

# 人工培养条件下稻曲病菌厚垣孢子产生因素初探

程明渊 刘洪涛 阎万元 孙永吉 胡莹 韩润亭

(吉林省农科院植保所,公主岭 136100)

**提 要** 本文通过对稻曲病菌在不同培养基、不同营养条件(碳源和氮源)、不同 pH 值、不同温度和光照及不同代数的菌株在 PSA 上产孢能力的研究,初步明确,PSA 是适宜的产孢培养基,2~3 代菌株最易产孢;NH<sub>4</sub>Cl 和 KNO<sub>3</sub> 对厚垣孢子产生有一定的作用;适宜产孢的温度为 15~25℃,但 15℃和 20℃培养时间较长;培养基适宜的 pH 值是 5~7,以 pH 6 为最佳;光照对厚垣孢子的产生数量及时间都有很大的影响,光暗交替是适宜的培养条件。

**关键词** 稻曲病菌;厚垣孢子;产孢因素;人工培养

由病原真菌(*Ustilaginoidea Virens*(Cke)Tak.)引起的水稻稻曲病,1887 年由 Cooke 首次发现,至今已有几十个国家报道有这种病害发生。我国吉林省首次报道见于戚佩坤、白金铠等<sup>[5]</sup>的《吉林省栽培植物真菌病害志》。近几年,随着高水肥的栽培管理措施及大面积推广高产感病品种,在吉林省稻曲病发病面积逐渐扩大,危害日益严重,已成为生产上亟待解决的问题。国内外许多学者对该菌的生物学特性和化学防治研究比较多。1987 年傅淑云、俞孕珍等<sup>[6]</sup>研究了不同培养基对厚垣孢子产生的影响,认为大米粒、大米煎汁、PDA 和燕麦培养基较好。王桂华、李桂荣<sup>[3]</sup>和王疏<sup>[4]</sup>对稻曲病菌在大米粒培养基上产孢情况进行研究,王疏<sup>[4]</sup>报道光照可促进厚垣孢子产生。有关人工培养条件下稻曲病厚垣孢子产生因素方面的研究还未见有系统的报道。为了给人工接种准备接种物,为抗性鉴定创造条件,作者于 1989~1992 年在研究稻曲病菌生物学特性方面的同时,对影响稻曲病菌厚垣孢子产生因素进行了深入研究。

## 1 材料和方法

**1.1 菌种来源** 田间采集的病粒,用 75%的酒精浸 2 min,然后在酒精灯上烧一下,切开,转移到 PSA 斜面培养基上,长出的菌丝做为第一代(F<sub>1</sub>)。直接用解剖针从经用王国良<sup>[4]</sup>方法处理后的病粒上挑取黄色厚垣孢子转入 PSA 培养基上,做第一代菌株(F<sub>1</sub>)。

以下实验均用 F<sub>1</sub> 菌株(除代数实验外),培养基为 PSA(培养基实验和营养条件实验除外),pH 值为 7.0(pH 值实验除外),放入 25℃温箱中(温度实验除外),暗处(光照处理除外)培养,每个处理 10 个三角瓶,35 d 后调查。

**1.2 培养基** 培养基有 PSA、YPDA、玉米粉、大米汁、查氏培养基(Czapek)和 2%的水洋菜。

1.3 培养条件 温度:5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃。光照:8瓦日光灯管,距培养基30cm,分全光照、光暗交替(12h)和全黑暗3个处理。

1.4 代数 培养代数有F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub>、F<sub>4</sub>和F<sub>5</sub>。

1.5 营养条件 C源:葡萄糖、乳糖、木糖、果糖、蔗糖和淀粉,C含量为2%。N源:天冬素、硝酸钾、甘氨酸和氯化铵。每个处理为在PSA中加入0.5%N。

1.6 pH值 用柠檬酸与磷酸盐缓冲溶液和硼砂缓冲溶液把培养基的pH值分别调到:2.2,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,8.0,9.07,9.97,11.08,12.28。

## 2 结果

2.1 厚垣孢子产生的方式 在人工培养条件下,稻曲病的厚垣孢子产生方式有两种情况。一是首先形成白色菌丝,然后菌落上面或中间的颜色变黄,逐渐隆起,形成厚垣孢子堆。厚垣孢子形成以后,表面有一层膜破裂,散出黄色孢子,一周以后,变成黑褐色;另一种是极少见菌丝,开始就形成小的孢子堆,直到散出黄色厚垣孢子后,在边缘形成少量的白色菌丝。

