苏丹草大斑病菌的生物学特性研究

周洪友1.刘正坪2.胡 俊1.常

(1. 内蒙古农业大学 农学院,内蒙古 呼和浩特 010019;2. 北京农学院 植物科学技术系,北京 102206)

摘要:对苏丹草大斑病菌生物学特性的研究,为进一步探讨该病的流行规律及制定综合防治措施提供理论依据。 本试验研究了温度、pH、光照、营养条件对苏丹草大斑病菌营养生长的影响及温度、pH、湿度、营养条件对该菌孢子萌 发的影响。结果表明,苏丹草大斑病菌生长的温度范围为 10~35 ,最适温度为 25 ;pH 范围 5.0~9.0,最佳为 8.0; 光照对菌丝生长无显著影响。在试验的培养基中以 PDA + 苏丹草种子煎汁是生长最好的。该菌孢子萌发的温度为 10~35 ...最适温度为 20 :pH 范围 3.0~9.0;在相对湿度为 100%的条件下容易萌发,水滴中更易萌发。1%的葡萄 糖液、1 %乳糖液、1 %蔗糖液及 2 %苏丹草种子煎汁都能促进孢子萌发 .而 1 %蔗糖液是最适宜该菌孢子萌发的液体环 境。生物学特性表明,该菌对营养要求不高,对环境适应力较强的病原菌。

关键词:苏丹草大斑病;大斑突脐孢;生物学特性

中图分类号:S544.1 文章编号:1000 - 7091(2009)01 - 0174 - 04 文献标识码:A

Biological Characteristics of the Pathogenic Fungus Sudan Grass Large Leaf Spot Pathogen

ZHOU Hong you¹ LIU Zheng ping², HU Jun¹, CHANG Jing¹

(1. College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot

2. Department of Plant Science and Technology ,Beijing Agricultural College ,Beijing 102206 ,China)

Abstract: Study on biological characteristics of sudan grass large leaf spot pathogen in order to provides theoretical basis for further in vestigate on epidemic law and making comprehensive control measures of the pathogen. Effect of terr perature ,pH ,light ,nutrition conditions on vegetative growth and spore germination of Sudan grass large leaf spot pathogen was studied. The results show that the pathogenic fungi could grow within temperature 10 - 35 ,optimal temperature was The suitable pH range is 5.9 - 9.0 optimal pH was 8.0 Light gave no significant effect on the mycelium growth. PDA and the decoct juice of Sudan grass seed meal agar were optimal medium. Temperature range for spore germination optimal temperature was 20 ;pH range was 3.0 - 9.0;1 % glucose solution ,1 % sucrose solution ,1 % lactose solution and 2 % the decoct juice of Sudan grass seed all can increase the speed of spore germination and 1 % sucrose solution was the optimal condition. Biological characters observation shows that this strain is pathogenic one with lower nutrition requirements but strong adaption ability to environment.

Key words: Sudan grass large leaf spot pathogen; Exserohilumleonard turcicum (pass) Leonaral; Biological characteristics

苏丹草(Sorghum sudanese)原产于非洲北部的苏 丹地区,一年生禾本科牧草,苏丹草可用作放牧家畜 或青贮,可以酿酒,在我国南方可以作为草食性鱼类 的养殖[1,2]。苏丹草在我国南北方广泛栽培,近年来, 随着苏丹草栽培面积的增大,苏丹草上的病害呈逐年 加重的趋势,严重影响苏丹草种子产量与品质,在多 雨潮湿的年份发病更严重,但在国内有关苏丹草病害 文献报道较少[3-8]。而有关苏丹草大斑病的系统研 究鲜有报道,2002年以来笔者对严重发生苏丹草大斑 病的山东省沾化地区病害发生情况进行了调查,并对 其病原菌进行分离鉴定[8]。本试验对苏丹草大斑病 菌生物学特性进行了研究,为进一步探讨该病的流行

收稿日期:2008 - 10 - 21

基金项目:国家自然科学基金项目(30860166);国家"863"计划现代农业技术领域重大项目(2006AA10A211) 作者简介:周洪友(1968 -),男,河北抚宁人,副教授,博士,主要从事植物病害生物防治研究。

