

陕西省和山西省小麦茎基腐病病原菌鉴定及其致病力分析

李佳琪¹,王彩叶¹,奚柳芸¹,夏富丽¹,张嘉乐¹,李春莲²,谢飞舟³,
尹祥杰⁴,祁伟亮⁵,朱艳天⁴,袁凤平¹,康振生¹,韩德俊²,曾庆东¹

(1. 西北农林科技大学植物保护学院/作物抗逆与高效生产全国重点实验室,陕西杨凌 712100;

2. 西北农林科技大学农学院,陕西杨凌 712100; 3. 陕西省植物保护工作站,陕西西安 710003;

4. 山西省植物保护植物检疫中心,山西太原 030001; 5. 陇东学院,甘肃庆阳 745000)

摘要:为了解陕西和山西两省小麦茎基腐病害的病原菌种类组成及其致病力的差异,于2023年春季在这两个省份的35个采样点采集了663份具有茎基腐病症状的病株,对每个采样点随机选择的5株样品进行病菌分离,并开展了形态学及ITS和真菌毒素 trichothecene biosynthetic 1(*Tril*)序列的分子鉴定,同时随机选取32份假禾谷镰孢菌进行小麦苗期致病力鉴定。结果表明,从175份培养物分离得到138株菌系,菌系的形态学及序列特征分析鉴定得到85株镰孢菌系,其中假禾谷镰孢菌 *Fusarium pseudograminearum* 72株(占比84.71%),三线镰孢菌 *F. tricinctum* 7株(占比8.24%),禾谷镰孢菌 *F. graminearum* 3株(占比3.53%),燕麦镰孢菌 *F. avenaceum* 2株(占比2.35%),拟轮枝镰孢菌 *F. verticillioides* 1株(占比1.18%)。不同菌系之间致病力存在显著差异。此外,利用本研究开发的*Tril*基因特异性标记能够有效地区分假禾谷镰孢菌和禾谷镰孢菌。由此可见,陕西和山西两省小麦茎基腐病优势病原菌均为假禾谷镰孢菌,不同样本分离得到的假禾谷镰孢菌菌株对小麦幼苗的致病力存在显著差异。

关键词:小麦茎基腐病;病原菌鉴定;假禾谷镰孢菌;致病力分析

中图分类号:S512.1;S435.12

文献标识码:A

文章编号:1009-1041(2025)04-0528-08

Species Identification and Pathogenicity Analysis of the Pathogen of *Fusarium* Crown Rot of Wheat in Shaanxi and Shanxi Provinces

LI Jiaqi¹, WANG Caiye¹, XI Liuyun¹, XIA Fuli¹, ZHANG Jiale¹, LI Chunlian²,
XIE Feizhou³, YIN Xiangjie⁴, QI Weiliang⁵, ZHU Yantian⁴, YUAN Fengping¹,
KANG Zhensheng¹, HAN Dejun², ZENG Qingdong¹

(1. College of Plant Protection/ State Key Laboratory for Crop Stress Resistance and High-Efficiency Production, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 3. Plant Protection Station of Shaanxi Province, Xi'an, Shaanxi 710003, China; 4. Plant Protection and Quarantine Station of Shanxi Province, Taiyuan, Shanxi 030001, China; 5. Longdong University, Qingyang, Gansu 745000, China)

Abstract: In order to study the species composition and differences in pathogenicity of *Fusarium* crown rot of wheat pathogens in Shaanxi and Shanxi Provinces, 663 strains displaying crown rot symptoms were systematically collected from 35 sampling sites in Shaanxi and Shanxi provinces in the spring of 2023. Subsequently, five strains were randomly selected from each sampling site for pathogen isolation, and morphological observation and the molecular identification of ITS and trichothecene biosynthetic 1(*Tril*) sequences were carried out. 138 strains were isolated from 175 cultures, and 85 strains of *Fusarium* spp. were identified by morphological and sequence analysis: including 72 strains of *Fu-*

收稿日期:2024-03-09 修回日期:2024-05-07

基金项目:小麦茎基腐病抗病性鉴定

第一作者 E-mail:ljq130527@nwafu.edu.cn(李佳琪)

通讯作者 E-mail:zengqd@nwafu.edu.cn(曾庆东)

sarium pseudograminearum (84.71%), 7 strains of *F. tricinatum* (8.24%), 3 strains of *F. graminearum* (3.53%), 2 strains of *F. avenaceum* (2.35%), and 1 strain of *F. verticillioideis* (1.18%). The results showed that *F. pseudograminearum* was identified as the dominant pathogen causing Fusarium crown rot of wheat in Shaanxi and Shanxi Provinces. Furthermore, 32 strains of *F. pseudograminearum* were randomly selected to identify the pathogenicity of wheat seedlings. It was found that there were significant differences in pathogenicity among different strains. In addition, the *Tri1* gene specific marker was developed in this study. Although the polymorphism of *Tri1* did not directly correspond to the difference in pathogenicity, the marker effectively distinguished between *F. pseudograminearum* and *F. graminearum*. In summary, this study confirmed that the dominant strain of Fusarium crown rot of wheat in Shaanxi and Shanxi Provinces were *F. pseudograminearum*, and the isolates of *F. pseudograminearum* from different samples had significant differences in pathogenicity at seedling stage of wheat.

