

大豆菌核病菌生物学特性的研究

石凤梅,孟庆林,马立功,刘 佳,李易初

(黑龙江省农业科学院 植物保护研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要:为有效控制大豆菌核病的发生、蔓延,从采自黑龙江省不同地区大豆菌核病菌中选取 5 个代表性菌株进行生物学特性的研究。结果表明:大豆菌核病菌菌丝生长的最适温度为 20 ~ 25℃,而菌核在 15 ~ 20℃时产生量最多;菌丝适于在中性和偏酸性条件下生长。病菌在 PDA 和大豆叶片汁培养基上生长较好,菌核的产生则在向日葵叶片汁培养基上最多;有无光照对菌丝生长影响不大,但光照有利于菌核的产生。子囊孢子萌发最适温度为 25℃;萌发最适 pH 为 7 ~ 8;大豆汁、向日葵汁和油菜汁可促进子囊孢子的萌发;有无光照对子囊孢子萌发无显著影响。不同地区大豆菌核病菌由于生态条件的不同,菌核萌发形成子囊盘能力和病原菌的致病力也存在差异。

关键词:大豆;菌核病菌;生物学特性

中图分类号:S565. 1 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2013)02-0224-05

Biological Characters of *Sclerotinia Sclerotiorum* in Soybean

SHI Feng-mei, MENG Qing-lin, MA Li-gong, LIU Jia, LI Yi-chu

(Plant Protection Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: Five typical isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean collected from different locations of Heilongjiang province were tested about biological characteristics to effectively control the occurrence and extension of *Sclerotinia sclerotiorum*. The results showed that optimal temperature of mycelial growth and sclerotia production was at 20-25℃ and 15-20℃, respectively. The suitable condition of mycelial growth was neutral and acidic. The optimal medium of mycelial growth and sclerotia production was PDA, soybean leaves juice and sunflower leaves juice, respectively. Light had no significant effect on mycelial growth, but was beneficial to sclerotia production. The optimal temperature of ascospore germination was 25℃, the optimum pH was 7-8. Soybean, sunflower and rape juice could promote ascospore germination. Light had no significant effect on the germination of ascospores. Due to different ecological conditions, *S. sclerotiorum* isolated from various locations were differed in apothecia production and pathogenicity.

Key words: Soybean; *Sclerotinia sclerotiorum*; Biological characteristic

大豆菌核病(*Sclerotinia sclerotiorum*)又称白腐病,是危害大豆生产的重要病害之一。在全国各大豆主产区均有发生,尤以黑龙江省、内蒙古北部地区危害较重,流行年份一般减产 20% ~ 30%,严重发病地块减产 50% 以上^[1-3]。病菌在田间通过子囊孢子和菌丝体传播流行,病菌菌丝体的生长条件、子囊孢子萌发条件与病害的发生、流行密切关系。目前对其生物学特性的系统研究报道较少^[4-6]。因此,现对大豆菌核病菌的生物学特性进行研究,旨在为有效控制该病的发生、蔓延提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试病原菌 2011 年分别从黑龙江省齐齐哈尔、牡丹江、黑河、绥化、双鸭山地区大豆植株上采集菌核进行分离纯化,从中选取 5 个代表性菌株作为供试菌株(菌株编号 HL1 ~ HL5)。

1.1.2 培养基 PDA 培养基:按常规配置;PSA 培养基:按常规配置;向日葵叶片培养基:向日葵叶片 200 g,其他同 PDA;大豆叶片培养基:大豆叶片 200 g,其它同 PDA。大豆汁:将大豆叶片 200 g 加入到 1 000 mL 水中,煮沸 20 min 后将大豆叶片滤掉,滤液经 121℃ 高温湿热灭菌 30 min 后备用;向日葵汁:向日葵叶片 200 g,其他同大豆汁培养基;油菜汁:油菜叶片 200 g,其他同大豆汁培养基。

1.1.3 供试品种 大豆:农青豆、合丰 21、黑农 51;向日葵:龙食葵 2 号、7101、丰葵杂 1 号;油菜:荣华油 3 号、秦优 9 号、垦油 7 号;茄子:紫长茄、紫圆茄、中晚紫长茄。

