

大豆紫斑病菌 (*Cercospora kikuchii*) 生物学特性研究^{*}

王 伟 衣春生 赵 谦 王 琳

(东北农业大学农学院 哈尔滨 150030)

摘 要

大豆紫斑病菌在 PDA 培养基上生长速率最快,在大豆叶葡萄糖琼脂培养基和番茄培养基上产孢量比在 PDA 上高 2 倍,此病菌生长发育最适温度为 25 - 28℃,低于 15℃或高于 37℃均不适宜,在连续黑暗条件下有利于生长,pH 4-9 之间,均能生长和产孢,以 pH=7 生长最适,pH=7-8 产孢最多,分生孢子在葡萄糖液中萌发最好,在 15-40℃之间均能萌发,最适温度为 30-33℃,pH=3-9 之间均能萌发,pH=7-8 萌发最好,黑暗条件有利萌发。

关键词 大豆紫斑病菌;培养条件;产孢条件

大豆紫斑病 *Cercospora kikuchii* (Matsumoto and Toloyasu) Gardn. 自 1926 年首次报导以来,在全世界各大豆产区均有发生。在美国、日本等发生较重,在我国南方大豆产区发生比较普遍,在东北大豆产区曾多次流行,对大豆出口造成很大损失。病菌在感染大豆过程中可产生一种深红色毒素,致使受感染大豆籽粒呈紫色斑点或全部成紫色,严重影响了大豆品质。近年来,由于大豆的广泛种植及耕作栽培条件的改变等原因,使大豆紫斑病发生严重,有些种植面积较大的大豆品种高度感病,紫斑粒率可达 30% 以上,因此,该病有逐渐扩大蔓延的趋势,为了明确该病菌生长、产孢以及萌发所要求的条件,为病害流行测报及防治提供可靠的理论依据,我们对其生物学特性进行了较为系统的研究。

材料与方法

- 1 供试菌种:选典型症状的大豆紫斑病粒,按常规方法进行单孢分离,获得病菌的纯培养。将紫斑病菌挑取少量于试管中培养一周,供试验用。
- 2 生长及产孢:将等量病菌接种到平面培养基上,置各种不同培养基、温度、光照条

* 收稿日期 1997-07-30

This paper was received on July 30, 1997.

件和 pH 值下培养,每隔 1 天测量菌落直径。10 天后,用 10ml 无菌水冲洗,测定其产孢量。每处理重复 3 次。

3 孢子萌发条件:在番茄琼脂培养基上产孢,用 20ml 无菌水冲洗,配成孢子悬液。将孢子悬液滴于保湿培养皿中,置于各种试验条件下,经 0.5 1 2 3 4 5 6 小时后,用棉兰固定,镜检孢子的萌发数,取 10 次读数的平均值。每处理重复 3 次。

结果与分析

1 大豆紫斑病菌生长及产孢的研究

1.1 不同培养基对病菌生长及产孢的影响:供试培养基有:(1)大豆叶琼脂;(2)大豆叶葡萄糖琼脂;(3)番茄琼脂;(4)菠菜琼脂;(5)芹菜琼脂;(6)黄瓜琼脂;(7)胡萝卜琼脂;(8)PDA 等培养基。接种等量菌块后,置 28℃ 培养箱中培养。结果如表 1。

表 1 不同培养基对大豆紫斑病菌的生长及产孢的影响

Table 1 Effects of different media on growth and sporulation of <i>C. kikuchii</i>						
培养基 Media	菌落直径 (cm) Diameter of the colonies					培养 10 天后 产孢量 (× 10 ³) Conidia No.
	2D	4D	6D	8D	10D	
大豆叶琼脂 Soybean leaf agar	0.65	1.2	1.9	2.4	2.9	22.5
大豆叶葡萄糖琼脂 Soybean leaf glucose agar	0.68	0.9	1.4	2.2	3.0	50
番茄琼脂 Tomato agar	0.7	1.4	2	2.7	3.2	50
菠菜琼脂 Spinch agar	0.5	1.3	2.1	2.6	3.3	25
芹菜琼脂 Celery agar	0.7	1.4	2.1	2.9	3.5	12.5
黄瓜琼脂 Cucumber agar	0.8	1.5	2.2	3.0	3.7	12.5
胡萝卜琼脂 Carrot agar	0.65	1.5	2.2	3.1	4	25
PDA	0.75	1.8	2.7	3.7	4.7	22.5