Keywords: Fusarium crown rot; Pathogen identification; *Fusarium pseudograminearum*; Pathogenicity analysis

由于气候变化和耕作制度的改变,小麦茎基腐病(Fusarium crown rot of wheat,FCR)呈不断蔓延和加重趋势,对中国粮食的质量安全与生产安全构成严重威胁^[1,2]。该病害是由多种真菌复合侵染而引起的一种土传病害^[3],在小麦整个生长周期均可发生。病菌在小麦播种期侵染会引起烂种,苗期入侵会导致小麦茎基部褐变甚至腐烂,抽穗后病情快速发展则造成小麦出现枯白穗^[4]。目前,小麦茎基腐病是一种世界性的重要病害,在澳大利亚^[5]、北美^[6]、南非^[7,8]等国家和地区的小麦种植区均有发生,造成严重的粮食减产,逐步引起各国重视。然而,在不同的国家和地区,由于生态环境的差异,小麦茎基腐病的发生原因、致病菌的组成以及优势病原菌都存在差异^[9,10]。在澳大利亚,假禾谷镰孢菌(*Fusarium pseudograminearum*)是其主要致病菌;然而在美国,小麦茎基腐病则是由假禾谷镰孢菌、黄色镰孢菌(*F. culmorum*)及燕麦镰孢菌(*F. avenaceum*)复合侵染引起的^[11]。在欧洲,黄色镰孢菌是主要的致病真菌^[12]。在中国,不同时期不同麦区引起小麦茎基腐的优势病原菌也不一样。2012年中国首次在河南省报道小麦茎基腐病,并鉴定主要致病菌为假禾谷镰孢菌^[13]。2013—2016年从河南省采集的小麦茎基腐病原菌研究中发现,分离频率最高的是假禾谷镰孢菌^[14]。但是,2009—2012年南京农业大学团队在对包括河南在内的5个冬小麦主产省采集茎基腐病样本研究中发现,主要病原是亚洲镰孢菌(*F. asiaticum*)和禾谷镰孢菌^[10]。然而范学锋^[15]对中国主要麦区小麦茎基

腐病原菌年度间动态变化研究发现,各麦区的优势群体存在一定差异,且数量不断增多。

由于秸秆还田、免深耕等技术措施的推行以及气候因素等的影响,小麦茎基腐病原菌在田间不断积累,致使该病害呈发生范围扩大、危害程度加重趋势^[16]。2022年小麦茎基腐病发生面积276.28万hm²,较2021年增加34.6%^[17]。为监测陕西省和山西省小麦茎基腐病的病原菌组成及其致病力差异,本研究从两省的35个采样点采集了茎基部褐变或腐烂的小麦组织,通过纯化、培养、形态观察和序列比对,分析不同地区小麦茎基腐病的病原菌种类及优势致病菌,并在温室条件下测定其对小麦幼苗的致病力,以期小麦茎基腐病动态监测提供了理论依据,并为种质资源抗病鉴定提供合理的菌系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 样品采集

2023年5月—6月份在陕西省(咸阳市兴平市、宝鸡市的凤翔区、陇县、眉县、岐山县、泾阳县、渭南市的临渭区)和山西省(运城市的盐湖区、永济市、闻喜县、万荣县、芮城县、晋城市的泽州县、临汾市的曲沃县)的14个市区(县)35个采样点(图1),采用五点采样法在小麦田间取样,每个采样点采集15~50株具有小麦茎基腐病害典型症状的发病植株,共获得663株小麦茎基腐病标样,装入纸袋中并标注好采样地区、经纬度等相关信息后带回实验室,用于病原菌的分离与鉴定。

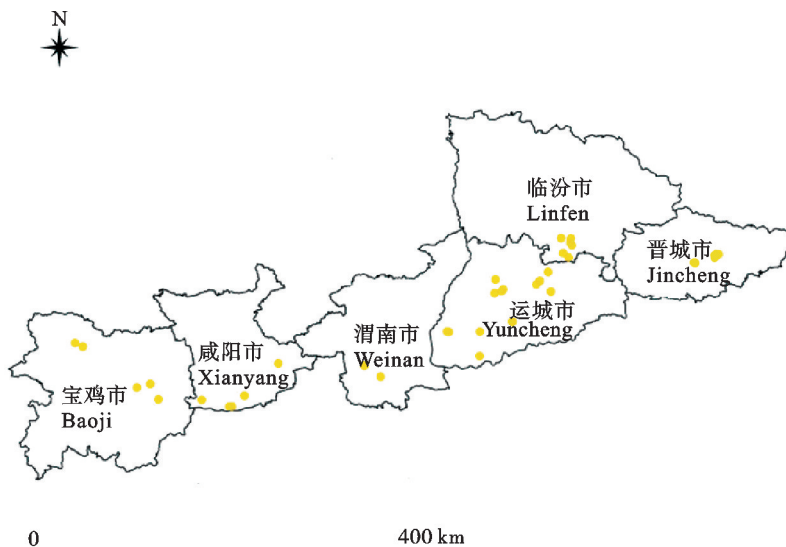


图 1 陕西省和山西省采样点

Fig. 1 Sampling maps of Shaanxi and Shanxi Provinces

1.1.2 试验所用培养基

采用马铃薯葡萄糖琼脂 (potato dextrose agar, PDA) 培养基、羧甲基纤维素 (carboxymethylcellulose, CMC) 培养基和小米培养基进行病原菌培养。

