

白菜丝核菌叶腐病病原菌鉴定及生物学特性研究

刘志恒, 李艳君, 杨红, 钱国东, 孙俊

(沈阳农业大学 植物保护学院 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 对白菜丝核菌叶腐病标样进行了鉴定及生物学特性研究。结果表明:白菜丝核菌叶腐病病原为立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kühn)。病原菌菌丝最适生长条件为:20~25℃, pH 7, PDA 培养基, 黑暗条件, 在供试的碳、氮源中, 对可溶性淀粉和酵母浸膏利用最好; 菌核形成的最适条件为:28℃, pH 7, 查氏培养基, 光照条件, 以可溶性淀粉和蔗糖为碳源的查氏培养基有利于菌核的形成, 硫酸铵培养基主要在气生菌丝上形成小而多的菌核, 甘氨酸培养基形成的菌核较大。

关键词: 白菜丝核菌叶腐病; 立枯丝核菌; 生物学特性
中图分类号: S 436.341.1⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2009)05—0057—04

立枯丝核菌引起的病害种类繁多, 很多病害在生产上危害较为严重。由该菌引起的白菜叶腐病, 在我国一直是一个危害并不严重的次要病害。但近年来, 在华南地区的广西以及辽宁省时有发生。尽管辽宁地处北国, 但由于近年来温室效应的不断增强, 大区域气候条件变化的影响, 温度的升高对北方省区一些作物病害的发生形成了较为有利的促进条件。因此该病在一些白菜栽培地区的秋菜采收期的为害有加重趋势。此病发生, 不仅在白菜生长后期直接造成危害, 而且在秋菜贮藏期间仍可继续扩展, 加剧危害, 导致后继的损失。如若继续

白菜生产上普遍而严重发病, 将会造成较大的经济损失, 以致影响白菜种植业的健康发展。

关于白菜立枯丝核菌引起的叶腐病, 国内外的研究报道极少, 病害有效的防治方法更为少见。为明确白菜丝核菌叶腐病病原菌的生物学特性, 该试验对采集的白菜丝核菌叶腐病标样, 进行了病原菌分离、鉴定, 并进行了病菌生物学特性研究。以便未雨绸缪, 为病害发生规律的研究和病害综合防治科学制定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 症状描述及病原菌鉴定

白菜丝核菌叶腐病标样采自沈阳农业大学植物保护学院植物免疫研究所。试验对病害症状特点进行了观察描述, 并采用常规组织分离法和水琼脂法进行了病原菌分离, 获得纯培养, 进行病原菌形态鉴定^{1~4}。

第一作者简介: 刘志恒(1954-), 男, 博士, 教授, 现从事植物病理学及真菌学等教学与研究工作。E-mail: lzhh1954@sina.com.
收稿日期: 2008—12—15

Salt Stress on Seed Germination and Seedling Growth of *Limonium sinense* (Grard) Kuntze

LI Yan^{1, 2}
(Department of Biological Science, Dezhou University, Dezhou, Shandong 253023, China)

Abstract: Studied the influence which the seeds of *Limonium sinense* (Grard) Kuntze sprouts and growth under different concentration of NaCl, Na₂SO₄, Na₂CO₃ and the mixed solution. The result indicated that, the influence of mixed solution to the seed *Limonium sinense* (Grard) Kuntze was the biggest, the concentration of salt solution was bigger, the germination rate of the seeds of *Limonium sinense* (Grard) Kuntze was smaller and the length of shoot and root were shorter. The suppression of salt stress with the length of root was bigger than the suppression of salt stress with the length of shoot.

