

尖孢镰刀菌在土壤中的竞争腐生 定殖与腐生存活

郝文英 顾希贤 戴丽莉 林先贵

(中国科学院南京土壤研究所)

尖孢镰刀菌是土壤中常见的一种镰刀菌,能寄生于多种植物,导致植株萎蔫,也能较长期地腐生于土中,其中的萎蔫专化型是棉花枯萎病的致病菌,在连续栽种感病棉花品种的情况下,该菌每年随病株残体进入土壤后土中菌量随之增多,因而病情逐年加重,即使棉田改种其它旱作几十年后再种棉花,发病率仍然很高^[1,4]。有人认为尖孢镰刀菌能在土中长期滞留主要归因于其能在多种非致病寄主上生存^[4]。前文指出,厚垣孢子的产生是维持其在土中长期存活的原因^[5],在有新鲜基质的情况下,厚垣孢子就能很快恢复活性。本文再就土壤因子对尖孢镰刀菌在有机残体上的竞争腐生定殖能力及对该菌在植物残体中腐生存活的影响等,探讨该菌在土壤中的存活与消长。

一、材料和方法

1. 材料

(1) 土壤: 采自江苏南通三余棉场和盐城新洋试验站棉枯病田(滨海盐土); 江浦永宁棉场棉枯病田(马肝土)。每克干土含尖孢镰刀菌繁殖体总数为 800—900 个。用前,挑除残根,过 2 毫米筛。

(2) 培养基: 改良 Park 琼脂: NaNO_3 2 克; 山梨糖 10 克; KH_2PO_4 1 克; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 克; $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 0.3 克; 琼脂 15 克; 蒸馏水 1000 毫升, 10 磅/20 分钟灭菌后加 PCNB 1 克,用以测定土壤中尖孢镰刀菌数。柠檬酸铁铵琼脂: NH_4Cl 2 克; KH_2PO_4 1 克; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 克; 柠檬酸铁铵 0.3 克; 山梨糖 10 克; 琼脂 15 克; 蒸馏水 1000 毫升。15 磅/20 分钟灭菌后加 PCNB 1 克,四环素 5 毫克。用以组织分离及土壤中菌量测定。玉米砂培养基: 细石英砂 100 份,玉米粉 3 份,水 13 份,用以培养病原菌。

(3) 菌种: 从新洋试验站分得的尖孢镰刀菌萎蔫专化型 37 号。

2. 方法

(1) 腐生定殖: 取麦秆、稻秆、蚕豆秆、棉秆等剪成 3 厘米左右长的小段,分别埋入加水至所需含水量的上述病土中,每 200 克土中埋秆 50 段,放在 500 毫升烧杯中,每个试验设 3 个重复,于一定温度下培养一周后取出,用水冲洗埋秆上的土粒,再放入三角瓶中振荡换水洗涤 20 次(棉秆冲洗后剥去皮层),取一小块髓部于琼脂平板上,28℃ 培养 1 周,观察并计数定殖率。

(2) 腐生存活: 取自然感病棉秆或人工接种病原菌的棉秆按上法埋入土中或埋入田间涵管内,定期取样,按上法挑取棉秆髓部组织,检测秆内病菌存活情况。

(3) 通气条件影响试验: 将埋有残体的土放在干燥器内,抽出器内空气后分别充以氮气,并用碱性焦性没食子酸液吸除其中剩余的少量氧;充 55% CO_2 及 45% 的空气混合气体;设不抽气的为对照。28℃ 培养后定期取出检测存活或定殖率。

(4) 氧化还原电位影响试验: 在 5×40 厘米的玻璃管中装入加了 5% 用玉米砂培养的尖孢镰刀菌专化型的土, 加水至有 3 厘米深的水层。用甘汞电极和铂金电极分别插入氧化层和还原层 2 分钟后读数并计算其 E_h 值。

