

培养基对水稻纹枯病菌菌丝生长和菌核形成的影响

周而勋, 杨 媚, 李 琳, 曾伟达

(华南农业大学资源环境学院, 广东 广州510642)

摘要: 研究了12种培养基对水稻纹枯病菌菌丝生长、菌核形成数量和质量的影响。结果表明: 在菌丝生长方面, 水稻纹枯病菌在稻草煎液琼脂、水琼脂、马铃薯葡萄糖琼脂和麦芽糖琼脂培养基上的生长速率最快, 而在牛肉胨琼脂培养基上的生长最差; 在菌核形成方面, 理查琼脂培养基最有利于菌核的形成, 表现为菌核数量最多, 质量最大。

关键词: 水稻; 纹枯病; 纹枯病菌

中图分类号: S435.111.4

文献标识码: A

水稻纹枯病是世界上分布广、危害大的水稻病害之一, 目前已上升为我国水稻上的三大病害之首位^[1]。该病自1905年被佐佐木忠次郎博士在日本首次发现后^[2], 已有90多年的历史。90多年的研究和防治实践, 无论是在病原学、生态学和流行学方面, 还是在防治方面均取得了较大的成就。近年来, 国内外在水稻纹枯病菌的菌系分化、病原菌毒素和水稻抗性研究方面也取得了较大进展^[3~8], 但有关环境因素(包括营养物质)对水稻纹枯病菌影响的报道不多。本研究测定不同种类的培养基对水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani* AG-1-IA)菌丝生长和菌核形成的影响, 从而探求有利于或不利于水稻纹枯病菌生长或生存的环境条件, 进而为防治措施的制订提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

本研究采用的供试菌株为水稻纹枯病菌(*R. solani* AG-1-IA)119号菌株, 系从表现明显纹枯病症状的水稻病叶鞘上分离获得, 致病力较强, 是广东省的优势菌株^[9]。

1.2 培养基

本研究采用的培养基有12种, 即: 1. 稻草煎液琼脂, 2. 水琼脂, 3. 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA), 4. 麦芽糖琼脂, 5. V₈汁琼脂, 6. 理查琼脂, 7. 土壤浸出液琼脂, 8. 玉米粉琼脂, 9. 香石竹琼脂, 10. 燕麦片琼脂, 11. 查彼琼脂, 12. 牛肉胨琼脂。其中2、3、4、6、7、8、10、11和12号培养基的制备按方中达^[9]的方法, 5号培养基的制备按郑小波^[10]的方法; 1号培养基的制备方法为: 100 g鲜稻草加水1 L, 煎煮20 min

(煮沸后才开始计算时间)后过滤, 留滤液, 加水补充至1 L, 加20 g琼脂, 加热融化即成; 9号培养基的制备方法为: 在1 L PDA培养基中加入晒干的香石竹叶5 g即成。

1.3 病菌的培养

将水稻纹枯病菌(*R. solani* AG-1-IA)移植到PDA平板上, 置于25℃黑暗条件下培养, 2 d后当菌落长满 d 为90 mm的培养皿时, 用 d 为5 mm的打孔器在菌落边缘打取菌丝块, 每个PDA平板中央接入菌丝块1块, 每处理(每种培养基)3个重复(培养皿), 置于25℃黑暗条件下培养。

1.3.1 病菌菌落直径大小的测定 病菌培养24 h后用直尺测量各培养皿中菌落直径的大小。

1.3.2 菌核生长状况的测定 分别于培养4、14和21 d后, 检查每种培养基中菌核的生长状况及分布。

1.3.3 病菌菌核数量和质量测定 培养21 d后, 各处理的菌核已基本完全成熟, 此时把每种培养基中的菌核分别挑出来进行数量和质量测定。先数出菌核的数量, 然后用纱布将菌核包好(内装有标记有培养基类型和菌核数量的小纸条), 放入烘箱(60℃)中烘干, 用台式电子天平称菌核的质量。

2 结果与分析

2.1 培养基种类对病菌菌丝生长的影响

培养24 h后, 不同种类的培养基对病菌菌丝生长的影响有明显的差异。在稻草煎液琼脂培养基上的菌落直径最大, 平均为58.3 mm; 在水琼脂、马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)和麦芽糖琼脂培养基上的菌落直径也很大, 都在55.0 mm以上, 与稻草煎液琼脂培养基的差异不显著; 而在牛肉胨琼脂培养基上的菌落

直径最小, 平均为 15.3 mm(表 1)。

2.2 培养基种类对菌核生长状况的影响

4 d 后的观察发现: 除了在土壤浸出液琼脂、水琼脂、牛肉胨琼脂和麦芽糖琼脂培养基上不形成菌核外, 其他培养基上都形成了小而成熟的、白色的、分布不均匀的菌核, 其中以香石竹 PDA 培养基上形成的菌核数量较多。