Key words: Salt stress; The seed of *Limonium sinense* (Grard) Kuntze; Germination rate; The length of shoot and foot

1.2 病原菌生物学特性研究

主要测定不同条件对菌丝生长及菌核形成的影响。

1.2.1 培养基的影响 选用 PDA、PSA、查氏、燕麦片、孟加拉红、白菜煎汁、沙氏、胡萝卜共 8 种培养基^[5]。打孔器切取直径 4 mm 的病菌菌饼, 于 25℃ 恒温培养。试验设重复 4 次。采用十字交叉法, 间隔 24 h, 计测菌落直径, 计算不同培养基上菌丝生长速度; 10 d 后比较菌核产生情况。

1.2.2 碳源的影响 选用 5 种碳源: 葡萄糖、麦芽糖、乳糖、甘露糖、可溶性淀粉^[9]。用量以查氏培养基中蔗糖的含碳量(42.07%)为基值。各碳源平板上接种直径 4 mm 的病菌菌饼, 于 25℃ 恒温培养, 试验设重复 4 次。采用十字交叉法, 间隔 24 h, 计测菌落直径, 计算在不同碳源条件下的菌丝生长速度。10 d 后比较菌核产生情况。

1.2.3 氮源的影响 选用 7 种氮源: L-谷氨酸、L-丙氨酸、甘氨酸、硫酸铵、氯化铵、酵母浸粉、蛋白胨^[6]。用量以查氏培养基中硝酸钾的含氮量为基值(13.86%), 设置各氮源的浓度。培养和测量方法同上。

1.2.4 温度的影响 分别设置 0、5、10、15、20、25、30、35℃ 共 8 个温度梯度, 采用 PDA 平板培养基, 移植直径 4 mm 的病菌菌饼。重复 4 次。采用十字交叉法, 间隔 24 h, 计测菌落直径, 计算在不同温度条件下的菌丝生长速度。10 d 后比较菌核产生情况。

1.2.5 pH 值的影响 设 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0 共 9 个 pH 梯度, 采用 PDA 培养基, 用盐酸及氢氧化钠调节培养基酸碱度, 配制成不同 pH 值的培养基。移植直径 4 mm 的病菌菌饼, 于 25℃ 恒温培养 4 次重复。采用十字交叉法, 间隔 24 h, 计测菌落直径, 计算不同 pH 值条件下的菌丝生长速度。10 d 后比较菌核产生情况。

1.2.6 光照条件的影响 采用 PDA 培养基, 设计 3 种处理条件: 全光照、12 h 光暗交替、全黑暗, 每处理重复 4 次。移植直径 4 mm 的病菌菌饼, 于 25℃ 恒温培养。采用十字交叉法, 间隔 24 h, 计测菌落直径, 计算不同光照条件下的菌丝生长速度。10 d 后比较菌核产生情况。

2 结果与分析

2.1 症状描述

白菜叶腐病主要危害白菜叶片和叶柄。初期从叶缘发病, 病部呈水浸状湿腐病斑; 生长期可逐渐扩大危害整个叶片; 贮藏期白菜叶柄也可被丝核菌侵染, 初期病部产生小黑点, 逐渐扩大凹陷成褐色至深褐色大斑, 有时斑面显现隐约的轮纹, 病斑上密生灰白色菌丝, 逐渐集聚成团, 最后形成褐色菌核; 病斑大小为 1~4 cm, 后期病叶腐烂。

2.2 病原鉴定

病菌菌落初期灰白色, 渐变为淡褐色, 平整, 生长速度快, 25℃ 下培养 3 d 后, 直径可达 80 mm, 7 d 即可产生菌核。菌丝初期灰白色, 渐变为淡褐色, 直径 12~14 μm; 菌丝分支处有缢缩, 近分支处形成隔膜。菌核由菌丝纠集生成, 褐色, 内外颜色一致, 表面粗糙, 大小均一, 可聚集联结; 无性态不产生孢子。依据《真菌鉴定手册》^[10], 参考前人资料, 确定该病原菌为立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kühn)。

2.3 菌丝生长、菌核形成与培养条件的关系

2.3.1 培养基 试验结果表明, 在不同培养基上病菌菌丝的生长速度差异显著(图 1)。在燕麦片琼脂培养基上生长最快, 但菌丝稀薄, 而在 PDA 培养基上, 菌丝生长较快, 菌丝较厚, 菌丝长势较好, 病菌在孟加拉红培养基上生长最慢, 查氏培养基利于菌核形成。

