

小麦残秆和土壤中雪霉叶枯病越夏菌源研究*

商鸿生 康业斌 王树权

(西北农业大学植保系, 陕西杨陵 712100)

摘要 1992~1993年利用系统分离和接种的实验方法研究了小麦雪霉叶枯病菌在病残体和土壤中的越夏情况。病田土壤表面和20 cm 耕层内的小麦残秆在弃置5~7个月后可分离出病菌,用残秆接种能引起小麦幼苗发病。用 UGA 选择性培养基平板涂布法,由麦收后5个月的病田0~20 cm 耕层土壤中直接分离出病原菌,其密度为每克土壤1200~3206个菌落形成单位。用病田土壤接种亦能引起小麦幼苗发病。以上试验结果表明,小麦雪霉叶枯病菌接种体可在小麦病残秆和病田土壤中越夏并保持其致病性。

关键词 小麦雪霉叶枯病,雪腐捷氏霉,越夏

中图分类号 S435.121.48

由雪腐捷氏霉(*Gerlachia nivalis*)侵染引起的小麦雪霉叶枯病在我国西北、西南诸省广泛分布,在黄河和长江中下游一些省份亦有严重发生,该病已成为矮秆、半矮秆小麦品种的主要病害和重点防治对象。在黄淮冬麦区,该病周年流行过程包括芽苗发病期、拔节后病位上移扩展期和抽穗后严重发病期等3个连续阶段。小麦收获后,病原菌将度过长达4个多月的越夏期,残存接种体作为下一季小麦的初侵染菌源,引起秋播小麦芽苗发病,从而完成病害循环^[1~2]。初侵染菌源的研究是病害流行规律研究的重要内容,也为病害的综合防治提供基本依据。以前的研究中,对土壤带菌、病残体带菌以及种子带菌在病害循环中的作用虽已有所阐述^[1~2],但尚未提出有关病原菌越夏和初侵染的直接试验证据,1992~1993年对此进行了系统研究。

1 材料与方 法

1.1 麦茬残体中雪腐捷氏霉分离及其致病性测定

6月初小麦收获后由杨陵周围麦田捡拾生有雪腐捷氏霉子囊壳的麦秆,切成5~10 cm长的小段,装入窗纱网袋中,分别置于试验室内、实验田土表和0~20 cm 深的耕层土壤中,定期取样检查、分离病原菌。

子囊壳检查 取上述实验田土表放置的麦残秆,剥下生有病原菌子囊壳的叶鞘,挑取子囊壳,以无菌水作浮载液制片镜检,当显微镜视野内出现完整子囊壳时用拨针轻压盖玻片,使子囊孢子释放,计数子囊壳总数和含子囊孢子的子囊壳数目。每隔1个月检查1次,每次查20个麦秆,300余个子囊。

雪腐捷氏霉分离 在麦收5和7个月分别取越夏麦茬残秆,分离病原菌。麦茬残秆用自来水反复冲洗后,在无菌水中浸泡24 h,截成0.2~0.3 cm长的小段,用1%次氯酸钠溶液表面消毒10 min,无菌水冲洗3次,再用300~500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 硫酸链霉素处理5 min,置于

收稿日期:1995-03-20

*国家“八五”攻关项目。

PSA 培养基平板上,在0~4℃冰箱中培养,待长出怀疑为雪腐捷氏霉的菌落后,由菌落边缘挑取少量菌丝转接于另一 PSA 培养基平板上,在15~18℃和散射光下培养,以促进产生无性孢子,对不产生孢子而又类似雪腐捷氏霉的菌落,再转接在 M8培养基上促进产孢。根据菌落特征和无性孢子形态确认雪腐捷氏霉菌落并计数。

