

我国芝麻主产区茎点枯病原菌生物学特性分析

王林海¹, 黎冬华¹, 张艳欣¹, 黄俊斌², 张占英¹, 张晓燕¹, 张秀荣¹

(1. 中国农科院 油料作物研究所 农业部油料作物生物学重点开放实验室 湖北 武汉 430062; 2. 华中农业大学 湖北 武汉 430070)

摘要: 在国内首次对我国湖北、河南、安徽、江西等芝麻主产区进行了较大范围的芝麻茎点枯病原采集和菌株分离, 纯化培养得到 35 个菌株。通过比较病原菌在不同培养基、不同诱孢处理方式、不同诱孢培养条件等, 确定适宜培养条件为普通 PDA 培养基 28℃ 黑暗培养 4 ~ 5 d 切断菌丝, 再培养 4 ~ 5 d, 建立了一套较成熟的芝麻茎点枯菌株分离培养纯化技术。对 35 个菌株的菌落、菌核的形态特征进行了系统观察, 测定了不同菌株的致病力, 并对其 rDNA-ITS 区进行了测序, 表明均为菜豆壳球孢 (*Macrophomina phaseolina* (Maubl.) Ashby)。35 个菌株在表型和致病力等方面存在较为明显的差异, 为有针对性的开展芝麻茎点枯病的防治奠定了重要基础。

关键词: 芝麻; 茎点枯病; 病原菌; 致病力; ITS

中图分类号: S435.653 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2011)04-0232-07

Biological Characteristics of the Pathogen Causing Sesame Charcoal Rot from the Main Sesame Production Areas in China

WANG Lin-hai¹, LI Dong-hua¹, ZHANG Yan-xin¹, HUANG Jun-bin², ZHANG Zhan-ying¹,
ZHANG Xiao-yan¹, ZHANG Xiu-rong¹

(1. Oil Crops Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Oil Crop Biology of the Ministry of Agriculture, Wuhan 430062, China; 2. Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The pathogen causing sesame charcoal rot were collected from the main sesame production areas, including Hubei, Henan, Anhui and Jiangxi provinces, and 35 strains were isolated finally. By comparing different media, treatment and culture methods for inducing spores, the way to culture the pathogen in PDA medium under darkness and 28℃ for 4-5 days, then cut off the hyphae and culture another 4-5 days, was suggested as the optimized option. Based on the direct observation of the phenotypes and sequencing of the rDNA-ITS region by the universal primers ITS1 and ITS4, all the pathogens were confirmed to be *Macrophomina phaseolina*. This study firstly showed systematic evidences that *Macrophomina phaseolina* causing sesame charcoal rot in China, and many differences were also detected among these strains in morphology and pathogenicity. The results may be helpful for controlling the *Macrophomina phaseolina* infecting sesame.

Key words: *Sesamum indicum* L.; Sesame charcoal rot; Pathogen; Pathogenicity; ITS

芝麻 (*Sesamum indicum* L.) 主要分布在热带和温带地区, 印度、缅甸、中国和苏丹是主产国, 年产量占世界总产量的 60% 左右, 但单产差异较大, 据 FAO 统计, 2008 年每公顷产量印度为 379.5 kg、缅甸 400.5 kg、苏丹 235.5 kg、中国 1125.0 kg。除本身遗传因素外, 病、虫、渍、旱等生物或非生物胁迫是造成芝麻单产水平较低的重要因素^[1-2]。芝麻主要病

害包括茎点枯病、枯萎病、青枯病以及疫病等。茎点枯病又称茎腐病、炭腐病, 是为害我国芝麻生产最严重的病害^[3-7]。我国芝麻主产区分布在江淮流域的河南、湖北、安徽和江西等省, 约占全国总面积的 70%, 在芝麻开花、结蒴期的 7、8 月份多雨水天气, 适宜芝麻茎点枯病的发生和传播, 加之芝麻种植地区比较集中, 重茬面积较大, 导致病害发生频繁, 其

收稿日期: 2011-03-01

基金项目: 农业部油料作物生物学重点开放实验室开放课题 (201015); 国家青年科学基金 (30900905)

