



立枯丝核菌研究进展

宁晓雪¹, 苏 跃², 马 玥¹, 宁晓宇³, 张俊华¹

(1. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 山东科塞基农控股有限公司, 山东 济南 250101; 3. 黑龙江八一农垦大学, 黑龙江 大庆 163319)

摘要:为深入研究立枯丝核菌致病机理及其有效防治方法, 综述了立枯丝核菌的研究进展情况, 着重在立枯丝核菌的菌丝融合群、生物学特性、致病机理、生物防治、遗传多样性等方面进行总结分析, 提出研究设想和建议。

关键词:立枯丝核菌; 生物学特性; 菌丝融合群; 致病机理; 遗传多样性

立枯丝核菌是丝核菌属中最复杂的, 最庞大的多核丝核菌。立枯丝核菌的无性态(*Rhizoctonia solani* Kiihn)属于无孢目, 丝核菌属。有性态为(*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk)属于担孢子菌门, 瓜亡革菌^[1]。一般在田间多为无性态, 很难发现有性态。有性态在病害流行中的作用目前尚不明确, 关于担孢子产生所需要的特定条件的报道几乎没有。立枯丝核菌寄主范围极广, 至少可侵染 263 种植物^[2]包括水稻玉米、大豆、马铃薯等。但是 AG-3 的寄主范围较窄, 主要侵染马铃薯、茄子、烟草和甜菜^[3]等少数作物。立枯丝核菌主要引起植物的烂种、苗期猝倒、立枯病和水稻纹枯病以及马铃薯黑痣病等。该菌腐生性极强是典型的土传病害, 危害范围广、防治困难。通过对水稻立枯丝核菌的研究情况进行综述分析, 提出研究设想和建议, 为今后对立枯丝核菌的进一步研究及指导立枯丝核菌的防治提供参考。

1 立枯丝核菌生物学特性及分类

1.1 立枯丝核菌生物学特性

菌丝初期灰白色, 后期变为浅褐色, 最后产生菌核。菌丝生长温度 5~33 ℃, 最适生长温度为 25 ℃, 最低为 4 ℃, 最高为 33 ℃。在 23~28 ℃ 时形成菌核^[4]。菌丝生长的 pH 范围是 2~11, 最适 pH 为 6~7^[5] 黑暗条件下有利于菌丝的生长,

光照条件下有利于菌核形成。研究发现氮源和碳源影响立枯丝核菌菌丝的生长, 其中可溶性淀粉和酵母粉对菌丝的生长有显著地促进作用, 而以碳酸铵为氮源时菌丝生长受到抑制^[6]。

1.2 立枯丝核菌的分类

立枯丝核菌的分类通常以菌丝融合反应类型作为指标对其进行融合群的划分(Anastomosis group, 简称 AG)^[7] 根据菌丝融合的情况将菌丝间完全不发生融合的菌株分属于不同菌丝融合群, 菌丝间完全融合或者不完全融合的菌株为同一融合群^[8]。1969 年 Parmeter^[9] 较为系统的提出 *R. solani* 种内菌丝融合群(Anastomosis group)分类法。日本学者 Ogoshi^[10] 在 1975 年根据菌丝融合的特性详细的论述了立枯丝核菌融合群。尽管菌丝融合反应方法简单有效, 但是也有一定的缺陷, 因为融合群概念并不能用来解释融合群之间及其内部的分类学及遗传与变异之间的关系。