14 d 后观察发现: 在麦芽糖琼脂、牛肉胨琼脂、水琼脂和土壤浸出液琼脂培养基上仍未形成菌核, 而其他培养基中的菌核逐渐成熟, 大多变成褐色至黑色。各种培养基对菌核的形成及分布的影响有了较大的差异: 稻草煎液琼脂培养基上的菌核少, 但菌核的分布均匀; 香石竹 PDA 培养基上的菌核较密集, 但菌核的分布则较凌乱, 也出现了大块的菌核; V₈ 汁琼脂培养基上的菌核稀疏, 分布凌乱, 菌核小; PDA 培养基上的菌核较密, 菌核褐色, 连成一大块; 查彼琼脂培养基上的菌核大, 但较稀疏、褐色; 燕麦片琼脂培养基上的菌核稀疏、菌核小; 玉米粉琼脂培养基上的菌核也连成一块, 但数量少, 分布稀疏, 呈现褐色; 查理琼脂培养基上的菌核多、大而且密集, 但颜色较浅。

21 d 后再继续观察菌核的生长状况。此时, 前面观察已形成菌核的培养皿里的菌核已基本上完全成熟, 但在水琼脂、土壤浸出液琼脂和牛肉胨琼脂培养基上仍然不形成任何菌核, 而麦芽糖琼脂培养基却在培养皿盖上发现有少量菌核。其他培养基上菌核的生长状况如下: 稻草煎液琼脂培养基上的菌核少

且小; 香石竹 PDA 培养基上的菌核较多且大; V₈ 汁琼脂培养基上的菌核少, 尚有少许未成熟的菌核; 在 PDA 培养基上, 菌核连成一片, 表面呈绒毛状; 查彼琼脂培养基上的菌核连成一大块, 呈现黑色, 菌核表面呈毛绒状; 燕麦片琼脂培养基上的菌核大而多, 且围成一圈; 玉米粉琼脂培养基上的菌核较多, 分布均匀; 理查琼脂培养基上的菌核多而大, 分布得密密麻麻, 菌核表面呈绒毛状。由此可见, 不同种类的培养基不但对菌丝的生长有影响, 而且对菌核的形成及分布也有较大的影响。

2.3 培养基种类对菌核数量的影响

21 d 后, 各处理的菌核已基本上完全成熟, 不同培养基上菌核的数量有了稳定而又明显的差异。因此, 对此时的菌核数量和质量进行统计分析。结果表明: 形成菌核数量最多的是理查琼脂培养基, 平均每皿有 92.7 粒, 其次是香石竹 PDA 和 PDA 培养基, 平均每皿分别有 84.7 粒和 78.3 粒; 菌核数量最少的是麦芽糖琼脂培养基, 平均每皿只有 5.7 粒; 另外, 还有 3 种培养基(即水琼脂、土壤浸出液琼脂和牛肉胨琼脂培养基)一直没有菌核形成(表 1)。

2.4 培养基种类对菌核质量的影响

质量测定发现: 在理查琼脂培养基上的菌核质量最大, 平均每皿有 521.3 mg; 其次是 PDA 培养基, 平均每皿有 405.6 mg; 质量最小的是麦芽糖琼脂培养基, 平均每皿只有 6.0 mg; 另外, 还有 3 种培养基(即水琼脂、土壤浸出液琼脂和牛肉胨琼脂培养基)始终没有菌核形成(表 1)。

表 1 培养基对水稻纹枯病菌菌落直径、菌核数量和质量的影响¹⁾

Tab. 1 The effects of media on the colony diameter, sclerotial number and mass of <i>Rhizoctonia solani</i> AG-1-IA			
培养基 medium	d (菌落 colony) / mm	菌核数 sclerotial number /(粒·皿 ⁻¹)	m (菌核 sclerotia)/(mg·皿 ⁻¹)
稻草煎液琼脂 rice straw cooked solution agar	58.3 a	31.7 bcd	24.3 e
水琼脂 water agar	57.3 a	0 d	0 e
马铃薯葡萄糖琼脂 PDA	55.3 a	78.3 ab	405.6 b
麦芽糖琼脂 maltose agar	55.0 a	5.7 d	6.0 e
V ₈ 汁琼脂 V ₈ juice agar	48.0 b	46.3 abcd	52.0 e
理查琼脂 Richard's agar	48.0 b	92.7 a	521.3 a
土壤浸出液琼脂 soil extract agar	47.0 b	0 d	0 e
玉米粉琼脂 corn meal agar	45.7 b	51.7 abcd	66.0 e
香石竹 PDA camation leaf PDA	33.3 c	84.7 ab	180.7 d
燕麦片琼脂 oat meal agar	28.7 cd	69.3 abc	90.3 de
查彼琼脂 Czapek's agar	23.7 d	18.3 cd	298.3 c
牛肉胨琼脂 beef extract peptone agar	15.3 e	0 d	0 e

