

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2015)02-0112-05

甘肃省马铃薯茎基腐病菌生物学特性测定

雷玉明^{1, 2*}, 孟 嫣¹, 郑天翔¹, 邢会琴¹

(1. 河西学院农业与生物技术学院, 甘肃 张掖 734000 2. 甘肃省河西走廊特色资源利用省级重点实验室, 甘肃 张掖 734000)

摘 要: 马铃薯茎基腐病是甘肃省发生面积大且危害严重的一种新发病害。试验对甘肃省马铃薯茎基腐病菌进行生物学特性研究。结果表明, 该菌菌丝生长的温度范围是: 最低10℃, 最适25℃, 最高35℃, 40℃停止生长; 该菌菌丝生长pH范围是: 最低4.5, 最适7.0, 最高8.5, 9.0停止生长; 半光半暗有利菌丝生长; 病菌能利用多种碳源, 以D-半乳糖、可溶性淀粉、D-木糖最好, 氮源以大豆蛋白胨、蛋白胨最适宜。研究为马铃薯茎基腐病的防治提供了理论依据。

关键词: 马铃薯; 茎基腐病菌; 生物学特性; 甘肃

Biological Characteristics of *Rhizoctonia solani* Infecting Potato in Gansu Province

LEI Yuming^{1,2*}, MENG Yan¹, ZHENG Tianxiang¹, XING Huiqin¹

(1. College of Agriculture and Biotechnology, Hexi University, Zhangye, Gansu 734000, China;

2. Key Laboratory of Hexi Corridor Resource Utilization of Gansu Province, Zhangye, Gansu 734000, China)

Abstract: Biological characteristics of *Rhizoctonia solani* causing stem rot, one of potato serious diseases in Gansu Province, were studied in this research. The optimum temperature for vegetative mycelium growth was 25℃, and the minimum and the maximum were 10℃ and 35℃, respectively. The mycelia could not grow at 40℃. The minimum pH for vegetative mycelium growth was 4.5, the optimum was 7.0 and the maximum was 8.5. The mycelia stopped the development at 9.0. The alternation of light and darkness favored the growth of mycelia. Monosaccharide, disaccharide and polysaccharide could be used by the pathogen, and D-galactose, soluble starch and D-xylose were the better carbon source used. For nitrogen source, soybean peptone and peptone were the best. This research provides a theoretical base for control of this disease.

Key Words: potato; *Rhizoctonia solani*; biological characteristics; Gansu Province

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是甘肃省最具优势的地方特色粮食作物, 全省87个县(市、区)中有60多个县种植马铃薯^[1], 种植面积已达到72.0 hm², 居全国第二, 产量居全国第一^[2]。然而, 随着马铃薯种植面积扩大, 新品种不断引进种植, 连作现象十分突出, 导致马铃薯生产中土传病害大量发生, 严重影响马铃薯产量和品质。自2010年以来, 从苗期到生长后期发生一种不常见病害—马铃

薯茎基腐病(*Rhizoctonia solani* Kühn), 常造成地下根茎腐烂、种薯烂种、茎秆枯死, 各地间症状表现差异明显^[3]。据2008年内蒙古西部马铃薯产区调查, 一般田块发病株率在5%~10%, 重症田块可达70%~80%。2008~2009年河北省调查, 一般田块病株率达5%~10%, 重病株率达60%~70%^[4]。2010~2012年甘肃省河西地区调查, 马铃薯茎基腐病在田间发生不均衡, 轻则发病率为2.0%~7.8%, 一般