1.1.3 试剂耗材和仪器

试验所用试剂耗材主要有 75% 乙醇、无水乙醇、无菌水、液氮、CTAB 提取缓冲液 (CTAB 粉末、氯化钠、1 M Tris-HCl、0.5 M EDTA)、酚氯仿、三氯甲烷、异丙醇、醋酸钠溶液、ddH₂O、琼脂糖、核酸染料、DL2000 Marker、各规格离心管、各量程移液枪枪头、剪刀、滤纸等。试验所用仪器主要有超净工作台、各量程移液枪、电子天平、组织研磨仪、台式离心机、台式 pH 计、96 孔 PCR 仪、紫外分光光度计、电烘箱、制冰机、涡旋振荡器、凝胶电泳仪、凝胶成像系统、高压灭菌锅、恒温培养箱等。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌株的分离培养及形态学特征的观察

(1) 预处理: 从每个采样点随机选取 5 株样品进行病原菌分离。轻轻抖去小麦茎基部和根系部位的小块土壤及在样品表面黏附的其他附着物, 然后用自来水对小麦的茎基部和根系部位进行充分清洗, 最后将组织置于滤纸上, 待样品表面残留水分吸干后备用。

(2) 表面消毒: 用灭菌剪刀剪取若干段长度约为 0.3 cm 的预处理后组织的病健交界处, 随后将这些组织依次浸泡于 75% 乙醇中 1.5 min、3% 的

次氯酸钠中 2 min 进行表面消毒, 取出后立即用无菌水清洗 3 次, 最后使用无菌滤纸充分吸干表面残留的水分待用。

(3) 培养: 表面消毒后的组织放置于提前准备好的含有 100 mg · mL⁻¹ 氨苄青霉素的 PDA 平板上, 用灭菌镊子轻压组织使其粘附在培养基上, 倒置于 25 °C 条件下进行黑暗培养, 2~3 d 后挑选由分离组织上长出的典型而无杂菌的菌落, 挑取菌落的边缘菌丝转接至新的 PDA 平板上, 待菌落长出后依此方法转接三次得到纯培养物, 将其转接到新的培养基上, 放置于 25 °C 恒温培养箱中黑暗培养 5 d 左右, 观察并记录菌落的形态特征与菌丝颜色^[3], 同时打取 8 个菌饼放入含有 50 mL 的 CMC 培养基中, 放置于 25 °C、200 rpm · min⁻¹ 条件下摇培 4 d, 吸取 10 μL 孢悬液制成玻片, 在荧光显微镜下观察分生孢子形态。

1.2.2 分离病原菌株的分子生物学鉴定

挑取待测菌株的边缘菌丝放入含有 1~2 颗钢珠的 2 mL 无酶无菌离心管中, 置于液氮中迅速冷冻, 并用组织研磨仪研磨成粉状物, 之后利用 CTAB 法提取菌丝的基因组 DNA, 琼脂糖电泳及吸光值质检合格后, 稀释至 100 ng · μL⁻¹ 备用。首先, 利用 ITS1 和 ITS4 引物扩增 rDNA-ITS 区域^[18]。20 μL PCR 反应体系包含 2 × Taq PCR Master Mix 10 μL (Vazyme), DNA 模板 3 μL, 10 μmol · L⁻¹ 的正反向引物各 1 μL, 双蒸水 5 μL。引物序列及扩增程序见表 1, 扩增产物用 1.0% 琼脂糖凝胶在 180 V 恒压下电泳进行分离, 紫外灯

下观察有无目标条带。有目标条带的菌株进一步使用 *Tri1* 基因序列特异性引物 Tri1F1/Tri1R 进行 PCR 扩增,反应体系同上,引物和扩增程序见表 1。电泳条带清晰并且与表 1 中预期大小一致的 PCR 产物送擎科生物科技股份有限公司进行测序。同时在 NCBI 上下载已知镰孢菌的 *ITS* 和 *Tri1* 基因序列,将本研究测序获得的序列一起利用 DNAMAN(版本 6.0.3.99)进行多序列比对,并用 MEGA(版本 11.0.13)构建相关菌株的最大似然进化树。

1.2.3 病原菌对温室小麦苗期的致病力测定

基于上述形态学特征观察及分子生物学鉴定结果,随机选取 32 株假禾谷镰孢菌菌株,将纯化培养后保存在甘油中的菌饼接种到新的 PDA 培养基上进行活化,接菌的平板倒置于 25 °C 培养箱培养 3~5 d,用打孔器取活化好的菌落边缘菌饼,转入小米培养基中进行扩繁,待菌丝分布均匀并且布满锥形瓶时,即可使用。采用室内盆栽试验评价不同地区的假禾谷镰孢菌菌株的致病力差异。将灭菌土转入规格大小为 7 cm × 7 cm × 7 cm 的黑色塑料花盆中,称取 120 g 灭菌土倒入其中,挑选大小一致且籽粒饱满的健康国麦 301 种子,每个花盆中播种 6 粒,播种完成后盖土 20 g。7 d 后接种假禾谷镰孢菌,称取 2 g 小米病粒均匀

