

高温胁迫对禾谷镰孢生长和致病力的影响

徐庆^{1,2}, 王奥霖², 聂晓², 刘伟², 张昊²,
曹世勤^{1,3*}, 范洁茹^{2*}, 周益林²

(1. 甘肃农业大学植物保护学院, 兰州 730070; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害综合治理
全国重点实验室, 农产品质量安全生物性危害因子(植物源)控制重点实验室, 北京 100193;
3. 甘肃省农业科学院小麦研究所, 兰州 730070)

摘要 为探究高温胁迫对禾谷镰孢生长和致病力的影响,本研究测定了禾谷镰孢 5 株耐高温菌株和 4 株温度敏感型菌株在 25℃ 和 30℃ 下的菌丝生长速率、产孢量、孢子萌发率以及不同胁迫压力下的生长速率、致病力和 DON 毒素含量等。结果表明,不论耐高温菌株还是温度敏感型菌株,30℃ 高温对其菌丝生长均有抑制作用,但对产孢量和孢子萌发有促进作用;30℃ 高温能减轻 NaCl 和 CaCl₂ 胁迫对禾谷镰孢生长的抑制,但是不影响 KCl、刚果红, SDS 和 H₂O₂ 对病原菌的抑制作用;在 30℃ 下,大部分耐高温菌株的致病力不变或降低,而大部分温度敏感型菌株的致病力反而增加,30℃ 对大部分菌株的 DON 毒素产量有一定促进作用。研究结果可为研究气候变化下小麦赤霉病的流行和预测提供理论基础。

关键词 禾谷镰孢; 高温胁迫; 渗透胁迫; 致病力; DON

中图分类号: S 432.1 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2022141

The effect of heat stress on the growth and aggressiveness of *Fusarium graminearum* isolates

XU Qing^{1,2}, WANG Aolin², NIE Xiao², LIU Wei², ZHANG Hao²,
CAO Shiqin^{1,3*}, FAN Jieru^{2*}, ZHOU Yilin²

(1. College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Key Laboratory of Control of Biological Hazard Factors (Plant Origin) for Agricultural Product Quality and Safety, Beijing 100193, China; 3. Wheat Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China)

Abstract In order to explore the effect of heat stress on the growth and aggressiveness of *Fusarium graminearum*, we measured the mycelia growth, sporulation, spore germination, osmotic stress, aggressiveness and DON production of five heat-tolerant isolates and four heat-sensitive isolates at 25°C and 30°C. The results showed that the mycelial growth was inhibited but the sporulation and spore germination were promoted at 30°C for both heat-tolerant and -sensitive isolates. The high temperature (30°C) treatment reduced the inhibition caused by NaCl and CaCl₂ osmotic stress to the growth of *F. graminearum* isolates, but showed no effect on the inhibition caused by KCl, Congo Red, SDS and H₂O₂ stress. Furthermore, the aggressiveness remained unchanged or decreased at 30°C in most heat-tolerant isolates, while increased in most heat-sensitive isolates, and high temperature (30°C) had a certain promoting effect on the production of DON toxins in most isolates. This study provides a theoretical basis for the prevalence and forecasting of Fusarium head blight under climate change.

Key words *Fusarium graminearum*; heat tolerance; osmotic stress; aggressiveness; DON

禾谷镰孢 *Fusarium graminearum* Schwabe 是 小麦赤霉病 (Fusarium head blight, FHB) 的主要致

病菌之一。小麦赤霉病在我国 1936 年首次报道,近年来,由于气候、耕作制度变化等的影响,小麦赤霉病在我国长江中下游和黄淮海麦区频繁发生,近五年,全国年均发病面积 300 万~600 万 hm^2 , 约占小麦种植面积的 20%, 对小麦安全生产构成了严重威胁^[1-4]。禾谷镰孢侵染小麦后不仅会导致作物产量降低,还会在感病小麦籽粒中产生一系列真菌毒素,如:脱氧雪腐镰孢菌烯醇(deoxynivalenol, DON)、雪腐镰孢菌烯醇(nivalenol, NIV)、玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)等,造成食品安全问题^[5]。

