

小麦白粉病菌分生孢子田间传播的初步研究

刘伟¹, 赵亚男^{1,2}, 韩翠仙^{1,2}, 王奥霖¹,
袁军海², 杨旭光³, 范洁茹^{1*}, 周益林^{1*}

(1. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193;
2. 河北北方学院农林科技学院, 张家口 075000; 3. 宁夏出入境检验检疫局, 银川 750002)

摘要 2015年度采用定容式孢子捕捉器对田间空气中小麦白粉病菌分生孢子传播的初步研究表明,在病害发生初期病菌分生孢子捕捉量比较低,但随着菌源中心病害的逐渐加重,病菌分生孢子在距菌源中心20 m和40 m远处捕捉量随之增大。线性弧度相关分析结果发现,距菌源中心北向20 m和40 m处的孢子捕捉量与风向存在显著正相关性;距菌源中心不同距离处的孢子捕捉量之间均存在极显著正相关性,且在相同方向上,距菌源中心20 m处孢子捕捉量显著高于40 m处孢子捕捉量。

关键词 小麦白粉病菌; 病菌孢子捕捉量; 病菌传播梯度; 流行监测

中图分类号: S 435.121.46 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2018005

A preliminary study on the dispersal of aerial conidia of *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* in wheat fields

LIU Wei¹, ZHAO Yanan^{1,2}, HAN Cuixian^{1,2}, WANG Aolin¹,
YUAN Junhai², YANG Xuguang³, FAN Jieru^{1*}, ZHOU Yilin^{1*}

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. College of Agriculture and Forestry Science and Technology, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China;
3. Ningxia Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Yinchuan 750002, China)

Abstract The dispersal of *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*) conidia in the air was preliminarily studied by Burkard volumetric spore sampler in 2015, showing that the captured number of pathogenic conidia was low during the early epidemic period of wheat powdery mildew, however, the number of *Bgt* spores captured from 20 m and 40 m away from the north or east of the pathogen source center increased along with disease epidemic development. The results of linear-circular correlation analysis showed that the number of *Bgt* spores captured from 20 m and 40 m away from the north of the pathogen source center was significantly and positively correlated with wind direction. The number of *Bgt* spores captured by each spore trap was significantly and positively correlated with each other, and in the same direction, the number of pathogen spores captured from 20 m away from the pathogen source center was significantly higher than that at 40 m.

Key words *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*; captured number of pathogen spores; pathogen dispersal gradient; disease epidemic monitoring

小麦白粉病属典型的多循环气传性真菌病害,病菌分生孢子随气流传播是引起田间、邻近区域甚至远距离寄主发病和流行的主要原因之一^[1-2],因此,研究小麦生长季节空气中病菌孢子的传播距离

和传播量,对于了解病害的田间传播规律和指导制定田间防治策略具有重要意义。曾士迈通过分析小麦条锈病田块内、田块间及区域间的菌源区菌量、传播距离和着落区的发病程度,对小麦条锈病的近程、

中程和远程传播进行了定量研究^[3-4],建立了菌源量与传播距离的关系模型。近年来基于病菌孢子捕捉器捕捉技术的不断改进和发展,已有不少利用病菌孢子捕捉技术来分析研究病菌孢子传播距离和传播量及其关系的研究报道^[5]。例如 Guo 等利用 Burkard 定容式孢子捕捉器可以捕捉到距离接菌中心 25 m 处油菜黑胫病菌 *Leptosphaeria maculans* 的子囊孢子^[6]。鉴于目前利用定容式孢子捕捉器定量研究小麦白粉病菌分生孢子传播距离和传播量关系的研究未见报道,本研究在利用定容式孢子捕捉器监测田间空气中小麦白粉病菌分生孢子动态变化的基础上^[7-9],于 2015 年采用定容式孢子捕捉器,在水平方向上距菌源中心不同距离处进行孢子捕捉,初步分析了不同方向和不同距离处孢子捕捉量之间以及孢子捕捉量与风速、风向、传播距离的关系,此研究结果可为定量研究小麦白粉病田间传播梯度规律奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料和仪器

菌源中心所种小麦品种为‘京双 16’(高感白粉病),接种菌株为小麦白粉病菌混合菌种,由中国农业科学院植物保护研究所小麦白粉病实验室提供。病菌孢子捕捉仪器为 Sporewatch 定容式孢子捕捉器(英国 Burkard 公司生产),气象数据收集装置为 Dynamet 科研级自动气象站(美国 Dynamax 公司生产),病菌孢子数量观察统计装置为奥林巴斯 BX43 生物显微镜(日本 OLYMPUS 公司生产)。