1.2 病菌菌丝体生物学特性研究

1.2.1 温度对菌丝生长和菌核产生的影响 病菌在 PDA 上活化 48 h,然后沿菌落最外圈取直径为 0.50 cm 菌碟(以下取菌碟方法相同)接于 PDA 平板中央,分别置于 10、15、20、25、30℃ 条件下恒温培养 48 h 后测菌落直径,10 d 后测各皿内菌核数及所

收稿日期:2012-12-25
基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项(201103016)。
第一作者简介:石凤梅(1978-),女,硕士,助理研究员,从事植物病理学研究。E-mail:sfm_2004@163.com。

有菌核的鲜重,每处理3次重复。

1.2.2 pH对菌丝生长的影响 从PDA上活化48 h的菌落最外圈打取菌碟(0.50 cm),分别接种于pH为4,5,6,7,8,9,10的PDA平板上,20℃恒温培养72 h,测量菌落直径,每处理3次重复。

1.2.3 培养基对菌丝生长和菌核产生的影响 打取菌饼后分别移植到PDA培养基、PSA培养基、向日葵叶片培养基和大豆叶片培养基上,20℃恒温培养48 h后测量菌落直径,10 d后测量各皿内菌核数量及所有菌核的鲜重,每处理3次重复。

1.2.4 光照条件对菌丝生长和菌核产生的影响 设置全光照,全黑暗,光照12 h/黑暗12 h共3个光照处理。打取菌饼后移植到PDA培养基上,光源为30 W日光灯,20℃恒温培养48 h,测量菌落直径,10 d后测量各皿内菌核数量及所有菌核的鲜重,每处理3次重复。

1.2.5 不同菌株的菌核子囊盘萌发能力比较 分别将5个菌株人工培养产生的菌核晾干,低温(5℃)处理42 d,取出用灭菌水冲洗后将菌核置入装有灭菌沙的发芽盒中,放置在20℃左右、自然散射光下保湿培养,每天观察并记录菌核的萌发情况。

1.2.6 致病力测定 采用离体叶片法^[7]并稍加改进。塑料盘用酒精消毒,将灭过菌的纱布(4层)铺于盘底,每个塑料盘加入灭菌蒸馏水100 mL;选取向日葵、大豆、油菜和茄子植株成株期的上部叶片,叶片表面消毒后,平铺于塑料盘中,然后扩繁48 h的病菌菌落边缘(最外一圈)打取菌碟(0.5 cm),放置于叶片中央,并用保鲜膜将瓷盘封上保湿,每处理6次重复,置于25℃条件下培养。在接种后48和72 h分别对叶片上的病斑直径进行测量,并以不同作物为类别,计算其平均值以表示不同菌株对4种作物的致病力强弱。

1.3 子囊孢子萌发特性的研究

1.3.1 子囊孢子液的制备 将供试菌株经人工培养产生的菌核低温(5℃)处理后,置入装有灭菌沙的

灭菌发芽盒中,放置在20℃、自然散射光下保湿培养,萌发后收集子囊孢子并配成定量浓度的孢子悬浮液备用。

1.3.2 温度对子囊孢子萌发的影响 将孢子悬浮液滴在凹玻片上^[8]分别置于15,20,25,30,35℃下培养,间隔1 h观察记录孢子的萌发情况。

1.3.3 pH对子囊孢子萌发的影响 分别配制pH4,5,6,7,8,9,10的孢子悬浮液,滴在凹玻片上置于20℃下培养。观察记录孢子的萌发情况。

1.3.4 营养条件对子囊孢子萌发的影响 分别用上述的不同培养基配制孢子悬浮液,分别滴在凹玻片上置于20℃下培养,以蒸馏水为对照。观察孢子的萌发情况。

1.3.5 光照对子囊孢子萌发的影响 设全光照、全黑暗、光照2.5 h/黑暗2.5 h处理。将孢悬液滴在凹玻片上置于20℃下培养。观察记录孢子的萌发情况。

2 结果与分析

2.1 病菌菌丝体生物学特性

2.1.1 温度对菌丝生长和菌核产生的影响 由表1和表2可知,病菌菌丝生长的最适温度为20~25℃,而菌核的产生则在15~20℃数量最多,菌核单粒重最大;当温度为30℃时,菌丝的生长速度则明显减慢,10 d内产生的菌核较少。