2 立枯丝核菌菌丝融合群研究进展

迄今为止立枯丝核菌菌丝融合种群已经达到 14 个, 分别是: AG1-AG13、AG-B1^[11]。Ogoshi. 又在融合群基础上划分为亚群, 目前发现有 18 个立枯丝核菌亚群^[12]。仅 AG1 就分为 4 个亚群, 分别是 AG-1A、AG-1B、AG-1C、AG-1D。融合群有一定的地理差异, AG1-AG7 和 AG-B1 在日本均有分布, AG1-5、AG8-AG9 在中国均有分布, 其中 AG1 至 AG-4 公认为是全球性菌株。Parmeter 研究发现不同菌丝融合群侵染同一作物可引起不同的病害^[13]。例如 AG1-2 引起马铃薯黑痣病、AG-3 可引起马铃薯黑胫病以及茎或匍匐茎的腐烂^[14]。同一融合群内不同亚群的适合寄主和致病力也存在差异, 例如 AG-3 中的 AG3PT

收稿日期: 2018-11-09

基金项目: 中央引导地方科技发展专项资助项目(ZY16 C06); 黑龙江省自然科学基金资助项目(C2017032); 黑龙江省水稻现代农业产业技术协同创新体系岗位专家资助项目(黑农委体系(水稻)[2017]1号)。

第一作者简介: 宁晓雪(1996-), 女, 在读学士, 从事寄主与病原互作研究。E-mail: 1264157934@qq.com。

通讯作者: 张俊华(1973-), 男, 博士, 教授, 从事寄主与病原物互作研究。E-mail: neauzjh@163.com。

亚群最适宜的寄主是马铃薯,而 AG3TB 亚群最适宜的寄主是烟草^[15]。我国对立枯丝核菌的研究起步较晚,且大多集中在水稻、玉米、小麦、棉花等的研究。目前为止,我国发现的立枯丝核菌菌丝融合群包括 AG1-AG7、AG-10。未见关于 AG-8、AG-9 和 AG-B1 的报道。后来张天晓等^[16]从湖南、陕西等不同的地区分离得到 156 个菌株,这 156 个菌株主要是五个类群,分别是 AG1、AG2、AG4、AG5、AG8。陈素清等^[17-19]研究发现:新疆南疆、四川省棉花上的立枯丝核菌类群是 AG4。但马铃薯黑痣病病原菌的立枯丝核菌的菌丝融合群至今在国内未见报道。

3 立枯丝核菌致病机理

3.1 立枯丝核菌致病因子

立枯丝核菌对植物的致病机理相当复杂,董国强等报道^[20],立枯丝核菌产生的纤维素酶是一种典型的复合酶能够快速分解天然纤维素,陈冰等^[21]通过对来自不同地域的 120 株水稻纹枯病进行研究发现病菌产生的果胶酶和纤维素酶与致病性呈正相关,但半纤维素与致病性的相关性尚无定论。菌丝的机械压力和细胞壁降解酶这些因子也有可能导导致病害,至于各因子之间的相互作用还需进一步研究,不过现在广泛认为立枯丝核菌的致病原因主要原因是立枯丝核菌产生毒素及细胞壁降解酶。毒素的主要成分目前还存在争议,而细胞壁降解酶的研究大多数围绕酶活性、细胞器损伤等方面进行,在分离细胞壁降解酶及有关细胞壁降解酶蛋白及调节基因的相关研究甚少。明确立枯丝核菌的致病机理对如何防治立枯丝核菌所引起植物病害提供重要的理论依据。

3.2 立枯丝核菌毒素的研究进展

毒素在病程中的作用国内少有报道,国外的研究结果也不一致。AoKi 等^[22]认为立枯丝核菌先产生苯乙酸,而后苯乙酸再代谢为羟基衍生物。Mandava 等^[23]通过对大豆根腐病菌的研究认为立枯丝核菌毒素是间甲氧基苯乙酸和间位羟基苯乙酸。Sriram 等^[24]通过对水稻纹枯病的研究认为毒素是一种含有葡萄糖和甘露蔗的糖类混合物。Brooks^[25]则认为不同的立枯丝核菌产生不同成分的毒素。国内有关立枯丝核菌的毒素较少,马立功等^[26]通过研究小麦禾谷丝核菌毒素发现,毒素的主要成分为呋喃甲酸、丁二酸不含苯甲酸与苯乙酸。孟令军^[27]研究认为该毒素含有葡萄糖、蔗糖、N-乙酰氨基甘露糖,但不含有苯甲酸