1.2 试验方法

试验位于中国农业科学院植物保护研究所廊坊中试基地(39.5°N,116.6°E),于 2014 年 10 月 15 日播种‘京双 16’,作为诱发中心,按照正常种植密度(120 kg/hm²)播种,种植行距为 25 cm,面积 7 m×5 m=35 m²。为确保菌源中心的形成,于 2015 年 3 月 23 日将在温室内繁殖好并充分发病的小麦白粉病菌盆苗接种于诱发中心,共接种 20 盆。诱发中心四周 100 m 范围内北侧播种花生,其余三侧为空地,以排除外来菌源的影响。

于 2015 年 4 月 15 日共安放 4 台病菌孢子捕捉器,分别于诱发中心北向和东向 20、40 m 处各放置 1 台,所有捕捉器的进气口距地面 0.6 m,之后每 7 d 给捕捉器换鼓并获得鼓上的捕捉带,将吸附有孢子

的捕捉带平均剪成 7 段,每段 48 mm 代表 1 d,将捕捉带黏附在载玻片上,置于奥林巴斯显微镜 BX43(日本)下计数。每段按捕捉鼓移动方向检查 8 次,然后得出每日孢子捕捉量。利用 Dynamet 科研级自动气象站获取田间气象数据,得到日平均风速、日平均风向等相关值。安放病菌孢子捕捉器后,每 7 d 换鼓的同时对菌源中心处的发病情况进行调查,共调查 100 茎,分级标准参照改进后的 0~9 级法^[10]进行,并计算病情指数(DI):

$$DI = \{ (0 \times n_0 + 1 \times n_1 + \dots + 9 \times n_9) / [9 \times (n_0 + n_1 + \dots + n_9)] \} \times 100;$$

其中 $n_0, n_1, \dots, n_9$ 分别代表不同发病级别的调查株数。

1.3 数据统计与分析

空气中距菌源中心北向 20、40 m 处和东向 20、40 m 处共 4 个位置白粉病菌分生孢子捕捉量之间的相关性(皮尔逊相关)分析以及病菌孢子捕捉量与日平均风速的相关性(皮尔逊相关)分析采用 R 软件的“psych”包;距菌源中心北向 20、40 m 处和东向 20、40 m 处病菌孢子捕捉量与风向的线性弧度相关分析采用 R 软件的“circular”包。

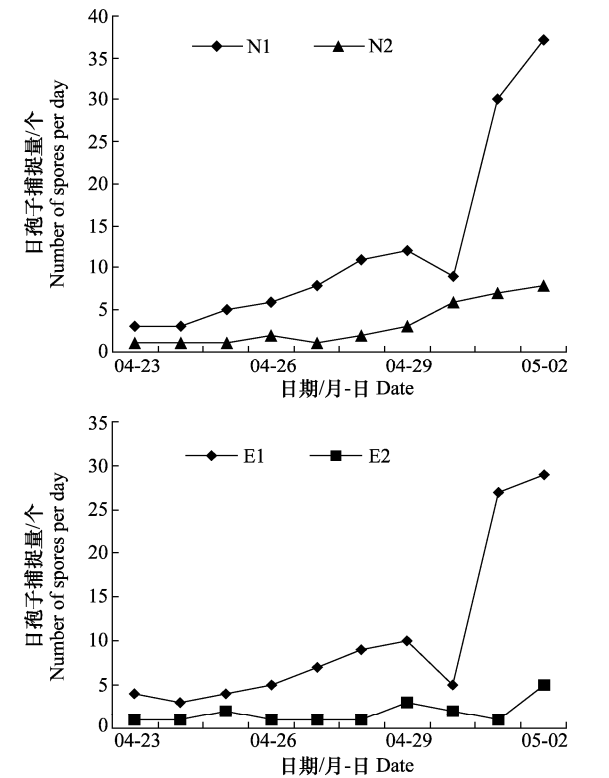
2 结果与分析

2.1 田间小麦白粉病菌源中心病情与距菌源中心不同距离处孢子捕捉量的关系

由图 1 可见,2015 年 4 月 23 日在距菌源中心北向和东向 20、40 m 处首次捕捉到孢子,孢子量较少,此时田间病情指数仅为 6.67,病害较轻,说明早期白粉病菌分生孢子传播量较低,但当菌源中心病情指数达到 16.67 之后(5 月 2 日),即在距菌源中心北向和东向 20 m 远处分别捕捉到分生孢子 37 个和 29 个,距菌源中心北向和东向 40 m 处的孢子捕捉量也开始增多,分别为 8 个和 5 个。

