

旱地麦田禾谷镰孢土壤带菌研究*

王树权 商鸿生 井金学

(植保系)

摘 要 用脲-PCNB-四环素选择性培养基涂布平板法检测了关中灌区麦田土壤中禾谷镰孢接种体数量。结果表明,除多年休闲的麦田外,前作物为水稻、玉米、大豆、苜蓿、蔬菜的麦田都带有禾谷镰孢,接种体密度幅度为每克土壤58~2800个,在表土中以5cm深处土壤带菌密度最高,禾谷镰孢在麦田土壤中可形成厚垣孢子,麦田土壤中还含有大量带菌细小植物残渣,带菌率1.5%~10%,其密度为每亩 $(0.31\sim7.67)\times 10^4$ 个。

关键词 小麦赤霉病,禾谷镰孢,土壤带菌

中图分类号 S435.121.45

我国小麦赤霉病已扩展到北方麦区,1985年北方麦区赤霉病穗腐的流行面积首次超过了南方。北方发病地带均属小麦、玉米复种的旱地,与南方水旱轮作田的生态条件有明显差异^[1]。小麦玉米复种区除发生小麦赤霉病穗腐外,同一病原菌引起的玉米茎腐病和小麦基腐病都较普遍而严重,其侵染菌源主要来于土壤。因而,许多研究者都认为土壤带菌对于赤霉病菌(禾谷镰孢)的菌源保存和侵染接续有重要作用。国内对土壤带菌的直接测定很少,急需开展最基本的调查研究,为有关病害的综合防治提供依据。本文总结了作者1986年以来关中灌区麦田土壤带菌的检测结果。

1 材料和方法

1.1 对照菌种

研究土壤带菌分离方法的预备试验及正式试验,用以下7种在土壤和植物残体中常见的镰孢属真菌作对照:禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*)、黄色镰孢(*F. culmorum*)、燕麦镰孢(*F. avenaceum*)、木贼镰孢(*F. equiseti*)、串珠镰孢(*F. moniliforme*)、尖孢镰孢(*F. oxysporium*)和茄镰孢(*F. solani*),皆为西北农大植保系保存的典型菌株。

1.2 培养基

土壤分离选择性培养基选用Nash和Snyder(1962)的脲-PCNB培养基,但经过改进,以500ppm四环素取代原配方中的链霉素,增强了对细菌的抑制作用^[2]。菌种保存和分离菌特征观察使用PDA培养基

1.3 土样的采取和分离

文稿收到日期:1990-05-21。

* 植保系实习学生李亚萍、田芳银、刘艳峰先后参加了试验工作。

在陕西杨陵渭河冲积平原生态条件不同的麦田采样。每个田块设5个采样点,每点面积400cm²,根据检测要求在一定深度平面上取土。5点所取土样均匀混合,取200g带回室内风干。风干后的土样用不同筛目的套筛除去植物残渣和较大土粒,取0.5mm筛下细土分离禾谷镰孢。在预备试验中比较了多种土壤带菌分离方法,最后选用涂布平板法。分离时,称取1g细土,用无菌水配制成10⁻²倍的土壤悬液,用无菌吸管按每皿0.1mL的用量添加土壤悬液到胨-PCNB培养基平板上,然后用无菌三角玻璃刮铲均匀涂布分离。

1.4 禾谷镰孢的鉴定和定量

每个土样涂布30个胨-PCNB选择性培养基平板,然后按以下步骤鉴定禾谷镰孢和计算土壤中禾谷镰孢接种体数量:

(1) 涂布土壤悬液的胨-PCNB培养基平板,在25℃温箱中培养3d后取出,以同期培养的对照禾谷镰孢的菌落特征为标准,初步识别各平板上的拟似禾谷镰孢菌落,计算单个平板上拟似禾谷镰孢菌落平均数目(S_{FG})。

(2) 每处理取长有拟似禾谷镰孢菌落的胨-PCNB培养基的代表性平板9个,逐一将拟似禾谷镰孢菌落移植于PDA培养基上,培养4d后按培养特征分成若干菌落类型。每个类型取1个菌落移植于装有麦粒培养基的试管中。培养3d后将麦粒倾倒入培养皿内在自然光照下继续培养,产生典型子囊壳者确定为禾谷镰孢,并将其培养物配制子囊孢子悬液接种麦穗,根据致病性作进一步的确认。由9个胨-PCNB平板上确认为禾谷镰孢的菌落数和拟似禾谷镰孢菌落总数求得禾谷镰孢确认率(C)。

