

小麦根腐病菌鉴定及其生物学特性测定

刘正坪¹, 王立新², 李荣禧¹, 刘彩凤¹, 李永杰³

(1. 内蒙古农业大学, 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古农业厅植保站, 呼和浩特 010010;

3. 内蒙古五原县农业局, 内蒙古 五原 015100)

摘要: 分离鉴定小麦根腐病菌, 并对其生物学特性测定, 结果表明, 小麦根腐病菌属于半知菌亚门平脐蠕孢属麦根腐平脐蠕孢(*Bipolaris sorokiniana*(Sacc.) Shoemaker)。该菌生长的最适温度为 30 ℃, 最适 pH 值为 7, 最适培养基为 PDA, 60 ℃ 5 min 为致死温度。分生孢子在水滴中才能萌发, 萌发的最适 pH 值为 7, 最适温度为 25 ℃, 在供试的营养液中, 以土壤浸液中萌发率最高。

关键词: 小麦根腐病; 病原鉴定; 生物学特性

中图分类号: S435.121.4⁺8 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2002)02-0044-05

小麦根腐病是一种全球性病害, 也是我国小麦重要病害之一, 严重时小麦幼苗根和茎基发生褐色腐烂, 成株后茎、叶早枯, 不结实或子粒不饱满, 给小麦产量带来很大的损失。由于此病难以防治, 成为生产中的一大难题, 已引起国内外普遍的关注^[1~3]。在内蒙古西部地区小麦根腐病发生日趋严重, 但对其系统研究甚少, 本试验主要对病原菌进行了鉴定和生物学特性的测定。

1 材料和方法

1.1 菌种鉴定

1.1.1 分离培养 采集小麦根腐病株, 冲洗根部, 常规表面消毒后, 采用组织分离法于 PDA 平板上分离培养, 长出菌落后移入试管斜面, 待纯化。

1.1.2 纯化(单胞分离) 配制孢子悬浮液(低倍镜下每视野 20~30 个孢子), 采用稀释划线法于水琼胶平板上进行单胞分离, 1~2 d 后, 迎光透视, 将单胞菌落移至试管斜面中, 待鉴定。

1.1.3 培养性状及生长速度 将单胞菌落接于 PDA 平板上, 30 ℃温箱培养 5 d 后, 观察菌落形状、颜色、气生菌丝生长状况, 产孢量, 并测量菌落直径。

1.1.4 分生孢子形态及大小测量 挑取 PDA 试管斜面培养的菌种, 观察描述分生孢子及分生孢子梗的形状, 并在显微镜下进行测量。

1.2 生物学特性测定

1.2.1 营养生长 ①生长的最适温度: 将菌丝, 置于 PDA 平板上, 分别在 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 ℃下培养, 每处理重复 4 皿, 在 3, 5, 7, 10, 15 d 时测量菌落直径;

②生长最适 pH 值: 将菌丝分别挑入 pH 值为 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5 的 PDA 平板中央, 每处理重复 3 皿, 于 30 ℃温箱中培养, 在 3, 5, 7, 10, 15 d 时测量菌落直径; ③生长适宜的培养基: 将菌种分别接入 PDA、PSA、PDA+ 麦根汁(5%)、水琼脂+ 麦根汁、土壤浸液、水琼胶等平板上, 每处理重复 4 皿, 于 30 ℃温箱中培养, 在 3, 5, 7, 10, 15 d 时测量菌落直径。

1.2.2 孢子萌发 ①孢子萌发的最适营养液: 分别用 1% 葡萄糖、1% 蔗糖、蒸馏水、10% 麦根汁、10% 土壤浸液配制孢子悬液, 浓度为低倍镜下每视野 20~ 30 个孢子, 采用载玻片法, 在培养皿中 25 ℃下进行孢子萌发试验, 分别在 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 时镜检, 记录各处理的孢子萌发情况; ②孢子萌发的最适 pH 值: 分别用 pH 值为 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5 的土壤浸液配制孢子悬液, 按上述方法进行孢子萌发试验; ③孢子萌发的最适温度: 用 pH 值为 7 的土壤浸液配制孢子悬液, 采用以上方法, 分别于 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 ℃下培养, 观察记载孢子萌发情况; ④孢子萌发的最适湿度: 将 pH 值为 7 的土壤浸液配制的孢子悬液滴于载玻片上自然风干, 分别置于 RH 为 50%, 65%, 70%, 95% 的保湿器中, 25 ℃下培养, 设不风干的孢子悬液为对照, 按以上的方法观察记载孢子萌发情况。

