

大豆灰斑病产孢动态的定量研究*

刘学敏 张明厚 谢红

(东北农业大学植保系, 哈尔滨 150030)

提 要

通过生长箱内人工接种试验和定点取样调查两个途径, 分别研究了温度、保湿时间、斑龄及温、湿度综合作用对大豆灰斑病叶斑产孢的影响。结果表明, 温度、湿度及其互作对病斑产孢均有显著影响, 病斑日龄也是影响其产孢的重要因素。单个病斑的传染期一般为19—20天, 以显症后第十一天产孢最多, 供试三个品种规律一致。

关键词 大豆灰斑病; 产孢动态; 斑龄

前言

孢子作为病原物的接种体, 其数量是病害流行的一个重要因素。研究寄主产孢问题, 无论是在理论上还是在实践中都具有不可忽视的意义。孢子形成与气象因子高度相关^[1], 并明显地随时间波动。至今为止关于各种病害孢子形成的动态模型已报导了多个^[1,2,6,8,9], 在植物病害的预测预报中作出了贡献。大豆灰斑病是一典型的流行性病害, 田间孢子数量的动态变化是导致病害流行的重要因子, 但有关其叶斑产孢的影响因素及动态方面的研究至今未见报导。1991—1992年我们分别在室内控制条件接种和田间发病两种情况下, 定量分析了大豆灰斑病产孢的影响因素, 并建立了预测模型。

材料与amp;方法

一、供试材料的准备

将无病的大豆种子(品种合丰25)播于直径12cm塑料花盆内, 待真叶平展60—70%

* 本文为国家自然科学基金资助项目的一部分

本文于1993年7月24日收到。

This paper was received on July 24, 1993.

时接种,接种浓度为 10^4 个孢子/ml,每株接种量 0.1ml,显症后 10 日(斑龄为 10 日)选取多数病斑大小较一致的病株数盆,以供试验。

二、温度与病斑产孢量的关系

1. 温度设置:按温度 5°C 、 10°C 、 15°C 、 20°C 、 25°C 、 28°C 、 30°C 和 35°C 共 8 个温度处理,每一处理 10—15 株苗,20—25 个病斑,两次重复。

2. 方法:取供试病苗,将病斑用棉球沾水擦净然后放于底部盛水的铁盘内,在不同温度下的人工气候箱内(光照 6000lux)培养,保湿 48 小时后用清水将病斑上的孢子洗下,采用培养皿计数法计算单个病斑的孢子数。

三、植株叶面保湿时间与病斑产孢量的关系

1. 保湿时间的设置:按保湿时间 0、4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48 小时 13 个处理,每处理 10—15 株,20—25 个病斑,两次重复。

2. 方法:取供试病苗,将病斑用棉球沾水擦净,然后放于底部盛水的铁盘内,以有机玻璃罩保湿,在 25°C 下的生长箱内培养。按预先设定的保湿时间分别取出病苗,同二法计算单斑产孢量。

四、病斑斑龄与产孢的关系

1. 试验设置:田间设置小区,分别播种红丰 3 号(高感),合丰 25 号(中抗)和绥农 8 号(抗病)三个大豆品种,每品种 0.1 亩。

2. 接种与调查:6 月 30 日接种,接种液浓度 10^4 /ml 个孢子,每一品种接种 15—20 株。接种后第五日起逐日调查。病斑出现的当日,逐个用油漆标记病斑,并记该日病斑的斑龄为 0,出现病斑的第二日记斑龄为 1…。每一品种选面积相近的病斑 10 个,编号。

3. 叶面孢子的获取方法:自斑龄为 1 起,每日早 6 时和晚 18 时两次用毛刷按病斑编号将孢子分别洗入盛有 2ml 清水的青霉素小瓶内,然后倒入直径为 60mm 的培养皿内,同二法镜检和计算单个病斑孢子数,直至连续 2 日洗液中未见孢子为止。

五、温度、保湿时间与病斑产孢的关系

1. 取斑龄为 10 日左右,人工接种发病的合丰 25 号大豆病株,用棉球沾水将病斑表面洗净,作为供试材料。

2. 试验设置:将供试病株放于底部盛水的铁盘内,以有机玻璃罩保湿,在人工气候箱内(光照 6000lux)培养。试验设 15°C 、 18°C 、 21°C 、 24°C 、 27°C 、 30°C 和 33°C 七个温度处理,0、4、8、12、16、20 和 24 小时七个保湿时间处理,共计 49 个处理组合。每一处理 10 余个病斑,处理后按方法二计数单个病斑的孢子数。