收稿日期: 2015-02-03

基金项目: 甘肃省教育厅科研项目(0509B-02); 河西学院科研创新与应用校长基金项目(HX200910)。

作者简介: 雷玉明(1964-), 男, 教授, 硕士, 主要从事植物病理研究及教学工作。

*通信作者(Corresponding author): 雷玉明, E-mail: zymlei@163.com。

地块发病率为 20.1%~30.0%，重则为 46.0%~92.0%，有些田块甚至绝收，发生面积 34.1 万 hm^2 ，占播种面积 51.2%，按损失率 14%~30% 计算，估计造成 420~900 kg/667 m^2 损失。按发生面积计算每年可造成 215.04~460.8 万 t 损失，按 0.5 元/kg 计，可造成 $1.07 \times 10^5 \sim 2.3 \times 10^5$ 元巨大经济损失^[5]。国内对于由立枯丝核菌引起小麦、玉米、水稻、棉花、花生、茄科蔬菜、豆类等作物上的病害均进行了系统研究，但对于马铃薯茎基腐病研究报道资料较少，尤其是在甘肃省引起该病害的病菌生物特性未见系统报道，因此，从病原菌生物学特性研究入手，为病害诊断与防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌株：2012~2013 年 3 月和 8 月采集甘肃省加工型马铃薯繁种基地山丹军马三场马铃薯茎基腐病病株，采用 PDA 培养基分离、纯化获得菌株，依据 Pameter 等^[6]描述方法和致病性测定，确认病菌为 *R. solani*，置于 PDA 试管斜面上，在 4℃ 下保存，备用^[7]。

1.2 病菌生物学测定

1.2.1 温度对菌落生长的影响

用 $\Phi 6 \text{ mm}$ 打孔器从菌落边缘取圆形菌块，置于 PDA 平板中央，分别置于 5，10，15，20，25，30，35 和 40℃ 的恒温培养箱中培养，试验采用完全随机设计，每个处理重复 3 次。48 h 后用十字交叉法测量菌落直径，采用 DPS 12.5 统计软件进行多重比较分析。

1.2.2 pH 值对菌落生长的影响

分别用 HCl 和 NaOH 调节 PDA 的 pH 值为 4.0，4.5，5.0，5.5，6.0，6.5，7.0，7.5，8.0，8.5 和 9.0，每个处理重复 3 次。接种、培养、测量、分析与 1.2.1 相同(下同)。

1.2.3 光照条件对菌落生长的影响

设 24 h/d 全光照，12 h/d 光照 + 12 h/d 黑暗的半光半暗和 24 h/d 全黑暗 3 种光照处理。

1.2.4 不同碳源对菌落生长的影响

设 CK 为马铃薯琼脂培养基，分别加入 1% 的葡萄糖、D-果糖、D-半乳糖、乳糖、D-树胶醛糖、可溶性淀粉、菊糖、D-木糖、蔗糖、甘露糖、氯醛糖制作成不同碳源的琼脂培养基，每个处理重复 3 次。

1.2.5 不同氮源对菌落生长的影响

设 CK 为马铃薯琼脂培养基，分别加入 1% 的硝酸铵、碳酸铵、硝酸钠、氯化铵、L-谷氨酸、尿素、大豆蛋白胨、L-组氨酸、L-精氨酸、亮氨酸、蛋白胨、甘氨酸制作成不同氮源的琼脂培养基，每个处理重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 温度对菌落生长的影响

培养温度对菌落生长的影响见表 1，测定结果表明，该病菌在 10~35℃ 范围内均可生长，15~25℃ 时生长速度加快，25℃ 生长最快，菌落平均直径达 53.6 mm，25~35℃ 生长速度在逐渐降低，低于 5℃ 和高于 40℃ 菌落不能生长。显著性分析表明，15~30℃ 处理间差异极显著，10℃ 和 35℃ 生长水平

表 1 培养温度对菌落生长的影响

Table 1 Effect of temperature on colony growth

温度(℃) Temperature	重复(mm) Replication			平均菌落直径(mm) Average colony diameter	显著性水平 Significance level	
	I	II	III		0.05	0.01
5	0.0	0.0	0.0	0.0	f	F
10	10.1	9.1	10.2	9.8	e	E
15	20.3	20.4	20.4	20.4	d	D
20	27.3	26.2	27.1	26.9	c	C
25	53.5	53.7	53.7	53.6	a	A
30	27.7	27.6	27.7	27.7	b	B
35	10.1	10.2	10.3	10.2	e	E
40	0.0	0.0	0.0	0.0	f	F

注：采用邓肯氏法进行多重比较，下同。

Note: Duncan's multiple range test was used to separate the means. The same below.