表1 不同温度对菌丝生长的影响

Table1 Effect of temperature on mycelium growth					
菌株 Strain	菌落直径 Colony diameter/cm				
	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃
HL1	0.57	2.47	4.82	3.53	1.13
HL2	0.72	3.02	4.77	4.37	1.92
HL3	0.70	2.00	3.95	3.38	0.63
HL4	0.76	2.12	4.05	3.27	0.82
HL5	0.63	1.98	3.76	2.95	0.70
平均值 Average	0.68	2.32	4.27	3.50	1.04

表2 不同温度对菌核产生的影响

Table 2 Effect of temperature on sclerotia production										
菌株 Strain	菌核产生的数量 The number of sclerotia per dish					菌核粒重 Fresh weight of sclerotia/g				
	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃
HL1	2.3	20.8	26.5	15.5	9.0	0.005	0.011	0.008	0.006	0.006
HL2	0	11.0	16.8	9.6	4.0	0	0.015	0.010	0.009	0.006
HL3	0	8.2	11.9	7.1	3.3	0	0.020	0.018	0.015	0.010
HL4	0.3	16.6	22.1	13.8	7.3	0.005	0.017	0.014	0.009	0.007
HL5	1.7	5.3	6.1	5.0	0.3	0.014	0.022	0.025	0.017	0.005
平均值 Average	0.86	12.38	16.68	10.2	4.78	0.005	0.017	0.015	0.011	0.007

2.1.2 不同 pH 对菌丝生长的影响 如图 1 所示,供试菌株在 pH4 ~ 10 均可生长,但 pH5 ~ 7 时生长较快,而 pH 大于 8 时,菌丝的生长速度明显减慢,且 pH 越大,生长速度越慢。表明菌丝适合在偏酸性和中性条件下生长,而碱性条件下生长则较慢。

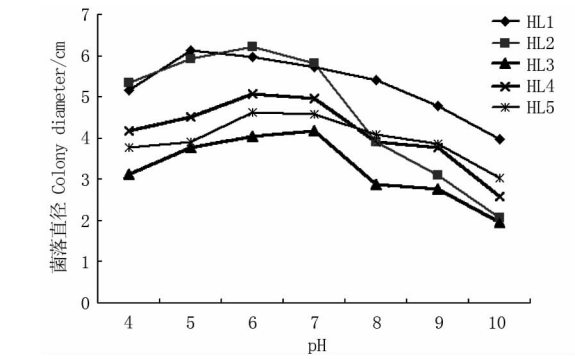


图 1 不同 pH 对菌丝生长的影响

Fig.1 Effect of pH on mycelium growth

2.1.3 不同培养基对菌丝生长和菌核产生的影响 由表 3 和表 4 可知,病菌在 PDA 和大豆叶片培养基上生长较好;而菌核则在向日葵叶片培养基上产生量最多,粒重最重。

表 3 不同培养基对菌丝生长的影响

Table 3 Effect of culture medium on mycelium growth

菌株 Strain	菌落直径 Colony diameter/cm			
	PDA	PSA	大豆叶 Soybean leaf	向日葵叶 Sunflower leaf
HL1	4.80	3.50	4.55	3.83
HL2	4.71	3.00	5.00	5.50
HL3	4.07	3.23	4.52	3.45
HL4	4.13	3.42	4.38	3.95
HL5	3.87	3.01	4.12	3.30
平均值 Average	4.32	3.23	4.51	4.01

