

文章编号: 1005-0906(2007)03-0136-05

玉米苗枯病菌生物学特性及药剂防治研究

刘春元, 邢小萍, 李洪连, 吴建宇, 赵 利

(河南农业大学, 郑州 450002)

摘 要: 对引起玉米苗枯病的主要致病菌—串珠镰刀菌生物学特性进行了研究, 并进行了药剂的初步筛选。结果表明, 该菌菌丝生长的适宜温度范围在 25 ~ 30℃, 最适温度为 30℃; 分生孢子萌发的最适温度为 30℃。菌丝生长的 pH 值适宜范围在 6.5 ~ 12, 以 pH 7.5 时分生孢子萌发率最高。该菌在 PDA、YA 和 PSA 培养基上菌丝生长速率较快。病菌对麦芽糖、葡萄糖和对牛肉膏的利用好于其它碳源和氮源。供试的 7 种药剂中 2.5% 适乐时对玉米苗枯病菌菌丝生长抑制作用最强, 盆栽防效试验以 2.5% 适乐时 1:350 包衣效果最好。

关键词: 玉米; 苗枯病菌; 生物学特性; 药剂防治

中图分类号: S513

文献标识码: A

Biological Characteristics of Pathogen of Maize Seedling Blight and Prevention and Control by Fungicides

LIU Chun-yuan, XING Xiao-ping, LI Hong-lian, WU Jian-yu, ZHAO Li

(Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The study on biological characteristics and screening of major fungicides of *Fusarium moniliforme* showed that the optimal temperature for mycelium grew well at 25 – 30℃ and the best at 30℃. The optimal temperature for conidial germination was 30℃. The favorable pH of mycelium grew is 6.5 – 12, and the optimal pH of conidial germination was 30℃, the rate of growth reached the largest on PDA, YA, PSA medium of *Fusarium moniliforme*. Among the tested carbon and nitrogen resources, maltose, glucose and beef extract are useful types, nutrition has no selective effect on mycelium grew. According to screening results, 2.5% fludioxonil had the best inhibition on the mycelium growth of the pathogen among seven fungicides tested. Field potted trial indicated that seed treatment with 2.5% FS fludioxonil(1:350) had better control effect on maize seedling blight.

Key words: Maize; *Fusarium moniliforme*; Biological characteristics; Fungicides prevention and control

玉米苗枯病是近年来我国玉米苗期发生的逐年广泛而严重的病害。国外早在 50 年代就对该病作过报道^[1-3]。国内 1988 年吴新兰首次报道在制种田发生该病^[4], 1989 年在襄北地区制种田的黄早四病株率高达 95.5%^[5]; 1990 年在浙江东阳、天台、临海等地山区春玉米大面积发病, 部分田块因死苗严重翻耕重播, 严重的发病率达 60% ~ 80%, 曾造成浙江春玉米产量损失达 200 多万 kg^[6-7]; 1999 年山东等也报道玉米杂交制种田大面积发生此病^[8-10]。近年来河南、江苏省部分地区玉米苗枯病发生严重^[11, 12]。严

重影响了玉米的产量。鉴于该病对玉米生产的威胁, 对危害我国玉米的苗枯病的主要致病菌串珠镰刀菌^[13-15]的生物学特性和药剂防治进行了研究, 为研究该病的发病规律、生态和防治提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试病原菌

串珠镰刀菌株分离自河南郑州玉米田玉米苗枯病株, 分离方法采用组织分离法^[16], 经柯氏法则验证^[16, 17]为该病的致病菌。

1.2 试验方法

1.2.1 不同培养基对菌丝生长的影响

培养基设 7 个处理: 100 g/L 玉米液培养基(YA)、马铃薯葡萄糖培养基(PDA)、马铃薯蔗糖培养基(PSA)、马铃薯培养基(PA)、玉米粉培养基(CA)、水

收稿日期: 2006-05-09

基金项目: 国家粮食丰产科技工程河南课题(2004BA520A06-11)

作者简介: 刘春元(1962-), 女, 河南新乡人, 实验师, 硕士, 主要从事植物病理学实验教学和研究工作。

琼脂培养基(WA)、Czepek。试验时,将供试菌块(直径 7 mm)分别接入以上培养基平板中央,每处理 3 皿,每皿 1 块,置于 25℃ 下暗培养 4 d,观察和测量菌落直径。