及苯乙酸。康霄文等^[28]用立枯丝核菌来接种水稻,发现水稻产生了和病原菌侵染的类似症状。可见立枯丝核菌的致病机制和毒素有关。虽然在一些实验中已经证实,立枯丝核菌能产生对寄主有致病作用的毒素。但迄今为止毒素的成分尚无定论。立枯丝核菌的遗传研究和抗性育种试验难有进展的原因主要是缺乏理想的抗源。而利用毒素进行体细胞突变体的离体筛选、及体细胞无性系变异能够为抗源体的开发提供有效的方法。故对毒素的研究在立枯丝核菌防治方面有重要的意义。

4 立枯丝核菌的防治研究进展

对于立枯丝核菌的防治目前最有效的是化学防治,张娜等^[29]通过室内药剂筛选试验发现 50% 乙蒜素、63% 恶毒蛋白水剂和特效灭萎灵粉剂能够有效的防治立枯丝核菌,陈世云等^[30-32]通过田间药剂试验发现井冈霉素有效防治由立枯丝核菌引起的小麦纹枯病和水稻纹枯病。但化学药剂污染环境,寻找有效的生物防治方法刻不容缓。目前应用于防治立枯丝核菌的生防因子有很多,主要包括生防细菌和生防真菌。生防真菌中最重要的是粘帚霉属例如康宁木霉^[33]、具钩木霉^[34]、木素木霉^[35]、链孢粘帚霉^[36]。除此之外生防真菌还有轮枝孢菌^[37]、侵脉新赤壳、伏革菌、土曲霉等。生防细菌目前主要有芽孢杆菌、短杆菌、色杆菌^[38]、囊菌、诺卡氏菌、放线菌、链霉菌^[39]。除了生防细菌和生防真菌外,还有研究发现弹尾目昆虫^[40]、线虫中的燕麦滑刃线虫均能作为立枯丝核菌的生防因子。目前生物防治的效果远不化学药剂防治,而且生物因子防治效果不稳定,可能的原因包括生防菌的退化、立枯丝核菌的变异、环境条件的变化。因此在今后的研究中要想生物防治立枯丝核菌有更大的进展,需要将遗传学方法、生态学方法综合使用。例如构建相应的促进植物生长、抑制病害有关的基因并将其导入土壤习居菌中,将会为立枯丝核菌的生物防治带来更大的研究进展。

5 立枯丝核菌遗传多样性研究进展

Liu 等^[41]用 12 种内切酶对韩国 27 个立枯丝核菌菌株进行 rDNA-ITS 进行 PCR-RFLP 分析,研究结果表明不同融合群的菌株,他们的 12 种内切酶 PFLP 的条带不同。大多数内切酶的 PFLP 谱带无法区分不同的亚群,但是 HaeHae III、

Cfr13I、Msp I 三种内切酶的 RFLP 可以区分不同亚群的菌株。Mastumoto 等^[42]利用 4 种内切酶: Hha III、Bam HI、Hha I、Hha II 对 AG-1、AG2 供试菌株进行 28S r DNA-ITS-RFLP 分析发现其中 Hha II 可以分离 AG-1 的亚群,同时 Hha I、Hha II 也可以将 AG-2 中的亚群分离。有关此方面的研究报道还有很多可见 rDNA-ITS-RFLP 分析方法在立枯丝核菌种群演化研究中具有广泛的应用前景。Yang 等^[43]利用 RAPD 技术发现来自于加拿大不同区域的 AG-9 融合菌株之间存在遗传多样性。国内方面于金凤等^[44]将来自云南不同区域的 13 个菌株进行 RAPD 技术研究,结果表明 AG-1 融合群之间具有明显的遗传分化,遗传距离之间为 0.86。总共将 13 个菌株分为了 6 个遗传聚类组。Ceresini 等^[45]利用了 AFLP 指纹技术对来自美国的烟草上 36 个立枯丝核菌 AG-3TB 和马铃薯上 32 个 AG-3PT 进行了遗传多样性分析发现,32 个 AG-3PT 菌株得到了 32 种 AFLP 谱带型,36 个 AG-3TB 出现 28 种 AFLP 谱带型,而且 AG-3PT 和 AG-3TB 之间并未有相同的谱带型,这可以说明来自不同寄主的 AG-3 菌株具有丰富的遗传多样性。Dolores 等^[46]研究了 AG-1 至 AG-11 及 AG-B1 的菌丝融合群中 β -微管蛋白基因发现利用 β -微管蛋白基因间的保守及可变性能够很好的探究菌丝融合群及各个亚群之间的进化关系。