二、结果和讨论

(一) 尖孢镰刀菌对土壤中植物残体的腐生定殖

1. 对不同残体的定殖 病原真菌能否在土壤中的有机残落物上腐生定殖, 在一定程度上标志着它是否能在土中腐生存活。试验表明, 自然病土中尖孢镰刀菌除在感病棉秆上定殖外, 在蚕豆、小麦、水稻秆以及抗病棉秆上也都能腐生定殖。土壤淹水时漂浮于水面的紫云英残体也能被该菌定殖(表 1)。其定殖率的高低与基质内易被利用的养分含量有关。蚕豆、紫云英及棉花的蕾、铃期棉秆组织比较幼嫩, 易被利用的可溶性物质含量较成熟期稻、麦、棉秆中者为高, 其定殖率也高(表 2)。看来, 该真菌能够在多种植物残体上腐生定殖。然而土壤中腐生真菌也直接影响尖孢镰孢在植物残体上的腐生定殖。我们将灭过菌的棉花茎秆分别接种土壤中常见的几种生长较快或分解纤维素能力较强的真菌, 待菌丝布满并穿入棉秆后, 分别埋入接种了 3% 病原菌玉米砂培养物的病土中, 于 28°C 培育一周后取出, 在柠檬酸铁铵琼脂平板上检测棉秆内尖孢镰孢的定殖率(表 3)。结果表明, 在布满其它腐生真菌菌丝的棉秆上尖孢镰孢仍然可以穿入棉秆在其中定殖。除预先接种土曲霉的棉秆内其定殖率稍低外, 在接种其它真菌的棉秆上, 尖孢镰孢的定殖率与对照相近或甚至较对照为高。可见, 该菌在土壤中对有机残体的竞争腐生能力是相当强的。

表 1 尖孢镰刀菌在不同残体上的定殖率(%)

Table 1 Colonization of *F. oxysporum* on different plant residues (%)

| 培育时间(周) Time of incubation (week) | 棉 秆 Cotton stem | 麦 秆 Wheat Straw | 稻 秆 Rice straw | 蚕 豆 Broad bean | 紫云英 Milk vetch* |
|---|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|--------------------|
| 1 | 46 | 30 | 30 | 65 | 70 |
| 2 | 49 | 59 | 31 | 70 | — |

* 漂浮于淹水病土的水面(三余病土)。

表 2 尖孢镰孢在不同生育期的抗、感病棉秆上的定殖率(%)

Table 2 Colonization of *F. oxysporum* on resistant and susceptible cotton varieties under different growing stages (%)

| 品 种 Cotton variety | 蕾 期 Bud stage | 铃 期 Boll stage | 成株期 Mature stage |
|--|------------------|-------------------|---------------------|
| 感病棉(江苏 203) Susceptible (Jiangsu 203) | 73 | 80 | 48 |
| 抗病棉(86-1) Resistant (86-1) | 77 | 78 | 27 |

江浦县病土。

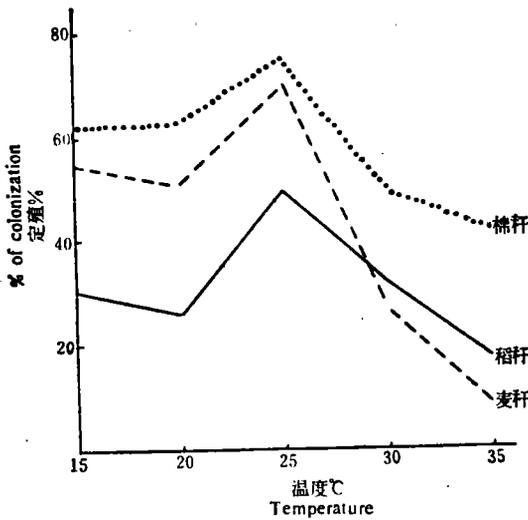


图1 温度对尖镰孢腐生定殖率的影响

Fig. 1 Influence of temperature on saprophytic colonization of *F. oxysporum* in soil