1.2.2 不同温度对菌丝生长和孢子萌发的影响

将供试菌块(直径 7 mm)分别接入 pH 值为 6 的 PDA 培养基平板中央,每处理 3 皿,每皿 1 块,分别置于 4、15、20、25、30、35、40 和 45℃ 8 种不同温度下暗培养 4 d,观察和测量菌落直径。

采用载玻片悬滴法^[16]测定分生孢子,每处理重复 2 次,于 6 h 镜检观察的孢子萌发情况,计算不同温度下孢子萌发率。

1.2.3 不同 pH 值对菌丝生长和孢子萌发的影响

将供试菌块(直径 7 mm)分别接入 pH 值为 5、6、7、8、9、10 和 12 的 PDA 培养基平板中央,每处理 3 皿,每皿 1 块。在 25℃ 下暗培养 4 d,观察和测量菌落直径。

配制 pH 值为 5、6、7、8、9、10 和 12 的分生孢子水溶液,用载片悬滴法于 25℃ 下暗培养,每处理重复 2 次,于 6 h 镜检观察孢子萌发情况,并计算各 pH 值下孢子萌发率。

1.2.4 不同碳源对菌丝生长和孢子萌发的影响

以 Czapek 固体培养基为基础,按相同比例分别加入葡萄糖、木糖、果糖、麦芽糖、山梨糖、乳糖、蔗糖为碳源;以不加糖为对照。培养基 pH 值为 6,将供试菌块(直径 7 mm)接种后,25℃ 下培养 4 d,观察和测量菌落直径。

配制葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、木糖、100 g/L 玉米汁液分生孢子营养液,用载片悬滴法于 25℃ 下暗培养,每处理重复 2 次,于 6 h 镜检观察孢子萌发情况,并计算各培养液下孢子萌发率。

1.2.5 不同氮源对菌丝生长影响

以草酸铵、牛肉膏、蛋白胨、硝酸钠、酵母为氮源,以不加氮为对照。培养基 pH 值为 6,将供试菌块(直径 7 mm)接种后,25℃ 下培养 4 d,观察菌丝生长情况。

1.2.6 不同光照条件对病菌生长和产孢的影响

试验共设全光照(光照:黑暗为 24:0 h)、半光照(光照:黑暗为 12:12 h)和全黑暗(光照:黑暗为 0:24 h) 3 个处理,将 PDA 培养基倒入灭菌培养皿中,接入直径 7 mm 菌块,每处理 2 皿,每皿 2 块,分别置于 25℃ 各光照条件下培养,观察和测量菌落直径以及产孢情况。

1.2.7 杀菌剂的室内筛选

用无菌水将供试药剂(表 3)配成 5 个不同的浓度(比表 1 试验设计浓度高 10 倍)的药液,在每个培养皿中依次加入 1 mL 药液及 9 mL 熔融状态的 PDA 培养基制成不同梯度的含药培养基平板,每处理设 3 个重复,而后用直径 0.7 cm 打孔器切取在 PDA 平板上 (25 ± 1)℃ 培养 7 d 的菌落边缘菌丝块,移接到含药培养基平板中央(每皿 1 块,菌丝面朝下)于 (25 ± 1)℃ 培养 4 d,用十字交叉法测菌落直径,计算相对抑制率,比较不同药剂的抑制效果。

计算公式:相对抑制率(%)=(对照菌落平均直径 - 处理菌落平均直径) × 100 / 对照菌落平均直径

根据药剂浓度的对数值(X)和菌丝生长抑制率的几率值(Y)拟合直线毒力回归方程,并求出各药剂的致死中浓度(EC₅₀),比较不同杀菌剂的毒力大小,为进一步筛选有效的化学防治药剂提供理论依据。