铺撒于花盆中,然后在病粒表面撒浅浅一层粗麦麸,最后称取 30 g 土壤于表面铺平,空白对照组撒粗麦麸和灭菌的小米培养基(不接种病原菌)。每个处理重复 3 次。接种后的培养条件为,25 °C 恒温,光周期为 12 h 光照和 12 h 黑暗。培养期间要关注幼苗生长状况,根据需要进行浇水,接种 30 d 后借鉴 POOLE 等^[19]的分级鉴定标准(表 2)对小麦发病情况进行调查并计算发病率和病情指数。

1.3 数据分析

利用 Excel 2016 对试验数据进行统计,并计算其平均值与标准误差,在 R(version 4.3.2)中用进行单因素方差分析并应用 multcomp 包的 duncan.test 函数进行多组样本间差异显著性分析,显著性水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 分离菌株的菌落特征及分子生物学鉴定

经病菌分离,175 份培养物成功获得 138 株菌系。根据菌落形态特征及病原菌株生长特点,初步鉴定所分离到的菌株包含有 5 个种类的镰孢菌,分别是假禾谷镰孢菌、禾谷镰孢菌、三线镰孢菌、燕麦镰孢菌和拟轮枝镰孢菌(图 2),具体类型需要结合特异序列进行分子鉴定。

表 1 PCR 扩增引物及程序

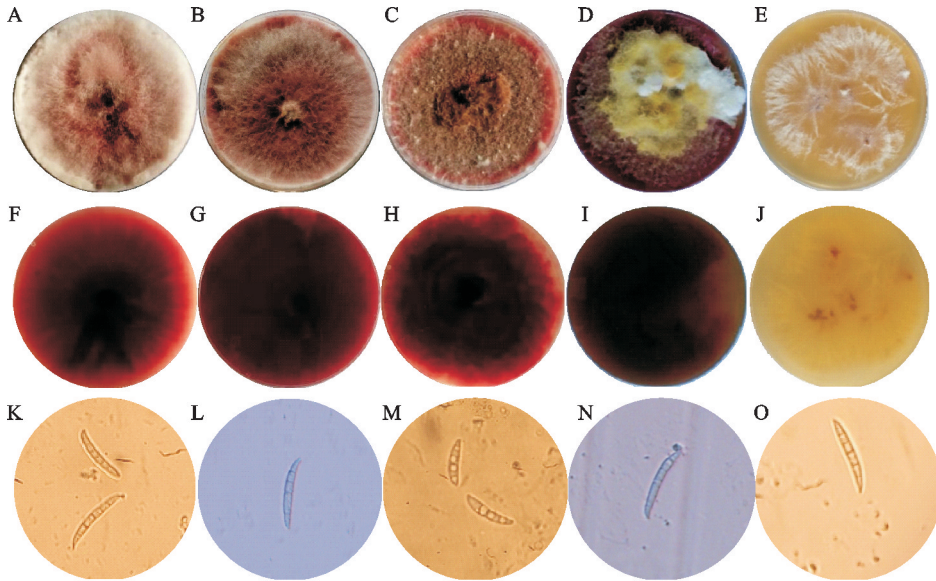
Table 1 Primers and amplification conditions of PCR

位点 Locus	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'-3')	大小 Size/bp	PCR 程序 PCR program
<i>ITS</i>	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	540	94 °C 10 min; 94 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 cycles; 72 °C 5 min
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		
<i>Tri1</i>	Tri1F1	CTGTCATGGCTCTCATCACCA	1 760	94 °C 10 min; 94 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 cycles; 72 °C 5 min
	Tri1R	CTAGTCATCCTGTACCAATTCCAA		

表 2 小麦苗期茎基腐病分级鉴定标准

Table 2 Grading and identification criteria for *Fusarium* crown rot of wheat at seedling stage

病情等级 Grade of condition	分级标准 Grading criteria
0	植株无症状 The plants are asymptomatic
1	植株在土壤表面部分明显变褐或第 1 叶鞘出现轻微症状 The plant is visibly browned on the surface of the soil or has mild symptoms in the 1st leaf sheath
3	植株第 1 叶鞘明显变褐,但叶鞘未变黑 The first leaf sheath of the plant turned brown obviously, but the leaf sheath did not turn black
5	植株第 1 叶鞘变黑或者第 2 叶鞘变褐 The first leaf sheath of the plant turns black or the second leaf sheath turns brown
7	植株第 3 叶鞘出现变褐症状,或植株因发病而发育迟缓或接近死亡 The third leaf sheath of the plant shows symptoms of browning, or the plant is stunted or near death due to the onset of the disease
9	植株死亡 The plant dies



A, F, K: 假禾谷镰孢菌; B, G, L: 禾谷镰孢菌; C, H, M: 三线镰孢菌; D, I, N: 燕麦镰孢菌; E, J, O: 拟轮枝镰孢菌。A~E: PDA 培养基上菌落正面; F~J: PDA 培养基上菌落背面; K~O: 分生孢子。Bar=20 μm。

A, F, K: *F. pseudograminearum*; B, G, L: *F. graminearum*; C, H, M: *F. tricinctum*; D, I, N: *F. avenaceum*; E, J, O: *F. verticillioides*. A-E: Appearance of the colony on the front of PDA medium; F-J: Appearance of the colony on the back of PDA medium; K-O: Conidia. Bar=20 μm.

