

寒地水稻立枯病病原真菌的分离鉴定^{*}

郑雯¹, 刘立新², 辛惠普¹

(1. 黑龙江八一农垦大学植科院植保系, 密山 158308; 2. 黑龙江省绥化生物制剂厂, 绥化 152054)

摘要: 1999~2001 年从黑龙江省不同地区 832 株水稻立枯病病苗样品中分离获得 1 318 个分离物, 经鉴定归属 7 个属 12 个种, 其中 *Fusarium oxysporum* 占 19.7%, *Fusarium solani* 占 25.9%, *Fusarium graminearum* 占 17.1%, *Fusarium moniliforme* 占 8.2%, *Fusarium semitectum* 占 9.4%, *Rhizoctonia solani* 占 16.5%。对分离频率较高的种类进行回接验证, 均能引起水稻立枯病。

关键词: 水稻; 立枯病; 病原菌

中图分类号: S 435.111.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2002)02-0019-02

Preliminary Identification of Causal Organisms of Rice Wilt

ZHENG Wen¹, LIU Li-xin², XIN Hui-pu¹

(1. Plant Protecting Department, Heilongjiang August First Land Reclamation University, Mishan 158308;
2. Heilongjiang Suihua Bio-medicine Company, Suihua 152054, China)

Abstract: 1318 isolates were obtained from samples of rice wilt collected from deferent regions in Heilongjiang province. They were divided into 7 genera and 10 species. Reinoculated with the predominant fungus can also cause some disease.

Key words: rice; wilt; pathogen

水稻立枯病是寒地水稻苗床常见的重要病害, 严重发生时会引起秧苗成片枯死甚至全床毁苗。在气候异常, 管理不当的条件下易导致该病发生, 造成危害。该病主要发生在水稻育苗期, 因病原菌种类、危害时期和环境条件不同, 症状也不同。近年来, 由于黑龙江省大力发展水稻, 该病的发生呈加重趋势。目前, 国内尚未有该病的系统报道, 只是简单提及一些病原菌名称, 如镰孢菌属 (*Fusarium*)、立枯丝核菌属 (*Rhizoctonia*)、腐霉属 (*Pythium*)、曲霉属 (*Aspergillus*) 和长蠕孢属 (*Helminthosporium*) 等, 可引起水稻立枯病^[1~4]。

1 材料与方法

1.1 病原菌分离

水稻立枯病病苗样品共 6 批 832 株, 其中虎林市 850 农场水稻苗床 203 株, 密山市八一农大水稻

苗床 351 株, 佳木斯市水稻所水稻苗床 47 株, 宝清县 853 农场水稻苗床 26 株, 绥化市铁力农场水稻苗床 49 株, 齐齐哈尔市查哈阳农场水稻苗床 156 株。分离方法采用 PSA 培养基进行常规组织分离(每株样品取 1 块病组织)。分离获得菌落, 按不同类型编号、转管、保存于冰箱 4℃条件下待鉴定^[5]。

1.2 病原菌形态鉴定

纯化后的菌株定植于 PSA 培养基上观察培养性状, 镜检形态特征, 将分离菌初步鉴定到属或种^[6~7](并送沈阳农业大学白金铠先生鉴定)。统计各菌出现频率, 并对出现频率高的优势菌用 Bilai's 培养基培养, 观察产孢细胞^[8], 在显微镜下观察各种类型的孢子形态^[2]。

1.3 优势菌的致病力测定(回接试验)

1.3.1 优势种对水稻胚根接种试验 选出现频率较高的菌种进行扩培, 水稻品种为垦 94-202(八一

* 收稿日期: 2001-12-24

承蒙沈阳农业大学白金铠先生帮助鉴定病原菌, 在此深表谢意。

作者简介: 郑雯(1968-), 女, 黑龙江省人, 讲师, 主要从事植物病理专业教学及科研工作。

农大水稻研究中心提供)。种子精选后用 3 000 倍液的 25%施保克乳油(德国艾格福公司),在 25℃下,浸种 3 d,催芽 4 d,摆入铺有湿润滤纸的灭菌培养皿中,每皿 10 粒,每处理 3 次重复,促其生根,待胚根长 0.5~1.0 cm 时将扩培的菌丝块贴于胚根的基部接种,并用脱脂棉蘸取无菌水保湿,置 20℃恒温箱中培养 3 d,待发病后,调查发病率,并将发病株逐株进行再分离。