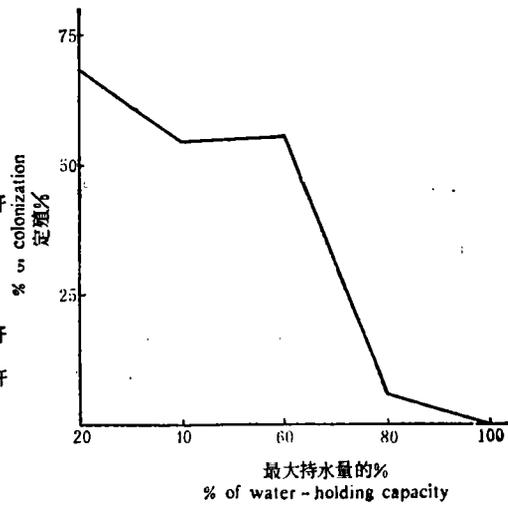


图2 土壤水份对尖镰孢腐生定殖率的影响(培育一周)

Fig. 2 Influence of soil moisture on saprophytic colonization of *F. oxysporum* in soil (After 1 week incubation)

2. 土壤条件对腐生定殖的影响

(1) 温度对定殖的影响: 土温在15—35°C之间该菌在三种稿秆上都有不同程度的定殖, 25°C下定殖率最高, 15—20°C次之, 土温在30°C以上定殖率下降(图1)。

表3 尖镰孢的腐生竞争定殖率

Table 3 Competitive saprophytic colonization of *F. oxysporum* with some soil fungi

| 处理 Treatment | 尖镰孢腐生定殖率(%) % of colonization |
|---------------------------------|-------------------------------|
| CK 对照 | 46.7 |
| <i>Chaetomium</i> sp. F 88 | |
| 球壳菌 | 31.2 |
| <i>Chaetomium</i> sp. 8232 | |
| 球壳菌 | 31.2 |
| <i>Sordaria</i> sp. 3.3744 | |
| 粪壳菌 | 43.7 |
| <i>Mucor</i> sp. 9244 | |
| 毛霉 | 53.0 |
| <i>Rhizoctonia</i> sp. 8744 | |
| 丝核菌 | 61.0 |
| <i>Aspergillus terreus</i> 8026 | |
| 土曲霉 | 22.0 |

(2) 土壤湿度的影响: 试验表明, 当土壤含水量为最大持水量20—60%时, 该菌在土中对棉秆的定殖率在55—68%之间, 含水量为持水量80%时定殖率降低至4—6%, 在渍水条件下的土壤中则完全丧失定殖能力(图2)。

(3) 气体组成对腐生定殖的影响: 在病土中埋置棉秆后, 放在密闭器皿中, 分别充以不同气体并以充空气者为对照。于28°C培育1—2周后取出, 测定尖镰孢在棉秆内的定殖率。

由表4可见, 在充以氮气的缺氧条件下该菌完全失去定殖能力, 而在高浓度二氧化碳条件下培育1周后其定殖率与对照相近, 两周后下降为3%, 但是在一般耕地土壤中二氧化碳浓度不超过10—20%^[2,3]。因此, 在田间自然条件下, 二氧化碳不足以影响该菌的定殖。

表 4 气体组成对尖孢镰刀菌腐生定殖率的影响

Table 4 Influence of air constituent on colonization of *F. oxysporum* in soil

| 培育时间(周) Incubation time (week) | 空气 Air | 氮气 N ₂ | 二氧化碳 CO ₂ 55±5% 空气 Air 45±5% |
|-----------------------------------|-----------|----------------------|--|
| 1 | 25 | 0 | 20 (O ₂ 6.3%) |
| 2 | 48 | 0 | 3 (O ₂ 5.8%) |

