规范化。两年试验结果,“牙签法”和“注射法”效果基本一致。其主要表现为玉米茎髓部感病变色,不反映出玉米地上部植株青枯症状。而土壤接菌法则表现出与田间自然发病一致的青枯症状。

玉米茎基腐病乃世界性玉米病害,自七十年代以来我国春、夏玉米产区均有不同程度发生为害,据各地调查,一般年份发病率10~20%,严重地块可达50%以上,导致产量严重下降,是我国目前玉米生产上亟待解决的又一主要病害。1988~1991年我们从全省各玉米主产区,采集了大量的病株标样进行病原菌的分离、鉴定和致病性测定,同时又在自交系抗性鉴定中对几种不同的人工接种方法进行了试验,现将研究结果报告如下:

材料与方 法

(一)病原菌分离和鉴定

在玉米茎基腐病发病期,从各地采集典型病株标样,取茎基1~2节及粗根部分组

织,用酒精火焰表面消毒,去皮取髓部组织,在PDA平面培养基上作常规分离、纯化和病原菌形态鉴定。

1. 镰刀菌鉴定:按常规作组织分离后移入PDA上,在26~28℃下恒温培养4天,测量各单孢菌株生长速度(菌落直径),并根据孢子形状、大小、培养性状等进行菌种鉴定。

2. 腐霉菌鉴定:将幼龄菌丝移植于盛有Petri氏营养液的凹玻片中,在25℃下保湿培养10~12小时,镜检游动孢子囊,泄管囊的形态及游动孢子释放情况。再继续培养3~4天后,镜检雄器和藏卵器形态着生状态及卵孢子的大小。

(二)致病性测定

分别在玉米苗期和成株期,选取分离频率高的代表菌株接种。供试品系为玉米自交

注:本文承蒙沈阳农大植保系白金铠教授、河北农大植保系黄悟芳教授亲自审阅和删改;钟占贵、苏俊、李春霞、龚世琛、陈喜昌、宋锡章等同志参加部分工作,在此一并致谢。

系 73-1。

1. 苗期测定:播种前把用玉米粒培养基扩繁的供试菌种,混入用灭菌土配制成 5% 的菌土中放入花盆内。混合菌试验,将各类菌种分别按 1/2 或 1/3 比例配制成菌土装盆,然后将玉米种子用 0.1% 升汞液作表面消毒后播入花盆,每盆播种 10 粒,每处理播 4 盆。到玉米出苗后长至 3~5 叶期,倒盆调查发病株率及病级(病级按 5 级标准记载),计算病情指数。

2. 成株期测定:分别在大花盆里和田间进行。①大花盆测定,采用高温灭菌后,每种供试菌株接种 6 盆,每盆一株玉米;②田间测定,用自然土壤,采取单行区,行长 4.5 米,行株距 0.7×0.3 米,重复 3 次,随机排列,采用土壤接菌法,每个供试菌种接种 10 株每株接种新鲜菌剂 150 克。接种后每隔 3 天作一次发病调查,直至接种 4 周后为止,计算病情指数。对所有试验处理发病的植株均抽样做病原菌重分离和鉴定。

(三)接种方法比较试验

供试材料:选用高代玉米自交系;供试菌种有,禾生腐霉菌十禾谷镰刀菌等量混合后,按三种接种方法试验。

1. 土壤接种法:玉米乳熟初期(抽丝后一周),顺垅两侧扒开玉米根际土壤,距根 10 厘米,深 10 厘米处,将制备好的菌剂埋入土中。

2. 注射法:在玉米乳熟初期,用特制注射器吸入两毫升菌液(孢子浓度 20 万/毫升)注于地上第一节间,再用灭菌塑料布包扎好。

3. 牙签法:玉米乳熟初期,在植株的地上第一节间刺一小孔,再将制备好的带菌牙签插入小孔里,然后用灭菌塑料布包扎好。

结果与分析

(一)病原菌分离和鉴定及致病性测定

1. 病原菌分离和鉴定

1988~1991 年从全省 11 个市县的玉米主产区,采集 192 株典型病株进行根和茎的

分离和病菌形态鉴定结果:(1)从 96 个病根标样中分离到禾生腐霉菌(*Pythium graminicola* Subram.)的标样有 33 株,占 34.4%;禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum* Schw.)有 37 株,占 38.5%;串珠镰刀菌(*F. moniliforme* shield.)有 16 株,占 16.7%;木贼镰刀菌(*F. equiseti* Corda Sacc.)有 6 株,占 6.3%,其它(长蠕孢菌、尖孢镰刀菌等)共计 4 株,占 4.1%。(2)从 192 个茎基部标样中分离到禾生腐霉菌为 72 株,占 37.5%;禾谷镰刀菌为 59 株,占 30.7%;串珠镰刀菌为 28 株,占 14.6%;木贼镰刀菌为 12 株,占 6.3%;其它(长蠕孢菌、尖孢镰刀菌等)标样为 21 株,占 10.9%。上述试验结果表明:在采集的病株标样中,以禾生腐霉菌和禾谷镰刀菌出现频率最高,为优势菌种,其次为串珠镰刀菌。