1.3.2 优势种盆栽接种试验 选出现频率较高的菌种进行扩培,试验用土经 160℃干热灭菌 2 h,按菌:土 3%(18 g:600 g)拌匀,装入花盆。同时设不接菌对照,水稻品种为垦 94-202(八一农大水稻研究中心提供)。种子精选后用 3 000 倍液的 25%施保克(德国艾格福公司),在 25℃下,浸种 3 d,催芽 1 d,播入菌土中,每盆 30 粒,每处理 2 盆,浇水并覆膜,移入人工气候箱,人工控制温、湿度,保证其发病条件。30 d 后调查各处理的发病情况,并将发病株逐株进行再分离。

表 1 水稻立枯病病原菌分离结果

取样地点	分离株数	菌落总数	镰孢菌属						立枯丝核菌	长蠕孢属	链格孢属	青霉属	曲霉属	弯孢霉属
			禾谷	茄腐	尖孢	串珠	半裸	木贼						
虎林	203	329	102	132	74	1	7	—	11	—	2	—	—	—
密山	351	478	74	95	102	64	48	2	81	10	—	—	1	1
佳木斯	47	86	25	8	6	7	10	1	17	3	3	1	2	3
宝清	26	42	2	9	18	7	—	—	2	2	1	—	1	—
绥化	49	94	7	21	25	8	2	—	30	—	—	1	—	—
齐齐哈尔	156	289	16	76	35	21	57	6	77	1	—	—	—	—
合计	832	1318	226	341	260	108	124	9	218	16	6	2	4	4

2.2 优势种回接结果

2.2.1 优势种对水稻胚根接种试验结果 结果表明:回接优势菌 6 种,均可引起水稻胚根发病,以禾谷镰孢菌发病率最高,回收菌株率为 93.3%。其次为立枯丝核菌,回收菌株率为 90.0%。其余 4 种菌也可引起发病,且回收病菌与回接前病菌基本一致。不接菌对照 96.7%的植株未发病(见表 2)。

表 2 优势种对水稻胚根接种试验结果

菌种	回接株数	发病株数	发病率(%)	再分离株数	再分离率(%)
禾谷镰孢菌	30	28	93.3	28	93.3
立枯丝核菌	30	27	90.0	27	90.0
尖孢镰孢菌	30	24	80.0	24	80.0
茄腐镰孢菌	30	24	80.0	24	80.0
半裸镰孢菌	30	17	56.7	16	53.3
串珠镰刀孢菌	30	15	50.0	15	50.0
CK	30	1	3.3	1	3.3

2 结果与分析

2.1 分离鉴定结果

6 批水稻幼苗立枯病样品的分离结果,共获得 1 318 个分离物,根据其培养特性和形态特征初步鉴定为 7 个属 12 个种,它们是镰孢菌属的尖孢镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)、茄病镰孢菌(*Fusarium solani*)、禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*)、串珠镰孢菌(*Fusarium moniliforme*)、半裸镰孢菌(*Fusarium semitectum*)、木贼镰孢菌(*Fusarium eguisei*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、长蠕孢属(*Helminthosporium sp.*)、链格孢属(*Alternaria sp.*)、青霉属(*Penicillium sp.*)、曲霉属(*Aspergillus sp.*)、弯孢霉属(*Curvularia sp.*)等。并且从分离结果可以看出,不同地区样品分离得到的优势种均有所差异。分析原因是因为水稻立枯病由多种病菌混合侵染,不同地区不同年份因生态条件不同其优势种类有可能不尽相同,但可以看出优势种类主要是镰刀菌属的 5 个种和立枯丝核菌(见表 1)。

2.2.2 优势种盆栽接种试验结果 回接优势菌 6 种,均可引起水稻幼苗发病,以禾谷镰孢菌发病率最高,回收菌株率 96.55%。其余 5 种菌也可引起发病,且回收病菌与回接前的病菌基本一致,不接菌(对照)95%的植株未发病(见表 3)。

