

光照、湿度和培养基对苾麻疫霉卵孢子产生量的影响^{*}

高智谋^{* *} 郑小波 陆家云

(南京农业大学农业部病虫监测与治理重点开放实验室, 南京 210095)

【摘要】 采用3因素随机区组设计研究了光照、湿度和培养基对苾麻疫霉(*Phytophthora boehmeriae*)卵孢子产生量的影响。结果表明,各因子对卵孢子产生量的影响效应大小次序为培养基>光照>湿度,其中培养基和光照两因子影响均在0.01水平上显著。在供试的4种常用培养基上,卵孢子产生量的大小次序为:SLA培养基(SLA)>利马豆培养基(LBA)>V₆汁培养基(V₆A)>澄清的V₆汁培养基(V₆B)。在设置的3种光照条件中,卵孢子产生量以连续黑暗处理最高,连续光照最低,光照与黑暗交替处理居中。3个试验因子间的所有互作对卵孢子产生量均有极显著的影响。在不同光照、湿度、培养基组合中,卵孢子产生量以低湿+连续黑暗+SLA组合最高,低湿+连续光照+V₆B组合最低。

关键词 苾麻疫霉 卵孢子形成 光照 湿度 培养基

Effects of illumination, moisture and medium on oospore production of *Phytophthora boehmeriae*. Gao Zhimou, Zheng Xiaobo and Lu Jiayun (*The Key Lab. of Monitoring and Management of Plant Diseases and Insects of Chinese Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095*). - *Chin. J. Appl. Ecol.*, 1998, 9(3): 286~ 290.

The effects of illumination, moisture and medium on the oospore production (OP) of *Phytophthora boehmeriae* were studied *in vitro* by three factors randomized block design. The results indicated that the order of the effects of the test factors was medium> illumination> moisture, and the effects of both medium and illumination were significant at 0.01 level. On the media tested, the number of formed oospore was decreased with the order of SLA medium (SLA)> lima bean agar medium (LBA)> V₆ juice medium (V₆A)> clarified V₆ juice medium (V₆B). Of the three illumination conditions designed, OP from the continuous darkness treatment was the highest, next was 12h illumination + 12h darkness, and the lowest was from the continuous illumination treatment. The interactive effects of the three factors on OP were all significant at 0.01 level. Among different combinations of illumination, moisture and medium, OP from low moisture+ continuous darkness+ SLA was the highest, and that from low moisture + continuous illumination+ V₆B was the lowest.

Key words *Phytophthora boehmeriae*, Oospore formation, Illumination, Moisture, Medium.

1 引言

苾麻疫霉(*Phytophthora boehmeriae*)是我国棉花、苾麻等植物疫病的主要病原菌,引起棉花烂铃、死苗,苾麻叶斑、茎腐,严重影响棉花、苾麻的产量、品质^[2,7]。关于光照条件及培养基营养成分对苾麻疫霉卵孢子形成的影响国内外鲜有报道^[3],且

有关湿度对苾麻疫霉卵孢子形成的影响及光照、湿度和培养基对苾麻疫霉卵孢子产生量的综合效应迄今未见报道。而且在苾麻疫霉的有性生殖和遗传学研究中,一些野生型菌株和人工诱变的突变株卵孢子产

* 高校博士点专项科技基金资助项目(940602)。

* * 安徽农业大学植保系在职博士。

1997-10-20 收稿,1998-03-26 接受。

生量少, 给研究带来困难, 有必要寻求适合卵孢子产生的培养条件. 为此, 作者采用 3 因子随机区组设计研究了光照、湿度和培养基对苎麻疫霉卵孢子产生量的影响, 试图阐明上述 3 因子不同组合互作对该菌卵孢子产生量的综合效应, 明确其卵孢子形成的最适因子组合, 为设计苎麻疫霉有性生殖生物学和遗传学研究(期望卵孢子产量大)的培养条件提供参考, 并为利用农业防治措施控制苎麻疫霉所致植物疫病提供理论依据.

2 材料与方法

2.1 供试菌株

苎麻疫霉(*P. boehmeriae*) 菌株 JS 5 系从江苏省棉铃疫病病组织中分离得到.

2.2 供试培养基

2.2.1 利马豆培养基(LBA) 参见文献[9].

