一种引致水稻稻叶褐条斑的病原鉴定初报

冯爱卿[1], 汪文娟[1,2], 曾列先[1], 陈 深[1,2], 杨健源[1], 苏 菁[1,2], 汪聪颖[1,2], 朱小源[1]
(1.广东省农科院植物保护研究所,广东 广州 510640;2.广东省植物保护新技术重点实验室,广东 广州 510640)

摘 要:对广东稻区近年来水稻生产上发生较为普遍的水稻稻叶褐条斑病进行了病原分离鉴定,根据柯赫氏法则,初步鉴定其致病病原菌为稻黑孢霉菌〔Nigrospora oryzae(Berk.et Br.)petch〕;其症状与水稻窄条斑病类似,主要见于水稻生长中后期,在叶面上形成黄褐至黑褐色的短细条状斑,严重时均可致全叶枯死,引起穗枯,谷粒结实差或不结实,造成水稻严重减产。对该病在广东主栽水稻上的发生症状、病原鉴别进行了详细描述,并对该病原菌在国内外不同寄主上发生、防治状况进行了综述。

关键词:水稻; 褐条斑; 黑孢霉菌; 病原鉴定
中图分类号:S435.11 **文献标识码**:A **文章编号**:1004-874X(2013)12-0078-02

The preliminary report of a fungus pathogen causing the rice brown streak leaf spot

FENG Ai-qing[1], WANG Wen-juan[1,2], ZENG Lie-xian[1], CHEN Shen[1,2], YANG Jian-yuan[1],
SU Jing[1,2], WANG Cong-ying[1,2], ZHU Xiao-yuan[1]
(1.The Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;
2.Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In this study, we performed the isolation and identification of the pathogen of rice brown streak leaf spot which occurs commonly in Guangdong cropping area in recent years. According to Koch's rule, we identified the causative pathogen which is 〔Nigrospora oryzae(Berk.et Br.) petch〕. Its symptoms similar to rice narrow spot disease, mainly observed in the late growing stage of rice, short thin strips spots were formed on the leaf surface from tan to dark brown. The severe disease could cause the withered of whole leaf and ear, as well as the poor seeds production, and then the yield of rice can be severe reduced. Here we made a description of the disease symptoms and the pathogen identification which occurred on the mainly planted rice cultivars in Guangdong. Further, we reviewed the occurrence and the control condition of the pathogens on different hosts at China and abroad.

Key words: rice; brown streak leaf spot; Nigrospora oryzae(Berk.et Br.) petch; Identification of the pathogen

近年来我国高产、优质、抗病水稻新品种(组合)不断涌现,主栽品种更新换代频率加快,地区性品种布局发生较大改变。寄主—病原—环境三者关系的变化,往往导致一些次要病害上升为主要病害。

在广东,稻瘟病、白叶枯病、胡麻斑病、纹枯病、稻曲病是目前水稻上主要的病害。但近几年调查发现,在水稻生长中后期有一种引致水稻稻叶褐条斑病的病害分布较广, 部分地区发生危害较严重。该病曾在 2010 年阳西种植的博优 998 上发生严重、导致水稻结实率严重下降、甚至不能抽穗。2012 年又相继在阳江、曲江、东莞、广州等地田间发生。部分品种如新黄占、曲科占、五优 308 上发生尤为明显,该病害对本地水稻生产已构成威胁。该病初期症状类似水稻窄条斑病(由稻尾孢菌侵染引起,Cercospora janseana Miyake)[1], 两者均可在叶面上形成短细条状斑,前者病斑黄褐至黑褐色为主,四周黄晕不明显;后者病斑红褐至紫褐色,中央灰褐,四周黄晕明显,严重时均可致全叶枯死,引起穗枯,谷粒结实差或不结实,造成水稻严重减产。因此,为了更好地控制该病害的发生,为对其大型流行监测及防治研究提供依据,笔者根据柯赫氏法则对其病原进行了鉴定研究,现将结果报道如下。

收稿日期:2013-04-13
基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-01-24);广东省现代农业产业技术体系建设专项(粤财教[2009]356 号)