结果表明:大豆叶葡萄糖和番茄琼脂培养基产孢量多,而菌落扩展速度在 PDA 培养基上最快,但产孢最少。菌落扩展速度与产孢量无相关性。

1.2 温度对病菌生长及产孢的影响:取等量供试菌种接种到 PDA 培养基平面上,分别置不同温度梯度下培养(见表 2)。结果表明:病菌在低于 15℃ 或高于 37℃ 时,经 10 天后菌落仍不扩展,也未产孢。菌丝生长和产孢的最适温度为 25–28℃。

1.3 光照对病菌生长及产孢的影响:取等量菌块接种到 PDA 培养基上,分别置连续光照,12 小时光照 12 小时黑暗交替和连续黑暗下,在 28℃ 温箱培养。结果如表 3。

结果表明:紫斑病菌在连续黑暗条件下,菌落扩展最快,产孢量最多,在连续光照条件下,菌落生长及产孢均受抑制。

表 2 温度对病菌生长及产孢的影响					
Table 2 Effects of temperature on growth and sporulation of <i>C. kikuchii</i>					
温度 (°C)	菌落直径 Diameter of the colonies				培养 10天后产孢量 (× 10 ³) Conidia No.
	2D	4D	6D	8D	
10	0.5	0.5	0.5	0.5	0
15	0.5	0.5	0.5	0.5	0
18	0.5	0.7	1	1.2	6.2
23	1.5	1.9	2.7	4.4	22.5
25	1.7	2.1	3.2	4.9	25
28	1.3	2	2.9	4.5	27.5
30	0.8	1.3	1.6	2.1	22.5
33	0.5	1	1.1	1.5	12.5
35	0.5	0.7	1	1.1	0
37	0.5	0.5	0.5	0.5	0
40	0.5	0.5	0.5	0.5	0

表 3 光照对病菌生长及产孢的影响						
Tbale 3 Effects of light on growth and sporulation of <i>C. kikuchii</i>						
光照 Light	菌落直径 (cm) Diameter of the colonies					培养 10天后 产孢量 (× 10 ³) Conidia No.
	2D	4D	6D	8D	10D	
连续光照 Continuous light	1.7	2.2	2.5	3.1	4	12.5
光暗交替 Altemalive darkness and light	1.9	2.7	3.5	4.6	5.3	22.5
连续黑暗 Continuous darkness	1.95	2.8	4	4.9	5.85	27.5

1.4 pH值对病菌生长及产孢的影响: 用 40% NaOH和 6N HCl调节 PDA培养基的不同 pH值,然后接种等量菌块,置连续黑暗,28℃条件下培养,结果如表 4

表 4 pH值对病菌生长及产孢的影响						
Table 4 Effect of pH on growth and sporulation of <i>C. kikuchii</i>						
pH值	菌落直径 (cm) Diameter of the colonies					培养 10天后产孢量 (× 10 ³) Conidia No.
	2D	4D	6D	8D	10D	
3	0.5	0.7	0.8	1	1.5	0
4	0.7	0.8	2.6	3.4	3.8	12.5
5	0.9	1.9	2.7	3.3	3.6	22.5
6	0.9	1.8	2.7	2.9	3.4	25
7	1	2	3	4.7	5.6	27.5
8	0.8	1.7	3.1	4.1	4.9	27.5
9	0.7	1.7	3	3.9	4.7	12.5