1.2.8 盆栽防效试验

(1)土壤接种法。将麦粒沙培养基扩大培养的病原菌种串珠镰刀菌捣碎,按 2:100 比例(菌种:土壤)与无菌土壤混匀装入营养钵内。

(2)药剂处理。玉米种子播前清水浸种 8 h,按农药田间使用浓度(表 4)拌种,并设清水作对照。

(3)防效调查。播种后置于田间自然条件下,15 d 后调查不同处理的出苗率和病级,计算病情指数和相对防效。

(4)玉米苗枯病害严重度的分级标准。0 级:无病害;1 级:病株地上部自下向上第 1 叶片叶尖变黄,变黄面积小于或等于 1/2;2 级:病株地上部自下向上第 1 叶片变黄面积延伸大于 1/2 或第 2 叶片叶尖变黄,变黄面积小于或等于 1/2;3 级:病株地上部自下向上第 2 片叶尖变黄,变黄面积大于 1/2 或第 3 叶片叶尖变黄,变黄叶片面积小于或等于 1/2;4 级:病株地上部自下向上第 3 叶叶片变黄面积大于 1/2,或第 4 叶片叶尖变黄,变黄叶片面积小于或等于 1/2;5 级:病株地上部自下向上第 4 叶片叶尖变黄,变黄面积大于 1/2 或整株枯死。计算公式如下:

病情指数 = $\sum$ (各级病株数 × 代表数值) × 100 / 调查总株数 × 发病最高级的代表数值

相对防效 = (对照病情指数 - 处理病情指数) × 100 / 对照病情指数

2 结果与分析

2.1 不同培养基对菌丝生长的影响

从表 1 可知,该菌在 7 种固体培养基上都能生长,但生长速率存在着较大差异。在 PDA、YA 和

PSA 培养基上菌丝生长较快,培养 4 d,菌落直径分别为 61.5、58.5、55.9 mm。三种培养基经方差分析,生长速度间无显著性差异;其次是 PA 培养基,菌落直径为 51.5 mm;菌丝在 WA 培养基上生长最慢,菌落直径仅为 9.1 mm。

表 1 不同培养基对菌丝生长的影响
Table 1 The effect of various medium on hypha growth

培养基 Culture medium	4 d 菌落直径(mm) 4 d colony diameter			平均值(mm) Mean value	差异显著性 Significance	
	I	II	III		0.05	0.01
马铃薯葡萄糖培养基(PDA)	60.2	61.1	63.2	61.5	a	a
10 g/L 玉米液培养基(YA)	54.0	58.7	62.8	58.5	a	ab
马铃薯蔗糖培养基(PSA)	61.4	58.7	47.6	55.9	ab	ab
马铃薯培养基(PA)	52.3	54.2	47.9	51.5	bc	bc
玉米粉培养基(CA)	44.4	45.1	45.9	45.1	cd	cd
Czepek 培养基	42.1	38.7	37.2	39.3	d	d
水琼脂培养基(WA)	8.1	10.4	8.9	9.1	e	e

2.2 不同温度对菌丝生长和孢子萌发的影响

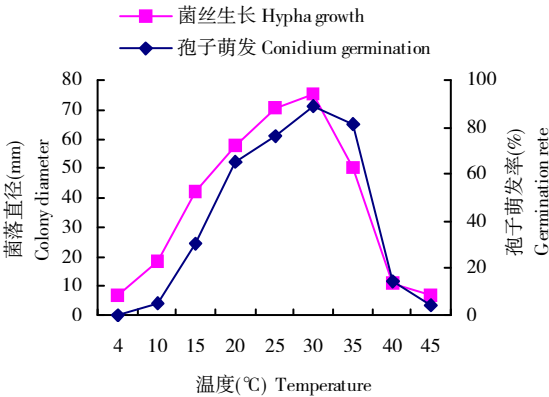


图 1 温度对菌丝生长和孢子萌发的影响

Fig.1 The effect of temperature on hypha growth and conidium germination

从图 1 可知,该菌在 10~40℃时菌丝均可生长,但生长速度存在着较大差异,菌丝生长的最适温度是 30℃,菌落直径为 75 mm;其次是 25℃,菌落直径为 70.3 mm;在 4℃和 45℃时培养 4 d,菌丝不生长。在 10~45℃时孢子均可萌发,但萌发率也有较大差异,分生孢子萌发的最适温度是 30℃和 35℃,萌发率分别为 89%和 81%。该菌在 4℃时分生孢子不萌发。