2.2.2 V₆ 汁培养基(V₆A) 参见文献[5].

2.2.3 澄清的 V₆ 汁培养基(V₆B) 所用的 V₆ 汁(维乐汁, 北京农业大学生产) 是经过离心(1000rpm, 20min) 后的上清液, 其余配方与 V₆A 相同.

2.2.4 SLA 培养基(SLA) 参见文献[5].

上述培养基均经 121℃ 灭菌 20min.

2.3 试验设计

采用 3 因素随机区组设计, 以湿度、光照和培养基为试验因子, 依次设 2、3、4 个水平, 3 次重复. 各因素、水平设置及代码为: 1) 湿度(A): A₁ 为低湿即培养皿接种后不用透明胶带封闭; A₂ 为高湿即培养皿接种后用透明胶带封闭; 2) 光照条件(B): B₁ 为连续黑暗; B₂ 为光暗交替(12h 光照 + 12h 黑暗). 光照强度为双排 40W 日光灯距培养皿 40cm 照射; B₃ 为连续光照, 光源及强度同上. 3) 培养基(C): C₁ 为 LBA; C₂ 为 V₆B; C₃ 为 V₆A; C₄ 为 SLA.

2.4 卵孢子产生量的测定

供试菌株在 LBA 平板上生长 3d 后, 用灭菌打孔器(内径 4mm) 沿菌落边缘切取菌丝块, 移植到上述 4 种培养基平板中央, 每皿 1 块. 培养皿直

径 6cm, 每皿倒入培养基 8ml. 接种培养皿按 2. 3 节试验设计处理, 置不同光照条件下 25℃ 恒温培养. 7d 后取出培养皿, 以接种点为中心, 在 20mm × 20mm 正方形的 4 个角分别切取大小为 5mm × 5mm 的菌丝块. 取菌丝块 1 块, 置于载玻片上, 滴上水, 加盖玻片, 轻轻挤压使培养基破碎并在载玻片与盖玻片间形成厚薄均匀的薄层. 在 10×15 倍显微镜下观察, 随机移动 10 个视野, 记下所观察的卵孢子总数. 每个培养皿观察 4 块菌丝块. 按所观察的卵孢子总数计算各处理的卵孢子产量.

3 结果与分析

3.1 影响苎麻疫霉卵孢子产生量的主要因子效应分析

试验结果见表 1. 对表 1 数据进行方

表 1 不同光照、湿度、培养基组合对苎麻疫霉卵孢子产量的影响

Table 1 Influence of different illumination or moisture medium combinations on oospore production of *P. boehmeriae*

处理组合 Treatment combinations			卵孢子产量(个) Oospore number				差异显著水平 ^{a)} Difference significance level	
			I	II	III	X̄	0.05	0.01
A ₁	B ₁	C ₁	974	1150	1046	1042	d	C
		C ₂	602	581	526	570	g	F
		C ₃	931	861	932	908	e	D
		C ₄	2030	1857	1892	1926	a	A
	B ₂	C ₁	731	722	758	737	f	E
		C ₂	290	360	231	294	h	G
		C ₃	781	805	732	773	f	DE
		C ₄	1284	1463	1402	1383	b	B
	B ₃	C ₁	735	778	652	722	f	E
		C ₂	105	119	102	109	i	H
		C ₃	723	604	696	674	fg	EF
		C ₄	1225	1150	1164	1180	c	C
A ₂	B ₁	C ₁	762	884	842	829	ef	DE
		C ₂	445	582	520	516	g	FG
		C ₃	911	860	868	880	ef	DE
		C ₄	1344	1460	1438	1414	b	B
	B ₂	C ₁	878	842	686	802	ef	DE
		C ₂	426	654	442	507	g	FG
		C ₃	670	784	724	726	f	E
		C ₄	1418	1350	1210	1326	bc	B
	B ₃	C ₁	665	738	612	672	fg	EF
		C ₂	408	390	344	381	h	G
		C ₃	669	756	664	696	f	EF
		C ₄	1204	1390	1226	1273	c	BC

a) 在同一列中标有不同小写字母的表示有显著差异, 标有不同大写字母的表示有极显著差异. Within columns, means labeled with different small letters are significantly different at 0.05 level, and means labeled with different capital letters are significantly different at 0.01 level, according to Duncan's new multiple range test. 下同 The same below.

