

大豆菌核病菌生长特性及抗药性初步测定

李永刚, 陈丽娜

(东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:采用单菌核分离法得到大豆菌核病菌,利用菌丝生长速率法测定了 7 株大豆菌核病菌的生物学特性及对多菌灵和腐霉利的抗药性。结果表明:供试菌株菌丝生长的最适温度是 15~20℃,而菌核的产生则在 15℃左右最多;大豆菌核病菌生长最适的环境为中性和偏酸性;不同菌核及病残体埋入土壤不同深度后越冬处理,病残体上菌丝不能越冬,而菌核能够越冬,且埋入土层越深菌丝生长速度越慢,产生菌核的重量也降低;大豆菌核病菌对茄子、向日葵、油菜、大豆的致病力存在差异,H6 菌株致病力最强;多菌灵对不同地理区域的菌株的 EC_{50} 为 0.5022~0.3525 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,但均小于 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,其中最不敏感菌株 EC_{50} 为最敏感菌株 EC_{50} 的 1.42 倍,均为敏感菌株;腐霉利对不同地理区域的菌株的 EC_{50} 为 1.0230~0.4388 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,但均小于 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,其中最不敏感菌株 EC_{50} 为最敏感菌株 EC_{50} 的 2.33 倍,均为敏感类型。尚未发现对多菌灵和腐霉利具有抗药性的菌株。

关键词:大豆;菌核病菌;生长特性;抗药性

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2011)02-0281-04

Preliminary Exploration for Growth Characteristics and Fungicide Resistance of *Sclerotinia Sclerotiorum* in Soybean

LI Yong-gang, CHEN Li-na

(College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: *Sclerotinia stem rot* of soybean caused by the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* was a world wide disease of soybeans in the soybean growing regions. Pure culture isolations of *S. sclerotiorum* were obtained by single sclerotium. Growth characteristics and fungicide resistance of *S. sclerotiorum* were determined by using mycelium growth rate method. The seven *S. sclerotiorum* collected from various locations of Heilongjiang province were used to determine growth characteristic and resistant to carbendazim and procymidone. The results indicated that optimal temperature of mycelium growth and sclerotia production was 15-20℃ and 15℃, respectively. The optimal environment of mycelium growth was neutral and acidic. The result indicated that *S. sclerotiorum* on plant residues couldn't overwinter, but *Sclerotia* could overwinter. *S. sclerotiorum* isolates were differed pathogenicity to eggplant, sunflower, rape and soybean. H6 isolate was more virulent than the others. The results of sensitivity to carbendazim indicated that the EC_{50} values of *S. sclerotiorum* strains ranged from 0.5022 to 0.3525 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and the EC_{50} of most insensitive fungus was 1.42 folds than the EC_{50} of most sensitivity. The results of sensitivity to procymidone indicated that the EC_{50} values of *S. sclerotiorum* strains ranged from 1.0230 to 0.4388 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The EC_{50} of most insensitive was 2.33 folds than the EC_{50} of most sensitivity. The above results suggested that recent *S. sclerotiorum* isolates collected from various locations of Heilongjiang province didn't produce resistance to two fungicides. The experiments has laid solid theoretical foundation for further research work of biological characteristics and scientific prevention and control of *S. sclerotiorum*.

Key words: Soybean; *Sclerotinia sclerotiorum*; Growth characteristics; Fungicide resistance

大豆菌核病是除大豆胞囊线虫病外导致大豆严重减产的最重要病害^[1]。在中国分布于华北、华东、西南、东北等大豆产区,以东北发病最频繁、最重^[2]。近十几年来,随着种植面积的不增大,大豆重、迎茬问题日趋严重,导致大豆菌核病发生频繁,流行年份减产 20%~30%,有些地方甚至绝产^[3]。

培育抗病品种是防治植物病害最经济和最有效的途径,但大豆菌核病目前仍没有发现高抗和免疫品种^[4],化学防治仍是主要防治措施,而菌核病菌又易产生抗药性^[5-6]。国内外对于大豆菌核病系统研究报道较少,特别是在北方寒地条件下大豆菌核病菌的生物学特性及抗药性方面缺乏理论研究。