1.2.3 致死温度 将在试管斜面上培养 4 d 的小麦根腐病菌分别放入温度为 35, 40, 45, 50, 55, 60 ℃的水浴锅内, 每温度放 4 个试管, 分别在 5, 10, 15, 20 min 各取一管, 在无菌条件下将菌丝挑入 PDA 平板上, 于 30 ℃温箱内培养, 观察生长状况。

2 结果与分析

2.1 菌种鉴定

2.1.1 培养性状 菌落圆形, 深绿色至黑绿色, 气生菌丝较繁茂, 绒毡状, 产孢量大, 培养 5 d 时, 菌落直径为 5.8 cm。

2.1.2 分生孢子形态及大小 分生孢子梗单生或数根丛生, 多隔膜, 有明显的孢痕, (90~ 265) μm \times (5~ 9) μm 。分生孢子褐色, 长椭圆形或长梭形, 大多直, 3~ 9 个隔膜,

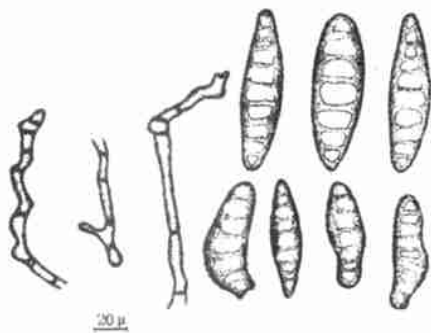


图 1 小麦根腐菌分生孢子梗及分生孢子

(32.4~ 75.6) μm \times (16.2~ 27) μm ; 脐点宽大, 基部平截(图 1)。根据培养性状及形态特征, 小麦根腐病原菌为平脐蠕孢属麦根腐平脐蠕孢(*Bipolaris sorokiniana* (Sacc) Shoem)。

2.2 生物学特性测定

2.2.1 营养生长 生长的最适温度: 菌种于不同温度下培养, 测量其生长速度结果见表 1。结果显示, 该病原菌在 5~ 35 ℃均能生长, 10 ℃以下、35 ℃以上能生长但速度减慢, 如 30 ℃下 7 d 内就能长满培养皿, 15~ 25 ℃需要 10 d, 10 ℃时则需 15 d, 35 ℃下第 15 d 仍未长满全皿, 40 ℃下停止生长。因此, 30 ℃为该菌生长的最适温度。

生长的最适 pH 值: 测量不同 pH 值 PDA 平板培养的根腐病菌菌落直径, 结果见表 2。结果表明, 该病原菌在 pH 值 5~ 8.5 范围内均可生长, 但以中性偏酸条件下, 即 pH 值为

6.0, 6.5, 7.0 时生长较快, 3 d 时菌落直径最大, 7 d 时, 即长满整皿。

表 1 小麦根腐病菌不同温度下菌落生长速度

培养时间 (d)	菌落直径(cm)							
	5℃	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃	35℃	40℃
3	0.5	0.6	2.4	2.5	2.9	3.6	2.2	0
5	0.9	2.3	4.7	5.0	5.2	5.8	4.4	0
7	1.5	3.0	5.9	6.8	7.5	满皿	5.5	0
10	2.3	5.9	满皿	满皿	满皿		6.2	0
15	3.2	满皿					7.7	0

表 2 小麦根腐病菌不同 pH 条件下菌落生长速度

培养时间 (d)	pH 值	菌落直径(cm)							
		5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5
3		2.7	3.8	4.0	4.0	4.0	3.6	3.3	3.4
5		7.7	5.9	8.5	8.5	8.6	7.5	7.5	7.2
7		8.7	8.7	满皿	满皿	满皿	8.5	8.6	8.5
8		满皿	满皿				满皿	满皿	满皿

生长的最适培养基: 用不同培养基 30℃培养根腐病菌, 生长速度测定结果见表 3。从表 3 中显示, 该菌在供试的几种培养基上均能生长, 从生长速度上看, 除水琼脂和土壤浸液两种培养基上前期生长速度略慢, 达到满皿所需时间长外, 其他几种培养基上生长速度无明显差异, 9~10 d 均能长满培养皿, 尤以在 PDA 上所需时间最短, 是其生长的最适培养基。并且在水琼脂+麦根汁、土壤浸液、水琼胶平板上, 气生菌丝稀薄, 颜色浅, 为灰白色, 镜检未发现分生孢子。