差分析, 结果表明, 处理间卵孢子产生量存在极显著差异; 因子及互作项中, 除湿度影响不显著外, 其余各因子及因子互作对苳麻疫霉卵孢子产生量的影响均达到极显著水平(表 2). 由于 F 值的大小表示效应或

互作变异的大小, 故各因子及互作对卵孢子产量的效应大小次序为: C(培养基) > B(光照) > A × B(湿度 × 光照) > A × C(湿度 × 培养基) > A × B × C(湿度 × 光照 × 培养基) > B × C(光照 × 培养基).

表 2 光照、湿培养基对苳麻疫霉卵孢子产量的影响的方差分析

Table 2 Variance analysis on effects of illumination, moisture and medium on oospore production of <i>P. boehmeriae</i>						
变异来源 Variation source	DF	SS	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
区组 Replicates	2	41034.11				
处理 Treatments	23	11528130.32	501223.06	125.97**	1.75	2.22
A(湿度 Moisture)	1	10829.01	10829.01	2.72	4.05	7.21
B(光照 Light)	2	1090508.78	545254.39	137.04**	3.20	5.10
C(培养基 Media)	3	9640586.82	3213528.94	807.66**	2.81	4.24
A × B	2	287630.78	143815.39	36.15**	3.20	5.10
A × C	3	216343.15	72114.38	18.12**	2.81	4.24
B × C	6	118530.22	19755.04	4.97**	2.30	3.22
A × B × C	6	163701.56	27283.59	6.86**	2.30	3.22
误差 Error	46	183023.22	3978.77			
总变异 Total	71	11752187.65				

** p<0.01. 下同 The same below.

3.2 单因子及其互作对苳麻疫霉卵孢子产量的效应

3.2.1 光照效应 据表 3 可知, 光照对苳麻疫霉卵孢子产量有极显著的影响. 试验设置的 3 种光照条件, 以连续黑暗处理卵孢子产生量最大, 其次为光暗交替处理, 连续光照处理卵孢子产生量最小. 可见, 黑暗利于卵孢子形成, 光照则对其有抑制作用.

3.2.2 光照与湿度互作效应 由表 3 可知, 光照与湿度互作对苳麻疫霉卵孢子产

生量有极显著的影响. A₁B₁(低湿+连续黑暗)组合的卵孢子产生量较其他组合增加 40~286 个. 可见, 低湿(即接种后培养皿不用透明胶带封闭)加黑暗处理最有利于卵孢子形成.

3.2.3 培养基效应 表 4 表明, 培养基对苳麻疫霉卵孢子产生量的影响极显著. 在 SLA 培养基上卵孢子形成最多, 其次为 LBA 和 V₆A, 在 V₆B 上形成最少.

3.2.4 湿度与培养基互作效应 从表 4 可

表 3 光照及其与湿度互作对苳麻疫霉卵孢子产量的影响

Table 3 Effects of illumination and its interaction to moisture on oospore production of <i>P. boehmeriae</i>							
光照条件 Illumination condition	卵孢子产量 Oospore number	差异显著性 ^{a)} Difference significan ce		湿度 Moisture		差 数 Difference (A ₁ - A ₂)	互作值 Interaction value
		0. 05	0. 01	A ₁	A ₂		
B ₁	1011	a	A	1111	910	201	
B ₂	818	b	B	797	840	- 43	244* *
B ₃	713	c	C	671	756	- 85	286* * 42

表 4 培养基及其与湿度、光照互作对苳麻疫霉卵孢子产量的影响

Table 4 Effects of medium and its interaction to moisture and illumination on oospore production of <i>P. boehmeriae</i>											
培养基 Medium	卵孢子产量 Oospore number	差异显著性 ^{a)} Difference significance		湿 度 Moisture		差 数 Difference (A ₁ - A ₂)	互作值 Interaction value	光照条件 Illumination condition			
		0.05	0.01	A ₁	A ₂			B ₁	B ₂	B ₃	
C ₄	1417	a	A	1496	1338	158		1253aA	1016aA	920aA	
C ₁	801	b	B	833	768	65	93* *	702bB	577bB	523bB	
C ₃	776	b	B	785	767	18	140* * 47	670bB	562bB	514bB	
C ₂	396	c	C	324	468	- 144	302* * 209* * 162* *	407cC	300cC	184cC	

以看出,该互作对苾麻疫霉卵孢子形成也有极显著的影响。 A_1C_4 (低湿+SLA)组合的卵孢子形成较其他组合显著增多。

3.2.5 光照与培养基互作效应 由表 4 可见,该互作对苾麻疫霉卵孢子产生量影响极显著。 B_1C_4 (连续黑暗+SLA)组合下,卵孢子产量最大, B_3C_2 (连续光照+ V_6B)组合产量最小,其余组合的卵孢子产量则居于上述两类组合之间。

