

向日葵核盘菌菌株致病性研究及其温度效应^{*}

李建厂, 李永红, 陈文杰, 李殿荣
(陕西省杂交油菜研究中心, 大荔 715105)

摘 要: 通过对阿勒泰、大荔 2 地的向日葵核盘菌样品进行单菌分离、培养、纯化, 比较其菌丝生长速度、菌丝产量、菌落形态、致病性强弱及萌发特性等, 将 2 地的向日葵核盘菌分成 S、SI、SII 3 种类型, 其中 S、SI 来源于新疆阿勒泰, SII 来源于陕西大荔。S、SII 类菌株生长正常, 菌落均匀旺盛, S 对向日葵、油菜、大豆的致病性强, 而 SII 类仅对向日葵和油菜的致病性较强对大豆的致病性较弱, SI 类菌株生长异常, 菌落稀薄不均匀, 对 3 种作物的致病性均弱。将 3 类菌株分别在 12、18、24 和 28℃ 条件下培养核盘菌菌核, 再在 16、20、24、28 和 32℃ 下诱导菌核萌发。结果表明 S、SI 类菌株在 12~ 18℃ 下形成的菌核易在 16~ 20℃ 下萌发出子囊盘, 而 SII 类菌株则不能萌发, 但在 24~ 28℃ 下形成的菌核于 16~ 24℃ 下萌发出子囊盘, 这说明向日葵菌核的萌发与菌株来源有一定的关系, 而致病性与菌株来源关系不明显。

关键词: 向日葵; 核盘菌; 致病性; 温度; 效应

中图分类号: S565.5 S432.4+4 文献标识码: A 文章编号: 1004-1389(2003) 01-0114-04

Study on Pathogenicity of Sunflower *Sclerotinia Sclerotiorum* and Effect of Temperature

LI Jian-chang, LI Yong-hong, CHEN Wen-jie, LI Dian-rong
(Hybrid Rapeseed Research Center of Shaanxi Province, Dali 715105, China)

Abstract Single strain isolation was carried out on sunflower *S. Sclerotiorum* come from Aletai and Dali. The isolates can be divided into 3 types, named as S, SI and SII, through the comparison of the growth speed, the production of mycelium, clony pattern, pathogenicity and sclertial germination. SII came from Dali of Shaanxi, S and SI came from Aletai of Xinjiang among these isolates. S and SII grew normally and the clony was regular and vigorous. S had strong pathogenicity to sunflower, oilseed rape and soybean, however, SII had strong pathogenicity to sunflower and oilseed rape only, to soybean it had weak pathogenicity. SI grew weakly and the clony was tenuous and unregular, it had weak pathogenicity to above three crops. The sclerotial of 3 isolates were produced at 12, 18, 24, 28℃ on PDA plates. Then, they were induced to germinate under 16, 20, 24, 28, 32℃. The result showed that the sclerotials of S and SI that formed under 24~ 28℃ only could germinate under 16~ 24℃. It indicated that the germination of sunflower sclerotial of *S. Sclerotiorum* is related to some extent with origin of pathogen isolates and pathogenicity has no distinct relation with origin.

Key words Sunflower; *S. Sclerotioum*; Pathogenicity; Temperature; Relation

向日葵菌核病 [*Sclerotinia Sclertiorum* (Lib) de Bary] 是向日葵的主要病害之一, 国内主要发 生在东北、内蒙古、西北等地, 对向日葵为害十分严重, 有的地区甚至因此停种, 或播种面积锐

^{*} 收稿日期: 2000-04-01

基金项目: 中-波科技合作(国科外字[2001]0048-75)资助项目。

作者简介: 李建厂(1974-), 男, 陕西礼泉人, 助理农艺师, 从事植物保护研究。联系电话: 0913-3641033。

减^[1],严重地制约了我国向日葵种植业的稳步发展。在向日葵菌核病侵染循环中,菌核是该病越冬越夏萌发产生子囊盘或菌丝,构成初次侵染来源的重要环节。华致甫^[2]等研究认为不同温度对向日葵菌核病子囊盘形成的影响不同,并以 10℃ 形成最多。Keay^[3]、Purdy^[4]及 Huang^[5]的研究均表明,低温($\leq 20^{\circ}\text{C}$)下形成的菌核易萌发产生子囊盘,而高温(25~30℃)下形成的菌核则需要经过 10℃ 低温处理一段时间才能萌发形成子囊盘。李国庆^[6]等则认为核盘菌菌株间菌核萌发习性存在着明显的多样性,且具有遗传稳定性,不同寄主上核盘菌群体菌核萌发存在差异。关于向日葵菌核病由于菌核萌发侵染的方式不同,前人将其症状分为盘腐型、茎枯型和根腐型 3 种。我国东北、内蒙古等地以盘腐型为主,而西北以根腐型为主^[7]。因此研究菌核萌发条件及其致病性对于向日葵菌核病的防治具有重要的理论和应用价值。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