2.2 距菌源中心不同距离处孢子捕捉量与冠层风的关系

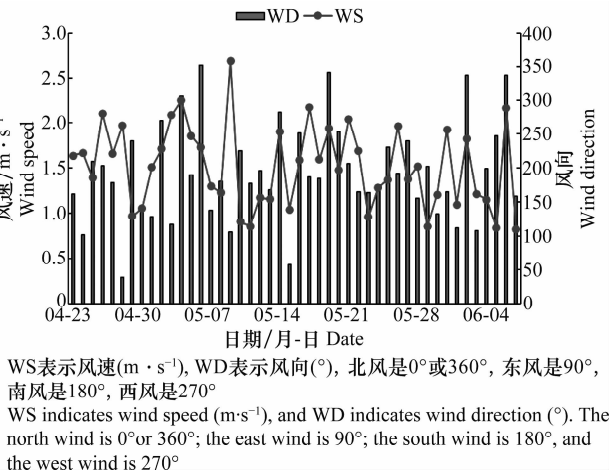
由图 2 可见生长季节内冠层风速大多在 0.5~2 m/s 之间,风向在 150°~250°之间(图 2 和 3),为东南风(135°/SE)~南风(180°/S)~西南风(225°/SW)。由线性弧度相关分析也可以看出(表 1),在距菌源中心北向 20 m 和 40 m 处孢子捕捉量与风向显著正相关,而且距菌源中心不同距离处孢子捕捉量随风速的增加而增加。



N1、N2、E1和E2分别表示距菌源中心北向20、40 m和东向20、40 m处的日孢子捕捉量
N1, N2, E1 and E2 indicate the number of *Bgt* spores per day captured from 20 m and 40 m away from the north or east of the pathogen source center, respectively

图 1 2015 年度病菌孢子捕捉早期距菌源中心不同距离处的日孢子捕捉量

Fig. 1 Number of *Bgt* spores per day caught from different distances from the pathogen source center after inoculation in the early stage of pathogen spore capture in 2015



WS表示风速($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$), WD表示风向($^{\circ}$), 北风是 0° 或 360° , 东风是 90° , 南风是 180° , 西风是 270°
WS indicates wind speed ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$), and WD indicates wind direction ($^{\circ}$). The north wind is 0° or 360° ; the east wind is 90° ; the south wind is 180° , and the west wind is 270°

图 2 2015 年度小麦生长季节内日平均风速和风向

Fig. 2 Daily mean wind speed and wind direction in the wheat-growing season in 2015

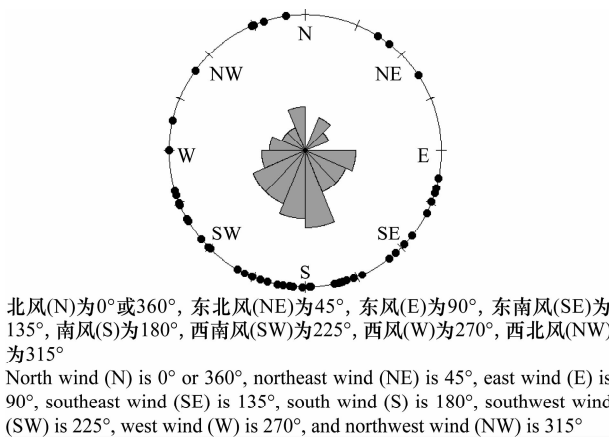


图 3 2015 年度小麦生长季节内日平均风向数据的圆形分布图

Fig. 3 Raw circular data plot of daily mean wind direction in the wheat-growing season in 2015

表 1 距菌源中心不同距离处孢子捕捉量与风速和风向的相关系数¹⁾

Table 1 Correlation coefficients among daily wind speed, wind direction and the number of spores captured from 20 m and 40 m away from the north or east of the pathogen source center

参数 Parameter	N1	N2	E1	E2
WS(r_p)	0.277 9	0.071 2	0.265 5	0.058 3
WD(r_c)	0.391 4 *	0.316 3 *	0.391 3 *	0.159 0

