

鄂西南地区稻瘟病菌最适生长培养基筛选

郑洁, 安乐, 邓森文, 黎艳艳, 王春台, 徐鑫*

(中南民族大学生命科学院, 武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北省重点实验室, 生物技术国家民委重点实验室, 湖北武汉 430074)

摘要 [目的] 筛选鄂西南地区稻瘟病菌的最适生长培养基。[方法] 从鄂西南地区稻瘟病菌生理小种文库中选择优势菌株, 在米糠培养基、燕麦培养基、马铃薯培养基, 以及以上 3 种材料按比例混配的 4 种组合培养基上进行培养, 观察其生长状态。[结果] 同种菌株在不同培养基上生长速率不同, 不同菌株在同一种培养基上生长速率不同, 在含有米糠、燕麦、马铃薯 3 种成分的 M₇ 培养基上稻瘟菌生长量最大。[结论] M₇ 培养基为鄂西南地区稻瘟菌的最适生长培养基。

关键词 稻瘟病菌; 生长速率; 培养基; 鄂西南地区

中图分类号 S435.111.4⁺1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)01-0127-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.01.039

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Screening of Optimum Growth Medium for *Magnaporthe oryzae* in Southwestern Hubei Province

ZHENG Jie, AN Le, DENG Sen-wen et al (Hubei Provincial Key Laboratory for Protection and Application of Special Plants in Wuling Area of China, Key Lab for Biotechnology of State Ethnic Affairs Commission, College of Life Science, South-Central University for Nationalities, Wuhan, Hubei 430074)

Abstract [Objective] To screen the optimum growth medium for *Magnaporthe oryzae* in southwestern Hubei Province. [Method] The dominant strains were selected from the physiological race library of *Magnaporthe oryzae* in southwestern Hubei Province, and cultured on rice bran medium, oatmeal medium, potato medium, and four kinds of combined medium in which the above three materials were mixed in proportion. [Result] The same strain showed different growth rates on different mediums, and different strains showed different growth rates on the same medium. The growth of *Magnaporthe oryzae* was the highest in M₇ medium containing rice bran, oatmeal and potato. [Conclusion] M₇ medium was the optimum growth medium for *Magnaporthe oryzae* in southwestern Hubei Province.

Key words *Magnaporthe oryzae*; Growth rate; Culture medium; Southwestern Hubei Province

稻瘟病由稻梨孢菌(*Magnaporthe oryzae*)所引起, 每年由稻瘟病菌导致的稻瘟病减产的水稻总量相当于 6 000 万人口的年粮食需求量^[1]。武陵山区地属亚热带季风性山地湿润气候, 雨热同季, 降水充沛, 导致该地区经常暴发稻瘟病^[2-3], 且其境内地形地貌复杂多样, 海拔高低悬殊, 水稻种植的品种和时间具有显著差异, 导致该地区的稻瘟病菌生理小种品种十分丰富^[4]。

病原菌与作物之间存在互作, 通过研究稻瘟病菌的群体结构及遗传变异信息, 有助于指导开展抗瘟育种和合理利用抗性, 延长品种的抗病使用年限^[5]。近年来, 对稻瘟病菌遗传多样性的研究在全国各地越来越普遍。研究表明, 鄂西南地区稻瘟病菌生理小种^[6]的优势群体与黑龙江^[7]、湖南^[8]、贵州^[9]等地有较大差别。不同的稻瘟病菌生理小种, 适合的培养基可能不同^[10], 常用的配制方便且价格经济的培养基包括燕麦片培养基^[6, 11]、米糠培养基^[12-13]和 PDA 培养基^[14]等。笔者选取上述 3 种培养基以及各组分混配的组合培养基进行稻瘟病菌不同生理小种最适生长培养基的筛选试验, 明确鄂西南地区水稻稻瘟病菌优势种群的最适培养条件, 旨在为该地区稻瘟病菌遗传多样性研究及水稻抗病品种的选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株。所用稻瘟病菌生理小种 B31-2 及 B6-5^[6]由武汉中南民族大学武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北省重点实验室/生物技术国家民委重点实验室提供。