向日葵上的 28 个核盘菌菌株均来自新疆阿勒泰地区和陕西大荔县的 2 块向日葵种植田的菌核样品 Sun1~Sun3 中不同单菌核分离物。其中由 Sun1 分离获得 16 个菌株, Sun3 分离获得 12 个菌株。

1.2 培养特性比较

用 PDA 培养基在 22℃ 下培养各菌株,并纯化 2~3 次,取生长活跃的菌丝(琼脂块直径为 6 mm)转接于含定量 PDA (20 mL/皿、皿直径为 9.0 cm)的培养皿中央,在 22℃ 下的光照培养箱中弱散射光培养,每 8 h 测量一次菌落直径,以计算菌丝生长速度,并观察菌落形态和菌核的产生,重复 4 次。选择生长特性不同的代表菌株转接于含定量马铃薯蔗糖培养液(20 g 马铃薯, 20 g 蔗糖, 2.5 g KH_2PO_4 , 1.25 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)的三角瓶中,在 22℃ 恒温下振荡培养,5 d 后用滤纸收集菌丝测定菌丝生长量,重复 4 次。

1.3 不同温度下菌核的培养

选择生长特性不同的代表菌株,移接于含定量 PDA 培养基(20 mL/皿)的平板中央,分别置于 12℃、18℃、24℃ 和 28℃ 下培养,观察菌丝生长速度和菌核的产生,重复 4~5 次。2 个月后收集各菌株在不同温度下形成的菌核。

1.4 菌核萌发的诱导

将洗净的河沙盛于培养皿(直径 9.0 cm),加水至砂表潮湿,121℃ 下灭菌 1.5 h,再将各菌株在不同温度下形成的菌核置于砂表,每皿 25~30 粒,分别置于 16℃、20℃、28℃ 和 32℃ 下,并保持砂表潮湿,各处理重复 3 次。在菌核萌发出子囊柄后,加弱散射光以诱导子囊盘的形成,2 个月后统计菌核萌发情况。

1.5 致病性测定

供试向日葵品种 G10₁、E₁、F₂ 由陕西省种子公司提供。油菜品种秦油二号、秦优 7 号、中油 821;大豆品种秦豆 8 号均由陕西省杂交油菜研究中心提供。采用离体叶片法测定向日葵上的各类代表菌株对向日葵、油菜和大豆的致病性,每菌株接种 25 个叶片,重复 3 次。在侵染后 96 h 对不同作物叶片上的病斑直径进行测量,并以不同作物为类别,计算其平均值来表示不同菌株对各作物的致病性强弱。

2 结果与分析

2.1 相同温度下菌株的培养特性

在 22℃ 恒温下的 PDA 平板上,根据菌丝生长速度、菌核产量、菌核形成分布情况以及各菌株在马铃薯蔗糖培养液中的菌丝产量,可将 2 样品的向日葵核盘菌株分为三类即: S、SI、SII,其中 S、SI 来源于新疆, SII 来源于陕西。S 类菌株的菌落致密,不宜老化,菌核呈同心双环排列,菌核多为条形且与菌基紧切,菌丝生长较快,平均生长速度为 5.6 cm/d,平均菌核产量 42 粒/皿,菌丝产量为 0.175 g/瓶。SI 类菌株比 S 类的菌落薄,菌丝疏松,很易老化,菌核散布于培养基上,菌核多呈椭圆形,成熟后易脱离基质,菌丝生长缓慢,平均为 1.41 cm/d,平均菌核产量 14 粒/皿,菌丝产量 0.195 g/瓶。SII 类菌株的菌落形态与 S 类相似,但真菌生长速度快,为 7.26 cm/d,菌丝产量比 S 多 0.112 g/瓶,而其菌核产量却比 S 少 29 粒/皿。

2.3 温度对各菌株的菌丝生长及菌核形成的影响

图 1 表明,在不同温度下 3 类菌株的菌丝在 PDA 平板上的生长速度不同: 其中 SII 在各相应温度条件下,生长速度均大于 S 和 SI, SI 次之, SI 生长最慢。3 类菌株的菌丝生长的最适温度均为 24℃,在 12℃ 下生长较慢。表 1 所示三类