表 3 盆栽回接试验结果

菌种	回接株数	发病株数	发病率(%)	再分离株数	再分离率(%)
尖孢镰孢菌	60	50	83.3	50	83.3
茄腐镰孢菌	60	49	81.7	48	80.0
禾谷镰孢菌	58	56	96.6	56	96.6
串珠镰孢菌	60	31	51.7	30	50.0
半裸镰孢菌	54	34	63.0	32	59.3
立枯丝核菌	60	53	88.3	53	88.3
对照(CK)	60	3	5.0	3	5.0

3 结果与讨论

3.1 通过对 6 批水稻立枯病病苗样品的分离鉴定,

电泳条件的优化与玉米贮藏蛋白 聚丙烯酰胺凝胶电泳

苏 萍, 戴常军, 任红波, 高春霞

(黑龙江省农科院谷物品质研究中心, 哈尔滨 150086)

摘要: 研究了影响玉米贮藏蛋白不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳分离效果的主要因素。结果表明, 分离胶缓冲液的离子强度、pH 值、电极缓冲液的离子强度和胶浓度是影响分离效果的主要因素, 催化剂量对分离效果影响不大。

关键词: 玉米; 贮藏蛋白; 聚丙烯酰胺凝胶电泳

中图分类号: S 513.01 文献标识码: A 文章编号: 1002—2767 (2002)02—0021—02

Combination of Electrophoretic Factors and Polyacrylamide Gel Electrophoresis for Maize Storage Proteins

SU Ping, DAI Chang-jun, REN Hong-bo, GAO Chun-xia

(Center of Cereal Quality, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: An acidic discontinuous polyacrylamide gel electrophoretic system for maize storage protein separation was established in our laboratory. Factors affecting the resultant resolution were investigated. The results indicated that ionic intensity of the buffer and pH of the gels, the concentration of the separating gel had significant effect on protein bands resolution, the amount of the catalysts was the least of all.

Key words: maize; storage proteins; polyacrylamide gel electrophoresis

玉米蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳法 (PAGE) 可 将蛋白质用电泳方法分离, 根据蛋白质组成差异即

* 收稿日期: 2001—09—06
基金项目: 黑龙江省自然科学基金(C9744)资助项目
作者简介: 苏萍(1966—), 女, 河北乐亭人, 副研究员, 硕士, 从事谷物品种研究。

共获得 1 318 个分离物, 初步鉴定为 7 个属 12 个种, 其中 *Fusarium oxysporum* 占 19.7%, *Fusarium solani* 占 25.9%, *Fusarium graminearum* 占 17.1%, *Fusarium moniliforme* 占 8.2%, *Fusarium senitectum* 占 9.4%, *Rhizoctonia solani* 占 16.5%; 其中 5 种镰刀菌及立枯丝核菌均回接成功, 证明为水稻立枯病的致病菌。另外长蠕孢属及木贼镰孢菌、链格孢属、青霉属、曲霉菌属、弯孢霉属还有待进一步回接, 明确其致病性。

3.2 前人报道的 *Pythium* sp. 本试验样品采集地区未分离到, 分析原因可能是由于育苗方式的改变所致, 目前寒地水稻主要采取水稻旱育秧, 降低了苗床的湿度, 故 *Pythium* sp. 未能分离到。

参考文献:

[1] 化学工業日報社. 病害虫カラー写真集[N]. 化学工業日報, 1970—10—21.
[2] 戚佩坤, 白金恺, 朱桂香. 吉林省经济植物真菌病害志[M]. 北京: 科学出版社, 1966. 4-21.
[3] 中国农业科学院植物保护研究所. 中国农作物病虫害[M]. 北京: 中国农业出版社, 1979. 62-63.
[4] 陈永康, 韩逢春, 李森, 等. 寒地水稻病虫害防治[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1989. 12.
[5] 方中达. 植物研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996. 46. 125. 131-139, 142-145.
[6] 王拱辰, 郑惠, 叶琪明, 等. 常见镰刀菌鉴定指南[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996. 22-86.
[7] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979. 626-627, 646-649.