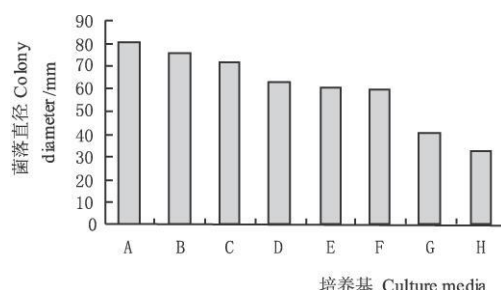


图 1 培养基对病原菌菌丝生长的影响

注: A. 燕麦片; B. PDA; C. PSA; D. 白菜煎汁; E. 沙氏; F. 查氏; G. 胡萝卜; H. 孟加拉红。

Fig. 1 Effect of culture media on mycelial growth

Note: A. Oats agar; B. Potato Dextrose agar; C. Potato Sugar agar; D. Cabbage Dextrose agar; E. Sabouraud's agar; F. Czapek; G. Carrot Dextrose agar; H. Rose Bengal Medium.

2.3.2 碳源 由图 2 可知, 不同碳源对菌落生长具有明显影响, 菌丝在以淀粉为碳源的查氏培养基上生长最快, 在葡萄糖上生长最慢。生长速率顺序为: 淀粉>蔗糖>甘露糖>乳糖>麦芽糖>葡萄糖。以淀粉和蔗糖为碳源的查氏培养基上较早产生菌丝团, 所以菌核形成也比其他碳源的培养基早; 病菌在不同培养基上菌丝疏密程度也存在着明显差异, 以甘露糖为碳源的查氏培养基上菌丝极少; 以乳糖为碳源的查氏培养基上气生菌丝很多, 菌丝较厚。

2.3.3 氮源 菌丝在以酵母浸膏为氮源的查氏培养基上生长最快, 在谷氨酸上生长最慢(图 3)。而且病菌在不同培养基上菌丝疏密程度也存在着明显差异, 以酵母浸膏为氮源的查氏培养基上菌丝层厚, 气生菌丝多, 而丙氨酸培养基上菌丝稀少, 清晰可辨。在各培养基上菌核形成的情况也各不相同, 以酵母浸膏为氮源的查氏培养基上主要在培养皿边缘一周产生细密的菌核; 然而丙氨酸培养基上几乎不产生菌核; 硫酸铵培养基上主要在

气生菌丝上形成菌核,小而多,直径 1 mm;甘氨酸培养

基形成的菌核较大,2~3 mm。

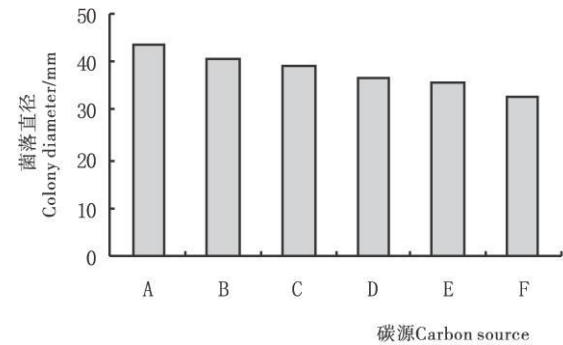


图 2 碳源对菌丝生长的影响

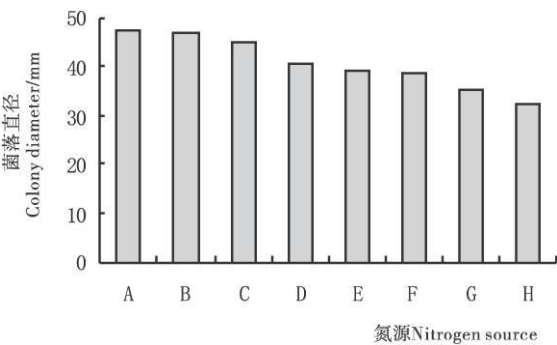


图 3 氮源对菌丝生长的影响

注: A. 淀粉; B. 蔗糖; C. 甘露糖; D. 乳糖; E. 麦芽糖; F. 葡萄糖。注: A. 酵母浸膏; B. 丙氨酸; C. 蛋白胨; D. 硝酸钾; E. 氯化铵; F. 硫酸铵; G. 甘氨酸; H. 谷氨酸。
Fig. 2 Effects of carbon sources on mycelial growth Fig. 3 Effect of nitrogen on mycelial growth
Note: A. Soluble starch; B. Sucrose; C. Mannose; Note: A. Yeast extract; B. Alanine; C. Pepton; D. Potassium nitrate; E. Ammonium chloride; F. Ammonium sulfate; G. Glycine; H. Glutamate acid.