2. 致病性测定

选取分离频率高的禾生腐霉菌,禾谷镰刀菌和串珠镰刀菌等,分别进行苗期和成株期的致病性测定。(1)苗期接种:于 1988 年冬和 1989 年春,在温室花盆中进行接种试验,四次重复。试验结果表明:禾生腐霉菌和禾谷镰刀菌的致病力最强,其次为串珠镰刀菌。将禾生腐霉菌、禾谷镰刀菌和串珠镰刀菌以不同比例等量混合后接种,均有发病加重趋势。经差异显著性测定,禾生腐霉菌、禾谷镰刀菌的致病性较串珠镰刀菌的致病性差异极显著(见表 1)。(2)成株期接种:1989 年、1990 年和 1991 年分别在田间和 1990 年在花盆,进行成株期接菌试验。试验均设三次重复,试验结果表明:成株期的致病性与苗期的致病性趋势完全一致,即禾生腐霉菌及禾谷镰刀菌致病性最强,其次为串珠镰刀菌。禾生腐霉菌十禾谷镰刀菌混合接种的致病力最强(见表 2)。将上述接种后的病株采样重分离,均得到原接种菌株。

(二)不同接种方法试验结果

1. 注射接种与牙签接种法

1989 年和 1990 年在田间对 8 个不同品系以禾生腐霉菌十禾谷镰刀菌混合菌种分别

表 1

自交系 73-1 苗期盆栽致病性测定结果

接种菌种	接种株数	出苗率(%)	发病株数	病株率(%)	病情指数
禾生腐霉菌+禾谷镰刀菌 +串珠镰刀菌	40	82.5	40	100	75.0 A
禾生腐霉菌	40	82.5	40	100	68.8 A
禾生腐霉菌+串珠镰刀菌	40	85.0	40	100	66.3 A
禾生腐霉菌+禾谷镰刀菌	40	80.0	40	100	63.8 A
禾谷镰刀菌	40	85.0	40	100	58.8 AB
串珠镰刀菌	40	100.0	28	70	27.5 C
对 照	10	100.0	0	0	0

注:A、B、C表示差异显著性及数量等级。

表 2

自交系 73-1 成株期致病性测定结果

菌株名	接菌方式	接菌时间 (年、月、日)	接种株数	病株率(%)		病情指数	
				各次病株率	平 均	各次病情指数	平 均
禾生腐霉菌	田 间	1989、8、4	15	100		90.0	
		1990、8、7	32	100	100	83.0	91.0
		1991、8、10	20	100		100.0	
	盆 栽	1990、7、6	24	100	100	81.6	81.6
	平 均				100		86.3
禾谷镰刀菌	田 间	1989、8、4	15	100		78.5	
		1990、8、7	32	100	100	80.0	80.6
		1991、8、10	20	100		83.2	
	盆 栽	1990、7、6	24	100	100	74.3	74.3
	平 均				100		77.5
串珠镰刀菌	田 间*	1990、8、7	82	74.0	74.0	34.2	34.2
	盆 栽	1990、7、6	24	100	100	41.0	41.0
	平 均				87.0		37.6
禾生腐霉菌+ 禾谷镰刀菌	田 间	1989、8、4	15	100		85.7	
		1990、8、7	32	100	100	90.0	88.9
		1990、8、10	20	100		90.9	
	盆 栽	1990、7、6	24	100	100	89.4	89.4
	平 均				100		89.2
对 照	田 间	1989、8、4	15	0		0	
		1990、8、7	32	0	0	0	0
		1991、8、10	20	0		0	
	盆 栽	1990、7、6	24	0	0	0	0
	平 均				0		0

* 为 5 个感病系 73-1、维尔 44、F72、抗甸 11、龙抗 45A 的平均值,接种株数分别为 32、12、12、14、12 株。

用注射法和牙签法进行接种试验,未设重复,以自然发病为对照,试验结果表明:注射法和

牙签法接种的发病率和病情指数基本一致； 发病平均病情指数分别高出 43.9 和 42.1 平均病情指数分别为 46.3 和 44.4,比自然 (见表 3)。

表 3 8 个品系用注射法和牙签法接种试验结果

接 种 品 系	注射接种			牙签接种			自然发病	
	接种株数	病株率(%)	病情指数	接种株数	病株率(%)	病情指数	病株率(%)	病情指数
长 3	10	100	65.0	10	100	60.0	16.7	4.4
松 1	12	100	40.0	12	100	35.0	0	0
罗吉	11	100	25.0	11	100	25.0	0	0
龙抗 43	10	100	25.0	10	100	25.0	12.5	3.1
龙抗 45A	10	100	80.0	10	100	95.0	33.3	8.3
龙抗 55A	11	100	25.0	11	100	25.0	0	0
龙抗 64D	10	100	50.0	10	100	40.0	0	0
龙抗 65A	10	100	60.0	10	100	50.0	11.1	2.8
平 均		100	46.3		100	44.4	9.2	2.3