表 4 不同培养基对菌核产生的影响

Table 4 Effect of culture medium on sclerotia production

菌株 Strain	菌核数量 The number of sclerotia per dish				菌核粒重 Fresh weight of sclerotia/g			
	PDA	PSA	大豆叶片 Soybean leaf	向日葵叶片 Sunflower leaf	PDA	PSA	大豆叶片 Soybean leaf	向日葵叶片 Sunflower leaf
HL1	22.0	10.3	20.7	29.0	0.010	0.008	0.012	0.015
HL2	21.3	15.6	17.3	29.3	0.013	0.010	0.013	0.017
HL3	14.3	6.3	17.0	21.3	0.015	0.012	0.017	0.020
HL4	18.8	16.0	16.9	24.6	0.012	0.010	0.013	0.016
HL5	8.1	7.3	8.8	9.6	0.015	0.012	0.018	0.021
平均值 Average	16.9	11.1	16.1	22.8	0.013	0.010	0.015	0.018

2.1.4 光照条件对菌丝生长和菌核产生的影响 光照有利于菌核的产生(表 5,表 6)。研究表明,有无光照对菌丝生长无明显影响,但全

表 5 光照条件对菌丝生长的影响

Table 5 Effect of illumination on mycelium growth

菌株 Strain	菌落直径 Colony diameter/cm		
	全光照 Light 24 h	光暗交替 Light 12 h/dark 12 h	全黑暗 Dark 24 h
HL1	4.75	4.58	4.82
HL2	4.73	4.48	4.67
HL3	3.78	3.72	3.95
HL4	4.34	4.51	4.38
HL5	3.78	3.86	3.81
平均值 Average	4.28	4.23	4.33

表 6 光照条件对菌核产生的影响

Table 6 Effect of illumination on sclerotia production

菌株 Strain	菌核产生的数量 The number of sclerotia per dish			菌核粒重 Fresh weight of sclerotia/g		
	全光照 Light 24 h	光暗交替 Light 12 h/dark 12 h	全黑暗 Dark 24 h	全光照 Light 24 h	光暗交替 Light 12 h/dark 12 h	全黑暗 Dark 24 h
HL1	27.7	24.3	22.7	0.015	0.010	0.009
HL2	27.0	22.7	16.3	0.018	0.013	0.011
HL3	16.3	13.0	12.5	0.028	0.022	0.017
HL4	32.6	25.3	21.8	0.008	0.009	0.009
HL5	19.3	13.8	8.5	0.015	0.013	0.016
平均值 Average	24.6	19.8	16.4	0.017	0.013	0.012

2.1.5 不同菌株的菌核子囊盘萌发能力比较 由表7可知,不同菌株的菌核萌发产生子囊盘能力存在一定的差异,其萌发率最低为83.5%,最高达100%;萌发时间25~35 d;形成子囊盘的数量为2.1~4.3个/菌核;由此可见,不同菌株随着萌发时间越长,萌发率越低,产生子囊盘数量也越少。

表7 不同菌株的菌核萌发子囊盘能力比较
Table 6 Comparison of sclerotia producted apothecia ability

菌株	萌发时间	萌发率	子囊盘数量
Strain	Germination time/d	Germination rate/%	Apothecia number per sclerotice
HL1	25	100	4.3
HL2	28	95.6	3.8
HL3	32	87.8	2.1
HL4	28	94.2	3.5
HL5	35	83.5	2.3

2.1.6 大豆菌核病菌致病力测定 大豆菌核病菌在不同作物上的致病力存在明显差异(表8),致病力强弱顺序均为向日葵>油菜>茄子>大豆。不同菌株对向日葵、大豆、油菜和茄子的致病力不同,如HL1菌株对4种作物的致病力均较强,HL5对4

种作物的致病力均较弱。

表8 大豆菌核病菌对不同寄主致病力的测定结果
Table 8 Determination of virulence of strains on different host

菌株	病斑直径 Spots diameter/cm			
	向日葵	大豆	油菜	茄子
Strain	Sunflower	Soybean	Canola plant	Eggplant
HL1	3.60	1.71	3.49	2.84
HL2	2.96	1.38	1.97	1.91
HL3	3.13	1.58	2.78	2.60
HL4	2.80	1.09	2.71	2.13
HL5	1.27	0.56	1.12	1.09
平均值	2.75	1.26	2.41	2.11
Average				