作者简介: 王林海 (1979-), 男, 河南遂平人, 博士, 助理研究员, 主要从事芝麻种质资源与遗传育种研究。

通讯作者: 张秀荣 (1961-), 女, 山东德州人, 研究员, 主要从事芝麻种质资源与遗传育种研究。

发病率一般 10% ~ 25% ,严重的可达 90% 以上 ,一般年份减产 10% ~ 15% ,含油量下降 4% ~ 12% ,重病田成片枯死 ,几乎绝收^[8]。

该病的病原在国外被鉴定为菜豆壳球孢 (*Macrophomina phaseolina* (Maubl.) Ashby) ,又名 *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.、*Macrophoma conchoci* Swada、*Macrophoma cajani* Syd. & Butl.、*Sclerotium bataticola* Taub. 和 *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butler 等 ,属半知菌亚门真菌^[9-14]。在适宜条件下 ,其可以侵染包括花生、芝麻、豆类、黄麻、烟草、甘蔗、向日葵、甘薯、棉花、茄子、番茄等在内的 500 多种植物^[15,16]。国内对芝麻茎点枯病的研究还处于相当薄弱的水平 ,主要集中在病症的描述和防治方法^[8,17-19] ,对于该病原的系统研究尚未见报道。本研究旨在对我国江淮流域芝麻代表产区病原菌表型和分子系统鉴定 ,分析该病原菌的生物学特征 ,为有效防治芝麻茎点枯病提供理论支持。

1 材料和方法

1.1 病株采集

在湖北、安徽、河南和江西等芝麻主产区共采集 35 份芝麻茎点枯病病株 (表 1) ,其中成熟期病株 33 份 ,在湖北武昌和鄂州同一地块还采集苗期 (5 ~ 6 对真叶) 病株 2 份。

1.2 病原菌分离、分生孢子诱导及纯化

1.2.1 分离培养 所用培养基为马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (Potato dextrose agar ,PDA)。病原分离培养方法为 :先用自来水将新鲜茎秆表面冲洗干净并用吸水纸吸干 ,于病健交界处切取 1 cm 左右的小段 ,在超净台中将芝麻茎段切成 5 mm × 2 mm 左右

大小 ,依次用 70% 乙醇消毒 30 s ,0.1% 升汞消毒 30 s ,无菌水冲洗 3 ~ 4 次 ,每次 1 min ,然后接种到 PDA 固体培养基上 ,每皿接种 3 ~ 4 枚病组织 ,每份病株接种 5 皿 ,置于 28℃ 培养箱黑暗培养 4 ~ 5 d ,待各病组织切面长出菌丝后挑取边缘部分移至新的 PDA 培养基上培养 ,在新长出的菌落边缘再挑取少许菌丝接种到新的 PDA 培养基中继续培养 ,如此反复继代至菌落生长均匀一致为止。

表 1 病株的编号及来源

Tab.1 Sources of the test sesame samples with charcoal rot			
编号 No.	来源 Source	编号 No.	来源 Source
1	安徽合肥	19	湖北麻城
2	河南潢川	20	湖北随州
3	河南漯河	21	湖北天门
4	河南平舆	22	湖北武昌 (苗期)
5	河南平舆	23	湖北武昌
6	河南驻马店	24	湖北武穴
7	湖北鄂州	25	湖北仙桃
8	湖北鄂州 (苗期)	26	湖北襄阳
9	湖北汉川	27	湖北孝感
10	湖北洪湖	28	湖北新洲
11	湖北黄陂	29	湖北阳新
12	湖北黄陂	30	湖北宜城
13	湖北黄梅	31	湖北枣阳
14	湖北黄石	32	湖北钟祥
15	湖北嘉鱼	33	江西进贤
16	湖北监利	34	江西九江
17	湖北江夏	35	江西南昌
18	湖北荆州		

1.2.2 分生孢子诱导及培养 采用 5 种分生孢子诱导培养基 (表 2) 、3 种分生孢子诱导处理方式 (表 3) 和 4 种分生孢子诱导培养方式 (表 4) 进行病原菌分生孢子诱导。诱导培养 4 d 后 ,分别制片镜检有无繁殖体及分生孢子的形成 ,分析确定适宜的诱孢条件。