6 展望

立枯丝核菌是腐生性极强的菌,可以产生菌核,常用菌丝融合法对其进行分类但是融合群概念并不能用来解释融合群之间及其内部的分类学及遗传与变异之间的关系。

掌握各地区的菌丝融合群的分布有助于对该地区的立枯丝核菌防治提供理论依据,但许多作物的菌丝融合群未见报道,如马铃薯黑痣病菌丝融合群等这还需进一步的研究。

立枯丝核菌的致病机理复杂,有关立枯丝核菌的毒素成分尚无定论。而且目前有关致病基因等方面的研究几乎没有,始终未有理想的抗性品种。在立枯丝核菌致病机理方面还有广阔的研究空间。

在生物防治方面,现在已经发现许多生物因子对立枯丝核菌的生长均有抑制作用,但是生防的效果不如化学防治的效果,而且防治效果很不稳定。将遗传学、分子生物学、生态学等方法进行

综合使用,会推进生物防治立枯丝核菌的相关研究。

立枯丝核菌具有丰富的遗传多样性, β -微管蛋白、SSR、RAPD、PCR-RFLP、在立枯丝核菌的遗传多样性方面有广阔的研究前景。立枯丝核菌的遗传多样性的研究为以后抗性品种的培育,及相应防治方法的研究提供理论依据。

参考文献:

- [1] 邵力平,沈瑞祥,张素轩. 真菌分类学[M]. 北京:中国林业出版社,1984.
- [2] 邱广伟. 马铃薯黑痣病的发生与防治[J]. 农业科技通讯, 2009(6):133-134.
- [3] Bakali A M E, Martin M P. Black scurf of potato[J]. Mycologist, 2006, 20(4): 130-132.
- [4] 李乾坤,孙顺娣,李敏权. 马铃薯立枯丝核菌的研究[J]. 马铃薯杂志, 1998, 2(2): 79-85.
- [5] 刘宝玉,胡俊,蒙美莲,等. 马铃薯黑痣病原菌分子鉴定及其生物学特性[J]. 植物保护学报, 2011, 38(4): 379-380.
- [6] 王文慧,骆得功,魏周全. 马铃薯黑痣病菌生物学特性测定[J]. 中国马铃薯, 2015(1): 33-36.
- [7] Anderson N A. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*[J]. Annual Review of Phytopathology, 1982, 20(1): 329-347.
- [8] 邵力平,沈瑞祥,张素轩. 真菌分类学[M]. 北京:中国林业出版社,1984.
- [9] Parmeter Jr J R, Sherwood R T, Platt W D. Anastomosis grouping among isolates of *thanatephorus cucumeris*[J]. Phytopathology, 1969, 59(1): 1270-1278.
- [10] Ogoshi A. Studies on the grouping of *Rhizoctonia solani* 47uhn with hyphal anastomosis and on the perfect stages of groups[J]. Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences. Series C. Plant Pathology and Entomology, 1976, 30: 1-63.
- [11] Carling D E, Baird R E, Gitaitis RD, et al. Characterization of AG-13 a newly reported Anastomosis Group of *Rhizoctonia solani*[J]. Phytopathology, 2002, 92: 893-899.
- [12] 李菊. 中国东北地区玉米纹枯病菌融合群鉴定及遗传多样性研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2011.
- [13] Fong H K W, Amatruda T T, Birren, et al. Distinct forms of the subunit of GTP. Binding regulatory proteins identified by molecular cloning[J]. Proceedings National Academy of Science of USA, 1987, 84: 3792-3796.
- [14] Scholte K, Lootsma M. Effects of farmyard manure and green manure crops on populations of mycophagous soil fauna and *Rhizoctonia* stem canker of potato[J]. Pedobiologia, 1996, 39(1): 15-22.
- [15] Woodhall J W. Infection of potato by *Rhizoctonia solani*: effect of anastomosis group[J]. Plant Pathology, 2008, 57: 897-905.
- [16] 张天晓,张志光. 立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* Kühn 的研究[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 1986, 9(1): 76-82.
- [17] 陈素清,吴斌,秦泰,等. 四川棉花立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kühn)菌丝融合群研究[J]. 西南农业学报, 1998,

