

黑龙江省玉米弯孢菌叶斑病菌生物学特性研究

梅丽艳,李志勇

(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:为深入系统地研究玉米弯孢菌叶斑病菌病害的发病规律,对黑龙江省该病主要致病菌新月弯孢菌 [*Curvularia lunata* (Wakker) Boed.] 生物学特性进行了研究。结果表明:最适生长和孢子萌发温度为 25~35℃,弯孢菌产孢适宜温度是 25~30℃,其中 30℃ 时菌落直径最大、孢子萌发率最高,产孢量为高峰(为产孢高峰)。在 25℃ 条件下,相对湿度 96% 以上孢子开始萌发,随相对湿度的增加,萌发率也明显增加,分生孢子在水滴中萌发率最高。病原菌对酸碱度的适应范围较广,以 pH6~8 菌丝生长最适宜、产孢量最大;孢子萌发的适宜 pH 范围是 5~8,最适 pH 为 7。光照对菌丝体无显著影响,光暗交替有利于孢子的形成,光线对孢子萌发有抑制作用。

关键词:玉米;新月弯孢菌;生物学特性

中图分类号:S435.131.4⁺9

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)12-0061-04

玉米弯孢菌叶斑病主要是由新月弯孢菌 [*Curvularia lunata* (Wakker) Boed.] 引起的,是我国近年发生且逐渐广泛日趋严重的玉米叶部新病害。1995 年河北首先报道发生了玉米黄斑病^[1];1996 年辽宁省弯孢菌叶斑病爆发流行,全省受害达 19.2 万 hm²,减产 2.5 亿 kg 粮食^[2]。在北京、河北、河南、辽宁、吉林、黑龙江、山东、陕西、四川和上海等地发现有该病的发生^[3-5]。1998 年在黑龙江省发现玉米弯孢菌叶斑病,近年来,对黑龙江省玉米产区 100 个玉米品种进行田间发生危害情况调查,未发现免疫现象,发生较普遍,一般病株率达 10%~30%。严重者病株率达到 100%,对玉米生产威胁严重^[6],黑龙江省相同菌株对不同玉米品种及不同菌株对相同玉米品种产量影响存在差异,产量损失幅度为 10.10%~48.62%^[7]。鉴于该病对黑龙江省玉米生产的潜在威胁,相继开展了病原菌种类、病害症状识别、流行动态、品种抗病性及防治方面的研究。对黑龙江省玉米弯孢菌进行分离与鉴定,研究明确了主要致病菌为新月弯孢菌,而关于黑龙江省玉米弯孢菌叶斑病病原菌生物学特性研究尚属空白,因此于 2005~2007 年对其病原菌的生物特性进行了初步研究,旨在为深入系统地研究该病害的发病规律和防治提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株 98-119,采自黑龙江省哈尔滨市。

1.2 温度对玉米弯孢菌菌丝生长、孢子萌发和产孢的影响

1.2.1 菌丝生长试验 供试菌株 98-119 在 PDA 平板培养基上生长 5 d 的菌落边缘,用直径为 5 mm 的打孔器取菌丝圆盘,然后根据测试项目的不同,分别做处理(培养基均定量 20 mL,培养皿大小一致)。将菌块接种在 PDA 平板中央,分别置于 5、10、15、20、25、30、35、40 和 45℃ 的不同恒温条件下培养,5 d 后定时测量菌落生长直径。

1.2.2 分生孢子萌发试验 采用载玻片萌发法,用无菌水将在培养基中培养的分生孢子洗下,配制孢子悬浮液,在 10×10(倍)的视野中孢子数量 100 个左右,将其滴在凹玻片上 2 滴,将凹玻片放在保湿培养皿中,然后分别放到 5、10、15、20、25、30、35、40 和 45℃ 恒温条件下培养,6 h 后检查分生孢子在不同温度条件下的分生孢子萌发情况,并记录其孢子萌发率。