2.3 不同 pH 值对菌丝生长和孢子萌发的影响

图 2 结果表明,不同 pH 值对菌丝生长有明显的差异,pH 在 5.5~14 时菌丝均能生长,其中以 pH 值 6.5~12 较适合,最适 pH 为 8.5。因 pH 在 2~4 时 PDA 培养基不凝固,病菌也未生长。分生孢子在 pH 5.5~14 之间均能萌发,以 pH 7.5 时萌发率最高,pH 6.5 时次之,pH 3.5 时不萌发。

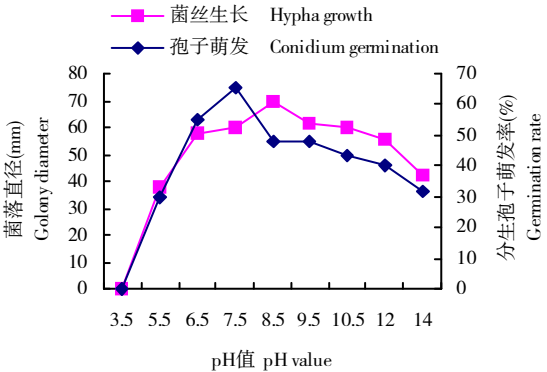


图 2 pH 值对菌丝生长和孢子萌发的影响

Fig.2 The effect of pH value on hypha growth and conidium germination

2.4 不同碳源对菌丝生长和孢子萌发的影响

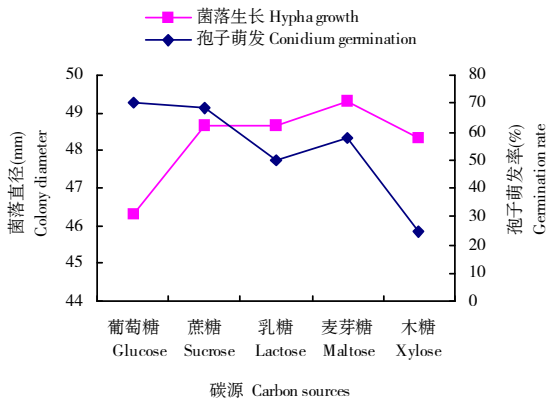


图 3 碳源对菌丝生长和孢子萌发的影响

Fig.3 The effect of different carbon sources on hypha growth and conidium germination

图 3 结果表明,不同碳源对菌丝生长和孢子萌发的影响有一定差异。供试碳源中,麦芽糖最有利于

病菌菌落的生长、蔗糖、乳糖次之、葡萄糖最差。但葡萄糖较有利于分生孢子萌发,蔗糖、乳糖次之,木糖较差。

2.5 不同氮源对菌丝生长影响

表 2 不同氮源对菌丝生长的影响

Table 2 The effect of different nitrogen sources on hypha growth

氮 源 Nitrogen sources	菌落直径(mm)			平均值	差异显著性	
	Colony diameter			(mm)	Significance of difference	
	I	II	III	Average	0.05	0.01
牛肉膏	46.7	50.1	52.0	49.6	a	a
酵母膏	43.3	42.7	45.1	43.7	b	b
蛋白胨	42.9	42.0	44.2	43.0	b	b
硝酸钠	39.6	40.6	38.9	39.7	c	b
草酸钠	29.1	30.7	31.0	30.3	d	c

由表 2 可知,不同氮源对菌丝生长的影响有一定差异,供试氮源中,牛肉膏最有利于病菌菌落的生长,菌落直径平均为 49.6 mm;蛋白胨、酵母膏次之,菌落直径分别为 43.7、43.0 mm;草酸钠最差,菌落直径为 30.3 mm。经方差分析该菌对牛肉膏的利用效果明显好于蛋白胨和酵母膏,但蛋白胨和酵母膏之间无显著性差异。