表 2 分生孢子诱导培养基

Tab.2 The media for inducing spores	
培养基 Medium	配制方法 Preparing process
I 燕麦培养基 Oat medium	将燕麦片 30 g 在 60℃ 水浴锅中水浴 30 min 过滤后 加入 12 g 琼脂 ,高压灭菌备用
II 查彼克培养基 Czapek-Dox medium	MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.5 g + K ₂ HPO ₄ 1 g + KCl 0.5 g + NaNO ₃ 2 g + FeSO ₄ · 7H ₂ O 0.01 g + 蔗糖 20 g 溶解后 定溶到 1 000 mL ,高压灭菌备用
III 芝麻培养基 Sesame medium	① 将芝麻茎秆洗净 ,自然风干后 ,切成 1 cm 左右的小段 ,灭菌后置于灭菌水琼脂平板上 ; ② 将芝麻茎秆 100 g 加水煮沸 0.5 h 过滤后将滤汁加入水琼脂培养基中 ,高压灭菌备用。
IV 混合培养基 Mixed medium	① 将芝麻茎秆剪成 1 cm 左右的小段 ,加入查彼克培养基中灭菌 摇匀后倒平板 ; ② 将芝麻茎秆剪成 1 cm 左右的小段 ,加入燕麦培养基中灭菌 摇匀后倒平板 ; ③ 将芝麻茎秆 100 g 加水煮沸 0.5 h 过滤后将滤汁加入查彼克培养基中 ,高压灭菌备用 ; ④ 将芝麻茎秆 100 g 加水煮沸 0.5 h 过滤后将滤汁加入燕麦培养基中 ,高压灭菌备用。
V PDA 培养基 PDA medium	取 200 g 去皮马铃薯 蒸馏水煮化后 过滤 加 15 g 葡萄糖 ,12 g 琼脂粉 ,定容到 1 000 mL ,高压灭菌备用。

表 3 分生孢子诱导处理方式
Tab.3 The treatments for inducing spores

编号 No.	处理方式 Treatment methods
I	先扫刷营养体,即在培养物中,用无菌操作的方法倒一薄层无菌水,用无菌毛笔蘸无菌水浸润变软后扫刷菌苔,随即即将水倒掉,然后进行分生孢子诱导培养。
II	切断营养体,即在培养物中,用无菌操作的方法倒一薄层无菌水,用消毒的盖玻片扫刷菌苔,随即即将水倒掉,然后进行分生孢子诱导培养。
III	不扫刷营养体,直接进行分生孢子诱导培养。

表 4 分生孢子诱导培养方式
Tab.4 The culture methods for inducing spores

编号 No.	培养条件 Culture conditions
I	暗培养,昼夜无光培养,培养温度 28℃。
II	间歇光照培养:12 h 光照培养与 12 h 无光培养(暗培养)交替进行,培养温度 28℃。
III	紫外光照培养:12 h 紫外光照培养与 12 h 无光培养(暗培养)交替进行,培养温度 28℃。
IV	自然光照培养,培养温度 25℃左右。

1.2.3 单孢纯化及保存 分离得到的病原菌采用分生孢子单孢分离法进行纯化。在形成分生孢子的菌落中加无菌水 10 mL,用接种环轻洗培养菌落,配置粗分生孢子悬浮液,用无菌纱布过滤获得纯的分生孢子悬浮液;然后蘸取孢子悬浮液均匀涂抹在 2% 水琼脂培养基一半平板上,再在显微镜下用无菌针分离出单个分生孢子到另一半培养基上,28℃ 黑暗培养 4~5 d 后,获得的菌落即为单孢纯化后的菌落,切取菌丝尖端,移入 PDA 斜面培养保存备用。长期保存则采用矿油封存法^[20]。

1.3 病原菌生物学特征分析

1.3.1 表型鉴定 表型鉴定参照魏景超、许志刚等的方法^[21,22]。将单孢纯化后的病原菌接种到 PDA 培养基上,在 28℃ 条件下恒温黑暗培养 2 d 后,开始观察菌落形态、测量菌株生长 35、45、59 h 的菌落直径;从培养第 2 天起,观察菌核的形成,并在第 7 天在显微镜下观察菌核的形态特征、测量菌核直径。

