

水稻稻瘟病菌分离技术研究^{*}

郭 梅 黄春艳 梅丽艳 周兴利

(黑龙江省农科院植保所)

稻瘟病菌是稻梨孢属真菌,其分离培养技术与其他较易分离的真菌,如麦根腐长蠕孢菌、水稻恶苗病菌、小麦赤霉病菌等有所不同。由于稻瘟病菌在常规的 PDA 培养基长势较弱,极易被杂菌掩盖,而田间采集的稻瘟病标样上往往都有其他真菌和细菌,几年来经过对不同地区的稻瘟病标样的分离培养,逐渐掌握了稻瘟病菌的分离培养方法。

1 材料与方法

1.1 材料 标样来自松花江地区的宾县、尚志、哈尔滨市道外区万宝镇、省农科院栽培所、五常水稻所、五常第一良种场、第三良种场、五常市小山子镇、方正县农科所、延寿镇;绥化地区的太平川镇、庆安县;牡丹江地区的牡丹江市温春、穆棱市、密山市、虎林县、宁安县、海林县、东宁县、林口县;佳木斯地区的佳木斯水稻所、汤原县、桦川县、桦南县等地,共采标样 160 余份。

1.2 方法 ①按常规的病原菌分离方法,先将标样在 0.1% 升汞中表面消毒,再用无菌水冲洗数遍,将标样移至 PDA 平板上保湿培养。这种方法成功率相当低,几乎全部被细菌或其他真菌污染;②为了抑制细菌的生长,在 PDA 平板培养中加入抗菌素(如链霉素),这种方法有效抑制了细菌的污染,但对其它真菌无效。并且加入抗菌素必须在培养基温度较低的条件下进行,比较麻烦,且分离效果仍不理想;③标样不用升汞表面消毒,而只用无菌水冲洗数遍,再结合方法②中加入抗菌素的方法,分离成功率有一定提高,但仍然无法克服其他腐生真菌的污染;④将只用无菌水冲洗后的标样,用凡士林贴粘在无菌培养皿皿盖上,在 28℃ 下保湿培养,待标样表面上长出深灰色霉层,在显微镜下观察,是大量的稻瘟病菌孢子,轻轻敲击皿盖,孢子就会落在下面的 PDA 平板上,显微镜下可观察到平板上的孢子,再将其在 28℃ 温箱中培养 3~4 天,平板上会出现很多灰白色圆形菌落,及时将这样的小菌落转接到斜面培养基上,就可得到纯化的菌株,这样基本上达到单孢分离的效果。这种方法也有不足之处,即标样在皿盖上有时粘不住,尤其是稻节比较重,常常在敲落孢子的同时,掉在平板上,造成污染,而且粘贴标样的过程也比较麻烦;⑤将用无菌水冲洗后的标样置于经高压灭菌的保湿培养皿中,在 28℃ 条件下培养 3 天,标样表面就会产生深灰色霉层(即孢子),用无菌的镊子夹住标样,在 PDA 平板上轻轻敲几下,孢子就会落在平板上(注意标样上不要有水滴,否则会落在平板上,造成污染)。

2 结果与讨论

对很多真菌来说,产孢过程往往都属于营养贫瘠型,稻瘟病菌产孢也具有这样的特点,本试验中的方法 4 和方法 5 正是利用稻瘟病菌产孢的这一特点,首先使其在贫瘠的营养条件下产孢,再尽可能创造单孢分离的条件,使稻瘟病菌分离成功率得到显著提高。

目前分离稻瘟病菌采用方法 5,简便易行、成功率高。

* 收稿日期 1997-10-26