收稿日期:2010-11-01

基金项目:东北农业大学博士启动基金(2009RC48);黑龙江省教育厅科学技术研究资助项目(11551049)。

第一作者简介:李永刚(1975-),男,副教授,博士,硕士生导师,研究方向为植物抗性机制及生物防治。E-mail:nealyg@yahoo.cn。

表 2 不同 pH 对菌丝生长的影响

Table 2 Effect of pH on *S. sclerotiorum* mycelium growth

| pH | 菌落直径 Colony diameter/cm | | | | | | |
|----|-------------------------|------|------|------|------|------|------|
| | H1 | H2 | H3 | H4 | H5 | H6 | H7 |
| 5 | 6.51 | 6.91 | 5.56 | 5.28 | 7.64 | 6.65 | 6.59 |
| 6 | 7.63 | 7.60 | 5.71 | 5.17 | 8.17 | 7.55 | 6.83 |
| 7 | 6.61 | 6.52 | 4.68 | 3.2 | 5.77 | 6.00 | 4.80 |
| 8 | 6.01 | 5.33 | 4.26 | 3.74 | 5.29 | 5.80 | 4.56 |
| 9 | 4.21 | 5.32 | 4.16 | 3.76 | 4.46 | 4.57 | 3.35 |

2.1.3 大豆菌核病菌菌丝生长速率的测定 活化 48 h 后大豆菌核病菌接种 PDA 平板上培养,每天测量 1 次菌落直径,结果见图 1。

由图 1 可以看出,大豆菌核病菌菌丝生长速度均较快,但不同菌株之间生长速度还是存在差别,其中 H5 生长速率较快,H3 较慢。

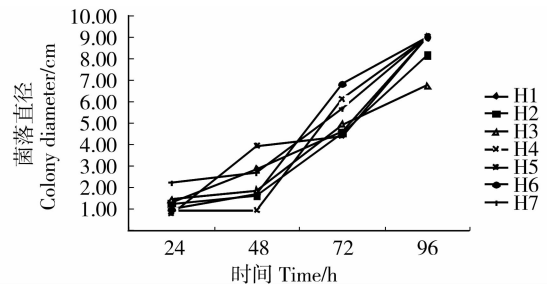


图 1 大豆菌核病菌菌丝生长速率

Fig. 1 Determination of *S. sclerotiorum* mycelial growth rate

2.1.4 越冬处理对菌核和病残体的影响 将越冬处理的大豆菌核、病株茎秆及病残体取出后进行分离培养,结果病株茎秆和发病叶片未能分离出大豆菌核病菌,而菌核均能分离出。同时,测定了越冬处理菌核病菌的生长及产核变化,结果见表 3。

表 3 越冬处理对大豆菌核和病残体的影响

Table 3 Effect of over wintering on *S. sclerotiorum* mycelium growth in different soil depth

| 深度 Depth/cm | 菌落直径 Colony diameter/cm | | | | | | | 菌核鲜重 Fresh weight of sclerotia/g | | | | | | |
|-------------|-------------------------|------|------|------|------|------|------|----------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| | H1 | H2 | H3 | H4 | H5 | H6 | H7 | H1 | H2 | H3 | H4 | H5 | H6 | H7 |
| 0 | 2.25 | 2.65 | 2.45 | 2.91 | 3.94 | 3.00 | 2.91 | 0.38 | 0.25 | 0.27 | 0.12 | 0.07 | 0.34 | 0.13 |
| 15 | 1.36 | 2.24 | 2.50 | 2.09 | 3.38 | 2.04 | 1.79 | 0.28 | 0.25 | 0.13 | 0.06 | 0.40 | 0.19 | 0.24 |
| 30 | 1.22 | 2.08 | 1.21 | 1.77 | 1.47 | 1.60 | 1.34 | 0.23 | 0.24 | 0.14 | 0.10 | 0.10 | 0.23 | 0.14 |

从表 3 可以看出,总体上不同深度处理越冬后菌丝生长及产核能力受到一定影响,随深度增加菌丝生长速度下降,产生菌核的鲜重也降低。

2.1.5 大豆菌核病菌致病性的测定 大豆菌核病菌接种于不同寄主叶碟中央,48 h 后的观察结果见表 4。

表 4 大豆菌核病菌对不同寄主致病性的测定

Table 4 Determination of virulence of strains on different host

| 菌株 Strains | 不同寄主 Different host | | | |
|------------|---------------------|---------------|---------|------------|
| | 茄子 Eggplant | 向日葵 Sunflower | 油菜 Rape | 大豆 Soybean |
| H1 | * | * | ** | * |
| H3 | * | * | * | * |
| H4 | ** | * | * | * |
| H5 | — | * | — | * |
| H6 | ** | ** | ** | ** |
| H7 | — | * | * | * |

* 轻度发病; ** 严重发病; - 不发病。

* Mild disease; ** Severe disease; - No disease.

