

武夷菌素对玉米纹枯病菌 *Rhizoctonia solani* 生长发育的影响^①

余 洋, 丁俊杰, 陆慧慧, 毕朝位, 谭万忠

西南大学 植物保护学院, 重庆 400715

摘要: 玉米纹枯病近年来已成为我国很多玉米主产区最重要的病害, 而武夷菌素(wuyiencin)是来源于不吸水链霉 *Streptomyces ahygroscopicus* var. *wuyiensis* 的一种微生物源类杀菌剂. 本研究测试了武夷菌素对玉米纹枯病菌生长发育的影响, 结果表明在含有武夷菌素的 PDA 培养基上, 玉米纹枯病菌生长缓慢, 菌丝分支致密且部分菌丝尖端出现原生质体渗透; 菌丝致病力下降. 随着武夷菌素质量浓度的增高, 菌丝受抑制程度加重, 在培养后期, 菌株形成的菌核数量和质量均显著下降. 当武夷菌素质量浓度为 50 mg/L 时, 玉米纹枯病菌菌落直径减少 75% 以上, 菌丝致病力降低达 99%, 形成的菌核数量和质量分别降低 67% 和 61%. 武夷菌素可显著抑制玉米纹枯病菌的生长发育, 在玉米纹枯病的控制中具有重要的应用潜力. 武夷菌素对田间玉米纹枯病的有效防治有待进一步研究.

关 键 词: 武夷菌素; 玉米纹枯病菌; 菌丝生长; 菌核形成; 病害控制

中图分类号: S435.131

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2016)01-0009-05

玉米纹枯病(sheath blight of maize)是我国和全世界各玉米产区普遍发生的一种土传性病害, 是一种主要由立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* Kühn 引起的真菌性病害^[1-3]. 近年来, 随着紧促型玉米品种的大面积推广, 耕作方式(如施肥量的增加、种植密度增大)和气候条件的变化, 玉米纹枯病菌的危害日益加重, 成为我国很多玉米产区的第一大病害和制约我国玉米持续增产的一种重要生物灾害^[4]. 由于缺乏抗性较好的玉米品种, 多年来主要依靠化学药剂控制其危害, 生产中应用较普遍的有井冈霉素、粉锈宁、多菌灵、托布津、退菌特、拌种双等药剂, 其中效果最好、应用最为广泛的为井冈霉素^[5-8]. 由于长期使用单一化学药剂, 病原菌极易产生抗药性, 使得其防效下降或用药量逐年增大, 给病害控制带来很大困难. 生物防治由于具有环境友好等特点也被用于玉米纹枯病的防治, 目前已经研究发现多种生防菌对玉米纹枯病菌具有一定的抑菌作用, 如木霉^[9]、芽孢杆菌^[10-11]等, 但由于它们自身的局限性及农田环境的复杂性, 到目前为止这些生防菌在生产中尚未被实际推广应用. 因此, 试验开发高效低毒的新型生物源药剂防治玉米纹枯病将具有重要的应用价值.

武夷菌素(wuyiencin)是从不吸水链霉素菌武夷变种 *Streptomyces ahygroscopicus* var. *wuyiensis* 发酵液中分离的活性成分, 主要成分武夷菌素 A 是具有胞苷骨架的新型核苷类抗生素^[12], 亦是一种低毒无公害的新型生物源抗菌化合物^[13]. 已有的研究表明, 武夷菌素对油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*、番茄叶霉病菌 *Cladosporium fulvum*、灰霉病菌 *Botrytis cinerea*、黄瓜黑星病菌 *C. cucumerium*、草莓白

① 收稿日期: 2014-02-12

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(SWU112078, XDJK2013C150); 重庆市基础与前沿研究计划项目(CSTC2013jcyjA80011); 国家公益性行业专项基金(201103026).

作者简介: 余 洋(1984-), 男, 湖北随州人, 博士, 讲师, 主要从事分子植物病理学和生物防治研究.

通信作者: 谭万忠, 博士, 教授.