2.2 子囊孢子萌发特性的研究

2.2.1 温度和培养时间对子囊孢子萌发的影响 由表9可知,子囊孢子在15~30℃均可萌发,萌发适宜温度为15~25℃,最适温度为25℃,3 h萌发率可达70%左右;5 h后,15~25℃处理的子囊孢子萌发率均在90%左右。

表9 不同温度对核盘菌子囊孢子萌发的影响

Table 9 Effect of culture medium on ascospores germination

菌株	取样时间	子囊孢子萌发率 Ascospore germination rate/%				
		15℃	20℃	25℃	30℃	35℃
HL1	1	0	0	0	0	0
	2	0	15.3	23.8	1.5	0
	3	28.5	40.8	71.5	3.8	0
	4	57.3	71.8	86.3	9.3	0
	5	85.8	93.5	94.8	13.0	0
HL2	1	0	0	0	0	0
	2	0	14.5	25.3	0	0
	3	27.0	41.3	69.5	2.3	0
	4	58.3	70.5	85.8	8.5	0
	5	88.5	94.3	95.5	12.8	0
HL3	1	0	0	0	0	0
	2	0	13.8	24.5	0.5	0
	3	26.3	39.5	70.8	4.3	0
	4	60.5	70.3	84.8	8.3	0
	5	87.0	93.8	95.0	13.5	0
HL4	1	0	0	0	0	0
	2	0	14.0	23.8	1.8	0
	3	24.3	42.5	69.8	4.5	0
	4	56.8	73.0	83.5	7.8	0
	5	86.0	93.0	93.8	12.8	0
HL5	1	0	0	0	0	0
	2	0	12.8	22.5	1.0	0
	3	25.8	39.0	67.8	3.8	0
	4	61.5	71.8	85.0	9.5	0
	5	86.3	92.5	94.3	13.5	0
平均值	Average	86.7	93.4	94.7	13.1	0

2.2.2 pH对子囊孢子萌发的影响 子囊孢子在pH4~10范围内均可萌发,最适pH为7~8,即在中

性和偏碱性条件下易萌发,pH小于7或大于8时,子囊孢子萌发率呈明显降低趋势(表10)。

表 10 不同 pH 对核盘菌子囊孢子萌发的影响
Table10 Effect of pH on ascospores germination

菌株 Strain	子囊孢子的萌发率 Ascospore germination rate/%						
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10
HL1	32.5	56.8	78.8	93.5	96.0	74.8	67.8
HL2	35.3	61.5	79.3	96.0	95.3	81.0	71.5
HL3	42.3	67.0	81.0	95.3	94.8	79.5	68.3
HL4	38.8	59.5	80.5	94.8	96.3	78.3	69.0
HL5	31.5	55.8	76.8	91.8	93.0	76.5	66.8
平均值 Average	36.1	60.1	79.3	94.3	95.1	78.0	68.7

2.2.3 营养条件对子囊孢子萌发的影响 培养 4 h 对照提高 10% 左右。可见大豆汁、向日葵汁和油菜汁均可促进孢子的萌发(表 11)。

表 11 营养条件对核盘菌子囊孢子萌发的影响
Table 11 Effect of nutritional condition on ascospores germination

菌株 Strain	子囊孢子萌发率 Ascospore germination rate/%						
	大豆汁 Soybean juice	向日葵汁 Sunflower juice	油菜汁 Canola plant juice	蒸馏水 Distilled water			
HL1	97.3	94.8	95.5	86.0			
HL2	96.0	93.8	94.3	84.5			
HL3	94.5	92.3	94.8	83.8			
HL4	95.5	96.3	95.8	82.0			
HL5	96.8	95.0	96.3	86.3			
平均值 Average	96.0	94.4	95.3	84.5			

2.2.4 光照条件对子囊孢子萌发的影响 全光照、光暗交替、全黑暗 3 个处理子囊孢子萌发率接近,因此有无光照对子囊孢子萌发无显著影响(表 12)。

表 12 光照条件对核盘菌子囊孢子萌发的影响
Table 12 Effect of illumination on ascospores germination

菌株 Strain	子囊孢子萌发率 Ascospore germination rate/%		
	全光照	光暗交替	全黑暗
	Light 24 h	Light2.5 h/dark 2.5 h	Dark 24 h
HL1	85.5	86.3	85.8
HL2	86.8	85.5	85.0
HL3	85.0	86.3	84.3
HL4	87.5	86.8	85.8
HL5	86.3	87.5	86.0
平均值 Average	86.2	86.5	85.4