从表 4 可以看出,大豆菌核病 H6 菌株对 4 种寄主植物的致病力最强,H5 菌株和 H7 菌株对 4 种寄主植物的致病力较轻,其它几个菌株对 4 种寄主植物均有不同程度的致病力,说明不同地理区域的

大豆菌核病菌的致病力存在差别。

2.2 菌株抗药性检测

运用菌丝生长速度法,测定多菌灵和腐霉利对不同地理区域大豆菌核病菌的有效抑制中浓度 (EC₅₀),结果见表 5。

表 5 大豆菌核病菌对多菌灵的敏感性测定

Table 5 Sensitivity of *S. sclerotiorum* to Carbendazim (MBC)

| 菌株 Strains | 剂量反应曲线 Dose response curve (Y =) | 半数致死浓度 | 相关指数 Correlation index (r) |
|------------|-----------------------------------|---|----------------------------|
| | | EC ₅₀ /μg · mL ⁻¹ | |
| H1 | 1.204 6x + 5.360 3 | 0.502 2 | 0.968 4 |
| H2 | 0.973 0x + 5.440 6 | 0.352 5 | 0.969 3 |
| H3 | 1.012 0x + 5.418 3 | 0.386 1 | 0.968 7 |
| H4 | 0.543 1x + 5.178 0 | 0.470 2 | 0.951 5 |
| H5 | 0.889 2x + 5.354 1 | 0.399 8 | 0.961 4 |
| H6 | 1.741 7x + 5.564 9 | 0.473 9 | 0.840 1 |
| H7 | 1.313 5x + 5.458 1 | 0.447 9 | 0.986 6 |

从表 5 中可以看出,多菌灵对不同地理区域菌株的 EC₅₀ 为 0.5 022 ~ 0.3 525 μg · mL⁻¹,但均小于 1 μg · mL⁻¹,其中最不敏感菌株 EC₅₀ 为最敏感菌株 EC₅₀ 的 1.42 倍,平均值是 0.4 372 μg · mL⁻¹,都为敏感菌株,表明不同菌株对多菌灵未出现抗性,但对多菌灵的敏感性有差异。

从表6中可以看出,腐霉利对不同地理区域的菌株 EC_{50} 为 $1.0230 \sim 0.4388 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 但均小于 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 其中最不敏感菌株 EC_{50} 为最敏感菌株 EC_{50} 的 2.33 倍, 都为敏感菌株, 同时也可以看出不同菌株对药剂腐霉利的敏感性有差异。

表6 大豆菌核病菌对腐霉利的敏感性测定

Table 6 Sensitivity of *S. sclerotiorum* to Procydione

| 菌株 Strains | 剂量反应曲线 Dose response curve ($Y =$) | 半数致死浓度 EC_{50} $/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ | 相关指数 Correlation index(r) |
|---------------|--|--|-------------------------------------|
| H1 | $2.473 6x + 4.939 7$ | 1.023 0 | 0.962 1 |
| H2 | $2.605 4x + 4.728 3$ | 0.912 0 | 0.923 0 |
| H3 | $2.608 0x + 5.312 0$ | 0.759 2 | 0.954 3 |
| H4 | $3.211 3x + 5.798 6$ | 0.564 0 | 0.976 4 |
| H5 | $2.716 8x + 5.971 9$ | 0.438 8 | 0.902 2 |
| H6 | $1.980 8x + 5.005 2$ | 0.994 0 | 0.924 3 |
| H7 | $2.298 7x + 5.182 2$ | 0.982 0 | 0.993 8 |

3 结论与讨论

研究仅选取 7 个典型的菌株进行生长特性方面及抗药性的研究, 主要是因为北方的大豆菌核病目前仍处于不防不控的阶段, 另一方面取样地都是北方寒地, 越冬条件基本一致, 选取少量样本即可反应各地的实际情况。