### 2.2 不同处理对厚垣孢子形成的影响

PSA上可产生厚垣孢子堆,而其它培养基无厚垣孢子产生。

15℃、20℃、25℃这3个温度都可形成厚垣孢子堆,以15~20℃最佳,但生长缓慢,需时间很长,因此,其它几项实验均在25℃条件下培养。

表2 不同培养条件对稻曲病菌厚垣孢子形成的影响

培养条件	温度(℃)						光照时间(h)		
	5	10	15	20	25	30	24	12	0
产孢情况	不生长	不生长	+	+	+	-	+	++	-

注:一,无厚垣孢子堆形成;+,有厚垣孢子堆形成;++,有较多的厚垣孢子堆形成。

表4 不同营养条件对稻曲病菌厚垣孢子形成的影响

营养条件	C源						N源			
	葡萄糖	乳糖	木糖	果糖	蔗糖	淀粉	天冬素	硝酸钾	甘氨酸	氯化铵
产孢情况	+	-	-	-	+	-	-	±	-	±

注:一,无厚垣孢子堆形成;±,有时有厚垣孢子堆形成;+,有厚垣孢子堆形成。

表5 不同pH值对稻曲病菌厚垣孢子形成的影响

pH	2.2	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.07	9.97	11.08	12.38
产孢情况	-	-	-	+	++	+	-	-	-	-	-

注:一,无厚垣孢子堆形成;+,有厚垣孢子堆形成;++,有较多的厚垣孢子堆形成。

全光照和12h的光暗交替可产生厚垣孢子堆,但以光暗交替最好,产孢快而多。2代到4代菌株都可形成厚垣孢子堆,而以3代菌株最好。葡萄糖和蔗糖都可产生厚垣孢子堆,但

表1 不同培养基对稻曲病菌厚垣孢子形成的影响

培养基	PSA	YPDA	玉米粉	大米汁	查彼	水洋菜
产孢情况	+	-	-	-	-	-

注:一,无厚垣孢子堆形成;+,有厚垣孢子堆形成。

表3 不同培养代数对稻曲病菌厚垣孢子形成的影响

培养代数	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>
产孢情况	-	+	++	+	-

注:一,无厚垣孢子堆形成;+,有厚垣孢子堆形成;++,有较多的厚垣孢子堆形成。

以蔗糖最好。天冬素有利于菌丝生长,但不形成厚垣孢子堆;硝酸钾和氯化铵有时在培养基上有厚垣孢子堆形成,说明有一定作用。在偏酸性条件下,即 pH 值 5.0,6.0 和 7.0 时可形成厚垣孢子堆,pH 值 6.0 时最多、最快。

### 3 讨 论

3.1 在实验中发现,稻曲病菌不同菌株间产孢能力差别很大。一是形成方式不同,二是形成时间不同。最快的一周左右就可形成,慢的在最有利的条件下,2 个月仍未见有厚垣孢子堆形成,可能菌株间存在培养性状上的差异,这一点有待进一步研究。

3.2 几个因素对厚垣孢子堆的形成都有一定的影响,但以光照和 pH 值的影响最大。为了接种需要,作者把 F<sub>3</sub> 菌株转入 pH 值为 6 的 PSA 上,在 25℃ 温箱中,给予 12 h 的光照,20 d 后可形成黄色的厚垣孢子堆,黄色厚垣孢子萌发率可达 90%,但产孢量不大,一般可形成 3~4 个厚垣孢子堆或许多小的厚垣孢子堆。因此,要想满足大量接种的需要,还需对病菌的生物学特性进行深入的研究。

### 参 考 文 献

- 1 方中达. 植病研究方法. 农业出版社. 1977
- 2 王国良. 影响稻曲病厚垣孢子萌发因素的研究. 植物保护学报. 1988,15(4):241-245.
- 3 王桂华,李桂荣. 稻曲病菌人工培养方法. 植物病理学报. 1990,(20)1
- 4 王 疏. 稻曲病菌生活循环及生物学的研究. 沈阳农业大学硕士学位论文. 1990
- 5 戚佩坤,白金铠,朱桂香. 吉林省栽培植物真菌病害志. 科学出版社. 1966
- 6 傅淑云,俞孕珍. 稻曲病菌人工培养研究. 辽宁农业科学. 1987,(5):37-38

## Preliminary Studies on the Factors Influencing the Sporulation of Chlamydo spores of *Ustilaginoidea Virens* (Cke.) Tak. in Vitro

CHENG Mingyuan and LIU Hongtao et al.

(Plant Protection Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100)

**Abstract** Studies on the chlamydo spores sporulation power of the rice false smut fungus were carried out under condition of different nutrient media, nutrition (C and N source), pH value, incubation temperature, light and generations of the fungus. The results show that PSA is the best medium for sporulating. The 2nd and the 3rd generations of strain are easy to form chlamydo spores. NH<sub>4</sub>Cl and KNO<sub>3</sub> have certain purpose for chlamydo spore forming. The optimal temperature for sporulation is 15~25℃, but sporulation needs longer time at 15℃ and 20℃. The pH 5~7 is good and 6 is the best. Light can greatly affect the quantity and the time of chlamydo spore formation. Alternate light and dark is the best.

**Key words** False smut of rice, Chlamydo spores, Factors of the sporulation