温度作为重要的环境因素,不仅影响作物生长,也影响病原菌的生存、繁殖。已有研究报道,温度会影响镰孢菌在田间分布的种类和菌群结构,进而影响病害的发生,如 Saremi 等^[6]通过研究镰孢菌田间种群密度和温度等气象因子之间的关系,证明了温度等气象因子在镰孢菌的生态学性状如产孢量、孢子萌发、致病力等方面起重要作用。纪莉景等^[7]通过测定不同温度下假禾谷镰孢 *Fusarium pseudograminearum* 的生物学性状,确定了其菌丝生长温度范围为 4~30℃,最适温度为 28℃;假禾谷镰孢孢子萌发的温度范围为 4~35℃,分生孢子萌发的温度范围为 12~30℃。赵亚男^[8]采用菌丝生长速率法,明确了小麦赤霉病菌 *F. asiaticum* 和 *F. graminearum* 在不同温度下生长的速率及温度敏感性,两个种群生长的最适宜温度均为 25℃, 22℃ 和 28℃ 次之, 30℃ 生长速率降低, 32℃ 下生长速率显著受到抑制。综上,温度对镰孢菌的生长有影响,但高温胁迫对禾谷镰孢产孢、孢子萌发、渗透压胁迫、致病力和产毒素方面的影响鲜有报道。

因此,本文研究了常温 25℃ 和高温 30℃ 胁迫下,不同温度敏感型禾谷镰孢菌株在菌丝扩展、产孢量、孢子萌发、渗透压胁迫、致病力和产 DON 毒素量等方面的差异,以明确高温胁迫对病原菌生长发育和致病力的影响,并明确耐高温菌株抵御高温的侵染阶段和生理特点,为研究气候变化下小麦赤霉病的流行预测提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

禾谷镰孢菌株:共 9 株,为 2018 年采自湖北省襄阳市和荆州市不同区(县)感染小麦赤霉病的小麦

病穗的单孢分离物^[8],由中国农业科学院植物保护研究所和湖北省农业科学院植保土肥所提供。

1.2 供试培养基

SNA 培养基:1 g KH_2PO_4 , 1 g KNO_3 , 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 g KCl, 0.2 g 葡萄糖, 0.2 g 蔗糖, 20 g 琼脂粉, 补水至 1 L。

PDA 培养基:200 g 马铃薯, 20 g 葡萄糖, 20 g 琼脂粉, 补水至 1 L。

WA 培养基:10 g 琼脂粉, 5 g 葡萄糖, 补水至 1 L。

绿豆汤培养基:30 g 绿豆用蒸馏水煮沸 10 min, 4 层纱布过滤, 补水至 1 L。

TBI 培养基:30 g 蔗糖, 1 g KH_2PO_4 , 0.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.5 g KCl, 10 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.871 g 精氨酸, 200 μL 微量元素[5 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.25 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 50 mg $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 50 mg H_3BO_3 , 5 g 柠檬酸, 50 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ddH_2O 定容至 100 mL 搅拌充分,用直径 25 mm 的玻璃纤维滤纸及配套过滤器(Whatman GF/A)过滤除菌, 4℃ 保存],磁力搅拌器搅拌均匀,蒸馏水定容至 1 L。

所有培养基均 121℃, 高压灭菌 20 min 后备用。

1.3 试验方法

1.3.1 禾谷镰孢菌株活化和孢子悬浮液的制备

菌株活化:将保存的菌株接种于 PDA 培养基中央, 25℃ 培养箱中黑暗培养 4~5 d, 从菌落边缘打取菌饼接种到新的 PDA 平板上培养, 待用。

孢子悬浮液制备:用直径 5 mm 打孔器在活化的菌株菌落边缘打取数个菌饼, 置于 30 mL 绿豆汤培养基中, 25℃, 175 r/min 振荡培养 5 d, 灭菌的 4 层擦镜纸过滤, 4 000 r/min 3 min 浓缩富集, 无菌 ddH_2O 清洗两次, 备用。