1.1.2 供试培养基。M₁: 米糠 20 g, 清水 1 000 mL, 琼脂 20 g; M₂: 燕麦片 30 g, 清水 1 000 mL, 蔗糖 15 g, 琼脂 7 g; M₃: 切块马铃薯 200 g, 清水 1 000 mL, 葡萄糖 20 g, 琼脂 18 g; M₄: 切块马铃薯 100 g, 燕麦片 15 g, 清水 1 000 mL, 蔗糖 15 g, 琼脂 7 g; M₅: 切块马铃薯 100 g, 米糠 10 g, 清水 1 000 mL, 蔗糖 15 g, 琼脂 7 g; M₆: 燕麦片 15 g, 米糠 10 g, 清水 1 000 mL, 蔗糖 15 g, 琼脂 7 g; M₇: 切块马铃薯 70 g, 燕麦片 15 g, 米糠 10 g, 清水 1 000 mL, 蔗糖 15 g, 琼脂 7 g。

1.2 方法

1.2.1 稻瘟病菌活化。从保存菌种 B31-2 和 B6-5 的滤纸条上剪下一小片置于燕麦培养基中心, 将提前准备好的直径 6 mm 的灭菌圆形滤纸片以菌株为中心呈包围状置于培养基表面, 27 ℃ 培养 7 d 左右, 至菌丝长满滤纸片。

1.2.2 稻瘟病菌培养。取长满菌丝的滤纸圆片分别置于 7 种培养基中心, 27 ℃ 培养, 分别在第 3、5、7 天时采用交叉法测量菌落直径, 计算生长速度, 重复 3 次, 取平均值进行比较。于培养第 7 天拍照记录菌落形态。

2 结果与分析

2.1 同一菌株在不同培养基上的菌落形态 通过对稻瘟病菌生长第 7 天的菌落形态观察, 发现不同稻瘟病菌生理小种

基金项目 湖北省自然科学基金资助项目(2018CFB476); 中央高校专项基金资助项目(CZY18043)。

作者简介 郑洁(1996—), 女, 湖北荆州人, 硕士研究生, 研究方向: 植物病理。* 通信作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事植物抗病研究。

收稿日期 2018-08-24; **修回日期** 2018-09-17

在相同培养基上具有相似的菌落形态,而同一稻瘟病菌生理小种在不同培养基上的菌落形态差异较大,与许鸣^[10]的研究结果一致。由图1可知,稻瘟菌在M₁培养基上菌体呈浅褐色,表面平整,菌落中部有少数白色气生菌丝;在M₂培养基上呈深黑色,表面平整,菌落中心有极少数白色气生菌丝;在M₃培养基上菌体呈灰绿色,表面有褶皱,菌落中心及边缘有白色气生菌丝,且菌落边缘呈羽毛状;在M₄培养基上

菌体呈浅灰色,表面褶皱明显,中心聚集灰色菌丝,边缘有灰白色菌丝均匀且密集分布;在M₅培养基表面菌体为淡灰色,表面有较深放射状褶皱,菌落边缘遍布白色菌丝;在M₆培养基表面菌体为墨绿色,表面平整,覆有丰富灰色菌丝;在M₇培养基表面菌体为浅灰色,表面有褶皱,菌落边缘不整齐,为淡绿色点状分布,并伴有少数白色菌丝。