图 2 分离的 5 种小麦茎基腐病病原菌的菌落与分生孢子的形态特征

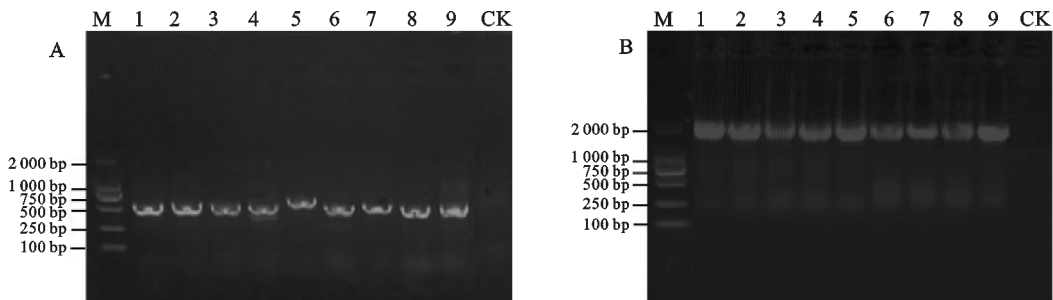
Fig. 2 Colony and conidia morphological characteristics of the five isolated pathogens of Fusarium crown rot of wheat

对分离获得的 138 株菌系提取 DNA 后, 利用引物 ITS1/ITS4 进行 PCR 扩增检测, 结果表明, 待测菌株均能扩增出明亮的大小 500 bp 左右单一条带(图 3A)。将扩增产物测序后与 NCBI 数据库中进行 BLAST 比对, 发现分离鉴定的菌株有 85 株为镰孢菌, 其中 72 株与假禾谷镰孢菌序列相似, 7 株与三线镰孢菌相似, 3 株与禾谷镰孢菌序列相似, 2 株与燕麦镰孢菌相似, 1 株与拟轮枝镰孢菌相似, 相似性均达到 99%~100%。选取 ITS 扩增中有目的条带的菌株进一步利用引物 Tri1F1/Tri1R 对菌株进行扩增检测, 待测菌株均可以扩增出 1 700 bp 左右的片段(图 3B), 阴性对照未扩增出任何条带, 表明 PCR 扩增合格

且检测结果可靠。

2.2 利用 Tri1 序列构建系统进化树

将 Tri1 基因片段扩增的产物测序后与 NCBI 数据库中检索及比对, 随后下载前 100 条序列已知镰孢菌对应片段。将测序获得序列与下载序列放在一起, 用 MEGA 构建进化树。为了更好地展示本研究菌系的结果, 挑选了 100 条序列中的 3 条已知假禾谷镰孢菌 Tri1 序列, 并且随机选择了 6 条禾谷镰孢菌 Tri1 序列, 红色高亮的禾谷镰孢菌 BQ-2 与 NCBI 下载的禾谷镰孢菌序列聚为一起, 与其他鉴定为假禾谷镰孢菌明显聚为两大类, 表明该位点可用于区分禾谷与假禾谷镰孢菌(图 4)。

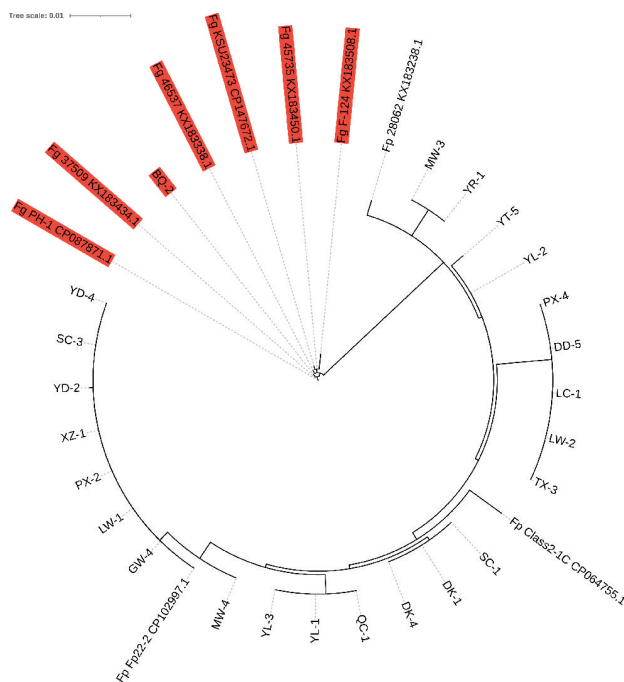


M: DL2000 标记; 1~9: 不同镰孢菌菌株; CK: 阴性对照。

M: DL2000 marker; 1-9: Different *Fusarium* strains; CK: Negative control.