粉病菌 *Sphaerotheca macularis* 和茶树云纹叶枯病菌 *Colletotrichum camelliae* 等都有非常好的抑制效果^[14-18], 但对玉米纹枯病等重要粮食作物真菌病害控制作用方面的研究还未见报道. 本研究在实验室测定武夷菌素对玉米纹枯病菌生长发育的影响, 为进一步的田间试验和应用该药剂控制玉米纹枯病提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试的玉米纹枯病菌菌株 HC-1 采自西南大学实验农场合川基地玉米纹枯病病秆, 经组织分离纯化获得, 鉴定为立枯丝核菌并保存. 供试药剂为 1%武夷菌素水剂, 由中国农业科学院植物保护研究所监制, 潍坊万胜生物农药有限公司生产并提供.

1.2 实验方法

1) 武夷菌素抑制玉米纹枯病菌菌丝生长影响的试验: 采用含毒介质法, 将 1%武夷菌素水剂与马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基混合配对, 制成药剂终质量浓度分别为 1, 5, 10, 25, 50 mg/L 的 PDA 平板, 对照平板不加药剂. 将 PDA 培养基上培养 24 h 的纹枯病菌菌丝块($\varphi=6$ mm)分别接种至不同药剂质量浓度的 PDA 培养基平板上, 28 °C 培养, 分别于 12, 24 和 36 h 测量菌落直径, 并计算各质量浓度药剂对菌丝生长的抑制率, 每个处理重复 3 次.

2) 武夷菌素对玉米纹枯病菌菌丝形态影响的观察: 将培养 24 h 的玉米纹枯病菌菌丝块($\varphi=6$ mm)分别接种至武夷菌素质量浓度为 1, 5, 10, 25, 50 mg/L 的 PDA 平板中, 每个处理重复 3 次, 28 °C 培养 24 h, 显微观察各处理的菌丝形态, 并用 Cool SNAP Clolor 数码显微成像系统拍摄菌丝生长形态.

3) 武夷菌素对玉米纹枯病菌菌丝致病力影响的测试: 将玉米纹枯病菌菌丝块($\varphi=6$ mm)分别接种至武夷菌素质量浓度为 1, 5, 10, 25, 50 mg/L 的 PDA 平板中, 28 °C 培养 24 h, 用打孔器打取纹枯病菌菌丝块($\varphi=6$ mm), 接种于玉米植株的叶片上, 保温(28 °C), 保湿(75%), 诱导发病, 接种后 72 h 测量病斑的面积, 每个处理重复 3 次.

4) 武夷菌素对玉米纹枯病菌菌核形成影响的观察: 将培养 36 h 的玉米纹枯病菌菌丝块($\varphi=6$ mm)分别接种至武夷菌素质量浓度为 1, 5, 10, 25, 50 mg/L 的 PDA 平板($\varphi=9$ cm)中, 28 °C 培养 30 d, 每个处理重复 3 次, 观察并记录各处理下的菌核数量和鲜质量.

5) 武夷菌素对玉米纹枯病菌菌核致病力的影响试验: 将培养 36 h 的玉米纹枯病菌菌丝块($\varphi=6$ mm)分别接种至武夷菌素质量浓度为 1, 5, 10, 25, 50 mg/L 的 PDA 平板($\varphi=9$ cm)中, 28 °C 培养 30 d, 收集各质量浓度下产生的菌核, 接种至玉米叶片上, 保温(28 °C), 保湿(75%), 诱导发病, 每个质量浓度重复 3 次, 接种 72 h 后测量并记录病斑的面积.

6) 数据分析: 将各实验数据分别录入相应的数据文件, 用 DPS 7.05 数据分析软件^[18]进行相应的数据计算和统计分析.