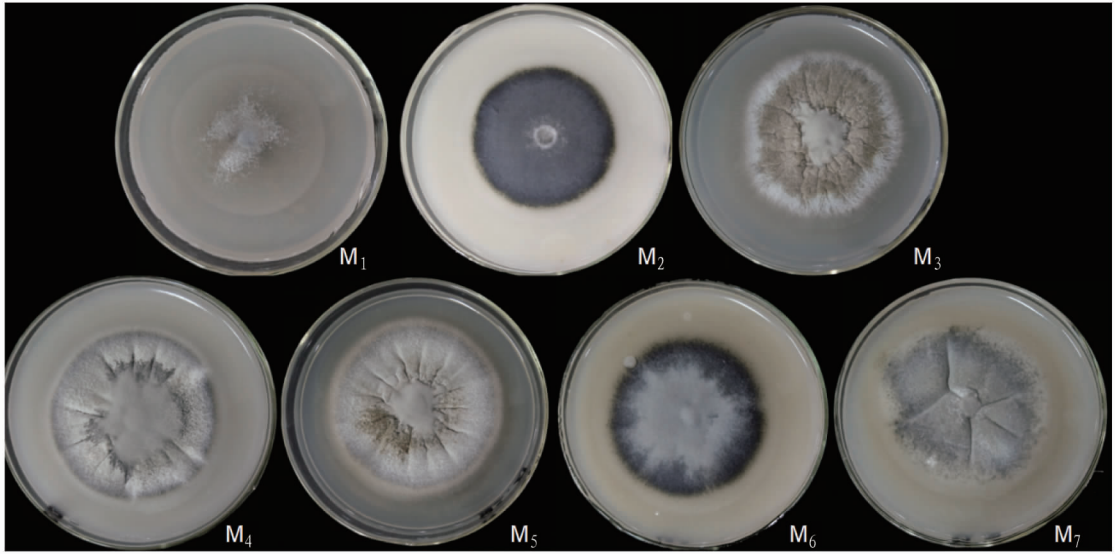


图1 稻瘟菌 B31-2 在 7 种培养基上生长 7 d 的菌落形态

Fig. 1 The colonial morphology of *Magnaporthe oryzae* B31-2 on the 7 kinds of medium for 7 days

2.2 不同菌株在不同培养基上的生长量变化 由图2和3可知,在不同培养基上,不同菌株的生长曲线均呈快速线性增长。由图4、5可知,在不同培养基上,同一种菌株的生长速率不一致。不同种菌株在同一种培养基上生长速率也不一致。菌株 B6-5 在 M₁~M₇ 7 种培养基上生长 7 d 的直径分别为 3.92、4.49、4.74、4.84、4.90、4.86、5.04 cm。菌株 B31-2 在 7 种培养基上生长 7 d 的直径分别为 3.87、4.21、4.11、4.45、4.69、4.52、4.90 cm。

分别取培养 3、5、7 d 的原始数据减去平均数,得到同一菌株在不同培养基上培养不同时间的相对菌落直径,采用 F 检验^[15]的方法对其进行方差分析。结果表明,不同菌株在不同培养基中的生长量存在显著差异。差异显著性测验结果表明,培养 3 d 时,相同菌株在 7 种不同培养基上生长量不存在显著差异,培养 5 和 7 d 时,相同菌株在 7 种不同培养基上生长量存在显著差异。由于稻瘟病菌培养一般在 7 d 以上,在培养 7 d 时,不同菌株和不同培养基间具有显著差异,由此可知,鄂西南地区稻瘟病菌优势生理小种在 M₇ 培养基上稻瘟菌生长速率最大。

3 结论与讨论

该研究选取较为经济及广泛使用的 3 种培养基(米糠培养基、燕麦培养基以及马铃薯培养基)及 3 种成分按比例混合的组合培养基进行了试验,将鄂西南地区优势菌株 B31-2 及 B6-5 在 7 种培养基上培养 7 d 的菌落直径进行比较,结果发现,鄂西南地区稻瘟病菌优势生理小种在 7 种培养基上

