

研究报告

菌核寄生菌 *Talaromyces flavus* 的生物学特性及寄生菌核规律初探

李国庆 胡圣远 王道本

(华中农业大学植保系, 武汉 430070)

摘要 本文对核盘菌核寄生菌 *Talaromyces flavus* 的基本生物学特性及影响其寄生菌核的生态因子进行了初步研究。结果表明: *T. flavus* 在我国南北方菌核病发生区土壤中普遍存在。其菌丝在 3—35℃ 及 pH 值 2—10 范围内均能生长及产孢, 最适生长温度为 30℃, 最适生长 pH 值为 4。对峙培养结果表明 *T. flavus* 对核盘菌的抗生作用微弱, 对菌丝和菌核均有很强的寄生致病作用。除核盘菌外它还能寄生三叶草核盘菌、小核盘菌及莴苣上的一种待鉴定的产菌核真菌。 *T. flavus* 寄生菌核的最适温度为 25—30℃, 土壤类型也影响到其寄生致病菌核的效果。

关键词 *Talaromyces flavus*, 核盘菌, 重寄生

核盘菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*) 引起的菌核病是我国油菜、向日葵、大豆等油料作物及莴苣、十字花科蔬菜上的重要病害。这种病菌形成能够顽固存活于土壤的菌核结构。当条件(温、湿)适宜时菌核萌发产生子囊盘, 散发的子囊孢子由气流传播构成初侵染源。这种流行特点给菌核病的防治带来了极大的困难。对菌核存活的生态研究表明, 土壤中的生物因子是影响菌核存活的主要因子^[1]。因此, 利用某些生物因子防治菌核病值得深入研究。

已有的报道表明, 盾壳霉 (*Coniothyrium minitans*)、木霉 (*Trichoderma* spp.)、粘帚霉 (*Gliocladium* spp.) 及 *Talaromyces flavus* 等是具有—定应用潜力的菌核寄生菌^[23]。D. L. McLaren 等^[4,5]表明 *T. flavus* 对向日葵菌核病具有显著的防治效果。迄今, 尚未见对 *T. flavus* 的基本生物学特性及寄生菌核生态学特性深入研究的报道。鉴此, 作者在这一方面做了一些初步工作, 结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 *Talaromyces flavus* 的分离和鉴定

土样取自东北三省、河南、湖北及江西等

地的油菜田、大豆田及菜园(5—10cm 土层)。采用菌核诱捕法^[3]及稀释平板法分离并纯化同腐烂菌核相关的真菌。分离培养基为 PDA。按 K. H. Domsch 和 W. Gams^[6]的方法进行鉴定。选其中的 *T. flavus* 作为下面内容的材料。

1.2 温度对 *T. flavus* 菌丝生长及产孢的影响

用无菌水配制 *T. flavus* 分生孢子悬浮液 (10³/ml)。涂布于 PDA 平板上。25℃ 下培养 48h。挑取含单个菌落的琼脂块, 置于 PDA 平板中央 (含 20ml PDA)。分别放置 3、10、20、25、30、35 及 40℃ 的恒温箱中。观察菌落的扩展及孢子形成。重复 4 次。

1.3 pH 值对 *T. flavus* 菌丝生长及产孢的影响

用 1mol/L HCl 和 1mol/L NaOH 将 PDA 的 pH 值调至 2—12, 制成不同 pH 值的平板 (20ml/皿)。将单菌落琼脂块接种于平板中央。25℃ 下培养, 观察菌落的扩展及孢子形成。重复 4 次。

1.4 *T. flavus* 同核盘菌及近缘种的相互作用

国家自然科学基金资助项目

1994-02-05 收稿

采用对峙培养法。先将 *T. flavus* 单菌落琼脂块接种到 PDA 平板的一边, 培养 3—7d (25℃)。然后将核盘菌菌丝块置于 PDA 平板的另一边 (相距 5cm)。25℃下培养。观察两菌落之间的相互作用及对菌核的影响。仿此方法测定 *T. flavus* 对三叶草核盘菌、小核盘菌及莴苣上的一类新型产菌核病原真菌^[7]的作用。