1) WS 表示风速($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$), WD 表示风向($^{\circ}$)。N1、N2、E1 和 E2 分别表示距菌源中心北向 20、40 m 和东向 20、40 m 处的孢子捕捉量。 r_p 表示皮尔逊相关, r_c 表示线性弧度相关。相关系数显著性水平: $0.01 < P \leq 0.05$ (*)。
WS indicates wind speed ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$), WD indicates wind direction ($^{\circ}$). N1, N2, E1 and E2 indicate the number of *Bgt* spores captured from 20 m and 40 m away from the north or east of the pathogen source center, respectively. r_p indicates Pearson correlation, and r_c indicates linear-circular correlation. Significance level for the correlation coefficients: $0.01 < P \leq 0.05$ (*).

2.3 距菌源中心不同距离处孢子捕捉量之间的关系

由表 2 可以看出,距菌源中心同一方向 20 m 和 40 m 处两孢子捕捉量之间存在极显著正相关性,且距菌源中心不同方向 20 m 和 40 m 处各孢子捕捉量之间也均存在极显著正相关性,相关系数为 0.806 1 ~ 0.982 4。

2.4 距菌源中心相同方向不同距离处孢子捕捉量之间的比较

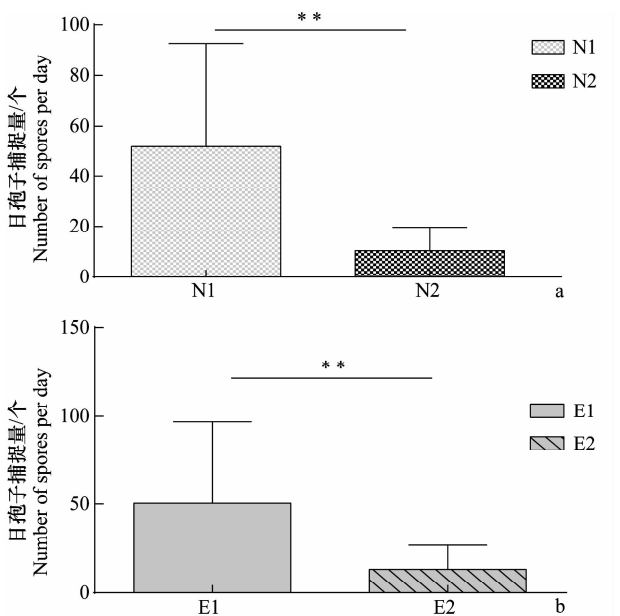
方差分析结果发现(图 4),距菌源中心北向 20、40 m 两处孢子捕捉量之间和东向 20、40 m 两处孢子捕捉量之间均存在极显著差异, N1 处孢子捕捉量(均值 51.8 个)高于 N2 处孢子捕捉量(均值 10.4

个),而 E1 处孢子捕捉量(均值 50.5 个)高于 E2 处孢子捕捉量(均值 13.3 个)。

表 2 距菌源中心不同距离处孢子捕捉量之间的相关系数¹⁾
Table 2 Correlation coefficients of the spore number between different spore traps 20 m and 40 m away from the north or east of the pathogen source center

病菌孢子捕捉量 Captured number of pathogen spores	N1	N2	E1	E2
N1	—	0.849 1**	0.811 9**	0.821 7**
N2		—	0.806 1**	0.807 0**
E1			—	0.982 4**
E2				—

1) 表中 N1、N2、E1 和 E2 分别表示距菌源中心北向 20、40 m 和东向 20、40 m 处的孢子捕捉量。相关系数显著性水平: $P \leq 0.01$ (**)。
N1, N2, E1 and E2 indicate the number of *Bgt* spores captured from 20 m and 40 m away from the north or east of the pathogen source center, respectively. Significance level for the correlation coefficients: $P \leq 0.01$ (**).