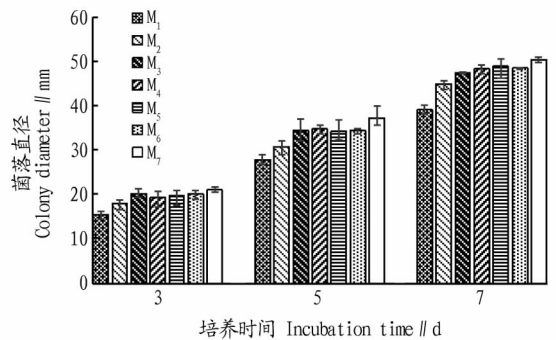


图2 菌株 B6-5 在 7 种培养基上的生长情况

Fig. 2 Growth rate of strain B6-5 on seven different mediums

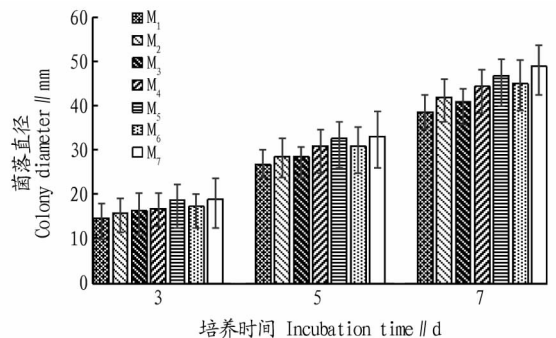


图3 菌株 B31-2 在 7 种培养基上的生长情况

Fig. 3 Growth rate of strain B31-2 on seven different mediums

生长速率最快的为 M₇ 培养基,其次是 M₄~M₆ 培养基,而在 M₁~M₃ 培养基上生长速率均比组合培养基慢。由此可知,

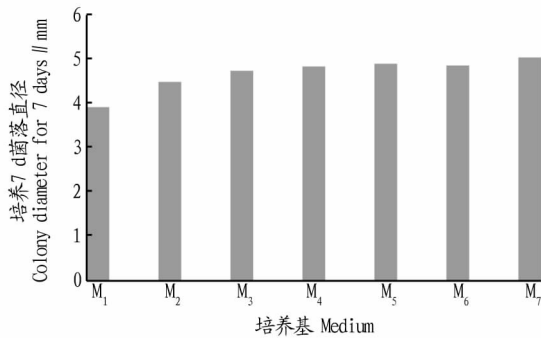


图4 B6-5在不同培养基上的生长速度

Fig. 4 The growth rate of strain B6-5 in different mediums

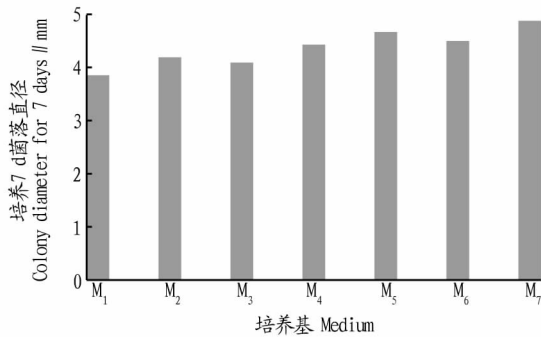


图5 B31-2在不同培养基上的生长速度

Fig. 5 The growth rate of strain B31-2 in different mediums

米糠、燕麦、马铃薯这3种成分的存在协同促进稻瘟病菌菌丝的生长。

与许鸣一^[10]的研究结果一致,菌株在马铃薯培养基上的生长速率大于米糠培养基和燕麦培养基,这可能是由于PDA中含氮量高,导致菌株生长速率较快。吴斯骏等^[16]使用江西省农业科学院的菌株群体ZB13进行试验,配制出了一种新型的稻瘟病菌培养产孢培养基(秸秆浸出液:PDA=1:1,V/V)。该研究选用的材料经济成本相对较高。后续可将秸秆浸出液这一成本经济、来源便捷的材料加入试验,观察含有4种成分的培养基对稻瘟病菌生长是否具有促进作用。

稻瘟病菌的生长速率与产孢能力不呈正相关。孙国昌等^[17]研究表明,米糠培养基的产孢量弱于玉米粉稻秆琼脂培养基,与其不一致的是,兰波等^[12]研究表明,稻瘟病菌在

米糠培养基上的产孢量最大。该差异可能与使用的供试菌株不同有关。该研究选用的菌株为2012年从鄂西南地区感病稻秆上分离得到的野生菌株,与前人进行试验的菌株有差别,因此,选取鄂西南地区优势菌株对M₇培养基进行产孢量的分析很有必要。

为了进一步对M₇培养基进行优化,主要从以下3个方面进行改进和完善:加大供试菌株数目,并选取不同年间的优势菌株进行试验;进行正交试验,得到4种成分的最佳配比;进行产孢试验并做活体接种观察其孢子致病性,在最适生长培养基的基础上筛选最优产孢培养基。