2.6 不同光照条件对病菌生长影响

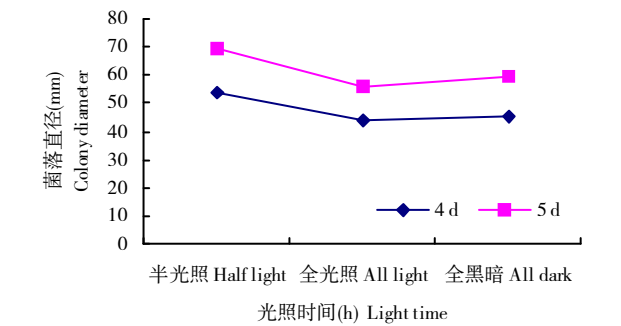


图 4 光照条件对病菌生长的影响
Fig.4 The effect of different light time on hypha growth

图 4 结果表明,不同光照条件对菌丝生长有一定影响,该菌菌落在半光照条件下生长最好,25℃培养 4 d 和 5 d,菌落直径分别为 69.3 mm 和 54.0 mm,其次为全黑暗,全光照条件下菌落生长较差。

2.7 不同药剂处理对菌丝生长室内抑菌效果测定

测定结果表明(表 3),各供试药剂对玉米苗枯病菌菌丝生长都有一定的抑制作用。

药剂毒力按照 EC₅₀ 大小依次为适乐时、烯唑醇、立克秀、多菌灵、三唑酮、甲基托布津、福美双;对菌丝生长抑制作用最强的是适乐时,EC₅₀ 是 0.04 μg/g;其次是烯唑醇、立克秀和多菌灵,EC₅₀ 分别是

0.12、0.19 和 0.96 μg/g;抑制作用最弱的是福美双,EC₅₀ 达到 21.67 μg/g。

表 3 不同药剂处理对菌丝生长室内抑菌效果
Table3 Effect of inhibiting mycelium of *Fusarium moniliforme* by severalfungicides in laboratory

药 剂 Fungicides	毒力回归方程 Virulence equation	EC ₅₀	相关系数 Correlation coefficient
烯唑醇 WP	Y=5.406+0.441X	0.12	0.98
三唑酮 WP	Y=4.998+0.828X	1.01	0.98
福美双 WP	Y=3.751+0.935X	21.67	0.98
适乐时 FS	Y=5.233+0.162	0.04	0.96
多菌灵 WP	Y=5.026+1.452X	0.96	0.99
甲基托布津 WP	Y=4.709+0.797X	2.32	0.99
立克秀 FS	Y=5.423+0.581	0.19	0.96

2.8 盆栽防效试验结果

表 4 不同化学药剂盆栽防治效果
Table 4 Control efficiency for maize seedling blight by several fungicides in pot

药剂处理		出苗率(%)	病情指数	相对防效(%)
Fungicides		Germinative rate	Disease index	Control efficiency
2.5%适乐时	1:350	80.0	32.6	54.8 a
50%福美双	1:200	86.7	34.4	52.3 a
2%立克秀	1:350	73.3	41.5	42.4 ab
15%三唑酮	1:200	83.3	45.3	37.2 b
12.5%烯唑醇	1:1 000	83.3	48.8	32.3 b
70%甲基托布津	1:200	90.0	49.1	31.9 b
50%多菌灵	1:200	80.0	49.3	31.6 b
CK		90.0	72.1	

注:英文字母表示在 5% 的显著水平下 Duncans 氏新复极方差分析结果,不同字母表示差异达到显著水平。
Note: English letters represent significant at the 5% level with new bipolar Duncans's result analysis of variance, different letters represent the significant difference.

表 4 结果表明,7 种杀菌剂对用串珠镰刀菌接种的玉米苗枯病的发生均有一定的防治效果,其中 2.5%适乐时 1:350 包衣效果最好,相对防效达到 54.8%;其次是 50%福美双和 2%立克锈,相对防效达到 52.3%和 42.4%。但 2%立克锈对出苗有一定的影响,出苗率仅在 73.3%;50%多菌灵盆栽防效最差,相对防效在 31.6%。

3 结 论

(1)温度实验结果表明,玉米苗枯病菌菌丝生长适宜的温度是 25 ~ 30℃,分生孢子萌发的适宜温度

是 30 ~ 35℃。北方夏玉米苗期生长的温度正好与病原菌菌丝生长和分生孢子萌发的适宜温度相吻合。

(2)玉米苗枯病菌菌丝生长较适合的 pH 值范围在 6.5 ~ 12,且最适 pH 8.5。碱性土壤的地区应该选择种植抗病的品种,避免种植感病品种,这对病害的防治有重要的意义。