图中N1、N2、E1和E2分别表示距菌源中心北向20、40 m和东向20、40 m处的日孢子捕捉量。差异显著性水平: $P \leq 0.01$ (**)
N1, N2, E1 and E2 indicate the number of *Bgt* spores per day captured from 20 m and 40 m away from the north or east of the pathogen source center, respectively. Significance level for the differences: $P \leq 0.01$ (**)

图 4 距菌源中心北向 20、40 m 处孢子捕捉量之间(a)和东向 20、40 m 处孢子捕捉量之间(b)的方差分析
Fig. 4 Variance analysis of the spore number between different spore traps 20 m and 40 m away from the north (a) or east (b) of the pathogen source center

3 结论与讨论

本试验采用定容式孢子捕捉器对田间空气中小麦白粉病菌分生孢子传播规律的初步研究表明,白粉

病菌分生孢子在病害发生初期虽然传播量较低,但在菌源中心北向和东向 40 m 处均可以捕捉到病菌孢子,当菌源中心病情指数达到 16.67 时,距菌源中心北向和东向 20 m 和 40 m 处分生孢子捕捉量迅速增加,这表明分生孢子田间传播量与菌源中心病情密切相关。

圆形分布统计分析可以将圆形数据和线性数据进行相关性分析,如 Sady's 采用该方法对枝孢菌 *Cladosporium*^[11] 在空气中的传播进行了研究。本研究也采用圆形分布统计分析中的线性弧度相关对孢子捕捉量和风向之间的相关性进行分析,该方法有效解决了风向为矢量数据的问题,结果发现距菌源中心北向 20、40 m 处孢子捕捉量与风向显著正相关,该结果与 2015 年度小麦白粉病春季流行阶段风向主要以南风或者偏南风为主相符。

距菌源中心不同距离处孢子捕捉量之间存在极显著正相关性,这是因为小麦白粉病菌为典型气传性病害,病菌分生孢子由菌源中心随气流向外传播,因此距菌源中心不同距离处捕捉量之间存在正相关性,但随着传播距离增加,空气中孢子浓度降低,孢子捕捉量随之减少,因此,在同一方向上随着距菌源中心距离的增加,40 m 处孢子捕捉量显著低于 20 m 处孢子捕捉量。

病菌孢子田间传播受多种因素影响^[1-2],其中风是引起气传病害孢子传播的主要因素,病菌孢子释放一般所需风速的大小范围为 0.6~2.0 m/s^[12],在本研究的小麦生长季节内,日平均风速大多在 0.5~2.0 m/s 之间,有利于病菌分生孢子释放,且由于本研究病菌孢子捕捉期内,降雨较少,并人为排除了地势、地形、栽培条件等因素影响,因此,本研究仅对菌源量与风速和风向、传播距离的关系等进行初步分析,具有局限性,下一步将在此研究基础上,结合菌源中心病情以及气象因素,在不同方向上增加捕捉距离梯度,建立病菌的孢子传播梯度模型,为定量研究小麦白粉病田间发生流行提供理论基础,也为病菌孢子捕捉器在田间的使用包括有效监测范围等提供理论依据。

参考文献

[1] 马占鸿. 植病流行病学[M]. 北京: 科学出版社, 2010.
[2] 肖悦岩, 季伯衡, 杨之为, 等. 植物病害流行与预测[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1998.
[3] 曾士迈. 小麦条锈病春季流行规律的数理分析 II—传播距离的研究[J]. 植物病理学报, 1963, 6(2): 141-151.
[4] 曾士迈. 小麦条锈病远程传播的定量分析[J]. 植物病理学报, 1988, 18(4): 213-223.