规律及制定综合防治措施提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试菌株

从山东省沾化县的苏丹草大斑病病株上分离得到的菌株,按照柯赫氏法则对病原菌分离和单孢分离、鉴定及致病性测定,为半知菌亚门(Deuteromycotina)丝孢纲(Hyphomycetes)丝孢目(Agonomycetules)突脐蠕孢属(Exserohilumleonard et Suggs)大斑突脐孢(E. turcicum (pass)Leonaral et Suggs = Helminthosporium turcicum Pass)[1]。将该菌株培养后置于 4 冰箱中短期保存备用。

1.2 不同环境条件对苏丹草大斑病菌营养菌丝的 影响

- 1.2.1 不同培养基对菌丝生长的影响 供试培养基为马铃薯葡萄糖培养基(马铃薯 200 g,葡萄糖 18 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL,简称 PDA)、马铃薯蔗糖培养基(马铃薯 200 g,蔗糖 18 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL 简称 PSA)、水琼胶 + 苏丹草种子煎汁培养基(苏丹草种子 200 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL)、马铃薯葡萄糖培养基 + 苏丹草种子煎汁,将菌株活化后在 PDA 培养基上培养 7 d,用直径为 7 mm 的打孔器取边缘长势一致的菌落接种于不同的培养基上,每个处理设 4 个重复,分别于 3,5,7,10 d 后用十字交叉法测量菌落的直径并观察记录菌落的生长势。
- 1.2.2 不同温度对菌丝生长的影响 将菌株接于PDA 平板中央,分别在 5,10,20,25,30,35 下的培养箱中培养,每个温度设置 4 个重复。分别于 3,5,7,10 d 后用十字交叉法测量菌落的直径并观察记录菌落的生长势。
- 1.2.3 不同 pH 对菌丝生长的影响 设置 pH 分别 为 5,6,6.5,7,7.5,8,9 共 7 个处理,接种菌饼方法同 1.2.1,每个处理设置 4 个重复,3,5,7,10 d 后用十字交叉法测量菌落的平均直径,并观察记录菌落的生长势。
- 1.2.4 不同光照对菌落生长的影响 设置不同的 光照处理,分别为全光照(24 h)、全黑暗(24 h)、12 h 光照加 12 h 黑暗 3 个处理,接种方法同 1.2.1,每个 处理设置 4 个重复,3,5,7,10 d 后用十字交叉法测 量菌落的平均直径,并观察记录菌落的生长势。

1.3 不同环境条件对孢子萌发的影响

1.3.1 不同温度的影响 用无菌水配制(浓度为低倍镜下 30~50 个孢子/视野)孢子悬液,采用玻片法,分别在 5,10,20,25,30,35 下的培养箱中培养,每个设置 4次重复,4,8,12,16,20,24 h 检测孢子萌

发情况。

- 1.3.2 不同培养条件对孢子萌发的影响 用 1% 葡萄糖液、1%蔗糖液、1%乳糖液、2%种子煎汁(3g 苏丹草种子加入 150 mL 水煮沸 20 min 过滤,灭菌)及蒸馏水配制孢子悬液,方法同 1.2.1,在 20 的恒温箱中培养,每个设置 4次重复,4,8,12,16,20,24 h检测孢子萌发情况。
- 1.3.3 不同 pH的影响 设置 pH分别为 5,6,6.5,7,7.5,8,9 共 7 个处理的孢子悬液,方法同上,在20 的恒温箱中培养,每个设置 4 次重复,4,8,12,16,20,24 h 检测孢子萌发情况。
- 1.3.4 不同湿度的影响 用无菌水配制孢子悬液 (浓度为低倍镜下 30~50 个孢子/视野) 滴于载玻片上,自然风干后,分别置于相对湿度为 35%,50%,65%,75%,90%,100%的保湿器中,适温下进行孢子萌发试验。以水滴中孢子萌发为对照,每个设置4次重复,4,8,12,16,20,24 h 检测孢子萌发情况。