作者简介:冯爱卿(1976-),女,助理研究员,E-mail: fengaq@gdppri.cn
通讯作者:朱小源(1965-),男,博士,研究员,E-mail:gzzhuxy@vip.tom.com

1 材料与方法

1.1 试验材料

稻叶褐条斑病病害标本分别采集于阳江、曲江、东莞、广州从化等水稻种植区。接种用的感病水稻品种新黄占、曲科占、五优 308 等由广东省农业科学院植物保护研究所水稻病害研究室收集。

1.2 试验方法

1.2.1 *田间症状观察及为害情况调查* 分别在 4 个病区水稻田中采集典型病害标本,用显微镜检查新鲜标本表面病菌生长情况,扫描保存病害标本图片;并观察记录各地病害发生的品种及为害程度、发生时期、水稻各部位受害症状、在田间的分布情况、受害植株的产量损失等。

1.2.2 *病原菌分离纯化及形态观察* 对新鲜采集的水稻叶片、叶鞘、病谷标本一方面用培养皿放于 25℃培养箱中保湿培养观察;另一方面采用组织分离法进行分离:在病健交界处切取约 4~5 mm 的小块病组织, 经过 70%乙醇浸 2~3 s 和 0.5%次氯酸钠浸渍 1.5~2.5 min 后,用灭菌水漂洗 3 次,每次漂洗 1 min, 然后将消毒好的小块病组织转移至含 PSA 培养基的平板上培养、纯化待用, 定期观察菌落形态, 用带有 JVC 彩色摄像机的显微镜进行观察和拍照, 记录孢子和菌丝的形态,测微尺测量孢子的大小,以鉴定其所属种[2]。

1.2.3 *病原菌致病性测定及重新分离* 将纯化好的病原

菌转接于消毒好的玉米上进行光照培养产孢，于感病品种的3~4叶期直接进行喷雾接种，接种孢子浓度为10×10倍显微镜下每视野20~30个孢子，每品种设两重复，以清水喷雾接种做对照，喷菌后24 h内密封于培养箱内进行保温、保湿、黑暗处理，之后置于温室，在25~26℃下保湿培植，定期观察分离病菌的致病性；再对发病植株进行病原菌分离纯化，观察病原菌菌丝与孢子形态、大小，确定是否是原分离菌。

2 结果与分析

2.1 田间症状及为害描述

对阳江、曲江、东莞、从化等地采集的病株进行了观察。该病主要发生于水稻生长中后期，在水稻穗期发生尤为严重，苗期暂未发现，不同品种发病程度差别明显。发病严重的植株在稻穗、叶鞘、颖壳均可见褐色病斑(症状见图1，封三)。病株症状：叶面上初期为红褐色小点，逐渐变为黄褐至黑褐色细条斑，黄晕不明显，后期在不同抗性品种上病斑有所不同，有的品种病斑受叶脉限制只纵向扩展，多个病斑可连成褐色长条斑；有的品种后期病斑可扩展成梭形、椭圆形或圆形，中央黑褐色，边缘黄晕明显，后期多个病斑连在一起成灰白色或浅褐色大斑，致病叶坏死。为害叶鞘，初为褐色小条斑，后期连成边缘不明显的褐色至灰白色的大斑。发病早的稻株，整个谷壳变黑褐色，不结实；抽穗后为害的植株一般只在颖壳上有黄褐色病斑。