2 结果与分析

2.1 武夷菌素对玉米纹枯病菌菌丝生长的影响

实验结果显示(表 1), 玉米纹枯病菌的菌丝在不含药剂的 PDA 培养基中生长较快, 在培养 36 h 后菌落直径即达到 7.1 cm. 在加入 1~50 mg/L 武夷菌素的 PDA 培养基上培养 12 h 后, 各质量浓度药剂处理下的菌落直径与对照相比均显著地减少($p<0.05$), 表明武夷菌素能抑制玉米纹枯病菌菌丝的生长, 其中 10 mg/L 的武夷菌素对菌丝生长的抑制率就达到了 56.13%, 且药剂质量浓度越高, 对菌丝生长的抑制作用也越强. 随着培养时间的延长, 武夷菌素对玉米纹枯病菌菌丝的生长仍表现出强烈的抑制作用.

2.2 武夷菌素对玉米纹枯病菌菌丝形态的影响

当在不含药剂的 PDA 培养基上培养时, 玉米纹枯病菌菌丝生长稀疏, 分支正常(图 1). 在培养基中加入 1~50 mg/L 武夷菌素后, 菌落边缘菌丝生长致密, 分支紧促, 部分菌丝尖端出现原生质体渗透的现象. 随着培养基中药剂质量浓度的增加, 病原菌的菌丝生长异常加重.

表 1 含不同质量浓度武夷菌素的 PDA 上玉米纹枯病菌菌落大小

质量浓度/ (mg · L ⁻¹)	12 h		24 h		36 h	
	菌落直径/ cm	抑菌率/ %	菌落直径/ cm	抑菌率/ %	菌落直径/ cm	抑菌率/ %
0	2.12±0.11 a		4.13±0.10 a		7.10±0.16 a	
1	1.78±0.02 b	16.04	3.45±0.03 b	16.46	6.28±0.21 b	11.55
5	1.27±0.09 c	40.09	2.62±0.14 c	36.56	4.43±0.15 c	37.61
10	0.93±0.02 d	56.13	2.13±0.02 d	48.43	3.68±0.02 d	48.17
25	0.57±0.03 e	73.11	1.40±0.09 e	66.1	2.60±0.13 e	63.38
50	0.42±0.04 e	80.19	0.95±0.05 f	80	1.77±0.04 f	75.07

注: 表 1 中数值为 3 次重复的平均值±标准误, 同一列中数值后字母相同表示差异不具有统计学意义($p<0.05$, LSD 检验).