2 结果与分析

2.1 不同温度对菌落生长的影响

菌丝在 10~35 范围内都能生长,最适生长温度为 25 。在 5 时,菌落不能生长,10 生长微弱,25 生长最快,培养 3,5,7 d 时菌落直径分别为 28.3,54.4,80.4 mm,10 d 后长满全皿,平均日增长量为 8.6 mm。20 和 30 下生长较缓慢,日均增长量约为 3.6 mm 和 5.0 mm。35 下生长速度极缓慢。

表 1 不同温度对苏丹草大斑病菌营养生长的影响

Tab. 1 Effect of different temperature on vegetative

growth of Sudan grass large leaf spot pathogen 菌落直径/mm 培养温度/ Colony diameter Culture temperature 3 d 5 d 7 d 10 d 0 0 5 0 0 10 0 1.0 1.0 1.1 20 12.1 23.2 32.1 44.0 25 28.3 54.4 80.4 82.0 30 28.3 58.0 13.2 41.1 16.5 16.0 12.5 16.6

注:数据为3次重复的平均值。下表同。

Note: Values are the means of tree times. The same as followed.

2.2 不同培养基对菌落生长的影响

病原菌在所供试培养基上都能生长,结果见表2,在PDA、PSA、PDA+苏丹草种子煎汁都适合该菌营养生长,其中最适培养基是PDA+苏丹草种子煎汁,3 d时菌落直径达到33.1 mm,7 d时菌丝长满全皿。在水琼胶培养基生长得最差,菌落非常稀薄;但在水琼胶中加入苏丹草种子煎汁后菌落生长速度明显加快,3 d时菌落直径为22.1 mm,7 d为61.2 mm,

10 d 时达到 74.3 mm。

表 2 不同培养基对苏丹草大斑病菌营养生长的影响

Tab. 2 Effect of different medium on vegetative growth of Sudan grass large leaf spot pathogen

培养基种类	菌落直径/ mm Colony diameter					
Media types	3 d	5 d	7 d	10 d		
PDA	28.2	54.1	80.5	82.0		
PSA	24.2	57.3	80.2	82.0		
PDA + 苏丹草种子煎汁 PDA and the decoct juice of Sudan grass seed meal agar	33.1	60.2	82.0	82.0		
水琼胶 Water agar	10.3	17.4	22.4	22.5		
水琼胶 + 苏丹草种子煎汁 Water agar and the decoct juice of Sudan grass seed meal agar	22.1	41.5	61.2	74.3		

2.3 不同 pH 对菌落的影响

表 3 结果表明:在 pH $5.0 \sim 9.0$ 范围内菌落都能生长 ,pH 8.0 时生长最旺盛 ,是最适的 pH ,3 d 时菌落直径为 27.1 mm ,5 d 为 54.3 mm ,7 d 为 80.4 mm ,10 d 为 82.0 mm 。

表 3 不同 pH对苏丹草大斑病菌营养生长的影响

Tab. 3 Effect of different pH on vegetative growth of Sudan

grass large leaf spot pathogen

рН	菌落直径/ mm Colony diameter					
	3 d	5 d	7 d	10 d		
5	17.2	34.3	38.6	46.6		
6	19.0	34.2	42.1	52.2		
6.5	24.3	38.0	56.1	63.4		
7	26.2	41.3	68.2	72.5		
7.5	27.1	42.4	70.3	75.4		
8	28.1	54.3	80.4	82.0		
9	26.0	43.2	68.1	72.3		

2.4 不同光照对菌落的影响

光照条件对菌落的生长影响较小,但完全黑暗培养的菌落生长速度前期较快,培养3d时菌落达到28.4 mm,而完全光照、12h光照交替菌落只有13.1 mm和18.3 mm;而在5d后完全光照生长速度加快,菌落直径为61.2 mm,完全黑暗为54.1 mm(表4)。

2.5 不同温度对孢子萌发的影响

温度对苏丹草大斑病菌孢子萌发的影响见表

5。从表 5 可以看出不同温度对孢子的萌发有一定的影响,其中 20 是孢子萌发的最适温度,24 h 孢子萌发率达到了 91.7%。随着温度升高,孢子萌发率下降;在低温条件对孢子影响较大,其中 5 孢子不能萌发。