3.3 不同光照湿度培养基组合对苾麻疫霉卵孢子产生量的影响

对不同光照、湿度和培养基组合下卵孢子产生量进行了 SSR 测验,结果(表 1)表明,各处理组合间卵孢子产生量差异显著。在全部组合中,以 $A_1B_1C_4$ (低湿+连续黑暗+SLA)组合卵孢子形成最多,而以 $A_1B_3C_2$ (低湿+连续光照+ V_6B)组合卵孢子形成最少。

4 讨 论

关于培养基营养成分对苾麻疫霉的菌丝生长的影响已有一些报道^[6,8,13],但有关该因子对苾麻疫霉卵孢子产生量的影响的研究却很少。何红等^[3]曾研究了苾麻疫霉在 V_8A 、LBA、PDA、燕麦粉培养基、玉米粉培养基等 5 种培养基上卵孢子形成,指出苾麻疫霉在 V_8A 和 LBA 上卵孢子形成最多,而在 PDA 上则几乎不产生卵孢子。本试验结果表明,在供试的 4 种常用培养基中,SLA 最适合苾麻疫霉卵孢子的形成,其次为 LBA 和 V_6A ,而在 V_6B 上卵孢子形成最少。其原因与培养基所含营养成分有关。由配方可知,SLA 培养基是以 V_6A 为基础培养基,加入 β -谷甾醇、卵磷脂和天冬氨酸配制而成^[5],而 V_6B 与 V_6A 配方不同之处仅在于前者将 V_6 汁离心去渣用其上清液(可使培养基透明性增加,便于观察卵孢子),后者则用 V_6 汁原液。可

见, β -谷甾醇、卵磷脂和天冬氨酸对苾麻疫霉卵孢子形成有刺激作用,这与以往对其他疫霉菌的研究结果相一致^[5,11,14,15]。此外,本试验结果还表明, V_6 汁的固态成分含有利于苾麻疫霉卵孢子形成的物质。

光照对卵孢子形成的影响在其他疫霉菌种中已有不少报道^[10,12],但有关其对于苾麻疫霉卵孢子形成的影响的研究很少。本试验结果指出,连续黑暗有利于苾麻疫霉卵孢子的形成,而连续光照则对其有抑制作用。这与何红等^[3]的研究结果相似,并与 Harnish^[12] 和 Brasier^[10] 对其他疫霉菌的研究结果相一致。

关于湿度及不同光照、湿度和培养基组合对苾麻疫霉卵孢子产生量的影响以往均未见报道。本研究结果表明,湿度对卵孢子形成影响不显著,但湿度参与的因子互作效应显著。湿度 \times 光照、湿度 \times 培养基、光照 \times 培养基及湿度 \times 光照 \times 培养基各互作对卵孢子的形成均有极显著的影响。在不同的光照、湿度、培养基组合中,以低湿+连续黑暗+SLA 组合的卵孢子产生量最大,而以低湿+连续光照+ V_6B 组合的卵孢子产生量最小。这是光照、湿度和培养基 3 个因子对卵孢子形成产生综合效应的结果。上述研究结果可为设计有关苾麻疫霉有性生殖和遗传学研究的培养条件提供参考。

鉴于光照能显著抑制苾麻疫霉卵孢子的形成,而卵孢子是棉花、苾麻疫病的主要初侵染来源^[1,3,4,7]。此外,在试验中还观察到光照对苾麻疫霉的菌丝生长有显著的抑制作用(另文发表),因此,在苾麻疫霉所致植物疫病的综合治理中,可以通过改进栽培管理,减少田间郁闭度,增加通风透光,以抑制菌丝生长和卵孢子形成,从而减轻疫病的危害。