1.3.2 致病力测定 采用芽期接种测定方法^[23]并作一定改进,简述如下:以鄂芝 2 号为接种材料,选取 20 粒饱满种子,0.1% 升汞浸泡灭菌 4~5 min 后用无菌水冲洗 2~3 次,沿边缘均匀置于装有 1 cm 左右 2% 琼脂培养基的广口培养瓶中,然后在接种用菌落边缘打直径 1 cm 的菌饼,铺在广口瓶中央,封口 30℃ 黑暗培养。每个菌株接种 3 个培养瓶,培养 5 d 后调查每个接种培养瓶中发芽种子的发病情况,并按以下等级统计不同发病级别的株数:0 级:无病菌侵染;1 级:根系变褐范围 $\leq 1/3$;2 级:根系变褐范围为 $1/3$ 到 $2/3$ 之间;3 级:根系变褐范围为 $2/3$ 到全部根部变褐;4 级:根系全部变褐,根颈部感病且芽有 $1/2$ 以下部位变褐;5 级:根系全部变褐,根颈部感病且芽有 $1/2$ 以上部位变褐,甚至出现腐烂现象。根据调查结果

计算致病指数:

致病指数 = Σ (发病等级 × 相应发病芽数) / 总芽数

1.3.3 分子鉴定 将单孢纯化后的菌丝体用玻璃纸法培养,取玻璃纸上培养 4 d 左右的菌丝,液氮研磨,CTAB 法提取菌丝体 DNA^[24],用氯仿/异戊醇(24:1)抽提 2 次,用于 rDNA-ITS 区分析,所用引物为 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCCG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (25 $\mu\text{mol/L}$) (由上海生工生物工程技术服务有限公司合成)。

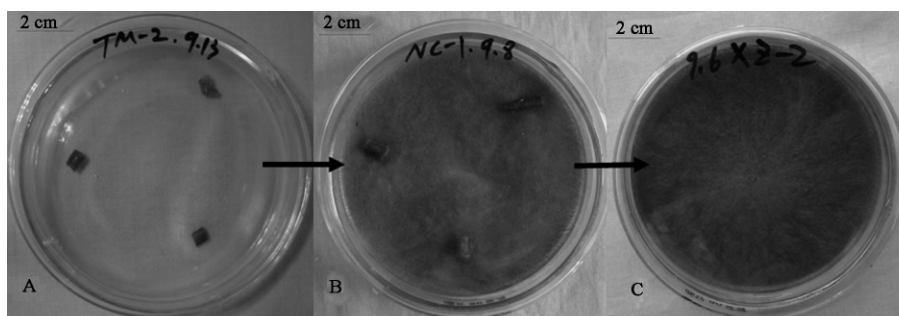
PCR 反应体系总体积 50 μL ,反应液为 10 × Buffer 5 μL ,25 mmol MgCl_2 5 μL ,10 mmol/L dNTP 1 μL ,5 U/ μL *Taq* 酶 0.4 μL (以上试剂均由 TaKa-Ra 公司提供),模板 DNA 10 ng,引物 ITS1 和 ITS4 (25 $\mu\text{mol/L}$) 各 1 μL ,用 ddH_2O 使总体积达到 50 μL ,在 PE 2400 PCR 扩增仪上扩增。PCR 反应条件:预变性:94℃ 4 min;变性:94℃ 1 min;退火:54℃ 1 min;延伸:72℃ 1 min,35 个循环;延伸 72℃ 10 min。

PCR 反应产物由南京金斯瑞生物科技有限公司进行纯化和测序,测序的结果与 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 已知的序列进行比对分析。

2 结果与分析

2.1 病原菌分离纯化技术的建立

2.1.1 病原菌分离结果 用本试验方法,对采集的 35 份芝麻茎点枯病感病植株进行病原菌分离培养,均获得了较均一的病原菌落,图 1 为接种外植体经反复继代至获得均一菌落。该方法对外植体灭菌效果理想,无细菌污染。



