

不同来源向日葵菌核病分离物致病性分化研究

刘春来,刘兴龙,王 爽,夏吉星,杨 帆,孟庆林,张匀华

(黑龙江省农业科学院 植物保护研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为进一步揭示核盘菌种群内是否存在着致病性分化现象,采用离体叶片菌饼接种法,以向日葵品种龙食葵 3 号为供试寄主,对采集于内蒙古和黑龙江省不同地区的 20 个向日葵核盘菌分离物进行了致病性测定。结果表明:接种 72 h 后,除 4 个分离物不能致病外,其余 16 个分离物均能致病,但各分离物所致病斑直径差异很大,为 1.00~80.00 mm。说明不同来源核盘菌菌株间致病性存在着显著的差异,且这种致病性分化与菌株来源没有明显的相关性。

关键词:核盘菌;致病性;向日葵;离体叶片接种法

中图分类号:S435.655

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)04-0037-04

核盘菌 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary 是最具有非寄主专一性的植物病原菌之一,寄主范围非常广,包括有至少 408 种作物和许多杂草种类^[1]。在向日葵产区内蒙古和黑龙江省,当环境条件适宜时,核盘菌可引起经济作物向日葵严重的产量损失。黑龙江省 1985~1987 年地块平均发病率在 30%~60%,严重的达 90%以上,甚至绝产^[2]。随着向日葵菌核病的发病面积和发病程度的增加,已经极大地限制了向日葵产业的稳步发展。核盘菌为弱寄生菌,对于该菌种群内是否存在致病性分化,国内外学者已做过一

些研究工作,但研究结果存在不同的意见。少数学者如 Lumsden^[3] 等认为核盘菌为非寄主专一性的植物病原真菌,在其种群内不存在致病性分化,而李国庆^[4]、李建厂^[5]、李沛利^[6]、聂峰杰^[7] 等学者认为核盘菌种群内不同菌株间存在着明显的致病性分化现象,且核盘菌致病性分化与菌株地理来源没有明显关系。该研究通过测定采自内蒙古和黑龙江省不同地区的向日葵核病菌株致病性,旨在为向日葵菌核病的有效防控提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 20 个向日葵核盘菌(*S. sclerotiorum*)分离物分别收集自内蒙古和黑龙江省不同地区(见表 1)。包括内蒙古 2 个、齐齐哈尔地区 10 个、佳木斯地区 2 个、牡丹江地区 4 个、大庆地区 1 个、哈尔滨地区 1 个。所用菌株均于 2009 年收集分离自发病的向日葵植株,所用菌株都是单菌株分离物,并经分离纯化后于 4℃ 冰箱中保存备用。

收稿日期:2013-01-04

基金项目:国家向日葵现代产业技术体系岗位专项资助项目(CARS-16)

第一作者简介:刘春来(1975-),男,山东省平度市人,硕士,副研究员,从事植物病理研究。E-mail: liuchunlai @ 163. com。

通讯作者:张匀华(1957-),男,辽宁省建平县人,硕士,研究员,现为国家向日葵产业技术体系菌核病防控岗位专家,从事植物保护研究。

Effect of Wood Vinegar on Eggplant in Greenhouse

ZHOU Chao, ZHOU Chuan-yu, XU Ting, WU Lin-lin, TAN Ke-fei, XU Jian, CHAI Li-li

(Qiqihar Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar, Heilongjiang 161006)

Abstract: In order to use reasonably wood vinegar acid foliar fertilizer to increase yield of eggplant, the effects of different concentrations of wood vinegar acid foliar fertilizer on yield and quality of two kinds of eggplant (Longzaqie No. 5 and Chunqie No. 1) were studied by randomized block method in greenhouse. The results showed that 300 times of dilution was the most effective among all concentrations of wood vinegar acid foliar fertilizer, it could increased the yield, the content of soluble protein, vitamin C, total soluble sugar, flavone and rutine significantly, and declined the content of nitrate in the two kinds of eggplant.