表 4 不同光照条件对苏丹草大斑病菌营养生长的影响

Tab. 4 Effect of different light conditions on vegetative

growth of Sudan grass large leaf spot pathogen

			直径/mi y diamete	
<u>condition</u>	3 d	5 d	7 d	10 d
完全光照	13.1	61.2	76.3	81.0
Complete illumination 12 h 光照黑暗交替	18.3	49.4	70.2	82.0
Light dark alternation 完全黑暗	28.4	54.1	80.3	82.0
Complete dark				

表 5 不同温度对苏丹草大斑病菌孢子萌发的影响

Tab. 5 Effect of different temperature on spore germination

of Sudan grass large leaf spot pathogen

		- 0			0		
培养温度/ Culture	孢子萌发率/ % Spore germination rate						
temperature	4 h	8 h	12 h	16 h	20 h	24 h	
5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
10	0	1.7	5.0	6.7	7.3	8.3	
20	9.3	27.7	50.0	65.8	82.7	91.7	
25	5.8	10.0	20.0	44.7	55.0	73.3	
30	2.7	4.7	5.0	6.0	10.0	20.3	
35	1.0	1.7	2.7	3.3	4.7	5.0	

表 6 不同营养条件对苏丹草大斑病菌孢子萌发的影响

Tab. 6 Effect of different nutritional conditions on spore germination of Sudan grass large leaf spot pathogen

more interest of different fiderational conditions on spore germination of Sudain grass ange real spot participan								
	Spore germination rate							
Nutient solution	4 h	8 h	12 h	16 h	20 h	24 h		
1%葡萄糖液1%glucose solution	93.3	94.3	98.3	100.0				
1%蔗糖液1%lactose solution	91.7	98.0	100.0					
1%乳糖液1%sucrose solution	78.3	84.3	92.0	97.3	100.0			
2 %种子煎汁 2 %the decat juice of sudan grass seed	85.0	87.7	91.7	95.7	98.3	100.0		
蒸馏水 Distilled water	27.7	32.7	48.0	50.3	59.0	70.7		

2.6 不同营养条件对孢子萌发的影响

营养条件对苏丹草大斑病菌的孢子萌发的影响 见表 6。从表 6看出不同处理与对照比较 ,1 %葡萄 糖液、1%蔗糖液、1%乳糖液及2%种子煎汁对孢子 萌发都一定的促进作用。特别是1%蔗糖液最佳, 在4h孢子萌发率达到了91.7%,12h全部萌发;

1%葡萄糖液 16 h 孢子萌发率可达到 100%;2%种 子煎汁与1%乳糖液孢子萌发速度较慢,全部萌发 分别在 20 h 和 24 h。

2.7 不同 pH对孢子萌发的影响

苏丹草大斑病菌在不同 pH 条件的孢子萌发情 况见表 7。从表 7 分析苏丹草大斑病菌孢子在 pH 3.0~9.0 的环境条件下均可萌发,最适萌发的 pH 7.0~8.0,4 h 萌发率在 57.7%~63.3%,16 h 萌发 率在 81.7%~86.7%。最适 pH 8.0,24 h 萌发率达 93.3 %

表 7 不同 pH对苏丹草大斑病菌孢子萌发的影响 Tab. 7 Effect of different pH on spore germination

of Sudan grass large leaf spot path	iogen
-------------------------------------	-------

рН	孢子萌发率/ % Spore germination rate						
	4 h	8 h	12 h	16 h	20 h	24 h	
3	47.0	56.0	60.0	62.0	64.0	70.7	
5	48.0	69.7	71.7	72.8	74.0	79.3	
6	50.0	75.5	76.7	77.3	78.0	83.0	
7	57.7	77.6	79.0	81.7	82.6	84.0	
8	63.3	81.3	83.3	86.7	89.8	93.3	
9	16.7	23.7	24.0	25.3	26.7	32.0	