1.5 温度对 *T. flavus* 寄生菌核的影响

核盘菌菌核用灭菌胡萝卜片培养。*T. flavus* 孢子用麦粒培养, 并在室温下风干, 研磨成粉。土壤取自本校农场, 风干后过 20 目筛去粗渣, 灭菌备用。将孢子粉溶于无菌水中, 过滤得孢子液 ($1.7 \times 10^7/\text{ml}$)。取大小一致 ($0.3 \times 0.5\text{cm}$) 的菌核, 经 0.1% 升汞消毒后浸至孢子液中, 30min 后取出, 埋于灭菌土中, 每处理接 30 粒。分别置于 20、25 和 30℃ 下, 土壤的相对湿度为 50—60%。重复 4 次。

1.6 土壤类型对 *T. flavus* 寄生菌核的影响

供试土壤有黄棕壤 (死黄土, 取自本校农场)、潮土 (取自云梦县城郊) 和水洗过的砂。

土壤处理及接种同 1.5 项。调节土壤湿度至 RH 为 50—60%。置于 30℃, 重复 4 次。

2 结果和分析

2.1 *T. flavus* 的形态特征及分布

T. flavus 在 30℃ 下有时只产生闭囊壳, 淡色小斑点 (图 1-A)。在 25℃ 下, 菌落初期无色, 逐渐变成黄色, 气生菌丝不发达, 菌落表面着生许多黄色小点及青绿色斑块 (图 1-B, C)。取绿色斑块部分, 可见到扫帚状分生孢子梗 (图 1-D) 及链状排列的分生孢子 (图 1-E)。取幼嫩的黄色小点压片进行显微观察, 发现大量球形子囊, 内含 8 个子囊孢子 (棉兰染色) (图 1-F)。该菌的各种结构的大小及形态 (表 1) 与文献 [6] 一致。该种真菌在我国南方和北方各省的土样中都可分离到 (表 2), 说明其在我国的分布比较广泛。从吉林德惠县城郊菜园土中分离筛选到一株, 代号为 D-5-1, 供本文的其它项研究用。

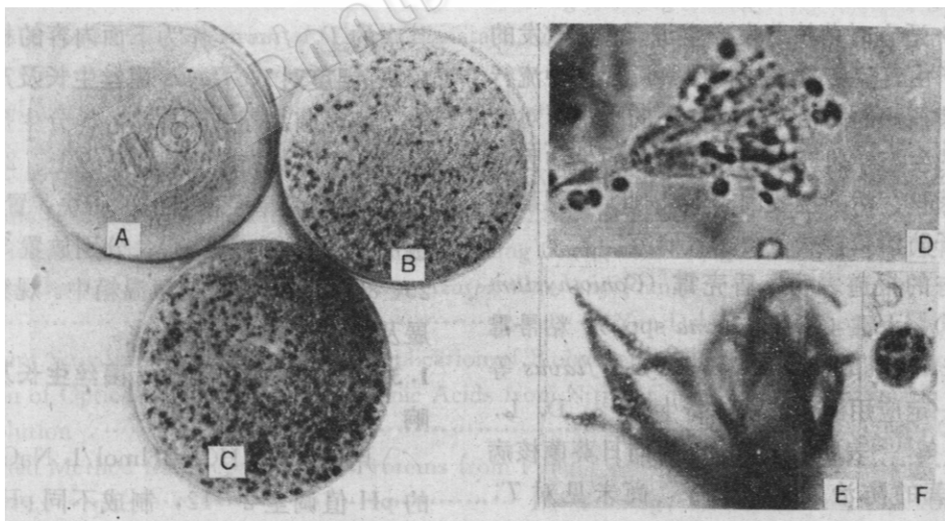


图 1 *T. flavus* 的培养性状及显微特征

- A. 30℃ 时只产生闭囊壳, 淡色小斑点
- B, C. 30℃ 和 25℃ 产生闭囊壳及分生孢子, 深绿色斑块
- D. 分生孢子梗
- E. 链状排列的分生孢子
- F. 球形子囊, 内含子囊孢子 (棉兰染色)

表 1 *T. flavus* 几种结构的形状及大小

结 构	形 状	大 小 (μm)
闭 囊 壳	圆 球 形	200—500
子 囊	圆 球 形	6.9—10
子囊孢子	椭圆球形	3—3.5×4—4.5
分生孢子	椭圆球形	2—3×3—3.5

表 2 *T. flavus* 在我国的分布调查

采样地点	采样数 (个)	<i>T. flavus</i> 出现样数 (个)	频率 (%)
黑龙江	10	1	10.0
吉林	3	1	33.3
辽宁	4	1	25.0
河南	10	3	30.0
湖北	39	8	20.5
江西	12	4	33.3