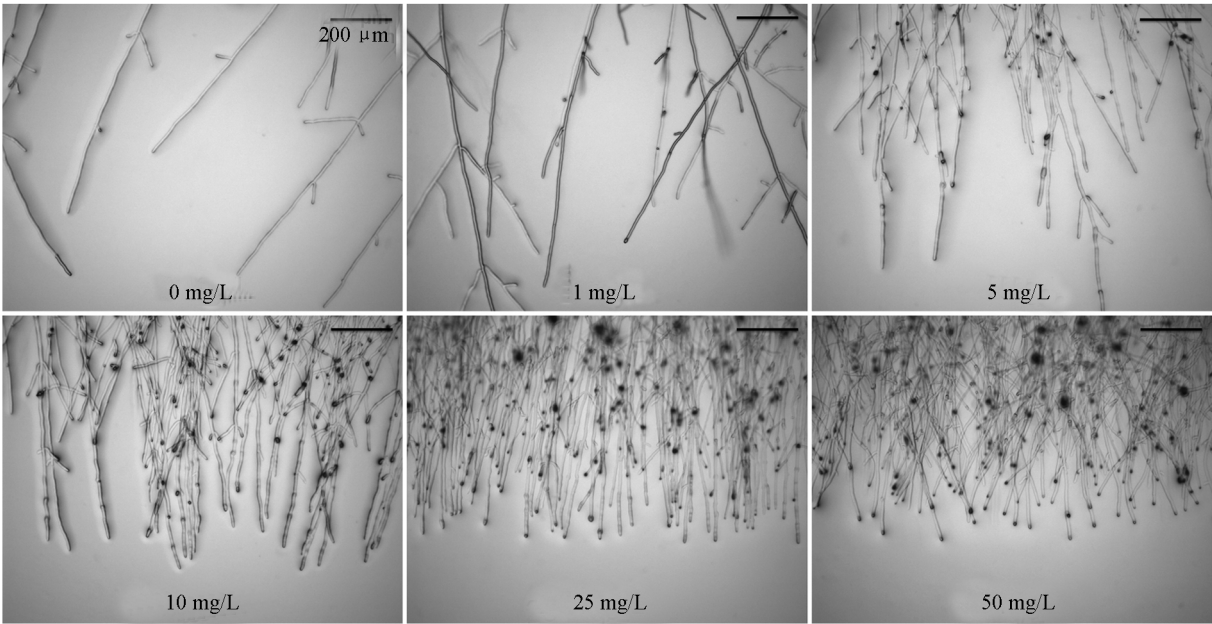


图 1 含不同质量浓度武夷菌素的 PDA 上玉米纹枯病菌菌丝形态(28 °C 培养 24 h)

2.3 武夷菌素对玉米纹枯病菌菌丝致病力的影响

将在含不同质量浓度武夷菌丝的 PDA 上培养的玉米纹枯病菌菌丝分别接种至玉米植株叶片上并诱导其发病, 结果表明(表 2), 在接种 72 h 后与未经药剂处理的菌丝相比, 畸变菌丝的致病力出现下降, 经 25 mg/L 的武夷菌素处理后的菌丝致病力即显著减弱($p<0.05$), 且武夷菌素质量浓度越高, 菌丝的致病力越弱, 在武夷菌素质量浓度为 50 mg/L 的培养基上产生的菌丝的致病力降低达 99.4%(表 2).

表 2 含不同质量浓度武夷菌素的 PDA 上玉米纹枯病菌菌丝致病力的大小

质量浓度/(mg · L ⁻¹)	0	1	5	10	25	50
病斑大小/cm ²	11.73±2.89 a	11.15±2.43 a	8.59±1.18 ab	3.77±1.51 ab	1.50±1.39 b	0.07±0.06 b

注: 表 2 中每个数值为 3 次重复的平均值±标准误, 同行中数值后字母相同表示差异不具有统计学意义($p<0.05$, LSD 检验).

2.4 武夷菌素对玉米纹枯病菌菌核形成和致病力的影响

如表 3 所示, 在 PDA 培养基中培养玉米纹枯病菌 30 d 后, 平均每个培养皿中能产生 13.33 个菌核, 总质量达到 0.21 g. 在 PDA 培养基中加入 1~50 mg/L 的武夷菌素后, 玉米纹枯病菌在生长后期仍能形成菌核, 但形成的菌核个数减少, 菌核总质量减轻; 当武夷菌素质量浓度为 50 mg/L 时, 形成的菌核数量减少

67.5%，菌核质量减少 61.7%，表明武夷菌素能抑制玉米纹枯病菌菌核的形成. 为测定武夷菌丝对玉米纹枯病菌菌核致病力的影响，将菌核接种至玉米叶片上并诱导发病，结果表明各质量浓度处理下形成的菌核均具有致病性，且致病力与未经药剂处理的菌核无差异.

表 3 含不同质量浓度武夷菌素的 PDA 上玉米纹枯病菌菌核形质量(28 ℃ 培养 30 d)

质量浓度/ (mg · L ⁻¹)	菌核个数/ (个 · 皿 ⁻¹)	菌核质量/ (g · 皿 ⁻¹)	质量浓度/ (mg · L ⁻¹)	菌核个数/ (个 · 皿 ⁻¹)	菌核质量/ (g · 皿 ⁻¹)
0	13.33±2.73a	0.21±0.02a	10	9.67±1.67ab	0.11±0.03bc
1	11.33±0.88a	0.17±0.04ab	25	5.33±1.20bc	0.05±0.01c
5	12.00±1.15a	0.08±0.01c	50	4.33±0.88c	0.08±0.03c

注：表 3 中每个数值为 3 次重复的平均值±标准误，同列中数值后字母相同表示差异不具有统计学意义($p<0.05$, LSD 检验).