上述结果表明,尖孢镰刀菌可以在寄主以外的多种植物残体中腐生定殖,其竞争腐生能力很强,而且田间适合其腐生定殖的温度、湿度等范围也都较广,在淹水条件下虽然在土体内不能定殖,然而对漂浮于水面的基质定殖率却很高。因此,我们认为该菌在土壤中的腐生定殖也是维持其生存的一个重要环节。国内有些地区有以麦类、蚕豆、苕子等作物和棉花套种的习惯,有的甚至以套种作物作为棉田绿肥使用。从防病角度来看,这样的耕作制度是否妥当是一个值得进一步研究和商榷的问题。

(二) 尖孢镰刀菌专化型在土壤中的腐生存活

1. 轮作中该菌在土壤中的存活与消长 尖孢镰刀菌专化型能够在旱作土壤条件下侵染并寄生于多种植物,也能在非寄主残体内定殖,并以形成的厚垣孢子在土中存活,但在水稻根系从未发现有受该菌侵染的现象。看来水稻不是该菌的非致病寄主。从病田不同轮作情况下土壤中尖孢镰刀菌数量消长情况看(表 5),淹水种稻确能降低土中菌量,病害也相应减轻或暂时不发病。在棉田连种两季水稻以后,每克土中含菌数为 0—59 个,只种一季稻者含 58—295 个。但两季稻后再种几季棉花或其它旱作后,菌量又明显逐年增加。国内业已有人在实践中采用稻、棉轮作,对防治和控制棉花枯萎病的发生和发展取得

表 5 轮作对土壤中尖孢镰刀菌存活消长的影响

Table 5 Influence of rice and dry cropping rotation on fluctuations of *F. oxysporum* in soil

| 轮作情况 Rotation system | 菌数/克干土 Propagules/g dry soil |
|---|---------------------------------|
| 棉—稻—麦—稻—麦 Cotton—Rice—Wheat—Rice—Wheat | 0—59 |
| 棉—稻—麦 Cotton—Rice—Wheat | 58—295 |
| 稻—麦—稻—棉—麦 Rice—Wheat—Rice—Cotton—Wheat | 117—410 |
| 稻—麦—稻—棉—麦—棉—麦 Rice—Wheat—Rice—Cotton—Wheat—Cotton—Wheat | 353—470 |
| 稻—麦—稻—棉—麦—棉—麦—棉—麦 Rice—Wheat—Rice—Cotton—Wheat—Cotton—Wheat—Cotton—Wheat | 586—880 |
| 棉花连作 Continuous cotton cropping | 800—900 |

江苏常熟县何市公社。

了一定的效果。

经镜检观察到感病棉秆中除有菌丝体外也有厚垣孢子。为进一步了解残体内的菌体在不同土壤条件下存活状况,我们将人工接种病原菌的棉秆分别埋在种棉花和淹水休闲的涵管土壤中,定期取样测秆内菌体存活率(表6)。结果表明,1979年冬季埋入的病秆,在棉田经过21个月后,棉秆内菌体存活率仍为100%,而淹水土壤中6个月后则不再存活。看来,棉花连作或与其它旱作轮作的情况下,该菌在土壤中得以不断繁殖积累,而与水稻轮作时,因土壤渍水限制其自身的发育及其对其它有机残体的腐生定殖,有碍于该菌在土中长期存活,从而菌量逐渐减少,发病率随之下降。

表6 病秆内尖镰孢萎蔫专化型在不同土壤条件下的存活率

Table 6 Survival of *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in cotton stem buried under different soil conditions

| 取样日期(日/月/年) Sampling date | 埋秆月数 Buried months | 棉田(%) Cotton field | 淹水休闲(%) Flooded fallow |
|------------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------|
| 27/12/1979 | 1 | 92 | 100 |
| 28/1/1980 | 2 | 98 | 96 |
| 27/3/1980 | 4 | 100 | 85 |
| 27/5/1980 | 6 | 100 | 34 |
| 27/8/1980 | 9 | 88 | 0 |
| 29/11/1980 | 12 | 97 | 0 |
| 21/8/1981 | 21 | 100 | — |