图 3 rDNA-ITS(A)和 Tri1 (B)基因片段扩增结果

Fig. 3 Results of amplification of rDNA-ITS(A) and Tri1 (B) gene fragments



红色高亮的禾谷镰孢菌。
Fusarium graminearum highlighted in red.

图 4 部分镰孢菌菌株的系统发育树
Fig. 4 Phylogenetic tree of some *Fusarium* strains

2.3 两省小麦茎基腐病原菌的种类组成及分布特征

通过形态学和特异序列鉴定,从陕西和山西两省 35 个采样点共分离出 85 株镰孢菌,共有 5 个种。其中,72 株菌株被鉴定为假禾谷镰孢菌,占总分离菌株的 84.71%;7 株菌株被鉴定为三线镰孢菌,占 8.24%;3 株菌株被鉴定为禾谷镰孢菌,占 3.53%;2 株菌株被鉴定为燕麦镰孢菌,占 2.35%;1 株菌株被鉴定为拟轮枝镰孢菌,占 1.18%(表 3)。这表明假禾谷镰孢菌在陕西省和山西省都为优势病原菌;三线镰孢菌分别在陕西省宝鸡市岐山县、山西省晋城市泽州县和山西省运城市芮城县分离到 1、5 和 1 株;禾谷镰孢菌在陕西省宝鸡市岐山县和山西省临汾市曲沃县分别分离出了 1、2 株;燕麦镰孢菌在陕西省宝鸡市岐山县和山西省晋城市泽州县各分离到 1

株;拟轮枝镰孢菌在山西省临汾市曲沃县分离获得 1 株。

2.4 不同地区的假禾谷镰孢菌的致病力测定

为了明确不同假禾谷镰孢菌菌株对小麦的致病性差异,在不同采样点随机选取了 1~2 个菌系开展了苗期致病力测定,结果显示,不同采样地点或同一采样地点分离获得的假禾谷镰孢菌对小麦均有一定的致病性(表 4)。病情指数为 30.00~95.37,发病率为 30.00%~100%;多重检验发现不同省份的采样点及同一省份的不同采样点的假禾谷镰孢菌菌株之间致病力分化较为明显(表 4),如分离自山西省永济市栲栳镇吕封村 YL-1 和山西省永济市董村农场 YD-1,引起小麦茎基腐病的病情指数分别为 91.67 和 59.26,说明分离自同一省份不同区域的两个菌株的病情指数具有显著差异。

表 3 鉴定的小麦茎基腐病原菌的种类及数量

Table 3 Species and quantity of isolated pathogens causing *Fusarium* crown rot of wheat

省份 Province	分离菌株的种类与数量 Type and number of isolates					分离总株数 Total number of isolated strains
	假禾谷镰孢菌 <i>F. pseudograminearum</i>	三线镰孢菌 <i>F. tricinctum</i>	禾谷镰孢菌 <i>F. graminearum</i>	燕麦镰孢菌 <i>F. avenaceum</i>	拟轮枝镰孢菌 <i>F. verticillioides</i>	
陕西 Shaanxi	27	1	1	1	0	30
山西 Shanxi	45	6	2	1	1	55
总计 Total	72	7	3	2	1	85

表4 分离自不同地区的假禾谷镰孢菌致病力测定结果

Table 4 Results of the pathogenicity test of

F. pseudograminearum isolated from various regions

菌株编号 Strain number	病情指数 Disease index	发病率 Disease incidence/%
MW-3	95.37±3.34a	100a
WQ-5	94.44±3.21a	100a
YL-1	91.67±1.67ab	100a
YL-3	90.74±4.90ab	100a
QC-1	87.97±1.86abc	100a
YR-1	85.27±0.45abcd	100a
PX-2	81.91±5.38abcde	100a
MW-4	81.35±3.25abcdef	91.67±8.33a
TX-3	80.83±1.27abcdef	100a
LW-1	79.66±6.70abcdef	100a
YD-2	78.24±4.70abcdef	100a
DK-2	77.78±3.46abcdef	100a
WQ-3	76.85±8.23abcdefg	100a
BS6-5	75.92±4.04abcdefg	100a
LC-1	75.42±10.01abcdefg	91.67±8.33ab
DK-1	73.96±1.04abcdefg	100a
DD-1	72.64±4.41abcdefg	100a
BY-4	70.82±4.26abcdefg	100a
SC-1	70.42±6.14abcdefg	91.67±8.33ab
SC-3	69.31±10.05abcdefg	100a
LW-2	69.01±5.11abcdefg	100a
DK-4	65.28±1.39bcdefgh	100a
YL-2	63.89±7.35bcdefgh	100a
YH-5	61.11±3.87cdefghi	100a
YD-1	59.26±3.70defghi	100a
YT-5	57.39±5.90defghij	91.67±8.33ab
PX-4	56.11±1.11efghij	83.33±8.33b
YD-4	55.16±2.60efghij	91.67±8.33ab
DD-5	53.33±3.33fghij	68.33±9.28c
XZ-1	38.33±2.55hij	61.67±7.26c
XC-3	35.28±4.47ij	55.00±10.41c
GW-4	30.00±5.00j	30.00±5.00d