3 结论与讨论

本研究表明,大豆菌核病菌菌丝生长的最适温度为 20~25℃,而菌核的产生则在 15~20℃ 最多;菌丝适于在中性和偏酸性条件下生长,在碱性条件下生长较慢;病菌在 PDA 和大豆叶片汁培养基上生长较好,菌核的产生则在向日葵叶片汁培养基上最多;有无光照对菌丝生长影响不大,但光照有利于菌核的产生。大豆菌核病菌子囊孢子萌发最适温度为 25℃;萌发最适 pH 为 7~8;大豆汁、向日葵汁和油菜汁可促进子囊孢子的萌发;有无光照对子囊孢子萌发无显著影响。

不同菌株的菌核萌发及形成子囊盘能力存在差异。随萌发时间的延长,萌发率降低,产生子囊盘数量也减少。不同菌株在不同作物上的致病力存在差异,表现为向日葵>油菜>茄子>大豆。不同菌株的致病力也存在一定差异,其中一些致病力强的菌株对向日葵、大豆、油菜和茄子的致病力都比较强。说明不同地区大豆菌核病菌由于生态条件的不同,菌核萌发形成

子囊盘能力和病原菌的致病力也存在差异。

参考文献

[1] 赵丹,许艳丽,李春杰.大豆菌核病的识别与综合防治[J].大豆通报,2006(3):15-16. (Zhao D,Xu Y L,Li C J. Identification and integrated managements for soybean *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Soybean Bulletin,2006(3):15-16.)

[2] 董志敏,王曙明,刘玉芝,等.大豆抗菌核病研究进展[J].大豆科学,2008,27(6):1053-1057. (Dong Z M,Wang S M,Liu Y Z, et al. Progress on resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean [J]. Soybean Science,2008,27(6):1053-1057.)

[3] 董全中.大豆菌核病的发生规律及综合防治[J].大豆通报,2003(3):56-63. (Dong Q Z. Occurrence of soybean *Sclerotinia* and integrated control[J]. Soybean Bulletin,2003(3):56-63.)

[4] 李永刚,陈丽娜.大豆菌核病菌生长特性及抗药性初步测定[J].大豆科学,2011,30(2):281-284. (Li Y G,Cheng L N. Preliminary exploration for growth characteristics and fungicide resistance of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean[J]. Soybean Science, 2011,30(2):281-284.)

[5] 宋超,唐庆华,李国英,等.新疆核盘菌的培养性状及其致病性研究[J].石河子大学学报(自然科学版),2007,25(3):170-171. (Song C,Tang Q H,Li G Y, et al Studies on the cultural characteristics and the pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary in Xinjiang[J]. Journal of Shihezi University(Natural Science),2007,25(3):170-171.)

[6] 孙君明.不同菌核病(*Sclerotinia sclerotiorum*)分离物的形态学、致病性和遗传多样性研究[D].北京:中国农业大学,2005. (Sun J M. Determination of morphology,pathogenicity and genetic diversity of *Sclerotinia sclerotiorum*(Lib.) de Bary isolates from different origins[D]. Beijing:China Agricultural University,2005.)

[7] 孙明明,韩英鹏,陈浩,等.大豆菌核病鉴定方法比较及分析[J].大豆科学,2007,26(5):728-731. (Sun M M,Han Y P, Chen H,et al . Comparisons and analysis on the methods of evaluating tolerance to soybean white mould[J]. Soybean Science,2007, 26(5):728-731.)

[8] 刘秋,于基成,房德纯,等.向日葵菌核病的生物特性研究[J].辽宁农业科学,2000(4):1-4. (Liu Q,Li J C,Fang D C,et al. Studies on biology of *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower[J]. Liaoning Agricultural Sciences,2000(4):1-4.)