表 3 小麦根腐病菌在不同培养基上生长速度

培养时间 (d)	菌落直径(cm)					
	PDA	PSA	PDA+ 麦根汁	琼脂+ 麦根汁	土壤浸液	水琼胶
3	3.9	3.6	3.9	3.4	2.4	1.9
5	7.2	6.5	6.7	6.4	3.4	3.8
7	满皿	8.2	7.8	8.6	5.5	5.5
10		满皿	满皿	满皿	6.7	7.0
15					满皿	满皿

2.2.2 孢子萌发 孢子萌发的最适营养液: 小麦根腐病菌的分生孢子在不同营养液中萌发结果见表 4, 从表中结果看出, 该菌的分生孢子在供试的几种营养液中均可萌发, 但以土壤浸液中萌发效果最好, 24 h 时萌发率达 70% 以上, 蒸馏水中萌发效果最差, 24 h 时萌发率仅为 50%, 其他几种液体中孢子的萌发情况基本一致。

表 4 小麦根腐病菌分生孢子在不同营养液中的萌发率

镜检时间 (h)	萌发率(%)				
	蒸馏水	10% 麦根汁	10% 土壤浸液	1% 葡萄糖	1% 蔗糖
4	5.2	14.3	22.8	23.5	28.1
8	39.7	42.0	46.2	43.8	42.0
12	43.3	45.0	52.8	44.4	48.8
16	43.7	54.0	57.0	44.6	50.0
20	50.0	56.0	68.8	64.8	55.1
24	50.2	60.0	70.1	68.3	55.7

孢子萌发的最适 pH 值: 分生孢子在不同 pH 值液滴中萌发结果如表 5 所示, 分生孢子

在 pH 值 5.0~ 8.5 范围内均可萌发, 处理后 4 h 就有少量孢子开始萌发, 但以 pH 值 6.0~ 7.5 萌发效果较好, 24 h 时萌发率均在 58% 以上, 其中 pH 值为 7.0 的条件下孢子萌发效果最好, 各个时间镜检孢子萌发率均高于其他处理, 24 h 萌发率达 66% 以上。

表 5 小麦根腐病菌分生孢子在不同 pH 下的萌发率

镜检时间 (h)	萌发率(%)								
	pH 值	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5
4		31.1	39.0	39.5	46.9	49.4	37.2	27.2	25.4
8		32.3	39.9	46.7	47.7	50.9	41.9	34.1	32.0
12		40.7	41.3	47.8	49.1	53.9	43.3	35.9	35.0
16		41.9	45.3	48.0	54.3	54.6	44.8	40.5	38.3
20		43.9	52.6	54.7	54.7	63.8	50.0	46.2	40.4
24		46.9	55.1	58.4	59.6	66.5	58.2	50.0	48.5

孢子萌发的最适温度: 由表 6 可看出, 小麦根腐病菌分生孢子在 5~ 40 ℃ 范围内均可萌发, 但以 25~ 30 ℃ 为萌发最适温度, 各时间镜检孢子萌发率均高于其他温度处理, 其中以 25 ℃ 为最佳, 24 h 时萌发率可达 67%, 10 ℃ 以下、35 ℃ 以上萌发效果较差, 萌发率极低。

表 6 小麦根腐病菌分生孢子在不同温度下的萌发率

镜检时间 (h)	萌发率(%)							
	5 ℃	10 ℃	15 ℃	20 ℃	25 ℃	30 ℃	35 ℃	40 ℃
4	0.8	4.1	18.3	20.0	40.0	38.9	14.7	10.6
8	4.2	8.1	22.1	24.3	50.2	39.7	15.2	12.5
12	6.2	11.5	23.4	33.2	50.9	47.4	18.9	12.7
16	14.5	20.6	32.4	40.4	53.8	48.9	27.5	21.3
20	26.3	28.6	32.7	41.2	57.1	54.3	28.7	23.3
24	26.4	31.5	36.5	42.1	67.1	54.9	31.2	30.8