- 12(1):56-60.
- [18] 玉山江. 新疆南疆棉花立枯病菌 (*Rhizoctonia solani* Kühn) 菌丝融合群及其营养体亲和群研究[J]. 新疆农业大学学报, 2007, 30(3): 10-13.
- [19] 邓振山, 郭庆元, 张宝成, 等. 新疆北疆棉田立枯丝核菌菌丝融合群及其营养亲和群研究[J]. 微生物学杂志, 2006, 26(3): 53-57.
- [20] 董国强, 林开江. 影响水稻纹枯病菌纤维素酶的产生及酶活条件的初步研究[J]. 浙江农业科学, 1990(6): 283-287.
- [21] 陈兵, 王坤元, 董国强, 等. 水稻纹枯病菌致病性与酶活力的关系[J]. 浙江农业学报, 1992, 4(1): 8-14.
- [22] Aoki H, Sassa T, Tamura T. Phytotoxic metabolites of *Rhizoctonia solani* [J]. Nature, 1963, 200: 575.
- [23] Mandava N B, Orellana R G, Warthen D J, et al. Phytotoxins in *Rhizoctonia solani*: Isolation and biological activity of m-hydroxy and m-methoxyphenyl acetic acids[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 1980, 28: 71-75.
- [24] Sriram S, Raguchander T, Babu S, et al. Inactivation of phytotoxin produced by the rice sheathblight pathogen *Rhizoctonia solani* [J]. Canadian Journal Microbiology, 2000, 4(6): 520-524.
- [25] Brooks S A. Sensitivity to a Phytotoxin from *Rhizoctonia solani* correlates with sheath blight susceptibility in rice[J]. Phytopathology, 2007, 10(97): 1027-1212.
- [26] 马力功. 营养及培养条件对大豆根腐病主要病原菌及其产毒的作用[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008.
- [27] 孟令军. 水稻纹枯病菌毒素的提纯、组分分析及钝化[D]. 扬州: 扬州大学, 2009.
- [28] 康宵文, 陈捷, 龙晓波, 等. 水稻纹枯病菌毒素的初步研究[J]. 沈阳农业大学学报, 1992, 23(1): 19-22.
- [29] 张娜, 梁巧兰, 吴琼. 花椰菜苗期立枯病原鉴定及室内药剂筛选[J]. 甘肃农业大学学报, 2018, 53(1): 65-70.
- [30] 陈世云, 陈秀兰, 何震天, 等. 小麦纹枯病研究现状问题与展望[J]. 麦类作物学报, 2001, 21(1): 81-84.
- [31] 陈世云, 薛青同, 沈谢刚, 等. 小麦纹枯病的流行特点及防治[J]. 中国农学通报, 1992, 8(1): 37-38.
- [32] 张毓妹, 王志, 毕铭照, 等. 防治小麦纹枯病的室内药剂筛选与复配[J]. 华北农学报, 2015, 30(S1): 245-250.
- [33] 李华荣, 刘灼均. 康氏木霉对立枯丝核菌 7 个融合群及 3 个亚群拮抗作用的研究[J]. 西南农业大学学报, 1992, 14(4): 283-285.
- [34] Lewis J A, Darksdale T H, Papavizas G C. Greenhouse and field studies on the biological control of tomato fruit rot caused by *Rhizoctonia solani* [J]. Crop Protection, 1990, 9(1): 8-14.
- [35] Weindling R. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other fungi[J]. Phytopathology, 1932, 22: 837-845.
- [36] Turhan G. Further hyperparasites of *Rhizoctonia solani* Kühn as promising candidates for biological control[J]. Journal of Plant Diseases Protection, 1990, 97(2): 208-215.
- [37] Jager G, Velvis H. Biological destruction of conidia of *Verticillium biguttatum* [J]. European Journal of Plant Pathology, 1996, 102(7): 623-633.