A. 接种病组织; B. 培养 4~5 d; C. 继代 2~3 次后的病原菌落。

A. Inoculated disease tissues; B. Colony cultured for 4~5 days; C. Colony subcultured for 2~3 times.

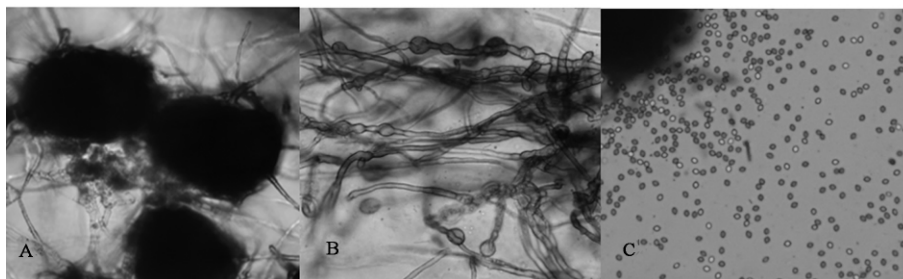
图 1 感病植株病原菌分离培养

Fig. 1 Isolation and culturing of the pathogen

2.1.2 分生孢子诱导培养结果 采用常规方法对获得的菌落在普通 PDA 培养基上培养 10 d 左右发现, 只能形成菌核(图 2-A), 而不能形成孢子体, 因此需要进行分生孢子诱导培养。

试验结果: 分生孢子诱导培养基 II 或 IV-④ + 分生孢子诱导处理方式 II + 分生孢子诱导培养方式 II 或 III, 可以诱导产生厚垣孢子(图 2-B)。分生孢子诱导培养基 I 或 V + 分生孢子诱导处理方式 II + 分生孢子诱导培养方式 I 或 II, 可以诱导产生分生孢

子, 分生孢子长椭圆形或圆筒形, 无色, 单胞(图 2-C), 其他组合均未产生孢子。考虑成本及操作的难易度, 确定“分生孢子诱导培养基 V + 分生孢子诱导处理方式 II + 分生孢子诱导培养方式 I”组合为芝麻茎点枯病原菌较适宜的分生孢子诱导条件, 即在普通 PDA 培养基上培养 4~5 d 形成的菌落通过切割菌丝后继续培养 4~5 d 可诱导产生分生孢子。挑取单孢培养得到的菌落即为纯化菌落, 可用于表型及分子鉴定。



A. 菌核; B. 厚垣孢子; C. 分生孢子。

A. Sclerotia; B. Chlamydospore; C. Conidia.

图 2 分生孢子诱导结果镜检图(10×20 倍)

Fig. 2 Microscopic examination of the induced spores

2.2 病原菌表型特征

2.2.1 菌落和菌核的表型特征 在 PDA 培养基上, 菌株在 PDA 表面产生气生菌丝, 菌丝生长迅速, 菌丝体表生或埋生, 分枝, 有隔膜, 菌落初呈白色, 后为黑色, 圆形。35 个菌株的气生菌丝密度有 3 种类型差异, 菌丝颜色均为黑色, 分布均匀或不均匀(表 5); 培养 2 d 开始产生微菌核, 菌核球形或近球形, 黑色, 在培养 43 h 和 67 h 观察 35 个菌株产菌核的时间和数量有较大差异, 其中编号 2, 12, 16, 17, 18, 19 的菌株在 67 h 菌核生长量最多; 培养 7 d 菌核观察大小为 $108.7 \sim 174.8 \mu\text{m} \times 88.9 \sim 148.3 \mu\text{m}$, 参照魏景超和许志刚^[21, 22]对该病原菌的描述, 可以初步确定其为菜豆壳球孢(*Macrophomina phaseolina*)。

2.2.2 菌株生长速率 35 个菌株在 PDA 培养基

上生长较快, 速率为 $1.0 \sim 1.8 \text{ cm/d}$ (表 6)。培养 2 d 菌落直径可达到 $2.0 \sim 3.6 \text{ cm}$, 不同菌株之间存在差异, 部分菌株之间达到显著水平, 例如, 1 号菌株的生长速率显著高于其他菌株。