2.2 温度对 *T. flavus* 菌丝生长及产孢的影响

从图 2 看出 *T. flavus* 菌株 D-5-1 在 3—35℃ 下均能生长, 菌丝在 30℃ 扩展最快, 菌落日扩展 0.4—0.5cm。10℃ 下菌丝虽能生长, 但极难形成孢子; 在 20—30℃ 下菌落表面都可同时产生两类孢子, 偶而只产生子囊孢子 (图 1-A), 35℃ 下菌落表面多为灰绿色分生孢子, 零星产生一些黄色小点即闭囊壳。说明温度不仅影响菌丝生长, 同时对有性繁殖和无性繁殖也产生影响。

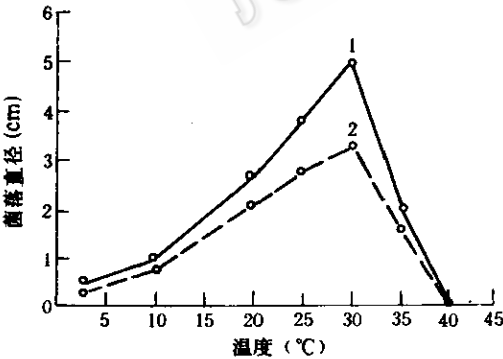


图 2 温度对菌株 D-5-1 菌丝生长的影响
1. 第 10 天 2. 第 6 天

2.3 pH 值对 *T. flavus* 菌丝生长及产孢的影响

图 3 所示, D-5-1 菌丝在 pH2—10 的基质上均能生长, 最适 pH 值为 4, 在此环境下, 菌落日扩展 0.6—0.7cm。从图中曲线走向可以看

出 D-5-1 喜酸性环境, 符合真菌的一般特性。在 pH4—7 时都可形成两类孢子, pH 值为 2 或 10 时, 不形成任何类型的孢子。因此, *T. flavus* 菌丝生长及孢子产生均受到基质酸碱度的影响。

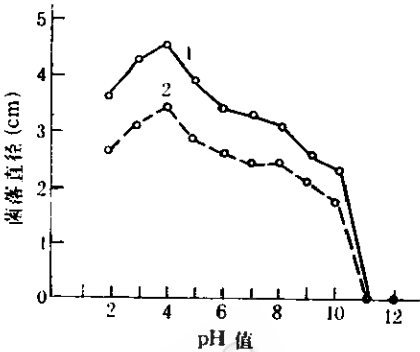


图 3 pH 对 D-5-1 菌丝生长的影响
1. 第 6 天 2. 第 4 天

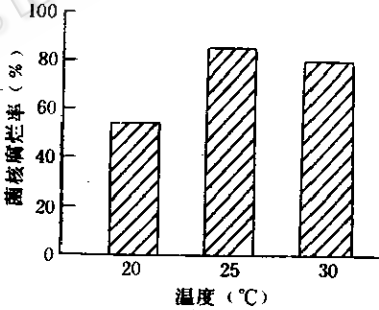


图 4 温度对 D-5-1 寄生菌核的影响

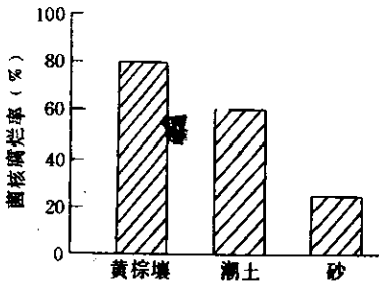


图 5 土壤类型对 D-5-1 寄生菌核的影响

2.4 菌株 D-5-1 同核盘菌及近缘种之间的相互作用

当 D-5-1 菌落生长 3d 后接种核盘菌时, 两

菌落之间没有拮抗带出现,但D-5-1培养7d后则可见其对核盘菌产生的抑制作用,显微观察表明,部分核盘菌的菌丝顶端原生质体凝聚,有的外渗并堆集于菌丝旁。随培养时间的延长,两菌落接触,取接触区的菌丝块用显微镜观察,可见核盘菌菌丝被缠绕及溃解。最后整个平板皆变成黄色,很显然 *T. flavus* 能在核盘菌菌落上定殖。因核盘菌菌丝生长远比 *T. flavus* 快。因此,核盘菌被占领之前可产生菌核。但都被 *T. flavus* 寄生致腐。遭寄生的菌核表面形成大量的闭囊壳。上述结果说明 *T. flavus* 对核盘菌的抗生作用微弱,寄生作用较强。*T. flavus* 对其它几种病菌的作用和对核盘菌类似。