- [38] Park Seurkee, Lee Hyoyedn, Kim Kichung. Korean Journal of Plant Pathology, 1995, 11(4): 304-311.
- [39] 杨文博, 冯波, 佟树敏. 链霉菌 S01 菌株几丁质醇对植物病原真菌的拮抗作用[J]. 微生物学通报, 1997, 24(4): 224-226.
- [40] Lartey R T, Curt E A, Peterson C M. Journal of Phytopathology, 1991, 133(2): 89-98.
- [41] Liu Z L, Sinclair J B. Differentiation of intraspecific groups within anastomosis group 1 of *Rhizoctonia solani* using ribosomal DNA internal transcribed spacer and isozyme compar[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1993, 15(4): 272-280.
- [42] Matsumoto M, Furuya N, Takanami Y, et al. RFLP analysis of the PCR-amplified 28S r DNA in *Rhizoctonia solani* [J]. Mycoscience, 1996, 37(3): 351-356.
- [43] Yang G H, Chen H R, Naito S, et al. Characterization of *Rhizoctonia solani* AG 4HG-III causing stem canker and wirestem on green amaranth and Chinese Amaranth[J]. Phytopathology, 2005, 153: 185-187.
- [44] 于金凤, 张修国, 张天宇, 等. 立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani* Kuhn) 第一融合群遗传分化关系的研究[J]. 菌物系统, 2003, 22(1): 69-73.
- [45] Ceresini P C, Shew H D, Vilgalvs R J, et al. Genetic diversity of *Rhizoctonia solani* AG-3 from potato and tobacco in North Carolina[J]. Mycologia, 2002, 92(3): 437-449.
- [46] Dodman R L, Barker K R, Walker J C. A detailed study of the different modes of penetration by *Rhizoctonia solani* [J]. Phytopathology, 1968, 58: 1271-1276.

Research Progress on *Rhizoctonia solani*

NING Xiao-xue¹, SU Yue², MA Yue¹, NING Xiao-yu¹, ZHANG Jun-hua¹

(1. Agricultural College of Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Shandong Kesai Agrochem Holdings Limited Company, Jinan 250101, China; 3. Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: In order to further study the pathogenic mechanism of *Rhizoctonia solani* and its effective control methods, we reviewed the research progress of *Rhizoctonia solani*. The research focused on the mycelial fusion group, biological characteristics, pathogenic mechanism, biological control and genetic diversity of *Rhizoctonia solani*. This paper put forward the summary viewpoints and research ideas and suggestions for the further study of *Rhizoctonia solani* and the breeding of related resistant varieties, and provide reference for the effective control of *Rhizoctonia solani*.

Keywords: *Rhizoctonia solani*; biological characteristics; hyphal fusion group; pathogenic mechanism; genetic diversity