无差异。表明该菌在 15~30 ℃对温度反应明感, 最适宜生长温度为 25 ℃。

2.2 pH 值对菌落生长的影响

从表2可以看出, 该菌在 pH 值 4.5~8.5 范围内均能生长。pH 为 4.5 和 8.5 时, 生长量极低, 菌丝

仅在菌饼边缘和菌饼表面生长, 2 处理间无差异显著性。pH 在 5.0~7.0 范围内生长量随 pH 值升高而增大, pH 在 7.5~9.0 范围内生长量随 pH 值升高而降低, 处理间差异极显著。表明该菌在中性偏酸、偏碱的环境下均能生长, 最适生长 pH 为 7.0。

表2 pH 值对菌落生长的影响
Table 2 Effect of pH value on colony growth

pH 值 pH value	重复(mm) Replication			平均菌落直径(mm) Average colony diameter	显著性水平 Significance level	
	I	II	III		0.05	0.01
4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	i	I
4.5	6.1	6.2	6.1	6.1	h	H
5.0	10.3	10.2	10.2	10.2	g	G
5.5	24.1	24.1	24.1	24.1	e	E
6.0	33.4	33.3	33.4	33.4	d	D
6.5	39.2	39.1	39.2	39.2	b	B
7.0	52.5	52.4	52.4	52.4	a	A
7.5	36.2	36.3	36.3	36.3	c	C
8.0	18.2	18.1	18.2	18.2	f	F
8.5	6.2	6.2	6.2	6.2	h	H
9.0	0.0	0.0	0.0	0.0	i	I

2.3 光照对菌落生长的影响

从表3可以看出, 不同光照条件下病菌菌落平均直径在 52.3~56.4 mm, 全光照、全黑暗处理下菌落直径分别为 52.3 mm 和 52.5 mm, 2 者无显著差异; 半光半暗处理菌落直径明显高于前2者, 处理间差异极显著, 说明光照、黑暗交替有利于该菌丝体繁殖和扩展。进一步证实马铃薯生长期间, 白天散射光与黑夜交替, 有利于该菌在马铃薯根茎基部引起症状并扩展的规律。

2.4 碳源对菌落生长的影响

从培养特性看, 供试 11 种碳源物质及对照培养菌落均为白色, 在 D-果糖、D-半乳糖、D-木

糖、可溶性淀粉、蔗糖、甘露糖培养基上菌丝稠密, 表明是该菌菌丝生长的良好碳源。从菌落生长速度测定结果(表4)可知, 病菌对 11 种供试碳源利用情况存在明显差异。除氯醛糖、乳糖培养基中菌丝生长速度较差, 48 h 菌落直径分别仅达 17.7 mm、29.4 mm, 与对照相比差异极显著, 菌丝在原菌饼上生长, 不易向四周外扩展。其余各供试碳源培养基中菌丝生长速度较明显, 处理间差异极显著, 表明该病菌可以利用单糖、双糖和多糖等多种碳源。其中在 D-半乳糖、可溶性淀粉、D-木糖培养基中菌丝生长最好, 48 h 菌落直径分别达 62.2 mm、61.4 mm、60.2 mm, 与对照相比差异极显著。

表3 光照对菌落生长的影响
Table 3 Effect of lighting on colony growth

光照条件 Lighting	重复(mm) Replication			平均菌落直径(mm) Average colony diameter	显著性水平 Significance level	
	I	II	III		0.05	0.01
全光照 Lighting for 24 h	52.3	52.4	52.2	52.3	b	B
半光半暗 Lighting for 12 h	56.5	56.3	56.3	56.4	a	A
全黑暗 Darkness for 24 h	52.4	52.5	52.5	52.5	b	B