2.3 不同来源菌株的致病力差异分析

对不同菌株的致病力测定发现, 来源不同的菌株间致病力存在较大差异。致病指数较低的菌株对发芽种子的侵染主要在根部, 而致病指数较高的菌株侵染根部后迅速向上扩展, 导致多数芽全部变褐腐烂。在 35 个菌株中, 来源于湖北江夏区的 17 号菌株致病指数达 4.64, 说明其致病力最高, 其次为来源于湖北天门的 21 号和来源于湖北新洲的 28 号, 致病指数分别为 4.51 和 4.22。致病指数最小的为来源于安徽合肥的 1 号菌株, 为 0.03, 说明该菌株致病力较低。

表 5 35 个菌株的菌丝和菌核的生长特性

Tab. 5 Characteristics of mycelium and sclerotia growth of the 35 strains

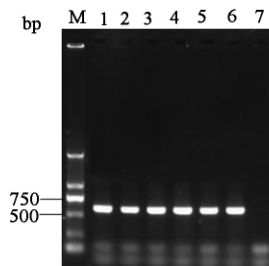
菌株编号 Strain No.	气生菌丝密度 Density of aerial mycelia	气生菌丝分布 Distribution of aerial mycelia	43 h 菌核数量 Sclerotia quantity of 43 hours	67 h 菌核数量 Sclerotia quantity of 67 hours	7 d 菌核大小(长×宽)/ μm Sclerotium size (length×width)
1	+	分布均匀	+	++	122.5×98.3
2	++	分布均匀	+	++++	138.2×120.0
3	+++	分布均匀	++	+++	155.8×129.4
4	+++	分布均匀	-	-	108.7×95.3
5	+++	分布均匀	-	++	132.3×114.0
6	++	中间密,外缘疏	++	++	121.5×108.5
7	++	中间密,外缘疏	++	+++	131.0×118.6
8	++	中间密,外缘疏	+	+++	115.0×104.9
9	+	分布均匀	+	+++	132.0×112.4
10	+++	中间密,外缘疏	++	+++	146.4×134.6
11	++	分布均匀	++	++	118.3×109.4
12	++	中间密,外缘疏	++	++++	118.3×109.4
13	++	中间密,外缘疏	++	++	125.4×113.0
14	+++	分布均匀	+	+	154.8×136.6
15	+++	分布均匀	+	+++	174.8×148.3
16	++	中间密,外缘疏	+	++++	125.1×110.4
17	++	分布均匀	++	++++	146.4×119.24
18	+++	分布均匀	+	++++	127.4×107.8
19	+++	分布均匀	+	++++	157.8×132.0
20	+++	中间和边缘疏,外缘密	+	++	148.6×132.0
21	++	分布均匀	+	+++	137.5×122.8
22	++	中间疏,外缘密	+	++	137.2×118.9
23	+++	中间和边缘疏,外缘密	+	+++	143.1×123.5
24	++	分布均匀	+	++	111.7×88.9
25	++	中间密,外缘疏	+	+++	114.7×107.87
26	+++	分布均匀	+	++	144.4×121.5
27	+++	分布均匀	-	+++	138.2×121.9
28	++	分布均匀	++	++++	142.8×129.7
29	++	分布均匀	+	+++	115.0×105.5
30	++	中间密,边缘疏	++	+++	149.0×123.8
31	++	分布均匀	++	+++	157.5×128.1
32	++	分布均匀	++	++	126.8×104.9
33	+++	分布均匀	++	++++	145.4×122.2
34	++	中间疏,外缘密	+	++	153.5×126.1
35	+++	分布均匀	+	+++	150.3×125.1

注: -, +, ++, +++, +++++, 分别代表菌丝由疏到密或菌核由少到多, 其中“-”代表无; 气生菌丝为 28℃ 黑暗培养 5 d 的生长情况。

Note: -, +, ++, +++, +++++. Represented the quantity of the aerial mycelia from less to more, and “-” indicated no mycelium; The characteristics of aerial mycelia were screened after culturing for 5 d in darkness.

