

# 玉米大斑、小斑、圆斑病菌的有性世代

任金平

(吉林省农科院植保所)

## 摘 要

玉米大斑病菌,小斑病菌和圆斑病菌的有性世代分别由Luttrell(1957), Drechsler(1925)和Nelson(1959)首次培养产生,最终定名为*Setosphaeria turcica*(Luttrell) Leonard et Suggs, *Cochliobolus heterostrophus* (Drechs) Drechsler和*Cochliobolus Carbonum* Nelson。现已有较好的培养方法,在以Sachs'琼脂做支持基质的玉米秆和玉米叶上产生丰富的子囊壳。描述了有性阶段的形态。这三种病菌都是异宗配合的,具有两种亲和性群体,相反亲和性群体之间杂交产生子囊果。亲和性反应是由一个主要基因位点所控制,同时存在着若干个累加基因影响着亲和度的变化。在整个有性生殖过程中有若干个与亲和性主要基因位点独立遗传的遗传因素控制着子囊壳、子囊和子囊孢子的产生。病菌之间的种间杂交是成功的。

玉米大斑病菌 [ *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard et Suggs. = *Helminthosporium turcicum* Pass. ], 玉米小斑病菌 [ *Bipolaris magdis* (Nishikado et Miyabe) Shoemaker = *Helminthosporium magdis* Nishikado et Miyabe ] 和玉米圆斑病菌 [ *Helminthosporium carbonum* Ullstr. ] 的有性阶段虽然在自然界中还没有发现,但在人工培养中都已获得。这三种病原菌有性阶段的研究从真菌学和病理学角度都是很重要的。在相关真菌种类有性阶段中遗传差异和遗传相同点的确定将为真菌进化提供进一步的证据,同时弄清有性阶段可以得到对病原物遗传潜能的全面认识,有助于抗病育种。本文通过对有关研究的部分资料加以归纳整理,以求得到对其较完整的认识。

## 一、有性阶段的发现和命名

1957年 Luttrell<sup>[7]</sup>首次发现 *Exserohilum turcicum* 的子囊期,并将其归入 *Leptosphaeria* (*Metasphaeria*) 属中。*Leptosphaeria* 这个属包括若干个可区分的类群,后来将这些可区分的类群分离成属, *Trichometasphaeria* 就是其中之一。1958年 Luttrell<sup>[8]</sup>对 *E. turcicum* 的子囊期进行了进一步研究,根据特性将其定名为 *T. turcica*。1970年 Von Arx 认为 *Trichometasphaeria* 这个属同 *Keissleriella* 是同物异名的,因此将 *T. turcica* 改为 *K. turcica* (Luttrell) Von Arx。1974年 Leonard 和 Suggs<sup>[9]</sup>认为 *E. turcicum* 的子囊期在许多方面同 *Keissleriella* 不同。子囊果在表面形成而不包埋在基质中,并且缺少质状体,通过子囊果顶端薄壁多面形细胞的溶解形成孔口,在子囊果壳壁上产生刚毛,而决不在孔口内产生,并且同 *Keissleriella* 的毛不是同源的。壳里没有任何缘丝产生。子囊从无细胞形成的浅的基垫上发生,并沿狭窄的拟侧丝中间向上生长,子囊孢子非常大等等。根据这些特征而建立新属 *Setosphaeria*。*E. turcicum* 有性世代的学名也相应地改为 *S. turcica* (Luttrell) Leonard et Suggs。

玉米小斑病菌的有性世代是Drechsler<sup>[3]</sup>在1925年首次发现的，他通过用自然发病的玉米叶放在潮湿的房间里湿滤纸上潜伏培养获得了*Bipolaris magdis*的子囊壳，并将其定名为*Ophibolus heterostrophus* Drechsler。1934年Drechsler<sup>[4]</sup>通过对*Ophibolus*深入研究，将子囊孢子丝状，在子囊内螺旋形盘绕而无性阶段又属于*Helminthosporium*分生孢子期的种类分离出来，另立新属为*Cochliobolus*，而将*B. magdis*的子囊期更改为*C. heterostrophus* (Drechs.) Drechsler，做为这个新属的典型种。

1959年Nelson<sup>[13]</sup>首次在人工培养基上发现了*Helminthosporium Carbonum*的子囊期。虽然他认为*Cochliobolus*的适当的分类地位是有问题的，但因还没有任何有性阶段与*H. carbonum*结合，因此将这种真菌的子囊期放入*Cochliobolus*属中，定名为*C. carbonum* Nelson。