1) 表中数据为 3 个重复的平均值。数据后具有相同字母者表示经 Duncan's 新复极差法检验于 5% 水平上差异不显著

以上结果说明了不同种类的培养基不但对水稻纹枯病菌(*R. solani* AG-1-IA)菌丝生长有较大的影响, 而且对菌核形成数量和质量也有较大的影响, 表

现为病菌在有些培养基上不形成菌核, 形成菌核的又因为培养基种类的不同而在数量和质量上存在较大差异。综观上述试验结果, 稻草煎液琼脂、水琼脂、

马铃薯葡萄糖琼脂和麦芽糖琼脂培养基最适合水稻纹枯病菌 (*R. solani* AG-1-IA) 的菌丝生长, 而理查琼脂培养基最适于该病菌的菌核形成。

3 结论与讨论

通过本研究, 明确了培养基种类对水稻纹枯病菌菌丝生长、菌核形成的数量和质量的影响有明显的影响, 表现为病菌在有些培养基中菌丝生长非常缓慢, 而有些培养基非常不利于病菌菌核的形成。由此可见, 环境中的营养物质对水稻纹枯病菌 (*R. solani* AG-1-IA) 的影响非常大。因此, 从理论上来说, 人们可以科学地控制土壤中不利于水稻纹枯病菌生长和菌核形成等条件来控制纹枯病的发生, 以达到防治该病害的目的。另外, 本研究发现, 理查琼脂培养基最适合于水稻纹枯病菌菌核的形成, 表现为供试菌株在该培养基上形成的菌核数量最多, 质量最大。因此, 在今后研究工作中, 若需要水稻纹枯病菌产生较多的菌核, 建议使用该培养基。应该指出的是, 尽管水琼脂所含的养分最少, 不利于菌核的形成, 但水稻纹枯病菌在该培养基上的生长速率也很快, 这一特性有利于研究者在对立枯丝核菌 (*R. solani*) 进行分离培养时, 可迅速地将立枯丝核菌与其他杂菌分开来。周而勋等^[1]利用这一特性成功地建立了从植物病组织中快速分离立枯丝核菌的简便技术, 即水琼脂法。

水稻纹枯病的发生和为害日趋普遍且严重, 利用不同培养基对水稻纹枯病菌 (*R. solani* AG-1-IA) 菌丝生长和菌核形成的影响来进一步研究水稻纹枯病菌生存的环境条件, 对更好地防治水稻纹枯病和其他丝核菌病害有着重要的意义。由于目前国内外

有关环境因素(包括营养物质)对水稻纹枯病菌影响的研究报道不多。因此, 本研究结果无疑为该病的深入研究提供了有参考价值的资料。

参考文献:

[1] 李华荣, 颜思齐. 四川省东、南部稻区水稻纹枯病菌系研究[J]. 真菌学报, 1990, 9(1): 41—49.

[2] 彭绍裘, 曾昭瑞, 张志光. 水稻纹枯病及其防治[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 1—214.

[3] 曾令祥. 稻纹枯病菌对水稻成株期致病力的研究[J]. 西南农业学报, 1995, 8(2): 65—69.

[4] 陈志谊, 王玉环, 殷尚智. 水稻纹枯病抗性机制的研究[J]. 中国农业科学, 1992, 25(4): 41—46.

[5] ACHARYA S, BASU A, SENGUPTA P K. Symptom types in plants infected with *Rhizoctonia solani* Kühn [J]. Journal of Mycopathological Research, 1997, 35(2): 115—118.

[6] PONMALAR T R, VIDHYASEKARA N P, SAMIYAPPA N R. Host-specific toxin production by *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen [J]. Phytopathology, 1997, 87(12): 1 258—1 263.

[7] PONMALAR T R, IYAPPA N R, VELAZHAHAN R. Rice sheath blight produces host-specific toxin [J]. Rice Biotechnology, 1998, 35: 21.

[8] 周而勋, 杨 媚. 广东省水稻纹枯病菌的致病力和融合群研究[J]. 广东农业科学, 1999, (5): 36—38.

[9] 方中达. 植病研究方法(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998. 40, 46—50.

[10] 郑小波. 疫霉菌及其研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997. 81.

[11] 周而勋, 杨 媚. 从植物病组织中分离立枯丝核菌的快速、简便技术[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(2): 125—126.

The Effects of Media on the Mycelial Growth and Sclerotial Formation of *Rhizoctonia solani* AG-1-IA

ZHOU Er-xun, YANG Mei, LI Lin, ZENG Wei-da
(College of Resources and Environment, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The effects of twelve media on the mycelial growth, sclerotial number and mass of *Rhizoctonia solani* AG-1-IA were investigated. The results showed that rice straw cooked solution agar, water agar, PDA and maltose agar were the better media for the growth of *R. solani* AG-1-IA, whereas beef extract peptone agar was the worst one among the twelve media. In regarding to the sclerotial formation of *R. solani* AG-1-IA, Richard's agar was found to be the best medium, in which the sclerotial numbers and mass were the largest.

Key words: rice; sheath blight; *Rhizoctonia solani* AG-1-IA

【责任编辑 周志红】