1.2.3 产孢量的测定 将供试菌株在 PDA 平板培养基上培养 5 d,用直径 6 mm 的打孔器在菌落边缘打取菌饼,并将菌饼移置 PDA 平板培养基中央,在 5~45℃ (梯度为 5℃) 不同温度下培养,每处理 3 次重复,72 h 时分别将分生孢子用 20 mL 灭菌水洗下,以 Neubauer 血球计数板法在显微镜下检查分生孢子数。

收稿日期:2011-07-21

基金项目:黑龙江省自然科学基金资助项目(C2004-11)

第一作者简介:梅丽艳(1962-),女,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,研究员,从事玉米病害研究。E-mail:meiliyan2003@yahoo.com.cn。

1.3 湿度对玉米弯孢菌孢子萌发的影响

采用小容器空气相对湿度调节法。用不同浓度的硫酸溶液控制密闭容器内的相对湿度。用喷雾法将孢子悬浮液喷于玻片上,迅速风干,分别放置在相对湿度为 88%、90%、92%、94%、96%、98%和 100%的密闭器皿中,在 25℃下培养。培养 24 h 后计数分生孢子的萌发情况,计算萌发率,同时以孢子在水滴中的萌发情况为对照,每处理重复 3 次。

1.4 pH 对玉米弯孢菌菌丝生长、孢子萌发和产孢量的影响

1.4.1 菌丝生长试验 采用 PDA 平板测定。试验设 pH 为 4~12,梯度为 1,共 9 个处理,每处理重复 3 次。用 HCl 或 NaOH 调节培养基 pH。菌株在 PDA 平板上培养 4 d 后,用内径为 5 mm 的打孔器在菌落边缘打取菌饼并置于不同 pH 条件下培养,5 d 后观察并测定其对各菌株生长的影响,测量菌落直径。

1.4.2 pH 对弯孢菌分生孢子萌发的影响 采用载玻片萌发法。病菌在 PDA 平板上产孢培养 4 d 后,用 pH 为 1~12 的缓冲液配制孢子悬浮液,滴孢子悬浮液于载玻片上,25℃下保湿培养。8 h 后数记孢子萌发情况,计算孢子萌发率,每处理重复 3 次,计算平均孢子萌发率。

1.4.3 pH 对弯孢菌产孢的影响 分别从不同 pH 下培养 5 d 的玉米弯孢菌平板上取一块直径为 6 mm 菌丝圆盘,将产生的分生孢子用 20 mL 灭菌水洗下,以 Neubauer 血球计数板法在显微镜下计测分生孢子数。

1.5 光照对菌丝生长、孢子萌发和产孢量的影响

1.5.1 菌丝生长试验 将供试菌株移接到 PDA 平板培养基上,分别置于连续光照、12 h 光暗交替、连续黑暗的恒温箱中,光源为普通日光灯(20 W,距离 50 cm),均在 25℃条件下培养,每处理 3 次重复,72 h 测量菌落直径。

1.5.2 孢子萌发试验 将在 PDA 平皿上培养 5 d 的病源菌用无菌水配成孢子悬浮液,滴到载玻片上进行保湿培养,在 25℃条件下将其分别置于连续光照、12 h 光暗交替、连续黑暗的恒温培养箱中,光源为普通日光灯(20 W)。每处理重复 3 次,12 h 后检查孢子萌发率。

1.5.3 产孢量的测定 在不同光照条件下(连续光照、连续黑暗、12 h 光暗交替),在 25℃条件下培养 5 d 的玉米弯孢菌平板上取一块直径为

6 mm 菌丝圆盘。将产生的分生孢子用 20 mL 灭菌水洗下,以 Neubauer 血球计数板法在显微镜下计测分生孢子数

2 结果与分析

2.1 温度对玉米弯孢菌菌丝生长、孢子萌发和产孢量的影响

2.1.1 温度对弯孢菌菌丝生长的影响 温度对弯孢菌菌丝生长有一定的影响。温度在 10~40℃,菌丝均能生长,但生长量有较大差异。生长最适温度为 30℃,在 10~30℃时,菌丝生长量随温度的增高而增加,不同温度之间差异显著。低于 5℃和高于 45℃时,菌丝不能生长(见表 1)。