结果表明: 紫斑病菌在 pH= 3- 9下均能生长, 以 pH= 7最适宜, 病菌的产孢最适 pH = 7- 8

2 大豆紫斑病菌分生孢子萌发条件的研究

2.1 分生孢子萌发与营养的关系: 供试营养为 10% 大豆叶汁液, 4% 葡萄糖液, 4% 蛋白胨液, 以蒸馏水作对照, 在每个保湿培养皿中滴 10滴营养液和 10滴孢子悬浮液, 置 28℃条件下培养, 结果如表 5

表 5 不同营养液对病菌孢子萌发的影响

Table 5 Effects of different culture fluid on conidia germination of *C. kikuchii*

营养液 Culture fluid	孢子萌发率(%) Germination rate of conidia						
	0. 5h	1h	2h	3h	4h	5h	6h
1% 豆叶汁液 Soybean leaf extract	2. 5	7. 1	11. 70	14. 8	18. 8	25. 1	66
4% 葡萄糖 Dextrose	3. 1	6. 7	15. 1	17. 7	42. 7	56	72. 1
4% 蛋白胨 Peptone	1. 9	1. 95	3. 9	6. 4	16. 1	31	42
蒸馏水 Distilled water	2. 7	3. 5	4. 7	6. 9	14. 1	32	57

试验结果看出, 病菌孢子萌发对营养要求不严, 在蒸馏水中亦萌发得很好, 糖份有利于萌发。

2.2 温度对病菌孢子萌发的影响: 病菌孢子在 15- 40℃之间均能萌发, 最适温度为 30- 33℃, 0. 5小时就可萌发, 低于 25℃或高于 37℃萌发率显著降低 (见表 6)。

表 6 温度对病菌孢子萌发的影响

Table 6 Effects of temperature on conidia germination of *C. kikuchii*

温度 Temperature	孢子萌发率(%) Germination rate of conidia						
	0. 5h	1h	2h	3h	4h	5h	6h
10	0	0	0	0	0	0	0
15	0. 5	0. 8	1	1. 1	1. 1	1. 3	1. 3
18	0. 7	1. 1	1. 4	1. 7	2. 3	3. 4	6. 7
25	1. 16	1. 96	3. 9	9. 7	13. 9	31. 4	49
28	1. 81	1. 95	3. 4	7. 12	16. 7	34. 4	56. 1
30	1. 95	1. 96	3. 98	6. 38	15. 1	31. 1	62
33	1. 36	1. 8	2. 7	7. 1	17. 8	39. 2	66
35	1. 04	1. 25	2. 51	6. 10	12. 2	31. 4	57
37	1. 2	1. 7	1. 9	4. 27	7. 03	17. 6	31
40	0. 6	1. 1	1. 3	2. 3	4. 0	6. 16	10. 2

2.3 光照对病菌孢子萌发的影响: 病菌孢子液在保湿条件下, 分别置于黑暗, 室内散射光和 2小时光照 2小时黑暗交替条件下, 每隔 1小时镜检孢子萌发率 (见表 7)。

结果表明: 病菌孢子在黑暗, 室内散射光照条件下萌发都很好, 而在黑暗条件下萌发

率最高。

表 7 光照对病菌孢子萌发的影响

Table 7 Effects of light on conidia germination of *C. kikuchii*

光照 Light	孢子萌发率(%) Germination rate of conidia						
	0. 5h	1h	2h	3h	4h	5h	6h
黑暗 Darkness	8. 38	8. 41	10. 85	24. 64	40. 28	91. 6	94. 1
室内光 Diffused light	4. 0	4. 29	7. 62	14. 9	33. 3	81. 9	89. 6
交替光 Darkness and light	5. 01	7. 62	9. 77	19. 9	40. 8	88. 7	91. 6

2. 4 pH值对病菌孢子萌发的影响: 用 M /5 Na₂ HPO₄ 2H₂O 和 M /10柠檬酸配成的不同 pH值的缓冲溶液 ,配制孢子悬液作萌发试验 (见表 8)。