3 讨论

本研究与2013—2016年黄淮海地区标样及2019年陕西省标样研究结果相比,未分离出尖孢镰孢菌、层出镰孢菌及木贼镰孢菌等,多分离出燕麦镰孢菌和拟轮枝镰孢菌^[14,20]。这可能是由于不同采集地点的生态环境差异所引起的,需要进一步的研究证实。

从分离菌系占比来看,本研究中引起陕西省和山西省小麦茎基腐病的优势病原菌是假禾谷镰

孢菌。朱运启等^[20]于2019年从陕西省茎基腐标样中分离出的假禾谷镰孢菌和禾谷镰孢菌占比分别为89.73%与1.34%,整体比例相近,表明最近几年引起陕西省小麦茎基腐病的病原菌种类稳定。吴斌等^[9]于2016年研究发现假禾谷镰孢菌是山东省小麦茎基腐病优势种(占比68.18%);高飞等^[21]于2019—2020年对河南省茎基腐小麦样品鉴定分析也得出相同结论,其假禾谷镰孢菌的占比达到95.41%。整体来看,目前引起中国小麦茎基腐病的优势菌源为假禾谷镰孢菌,不同麦区占比略有差异。本研究明确了陕西省和山西省小麦茎基腐病病原菌的种类及优势菌群,为小麦茎基腐病害鉴定需要使用的菌种提供了指导。

本研究中,分离自两个不同省份以及同一个省份的不同区域得到的假禾谷镰孢菌菌株在苗期对小麦植株致病力存在明显的差异。其中,从陕西省宝鸡市眉县分离出的菌株MW-3致病力最强,并且相对于朱运启等^[20]于2019年从陕西省宝鸡市眉县分离的假禾谷镰孢菌致病力有所增加。致病力分化的产生原因可能与地理分布和气候条件有关,尚待进一步研究验证。此外,目前用于菌系分子鉴定的通用引物ITS1/ITS4、保守基因*EF-1α*及假禾谷镰孢特异性引物FPG1只能区分到种水平^[22],为了开发出能够指示致病力的标记,本研究尝试通过设计产生真菌毒素trichothecene biosynthetic 1(Tri1)基因的保守引物构建进化树来区分,虽然该位点可以准确区分假禾谷镰孢菌和禾谷镰孢菌,但是与致病性并不相关。这可能因为镰孢菌致病性较为复杂,难以用单个基因进行指示。本研究的尝试,一方面开发了特异性区分假禾谷镰孢菌和禾谷镰孢菌的标记,另一方面为利用镰孢菌产生真菌毒素基因开发更多特异性位点提供了一个思路。

随耕作制度和气候变化的影响,当前小麦茎基腐病的发生具有诸多不确定因素,有必要对茎基腐病的发生动态进行精准预测^[23]。在小麦茎基腐病害发生逐年严重的情况下,亟需加强监测调查,建立监测预警体系,对小麦茎基腐病原菌进行连续多年的监测,为小麦茎基腐病的防控提供理论依据。

参考文献:

[1]胡海燕,董清峰,李冬梅,等.河南省小麦茎基腐病调查及优势病原分析[J].核农学报,2021,35(8):1802.
HU H Y, DONG Q F, LI D M, et al. Disease investigation and