2.2 病原菌分离、鉴定

田间新鲜病叶、叶鞘、稻穗表面未见明显的病征。病害组织保湿2~3 d，叶片、叶鞘可见菌丝，而稻穗上可长菌丝及大量的孢子，与分离的病菌相同。分离培养结果表明，在4个病区采集的不同部位的病害标本均分离到同一种病菌，分离率达100%。对病菌的培养形态、菌丝形态、孢子形态、大小测定表明，鉴定病菌与前人报道的稻黑孢霉〔Nigrospora oryzae(Berk.et Br.)petch〕[3-4]相似。其在PSA上的培养性状及菌丝、孢子形态（见图2，封三）。病菌在PSA培养基上25℃黑暗条件培养，菌丝生长速度较快，3~5 d可长满整个斜面，菌落质地疏松，初期菌丝白色绒毛状，呈放射状扩展，后由中央起渐变为墨绿色、灰黑色、黑色，最后菌落正面和反面均为黑色，表面平伏状，但病菌产孢较慢，约10 d才有小水珠状带粘性的分生孢子堆产生。病菌菌丝分隔明显，初为无色，后为黑色，分生孢子梗单生，直立，有时分枝，具隔膜，直径3~7 μm 。分生孢子顶生于一个无色透明的瓶状细胞上，扁球状、近球形，初呈黄褐色，后变黑色，单孢，光滑，直径10~18 μm。

2.3 病原菌回接试验

通过直接喷雾接种，在温度25~26℃、RH>90%时，分离的病原菌可致原感病品种及其它品种叶片发病，潜育期约10~13 d，15~18 d可明显见到类似于田间的症状。从接种的发病组织再次分离、纯化病原菌，得到相同的稻黑孢霉菌。从(图3，封三)可以看出，清水对照的各品种叶片不出现任何病斑，而接种品种叶片初期出现褐色小条斑，发病条件适宜病斑不断纵向扩展，严重的叶片上病斑数量多，几个病斑可连成长条斑，致病叶坏死。

结合以上各试验结果，初步确定引起广东地区水稻稻叶褐条斑症状的病原菌为稻黑孢霉菌〔Nigrospora oryzae(Berk.et Br.)petch〕属半知菌丝孢纲丝孢目暗色孢科黑孢霉属。

3 讨论

稻黑孢霉菌〔Nigrospora oryzae(Berk.et Br.)petch〕早在1957年Kiyose就在日本东京发现可侵染水稻引起叶斑病，随后陆陆续续有报道证明其可弱寄生于水稻，发生于衰老的稻叶和颖壳上，在世界各地均有分布，特别在热带地区发生普遍，可危害高粱、玉米、小麦[5-11]。经过大半个世纪的传播，稻黑孢霉菌的发生地区及寄主也在不断扩展。2006年Khodke等[12]在印度亚瓦特马尔证明稻黑孢菌可侵染菩提榕树的叶片和叶柄，形成边缘深褐色、中央灰白色圆形至不规则形的病斑。2011年Zheng等[13]在加拿大安大略省首次发现稻黑孢菌可侵染草地早熟禾，在叶片上形成椭圆形或圆形的叶斑，可致叶片坏死。2011年Zhang等[14]在中国安徽省首次发现稻黑孢菌侵染棉花，在棉花上形成不规则形的红褐至黑褐色叶斑。1989年梁力哲等[15]对中国8个省市的水稻种子寄生性真菌的检测中稻黑孢霉菌平均带菌率为3.9%，比禾谷镰刀菌、稻瘟菌还要高。1993年徐敬友等[16]从江苏13个县市采集的水稻叶尖枯病病叶中稻黑孢霉菌检出率为0.7%，虽不是叶尖枯病主要致病菌，但致病性试验证明其可引起稻叶产生小的、不规则形的褐色病斑。马炳田等[17]、台莲梅等[18]、袁自清等[19]分别在四川、黑龙江、新疆的水稻种子中检测到该菌，由此可见，该病原菌在中国亦分布较广。

尽管该病害分布较广，但是国内外有关其引起严重为害、症状、病原等详细报道的不多。只在1987年罗宽等[20-21]报道其在湖南醴陵县部分水稻品种上发生较严重，与本研究报道相同之外在于由稻黑孢霉菌引起水稻叶部病害，在秧田期暂未发现，穗期病情才明显上升，病害发生与水稻生育期及当时的气候有关，在病斑上见不到病菌病征。但不同的是，严宽等在湖南只观察到圆形病斑，且只提到为害叶片，而我们在广东不同地区不同水稻品种上还观察到窄条形、梭形病斑，可为害叶鞘、稻穗、稻谷，因此可以推断，广东发现的Nigrospora oryzae(Berk.et Br.)petch是属于较强的致病类型，应引起关注。