结果与分析

一、温度对病斑产孢量的影响

将两次重复各温度下单斑产孢量平均,并计算不同温度下,单个病斑的相对产孢量(某温度产孢量与总产孢量之比)。将所获结果以温度为 X 轴,相对产孢量为 Y 轴作图(图 1)。

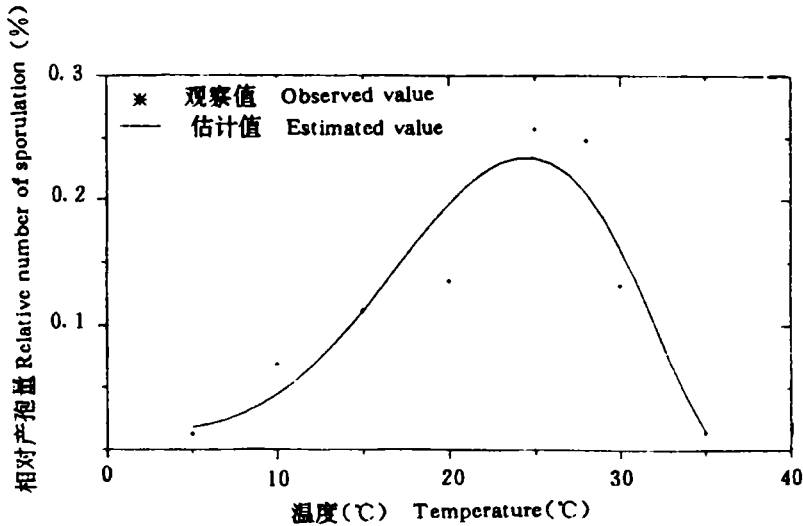


图1 温度对病斑产孢的影响

Fig. 1 Effect of temperature on sporulation of *C. sojina*

从图1可见,病斑在5—35℃的范围内均能产孢,以25℃为最适。在5—25℃范围内温度升高相对产孢量增大,超过25℃时,相对产孢量开始下降。根据图形特点,认为可用类似于真菌生长当量公式^[5]来描述病斑相对产孢量与温度的关系:

$$N = \sin^2(0.1714 - 0.02299 \cdot DT + 0.003538 \cdot DT^2 + 0.00008342 \cdot DT^3)$$

$$r = 0.9499 \quad F = 55.39$$

F检验显著,其中DT为处理温度,温度范围为5℃≤T≤35℃

二、叶面保湿时间对病斑产孢量的影响

将所获资料,以保湿时间(小时)为X轴,单斑产孢量为Y轴,建立坐标系(图2)。

从图2可见,随保湿时间的增加病斑产孢量近似于“S”型增长。将所得数据在PC机上利用统计绘图软件包PlotIT进行回归分析,选择包括指数、Richards、Logistic、Gompertz方程在内的多种“S”曲线,采用麦夸尔特法(Marquardt)进行拟合,通过比较相关系数(r)及残差平方和(ss)来确定最优方程,结果以Gompertz方程拟合效果最优。最优方程:

$$N = 526813.2 \exp[-10.072 \exp(-0.09852 \cdot DP)] \quad r = 0.9960 \quad F = 1364$$

其中DP为保湿时间,0≤DP≤48hr。

三、病斑斑龄对产孢量的影响

从三个品种调查结果发现,病斑出现的当日及第二日(斑龄为0和1)均不能产孢,斑龄为2日时大多数病斑均可产孢,斑龄为10日(即显症后第11日)时达到产孢高峰,斑龄为19日时产孢结束。三个品种的产孢动态一致,但产孢量不同,其中以合丰25产孢量最多,绥农8号最少,红丰3号居中。以斑龄为X轴,逐日累积产孢量为Y轴绘产孢动态图(图3)。

从图3可见,随斑龄增加,三个品种的累积产孢量均呈“S”型增长,将所获数据在PC机上利用PlotIT软件包选取包括Logistic、Gompertz、Weibull、Richards方程等多种“S”型

