

文章编号: 1000-5471(2007)01-0119-04

重庆地区玉米圆斑病菌 (*Bipolaris carbonum* Wilson) 的分离鉴定^①

董国菊, 申晚霞

西南大学 植物保护学院, 重庆 400715

摘要: 试验对重庆地区玉米圆斑病病原菌进行了分离、纯化和鉴定, 同时进行了病原菌的致病性测定. 病原菌的致病性测定结果表明: 病原菌可直接侵入玉米的叶片, 并于 1 周后表现出玉米圆斑病的典型症状. 病原菌的培养性状及其分生孢子和分生孢子梗等形态特征的结果表明: 重庆地区玉米圆斑病菌属半知菌亚门平脐蠕孢属炭色长蠕孢(*Bipolaris carbonum* Wilson).

关键词: 玉米圆斑病; 炭色长蠕孢; 致病性

中图分类号: S435.131

文献标识码: A

玉米是一种重要的粮食作物, 在全世界玉米播种面积和总产量仅次于水稻、小麦而居 3 位, 同时也是重要的饲料作物和工业原料.

玉米圆斑病是国内的检疫性病害, 也是玉米的 10 大病害之一. 玉米圆斑病在我国玉米上发生早有报道. 玉米圆斑病对制种危害较大, 一般年份减产 10%, 严重发年份减产 70%, 甚至绝收, 目前尚无特别的防治方法. 1956 年首次在吉林省发现, 1974 年吉林省农安县良种场吉 63 自交系有 70% 的果穗受害, 随同感病种子. 该病 1997 年被吉林省列为省内植物检疫对象, 圆斑病现已蔓延到我国的东北和华北等地区^[3].

近年来, 随着农业生产水平的提高、品种的更换及耕作制度的改变, 玉米圆斑病的发生和危害呈加重趋势, 对玉米生产造成了很大影响.

前人曾经有关于玉米圆斑病的流行与防治、病原菌的小种分类、起源以及其致病毒素等方面的研究报告^[1-7].

本试验对重庆地区玉米圆斑病病原菌进行了分离、纯化和鉴定, 同时进行了病原菌的致病性测定, 为玉米圆斑病的发生发展规律的研究和病害的防治提供一定的理论依据.

1 材料与方 法

1.1 材 料

玉米品种为豫糯 7 号, 市售.

马铃薯葡萄糖培养基(PDA)

马铃薯蔗糖琼脂培养基(PSA)

水琼脂培养基

米饭培养基

① 收稿日期: 2006-09-08

作者简介: 董国菊(1974-), 女, 山西万荣人, 讲师, 硕士, 主要从事植物病原真菌的致病机理研究.

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分离、鉴定

取带有典型病斑的玉米叶片,在病斑的病健交界处将材料剪成 3 mm×3 mm,用 70% 的酒精浸 3~5 s,再在 0.1% 的升汞液中浸 30~45 s,用灭菌水洗 3~4 次去升汞残余,取出后在灭菌的吸水纸上吸干,移入 PDA 平板中,于(25±2) °C 的恒温培养箱中培养。

待 PDA 平板培养上的菌落长到整个平板的一半左右时,用 4 mm 直径的打孔器打取菌落较纯的菌落边缘,得到较纯的菌落。经过多次纯化后,移入 PDA 试管斜面上培养,菌落长满斜面后于冰箱中 4 °C 下保存备用。

玉米圆斑病菌的鉴定,主要用光学显微镜来观察该病原菌的分生孢子、分生孢子梗。从分生孢子的形状、颜色、大小、隔膜数、基细胞形状、脐点以及分生孢子梗的颜色、形状、隔膜数等来鉴定病原菌^[8-13]。

1.2.2 致病性测定

将玉米种子浸种 48 h 后,再催芽待到胚根长到约 7~10 mm 时移栽于花钵中,玉米苗在 25 °C 温室中培养至 6~8 片叶备用。

将分离纯化所得的病原菌菌种在 PDA 培养基上培养 15 d 后,用灭菌水洗下孢子制成浓度为 4.4×10^5 个/mL 的孢子悬浮液,接种栽于塑料花钵的健康玉米苗。每次接种约 10 株苗,采用灌菌法和喷雾法接种^[11]。接种浓度为 10^2 个/mL, 10^3 个/mL, 10^4 个/mL。以清水接种为对照,每处理重复 3 次。接种后保湿培养 2 d,接种期间温度为 28~29 °C,1 周后观察其症状表现。