2.4 病原菌 rDNA-ITS 区 PCR 扩增及序列分析

通过引物 ITS1、ITS4 对 35 个菌株菌丝体 DNA 进行 PCR 扩增, 其扩增片段都在 500 ~ 750 bp 之间 (图 3), 并对 PCR 产物测序, 结果显示 35 个菌株在测序区序列完全一致。将菌株的 rDNA-ITS 序列与 GenBank 中核酸数据库进行同源性比较, 其序列与 GenBank 中的 *Macrophomina phaseolina* 菌株序列 (登录号为: FJ415067) 的相似性为 99%, 结合表型鉴定结果, 说明所分离病原菌确为 *Macrophomina phaseolina*。



M. DL2000 DNA 分子量标准; 1~6. 菌株; 7. H_2O (对照)。

M. DL2000 Marker; 1~6. Strains; 7. H_2O (CK).

图 3 部分菌株 DNA ITS 引物 PCR 扩增结果

Fig. 3 Electrophoresis of PCR products of the strains amplified by ITS1 and ITS4

表 6 35 个菌株的生长速率及致病指数

Tab.6 Growth speed and pathogenicity index of the sclerotia of different strains

菌株编号 Strain No.	菌株生长速率/(cm/d) Growth speed of colony	差异显著性 Significance of difference (P=0.05)	致病指数 Pathogenicity index	菌株编号 Strain No.	菌株生长速率/(cm/d) Growth speed of colony	差异显著性 Significance of difference (P=0.05)	致病指数 Pathogenicity index
11	1.8	a	0.60	6	1.5	efg	0.58
34	1.7	b	3.10	23	1.5	efg	2.43
29	1.7	bc	2.40	18	1.4	fgh	1.35
17	1.7	bc	4.64	31	1.4	gh	0.50
33	1.7	bcd	1.61	24	1.4	gh	1.14
7	1.6	bcd	0.51	30	1.4	hi	0.13
19	1.6	bcd	3.99	32	1.3	hi	3.90
4	1.6	bcd	2.58	26	1.3	hij	1.46
10	1.6	bcd	1.68	16	1.3	ij	1.06
21	1.6	cde	4.51	8	1.3	ij	3.64
15	1.6	cde	2.65	12	1.2	ij	1.46
5	1.6	cdef	3.48	2	1.2	jk	2.34
25	1.6	cdef	1.78	22	1.2	jk	1.64
28	1.6	cdef	4.22	1	1.2	kl	0.03
20	1.6	cdef	3.03	9	1.1	lm	0.33
14	1.6	cdef	2.29	27	1.1	lm	0.31
35	1.5	defg	4.16	3	1.0	m	3.40
13	1.5	efg	0.46				

3 讨论

在我国芝麻茎点枯病是一种普遍发生的病害，尤其是湖北、安徽、河南和江西等芝麻主产区，在芝麻生长季节的7-9月份，高温多雨易导致病害的严重发生，弄清楚不同芝麻种植地区导致茎点枯病的病原菌状况及其生物学特征，是芝麻抗病种质筛选、抗病基因挖掘和抗病育种的重要基础性工作。本研究对我国芝麻江淮主产区进行了较大范围的芝麻茎点枯病病原采集和菌株分离及鉴定，并建立了一套适宜芝麻茎点枯菌株分离纯化的技术，为开展芝麻抗茎点枯病育种研究提供了技术基础。

李丽丽等^[1-8]早在1989年和1993年报道了我国于20世纪60年代发现芝麻茎点枯病，并通过对芝麻主产区调查，就不同田块发病率、减产率、病状病症及病原菌的侵染等进行了概要性报道，并结合国外已有的相关报道认为我国芝麻茎点枯病是由菜豆壳球孢(*Macrophomina phaseoli* (Maubl.) Ashby.)引起的一种真菌性病害。本研究对湖北、安徽、河南和江西等芝麻主产区芝麻茎点枯病病原菌进行了较为系统的表型鉴定和分子鉴定，确定了我国芝麻茎点枯病病原菌为菜豆壳球孢(*Macrophomina phaseoli* (Maubl.) Ashby.)。获得的不同菌株的生物学特征数据为我国芝麻茎点枯病相关多方向的深入研究提供可靠依据。

参考文献:

[1] 李丽丽. 世界芝麻病害研究进展[J]. 中国油料, 1993, 2: 75 - 77.

[2] 王合松, 田继锋. 芝麻主要病害的综合防治[J]. 河南科技, 2004, 6: 20.