3 讨 论

本研究结果表明，武夷菌素能抑制玉米纹枯病菌的生长发育，其可以使病菌生长速度减慢，菌丝发育畸形，且畸形菌丝的致病力显著下降，为进一步利用该药剂在田间防治玉米纹枯病提供了科学依据，但是对药剂的作用机理还不清楚. 孙延忠等^[19]研究发现武夷菌素能抑制番茄灰霉病菌菌丝蛋白质的合成，武夷菌素还能破坏茶树叶枯病菌菌丝细胞膜的通透性和结构，进而抑制菌丝的生长^[15]. 本研究也发现经高质量浓度的武夷菌素处理后，玉米纹枯病菌菌丝分支致密，且菌丝尖端出现原生质体渗透，推测其作用机理与之前研究一致，有待于进一步研究.

已有的研究表明武夷菌素对多种植物真菌病害均有很好的防治效果，其不仅可以抑制病原菌菌丝的生长和致病力，还可以使茶树云纹叶枯病菌 *Colletotrichum camelliae* 的产孢量和分生孢子萌发率显著性下降^[15]. 菌核不仅是玉米纹枯病菌抵抗不良环境的重要组织，也是玉米纹枯病的重要初侵染来源，在病害循环过程中起着重要的作用^[20]. 本研究发现武夷菌素能抑制玉米纹枯病菌菌核的形成，经高质量浓度的武夷菌素处理后病原菌产生的菌核数量和质量均出现显著下降，而菌核形成受到抑制可能会使得玉米纹枯病病害的初侵染来源减少，继而来年田间玉米纹枯病的发病情况减轻.

到目前为止，生产上主要使用井冈霉素等药剂防治玉米纹枯病，但长期使用单一的农药会带来抗药性问题^[21]. 武夷菌素是一种无污染无残留的生物源药剂，本研究结果表明其对纹枯病菌具有良好的抑制作用，若应用于田间对玉米纹枯病可能具有很好的控病效果，将来如果与井冈霉素交替应用，可克服纹枯病病菌的抗药性问题. 另外，水稻、小麦等禾本科重要作物的纹枯病与玉米纹枯病的病原菌都属于同一种病原菌，因此武夷菌素对所有这类病害都可能具有很好的控制作用. 但是，武夷菌素在田间作物上对纹枯病的控病效果还需要进行田间药效试验验证.

参考文献：

[1] PASCUAL C B, RAYMUNDO A D, HYAKUMACHI M. Efficacy of Hypovirulent Binucleate *Rhizoctonia* sp. to Control Banded Leaf and Sheath Blight in Corn [J]. Journal of General Plant Pathology, 2000, 66(1): 95—102.

[2] LL R H, WU B C, YAN S Q. Aetiology of *Rhizoctonia* in Sheath Blight of Maize in Sichuan [J]. Plant Pathology, 1998, 47(1): 16—21.

[3] SINGH A, SHAHI J P. Banded Leaf and Sheath Blight: an Emerging Disease of Maize (*Zea mays* L.) [J]. Maydica, 2012, 57(3): 215—219.

[4] 夏海波, 伍恩宇, 于金凤. 黄淮海地区夏玉米纹枯病菌的融合群鉴定 [J]. 菌物学报, 2008, 27(3): 360—367.

[5] 周文亮, 程伟东, 许鸿源, 等. 玉米纹枯病的研究现状及问题 [J]. 中国农学通报, 2005, 21(6): 331—336.

[6] LI J, XIA H B, YU J F. The Anastomosis Groups of the Corn Sheath Blight Pathogen *Rhizoctonia* spp. in Northeastern China [J]. Mycosystema, 2012, 30(3): 392—399.

[7] RANI D V, REDDY N P, DEVI U G. Management of Maize Banded Leaf and Sheath Blight with Fungicides and Biocontrol Agents [J]. Annals of Biological Research, 2013, 4(7): 179—184.

[8] 唐海涛, 荣延昭, 杨俊品. 玉米纹枯病研究进展 [J]. 植物保护学报, 2005, 32(4): 353—356.