1.3.2 高温胁迫对禾谷镰孢菌丝生长的抑制

采用菌丝生长速率法。在已活化的菌株菌落边缘打取 5 mm 菌饼, 接种于直径 90 mm 的 SNA 平板上, 置于 25℃ 和 30℃ 黑暗培养, 每处理重复 3 次, 培养 6 d 后, 采用十字交叉法测量菌落直径, 计算高温胁迫抑制率。

$$\text{抑制率} = \frac{25^\circ\text{C 菌落直径} - 30^\circ\text{C 菌落直径}}{25^\circ\text{C 菌落直径} - \text{菌饼直径}} \times 100\%$$

1.3.3 高温胁迫下禾谷镰孢产孢量测定

采用绿豆汤振荡培养法。在已活化的菌株菌

落边缘打取 5 mm 菌饼,接种于含 30 mL 的绿豆汤培养基中,每瓶 5 个菌饼,分别于 25℃ 和 30℃ 下,175 r/min 振荡培养 3 d,血球计数板计数,计算单位体积产孢量,每个温度处理 3 个重复,以 25℃ 培养为对照,用 *t* 测验比较 25℃ 和 30℃ 下产孢量的差异显著性。

1.3.4 高温胁迫下禾谷镰孢的孢子萌发

将孢子悬浮液浓度调节为 5×10^4 个/mL,取 200 μ L 均匀涂布于直径 9 cm 的水琼脂平板上,分别置于 25℃ (对照)和 30℃ 下黑暗培养,每个温度处理 3 次重复,于培养 6、8、10、12 h 时,在显微镜下观察孢子萌发率,每个重复至少观察 100 个孢子,当芽管长度超过分生孢子短径一半即为萌发,直至萌发生率达 90% 及以上。

1.3.5 高温下多种胁迫对禾谷镰孢生长的影响

在已活化的菌株菌落边缘打取 5 mm 菌饼,分别接种到终浓度为 1 mol/L NaCl, 1 mol/L KCl, 0.25 mol/L CaCl₂, 0.05% 刚果红, 0.05% SDS 或 0.05% H₂O₂ 的 PDA 平板上,以添加等体积无菌水为对照,每处理重复 3 次,置于 25℃ (温度对照)和 30℃ 黑暗培养,6 d 后,采用十字交叉法测量菌落直径。采用 *t* 检验法分别比较同一菌株同一胁迫处理下 25℃ 和 30℃ 下菌落直径的差异显著性,同一菌株相同温度下各胁迫处理与无菌水对照之间的差异显著性。

1.3.6 高温胁迫下禾谷镰孢的致病力测定

致病力测定采用小麦胚芽鞘室内接种法^[9]。将‘京双 16’用 1% 次氯酸钠溶液消毒 1 min,无菌水冲洗至无味,置于铺有 4 层滤纸的发芽盒里,种子腹沟朝下,粒与粒之间保持一定间距,盒内保持湿润,盒上盖湿润纱布,转移至人工气候培养箱,25℃,L//D = 12 h//12 h,培养 2~3 d 至胚芽鞘长到 2~3 cm,选取长势较一致的胚芽鞘置于铺有 2 层滤纸的 9 cm 培养皿中,每皿 10 个,并设置 2 个重复。剪去鞘尖 2~3 mm,戴上用浓度为 1×10^6 个/mL 的孢子悬浮液浸湿的滤纸帽,以无菌水浸湿的滤纸帽接种为对照,培养皿上倒置经紫外线灭菌的 500 mL 烧杯,封口膜封口,留烧杯嘴供加水 and 植株呼吸,置于人工气候培养箱,分别于 25℃ (对照)和 30℃,L//D = 12 h//12 h 条件下培养,接种 3 d 后,去除烧杯和滤纸片,7 d 后测量 25℃ 和 30℃ 下培养的胚芽鞘茎基部的褐色病斑长度,用 *t* 检验法进行差异显著性

分析,并计算 30℃ 下病斑长度和 25℃ 病斑长度的比值(*R*)。当 $R > 1$ 且 30℃ 和 25℃ 下病斑长度有显著性差异,表明高温下致病力显著增加,当 $R < 1$ 且 30℃ 和 25℃ 下病斑长度有显著性差异,表明高温下致病力显著降低。