## 二、有性阶段的培养方法

三种病菌的有性世代均能在人工培养基上培养产生，一个共同点是都需要植物组织或其它刺激物作为基质，在没有植物组织或刺激物的培养基中不能产生可育的子囊果或根本不产生。

Luttrell<sup>[8]</sup>对大斑病菌有性世代的培养方法进行了多种处理研究，获得了比较理想的方法：把在收获时的干燥大麦秆在水中浸泡2小时，然后将被叶鞘包裹的空心秆剪成2英寸小段放在皮氏培养皿中，把培养皿放在一个大玻璃瓶中，这个瓶按其体积每升加入1毫升氧化丙烯。在封口的瓶中24小时后取出培养皿，再过24小时后，把Sachs'琼脂培养基倒入培养皿直至大麦秆一半浸入。然后用成对的分离物接种，一种分离物小块放在秆的一边，另一种分离物小块放在相对一边，接种后的培养皿放在25℃恒温培养箱中。用这种方法培养第10天就能看到未成熟的子囊果，21天可看到成熟的子囊果。子囊果只在大麦秆叶鞘上发育，而不在光秆上发育。

除上述方法外，Nelson<sup>[14]</sup>的方法也是令人满意的，具体做法是：把大麦粒在180°F的烘箱中干热杀菌约2小时，然后部份埋入按每升加入20g葡萄糖，10g纤维素树胶的Sachs'琼脂培养基中，通过在大麦粒上相对两边放置含有菌丝体的小琼脂块的方法使分离物交配。所有的交配保持在连续的75°F的条件下。未成熟的子囊壳过6~7天出现，成熟的子囊壳大约在20天内形成。通常在大麦种子的暴露部分上形成丰富的子囊壳。

玉米小斑病菌和玉米圆斑病菌的有性世代均属*Cochliobolus*，其培养方法也大致相同。Nelson<sup>[11,13]</sup>对此做了较细致的研究，通过多种处理得到了较好的方法，即将玉米叶剪成 $1\frac{1}{2} \times \frac{1}{2}$ 英寸的小块，高压灭菌消毒1小时，然后将其放在含有Sachs'营养琼脂的皮氏培养皿中间，培养基酸度调到pH4，把一对亲和分离物的小块菌丝分别放在玉米叶块相对两边，接种后保持在24℃恒温。形成成熟子囊壳的时间长短随支持基质的种类和温度而变化。在上述这种最适宜的条件下，*C. heterostrophus*的未成熟的子囊壳在5~7天出现，未成熟的子囊在12~15天出现，一小分子囊在18天包含成熟的子囊孢子，而大多数子囊需25天包含成熟的子囊孢子。*C. carbonum*的未成熟的子囊壳在5~6天出现，未成熟的子囊在10~12天出现，一小分子囊在12天包含成熟的子囊孢子，而大多数子囊在22天包含成熟的子囊孢子。光对有性生殖无影响。

在小斑病菌有性世代的培养中并非一定需要植物组织做为培养基质。Fukuki和Aragaki<sup>[5]</sup>研究表明，可以用透析膜做为基质取代玉米叶组织培养产生其子囊壳，将含有Sachs'琼脂的培养皿通过在中间切出3mm的琼脂带分成两部分，在每部分放上一块单层无菌的透析膜（近12×40mm）。将亲和分离物分别放在每块透析膜相对的两边，在24℃黑暗的条件下培养，结果产生丰富的子囊壳。

另外，在以琼脂做为支持基质的滤纸上，*C. heterostrophus*也有稀少的子囊果产生，但把纤维加到琼脂基质中而不在琼脂表面放置滤纸，那么决不产生子囊果。这些结果表明固体物质提供了生理需要，而不是营养需要，有可能无菌的植物组织提供了微量的一种或多种营养，但滤纸所提供的营养几乎是零。或许*C. heterostrophus*子囊壳的产生需要刺激物质，在适宜的条件下，植物组织、透析膜和滤纸等刺激物可以诱发其产生子囊壳。