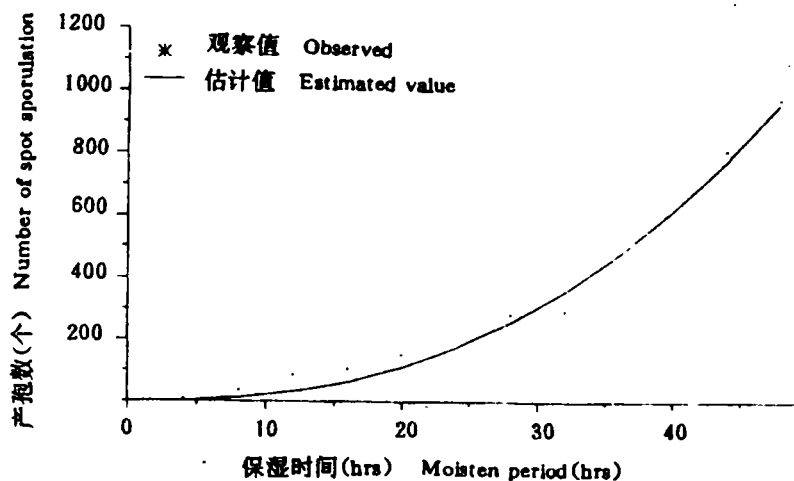


图2 保湿时间对病斑产孢的影响

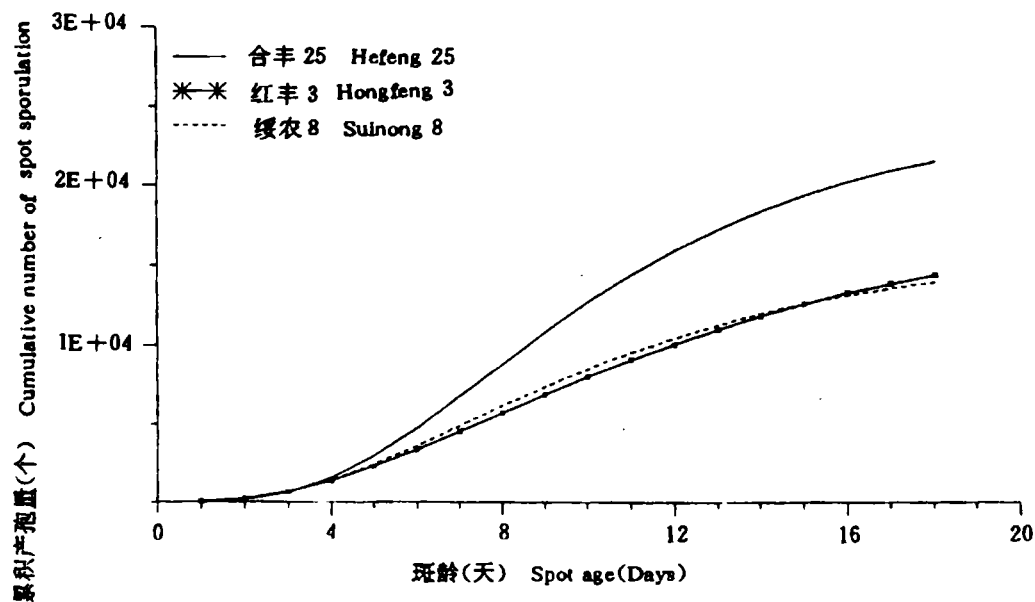
Fig. 2 Effect of moisture period on sporulation of *C. sojina*

图3 斑龄对病斑产孢的影响

Fig. 3 Effect of spot age on sporulation of *C. sojina*

曲线模型分别拟合三个品种的累积产孢量与斑龄的关系,结果以 Richards 方程($N=b[1-\exp(-b_2 \times D)]^{b_3}$)^[10]拟合最优,将三个品种的拟合结果列成下表(表1):

表 1 大豆灰斑病叶斑产孢动态的拟合结果(1991 哈尔滨)

Table 1 The fitting results of sporulating dynamic of *C. sojina* (1991 Harbin)

品种 Cultivar	b_1	b_2	b_3	r	ss
红丰 3 Hongfeng 3	17881.31	0.1518	3.2544	0.9985	1515329
合丰 25 Hefeng25	24076.95	0.2076	4.7882	0.9990	2397971
绥农 8 Suinong 8	15790.67	0.19072	3.8453	0.9990	906213.4