(3) 按下式计算每克土壤中禾谷镰孢接种体数目,即禾谷镰孢接种体密度(D):

$$D(\text{个/g土壤}) = S_{FG} \cdot C \cdot 10^3$$

1.5 禾谷镰孢厚垣孢子诱导

2%水洋菜培养基加热至45℃融化后,加入一定量的禾谷镰孢大分生孢子悬液(显微镜8×10倍视野内有61个孢子),混匀。插入无菌载玻片,使其表面粘附约2mm厚水洋菜培养基,培养基凝固后将载玻片插入卧式玻璃染色缸中,仔细加入麦田自然土壤或灭菌土壤,埋没载玻片至3/4高度,在室温(20℃左右)培养。每隔5d检查1次,检查时小心取出玻片,用蒸馏水冲洗掉培养基表面土壤微粒,浸入0.02%棉蓝染色液中染色10min,镜检有无厚垣孢子。

1.6 麦田土壤中微细植物残渣带菌率测定

土壤样品过筛后取直径1~2mm的残根,直径2~4mm的残茎和有机肥料颗粒等筛上物,计数后随机取样,经表面消毒再切成2~3mm²左右的小块,置床于胨-PCNB选择性培养基平板上,在25℃温度下培养,根据菌落特征、产生子囊壳的能力和致病性等鉴定禾谷镰孢,计算这类植物残渣的带菌率。

2 结果与分析

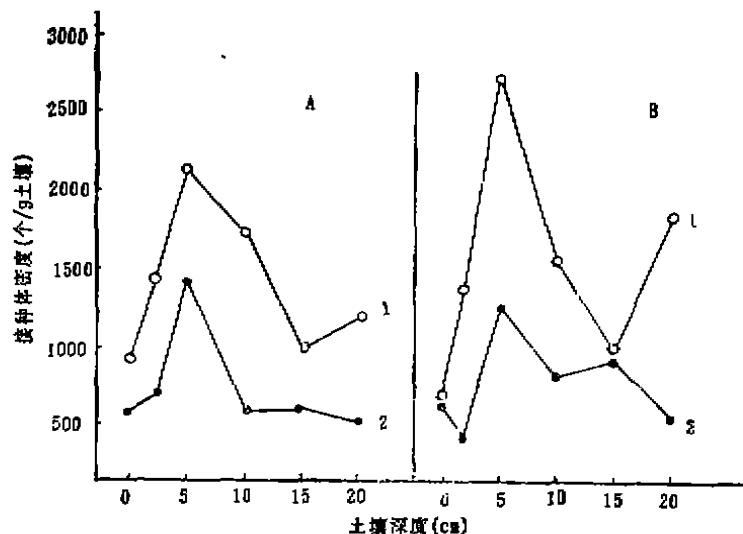
2.1 土壤带菌概况

试验地点在关中灌区具有代表性,为多年小麦玉米复种的塿土地带,地势由渭河

床逐级升高,划分为三级阶地,1~2级阶地地下水埋深2~3m,3级阶地地下水埋深30m左右。对18块麦田48次测定中,17块麦田的47次测定发现土壤带有禾谷镰孢,每克风干土壤中禾谷镰孢接种体最少58个,最多2806个,仅一块多年休闲的麦田没有禾谷镰孢分布。这表明,在赤霉病常发区具有灌溉条件的玉米小麦连作土壤普遍带有禾谷镰孢。且1~2级阶地带菌量普遍高于3级阶地,前者平均每克土壤有禾谷镰孢接种体1190.8个,后者仅647.9个。1级阶地和3级阶地定点系统测定表明,春季小麦生长阶段5~6月份的土壤带菌量高于3~4月份。

2.2 禾谷镰孢在土壤中的垂直分布

在渭河1级和3级阶地定点,分别于3月份和6月份在渭河1级和3级阶地麦田耕作层不同深度取样测定,结果均以土深5cm处禾谷镰孢密度最高。1级阶地样点5cm处禾谷镰孢接种体密度3月份为2230个/g,6月份为2700个/g,分别为表土接种体密度的2.4倍和4.1倍,为2cm土深接种密度的1.6倍和1.9倍,为10cm土深的1.3倍和1.9倍,为15cm土深的2.2倍和2.5倍,为20cm土深的1.8倍和1.5倍。3级阶地也以5cm土深接种体密度最高,由此向土表和土层深处递减(附图一)。