2.3.4 温度 病原菌菌丝的生长在不同温度条件下差异显著。在 5~30℃条件下均可生长,20~25℃为生长的适宜温度,在 0℃及 35℃条件下,菌丝停止生长(图 4)。在 28℃时,最适于病原菌菌核的产生。

82.67、79.33、65.67 mm。pH 值为 7 时菌丝生长最快(图 5),且 pH 值为 7 时有利于产生菌核。

2.3.5 pH 值 pH 值 3~11 病原菌均可生长,其生长速度分别为:44.83、56.50、72.17、76.17、83.05、81.34、

2.3.6 光照 试验表明黑暗条件利于菌丝生长,而全光照与 12 h 光暗交替条件下菌丝生长缓慢(表 1)。光照条件对菌核形成有刺激作用。

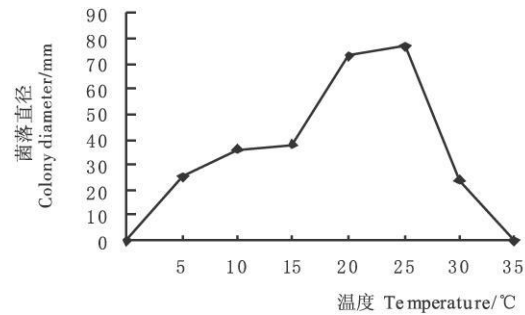


图 4 温度对菌丝生长的影响

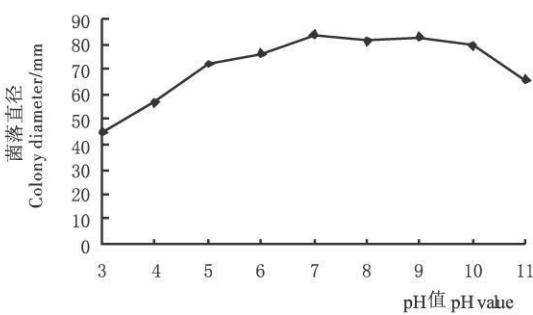


图 5 pH 值对菌丝生长的影响

Fig. 4 Effect of temperature on mycelial growth

Fig. 5 Effect of pH value on mycelial growth

表 1 不同光照对菌丝生长的影响			
Table 1 Effect of light on mycelial growth			
光照 Light	菌落直径 Colony diameter/ mm · d ⁻¹		
	1	2	3
全光培养 Total light culture	18.23	48.93	69.81
光暗交替 Alternately light and dark culture	19.75	49.88	70.13
暗培养 Total dark culture	20.17	49.67	80.33

3 讨论
根据植物真菌病害的常规方法对白菜丝核菌叶腐病进行了初步的研究,通过分离鉴定发现其致病菌为立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kühn)。
该试验结果表明,菌丝生长的最适培养基为 PDA

培养基;在可溶性淀粉和酵母浸膏为碳源和氮源的培养基上菌丝生长最快;20~25℃为病菌菌丝生长的最适温度;适宜 pH 值为 3~11,最适 pH 值为 7;黑暗条件有利于该菌菌丝的生长。在菌核形成方面,最适培养基为查氏培养基;在淀粉和蔗糖为碳源的培养基上有利于菌核的产生;在酵母浸膏为氮源的培养基上,培养皿边缘一周产生细密的菌核;以甘氨酸培养产生菌核较大,2~3 mm;硫酸铵培养产生菌核小而多,直径 1 mm;丙氨酸培养几乎不产生菌核;28℃为最适温度;最适 pH 值是 7;光照条件有利于菌核的形成。
试验结果表明,病菌的最适培养基为 PDA,这与其