从表 1 可见,由于供试品种抗病性不同,单斑产孢量亦有差别,表现为三个品种产孢量的最大值 b_1 不同,即合丰 25 产孢量最大,红丰 3 号次之,最少为绥农 8 号。

四、温度、保湿时间对产孢量的影响

以保湿时间为 X 轴,温度为 Y 轴,产孢量为 Z 轴建立作坐标系,绘出在控制条件下的产孢量随温度和保湿时间变化的情况(图 4):

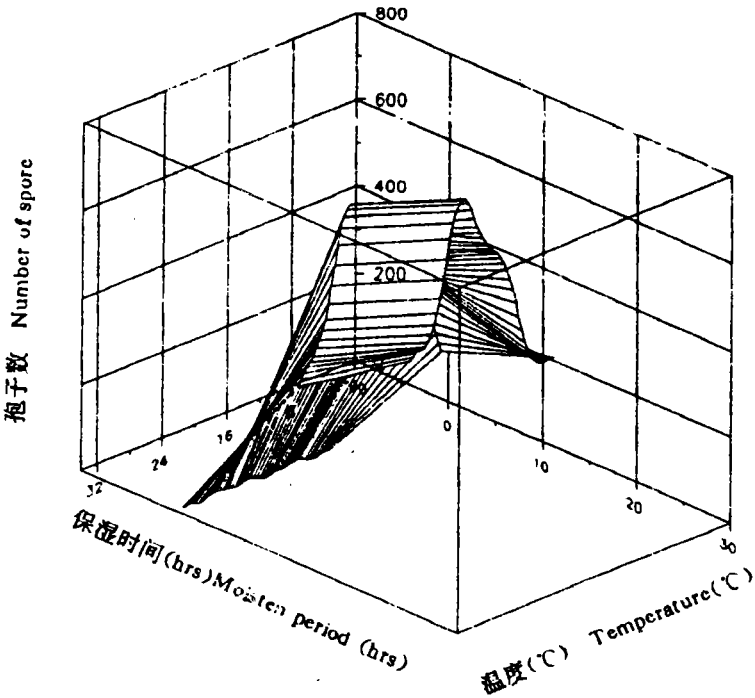


图 4 温度、保湿时间对病斑产孢的影响(观察值)

Fig. 4 Effect of moisten period and temperature on sporulation (observed value)

由图 4 可见,在 15—27℃ 温度范围内,产孢量随温度升高而增加,超过 27℃ 后开始下降。保湿时间加长产孢量增加。以保湿时间、温度及保湿时间和温度的多种互作为自变量,以产孢量,经对数、四次方根转化的产孢量为依变量在 PC 机上分别进行逐步回归分析,获得如下最优预测式:

$$\begin{aligned}\sqrt[4]{N} = & -0.5342 + 1.1618 \cdot DP - 0.1109 \cdot DT - 0.000213 \cdot DT \cdot DP \\ & - 0.08616 \cdot DP^2 + 0.01334 \cdot DT^2 - 0.000285 \cdot DT^3 + 0.001937 \cdot DP^3 \\ r = & 0.9559 \quad F = 77.05 (F_{0.01} = 6.96)\end{aligned}$$