附图 禾谷镰孢接种体在土壤中的垂直分布

A, 1987年3月份测定, B, 1987年6月份测定

1, 一级阶地, 2, 三级阶地

2.3 前作对土壤中禾谷镰孢接种体密度的影响

麦田前作不同, 土壤中禾谷镰孢接种体数量相差很大。多年休闲的第一年种小麦的一块田, 用本文方法检测出它的土壤带菌量为0。其它调查的15处不同前作的麦田土中皆有禾谷镰孢存在。其中以多年水稻大麦连作田和蔬菜(玉米)小麦连作田为最高, 禾谷镰孢接种体密度分别为每克土壤1532个和2550个。1~2级阶地前作为玉米的小麦田每克土壤有接种体72~957个, 平均276个, 3级阶地的3块玉米-小麦田每克土壤带菌58~91个, 平均72个, 远低于1~2级阶地同类前作麦田。一块连种三年苜蓿(苜蓿前为多年玉米-小麦)的麦田, 每克土壤中仍有255个接种体, 尚高于3级阶地带菌水平。处于3级

阶地前作为大豆的麦田带菌量平均为71个, 与邻近的玉米小麦连作田带菌水平相当(表1)。

表1 不同前作麦田土壤禾谷镰孢带菌检测结果*

复种方式	田块数	平均分离菌落 (个/皿)		禾谷镰孢接种体密度 (个/g土壤)
		总数	禾谷镰孢	
渭河1~2级阶地				
水稻—大麦	2	24.78	1.53	1532
蔬菜—小麦	1	35.81	2.55	2550
玉米—小麦	6	22.31	0.28	276
苜蓿—小麦	1	27.05	0.25	255
休闲—小麦	1	23.63	0	0
渭河3级阶地				
玉米—小麦	3	31.11	0.07	72
大豆—小麦	2	19.57	0.07	71

*杨陵附近5cm土深测定结果, 每样点分离30皿。

2.4 土壤中禾谷镰孢厚垣孢子的产生

用本试验的诱导方法, 1个月后不论麦田土壤是否经过灭菌处理, 分生孢子中间有2~3个细胞形成厚垣孢子。灭菌麦田土壤中厚垣孢子形成百分率为27.5%, 不灭菌麦田土壤中为36.7%。发芽试验表明厚垣孢子有萌发能力。

2.5 土壤中微生物植物残渣带菌情况

对渭河各级阶地麦田中各类植物残渣和有机肥颗粒都带有禾谷镰孢, 其带菌率和残渣密度列于表2。

表2 土壤中各类细小植物残渣的禾谷镰孢带菌情况

残渣种类	残渣密度 (个/亩)	残渣带菌率 (%)	带菌残渣密度 (个/亩)
玉米残茎	3.66×10^5	5.4	1.98×10^4
玉米残根	3.00×10^5	4.1	1.23×10^4
其它作物残体	$1.27 \times 10^5 \sim 7.67 \times 10^5$	4.0~10.0	$0.51 \times 10^4 \sim 7.67 \times 10^4$
有机肥颗粒	2.00×10^5	1.5	0.31×10^4

注: 杨陵附近7块麦田调查结果。其它作物包括水稻、苜蓿、大豆、蔬菜等。

3 讨论

谷类作物赤霉病是世界性的重要病害, 各主要发生国家对该病的流行和防治进行了大量研究, 但对其土壤带菌, 由于技术上的困难研究较少。就现有的研究报道来看, 不同国家不同研究者关于禾谷镰孢土壤带菌的检测结果有明显差异。Gordon (1954) 检查了加拿大各种禾谷类作物农田的数百个土壤样品, 但没有检出禾谷镰孢^[3]。Windels和Kommedahl (1974) 由美国明尼苏达州玉米田土壤中检出了禾谷镰孢, 检出率达30%^[4]。Wearing和Burgess (1977) 由澳大利亚半干旱地区麦田中检出了多量禾谷镰孢^[5]。国内吴治身 (1980) 研究了上海地区麦类赤霉病菌在稻田中的存活问题, 证明禾谷镰孢在淹水条件下不能长期存活^[6]。徐雍皋等 (1981) 由南京市郊66个土壤样本中检出了4个带有禾谷镰孢的土样, 皆为来自麦茬休闲田或蔬菜地等旱地土壤(未发表资