大豆菌核病菌菌丝生长的最适温度是 $15 \sim 20^{\circ}\text{C}$, 当温度低于 10°C 菌丝生长速度明显减慢, 菌核产量也明显降低; 说明不同地理区域菌核的菌丝生长速率和产核能力是不同的; 大豆菌核病菌适于在中性和偏酸性环境中生长, 在碱性环境中生长较慢; 大豆菌核病菌生长及产核能力受越冬土壤深度的影响, 随深度增加菌丝生长速度下降, 产生菌核的鲜重也降低, 说明耕作中整地方式对菌核病存在一定的影响; 大豆菌核病菌对茄子、向日葵、油菜、大豆的致病力存在差异, 说明不同地点大豆菌核病菌株对不同寄主植物致病力不同。

参照对腐霉利的抗性水平划分的相关研究^[7-9], 抗药性检测表明黑龙江省不同地理区域的菌株均未对多菌灵和腐霉利产生抗药性, 是由于大豆菌核病在黑龙江省还没有应用化学药剂进行有效治理, 尚未有抗药性菌株出现。因此, 大豆菌核病的化学防治可以通过 2 种药交替使用, 避免其产

生抗药性; 同时, 应加强菌株对常用化学药剂敏感性的监测。

参考文献

- [1] 董志敏, 王曙明, 刘玉芝, 等. 大豆抗菌核病研究进展[J]. 大豆科学, 2008, 27(6): 1053-1057. (Dong Z M, Wang S M, Liu Y Z, et al. Progress on resistance to *Sclerotinia Sclerotiorum* in soybean[J]. Soybean Science, 2008, 27(6): 1053-1057.)
- [2] 张军政, 杨谦, 魏丹, 等. 东北黑土区核盘菌对大豆寄主的破坏性研究[J]. 大豆科学, 2008, 27(4): 633-636. (Zhang J Z, Yang Q, Wei D, et al. Research on destructive of *Sclerotinia Sclerotiorum* to host soybean in black soil area of northeast China[J]. Soybean Science, 2008, 27(4): 633-636.)
- [3] 姚浩然. 黑龙江省大豆菌核病发生与防治[J]. 黑龙江农业科学, 1989(5): 3. (Yao H R. Occurrence and control of *Sclerotinia sclerotium* of soybean in Heilongjiang province [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 1989(5): 3.)
- [4] 李伟, 周益军, 陈怀谷. 江苏省油菜菌核病菌对多菌灵的敏感性[J]. 中国油料作物学报, 2007, 29(1): 63-68. (LI W, Zhou Y J, Cheng H G, et al. Sensitivity of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates to carbendazim in Jiangsu province[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2007, 29(1): 63-68.)
- [5] 李红霞, 陆悦健, 周明国, 等. 油菜菌核病菌 β -微管蛋白基因与多菌灵抗药性相关突变的研究[J]. 中国油料作物学报, 2003, 25(2): 56-60. (Li H X, Lu Y J, Zhou M G, et al. Mutation in β -tubulin of *Sclerotinia sclerotiorum* conferring resistance to carbendazim in rape seed field isolates[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2003, 25(2): 56-60.)
- [6] 孙明明, 韩英鹏, 陈浩, 等. 大豆菌核病鉴定方法比较及分析[J]. 大豆科学, 2007, 26(5): 728-731. (Sun M M, Han Y P, Chen H, et al. Comparisons and analyses on the methods of evaluating tolerance to soybean white mould [J]. Soybean Science, 2003, 25(2): 56-60.)
- [7] FAO. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides[J]. FAO Plant Protection Bulletin, 1982, 30:30-36.
- [8] 石志琦, 周明国, 叶钟音. 油菜菌核病菌对多菌灵、菌核净抗药性菌株性质研究[J]. 中国油料作物学报, 2000, 22(4): 54-57. (Shi Z Q, Zhou M G, Ye Z Y. Resistance of *Sclerotinia Sclerotiorum* to carbendazim and dimethachlon[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2000, 22(4): 54-57.)
- [9] 齐永霞, 陈方新, 丁克坚, 等. 安徽省油菜菌核病菌对菌核净的抗药性测定[J]. 农药, 2006, 45(8): 567-580. (Qi Y X, Chen F X, Ding K J, et al. Determining dimethachlon resistance of *Sclerotinia sclerotiorum* in Anhui province[J]. Agrochemicals, 2006, 45(8): 567-580.)