灌菌法接种。从喇叭口滴灌均匀的方法,每苗灌菌 10 mL。

喷雾法接种。喷雾到玉米叶片上的水珠刚好不从叶片上滴下。

待种植株的叶片出现症状后,用组织分离法进行病原菌的再分离,对前后分离病原菌的培养性状、分生孢子以及分生孢子梗等形态特征等进行比较。

2 结果与分析

2.1 病原菌分离鉴定

2.1.1 致病性测定和病害症状的观察

将已经分离纯化后的病原菌,采用喷灌的方法进行致病性测定。盆栽接种试验结果表明,病菌可直接侵入玉米叶片,并于 1 周后出现典型病斑。

发病初期,叶片上病斑散生,初为水浸状,淡绿色或淡黄色小斑点,以后扩大为圆形或卵圆形,有同心轮纹,病斑中部淡褐色,边缘褐色,并有黄绿色晕圈,大小(3~13) mm×(3~5) mm。一般从叶尖开始表现症状。有时出现长条状线形斑,大小(10~30) mm×(1~3) mm,病斑表面也生黑色霉层。苞叶上病斑初为褐色斑点,后扩大为圆形大斑,也具有同心轮纹,表面密生黑色霉层(图 6)。

2.1.2 病原菌鉴定

生长速度:在 PDA、PSA 两种培养基上,菌落生长速度都很快,没有明显差异。25 °C 下,12 h 光暗交替培养 4 d,菌落直径为 17 mm。

菌落形态、颜色:PDA、PSA 培养基上培养性状基本相同。均表现为气生菌丝不多,丝绒状,菌落深褐色,呈辐射状;米饭培养基显示深褐色(图 1, 2)。

分生孢子特征:分生孢子深橄榄色,长椭圆形,中央宽,两端渐窄,孢壁较厚,顶细胞和基细胞钝圆形,多数正直,脐点小,不明显,具隔膜 4~10 个,多为 5~7 个,大小(33~105) $\mu\text{m} \times$ (12~17) μm (图 3, 4)。

分生孢子梗特征:分生孢子梗暗褐色,顶端色浅,单生或 2~6 根丛生,正直或有膝状弯曲,两端钝圆,基部细胞膨大,有隔膜 3~5 个,大小(64.4~99) $\mu\text{m} \times$ (7.3~9.9) μm (图 3, 4, 5)。