2.5 温度及土壤基质对 *T. flavus* 寄生致腐菌核的影响

从图4看出,D-5-1在20—30℃均能有效地寄生菌核,使其腐烂,腐烂菌核表面布满黄色的菌丝和闭囊壳。25—30℃时的菌核腐烂率显著 ($P \leq 0.05$) 高于20℃下的腐烂率。

图5所示,三种基质中,以黄棕壤中的菌核易被 *T. flavus* 寄生而致腐烂,25d的腐烂率达80%,其次是潮土,砂处理的菌核腐烂程度最低。因此,土壤类型对 *T. flavus* 寄生菌核的活性发挥有明显的影响。

3 讨论

已有的报道表明,*Talaromyces flavus* 对菌核病及黄萎病(由 *Verticillium dahliae* 引起)都具有明显的防治作用^[4,5,8]。我们的研究结果说明,这种真菌在我国南、北方菌核病发生区普遍存在,能有效地寄生菌核,造成菌核腐烂。因此,*T. flavus* 的防病应用潜力值得深入开发。

T. flavus 防治黄萎病的机制是它产生的抑菌物质^[9]。在对峙培养试验中发现它对核盘

菌有一定的抗生作用,但比较微弱。这同核盘菌的另一种寄生菌盾壳霉(*Coniothyrium minitans*)对核盘菌的作用相似^[10]。对防治菌核病来讲,该菌的抗生作用机制的利用尚有待研究。

T. flavus 的寄主除核盘菌、三叶草核盘菌和小核盘菌外,还发现了一种新寄主即莴苣上的一类不同于上述3种病原的产菌核真菌。

T. flavus 生长的温度范围和pH值范围均很广泛。因此,它能够在我国南、北方不同生态条件下生存和繁殖。这对我们利用其防治各种作物的菌核病极为有利。人工接种菌核的结果表明南方的黄棕壤适宜于其寄生致腐菌核。这对于利用其防治南方的油菜及蔬菜的菌核病更有意义。其应用技术是急待解决的课题。

参 考 文 献

- [1] 王道本译. 核盘菌论丛, 北京: 北京农业大学出版社, 1986, 71—80.
- [2] Adames PB. Ann Rev Phytopathology, 1990, 28: 59—72.
- [3] Adames PB, Ayers WA. Phytopathology, 1981, 71: 90—93.
- [4] McLaren DL, Huang HC, Rimer SR. Can J Bot, 1989, 67: 2199—2205.
- [5] McLaren DL. Phytopathology, 1983, 73: 822.
- [6] Domsch KH, Gams W. Compendium of soil fungi. Academic Press, 1980, 790—792.
- [7] 李国庆, 王道本, 仇啸云. 华中农业大学学报, 1995, 14 (3): (待发表).
- [8] Fravel DR, Kim KK, Davis JR. J Plant Pathology, 1983, 9: 80.
- [9] Fravel DL. Ann Rev Phytopathology, 1988, 26: 75—91.
- [10] Whipps JM. Mycological Research, 1992, 96 (11): 897—902.

PRELIMINARY STUDIES ON THE BIOLOGY AND PARASITISM OF THE MYCOPARASITE *TALAROMYCES FLAVUS* OF *SELEROTINIA SCLEROTIORUM*

Li Guoqing Hu Shengyuan Wang Daoben

(Huashong Agricultural University, Wuhan 430070)

Abstract In this paper, the biology of the mycoparasite *Talaromyces flavus* and the factors affecting its parasitic activity against the sclerotium of *Sclerotinia sclerotiorum* were preliminarily studied. The results showed that *T. flavus* exists both in the north and in the south of China where the sclerotinia diseases were present. *T. flavus* could grow under the temperatures from 3 to 35 °C, pH value from 2 to 10, 30 °C and pH4 were most suitable. The two factors also affected the propagation of this fungus. Dual cultures indicated that *T. flavus* could parasitize the hypha and the sclerotia of *S. sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, *S. minor* and a kind of sclerotium-producing fungus from lettuce, and weak inhibition to the hypha of the above-mentioned fungi were detected. In the autoclaved soil *T. flavus* parasitized and decayed more than 80% of the sclerotia of *S. sclerotiorum* under the temperatures 25—30 °C. The soil type affected significantly the parasitic activity of this parasite.

Key words *Talaromyces flavus*, *Sclerotinia* spp., Mycoparasitism