表4 不同碳源对菌落生长的影响
Table 4 Effect of different carbohydrate on colony growth

碳源 Carbohydrate	重复(mm) Replication			平均菌落直径(mm) Average colony diameter	显著性水平 Significance level	
	I	II	III		0.05	0.01
葡萄糖 Glucose	59.3	59.4	59.4	59.4	d	D
D-果糖 D-fructose	55.6	55.7	55.7	55.7	i	I
D-半乳糖 D-galactose	62.1	62.2	62.2	62.2	a	A
乳糖 Lactose	29.4	29.4	29.3	29.4	k	K
D-树胶醛糖 D-gumbose	59.1	58.9	58.9	59.0	e	E
可溶性淀粉 Soluble starch	61.3	61.4	61.4	61.4	b	B
菊糖 Inulin	56.2	56.2	56.1	56.2	h	H
D-木糖 D-xylose	60.1	60.2	60.2	60.2	c	C
蔗糖 Sucrose	57.3	57.2	57.2	57.2	g	G
甘露糖 Inannose	58.3	58.3	58.2	58.3	f	F
氯醛糖 Chloralose purisse	17.6	17.7	17.7	17.7	l	L
CK	53.4	53.3	53.4	53.4	j	J

2.5 氮源对菌落生长的影响

从培养特性看,病菌在不同氮源培养基上,菌丝颜色和疏密程度不同,大豆蛋白胨、蛋白胨培养基上菌丝淡红褐色,菌丝层较厚。碳酸铵、尿素培养基上菌丝灰色或土褐色,菌丝呈索状。其他氮源培养基菌丝稀疏,无色或皿底略显淡褐色;从菌落生长速度测定结果(表5)可知,该菌对氮源利用有明显的差异,

其中大豆蛋白胨、蛋白胨对菌丝生长速度影响明显,48 h后菌落直径达62.2 mm、62.1 mm,与对照差异极显著,表明大豆蛋白胨、蛋白胨最有利于菌丝生长。其余10种氮源培养基菌落直径均小于对照,表明该菌株菌丝利用其氮源效果差,尤其以碳酸铵、尿素为氮源的菌落直径小于对照31.4 mm、31.7 mm,差异达极显著水平。

表5 不同氮源对菌落生长的影响
Table 5 Effect of different nitrogen on colony growth

氮源 Nitrogen	重复(mm) Replication			平均菌落直径(mm) Average colony diameter	显著性水平 Significance level	
	I	II	III		0.05	0.01
硝酸铵 Ammonium nitrate	35.7	35.6	35.6	35.6	h	H
碳酸铵 Ammonium carbonate	19.7	19.8	19.7	19.7	j	J
硝酸钠 Sodium nitrate	41.6	41.5	41.6	41.6	e	E
氯化铵 Ammonium chloride	38.1	38.2	38.2	38.2	f	F
L-谷氨酸 L-glutamic acid	25.6	25.7	25.7	25.7	i	I
尿素 Urea	19.4	19.5	19.4	19.4	j	J
大豆蛋白胨 Soybean peptone	61.8	61.9	62.9	62.2	a	A
L-组氨酸 L-histidine	45.1	45.2	45.2	45.2	d	D
L-精氨酸 L-arginine	37.2	37.2	37.3	37.2	g	G
亮氨酸 Leucine	46.1	46.1	46.2	46.1	c	C
蛋白胨 Peptone	62.1	62.1	62.2	62.1	a	A
甘氨酸 Glycine	35.6	35.8	35.8	35.7	h	H
CK	51.1	51.2	51.1	51.1	b	B