孢子萌发的最适湿度: 如表 7 所示, 在不同空气相对湿度(RH)处理下孢子萌发远不如在水滴中, RH 为 50%~ 70% 时, 前期孢子不萌发, 随着时间的推移有极少量孢子萌发, RH 95% 处理下, 孢子能够萌发, 但萌发率较低, 而水滴中 24 h 孢子萌发率达 60% 以上, 提高相对湿度孢子萌发率也有所提高, 如 24 h 镜检在 RH 为 50%, 65%, 70%, 95% 处理下的孢子萌发率分别为 2.1%, 4.1%, 5.0%, 11.2%。

2.2.3 生长的致死温度 小麦根腐病菌经不同温度水浴处理 5, 10, 15, 20 min 后回接到 PDA 平板上, 生长状况见表 8。由表 8 可明显看出, 35~ 55 ℃ 不同时间处理后回接的菌种均能生长, 而 60 ℃ 处理的无论时间长短回接后均无生长现象, 由此可见, 该菌的致死温度为 60 ℃ 5 min。

表 7 小麦根腐病菌分生孢子在不同 RH 下的萌发率

镜检时间 (h)	萌发率(%)					
	RH(%)	水滴	50	65	70	95
4		21.5	0	0	0	5.5
8		24.2	0	0	0	6.1
12		34.0	0	0	0	8.1
16		37.4	0	0	0	8.3
20		46.1	0	1.6	4.9	9.6
24		60.4	2.1	4.1	5.0	11.2

表 8 不同温度水浴处理后病菌生长状况

处理时间 (min)	菌落直径(cm)					
	35 ℃	40 ℃	45 ℃	50 ℃	55 ℃	60 ℃
5	4.0	4.0	2.9	3.0	4.0	0
10	3.6	3.2	2.9	4.0	3.0	0
15	3.3	3.1	3.0	2.9	2.2	0
20	3.1	2.6	3.0	2.9	1.7	0

注: 表中结果为根腐病菌在 PDA 上生长 3 d 的菌落直径

3 结论与讨论

内蒙古西部地区的小麦根腐病菌, 经培养性状和形态观察, 鉴定结果为半知菌亚门丝孢纲丝孢目暗色孢科平脐蠕孢属麦根腐平脐蠕孢(*Bipolaris Sorokiniana* (Sacc.) Schoenakey)。在人工培养条件下, 该菌生长的最适温度为 30 ℃, 最适 pH 值为 7.0, 最适培养基为 PDA。孢子萌发的最适营养液为 10% 土壤浸液, 最适 pH 值为 7.0, 最适温度为 25 ℃, 水滴中萌发率最高; 60 ℃ 5 min 为致死温度。试验结果还可看出, 寄主组织浸出液对小麦根腐病菌营养生长和孢子萌发影响不显著; 孢子萌发的温度范围大于营养生长的温度范围; 孢子萌发与营养生长对环境条件的要求也有相一致的地方, 它们要求的 pH 值均为中性, 温度为 25~30 ℃。了解该菌生物学特性, 为在生产中控制根腐病的发生和减轻发病程度奠定了理论基础, 提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 崔云龙, 姬金红, 衣海青. 短小芽孢杆菌 D82 对小麦根腐病原菌拮抗的研究[J]. 中国生物防治, 1995, 11(3): 114- 118.
- [2] 董金泉. 营养和环境对小麦根腐菌菌丝生长及产孢的影响[J]. 华北农学报, 1990, 5(3): 100- 103.
- [3] 贾廷祥, 吴桂本, 刘传德. 我国小麦根腐性病害研究现状及防治对策[J]. 中国农业科学, 1995, 28(3): 41- 48.

Identification and Biological Character Test of Wheat Common Rot Pathogen

LIU Zheng-ping¹, WANG Li-xin², LI Rong-xi¹, LIU Cai-feng¹, LI Yong-jie³

(1. Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China; 2. Inner Mongolia Plant

Protect Station, Huhhot 010010, China; 3. Agricultural Bureau of

Inner Mongolia Bayannol, Wuyuan County 015100, China)

Abstract: Biological characteristics was tested for the wheat common rot pathogen following isolation and identification. the result showed that the pathogen is *Bipolaris sorokiniana*(Sacc.) shoe-makey. The optimal condition for the growth of the pathogen is 30 ℃, pH 7, and with the media of PDA, the lethal high temperature is 60 ℃ for 5 min. The conidia germinate only in the water drops. The optimal condition for the germination is pH 7, 25 ℃ and highest germination rate take place in the soil drench among the treatment solutions pathogen.

Key words: Wheat root rot; Pathogen identification; Biological characteristic