### 三、有性阶段的形态

*Setosphaeria turcica*: 子囊果有明显的子囊座，成熟的子囊果黑色，椭圆体到球体，高359~721 $\mu$ ，直径345~497 $\mu$ 。子囊果上部三分之一以上和围绕孔口的表面细胞形成很多短的、僵直的棕色针状毛，壳口里没有任何缘丝产生。子囊腔被拟侧丝所充满。子囊在拟侧丝之间从子囊腔基部向上生长。子囊圆柱形或棍棒形，带有短柄。大小为176~249×24~31 $\mu$ 。成熟子囊孢子的数目在1到6个之间，以2或4个最为普遍。子囊孢子纺锤形，成熟的子囊孢子无色透明，直或稍弯曲，典型的3个隔膜，在隔膜处缢缩，大小为42~48×13~17 $\mu$ <sup>[6,7,8,9]</sup>。

*Cochliobolus heterostrophus*: 成熟的子囊果黑色，近球形，大小为400~600 $\mu$ 。有时在子囊壳表面上长出分生孢子梗和分生孢子。子囊长筒形，无色，顶端钝圆，基部有短柄，大小为124~183×23~29 $\mu$ 。子囊包含1~8个子囊孢子，大约85%的子囊包含3~6个子囊孢子。子囊孢子长线形，有隔膜，紧紧地螺旋形盘绕，盘绕从左向右，从子囊基部到顶端，子囊孢子大小为147~327×6.3~8.8 $\mu$ <sup>[1,12]</sup>。

*Cochliobolus carbonum*: 成熟的子囊壳黑色，椭圆体到球体，高355~550 $\mu$ ，直径320~430 $\mu$ 。在子囊壳四分之一上部遍布产生棕色刚毛。在子囊壳上常常发育分生孢子梗和分生孢子。子囊腔被无色丝状拟侧丝所充满，子囊从拟侧丝之间产生，从腔基部上升，子囊圆柱形或棍棒形，直或稍弯曲，带有短柄。子囊不具外膜，大小为162~257×18.2~27.4 $\mu$ 。子囊包含1~8个子囊孢子。子囊孢子丝状或细长，在末端稍微削尖，紧紧地螺旋形盘绕。典型的成熟子囊孢子无色，5~9个隔膜，大小为182~306×6.4~9.6 $\mu$ ，孢子发芽或是顶生或是侧生<sup>[13]</sup>。

### 四、异宗配合

三种病菌都是异宗配合的，都具有正、负菌株，由正、负菌株之间杂交产生子囊果。任何单个分生孢子或任何单个子囊孢子单独都不产生子囊果，任何两个正菌株或任何两个负菌株的组合也不产生子囊果。性别反应可以通过同选出的正负对照株系杂交而确定，从田间采集的分离物其性别反应不能表现出地区或寄主界线，在一个地区或一个寄主上可以存在正负两种菌株，因此在适宜的条件下，在自然界中发现有性世代是可能的。但是不同

地区正负菌株的频率是不相等的，可否认为，如果一个地区正负菌株的频率相同，其有性杂交的机率可能相对较高，而正负菌株的差数越大，杂交的机率就越小<sup>(8,11,13)</sup>。

## 五、有性阶段的遗传

三种病菌的子囊孢子株系均分成两个亲和性群体A和a（相当于正负菌株）。这两个群体大约是相等划分的，从任何杂交中所获得的子囊孢子分离物其性别反应决不偏离1:1比率，可见亲和性反应是由一个主要基因位点所控制。

在同一个亲和性群体中，亲和性是有变化的。相反亲和性群体之间杂交有时不产生成熟的子囊壳，而所有可育的杂交中，在子囊壳和成熟子囊产生的数量上也有变化。Luttrell根据与对照株系交配产生子囊果的相对数量将所有的正负菌株分成强菌株和弱菌株，弱的正菌株和弱的负菌株之间杂交通常不产生子囊果。这些现象表明在决定亲和性的主要基因位点之外存在着一对或多对累加基因影响着亲和度的变化，这些累加基因可能代表外亲和性因素。有些分离物同正负对照系杂交都不产生子囊果，分不出性别反应，这些分离物可能是由于累加的非亲和性因素抑制了亲和性位点的表现。亲和度的变化是遗传的，这可以通过对从分生孢子分离物杂交中获得的子囊孢子后代的评定加以证明，在强×强的杂交组合中诱发的子囊孢子后代的92.5%能同亲和株系杂交，在强×中等的是86.2%，强×弱的是77.9%，弱×弱的是62.8%<sup>(8,11,12,14,15,19)</sup>。