田间涵管内埋秆结果。

2. 影响植物残体中该菌在土中存活的土壤因子 土壤水份含量的高低与通气条件的好坏是直接相关的。土壤含水量越高,土壤通气条件则越差,淹水时土壤水份呈饱和状态,这时只在土壤空隙间水分中含有少量溶解氧。随着温度升高,土壤中微生物活性加大,生物耗氧量增多,从而导致土体中氧量减少,最终呈嫌气状态。尖镰孢萎蔫专化型在嫌气条件下不能生长,也不能生成厚垣孢子,而且孢子萌发产生的芽管也因遭到溶解而死亡^[3],以致土中菌量迅速减少(表7)。

表7 土壤温度、水份状况对尖镰孢萎蔫专化型腐生存活的影响

Table 7 Influence of soil temperature and moisture on survival of *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*

| 温度 Temperature (°C) | 最大持水量 40% Water—holding capacity | | 淹 水 Flooded | |
|------------------------|--|----------|----------------|----------|
| | 1 month | 2 months | 1 month | 2 months |
| | % | | % | |
| 25 | 97 | 99 | 43 | 24 |
| 35 | 90 | 100 | 0 | 0 |
| 45 | 0 | 0 | 0 | 0 |

表7结果指出,当土壤含水量为其最大持水量40%时,在25℃和35℃下1个月后,埋入的病秆中病菌存活率不变,而45℃下1个月就全部死亡。在淹水的土壤中,25℃经

1 个月后存活率为 43%，2 个月后下降为 24%，而 35℃ 及 45℃ 下其存活率在 1 个月内已下降为 0，说明土壤温、湿度都直接或间接地影响残体内病菌的腐生存活。

在不同气体组成下土壤中病残体内病菌的腐生存的试验表明，在好气条件下经 16 周存活率并未下降，在充氮缺氧条件下及以 55% 二氧化碳和 45% 空气混合的条件下，在第 8 周其存活率下降为 70% 左右，16 周下降为 0 (表 8)。在高浓度二氧化碳的处理中，由于剩余的少量氧被微生物所消耗，在 16 周时测得其中含氧量为 0，其存活率与缺氧处理者相似，而且，在田间条件下二氧化碳浓度也不会有那么高。由此看来，淹水对存活的影响主要是因缺氧的缘故。

表 8 气体组成对尖孢镰刀菌专化型存活率的影响

Table 8 Influence of air constituent on survival of *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*

| 存活周数 Weeks of survival | 空 气 | 氮 气 | 二氧化碳+空气 |
|---------------------------|-----|----------------|-----------------------|
| | Air | N ₂ | CO ₂ + Air |
| | % | | |
| 2 | 95 | 98 | 86 |
| 4 | 100 | 96 | 98 |
| 8 | 96 | 69 | 70 |
| 16 | 100 | 0 | 0 |

稻田淹水以后由于水中含溶解氧，在土壤表面往往都有一层数毫米的氧化层，这层土壤就成为淹水土壤中病原菌残存的场所。我们将该菌的玉米砂培养物按土重 5% 加入土中，与土混匀后加水至最大持水量 40% 左右，在室温下放置 2 周，待部分菌丝和分生孢子转化为厚垣孢子后，将土装在 5 × 40 厘米玻管内灌水至 3 厘米深的水层，2 个月后分别取氧化层(约 0—5 毫米)及还原层土样(10—20 厘米)在柠檬酸铁铵琼脂上测定其中含有尖孢镰刀菌专化型的繁殖体数量，并同时测定在每个土柱表面加了 0.5 克紫云英粉使原氧化层还原的 0—5 毫米土层及还原层(10—20 厘米)土中含菌数，结果列于表 9。由表可见，氧化层每克土中含菌 656 个，加紫云英的原氧化层 1 周内电位降至 -34mv，在 5 个试验重复，20 个琼脂平板上只出现 1 个菌落，经换算得每克土中含菌数为 10 个，可以说，该菌在这样低的氧化还原势下由于缺氧和还原性物质的毒害作用基本上不能生存。