(3)不同 C、N 源对菌丝生长和分生孢子萌发测定结果显示,供试碳源中,麦芽糖最有利于病菌菌落的生长,葡萄糖最差。但葡萄糖较有利于分生孢子萌发,木糖较差。供试氮源中,牛肉膏最有利于病菌菌落的生长,草酸钠最差,研究和分析玉米苗枯病菌的营养为该菌的基础研究提供了理论依据。

(4)综合药剂试验得知,50%多菌灵室内毒力测定对菌丝生长抑制作用较强,但盆栽防治效果却不理想,室内毒力测定与田间盆栽试验存在着较大的差别。是否与试验中多菌灵的使用方法有关,有待进一步研究。

(5)玉米苗枯病主要是种子带菌传播,药剂拌种是防治的关键,本试验结果表明,2.5%适乐时 FS 1:350 包衣、50%福美双 WP 1:200 拌种对玉米苗枯病有较好的防治效果。

(6)玉米苗枯病的病原菌种类复杂,国内报道的病原菌有串珠镰刀菌、蠕孢菌、禾谷镰刀菌、腐霉菌、立枯丝核菌等。大多数学者认为串珠镰刀菌为玉米苗枯病的优势病原菌^[13~15]。但不同地区病原菌组成因生态环境不同略有差异。本试验对玉米苗枯病的优势病原菌串珠镰刀菌进行了生物学特性和药剂防治的研究,对其它病原菌的研究有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] Hooker A L. Association of resistance to disease in com[J]. Phytopathology, 1956, 46: 379-384.
- [2] Devay J E, et al. Com disease and their importance in minnesota in 1956[J]. Plant Dis. Repter, 1957, 41: 505-507.
- [3] Kommedahl T, et al. Fusarium infected stalks and other disease of com in minnesota in 1977[J]. Plant Dis. Repter., 1978, 62: 692-694.
- [4] 吴新兰. 玉米苗枯病研究初报[J]. 植物保护, 1988, 14(1): 60.
- [5] 李复宁. 襄北发生玉米萎蔫病[J]. 植物保护, 1989, 15(3): 62.
- [6] 王桂跃, 殷为汉, 金加同, 等. 玉米苗枯病发生规律和防治方法研究[J]. 玉米科学, 1996, 4(4): 75-77.
- [7] 狄广信, 关梅萍, 王永才, 等. 玉米苗枯病病原菌鉴定及防治技术[J]. 浙江农业学报, 1994(1): 18-21.
- [8] 陈举林, 苏波, 邹仁峰, 等. 玉米苗枯病的发生与防治[J]. 植保技术与推广, 2000, 20(2): 15-16.
- [9] 柳玉环, 王军, 张桂芝, 等. 玉米苗枯病大发生的土壤原因探讨[J]. 中国农学通报, 2000, 16(3): 45-47.
- [10] 李群, 孔庆春, 陈建斌, 等. 超甜、糯玉米苗枯病及茎腐病发生与防治[J]. 江苏农业科学, 2002(4): 45-46.
- [11] 田尧甫, 杨小芳, 王仁清, 等. 2001 年漯河地区玉米苗枯病重发原因调查[J]. 植保技术与推广, 2001, 21(12): 12-13.
- [12] 张学山. 玉米苗枯病发生原因调查分析及防治对策[J]. 中国植保导刊, 2004, 24(4): 15.
- [13] 任金平, 吴新兰, 庞志超, 等. 吉林省玉米苗病发生危害及病原真菌种类调查[J]. 玉米科学, 1995, 13(增刊): 7-10.
- [14] 金光龙, 杜冰, 孙中霞, 等. 玉米苗枯病诱因初步研究[J]. 辽宁农业科学, 1995(2): 23-26.
- [15] 方中达. 植病研究法(第 3 版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [16] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1979.
- [17] 陈鸿逵, 王拱辰. 浙江镰刀菌志[M]. 杭州: 浙江科技出版社, 1991.

(责任编辑: 张英)