对于稻黑孢霉菌的防治国内外有少量报道。生物防治方面，2008年Sempere等[22]曾证明了草酸青霉能抑制稻黑孢霉生长，不但比其生长快，而且可穿透、破坏其生殖结构，使其畸形不能扩展、繁殖，但大田还没有试验验证及推广应用。药剂防治方面，1987年罗宽等[21]报道用40%稻瘟净乳油、40%富士1号乳油、40%克瘟散乳油、75%三环唑可湿性粉剂、50%甲基托布津可湿性粉剂、85%山苍子乳油、50 μg/g井冈霉素防治该菌均无明显效果。因此，加强该病害防治研究十分必要。

在对病害田间为害调查时，还发现不同的水稻品种对稻黑孢霉菌的抗性差异显著，我们对一些品种做了初步人工接种试验(数据未发表)，有些品种发病明显，有些品种则完全不发病，因些，该病害也可像稻瘟病等其它水稻病害一样，可以考虑通过筛选抗性品种，调整田间品种布局来加以控制。

（下转第85页）

一代虫高峰期及上月份的旬积温、旬日照等气象因素关系密切,符合条螟的发育特性,具有明显的生物学意义。所建立的预测模型自变量数量少,减少了传统测报的田间发育进度调查和室内饲养观察的工作量,可操作性强,能够提供准确的中、短期预测,对甘蔗生长中后期条螟发生为害盛期综合防治提供决策具有积极的指导意义。

影响害虫预测预报结果的因素有很多。条螟的发育除气候因子外,耕作制度变化、天敌变化及测报数据采集是否规范等将影响测报的准确性。本研究只考虑当代高峰期前两个月的气象因子及上一代的高峰期作为预测因子进行回归分析,如能综合考虑其他因子以及不断积累更多年份的数据将有利于进一步提高条螟测报的准确性。

参考文献:

[1] 李奇伟,陈子云,梁洪.现代甘蔗改良技术[M].广州:华南理工大学出版社,2000:249-253.

[2] 管楚雄,蔡连明,林明江,等.广东翁源蔗区甘蔗螟虫系统控制技术研究与应用[J].甘蔗糖业,2009(4):1-8.

[3] 谭裕模,卓宁,黎焕光,等.崇左蔗区螟虫为害造成产量和糖分损失及生防效果[J].甘蔗糖业,2011(4):18-25.

[4] 管楚雄,许汉亮,安玉兴,等.我国甘蔗螟虫系统控制技术的原理与实践[A].李奇伟,安玉兴.绿色植保·和谐生态——2010 全国甘蔗植保技术研讨会论文选编[C].南京:江苏科学技术出版社,2011:74-80.

[5] 许汉亮,林明江,管楚雄,等.性信息素与赤眼蜂对甘蔗条螟的协同控制[J].广东农业科学,2012,39 (9):72-74,79.

[6] 黎教良.条螟性诱剂应用于测报的诱蛾方法[J].甘蔗糖业,1984(9):43-44.

[7] 管楚雄.我国蔗螟性诱剂研究及其应用前景[J].甘蔗糖业,2001(6):8-12.

[8] 林明江,欧伟兴,陈火君,等.粤西蔗区甘蔗条螟成虫近年发生动态[J].广东农业科学,2007(7):69-70.

[9] 欧伟兴,林明江,陈立君,等.利用性诱剂监测甘蔗条螟发生趋势[J].广东农业科学,2011(15):60-61,75.

[10] 管楚雄,许汉亮,林明江,等.甘蔗条螟的预测预报及其综合防治技术研究[J].热带农业科学,2012,32(2):42-46,60.

[11] 黄广德,黄可立.顺德县甘蔗条螟发生量分析与预报[J].广东气象,1991(1)37-38.

[12] 黄光鹏. 越冬代甘蔗条螟成虫高峰期预报初探 [J]. 病虫测报,1992,12(3),63-64.

[13] 黄涛生.甘蔗条螟预测方法和防治技术的改进[J].植保技术与推广,2003(7):13-16.