其中 DP 为保湿时间,DT 为温度。N 为孢子数,将估计结果绘成图 5。

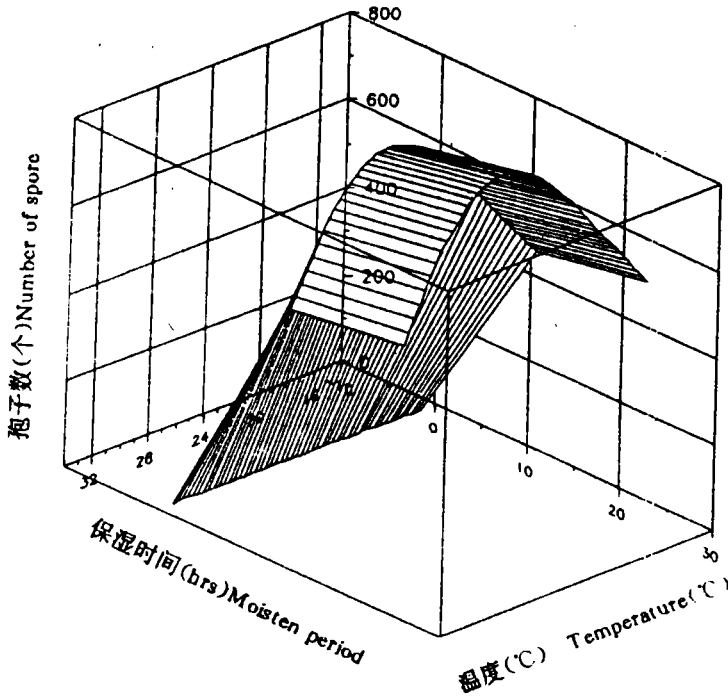


图 5 温度、保湿时间对病斑产孢的影响(估计值)

Fig. 5 Effect of moisture period and temperature on sporulation (estimated value)

讨 论

1. 对于多循环病害的流行,孢子数量是构成再侵染强度的重要因素。大豆灰斑病是一种多循环病害,初侵染的主要来源是病残体带菌^[4],病菌产孢量是决定病害流行速度及田间病害危害性的重要因素之一。

2. 病斑的传染期(Infectious period)是指病斑能够产生孢子的阶段^[7],也就是能形成孢子进行再侵染的阶段,它决定了病斑在田间不断产生接种体的持续时间。病斑面积大

小、显症后日数(斑龄)以及温湿度直接影响病斑产孢量的多少^[1,8,9,11]。已往的观察结果表明,大豆灰斑病病斑形成后一般不会扩大,因此一旦病斑形成,在品种、小种组合一定时,其产孢量主要取决于病斑斑龄,温度及相对湿度。大豆灰斑病自显症后的第二日起开始产孢,第十一日达到产孢高峰,产孢期(传染期)一般持续 19 天。产孢量与斑龄的关系可用 Richards 模型描述。

3. 温度和相对湿度是影响产孢的重要因素。试验结果表明,温度在 5℃ 以上病斑即可产孢,温度升高,产孢量增加,到 25℃ 时达到最高峰,超过 25℃ 后,产孢量开始下降,钟兆西等亦证明大豆灰斑病菌菌落在 25—28℃ 的温度范围内产孢最多^[3]。经多年的田间系统调查发现,黑龙江省大豆灰斑病一般在 7 月中旬开始发生,8 月末结束,此时田间日均温在 15—25℃ 之间,均可满足病斑产孢的需要。试验发现温度 15℃ 时单斑产孢量为 530.47 个,25℃ 为 1214.34 个,增长 1.3 倍,增加不快。说明田间温度的变化对孢子数量的增减影响不大。但在该段时间内田间每日相对湿度变化很大,叶面结露时间可从 2 小时到 24 小时(包括降雨),田间小气候相对湿度达到 100% 的时间差别很大。研究发现,保湿 4 小时病斑可以产孢,其单斑产孢量为 8.56 个,24 小时为 207.08 个,增长 23.2 倍。可见湿度是田间病斑产孢数量的限制因子,也是病害流行的最主要因素。目前黑龙江省主栽的大豆品种基本都感病,田间病害流行与否主要取决于环境条件。在大豆灰斑病的循环中侵染和产孢是两个最重要阶段,叶面湿润时数影响侵染,相对湿度影响产孢。

我们的试验结果还证明,大豆灰斑病田间传染期较长,少量的病斑亦可为田间病害的传播提供足够数量的接种体,田间病害的流行主要取决于温度、湿度和叶面湿润时数,在黑龙江省病害流行期内温度基本都可满足病斑产孢,孢子萌发及侵染的要求,田间病害流行程度主要取决于湿度(叶面湿润时数,相对湿度)。因此对其预测也应从湿度这个最主要因素出发,从而作出科学准确的判断。

4. 产孢量的多少是品种抗病性强弱的重要标志。试验证明供试三个品种的产孢量不同,绥农 8 号品种比较抗病,产孢量最少,合丰 25 产孢量最多,红丰 3 号居中,在曲线上表现的是三个品种累积产孢量的最高点不同。