参考文献

- [1] ZHAO H J, WANG X Y, JIA Y L, et al. The rice blast resistance gene *Ptr* encodes an atypical protein required for broad-spectrum disease resistance [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2039.
- [2] 吴双清, 王林, 卿明凤. 水稻区试品种抗稻瘟病鉴定结果分析[J]. *中国稻米*, 2011, 17(4): 53-55.
- [3] 姚燕. 湖北省建始县水稻稻瘟病的成因及防治[J]. *北京农业*, 2015(3): 107.
- [4] 李求文, 杨隆维, 吴双清, 等. 武陵山区水稻抗稻瘟病品种的选育与利用[J]. *种子*, 2008, 27(3): 95-97.
- [5] 伍尚忠, 朱小源, 杨祁云, 等. 应用分子标记技术鉴定稻瘟病菌菌谱与寄主遗传背景的亲缘关系[J]. *中国农业科学*, 1999, 32(6): 56-62.
- [6] 田珂, 杨武, 李泌, 等. 鄂西南地区2012-2014年稻瘟病菌致病性变化分析[J]. *华中农业大学学报*, 2017, 36(5): 10-14.
- [7] 郭丽颖, 赵宏伟, 王敬国, 等. 黑龙江省稻瘟病菌生理小种鉴定和主栽水稻品种抗病性及遗传多样性分析[J]. *核农学报*, 2015, 29(8): 1444-1454.
- [8] 李亚, 刘二明, 戴良英, 等. 湖南稻瘟病菌群体遗传多样性与病菌致病型的关系[J]. *中国水稻科学*, 2007, 21(3): 304-308.
- [9] 姜于兰, 谭萍, 向红琼. 贵州省稻瘟病菌遗传谱系与生理小种关系[J]. *湖北农业科学*, 2011, 50(12): 2438-2441.
- [10] 许鸣一. 稻瘟病菌四种生理小种的形态和生长特性研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2011.
- [11] 龙子文, 周杰, 王春台, 等. 鄂西地区稻瘟病菌生理小种文库的构建及初步鉴定[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(24): 12065-12067.
- [12] 兰波, 李湘民, 杨迎青, 等. 稻瘟病菌产孢技术研究[J]. *江西农业学报*, 2012, 24(2): 74-76.
- [13] 霍秀娟, 李朝生, 韩美丽, 等. 灰梨孢菌产孢培养基筛选[J]. *南方农业学报*, 2012, 43(5): 605-608.
- [14] 张亚玲, 靳学慧. 不同稻瘟病菌菌株在PDA培养基上生长差异分析[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(10): 295-298.
- [15] 王宝华, 郑武, 鲁国东, 等. 稻瘟菌产孢培养基的筛选[J]. *福建农业科技*, 2000(2): 1-2.
- [16] 吴斯骏, 孙强, 陈洪凡, 等. 一种稻瘟病菌培养产孢培养基的配制与效比分析[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(18): 118-120.
- [17] 孙国昌, 申宗坦, 孙漱欣. 稻瘟病菌产孢条件的研究[J]. *浙江农业大学学报*, 1990, 16(1): 51-54.

(上接第122页)

墅、乡村鲜花别墅、乡村花田别墅、乡村轿车小别墅、乡村草别墅等新奇的民宿形式不断产生,吸引着来自各地的游客。

5 结语

目前,景观农业的发展处于飞速发展的阶段,在休闲乡村旅游中保护景观多样性成为当代人的共识。景观农业将农业生产与自然生态系统有机的结合,成为休闲乡村旅游中重要的观赏载体,为农业生产及休闲观光提供了稳定的生态环境,为乡村经济发展及农业可持续发展找到一条较为理想的途径。

参考文献

- [1] DING Y C. Analysis on current situation and development prospect of rural

- tourism in China [J]. *Journal of landscape research*, 2009, 1(2): 65-69, 73.
- [2] 李世鹏. 休闲农业和休闲农业开发:以日照为例[D]. 曲阜:曲阜师范大学, 2010.
- [3] 赵航. 休闲农业发展的理论与实践[D]. 福州:福建师范大学, 2012.
- [4] 张胜利. 中国休闲农业发展现状与对策研究[D]. 长沙:湖南农业大学, 2014.
- [5] 孔四新, 李海奎, 崔建平, 等. 我国景观生态学与景观农业研究现状及对策[J]. *现代农业科技*, 2016(16): 131-133, 135.
- [6] 赵羿, 郭旭东. 景观农业研究的兴起及其实际意义[J]. *生态学杂志*, 2000, 19(4): 67-71.
- [7] 王云, 张凯旋. 农业与景观一体化研究[J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 2006, 24(6): 562-566.
- [8] 张一帆, 王忠义, 李勋, 等. 北京景观农业现状及对策建议[J]. *北京农学院学报*, 2011, 26(4): 63-65.
- [9] 仇恒佳, 卞新民, 刘红霞. 循环农业中景观生态格局分析与建设[J]. *中国农业资源与区划*, 2005, 26(1): 15-19.