从试验结果可知,气生菌丝发达程度与温度呈负相关,培养基内的颜色深浅程度与温度呈正相关。菌落表面的颜色受温度影响不明显。

表 1 温度对玉米弯孢菌菌丝生长的影响

菌种	菌株	温度/℃	平均菌落生长	差异显著性	
			直径/cm	5%	1%
<i>C. lunata</i>	98-119	5	0	h	H
		10	2.3	f	F
		15	4.7	e	E
		20	6.1	d	D
		25	6.5	c	C
		30	7.7	a	A
		35	7.0	b	B
		40	1.6	g	G
		45	0	h	H

2.1.2 温度对玉米弯孢菌孢子萌发的影响 玉米弯孢菌分生孢子在清水中,温度低于 5℃和高于 45℃时,基本不能萌发,在 10~45℃均可萌发,其萌发适宜温度为 25~35℃,尤其以 30℃时萌发率最高(见图 1)。

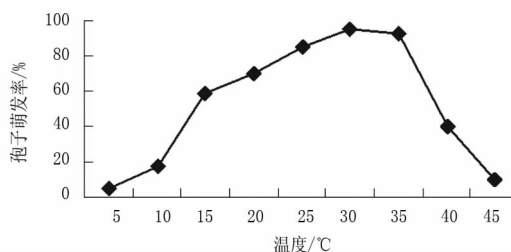


图 1 温度对弯孢菌孢子萌发的影响

2.1.3 温度对弯孢菌产孢量的影响 新月弯孢菌在 10℃下培养 5 d 时不能产生孢子,在 25~30℃下产孢量较大,其中 30℃为产孢高峰,产孢量为 2.0×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ (见表 2)。

表 2 温度对弯孢菌产孢量的影响

温度/℃	5	10	15	20	25	30	35	40	45
产孢量/个·mL ⁻¹	0	0	4.0×10 ³	5.1×10 ⁵	7.2×10 ⁶	2.0×10 ⁷	0.5×10 ⁶	0	0

2.2 湿度对玉米弯孢菌孢子萌发的影响

玉米弯孢菌分生孢子在 25℃ 条件下,相对湿度 85%~94% 时,其萌发率均为 0;相对湿度达到 96% 以上分生孢子开始萌发,孢子萌发率与相对湿度呈正相关,分生孢子在水滴中的萌发率最高(见图 2)。

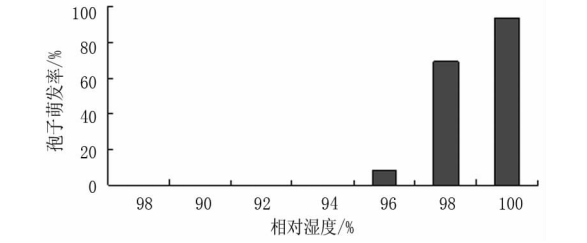


图 2 相对湿度对孢子萌发的影响

2.3 pH 对弯孢菌叶斑病菌菌丝生长、孢子萌发和产孢量的影响

2.3.1 pH 对弯孢菌叶斑病菌菌丝生长的影响

在 pH 为 4~12 时菌丝都可以生长,在 pH 为 4~6 时菌落生长直径随着 pH 的增加而增大,在 pH 为 7 时的菌落生长直径最大,菌株菌丝生长的 pH 范围较广,在中性(pH 为 7)、微碱性(pH 为 8)和微酸性(pH 为 6)的培养基上生长最好,pH 在 8~12 时,菌落生长直径随着 pH 的增大而减小(见表 3)。