1.3.7 高温胁迫下禾谷镰孢的 DON 毒素产量

将孢子悬浮液接种于 20 mL/瓶 TBI 培养基^[10]中,每瓶大约 5×10^4 个孢子,于 25℃ (对照)和 30℃ 黑暗条件下,175 r/min 振荡培养 7 d,过滤收集滤液于 2 mL 离心管,每处理 3 个重复,用呕吐毒素(脱氧雪腐镰孢菌烯醇, DON)酶联免疫试剂盒(涿州凯斯柯生物技术有限公司)测定滤液中 DON 毒素含量,*t* 检验法进行差异显著性分析,并计算 30℃ 和 25℃ 下 DON 含量的比值(*R*)。当 $R > 1$ 且 30℃ 和 25℃ 下 DON 含量有显著差异,表明高温下产毒量显著增加,当 $R < 1$ 且 30℃ 和 25℃ 下 DON 含量有显著性差异,表明高温下产毒量显著降低。

1.3.8 数据分析

数据分析使用 R 语言采用 RGui 4.1.2 进行统计分析,选择独立样本 *t* 检验法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对禾谷镰孢菌丝生长的影响

供试的 9 株菌株在 25℃ 和 30℃ 下的菌落直径和抑制率如表 1 所示,9 个菌株在高温下的抑制率分布在 21%~34% 之间,根据抑制率将 9 个菌株分为两组,抑制率 $> 30\%$ 时归类为温度敏感型菌株,包括菌株 Fg47、Fg39、Fg180590 和 Fg180621;抑制率 $< 30\%$ 时,归类为耐高温菌株,包括 Fg180664、Fg180663、Fg180680、Fg180730 和 Fg180673。

2.2 高温胁迫对禾谷镰孢产孢量的影响

温度对禾谷镰孢的产孢量有一定的影响(表 2),5 株耐高温菌株中,Fg180664 和 Fg180673 在 25℃ 和 30℃ 下产孢量没有显著差异,但是菌株 Fg180663、Fg180680、Fg180730 在 30℃ 的产孢量显著高于 25℃ ($P < 0.05$)。而 4 株温度敏感型菌株中,除了菌株 Fg47 产孢量在两个温度间没有显著差异外,菌株 Fg39、Fg180590、Fg180621 在 30℃ 条件下的产孢量显著低于 25℃ 下的产孢量 ($P < 0.05$)。综上,温度升高有 3 株耐高温菌株

的产孢量显著增加,3株温度敏感型菌株的产孢量显著降低,表明耐高温菌株可能通过增加产孢

量来抵御高温,因此,产孢阶段是耐高温菌株抵御高温的一个关键发育阶段。

表 1 高温胁迫对禾谷镰孢菌株菌丝生长的影响¹⁾

Table 1 The effect of high temperature stress on the growth of *Fusarium graminearum* isolates

菌株编号 Isolate number	采集地 Sampling location	菌落直径/mm Colony diameter		高温抑制率/% High temperature inhibiting rate
		25°C	30°C	
Fg180664	湖北襄阳(襄州区)	81.67±0.58*	65.67±1.44	21
Fg180663	湖北襄阳(襄州区)	81.25±0.25*	62.25±0.90	25
Fg180680	湖北襄阳(襄州区)	81.67±0.29*	61.75±1.00	26
Fg180730	湖北荆州(公安县)	82.00±0.00*	60.63±0.88	28
Fg180673	湖北襄阳(襄州区)	82.00±0.00*	60.75±0.90	28
Fg47	湖北襄阳原种场	79.08±0.80*	55.67±2.02	32
Fg39	湖北襄阳原种场	80.17±1.04*	55.83±0.76	32
Fg180590	湖北襄阳(宜城市)	81.50±0.43*	56.50±0.50	33
Fg180621	湖北襄阳(宜城市)	81.83±0.29*	56.08±0.52	34

1) 表中数据为3次重复的平均值±标准差。*表示同一菌株在25°C和30°C下菌丝生长速率有显著差异(*t*测验, $P < 0.05$)。表2同。
Date shown in the table are mean±SD of three repetitions. * indicates the significant difference in colony diameter of the same isolate between treatments at 25°C and 30°C (*t*-test, $P < 0.05$). The same applies in Table 2.