2.8 不同湿度对孢子萌发的影响

不同湿度对苏丹草大斑病菌孢子萌发的影响情 况见表 8。试验结果表明:苏丹草大斑病菌孢子在 相对湿度 35 %~100 %范围内都有萌发,最适湿度 为 100 % .24 h 萌发率为 63 %。

表 8 不同湿度对苏丹草大斑病菌孢子萌发的影响 Tab. 8 Effect of different RH on spore germination

of Sudan grass large leaf spot pathogen

相对湿度		孢子萌发率/ % Spore germination rate					
RH	4 h	8 h	12 h	16 h	20 h	24 h	
35	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	1.3	
50	1.0	2.0	2.7	3.0	4.0	5.3	
65	1.3	3.0	4.0	4.7	5.3	7.0	
75	2.0	3.3	4.6	8.0	9.3	12.0	
90	23.3	35.0	36.0	37.7	39.3	42.0	
100	45.7	47.0	49.0	51.8	54.0	63.0	
Water drop	5.8	10.0	20.0	44.7	55.0	73.3	

结论与讨论

苏丹草大斑病菌(E. turcicum)在所提供的培养 基 PDA、PSA、PDA + 苏丹草种子煎汁及苏丹草种子 煎汁都适合该菌营养生长,其中在PDA 培养基中适 当加入苏丹草种子煎汁,可进一步促进菌丝生长;而 单独苏丹草种子煎汁的生长速度最慢。试验说明两 菌株对营养的要求不高,对营养的需求具有一定的 适应能力。对生长环境的试验结果显示,适宜苏丹 草大斑病菌营养生长的温度范围是 20~30 温度为 25 .过低或过高的温度都不适宜该菌丝生 长;苏丹草大斑病菌 pH 5.0~9.0 的条件下均能生 长,pH 8.0 时生长最旺盛:光照对苏丹草大斑病菌 影响不大,没有明显的差别。说明苏丹草大斑病菌 对环境的适应能力较强,使得该菌能够在苏丹草种 植区都能生存。

对苏丹草大斑病菌分生孢子在不同生长环境的 试验结果显示,分生孢子在20~25 萌发情况良 好,最适萌发温度为20;在所提供的1%蔗糖液、 1%葡萄糖液、1%乳糖液、2%种子煎汁等培养条件 均可促进孢子萌发;pH 8.0 是最适宜苏丹草大斑病 菌孢子萌发的 pH环境:该菌在35%~100%相对湿 度下均有萌发,相对湿度100%时萌发最好,但在水 滴中萌发率高于饱和湿度,所以在叶片上有露水时 利于分生孢子萌发侵染,发病的几率大。

对引起苏丹草大斑病的 E. turcicum 的生物学特 性研究和分析,为该菌的基础研究,特别是为苏丹草 大斑病的防治提供理论依据。本试验是在室内进行 的,对单因子进行测定,自然环境复杂多变,植物病 害的发生与环境条件密切相关,因此在实际生产中 对于病害的预报要考虑综合因素,抓住防控的准确 时机。

参考文献:

- [1] 易 津,林小虎,董志魁,等,国内外苏丹草研究进展 [J]. 内蒙古草业,1999(5):1-6.
- [2] 徐玉鹏,武之新,赵忠祥,苏丹草的适应性及在我国农 牧业生产中的发展前景[J]. 草业科学,2003,(7):23-
- [3] 吴大椿,张传清,吴小刚.苏丹草小斑病病原鉴定[J]. 湖北农学院学报,2000,20(4):309-311.
- [4] 张善忠. 苏丹草小斑病病原鉴定[J]. 科学养鱼,1999, (1):27.
- [5] 张鸿书,马 福.新疆奇台苏丹草主要真菌病害的发生 及防治[J]. 草业科学,1996,13(1):41-43.
- [6] 韩金声,侯天爵,罗禄怡.牧草病害[M].北京:北京农 业大学出版社,1988:337 - 345.
- [7] 戴芳澜. 中国真菌总汇[M]. 北京:科学出版社,1979: 431 - 1058.
- [8] 周洪友,赵金焕,胡 俊,等.苏丹草大斑病病原菌鉴定 [J]. 内蒙古农业大学学报,2003,24(3):99-102.