雪腐捷氏霉接种体致病性测定 将干热灭菌的土壤和河沙以3:1的配比混合,加入直径与高度均为6.5 cm 的瓷钵内,每钵混入4 g 剪成0.5~1.0 cm 长的病茬残秆(已弃置7个月)小段,播种事先用0.1%升汞液消毒的西植763小麦种子。瓷钵用聚乙烯塑料袋包裹,置于14~18℃、光照12 h/d、光强8000~10000 lx 的生长箱中培养。分别在播种第28,42 d,挖出麦苗,用自来水冲洗后检出病株,病部组织用常规方法分离病原菌,以确定雪腐捷氏霉病株数目。试验设4次重复和不混入病残体的对照。

1.2 土壤中雪腐捷氏霉的分离和致病性测定

10月份麦播前由西北农业大学农作一站当年病田(病株率30%~40%)随机布点采取土样。10个样点每点在0~5,5~10,10~20 cm 深度分层各取0.5 m²土壤,充分混合后各留取2000 g 带回实验室,自然风干后用0.1 mm 孔径的土壤筛过筛制成试验样品。

土壤中雪腐捷氏霉的分离采用王树权等^[3]的方法,每个样品称取1 g 土壤,用无菌水配成100倍的悬液,按每皿0.1 mL 的用量添加到牛永春等^[4]提出的选择性培养基 UGA 培养基平板上并涂布均匀。在20℃温箱中培养6 d 后取出,统计各平板上雪腐捷氏霉类似菌落数目,计算每个样品30个平板类似菌落平均数目(A)。由每个耕层深度土样的 UGA 培养基平板上各取20个类似菌落移植到 PSA 培养基平板和 M8培养基平板上,经培养后凡产生该菌典型分生孢子的菌落为确认菌落,计算确认率(D_r),按下式计算每克土壤样品中雪腐捷氏霉接种体的检出密度(ID): $ID = A \cdot D_r \cdot 10^3$ 。

检出密度小于实际密度,为计测后者需了解该菌接种体的 UGA 培养基回收率,称取10 g 土壤放入培养皿内干热灭菌,然后加入定量病菌分子孢子悬液,使每克土壤中有 5×10^4 个孢子,按上述方法涂布 UGA 平板,培养6 d 后检查菌落数,计数回收率 R_r,据此算出每克土样中病菌接种体实际密度(D):

$$D = ID/R_r = A \cdot D_r \cdot 10^3/R_r$$

另用土壤样品与无菌砂以3:1的重量比混合,加适量无菌水调湿,按前述麦茬残体中接种体致病性测定方法播种,培养与检查病株以测定土壤接种体的致病性。

2 结果与分析

2.1 病田麦茬残秆带菌及其致病性

小麦夏收之后,麦茬残秆上雪腐捷氏霉子囊壳仅有33.9%含有子囊孢子,至8月中旬子囊孢子逐渐释放完毕(表1)。预备试验中测定子囊孢子在20℃和相对湿度100%条件下24 h 后萌发率达100%。麦收后至秋播小麦的出苗长达5个月,遗散田间的子囊孢子历经高温多湿季节而不萌发的可能性很小。

1992年10和12月两次由田间采回麦茬残体,分离雪腐捷氏霉。在田间地表和土层内的残秆中都检出了病原菌(表2),表明该菌可以在小麦残秆中越冬存活。

表1 麦茬残秆上雪腐捷氏霉子囊壳状态

检查日期 (月·日)	检查残秆数	检查子囊壳数	空壳数	空壳率 (%)
6·18	20	378	250	66.1
7·17	20	352	338	96.0
8·18	14	306	306	100

注:小麦收获期为6月1日。

表2 麦茬残秆的雪腐捷氏霉带菌率

残秆来源	残存月数 (月)	分离茎秆数	带菌秆数	带菌率 (%)
土壤表面	5	105	9	8.6
	7	112	13	11.6
0~20 cm 耕层	5	105	14	13.3
	7	112	9	8.0
室内放置	5	70	34	45.7
	7	70	30	48.7