Key words: eggplant; greenhouse; wood vinegar acid foliar fertilizer; yield and quality

(该文作者还有杨慧莹,单位同第一作者)

表 1 核盘菌菌株采集地点及年份
Table 1 The location and year of the collected *S. sclerotiorum* strains

菌株名称 Name of <i>S. sclerotiorum</i> strains	地点 Location	采集的年份 Year
NMZH	内蒙古扎兰屯	2009
NMAG	内蒙古阿荣旗	2009
FJ	佳木斯富锦	2009
BLD	佳木斯勃利	2009
WCH	牡丹江宁安	2009
HL	牡丹江海林	2009
MM	牡丹江穆棱	2009
MLM	牡丹江穆棱	2009
F4	齐齐哈尔富裕	2009
YY	齐齐哈尔依安依龙镇	2009
NTY ₂₄	齐齐哈尔讷河同义乡	2009
NTY ₂₅	齐齐哈尔讷河同义乡	2009
NTY ₂₆	齐齐哈尔讷河同义乡	2009
NTN ₁₃	齐齐哈尔讷河通南乡	2009
GB ₁₆	齐齐哈尔甘南宝山乡	2009
GB ₁₇	齐齐哈尔甘南宝山乡	2009
GGD ₄	齐齐哈尔甘南甘南镇	2009
GC ₂₂	齐齐哈尔甘南长山乡	2009
LD ₁	大庆林甸	2009
HHK	哈尔滨	2009

注:NTY₂₄、NTY₂₅和NTY₂₆与GB₁₆和GB₁₇分别是采集于同一地块的菌核病分离物。

Note:NTY₂₄,NTY₂₅ and NTY₂₆,GB₁₆ and GB₁₇ were *Sclerotinia sclerotiorum* isolate collectd from the same place,respectively.

1.1.2 供试寄主 黑龙江省常规种植品种龙食葵 3 号,用于离体叶片菌饼接种法^[8],采用塑料盆种植,塑料盆直径为 20 cm,盆深 30 cm,每盆保苗 5 株,放于温室内按常规管理。

1.2 方法

1.2.1 离体叶片接种方法 待盆栽向日葵苗长至 3~4 片真叶大小时,用剪刀剪取相同叶位的叶片(龙食葵 3 号),在实验室中将叶片用自来水洗干净,并晾干。取长方形瓷盘(长 39 cm×宽 28 cm×

高 3 cm),用 75%酒精棉表面消毒,并在上面铺 2 层灭过菌的吸水滤纸,用无菌水使滤纸完全湿润。然后将叶片均匀的摆放于瓷盘内,叶片背面朝上。用接菌针挑取单个已培养好的菌丝琼脂块(直径 4 mm),接种到叶片主叶脉一侧,每个处理菌株 5 个叶片,每个叶片接种 1 个菌丝块,以没有接菌的琼脂块作为接种对照。接种完毕后,用保鲜膜封住瓷盘,将其置于试验台上 20~25℃自然光下培养。定时观察发病情况并拍照,接种 72 h 后用十字交叉法量取病斑直径大小^[8]。

1.2.2 数据处理 对参试菌株所致叶片的病斑直径利用 Microsoft Excel 软件进行分组统计,采用 SPSS 软件中的 Duncan 新复极差法($P=0.05$)分析致病性分化与菌株来源的关系。

2 结果与分析

2.1 供试菌株致病性分化的分析

从接种后的结果看,有的菌株产生病斑的速度非常快,24 h 后在接种部位即可观察到明显的病斑;而有 4 个菌株接种 72 h 后仍未有病斑产生。以 80.00 mm 作为整个叶片的平均直径计算,从接种 72 h 后测得的病斑直径来看:病斑直径的差异很大,有些菌株已导致整个叶片腐烂,即病斑直径达到了最大 80.00 mm,最小的仅 1.00 mm(对照的接种部位均未发病),两者间相差了几十倍。以 10.00 mm 为组距,对 20 个供试菌株在供试寄主龙食葵 3 号品种上所致病斑直径进行分组统计(见表 2)。可知,病斑直径在 0~10.00 mm 组的分离物最多,比例达到了 45%;除了 60.01~70.00 mm 组比例为 0 外,其它各组分分离物比例均在 5%~15%。可见,当以病斑直径的大小作为衡量菌株致病力的标准时,反映出致病性分化的现象在核盘菌种群内是明显存在的。

表 2 供试菌株在叶片上产生的病斑直径分析

Table 2 The analysis on mean diameter of the spot inoculated the leaves *in vitro*