参考文献

- 1 马平、沈崇尧. 1994. 棉铃疫菌的越冬存活. 植物病理学报, 24(1): 74~79.
- 2 沈其益主编. 1992. 棉花病害基础研究与防治. 北京: 科学出版社, 69~73; 171~177.
- 3 何红、郑小波、曹以勤等. 1993. 棉疫病病原卵孢子在病害循环中的作用. 江苏农业学报, 9(2): 36~40.
- 4 郑小波、陆家云、何红等. 1992. 棉铃疫病菌越冬卵孢子作为初侵染源的研究. 植物保护学报, 19(3): 251~256.
- 5 郑小波、王源超、陈庆河等. 1996. 营养条件对同宗配合疫霉菌卵孢子产生量的影响. 南京农业大学学报, 19(1): 26~29.
- 6 林传光、梁平彦. 1965. 几种疫霉在营养上对于氮、钙和有机酸的要求及酸度关系的研究. 微生物学报, 11(4): 470~479.
- 7 周振汉. 1984. 苕麻花叶病、疫霉病、炭疽病研究综述. 中国麻作, (1): 34~38.
- 8 梁平彦. 1964. 华北棉铃疫病菌及蓖麻疫病菌的鉴定. 植物病理学报, 7(1): 11~19.
- 9 高智谋、郑小波、陆家云. 1997. 苕麻疫霉对甲霜灵抗性的遗传研究. 南京农业大学学报, 20(3): 54~59.
- 10 Brasier, C. M. 1969. The effect of light and temperature on reproduction *in vitro* in two tropical species of *Phytophthora*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 52: 105~113.
- 11 Elliott, C. G., Hendrix, M. R. and Knight, B. A. 1966. The sterol requirement of *Phytophthora cactorum*. *J. Gen. Microbiol.*, 42: 425~429.
- 12 Harnish, W. N. 1965. Effect of light on production of oospores and sporangia in species of *Phytophthora*. *Mycologia*, 57: 85~90.
- 13 Hohl, H. R. 1983. Nutrition of *Phytophthora*. In: Erwin, D. C. *et al.* eds. *Phytophthora. Its Biology, Taxonomy, Ecology, and Pathology*. Am. Phytopathol. Soc., St. Paul, Minnesota, 41~54.
- 14 Ko, W. H. 1985. Stimulation of sexual reproduction of *Phytophthora cactorum* by phospholipids. *J. Gen. Microbiol.*, 131: 2591~2594.
- 15 Ribeiro, O. K. 1978. A source book of the Genus *Phytophthora*. J. Cramer, Vaduz, 149~162.

中国生态学会化学生态学专业委员会 第二次代表大会暨学术讨论会在郑州召开

中国生态学会化学生态学专业委员会第二次代表大会暨学术讨论会于 1998 年 4 月 12~15 日在河南郑州召开. 化学生态学专业委员会主任杜家纬研究员致开幕词, 河南省科协副主席周培荫先生、河南农业大学副校长崔保安教授到会祝贺.

来自全国各地的 60 多位代表出席了这次大会. 会议期间共交流了 40 余篇论文, 代表们对国内外化学生态学领域的发展动态和各自从事的研究工作进行了充分交流. 论文报告内容丰富广泛, 涉及昆虫化学生态、植物化学生态、环境化学生态等领域. 大会还探讨了化学生态学如何面向 21 世纪可持续发展中的重大问题, 如何发挥化学生态学在农林害虫综合治理关键技术中的作用.

本次学术讨论会的一个突出特点是参加会议的青年科技人员和在读硕士、博士研究生明显增多, 给本次会议带来了朝气, 学术讨论气氛热烈. 与会代表一致认为, 本次学术讨论会朝气蓬勃, 充满生机, 我国的化学生态学事业后继有人, 一定会在我国实现现代化的过程中发挥更大的作用.

会议通过协商, 并考虑到目前我国化学生态学发展的现状及青年科研人员的培养, 对第二届委员会进行了调整, 产生了中国生态学会第三届化学生态学专业委员会. 新一届委员会由 17 名委员组成, 由中国科学院上海昆虫研究所杜家纬研究员任主任委员, 黄勇平副研究员、孟宪佐研究员、吴才宏教授、原国辉教授任副主任委员, 姚运妹工程师任秘书长.

近几年, 化学生态学在国际上得到了迅速发展, 在我国也逐渐受到重视, 目前已有不少科研单位和大专院校开始在动物、植物、微生物、海洋和环境科学等领域开展了化学生态学的研究工作. 但是, 目前我国还没有一本系统介绍化学生态学的著作. 为推动我国化学生态学事业的发展, 本届专业委员会将组织有关专家撰写一本化学生态学专著, 这无疑将对我国化学生态学领域的研究和教学工作的发展起到一定的推动作用, 同时建议国家科学技术部、国家自然科学基金委予以重视, 进一步加大对化学生态学研究领域的资助强度.