表 2 不同温度下禾谷镰孢菌株的产孢量

Table 2 Sporulation of *Fusarium graminearum* isolates at 25°C and 30°C

菌株编号 Isolate number	产孢量/(×10 ⁶ 个/mL) Sporulation	
	25°C	30°C
Fg180664	17.89±2.51	15.79±3.24
Fg180663	18.33±6.37	36.17±2.90*
Fg180680	26.62±4.30	32.13±2.75*
Fg180730	20.67±2.52	23.88±2.63*
Fg180673	25.46±2.70	24.29±3.24
Fg47	25.21±2.53	27.25±6.63
Fg39	23.83±5.62*	13.17±8.54
Fg180590	27.36±1.93*	17.38±0.50
Fg180621	25.94±1.56*	17.18±3.38

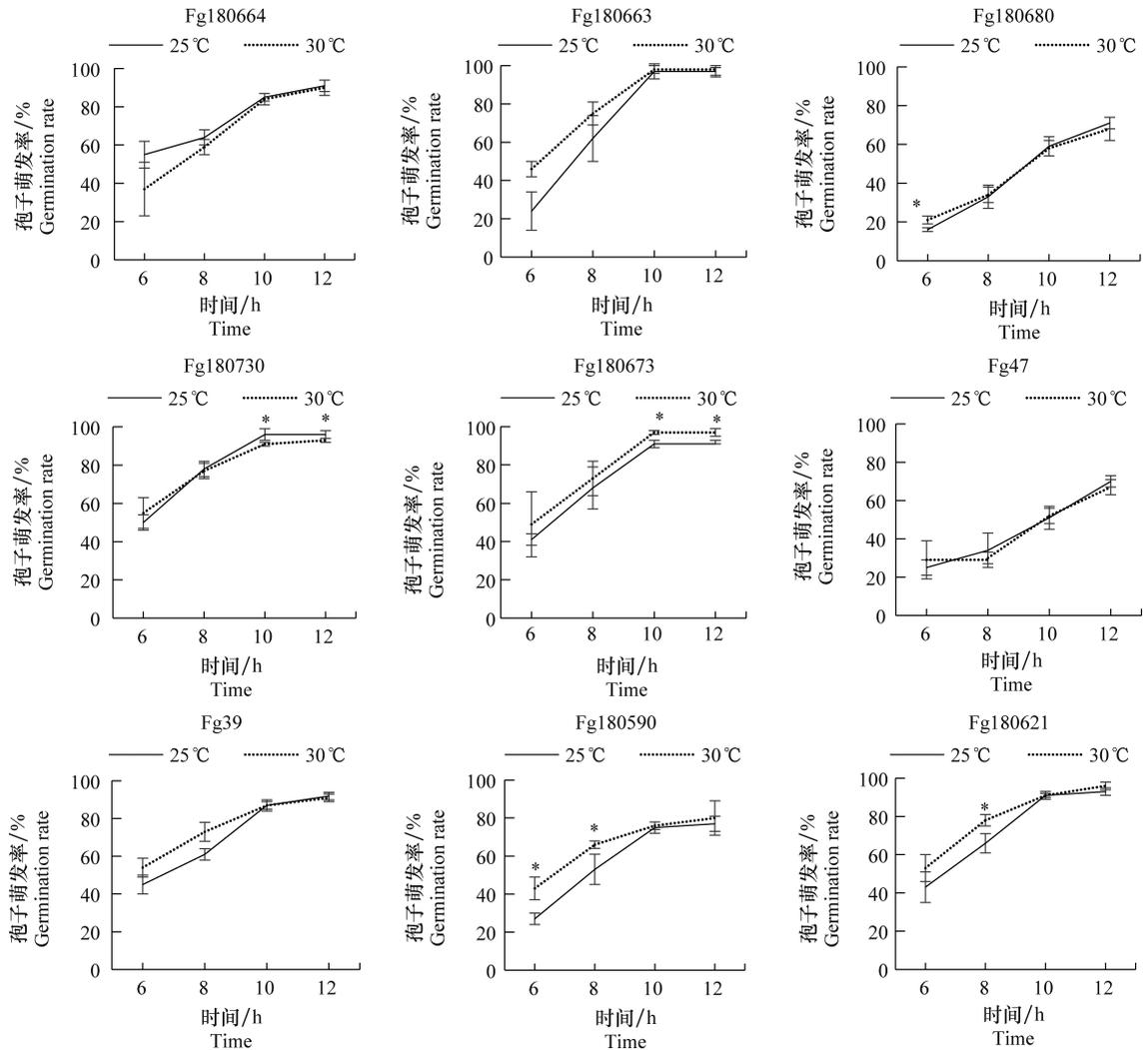
2.3 高温胁迫对禾谷镰孢孢子萌发的影响

供试菌株在25°C和30°C下培养,分生孢子萌发率如图1所示,除菌株Fg180664在30°C条件下,培养6h时孢子萌发率低于25°C培养下的孢子萌发率外,其他8个菌株在30°C条件下,培养6h的孢子萌发率均高于25°C培养下的孢子萌发率,部分达到显著水平;但是培养至10h时,除菌株Fg180673和Fg180730外,其余菌株的孢子萌发率在25°C和30°C下一致,均在80%以上,且耐高温菌株与敏感菌株间没有明显差异。以上研究结果表明,30°C高温胁迫能够促进菌株的孢子萌发,但不影响最终孢

子的萌发率,且高温胁迫对耐高温菌株和敏感菌株的孢子萌发的影响没有差异。

2.4 高温对禾谷镰孢应答环境胁迫的影响

25°C和30°C下,5株耐高温禾谷镰孢菌株和4株温度敏感型菌株对盐胁迫因子(NaCl、KCl、CaCl₂)、细胞壁胁迫因子(刚果红、SDS)及氧化胁迫因子(H₂O₂)的应答能力测定结果显示,25°C下,所有供试菌株在各盐胁迫因子的胁迫下,菌落直径均显著小于无菌水对照组的直径($P < 0.05$);30°C下各盐胁迫因子对所有供试菌株生长的抑制的程度低于25°C,甚至有的菌株菌落直径会超过30°C下无胁迫对照组的直径(表3)。具体而言,在含有NaCl和CaCl₂的培养基上,30°C下各菌株菌落直径与25°C下菌落直径相当,或者大于25°C下菌落直径;而在含有KCl的培养基上,除菌株Fg180664外,所有供试菌株的菌落直径在30°C和25°C条件下并没有显著差异($P > 0.05$)。