5. 大豆灰斑病是大豆生产中一为害较大的病害,其流行具有爆发和间歇的特点,因此对其预测十分必要。目前关于大豆灰斑病流行的模拟研究还未见正式报导,本项研究以室内模拟及田间调查结果为依据,明确了大豆灰斑病叶斑产孢的主要影响因素和基本规律,为田间病害的预测提供了部分基础资料,同时建立了一系列模型,为对病害预测提供重要参量。本模型作为大豆灰斑病流行预测模拟模型的子模型将被组建到大豆灰斑病管理系统中。

参考文献

- [1] 肖长林等,1991,北京农业大学学报 17(3):81—86
- [2] 杨信东等,1987,吉林农业大学学报 9(2):5—9
- [3] 钟兆西等,1989,大豆科学 8(3):288—294

- [4] 钟兆西等, 1991, 东北农学院学报 22(1), 15—19
- [5] 曾士迈, 1980, 科学通报 23, 1092—1093
- [6] 骆勇等, 1988, 中国科学(B辑) 1, 51—59
- [7] Campbell, C. L. and L. V. Madden 1990, Introduction to Plant Disease Epidemiology P127 New York
- [8] Carol J. Army and Randall C. Rowe 1991, Effects of Temperature and Duration of Surface Wetness on Spore Production and Infection of Cucumbers by *Didymella bryoniae*. Phytopathology 81, 206—209
- [9] Chellemi, D. O., and J. J. Marois 1991, Sporulation of *Uncinula necator* on Grape Leaves as Influenced by Temperature and Cultivar Phytopathology 81, 197—201
- [10] Richards, F. J., 1959, A Flexible Growth Function for Empirical Use 10, 290—300 J. Exp. Bot.
- [11] Rotem J 1987, Host and Environmental Influences on Sporulation in Vivo Ann. Rev. Phytopathol 16, 83—101

A QUANTITATIVE STUDY ON DYNAMICS OF SPORULATION OF FROGEYE LEAF SPOT CAUSED BY *CERCOSPORA SOJINA*

Liu Xuemin Zhang Minghou Xie Hong

(Department of Plant Protection, Northeast Agriculture University, Harbin 150030)

Abstract

The effect of temperature, moistening period, age of spot and thier interaction on sporulation of leaf spot caused by *C. sojae* was studied with experiments in growth chamber and field. The results indicated:

1. The temperature range for sporulation was 5—35℃, and the optimum temperature of sporulation was 25℃. The relationship between number of spore and temperature may be described as:

$$N = \sin^2(0.1714 - 0.02299 * DT + 0.003538 * DT^2 + 0.00008342 * DT^3)$$

$$r = 0.9499 \quad F = 55.39 \quad (F_{0.01} = 6.96)$$

2. Sporulation started after moistening for 4 hour. The longer moistening period, the higher the number of spores. Their relationship fitted Gompertz model:

$$N = 526813.2 \exp[-10.072 \exp(-0.09852 * DP)]$$

$$r = 0.9960 \quad F = 1364 \quad (F_{0.01} = 6.96)$$

3. Sporulation started 2 days after spot appearance, the peak of sporulation was on the 11th day after symptom appearance and the infections period is 19 days. The Richards model was used to describe cumulative number of sporulation over spot ages.

$$(1) \text{Hongfeng 3: } N = 17881.31 [1 - \exp(-0.1518 * D)]^{3.2544}$$

$$r = 0.9985 \quad ss = 1515329$$

$$(2) \text{Hefeng 25; } N = 24076.95 \exp [1 - \exp(-0.2078 * D)]^{4.7882}$$

$$r = 0.9990 \quad ss = 2397971$$

$$(3) \text{Suinong 8; } N = 15790.67 \exp [1 - \exp(-0.19072 * D)]^{3.8453}$$

$$r = 0.9990 \quad ss = 906213.4$$

4. The stepwise regression was used to analyze the number of spores over temperature, moisten period and their interactions.

$$\begin{aligned} \sqrt{N} = & -0.5342 + 1.1618 * DP - 0.1109 * DT - 0.000213 * DT * DP \\ & - 0.08616 * DP^2 + 0.01334 * DT^2 - 0.000285 * DT^3 + 0.001937 * DP^3 \\ r = & 0.9559 \quad F = 77.05 \quad (F_{0.01} = 6.96) \end{aligned}$$

in which N is the number of sporulation, DT is temperature, DP is moisten period, D is spotage.

Key words Frogeye leaf spot; Spot age; Dynamics of sporulation