表 8 pH值对病菌孢子萌发的影响

Table 8 Effects of pH conidia gremination of *C. kikuchii*

pH值	孢子萌发率(%) Germination rate of conidia						
	0. 5h	1h	2h	3h	4h	5h	6h
3	1. 42	1. 67	2. 01	3. 33	4. 0	5. 8	11. 1
4	1. 67	1. 81	2. 4	3. 6	6. 2	8. 5	13. 4
5	2. 5	7. 1	11. 79	14. 8	15. 01	17. 2	18. 84
6	2. 7	3. 54	4. 27	6. 72	13. 9	33. 3	42. 0
7	2. 69	3. 6	4. 27	6. 72	12. 20	39. 19	57. 4
8	1. 81	1. 95	3. 4	7. 12	16. 7	34. 4	56. 1
9	1. 51	1. 60	2. 32	4. 64	7. 53	10. 69	20. 87

结果表明: 病菌孢子萌发在 pH= 3- 9均可萌发 ,其中 pH= 7- 8萌发最好。

讨 论

大豆紫斑病菌的生长对人工培养基是有选择的 ,在供试的 8种培养基中 ,PDA 培养基上生长最快 ,培养 10天 ,菌落直径由 0. 3cm扩展到 4. 7cm ,但产孢量并不多 ,最适宜产孢的培养基为大豆叶葡萄糖琼脂培养基和番茄琼脂培养基 ,培养 10天后的产孢量为 50 × 10³个 ,而 PDA产孢量为 22. 5× 10³个。产孢量最少的为黄瓜琼脂培养基和芹菜琼脂培养基 ,产孢量仅为 12. 5× 10³个 ,菌丝在上述培养基上生长也有差异 ,在 PDA培养基上产生的气生菌丝多 ,菌落高 ,在胡萝卜培养基上生长有明显的轮纹 ,在大豆叶培养基上生长时 ,产生的气生菌丝最少 ,在各种培养基上均有角变现象发生。

分生孢子萌发不需要增加其它营养 ,在蒸馏水中也可萌发 ,6小时后萌发率达 57% ,添加蛋白胨营养液对孢子萌发有抑制作用 ,6小时后萌发率为 42% ,低于蒸馏水中的萌发率 ,但糖分有利于孢子萌发 ,这与大豆灰斑病菌基本相似。

大豆紫斑病菌孢子萌发的最适温度为 30- 33℃ ,最适 pH值为 7- 8 ,光照对孢子萌发有明显抑制作用 ,在黑暗条件下孢子萌发率最高 ,可见 ,高温多雨的气候条件 ,有利于病

害发生。

参 考 文 献

- [1] Roy, K. W. and Abney, T. S. 1976, Purple seed stain of Soybean. *Phytopathology* 66 1045- 1049
- [2] Walters, H. J. 1980, Soybean leaf blight caused by *Cercospora kikuchii*. *Plant Disease* 64: 91- 92
- [3] Yeh, C. C. and Sinclair J. I. 1980, Sporulation and variation in size of conidia and conidiophores among five isolates of *Cercospora kikuchii*. *Plant Disease* 64 373- 374
- [4] Vathakos, M. G. and Walters, H. J. 1979, Production of conidia by *Cercospora kikuchii* in culture. *Phytopathology* 69 832- 833

STUDIES ON THE BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *CERCOSPORA KIKUCHII*

Wang Wei Yi Chunsheng Zhao Qian Wang Lin

(Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

Abstract

The rate of *Cercospora kikuchii* growth was the fastest on PDA. The amount of sporulation increased about 2 times on soybean leaves glucoseagar or tomato agar than on PDA. The temperature for the growth and sporulation of the pathogen was 18-35°C, with optimum of 25- 28°C. Complete darkness favoured growth and sporulation. The pH values from pH 4 to 9, with optimum pH7 for growth and pH7- 8 for sporulation. Conidia of *Cercospora kikuchii* germinated best in agar water. The germination temperature ranged 15- 40°C, with an optimum of 30- 33°C. Darkness favoured the germination of conidia. pH7- 8 was the optimum.

Key words *Cercospora kikuchii*, Growth condition, Sporulation condition