- [5] BURT P J A, RUTTER J, RAMIREZ F. Airborne spore loads and mesoscale dispersal of the fungal pathogens causing Sigatoka diseases in banana and plantain [J]. *Aerobiologia*, 1998, 14(2):209–214.
- [6] GUO X W, FERNANDO W G D. Seasonal and diurnal patterns of spore dispersal by *Leptosphaeria maculans* from canola stubble in relation to environmental conditions [J]. *Plant Disease*, 2005, 89(1):97–104.
- [7] CAO Xueren, DUAN Xiayu, ZHOU Yilin, et al. Dynamics in concentrations of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* conidia and its relationship to local weather conditions and disease index in wheat [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2012, 132(4): 525–535.
- [8] 刘伟, 姚冬明, 范洁茹, 等. 田间空气中小麦白粉菌分生孢子的动态监测研究[J]. *植物病理学报*, 2016, 46(1):112–118.
- [9] 闫征远, 范洁茹, 刘伟, 等. 基于田间空气中病菌孢子浓度的小麦白粉病病情估计模型研究[J]. *植物病理学报*, 2017, 47(2):253–261.
- [10] 盛宝钦, 段霞瑜. 对记载小麦成株白粉病“0~9 级法”的改进[J]. *北京农业科学*, 1991(1):38–39.
- [11] SADY'S M, KENNEDY R, SKØTH C A. An analysis of local wind and air mass directions and their impact on *Cladosporium* distribution using HYSPLIT and circular statistics [J]. *Fungal Ecology*, 2015, 18: 56–66.
- [12] AYLOR D E, LUKENS R J. Liberation of *Helminthosporium maydis* spores by wind in field [J]. *Phytopathology*, 1974, 64(8): 1136–1138.
- (责任编辑: 田 喆)
- (上接 46 页)
- [12] PFAFFL M W, TICHOPAD A, PRGOMET C, et al. Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper—Excel-based tool using pair-wise correlations [J]. *Biotechnology Letters*, 2004, 26(6): 509–515.
- [13] XIE Fuliang, XIAO Peng, CHEN Dongliang, et al. miRDeepFinder: a miRNA analysis tool for deep sequencing of plant small RNAs [J]. *Plant Molecular Biology*, 2012, 80(1): 75–84.
- [14] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402–408.
- [15] BRUNNER A M, YAKOVLEV I A, STRAUSS S H. Validating internal controls for quantitative plant gene expression studies [J/OL]. *BMC Plant Biology*, 2004, 4(1): 14. DOI: 10.1186/1471-2229-4-14.
- [16] 冯兆民, 舒跃龙. 数字 PCR 技术及其应用进展[J]. *病毒学报*, 2017, 33(1): 103–107.
- [17] HUIS R, HAWKINS S, NEUTELINGS G. Selection of reference genes for quantitative gene expression normalization in flax (*Linum usitatissimum* L.) [J/OL]. *BMC Plant Biology*, 2010, 10(1): 71. DOI:10.1186/1471-2229-10-71.
- [18] LIU Qiuxu, QI Xiao, YAN Haidong, et al. Reference gene selection for quantitative real-time reverse-transcriptase PCR in annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) subjected to various abiotic stresses [J/OL]. *Molecules*, 2018, 23(1): 172. DOI: 10.3390/molecule.23010172.
- [19] EXPÓSITO-RODRÍGUEZ M, BORGES A A, BORGES-PÉREZ A, et al. Selection of internal control genes for quantitative real-time RT-PCR studies during tomato development process [J/OL]. *BMC Plant Biology*, 2008, 8(1): 131. DOI: 10.1186/1471-2229-8-131.
- [20] LIU Xin, GUAN Huirui, SONG Min, et al. Reference gene selection for qRT-PCR assays in *Stellera chamaejasme* subjected to abiotic stresses and hormone treatments based on transcriptome datasets [J/OL]. *PeerJ*, 2018, 6: e4535. DOI:10.7717/peerj.4535. eCollection 2018.
- [21] JIANG Shengjuan, SUN Yujun, WANG Songhua. Selection of reference genes in peanut seed by real-time quantitative polymerase chain reaction [J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2011, 46(10): 2191–2196.
- [22] DEKKERS B J, WILLEMS L, BASSEL G W, et al. Identification of reference genes for RT-qPCR expression analysis in Arabidopsis and tomato seeds [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2012, 53(1): 28–37.
- [23] MARTINS P K, MAFRA V, DE SOUZA W R, et al. Selection of reliable reference genes for RT-qPCR analysis during developmental stages and abiotic stress in *Setaria viridis* [J/OL]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 28348. DOI: 10.1038/srep28348.
- [24] CHEN Yu, HU Baoyun, TAN Zhiqun, et al. Selection of reference genes for quantitative real-time PCR normalization in creeping bentgrass involved in four abiotic stresses [J]. *Plant Cell Reports*, 2015, 34(10): 1825–1834.
- [25] SAHA P, BLUMWALD E. Assessing reference genes for accurate transcript normalization using quantitative real-time PCR in pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] [J/OL]. *PLoS ONE*, 2014, 9(8): e106308. DOI:10.1371/journal.pone.0106308. eCollection 2014.
- [26] DEKKERS B J, HE H, HANSON J, et al. The *Arabidopsis* delay of germination 1 gene affects *ABSCISIC* acid insensitive 5 (*ABI5*) expression and genetically interacts with *ABI3* during *Arabidopsis* seed development [J]. *The Plant Journal*, 2016, 85(4): 451–465.
- (责任编辑: 杨明丽)