料)。作者等系统检测了关中灌区旱地麦田土壤带菌情况,除多年休闲麦田外,各类麦田土壤都带有较高密度的禾谷镰孢接种体。

造成上述土壤带菌差异的主要原因是各地农田生态条件不同。前人与作者的研究都表明土壤、栽培与气象因素对禾谷镰孢土壤带菌有重要影响。关中灌区气候温暖,土壤水分适宜,多年实行冬小麦和夏玉米复种,有利于禾谷镰孢侵染接续和菌量积累,这可能是造成麦田土壤普遍带菌的主要原因。

关于禾谷镰孢的土壤菌态除了菌丝片断以外,前人还证实禾谷镰孢的大分生孢子在土壤中某些未知因素的作用下可转变为厚垣孢子,作者也证明关中麦田土壤也能促进厚垣孢子形成,但关于厚垣孢子对病菌存活的实际意义尚需进一步研究。作者除由0.5mm筛下土壤粒子中检测出大量禾谷镰孢接种体外,还发现筛上各种作物微小残体的带菌率也相当高。Wearing 和 Burgess (1977) 用稀释平板分离法检测澳洲麦田土壤时也发现许多菌落是由微小有机残体长出的^[5]。作者认为关中麦田土壤中带菌微小残体数量多,在进行病害流行病学研究、估计土壤接种体潜势时,应将它们包括在内。

土壤带菌在禾谷镰孢周年侵染循环中起重要作用,除了直接提供小麦基腐和玉米茎腐的侵染菌源外,玉米茎腐病的严重发生又为小麦穗腐提供大量菌源,因而减少土壤带菌对防治禾谷镰孢病害有重要意义。小麦与非禾本科作物轮作、水旱轮作、土壤淹水、减少回归土壤的病残体数量以及种植抗病玉米、小麦品种等措施都能有效地减少土壤带菌量。关中灌区长期实行小麦玉米复种,改变栽培制度的难度很大,因而研究能有效降低土壤带菌的丰产防病实用技术,仍然是今后急待加强的课题。

参 考 文 献

- 1 商鸿生,王树权,井金学.关中灌区小麦赤霉病流行因素分析.中国农业科学,1987,20(5):71~75
- 2 Booth C. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, England 1971, 237
- 3 Gordon W L. The occurrence of *Fusarium* species in Canada. Taxonomy and prevalence of *Fusarium* species in soil of cereal plots. *Can J Bot*, 1954, 32: 622~629
- 4 Windels C. E, Kommedahl T. Population differences in indigenous *Fusarium* species by corn culture of prairie soil. *Am J Bot*, 1974, 61: 141~145
- 5 Wearing A H, Burgess L W. Distribution of *Fusarium roseum* "Graminearum" group I and its mode of survival in eastern Australia wheat belt soils. *Trans Br Mycol Soc*, 1977, 69, 429~442
- 6 吴治身.关于上海地区麦类赤霉病菌在稻田中存活问题的研究.植物保护学报,1980,7(2):89~92

Inoculum Population of *Fusarium graminearum* in Soil of the Arid Wheat Fields

Wang Shuquan Shang Hongsheng Jing Jinxue

(Plant Protection Department, Northwestern Agricultural University)

Abstract Soil inoculum population of *Fusarium graminearum* was investigated in the irrigated area of Central Shaanxi Province using peptone-PCNB tetracyclin selective medium and soil-spreading plate technique. The pathogen was found in all the soil samples from the arid wheat fields with the previous crops including rice, corn, soybean, alfalfa and vegetable crops except the long-term wheat fallow fields. Population density of the pathogen ranged 58-2800 propagules/g of dry weight soil. Propagules of the pathogen with the highest density existed in top soil at the depth of 5 cm. Macroconidia of *F. graminearum* added to nonsterile soil converted to thick-wall chlamydospores. The pathogen was also recovered from the fine pieces of plant debris and organic manure, with the rate of 1.5% to 10%, and the density ranged $(0.31 - 7.67) \times 10^4 / \text{mu}$.

Key words wheat disease, *Fusarium graminearum*, fungus in soil