- predominant pathogen analysis of wheat crown rot in Henan Province [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2021, 35(8): 1802.
- [2] 赵利民, 冯超红, 蒋向, 等. 小麦茎基腐病防治技术研究进展 [J]. 中国植保导刊, 2022, 42(11): 22.
ZHAO L M, FENG C H, JIANG X, *et al.* Research progress on control technology of *Fusarium* crown rot of wheat [J]. *China Plant Protection*, 2022, 42(11): 22.
- [3] 周海峰, 杨云, 牛亚娟, 等. 小麦茎基腐病的发生动态与防治技术 [J]. 河南农业科学, 2014, 43(5): 114.
ZHOU H F, YANG Y, NIU Y J, *et al.* Occurrence and control methods of crown rot of wheat [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2014, 43(5): 114.
- [4] MUDGE A M, DILL-MACKY R, DONG Y, *et al.* A role for the mycotoxin deoxynivalenol in stem colonisation during crown rot disease of wheat caused by *Fusarium graminearum* and *Fusarium pseudograminearum* [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2006, 69(1-3): 73.
- [5] WILLIAMS K J, DENNIS J I, SMYL C, *et al.* The application of species-specific assays based on the polymerase chain reaction to analyse *Fusarium* crown rot of durum wheat [J]. *Australasian Plant Pathology*, 2002, 31(2): 119.
- [6] DYER A T, JOHNSTON R H, HOGG A C, *et al.* Comparison of pathogenicity of the *Fusarium* crown rot (FCR) complex (*F. culmorum*, *F. pseudograminearum* and *F. graminearum*) on hard red spring and durum wheat [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2009, 125(3): 387.
- [7] BENTLEY A R, CROMEY M G, FARROKHI-NEJAD R, *et al.* *Fusarium* crown and root rot pathogens associated with wheat and grass stem bases on the South Island of New Zealand [J]. *Australasian Plant Pathology*, 2006, 35(5): 495.
- [8] CHAKRABORTY S, OBANOR F, WESTECOTT R, *et al.* Wheat crown rot pathogens *Fusarium graminearum* and *F. pseudograminearum* lack specialization [J]. *Phytopathology*, 2010, 100(10): 1057.
- [9] 吴斌, 郭霞, 张眉, 等. 鲁西南地区小麦茎基腐病原菌鉴定及其致病力分析 [J]. 麦类作物学报, 2018, 38(3): 358.
WU B, GUO X, ZHANG M, *et al.* Identification and pathogenicity of pathogens associated with the wheat crown rot in the southwest of Shandong Province [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2018, 38(3): 358.
- [10] 张向向, 孙海燕, 李伟, 等. 我国冬小麦主产省小麦茎基腐病原菌的组成及其致病力 [J]. 麦类作物学报, 2014, 34(2): 272.
ZHANG X X, SUN H Y, LI W, *et al.* Composition and pathogenicity of *Fusarium* crown rot pathogens of wheat in major winter wheat production areas of China [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2014, 34(2): 272.
- [11] SMILEY R W, PATTERSON L. Pathogenic fungi associated with *Fusarium* foot rot of winter wheat in the semi-arid Pacific Northwest [J]. *Plant Disease*, 1996, 80(8): 944.
- [12] CHAKRABORTY S, LIU C J, MITTER V, *et al.* Pathogen population structure and epidemiology are keys to wheat crown rot and *Fusarium* head blight management [J]. *Australasian Plant Pathology*, 2006, 35(6): 643.
- [13] LI H L, YUAN H X, FU B, *et al.* First report of *Fusarium pseudograminearum* causing crown rot of wheat in Henan, China [J]. *Plant Disease*, 2012, 96(7): 1065.
- [14] ZHOU H, HE X, WANG S, *et al.* Diversity of the *Fusarium* pathogens associated with crown rot in the Huanghuai wheat-growing region of China [J]. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(8): 2740.
- [15] 范学锋. 中国小麦茎基腐病原菌群体组成及遗传结构分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2021: 71.
FAN X F. Analysis of population composition and genetic structure of pathogens causing *Fusarium* crown rot in China [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021: 71.
- [16] 张磊磊, 闫香凝, 原敏婕, 等. 小麦种质资源茎基腐病抗性鉴定及定位分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2024, 25(2): 184.
ZHANG L L, YAN X N, YUAN M J, *et al.* The resistance investigation and mapping analysis of *Fusarium* crown rot for wheat accessions [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2024, 25(2): 184.
- [17] 李跃, 刘万才, 赵中华. 2022年全国小麦病虫害发生防治概况及对策思考 [J]. 中国植保导刊, 2023, 43(1): 52.
LI Y, LIU W C, ZHAO Z H. The occurrence and management of wheat insect pests and diseases in China in 2022 and reflections on pest control measures [J]. *China Plant Protection*, 2023, 43(1): 52.
- [18] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, *et al.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]//PCR Protocols. Amsterdam: Elsevier, 1990: 315.
- [19] POOLE G J, SMILEY R W, PAULITZ T C, *et al.* Identification of quantitative trait loci (QTL) for resistance to *Fusarium* crown rot (*Fusarium pseudograminearum*) in multiple assay environments in the Pacific Northwestern US [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 125(1): 91.
- [20] 朱运启, 靳鹏飞, 王峭, 等. 陕西省小麦茎基腐病原菌鉴定及其致病力分析 [J]. 植物保护学报, 2022, 49(3): 824.
ZHU Y Q, JIN P F, WANG Q, *et al.* Species identification and pathogenicity analysis of the pathogens causing wheat crown rot in Shaanxi Province [J]. *Journal of Plant Protection*, 2022, 49(3): 824.
- [21] 高飞, 谢源, 潘鑫, 等. 2019—2020年河南省小麦茎基腐病原菌鉴定及致病力测定 [J]. 植物保护学报, 2023, 50(2): 298.
GAO F, XIE Y, PAN X, *et al.* Identification and virulence determination of pathogens of wheat crown rot in Henan Province in 2019—2020 [J]. *Journal of Plant Protection*, 2023, 50(2): 298.
- [22] 谢源. 假禾谷镰孢病毒多样性及 FpgMBV1 弱毒作用研究 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2021: 15.
XIE Y. Mycoviruses diversity in *Fusarium pseudograminearum* and the hypovirulence effect of FpgMBV1 [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2021: 15.
- [23] 栾冬冬, 贾吉玉, 王光州, 等. 中国小麦茎基腐病的发生现状及防治策略 [J]. 麦类作物学报, 2022, 42(4): 512.
LUAN D D, JIA J Y, WANG G Z, *et al.* Occurrence status and control strategies of wheat crown rot in China [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2022, 42(4): 512.