[14] 唐启义.数理统计在植保试验研究中的应用[J].植保技术与推广,2001,21(12),40-42.

[15] 张孝羲,张跃进.农作物有害生物预测学[M].北京:中国农业出版社,2006:426-431.

(上接第 **79** 页)

虽然稻叶褐条斑病主要发生于水稻生长中后期,但对该病原菌致病性测定时采用 3~4 叶期的秧苗亦能发病,且可重新分离到原病原菌,由此可见,在温湿度适宜时,该病菌存在可侵染秧田期的潜在风险,且该病菌可通过种子带菌传播,应加强监测与防治。

参考文献:

[1] 吕佩珂,高振江,张宝棣,等.中国粮食作物、经济作物、药用植物病虫原色图鉴(上册)[M].呼和浩特:远方出版社,1999.

[2] 方中达.植病研究方法[M].北京:中国农业出版社,1998.

[3] 魏景超.水稻病害手册[M].北京:科学出版社,1957.

[4] 陆家云.病原植物真菌学[M].北京:中国农业出版社,2000.

[5] Blaszkowski J. The occurrence of Septoria nodorum Berk. and associated mycoflora in seeds of wheat cultivated in the Szczecin voivodeship[J]. Acta Mycol, 1994,29:43-52.

[6] Blaszkowski J. The influence of fungicides on the mycoflora of leaves of Triticum aestivum L.[J]. Acta Mycol, 1994,29:147-157.

[7] Blaszkowski J, Piech M. Comparison of seed-borne fungal communities of naked and husked oats and barley[J]. Phytopath. Pol, 2002,24:71-74.

[8] Domsch K H, Gams W, Anderson T. Compendium of soil fungi [M]. Acad. Press. London-New York-Toronto-Sydney-San Francisco,1980.

[9] Kirk P M, Cannon P F, David J C, et al. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi [M]. Ninth Edition. CAB International. 2001.

[10] Neergaard P. Seed pathology[M]. London: The Macmillan Press Ltd. 1977.

[11] Piech M, Blaszkowski J. The influence of the degree of reproduction on the mycoflora of winter XTriticosecale seeds[J]. Bull. Pol. Ac. Sci. Biol. Sci. 1993,41:393-399.

[12] Khodke S W, Sandhya K. A new leaf spot of Ficus religiosa by Nigrospora oryzae[J]. Indian Phytopathology, 2012,62(2):1132-1138.

[13] Zheng L, Shi F, Kelly D, et al. First Report of Leaf Spot of Kentucky Bluegrass (Poa pratensis) Caused by Nigrospora oryzae in Ontario[J]. Plant Disease, 2012,96(6):909.

[14] Zhang L X, Li S S, Tan G J, et al. First Report of Nigrospora oryzae causing leaf spot of cotton in china[J]. Plant Disease, 2012,96(9):1379.

[15] 梁力哲,Kaare Moller.中国水稻种子上常见寄生性真菌的检验识别[J].植物保护,1989,15(2):42-44.

[16] 徐敬友,王彰明,童蕴慧.水稻叶尖枯病病原种类研究[J].植物病理学报,1993,25(1):9-11.

[17] 马炳田,王玲霞,李仕贵,等.四川省杂交水稻种子寄藏真菌研究[J].种子,2008,27(1):1-5.

[18] 台莲梅,盖世武,辛惠普.黑龙江省垦区水稻种子病原真菌鉴定[J].黑龙江农业科学,2002,(2):5-7.

[19] 袁自清,程良.新疆水稻种子真菌区系的初步调查[J].八一农学院学报,1993,16(2):51-57.

[20] 罗宽,王国平,黄声仪.水稻圆斑病初步研究[J].植物病理学报,1986,16(4):225-226.

[21] 罗宽,王国平,黄声仪.水稻圆斑病研究[J].湖南农学院学报,1987(1):59-68.

[22] Sempere F, Santamarina M P. Suppression of Nigrospora oryzae (Berk. & Broome) Petch by an aggressive mycoparasite and competitor, Penicillium oxalicum Currie & Thom[J]. Int J Food Microbiol., 2008,122(1-2):35-43.