它由立枯丝核菌引起的病害研究结果相似^[7-15], 而病菌的最适温度为 20 ~ 25 °C, 此结果与前人的研究报道有所差异^[16]。但此最适温度范围较低, 在一定程度上反应了该病在辽宁地区晚秋发生的吻合性。另外, 该菌 pH 适应范围广, 但该试验表明, 引起白菜叶腐病的致病菌立枯丝核菌应属于偏弱碱性菌, 这一点与其他同类病害的研究结果有一定差异^[7-15]。该菌在自然条件下存活力也很强。在生产防治上, 应注意控温和调节土壤酸碱度以减少病害的发生。

参考文献

- [1] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 北京农业出版社, 1998.
- [2] 周而勋, 杨媚. 从植物病组织中分离立枯丝核菌的快速、简便技术[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(1): 125-126.
- [3] 张敏, 陶家凤. 丝核菌分离方法的研究[J]. 四川农业大学学报, 1993, 11(2): 261-265.
- [4] 张天晓, 张志光. 立枯丝核菌 *R. Solani* Kuhn 的研究[J]. 湖南师范大学学报(自然科学版), 1986 9(1): 76-82.
- [5] 李世东, 陈延熙. *Rhizoctonia solani* 的一种选择性培养基[J]. 植物病理学报, 1989, 19(3): 189-192.
- [6] 林清, 陶家凤. 立枯丝核菌对碳、氮营养的需求[J]. 四川农业大学学报, 1992, 10(3): 484-490.

- [7] 何苏琴. 引起辣椒茎腐和根腐的立枯丝核菌的生物学特性及致病性研究[J]. 甘肃农业科技, 2002(9): 44-45.
- [8] 唐朝荣, 纪明山, 陈捷. 等. 辽宁省玉米纹枯病病原学研究[J]. 植物病理学报, 2000, 30(4): 319-326.
- [9] 徐家兰, 周保亚, 刘逸卿. 等. 玉米纹枯病菌生物学特性初步研究[J]. 植物保护, 1997, 23(2): 29-30.
- [10] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [11] Dorrance A. E. McClure S. A., Tuttle N. T. Temperature, moisture and seed treatment effects on *Rhizoctonia solani* root rot of soybean[J]. Plant Disease, 2003, 87(5): 533.
- [12] Ogoshi A. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* K h[J]. Annu Rev Phytopathol, 1987, 25: 125-143.
- [13] Cubeta M. A., Vilgalys R. Population biology of *Rhizoctonia solani* complex[J]. Phytopathol, 1997, 87(4): 480-484.
- [14] Liu Z. L., Nickrent D. L., Sinclair J. B. Genetic relationships among isolates of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 2 based on isozyme analysis[J]. Can J Plant Pathol, 1990, 12: 376-382.
- [15] Pailmeter J. R., Sherwood R. T., Platt W. D. Anastomosis groups among isolates of *Thanatephorus cucumeris* [J]. Phytopathol, 1969(9): 1270-1278.
- [16] 商鸿生. 白菜甘蓝萝卜类蔬菜病虫害诊断与防治原色图——蔬菜病虫害图谱诊断与防治丛书[M]. 北京: 金盾出版社, 2003.

Identification and Biological Characteristics of Pathogen of Chinese Cabbage *Rhizoctonia* Leaf Rot

LIU Zhi-heng, LI Yan-jun, YANG Hong, QIAN Guo-dong, SUN Jun

(College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China)

Abstract: The results showed that the pathogen of Chinese cabbage *Rhizoctonia* leaf rot was *Rhizoctonia solani*. The optimum conditions for mycelia growth were that 20 ~ 25 °C, pH 7, PDA culture medium and darkness. Through carbon sources testing, soluble starch was found to support mycelium growing well. Among the nitrogen sources tested, yeast extract supported the fastest growth of mycelium; The optimum conditions for sclerotia generation were that 28 °C, pH 7, Czapek culture medium and light; The beneficial carbon sources for the formation of sclerotia were soluble starch and sucrose; Small and more sclerotia were formed on the mycelium in the ammonium sulfate culture medium; The sclerotia which were formed in the glycine culture medium were larger.

Key words: Chinese cabbage *Rhizoctonia* leaf rot; *Rhizoctonia solani*; Biological characteristic