[3] 王国清, 杨海如. 芝麻主要病害的发生与防治技术[J]. 特种经济动植物, 2005, 10: 40.

[4] 潘正安, 余安安, 蔡德君, 等. 芝麻病害的发生特点与防治技术[J]. 湖北植保, 2008, 2: 17 - 20.

[5] 吴桂香, 刘世扬, 李运良, 等. 芝麻茎点枯病的发生规律及综合防治技术[J]. 河南农业科学, 1996(8): 17 - 18.

[6] 孟祥锋, 高新国, 张春生. 河南省芝麻茎点枯病发病规律及防治措施[J]. 河南农业科学, 2003(10): 69.

[7] 张四, 高峰, 王合松. 芝麻茎点枯病的发生与综合防治技术[J]. 中国农村小康科技, 2005(5): 43 - 44.

[8] 李丽丽. 我国芝麻病害种类、研究概况及展望[J]. 中国油料, 1989, 1: 11 - 15.

[9] ASHBY S F. *Macrophomina phaseoli* (Maubl.) Comb. nov. The pycnidial stage of *Rhizoctonia bataticola* (Taub.) Butl. [J]. Transactions of the British Mycological Society, 1927, 12: 141 - 147.

[10] Mihail J D. *Macrophomina* [C]// Singleton L L, Mihail J D, Rush C M. Methods for research on soil-borne phytopathogenic fungi. American Phytopathological Society Press, Saint Paul Minnesota, USA, 1992: 134.

[11] El-Fiki A I I, El-Deeb A A, Mohamed F G. Controlling sesame charcoal rot incited by *Macrophomina phaseolina* under field conditions by using the resistant cultivars and

- some seed and soil treatments [J]. Egyptian Journal of Phytopathology, 2004, 32(1-2): 103-118.
- [12] El-Fiki A I I, Mohamed F G, El-Deeb A A, et al. Some applicable methods for controlling sesame charcoal rot disease (*Macrophomina phaseolina*) under greenhouse conditions [J]. Egyptian Journal of Phytopathology, 2004, 32(1-2): 87-101.
- [13] Solanki Z S, Indra Singh, Rajpurohit T S, et al. Combining ability and heterosis for stem and root rot and leaf webber/capsule borer in sesame [J]. Indian Journal of Crop Science, 2006, 1(1-2): 171-174.
- [14] Dinakaran D, Mohammed N. Identification of resistant sources to root rot of sesame caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid [J]. Sesame and Safflower Newsletter, 2001, 16: 68-71.
- [15] Mihail J D, Taylor S J. Interpreting variability among isolates of *Macrophomina phaseolina* in pathogenicity, pycnidium production, and chlorate utilization [J]. Canadian Journal of Botany, 1995, 73: 1596-1603.
- [16] Srivastava A K, Singh T, Jana T K, et al. Microbial colonization of *Macrophomina phaseolina* and suppression of charcoal rot of chickpea [C]// Sinha A. Microbes and plants, Vedams eBooks (P) Ltd., New Delhi, 2001: 269-319.
- [17] 李丽丽, 王圣玉, 方小平, 等. 我国芝麻种质资源抗茎点枯病鉴定 [J]. 中国油料, 1991, 1: 3-6
- [18] 李贵生, 张应转. 芝麻茎点枯病抗病性早代遗传研究初报 [J]. 中国油料, 1984, 1: 12-16
- [19] 张秀荣, 程 勇, 刘胜毅, 等. 芝麻抗茎点枯病及枯萎病种质的评价 [J]. 中国油料作物学报, 2001, 23(4): 23-27.
- [20] 张树政. 微生物菌种保藏 [M]. 苏州: 科学出版社, 1985: 1-111.
- [21] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 406-463.
- [22] 许志刚. 普通植物病理学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 95-96.
- [23] Reyes-Franco, M C, Hernández-Delgado S, Beas-Fernández R, et al. Pathogenic and Genetic variability within *Macrophomina phaseolina* from Mexico and other countries [J]. Journal of Phytopathology, 2006, 154: 447-453.
- [24] 杨艳秋, 王 丽, 贺 丹, 等. 真菌 DNA 提取方法的建立和比较 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(50): 10093-10096.