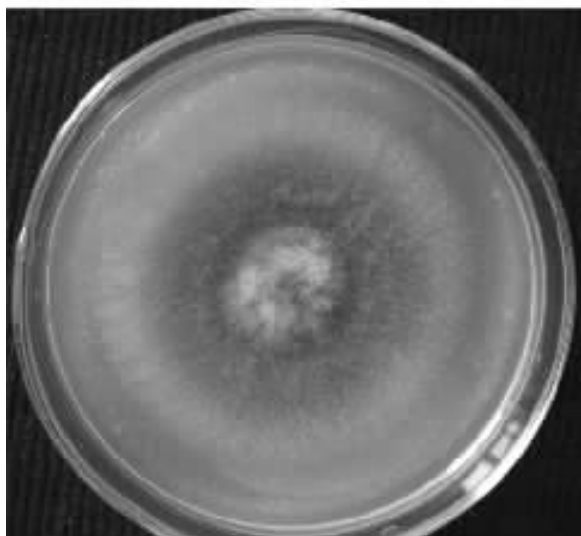


图 1 玉米圆斑病菌在 PDA 上第 4 d 菌落

Fig.1 The Fourth Day Colony of the Pathogen on PDA



图 2 米饭培养基上培养的玉米圆斑病菌

Fig.2 The Feature of Pathogen on the Rice Culture

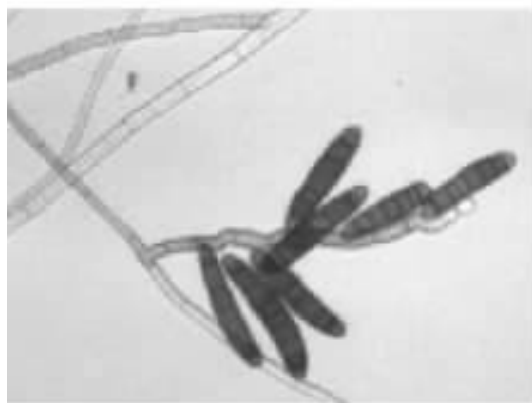


图 3 玉米圆斑病菌分生孢子及分生孢子梗

Fig.3 The Conidium and Synnema of the Pathogen

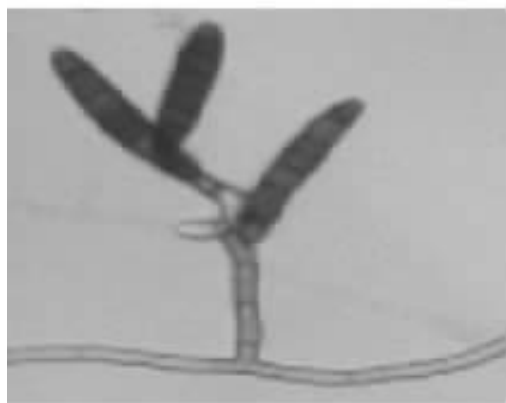


图 4 玉米圆斑病菌分生孢子及分生孢子梗

Fig.4 The Conidium and Synnema of the Pathogen



图 5 玉米圆斑病菌分生孢子梗

Fig.5 The Synnema of the Pathogen



图 6 致病性测定第 10 d 时的病斑

Fig.6 The Spot of the Tenth Day in the Pathogenicity Test

3 结论与讨论

通过对重庆地区玉米圆斑病病原菌的致病性测定、形态特征和培养性状的观察,分生孢子的形状、颜色、大小、隔膜数、基细胞形状、脐点以及分生孢子梗的颜色、形状、隔膜数等与前人的研究结果一致^[8, 9, 12]。结果表明:重庆地区引起玉米圆斑病的病原菌为炭色长孺孢(*Bipolaris carbonum* Wilson),属半知菌亚门平脐蠕孢属。

现已报道玉米圆斑病菌有 3 个生理小种,我国有 1 号和 2 号小种,前者是优势小种。而重庆地区玉米圆斑病菌是否存在小种分化,该病原菌的生物学特性以及侵入寄主的方式等还有待于进一步研究。

致谢:本文得到西南大学植物保护学院肖崇刚教授的审阅,谨此致谢!

参考文献:

- [1] Dodd J D. Developments in the maize pathogen *Bipolaris zeicola* Shoemaker[J]. *Maydica*, 1993, 38(3): 201—204.
- [2] Jennings P H, Zscheile F P, Brannaman B L. Sterol Changes in Maize Leaves Infected with *Helminthosporium carbonum* [J]. *Plant Physiol*, 1970, 45(5): 634—635.
- [3] 李淑荣,李惠春,刘淑杰,等.玉米圆斑病的发生与防治[J].*内蒙古农业科技*, 1999, 6: 42—43.
- [4] 闫树合.玉米自交系圆斑病的发生及防治[J].*种子世界*, 2000, 5: 20.
- [5] 胡旭章,黄梧芳.玉米小斑病菌与玉米圆斑病菌种间杂交的初步研究[J].*河北农业大学学报*, 1992, 2(15): 8—12.
- [6] 朱 晞,黄梧芳.玉米圆斑病菌致病毒素研究初报[J].*河北农业大学学报*, 1991, 3(14): 45—48.
- [7] 朱 晞,黄梧芳.玉米圆斑病菌致病毒素的研究进展[J].*河北农业大学学报*, 1991, 3(14): 120—122.
- [8] 戴芳澜.中国真菌总汇[M].北京:科学出版社,1979: 974—980.
- [9] 邓 晖,张天宇.中国平脐蠕孢属的分类研究 I [J].*菌物系统*, 2002, 21(3): 327—333.
- [10] 张 猛,李兴道,赵玉华.长蠕孢属真菌种的演变[J].*河南农业科学*, 2005, 6: 51—53.
- [11] 方中达.植病研究方法[M].第 3 版.北京:中国农业出版社,1998: 62—64.
- [12] 陆家云.植物病原真菌学[M].北京:中国农业出版社,2001: 400.
- [13] 杨学辉,肖崇刚,袁 洁,等.贵州辣椒疫病病原鉴定及生物学特性研究[M].*西南农业大学学报(自然科学版)*, 2004, 26(4): 413—416.

Isolation and Identification of the Pathogen of Northern Corn Leaf Spot in Chongqing

DONG Guo-ju, SHEN Wan-xia

School of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: The pathogen of northern corn leaf spot in Chongqing was isolated, purified and identified as *Bipolaris carbonum* Wilson. The result of pathogenicity test showed that the pathogen can directly penetrate into the leaves of corn plants and typical symptoms appeared in a week.

Key words: northern corn leaf spot; *Bipolaris carbonum* Wilson; pathogenicity

责任编辑 夏 娟