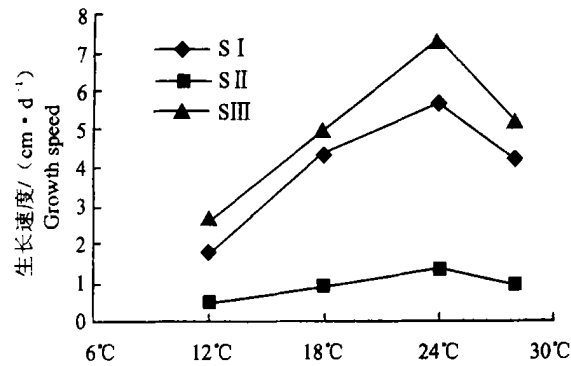


图 1 不同温度下菌丝生长速度比较

Fig. 1 Comparison of mycelium growth speed under different temperature

菌株 12~ 28℃ 范围内均能形成菌核,在 24℃ 下菌核形成的时间最早,28℃ 下形成的菌核数最多,分别为 45.5 粒/皿、22.7 粒/皿和 47 粒/皿,而 18℃ 下各类菌株形成的菌核干重最大分别为 0.408 g、0.184 g 和 0.34 g/皿,三类菌株均易在较低温度(12℃)下形成数量不等的大型菌核(单核重>

0.03 g),其中以 S II 形成大型菌核最多。这与李丽丽等^[8]研究的油菜核盘菌相似。

2.3 温度对菌核萌发的影响

菌核的萌发不但与形成温度有关,而且与诱导萌发的温度有关。研究表明(表 2),S、S I 两类菌株在 12℃、18℃ 下形成的菌核在 16℃ 下均能萌发,并有 6%~ 100% 萌发出子囊柄,其中又有 90.9% 萌发出子囊盘,而在 20℃ 下只有 S 萌发出子囊柄,而 S II 则不能,且均无子囊盘产生;24℃ 下形成的菌核在 16~ 20℃ 可萌发出子囊柄但较少。而 28℃ 下形成的菌核均不能萌发。S 形成的子囊柄大部分为深褐色,S I 形成的子囊柄为浅褐色或白色;S II 菌株在 12℃ 和 18℃ 下形成的菌核均不能萌发,而 24℃ 下形成的菌核可在 16~ 24℃ 下萌发子囊柄,其中仅 16℃ 下的有 20% 萌发出子囊盘,28℃ 下形成的菌核只可在 16~ 20℃ 下萌发子囊柄,且 16℃ 下有少量子囊盘产生。

表 1 不同类型菌株在不同温度下形成菌核特性比较

Table 1 Comparison of sclerotial characteristic of different isolates type under different temperature							
菌株类型 Isolates	温度 /℃ Temperature	菌核原基 形成时间 /h Time of sclero- tial anlage formed	菌核出现 时间 /h Time of sclero- tium appearance	菌核形成时间 /h Time of sclero- tium formed	菌核 / (个·皿 ⁻¹) Number of sclerotium /plate	大型菌核 / (个·皿 ⁻¹) Number of large sclerotium /plate	菌核干重 / (g·皿 ⁻¹) Dry weight /(g /plate)
S	12	156	216	258	28.0	4.6	0.220
	18	78	96	132	34.0	3.5	0.408
	24	66	72	114	42.0	0.0	0.320
	28	72	108	138	45.5	0.0	0.217
S I	12	180	240	294	10.2	3.3	0.110
	18	96	120	159	12.1	1.0	0.184
	24	80	88	120	14.0	0.0	0.149
	28	78	114	144	22.7	0.0	0.120
S II	12	192	228	264	20.0	9.0	0.300
	18	90	114	132	25.0	6.0	0.340
	24	78	84	120	29.0	0.0	0.300
	28	78	120	138	47.0	0.0	0.300

表 2 不同菌株在不同温度下形成的单孢菌核萌发率比较

Table 2 Comparison of germination rate of singular spore sclerotial that formed different isolates under different temperature								
菌株类型 Isolates	菌核数 /个 No. of sclerotial	菌核形成温度 /℃ Temperature of sclerotial formed	萌发率 Germination rate /%					
			16℃	20℃	24℃	28℃	32℃	
S	27	12	100.00	20.00	0.00	0.00	0.00	
	30	18	67.67	16.00	0.00	0.00	0.00	
	35	24	0.00	6.14	0.00	0.00	0.00	
	26	28	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
S I	29	12	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	31	18	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	28	24	40.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	25	28	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
S II	26	12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	28	18	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	32	24	100.00	100.00	20.00	0.00	0.00	
	30	28	85.71	42.90	0.00	0.00	0.00	

2.4 向日葵上代表菌株的致病性分化

本研究中的 3类菌株在不同作物上的致病性存在明显差异(表 3),其中 S 对向日葵、油菜和大豆的致病性较强,而 SI 对三类作物的致病性均较弱, SII对向日葵和油菜的致病性较强,但对

大豆的致病性较弱。 3类菌株在大豆、向日葵、油菜上的致病性强弱顺序分别为: S > SI > SII ; S > SII> SII ; SII> S > SI ,而且它们对于同一作物的不同品种的致病性趋势相同。