在*Cochliobolus heterostrophus*中发生了群体内可育的现象，即同一亲和性群体的某一分离物同另一个分离物交配产生了丰富的子囊壳。并且在群体内可育的杂交中，每组交配所包含的分离物至少有一个是弱分离物，在一个群体内的两个强分离物的杂交决不产生子囊壳。这一现象表明同一亲和性群体内的株系也存在着遗传差异，除亲和性因素A和a外，至少有两种因素控制着成熟子囊壳的产生。这种现象不仅能通过复合的等位基因的存在，也能通过附加基因位点的存在而解释。可以认为如果亲和性位点被强烈地抑制，那么株系之间可以随机交配。

单个分生孢子分离物之间，群体间和群体内可育度的显著差异表明在遗传组成上存在着一定的定性的或定量的差异，这些因素的作用贯穿于有性过程的全过程，它们同亲和性的主要基因位点的相互关系正在研究中，这个性质的研究将为同宗配合和异宗配合的遗传机制提供新的证据<sup>(11,12)</sup>。

在*C. heterostrophus*和*C. carbonum*的有性生殖过程中有若干个与亲和性基因独立遗传的遗传因素控制着不同阶段的完成。妨碍子囊壳形成的遗传因素是由单个基因组成的。标记为I—i等位基因形式，妨碍子囊形成的遗传因素也由单个基因组成，标记为S—s等位基因形式，当两个亲和性菌株带有i或s等位基因时则发生抑制，不产生子囊壳和子囊，当I或S等位基因存在于两个亲本分离物或存在于两个亲本分离物之一中则产生正常的子囊壳或子囊。而妨碍子囊孢子形成的遗传因素是由若干个基因所组成的<sup>(2,16,17,18,20)</sup>。

种间杂交是产生变异的有效途径，*Helminthosporium*属中的几个种可以进行成功的种间杂交。据Nelson<sup>(10)</sup>和屠建华在630个*H. magdis*×*H. carbonum*的组合中有2个组合是成功的，最终产生子囊孢子。*H. magdis*还能同*H. oryzae*，*H. sorghicola*杂交

产生子囊孢子，而同H·sacchari和H·setariae杂交只产生子囊。H·carbonum还能同H·victoriae杂交产生子囊孢子，而同H·sativum杂交仅产生子囊。H·magdis×H·orgzae, H·magdis×H·sorghicola和H·carbonum×H·victoriae组合中产生丰富的子囊壳。在H·magdis×H·orgzae, H·magdis×H·sorghicola, H·magdis×H·carbonum, H·magdis×H·sacchari和H·carbonum×H·victoriae组合中产生丰富的子囊。在H·carbonum×H·victoriae杂交中产生丰富的子囊孢子，而在其它杂交中产生的很少，且多数不发芽。这几个种的有性世代均为Cochliobolus。

回交试验表明一些子囊孢子后代同一个或另一个亲本株系是可育的，而其它的不同任何一个亲本交配。杂交后致病性产生变异，H·magdis×H·orgzae的后代中的一部分对水稻或对玉米致病，其它对二者都致病。