3 讨 论

茎基腐病是一种由立枯丝核菌菌丝直接从表皮侵入或伤口侵染的病害^[2], 据雷玉明等^[3]调查报道, 甘肃河西灌区4月底至5月中旬播种至出苗期, 平均气温达18.7℃, 马铃薯茎基腐病发病率5.2%; 5月下旬至6月底苗期至现蕾期, 平均气温达23.4℃, 发病率15.2%; 7月初至8月中旬开花期至结薯期, 平均气温达24.2℃, 发病率达36%; 茎基腐病一年有2次发病高峰期, 即苗期至现蕾期、开花期至结薯期。茎基腐病发病率高时的温度与试验菌丝生长速度最快的温度20~25℃相吻合, 田间发病进程出现高峰期时的环境温度与试验温度对菌丝的影响趋势相一致, 说明温度影响菌丝生长的变化规律与菌丝扩展侵染力和茎基腐病发病率、发病进程关系密切。因此, 可以通过选择适应不同温度区域的品种, 调整播种期和播种密度, 避免病菌侵染高峰期, 降低茎基腐病的发病率。

试验表明, 病菌在pH 4.5~8.5范围内均能生长, 其变化趋势表明, 该菌在偏酸或偏碱土壤中均能存活, 与雷玉明等^[3]报道该病与土壤pH值和土壤含水量相关的发病规律相吻合。但最适pH值7.0与李永娟等^[8]报道河北省小麦、玉米立枯丝核菌最适pH值6.0存在差异, 说明该菌因寄主不同而存在不同遗传类型, 对酸碱性适应有一定差异。因此, 可以选择略偏碱土壤种植, 施肥改善土壤酸碱性, 减

少病害发生。

从碳、氮源对菌丝生长的影响试验结果来看, 此病菌能利用多种碳源, 仅对氯醛糖、乳糖利用较差, 菌丝生长缓慢。此病菌在多数无机氮、有机氮条件下生长不良, 碳酸铵、尿素抑制作用显著。因此, 在生产中可以适量使用碳酸铵、尿素等肥料发挥其对菌丝生长的抑制作用, 有利于对病害的控制。

[参 考 文 献]

- [1] 陈泰祥, 陈秀蓉, 杨成德, 等. 甘肃省马铃薯束梗褐腐病病原鉴定及其生物学特性研究[J]. 植物保护, 2014, 40(5): 27-33.
- [2] 李继平, 李敏权, 惠娜娜, 等. 马铃薯连作田土壤中主要病原真菌的种群动态变化规律[J]. 草业学报, 2013, 22(4): 147-152.
- [3] 雷玉明, 张建朝, 费永祥, 等. 河西灌区马铃薯茎基腐病的发生规律与防治技术研究[J]. 植物保护, 2011, 37(1): 124-127.
- [4] 常来, 王文桥, 朱杰华. 北方一季作区马铃薯黑痣病的发生及防控策略[J]. 安徽农学通报, 2010, 16(7): 116-117.
- [5] 雷玉明, 张建朝, 费永祥, 等. 马铃薯有害生物诊断与防治[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2013.
- [6] Parmeter Jr J R, Sherwood R T, Platt W D. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris* [J]. Phytopathology, 1969, 59(1): 1270-1278.
- [7] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1998.
- [8] 李永娟, 刘顺, 朱杰华, 等. 河北省小麦及玉米纹枯病菌生物学特性初步研究[J]. 中国农业科技导报, 2007, 9(1): 47-51.

2015年中国马铃薯大会代表通讯录广告征集通知

为保证2015年中国马铃薯大会通讯录的顺利印刷, 2015年《中国马铃薯大会代表通讯录》的广告征集工作已经开始, 请需要在通讯录做广告的企业、公司、院所及个人, 提前做好广告版面设计工作。

具体要求:

1. 版面要求彩色16开横幅, 尺寸大小216 mm×291 mm, 像素要求300万以上, 图像清晰, 分辨率高。
2. 请自行设计后于2015年6月15日前及时传至邮箱 zhongguomls@163.com。
3. 价目为彩版4000元, 黑白版1000元。

联系电话: 0451-55190003

E-mail: zhongguomls@163.com

联系人: 陆忠诚(13936431480) 汤慧娟(0451-55190003)