表 3 不同类型菌株致病性比较

Table 3 Comparison of pathogenicity of different isolates						
菌株类型 Isolates	秦豆 8号	Qindou No. 8	油菜	Rapeseed	向日葵	Sunflower
	显症时间	病斑直径	显症时间	病斑直径	显症时间	病斑直径
	Time of disease emerge/h	Diameter of disease spots /cm	Time of disease emerge/h	Diameter of disease spots /cm	Time of disease emerge/h	Diameter of disease spots /cm
S	36	3. 50	48	3. 70	54	5. 50
SI	72	1. 80	78	0. 76	96	0. 34
SII	84	0. 40	42	4. 50	60	3. 20

3 讨论

本试验中 3类核盘菌菌丝生长速度存在明显差异。 其中 SII类菌株的菌丝生长速度最快, S 次之。 3类菌株菌丝的生长规律相同,均于 24℃下生长最快。

菌核的萌发与温度、湿度、光照、pH以及菌株的地理来源有一定联系。 本研究对从新疆和陕西采集的 28株向日葵核盘菌进行培养比较,将其分成 S、SI、SII三种类型。 一般情况下各类菌株在湿度、光照等条件适宜时温度对菌核的产生和萌发起着重要作用, Huang 等^[10]的研究认为: 25℃~ 30℃下形成的菌核必须经过 10℃低温处理一段时间才能萌发形成子囊盘。 本研究中来源于陕西的菌株 SII在 28℃下形成的菌核则不必经过 10℃低温处理就可产生子囊盘,而在 12℃和 18℃形成的菌核却不能萌发子囊柄;来源于新疆的菌株 S、SI 在 12~ 24℃下形成的菌核可以萌发,而 28℃下形成的菌核不能萌发。 二者的差异可能是来源于不同地区的菌株在不同的生态条件下长期影响所造成的。

向日葵核盘菌具有广泛的地理分布和寄主范围。 菌株在不同寄主上的致病特异性应该是它与寄主长期相互作用的结果,它们相互作用的时间越长,其特异性可能越明显。 同时,在同一寄主上的菌株其致病性也存在分化现象(表 3)。 本研究向日葵核盘菌株 SII采自连年进行小麦油菜轮作而首次种植向日葵的地中,因此它的最初寄主是油菜,因而还保持着油菜菌株的特性,它对油菜的致病性大于对向日葵和大豆。 菌株 S、SI 均来自新疆阿勒泰的向日葵,但 SI 对各寄主的致病性明显大于 S,在寄主间 S 对向日葵的致病性

最强, SII 虽然来源于向日葵但它对大豆的致病性较强。 可见向日葵核盘菌株 S、SI、SII对不同寄主的致病性存在特异性,同时 SI、SI 菌株间的致病性又存在分化现象。 目前,已在多种植物病原群体中发现衰退或弱毒性现象,其共同特点是菌丝生长速度慢,菌落异常,菌核产量低,致病性弱,表现为弱毒,并且这种弱毒能够转移。 利用这种性质进行生物防治已引起人们的密切关注。 本研究中的 SI 菌株具有弱毒菌株的特性,关于此类菌株的利用还有待进一步研究。

参考文献:

[1] 华致甫,刘学敏,李 玉,等. 吉林省向日葵菌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.

[2] 华致甫,曲熹云,刘学敏,等. 向日葵菌核病子囊盘产生条件的研究 [J]. 植物病理学报, 1992, 22(1): 10.

[3] Keay M. A. A study of certain species of the genus *Sclerotinia* [J]. Ann. Appl. Biol. 1939. 26 227~ 246.

[4] Purdy L. H. Factors affecting apothecial production by *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Phytopathology, 1956. 46: 409 ~ 410.

[5] Huang H. C., Kozub G. C. A simple method for production of apothecia from sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Plant Prot. Bull, 1989. 31: 333~ 345.

[6] 李国庆,王道本,周 启,等. 核盘菌菌核萌发多样性的研究 [J].植物保护学报, 1997, 24(10): 59~ 64.

[7] 兰海燕. 几种向日葵菌核病抗性鉴定方法的比较 [J]. 植物保护, 2000, 26(6): 26~ 28.

[8] 李丽丽,黄早花,王圣玉. 油菜菌核病病原生态条件研究 [J].中国油料, 1986. 1: 75~ 78.

[9] 周东聪. 油菜菌核病流行与防治的研究概况 [J]. 中国油料, 1994, 4(增刊): 101~ 108.

[10] Huang H. C., Kozub G. C. Temperature requirements for carpogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. isolates of different geographic origin [J]. Bot. Bull Academia Sinica, 1991. 32 279~ 286.