表 9 土壤氧化还原电位对尖孢镰刀菌存活的影响**

Table 9 Influence of soil redox potential on survival of *F. oxysporum* in soil**

| 处 理 Treatment | 氧化层 Oxidation layer | | 还原层 Reduction layer | |
|--------------------------|------------------------|--------|------------------------|--------|
| | Eh(mv)* | 菌数/克干土 | Eh(mv)* | 菌数/克干土 |
| Control 对照 | 324 | 656 | -38 | 0 |
| 加紫云英 Milk vetch added | -34 | 10 | 0 | 9 |

* 平衡 2 分钟后读数。

** 按 5 个试验重复，20 个柠檬酸铁铵琼脂平板上菌落平均数计算。

综上所述，尖孢镰刀菌专化型在土壤中可以厚垣孢子休眠存活；在死的寄主组织内存

活；以及对有机残体进行腐生定殖后在土中营腐生生活等多种途径而长期存活。由于多种旱作和杂草是该菌的非致病寄主，而且旱作条件下该菌对植物衰老的根系以及其它残落物都有腐生定殖能力，因此，用旱作和棉花轮作不能起到防病作用。而渍水的土壤条件既不利于该菌存活，同时还使其失去再定殖能力，确有降低土中菌量的作用，因此，水旱轮作有减轻或抑制病害发生发展的效果。若在渍水条件下施用绿肥等新鲜有机肥料则更能使氧化层还原而消除残存于其中的病菌。

参 考 文 献

- [1] 仇元, 1964: 棉花黄枯萎病的研究动态及防治研究。中国农业科学, 第2期, 7—14页。
- [2] 程云生等, 1963: 烤田作用的初步研究。土壤学报, 第11卷第3期, 275—284页。
- [3] 戴丽莉、顾希贤、林先贵、郝文英, 1981: 土壤中尖镰孢萎蔫专化型的存在状态与菌量消长的关系。土壤学报, 第18卷第4期, 368—375页。
- [4] Smith, S. N. and Snyder, N. C. (1975): Persistence of *Fusarium oxysporum* t. sp. *vasinfectum* in field in the absence of cotton. *Phytopathology* 65, 190—196.
- [5] Stover, R. H. (1979): Flooding of soil for disease control. In: Mulder D. (ed.) *Soil Disinfestation*. Amsterdam, Elsevier, 368 p. Illus. Ref. pp. 19—29.

SAPROPHYTIC COLONIZATION AND SURVIVAL OF *FUSARIUM OXYSPORUM* IN SOIL

Hao Wenying, Gu Xixian, Dai Lili and Lin Xiangui

(*Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing*)

Summary

This article deals with the saprophytic colonization of *F. oxysporum* on plant residues in relation to its survival in soil. Most of the plant residues, such as the straws of wheat, rice, bean, cotton, milk vetch, etc., are easily colonized by *F. oxysporum* in soil under dry farming, even if those have been colonized previously by *Chaetomium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Rhizoctonia*, *Sordaria* and other soil fungi.

The temperature and soil moisture adapted to saprophytic colonization ranged from 15°—30°C and 20—80% of moisture holding capacity respectively. Fungal growth was suppressed in submerged soil due to lack of oxygen, while colonization still occurred on residues floated above the water.

Propagule density of the pathogen in heavily infested soil decreased sharply under flooding condition, but it could not be entirely eliminated from flooded rice growing soil. It existed in the oxidation layer and propagated gradually as saprophytes or parasites after 1 or 2 successive cotton croppings. When fresh organic matter was added into the soil under flooding condition, the pathogen diminished with the decline of soil Eh.