病斑直径/mm Mean diameter of spot	菌株数/个 Number of strains	比例/% Proportion	病斑直径/mm Mean diameter of spot	菌株数/个 Number of strains	比例/% Proportion
0~10.00	9	45	40.01~50.00	3	15
10.01~20.00	1	5	50.01~60.00	2	10
20.01~30.00	2	10	60.01~70.00	0	0
30.01~40.00	1	5	70.01~80.00	2	10

2.2 核盘菌致病性分化与菌株来源的关系

2.2.1 来源于齐齐哈尔不同地区县菌株的致病性 对来源于黑龙江省齐齐哈尔地区 4 个县 10 个菌株的病斑直径进行差异显著性分析(以接种 72 h 后测得的病斑直径为标准),结果表明,除 2 个菌株未形成病斑外(NTY₂4 和 GC₂),其余菌株在供试寄主龙食葵 3 号的叶片上都产生了病斑。菌株 GB₁6 产生的病斑直径最大,为 80.0 mm;菌

株 NTY₂6 产生的病斑直径最小,为 4.50 mm;各个县间菌株所致病斑直径的大小差异很大(见表 3),且即使来源于同一个县内的菌株其致病性差异也很大,如来自甘南县的 4 个菌株致病性就明显的不同,类似的情况也存在于讷河县。由此可初步表明,菌株的致病性分化现象与菌株地理来源无一致性。

表 3 齐齐哈尔地区向日葵核盘菌菌株的致病力分析
Table 3 Pathogenicity analysis of *S. sclerotiorum* from Qiqihar area

菌株名称 Name of <i>S. sclerotiorum</i> strains	地理来源 Geographic distribution	病斑直径 d/mm Mean diameter of spot
F4	齐齐哈尔富裕	5.20 d
YY	齐齐哈尔依安依龙镇	46.30 b
NTY ₂ 4	齐齐哈尔讷河同义乡	0 d
NTY ₂ 5	齐齐哈尔讷河同义乡	48.10 b
NTY ₂ 6	齐齐哈尔讷河同义乡	4.50 d
NTN ₁ 3	齐齐哈尔讷河通南乡	51.60 b
GB ₁ 6	齐齐哈尔甘南宝山乡	80.00 a
GB ₁ 7	齐齐哈尔甘南宝山乡	33.30 bc
GGD4	齐齐哈尔甘南甘南镇	22.50 cd
GC ₂ 2	齐齐哈尔甘南长山乡	0 d

注:不同小写字母表示 0.05 差异显著性水平。下同。
Note: The different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level. The same below.

2.2.2 来源于其它不同地区菌株的致病性 对 其余 6 地区 9 个县的 10 个菌株的致病性也进行了统计分析(以接种 72 h 后测得的病斑直径为标准)(见表 4)。结果表明,除 2 个菌株(NMZH 和 HL 菌株)无致病性外,其余菌株都使叶片产生了大小不同的病斑直径(0~80.00 mm)。但这种来

源于不同地区的菌株所致病斑直径的差异没有规律性的变化,即使在同一地区同样来源于佳木斯的 2 个菌株的致病性差异也较大,同样的情况也存在于牡丹江地区。表明,菌株的地理来源与致病性之间不存在着相关性。

表 4 5 个不同地区向日葵核盘菌菌株的致病力分析
Table 4 Pathogenicity analysis of *S. sclerotiorum* from five different regions

菌株名称 Name of <i>S. sclerotiorum</i> strains	地理来源 Geographic distribution	病斑直径/mm Mean diameter of spot
NMZH	内蒙古扎兰屯	0 d
NMAG	内蒙古阿荣旗	50.00 b
FJ	佳木斯富锦	80.00 a
BLD	佳木斯勃利	1.20 d
WCH	牡丹江宁安	1.30 d
HL	牡丹江海林	0 d
MM	牡丹江穆棱	29.20 c
MLM	牡丹江穆棱	19.40 cd
LD1	大庆林甸	5.20 d
HHK	哈尔滨呼兰	60.00 b