[9] 张广志, 文成敬. 木霉对玉米纹枯病的生物防治 [J]. 湖北农学院报, 1997, 17(1): 15—19.

[10] 邱小燕, 张 敏, 胡 晓. 枯草芽孢杆菌的定殖能力及对玉米纹枯病的防治效果 [J]. 四川农业大学学报(自然科学版), 2010, 28(4): 492—496.

[11] 朱红惠, 颜思齐. 玉米根系益菌的研究 [J]. 西南农业大学学报, 1999, 21(2): 154—157.

[12] 韦日清, 林德忻, 陈志和. 农用抗生素 Bo-10 产生菌的鉴定 [J]. 微生物学, 1984, 24(4): 401—402.

[13] 曾洪梅, 石义萍. 防治作物真菌病害新农药—武夷菌素 [J]. 精细与专用化学品, 2003, 11(3): 14—16.

[14] 孙延忠, 曾洪梅, 石义萍, 等. 武夷菌素对番茄灰霉菌的抑制作用及对番茄抗病性相关酶活性的影响 [J]. 植物保护, 2004, 30(6): 45—48.

[15] 李 新, 王志坤, 谭万忠, 等. 武夷菌素对茶树叶枯病菌(*Colletotrichum camelliae*)生长发育的影响 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2008, 33(3): 42—47.

[16] 吴宁静, 鲁建华, 王常平, 等. 武夷菌素防治番茄叶霉病效果初探 [J]. 作物研究, 2011, 25(6): 589—590.

[17] 武 哲, 孙 蕾, 刘彦彦, 等. 2%武夷菌素水剂对草莓白粉病的毒力测定及田间防效 [J]. 植物保护, 2013, 39(4): 175—178.

[18] 谭万忠, 李 培, 张克诚, 等. 重庆地区茶树病害种类及武夷菌素对茶病的田间控制效果 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2008, 30(4): 123—127.

[19] 孙延忠, 曾洪梅, 石义萍, 等. 武夷菌素对番茄灰霉菌(*Botrytis cinerea*)的作用方式 [J]. 植物病理学报, 2003, 33(5): 434—438.

[20] 徐家兰, 周保亚, 王宗明. 玉米纹枯病侵染来源与侵染途径的初步研究 [J]. 江苏农业科学, 1995(1): 40.

[21] 胡秀荣. 水稻纹枯病菌对井冈霉素的抗性监测及其风险评估 [D]. 福州: 福建农林大学, 2006.

Effect of Wuyiencin on the Growth and Development of Corn Sheath Blight (*Rhizoctonia solani*)

YU Yang, DING Jun-jie, LU Hui-hui,
BI Chao-wei, TAN Wan-zhong

School of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Corn sheath blight (*Rhizoctonia solani*) has been the most important disease on maize crops in many major corn-grown regions of China and wuyiencin is an antibiotic fungicide derived from *Streptomyces ahngroscopicus* var. wuyiensis. In the present study, the effect of wuyiencin on the growth and development of *Rhizoctonia solani* was examined in the laboratory. On PDA plate with wuyiencin, the colony growth of the pathogen was significantly slower than that treated with no wuyiencin; the branches of mycelia were markedly densified and the cytoplasm excreted out from the hyphal cells. The pathogenicity of hyphae was weakened. The inhibition effect of wuyiencin became more significant as its concentration increased. Both the number and the fresh weight of sclerotia were also significantly reduced at the last stage of growth. At the concentration of 50 mg/L, the colony size of the fungus was reduced by more than 75% and the infectivity of the mycelia was lowered by 99%; the number and weight of sclerotia were decreased, respectively, by 67% and 61%. These results indicated that wuyiencin can suppress the growth and development of *R. solani* and thus it would be potentially useful in controlling sheath blight of maize. Further assays on the efficiency of disease control on field maize crop are to be conducted.

Key words: wuyiencin; *Rhizoctonia solani*; mycelial growth; sclerotial formation; sheath blight control

责任编辑 夏 娟