表 4 8 个品系用牙签法和土壤接种法试验结果

接 种 品 系	牙签接种			土壤接种			自然发病	
	接种株数	病株率(%)	病情指数	接种株数	病株率(%)	病情指数	病株率(%)	病情指数
龙抗 40A	10	100	25.0	10	0	0	0	0
龙抗 78	11	100	60.0	11	100	60.0	22.2	6.0
龙抗 70C	10	100	30.0	10	80.0	50.0	28.6	7.1
龙抗 69	10	100	30.0	10	100	30.0	11.1	2.8
龙抗 65	12	100	60.0	12	100	55.0	11.1	2.8
龙抗 64D	10	100	50.0	10	100	40.0	0	0
龙抗 62	10	100	65.0	10	100	40.0	25.0	6.3
龙抗 59	10	100	60.0	10	100	40.0	12.5	2.8
平 均		100	47.5		85.0	39.4	13.8	3.5

表 5 7 个品系用注射法和土壤接种法试验结果

接 种 品 系	注射接种			土壤接种			自然发病	
	接种株数	病株率(%)	病情指数	接种株数	病株率(%)	病情指数	病株率(%)	病情指数
龙抗 64D	10	100	50.0	10	100	40.0	0	0
龙抗 65	10	100	60.0	10	100	55.0	11.1	2.8
龙抗 68C	11	100	45.0	11	100	25.0	0	0
73-1	10	100	90.0	10	100	83.0	41.7	34.6
Mo17	10	100	25.0	10	0	0	0	0
抗匈 11	11	100	66.7	11	100	66.7	25.0	12.5
龙抗 41A	10	80.0	20.0	10	60.0	15.0	0	0
平 均		97.1	51.0		80.0	40.7	11.1	7.1

2. 三种接种方法比较试验

1989年和1990年在田间分别对两组自交系(8个和7个),用禾谷镰刀菌和禾生腐霉菌进行了三种接种方法比较试验,以土壤自然发病为对照,未设重复。通过牙签和注射法接种分别与土壤接种法比较的结果表明:两次土壤接种的平均病情指数为40.0,平均发病率为82.5%,略低于牙签接种和注射接种法,但仍比自然(对照)发病的平均病情指数高34.7%。

讨 论

目前国内对玉米茎基腐病的致病菌种类颇有争议,归纳起来大体有三种主要论点:

(一)镰刀菌是主要致病菌。(二)腐霉菌为主要致病菌。(三)由腐霉菌和禾谷镰刀菌复合侵染致病。本试验结果认为:黑龙江省玉米茎基腐病的主要致病菌是禾生腐霉菌(*Pythium graminicola* Subram.)及禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum* Schw.)两种。经过对自交系73-1三年的致病性测定结果表明:这两种病菌分离频率都较高,是黑龙江省的优势菌种,致病力也强;两种菌混合接种表现致病力增强,但由于病菌的复合侵染作用机制和相互关系较复杂,因此对混合菌接种致病力增强的原因,尚待进一步研究。

接菌方法的关键在于接种的定量和调查的分级标准,以及技术规范问题。从两年的不同接种方法对比试验结果不难看出,牙签法和注射法接种效果基本一致。但注射法接种速度快,菌量易控制,发病较均匀,相对优于牙签法,如备有适宜的注射用具可用此法。牙签法和注射法接种主要表现为玉米茎髓部侵染变色,但不易出现玉米地上部植株的青枯症状。而土壤接种法则能直接表现出植株青枯症状,接菌后发病率的高低与田间自然发病趋势是一致的。为此,我们认为土壤接种法,虽用菌量较大,菌剂制备较费工费时,接菌时还需灌水挖土、封根等作业,但它能较准确的鉴定出品种或品系在田间条件下表现出对茎基腐病的实际抗感性能。

参 考 文 献

- [1] 徐作进等,山东玉米茎基腐病病原菌的初步研究,植物病理学报,1985,15(2)
- [2] 吴全安等,北京和浙江地区玉米青枯病病原菌的分离鉴定,中国农业科学,1989,22(5)
- [3] 张超冲等,玉米青枯病病菌的侵染及发病规律研究,广西农学院学报,1983,1
- [4] 白金艳等,东北玉米茎基腐病病原的研究,植物保护学报,1988,15(2)
- [5] 魏景超,真菌鉴定手册,上海科技出版社,1979
- [6] Yu Yong nian: The genus *pythium* in China, 1989, 50~52, International Academic publishers.

启 事

编辑部最近先后收到各地读者来信,由于错过订刊时间,在当地邮局未能订到《黑龙江农业科学》。为了使读者能阅读到完整的资料,本刊编辑部愿竭诚为您服务。每期订价0.75元,邮资0.20元,全年共计5.70元(含邮资)。有订阅者可直接将款邮到本刊编辑部,款到邮刊。

《黑龙江农业科学》编辑部