3 结论与讨论

活体植株和离体器官测定 2 种方法常被用于测定核盘菌的致病性分化^[9], 该研究采用离体叶片菌饼接种法, 在接种后 24 h 即开始显症, 培养 72 h 不同菌株所致病斑的大小表现出明显的差异, 根据病斑直径就可区分出菌株的致病性。由于试验采用接种的菌量、接种部位都均匀一致、培养温度及湿度等培养条件都相同, 减少了试验的误差。因此, 受外界环境的影响较小, 所采用的方法是一种较为可靠的致病性测定方法, 适用于大量分离物的致病性测定。

该研究对采集于内蒙古和黑龙江省不同地区的 20 个向日葵核盘菌分离物进行了致病性测定, 从供试菌株在叶片上产生的病斑直径分组统计结果大致可以看出: 致病性较弱的菌株占测定菌株的比例较大(病斑长度在 0~10.00 mm), 达到了总菌株数的 45%, 中等强度致病性的菌株占 20%(病斑长度在 10.01~40.00 mm), 强致病性的菌株占 35%(病斑长度在 40.01~80.00 mm), 即使是采集于同一地块的菌株如 NTY₂4、NTY₂5、NTY₂6 和 GB₁6、GB₁7, 其致病性也存在着明显的不同。这就很好地揭示了不同核盘菌菌株的致病性存在明显分化的现象, 同时这种致病性分化的现象与菌株的地理来源无相关性。

研究中发现供试菌株中存在一部分弱致病力

菌株和 4 株无致病力的菌株, 已有的研究表明核盘菌种内致病力有衰退或弱毒性现象, 对于这些弱毒菌株形成是由于病毒侵染所致还是有其它原因, 还有待于进一步探讨。

参考文献:

- [1] Boland G J, Hall R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1994, 16(2): 93-108.
- [2] 华致甫, 刘学敏, 李玉, 等. 吉林省向日葵核病综合防治措施研究及大面积应用效果 [J]. 植物保护学报, 1994, 21(2): 127-134.
- [3] Lumsden R D. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Phytopathol, 1979, 69: 390-396.
- [4] 李国庆, 王道本, 黄鸿章. 来源于佳木斯茄子上的核盘菌菌株多样性的研究 [J]. 植物病理学报, 1996, 26(3): 237-242.
- [5] 李建厂, 李永红, 陈文杰, 等. 向日葵核盘菌菌株致病性研究及其温度效应 [J]. 西北农业学报, 2003, 12(1): 114-117.
- [6] 李沛利, 叶华智. 核盘菌致病性分化研究 [J]. 植物保护, 2006, 32(5): 29-31.
- [7] 聂峰杰, 左叶信, 黄丽丽, 等. 陕西省核盘菌不同分离株对油菜的致病性 [J]. 植物保护学报, 2010, 37(6): 500-504.
- [8] Li G Q, Huang H C, Laroche A, et al. Occurrence and characterization of hypovirulence in the tan sclerotial isolate S10 of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Mycological Research, 2003, 107: 1350-1360.
- [9] 刘勇, 刘红雨, 曾正宜. 油菜菌核病菌系致病性研究 [J]. 中国油料作物学报, 2001, 23(3): 54-56.

Study on Differentiation in Pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* of Sunflowers from Different Regions

LIU Chun-lai, LIU Xing-long, WANG Shuang, XIA Ji-xing, YANG Fan, MENG Qin-lin, ZHANG Yun-hua
(Plant Protection Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: In order to indicate the pathogenicity existed or not in the strains of *Sclerotinia sclerotiorum* twenty strains of *S. sclerotiorum* isolated from sunflowers in different regions of Inner Mongolia and Heilongjiang province were tested for their pathogenicity with Longshikui No. 3 as host using the inoculation method of placing the mycelial plugs on the leaves *in vitro*. The results showed that sixteen strains of *S. sclerotiorum* could infect the leaves of sunflowers after inoculated 72 hours except for the other four strains, but the lesion sizes ranged from 1.00 to 80.00 mm in different strains. It indicated that the differentiation of pathogenicity among the strains of *S. sclerotiorum* in the test was existed, and the differentiation of pathogenicity might not be related to geographic distribution.

Key words: *Sclerotinia sclerotiorum*; pathogenicity; sunflowers; inoculation on leaves *in vitro*

(该文作者还有刘宇, 单位同第一作者)