从研究结果可知,pH 对菌落中部的气生菌丝影响明显,菌落中部的气生菌丝发达程度与 pH 呈负相关,而菌落表面的颜色深浅程度与 pH

呈正相关,培养基内的颜色受 pH 影响不明显。

表 3 pH 对玉米弯孢菌菌丝生长的影响

菌种	菌株	pH	平均菌落生长	差异显著性	
			直径/cm	5%	1%
<i>C. lunata</i>	98-119	4	5.6	d	CB
		5	6.6	c	B
		6	7.2	b	B
		7	8.1	a	A
		8	7.0	bc	B
		9	6.7	c	B
		10	5.4	d	CB
		11	4.5	e	D
		12	3.4	f	E

2.3.2 pH 对弯孢菌分生孢子萌发的影响

玉米弯孢菌分生孢子在 pH≤3 及 pH≥12 时不能萌发,在 pH>3 和 pH<12 时分生孢子均能萌发,当 pH 为 5~8 时,玉米弯孢菌分生孢子萌发率较高,所以分生孢子萌发适宜 pH 为 5~8(见图 3)。

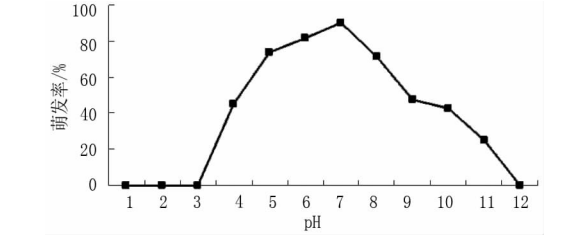


图 3 pH 对孢子萌发的影响

2.3.3 pH 对弯孢菌产孢量的影响 pH 为 4~12 时均能产孢,但处理间存在明显差异,以 pH 为 6~8 处理产孢量最大(见表 4)。

表 4 pH 对弯孢菌产孢量的影响

pH	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
产孢量/个·mL ⁻¹	0	4.0×10 ⁴	1.0×10 ⁵	1.8×10 ⁶	2.0×10 ⁷	1.7×10 ⁶	9.0×10 ⁴	5.0×10 ³	2.5×10 ²	4×10

2.4 光照对菌丝生长、孢子萌发和产孢量的影响

光照对菌丝生长具有一定的刺激作用,但无显著影响,光暗交替有利于孢子形成,光照对孢子萌发有抑制作用(见表 5)。

表 5 光照对菌丝生长和产孢量的影响

光照条件	菌落直径/cm	产孢量/个·mL ⁻¹	孢子萌发率/%
连续黑暗	4.2	1.2×10 ⁷	83
12 h 光暗交替	4.8	2.0×10 ⁷	79
连续光照	4.4	7.2×10 ⁶	60

3 结论与讨论

供试弯孢菌生长和分生孢子萌发的适宜温度均为 25~35℃,30℃ 时菌落直径最大、孢子萌发率最高。温度为 25~30℃ 是弯孢菌产孢适宜范围,其中 30℃ 为产孢高峰。温度不仅对弯孢菌的生长发育有影响,还对基质颜色有影响。气生菌丝发达程度与温度呈负相关,培养基内的颜色深浅程度与温度呈正相关;菌落表面的颜色受温度

影响不明显。

湿度对玉米弯孢菌孢子萌发有影响,在 25℃ 条件下,相对湿度达到 96% 以上分生孢子开始萌发,相对湿度越大,孢子萌发率越高,分生孢子在水滴中的萌发率最高。

pH 影响弯孢菌生长发育,菌丝生长的适宜 pH 是 6~8,最适 pH 为 7;孢子萌发的适宜 pH 是 5~8,最适 pH 为 7。pH 为 6~8 处理产孢量最大。pH 不但影响病菌的菌落生长直径,同时对菌落的颜色也有影响。pH 对菌落中部的气生菌丝影响明显,菌落中部的气生菌丝发达程度与 pH 呈负相关,而菌落表面的颜色深浅程度与 pH 呈正相关。培养基内的颜色受 pH 影响不明显。