1993年1月将田间地表、耕层20 cm 内土壤中和室内保存的越夏小麦病残秆剪碎后混入灭菌土壤并播种西植763小麦。播后28.40 d 检查麦苗发病情况,除不加病残体的对照外,各处理病苗率都较高(表3)。组织分离结果证实病株确系雪腐捷氏霉侵染所致。另外,各处理区尚有10%~30%外观正常的植株也分离出该菌,说明已被侵染但尚未发病。以上结果表明,在麦茬残秆中越夏的雪腐捷氏霉仍保持对小麦的致病力。

表3 麦茬残秆中雪腐捷氏霉对小麦幼苗的致病性

接种用病残秆	麦播后天数 (d)	调查株数	病株数	发病率 (%)
田间土壤表面	28	100	22	22.0
	42	113	33	29.2
0~20 cm 耕层	28	103	21	20.4
	42	102	24	23.5
室内放置	28	102	31	30.4
	42	105	45	42.9
不加病残秆对照	28	116	0	0
	42	115	0	0

注:接种用麦秆自小麦收获至接种已历7个月。

2.2 病田土壤中病原菌的存活和致病性

2.2.1 土壤中病原菌的分离

为计算 UGA 培养基平板涂布法对土壤中雪腐捷氏霉接种体的回收率,进行了模拟实验。每克菌土中加入 5×10^4 个分生孢子,实际检出了29167个菌落,回收率为58.3%。雪腐捷氏霉在 UGA 培养基平板上于20℃下培养6 d后,菌落直径6~12 mm,圆形、较薄、半透明状,近于无色,辐射生长,边缘整齐,气生菌丝很少。将培养基平板转置于光照下继续培养,菌落变淡粉红色,有时可产生分生孢子和桔黄色粘分生子团。土壤分离菌根据菌落特征,检出类似雪腐捷氏霉的菌落并计数,再将类似菌落转移到 PSA 培养基和 M_0 培养基平板上,进一步根据在该两种培养基上的菌落特征和产孢类型确认雪腐捷氏霉,排除类似杂菌。由各土样 UGA 培养基上的类似菌落数,确认率和回

收率,计算土壤接种体的检出密度和实际密度。结果病田0~20 cm 耕层土壤都含有雪腐捷氏霉越冬接种体,而以0~5 cm 耕层土壤最多(表4)。

表4 不同深度耕层土壤中雪腐捷氏霉接种体密度 菌落形成单位/g 土壤

土样耕层 (cm)	类似菌落数	确认率 (%)	接种体	
			检出密度	实际密度
0~5	2330	80	1870	3206
5~10	2070	65	1340	2297
10~20	1400	50	700	1200

2.2.2 土壤接种体的致病性 土壤接种体对小麦幼苗的接种试验表明,0~20 cm 耕层土样播种小麦后,小麦幼苗都发病。播后28,42 d的病株率都以0~5 cm 耕层土壤最高,10~20 cm 耕层土壤最低,这也证明随耕层土壤取样部位加深,病原菌越冬存活的接种体数量减少(表5)。总之,以上试验表明该菌不仅可以在田间土壤中越冬存活,而且保持对小麦的致病性,引起初侵染。

表5 不同深度耕层土壤中越冬接种体的致病性

土样耕层 (cm)	小麦播后天数 (d)	调查麦苗数	发病麦苗数	发病率(%)
0~5	28	106	8	7.6
	42	116	10	8.6
5~10	28	104	3	2.9
	42	110	5	4.6
10~20	28	105	0	0
	42	114	3	2.6
无菌土对照	28	110	0	0
	42	116	0	0