## 六、小 结

现有资料充分证明玉米大、小、圆斑病菌有性世代的培养方法是可靠的，有性阶段基本遗传规律及种间杂交的可能性也已明确，为今后进一步研究提供了根据。

在自然界中是否能够产生有性世代及发生种间杂交，种内及种间杂交所产生的后代其致病性的变异程度等有待进一步研究。

### 附：Sachs'琼脂培养基配方：

硝酸钙 1.0g, 磷酸氢二钾 0.25g, 硫酸镁 0.25g, 碳酸钙 4.0g, 氯化铁 微量, 琼脂 20.0g, 水 1000mL。

## 参 考 文 献

- [1] 北京农业大学：《农业植物病理学》，农业出版社，1982年。
- [2] Dalmacio S. C and Nelson R. R. 1976 Genetic inhibition of ascus formation in *cochliobolus carbonum*. *phytopathology* 66: 1354-1355.
- [3] Drechsler C. 1925 leafspot of maize caused by *Ophiobolus heterostrophus* n. sp. the ascigerous stage of a *Helminthosporium* exhibiting bipolar germination. *Jour. Agr. Res.* 31: 701-726.
- [4] Drechsler C. 1934 *Phytopathological and taxonomic aspects of Ophiobolus, Pyrenophora, Helminthosporium, and a New genus Cochliobolus*. *Phytopathology* 24: 953-983
- [5] Fukuki kata A. and Aragaki M. 1973, Perithecial formation by *Cochliobolus heterostrophus* on dialyzing membrane. *Mycologia* 65: 705-709.
- [6] Leonard K.J. and Suggs Euna G. 1974, *Setosphaeria prolata*, the ascigerous state of *Exserohilum prolatum*. *Mycologia* 66: 281-297.
- [7] Luttrell E. S. 1957 *Leptosphaeria (Metasphaeria) perfect stage for Helminthosporium turcicum and H. rostratum*. (Abstr) *Phytopathology* 47: 313.
- [8] Luttrell E.S. 1958 The perfect stage of *Helminthosporium turcicum*. *Phytopathology* 48: 281-287.
- [9] Luttrell E.S. 1964 *Morphology of trichometasphaeria turcica*. *American Journal of Botany* 51: 213-219.
- [10] Nelson R. R. 1960 Evolution of sexuality and pathogenicity. I interspecific crosses in the genus *Helminthosporium*. *Phytopathology* 50(12): 375-377.
- [11] Nelson R.R. 1957. Heterothallism in *Helminthosporium magdis* *Phytopathology* 47:

(下转第62页)

0.43。

对上述试验结果的全面分析可以看出：锌肥喷施和作种对番茄产量和品质均有较明显的促进作用，锌肥作育苗肥亦有较明显的增产作用。因此，从增产增收、改善品质等几方面综合考虑，锌肥应以喷施为主。

### 三、结 论

(一) 番茄施用锌、锰和铜均有不同程度的增产作用，施锌增产效果最明显，平均增产10.2%，其次为锰，平均增产9.4%，施铜效果不稳定，平均增产4.5%。

(二) 番茄施用锌、锰和铜可明显地改善果实品质，可溶性糖、维生素C含量及糖酸比均有明显的提高，可溶性糖分别比对照提高12.0%、10.9%和12.2%，维生素C含量分别比对照提高24.0%、23.7和24.0%，糖/酸比由对照的0.41分别提高到0.45、0.47和0.45。

(三) 锌肥不同施用方法对番茄产量、品质均有较明显的促进作用，从产量上看，锌肥喷施、作种肥和育苗肥，分别增产10.8%、9.1%和7.0%，对品质的影响亦有类似效果，喷施可溶性糖和维生素C含量分别提高13.1%和28.9%，而作种肥可溶性糖和维生素C含量分别提高11.7%和28.0%，两种施肥方法糖/酸比则由对照的0.38分别提高到0.42和0.43。因此建议锌肥在番茄上施用应以喷施为主。

### 参 考 文 献

- [1] 刘永菁等人：番茄施用锌肥的研究，《土壤通报》，1989，第3期，P129~132。
- [2] [美] J.J.莫尔维德特等人：《农业中的微量元素》，农业出版社，1984。
- [3] 农牧渔业部农业局：《微量元素肥料研究与利用》，湖北科学技术出版社，1986，P70~71。

(上接第51页)

191~192

- [12] Nelson R.R.1957. A major gene locus for Compatibility in *Cochliobolus heterostrophus*. *Phytopathology* 47: 742~743.
- [13] Nelson R. R. 1959 *Cochliobolus carbonum*, the perfect stage of *Helminthosporium carbonum*. *Phytopathology* 49: 807~810.
- [14] Nelson R.R.1959 A major gene locus for Compatibility in *Trichometasphaeria turcica*. *Phytopathology* 49: 159~160.
- [15] Nelson R.R.1959. Genetics of *Cochliobolus heterostrophus* I. variability in degree of compatibility. *Mycologia* 51: 18~23.
- [16] Nelson R. R. 1959. Genetics of *Cochliobolus heterostrophus* II. genetic factors inhibiting ascospore formation. *Mycologia* 51: 24~30.
- [17] Nelson R. R. 1959 Genetics of *Cochliobolus heterostrophus* III. genetic factors inhibiting ascus formation. *Mycologia* 51: 132~137.
- [18] Nelson R.R.1959 Genetics of *Cochliobolus heterostrophus* IV. a mutant gene that prevents perithecial formation. *Phytopathology* 49: 384~386.
- [19] Nelson R.R.1960 The genetics of compatibility in *Cochliobolus carbonum*. *Phytopathology* 50: 158~160.
- [20] Nelson R.R.1964 Genetic inhibition of perithecial formation in *Cochliobolus Carbonum*. *Phytopathology* 54: 876~877.