光照对菌丝生长具有一定的刺激作用,光照对菌丝生长无显著影响,光暗交替有利于孢子形成,光照对孢子萌发有抑制作用。

玉米弯孢菌叶斑病属于高温、高湿病害,条件适宜时会爆发流行。今后要加强病害流行规律研究。

参考文献:

- [1] 赵来顺. 玉米黄斑病在河北的发生[J]. 植物病理学报, 1995, 25(4): 360.
- [2] 赵延昌, 王文生, 徐秀德. 辽宁省玉米发生弯孢菌叶斑病[J]. 辽宁农业科学, 1996(6): 42.
- [3] 戴法超, 高卫东, 王晓鸣. 玉米弯孢菌叶斑病的初步研究[J]. 植物保护, 1996, 22(4): 36-37.
- [4] 梅丽艳, 郭梅, 李志勇. 玉米弯孢菌叶斑病原菌与症状的初步研究[J]. 黑龙江农业科学, 2003(3): 5-6.
- [5] 刘飞, 伍晓丽, 李富华, 等. 四川省玉米弯孢叶斑病菌的种类及生物学特性研究[J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2008, 33(1): 43-47.
- [6] 梅丽艳, 李志勇, 黄春艳. 玉米弯孢菌叶斑田间流行动态研究[J]. 黑龙江农业科学, 2008(4): 50-52.
- [7] 梅丽艳, 李志勇, 郭梅. 玉米弯孢菌叶斑病产量损失测定及药剂防治[J]. 玉米科学, 2003, 11(2): 93-95.

Study on the Biological Characteristics of Maize Curvularia Leaf Spot in Heilongjiang Province

MEI Li-yan, LI Zhi-yong

(Plant Protection Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Some biological characters of *Curvularia lunata* in Heilongjiang province were studied. The results showed that the optimum temperature for pathogen hyphae growth and conidia germination was 25~35℃. The suitable temperature of spore production was 25~30℃. When the temperature was 30℃, colony diameter was largest, spore germination rate was highest, and sporulation was at the peak (for sporulation peak). Spores began to germinate at 25℃ and relative humidity above 96%, with the relative humidity increasing, the germination rate increased significantly. The conidia germination rate was highest in water droplets. The pathogens could adapt wider scope of pH, the optimum pH for mycelial growth and sporulation maximum was 6~8, the suitable pH range for spore germination was 5~8, the best suitable pH was 7. The effect of light was not obvious to pathogen growth, alternating light and dark was good for the formation of spores and the spore germination could be inhibited for the light.

Key words: maize; *Curvularia lunata*; biological characteristics

作物科学方法

农业科学方法丛书 樊龙江, 刘旭, 曹永生 著 978-7-03-032405-4

定价: 60.00 元 装帧: 圆脊精装 开本: 16 分类: 生物科学

内容简介: 该书是在科技部创新方法工作重点研究课题“作物科学方法研究”成果的基础上加工凝练而成。全书共 5 章, 系统总结了生物进化论、遗传学、生态学、土壤学、气候气象学等与作物科学密切相关学科的共性方法, 论述了作物种质资源、遗传育种、栽培耕作方法演进与基本规律以及现代科学方法创新对作物科学方法的影响, 剖析了作物种质资源、遗传育种、栽培耕作方法典型案例, 并预测作物种质资源、遗传育种、栽培耕作领域发展趋势及前沿方法。

该书可供从事作物科学工作的科研人员和管理人员, 以及大专院校相关专业的师生阅读参考。

获取更多图书信息请您关注 <http://books.lifescience.com.cn/>

欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书

联系人: 科学出版社科学销售中心 周文宇

电话: 010-64017301 E-mail: zhouwenyu@mail.sciencep.com

网上订购: <http://shop.sciencepress.cn> 或卓越网、当当网

联系我们: 010-64012501 E-mail: lifescience@mail.sciencep.com

更多精彩图书请登陆网站, 欢迎致电索要书目