3 讨 论

本试验证实小麦雪霉叶枯病菌可在小麦病残体中和病田耕层土壤中越冬存活,成为秋苗发病的初侵染菌源。这一结论与长期田间调查结果一致^[1,2]。

小麦雪霉叶枯病是我国发现的一种小麦新病害,其病原菌雪腐捷氏霉以前曾称为雪腐镰刀菌(*Fusarium nivale*),该菌在冬季长期积雪地带还引起麦类作物的“红色雪腐病”。关于该菌在植物残茬和土壤中存活的研究不多。Huber 等^[5]报道小麦和大麦残体遗留田间可加重小麦红色雪腐病的发生。Booth 等^[6]报道自然或人工侵染的麦秆,无论置于土壤表面或埋入土内,其中的雪腐镰刀菌接种体存活13至52周。在 Al-Hashimi 的试验中,被该菌定殖的麦秆埋于灭菌土壤中,病原菌可存活15周,而埋于田间土壤中存活不到两周。将分生孢子接种于田间土壤,则接种体在10℃条件下致病性可保持25周以上。从连作大麦两年的田间定期采取土样,用以播种大麦,结果大部分都发病,从而提供了土壤接种体存在的间接证据^[7]。该菌不形成厚垣孢子或菌核等休眠结构,从土壤中直接分离未获成功^[8~10]。作者等用自己开发的 UGA 选择性培养基首次由土壤中成功地分离了雪腐捷氏霉,确证病田耕层土壤中存在有效接种体,为深入研究该菌在土壤中存活的菌态和消长因素奠定了基础。

了解病原的越夏方式和初侵染菌源有助于科学地设计病害综合防治方案。根据本研究结果,清除田间病残体、深耕以及采用合理的灌溉、培肥措施都有助于减少田间菌源基数,达到控制病害发生的目的。

参 考 文 献

- 1 商鸿生. 小麦雪霉叶枯病的发生和防治. 植物保护, 1980, 6(2): 3~6
- 2 李振岐, 商鸿生主编. 小麦病害防治. 北京: 金盾出版社, 1994: 57~61
- 3 王树权, 商鸿生, 井金学. 旱地麦田禾谷镰孢土壤带菌研究. 西北农业大学学报, 1991, 19(2): 32~37
- 4 牛永春, 王树权, 商鸿生. 雪腐捷氏霉选择性培养基研究. 真菌学报, 1990, 9(4): 319~326
- 5 Huber D M, Anderson G R. Effect of organic residues on snow mold of winter wheat. Phytophth, 1976, 66(8): 1028~1032
- 6 Booth R H, Taylor G S. Fusarium diseases of cereals. X. straw debris as source of inoculum for infection of wheat by *Fusarium nivale* in the field. Trans Bri Mycol Soc, 1976, 66(1): 71~75
- 7 Al-Hashimi M H, Perry D A. Survival and saprobicability of *Monographella nivalis* in soil. Trans Bri Mycol Soc, 1986, 86(3): 373~379
- 8 Millar C S, Colhoun J. Fusarium diseases of cereals. N. Observations on *Fusarium nivale* on wheat. Trans Bri Mycol Soc, 1969, 52(1): 57~66
- 9 Millar C S, Colhoun J. Fusarium diseases of cereals. W. Epidemiology of *Fusarium nivale* on wheat. Trans Bri Mycol Soc, 1969, 52(2): 195~204
- 10 Rawlinson C J, Colhoun J. The occurrence of *Fusarium nivale* in soil. Pl Pathol, 1969, 18: 41~45

The Oversummering Inoculum Source of *Gerlachia nivalis* in Wheat Straw Debris and Soil

Shang Hongsheng Kang Yebin Wang Shuquan

(Department of Plant Protection, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The oversummering inoculum of *Gerlachia nivalis* (Ces. ex Sacc.) Gams and Mull., the pathogen of wheat Gerlachia leaf blight, was isolated from wheat straw debris, which had been spread on the field surface and buried in soil at the depth of 1~20 cm for 5~7 months. The wheat seedlings became infected from inocula surviving in the straw debris. The pathogen was also isolated directly from soil sampled from field at the depth of 0~20 cm by using agar plates of UGA selective medium. The density of soil inoculum ranged from 1200 to 3206 cfu/g soil. Pathogenic infection of wheat seedlings was induced by the soil inocula. The results demonstrated that natural inoculum could oversummer in wheat straw debris and in soil, thus keeping its pathogenicity.

Key words wheat gerlachia leaf blight, *Gerlachia nivalis*, oversummer