30°C下,耐高温菌株与温度敏感型菌株对盐胁迫的反应没有明显差异($F = 3.84, P = 0.06$)。以上研究结果表明,30°C高温会减轻NaCl和CaCl₂胁迫对禾谷镰孢生长的抑制,但是不影响KCl胁迫对禾谷镰孢生长的抑制,表明高温(30°C)下禾谷镰孢对NaCl和CaCl₂胁迫有一定的耐受性,但是不同温度敏感型菌株之间没有差异(NaCl: $F = 3.41, P = 0.08$; CaCl₂: $F = 0.14, P = 0.71$)。



* 表示25°C和30°C下菌株在该时间点的孢子萌发率有显著差异 (t 测验, $P<0.05$)。

* indicate the significant difference in spore germination rates of the strain between 25°C and 30°C at the same time point (t -test, $P<0.05$).

图 1 不同温度下禾谷镰孢菌株孢子萌发率的时间动态

Fig. 1 Time course of spore germination rate of *Fusarium graminearum* isolates at 25°C and 30°C

表 3 不同温度下禾谷镰孢菌株在盐胁迫培养基上的菌落直径¹⁾

Table 3 Colony diameter of *Fusarium graminearum* isolates on salinity stress medium at 25°C and 30°C

菌株编号 Isolate number	菌落直径/mm Colony diameter							
	H ₂ O		1 mol/L NaCl		1 mol/L KCl		0.25 mol/L CaCl ₂	
	25°C	30°C	25°C	30°C	25°C	30°C	25°C	30°C
Fg180664	(71.17±0.38)a	50.83±0.58*	(54.57±0.28)b	54.75±0.50	(62.75±1.25)b	60.13±0.53*	(57.33±7.05)b	59.17±6.23
Fg180663	(68.38±0.88)a	51.50±0.66*	(48.50±0.66)b	52.67±0.76*	(59.38±1.24)b	58.17±0.63	(34.08±2.40)b	42.17±0.80*
Fg180680	(67.75±0.50)a	54.58±0.72*	(49.83±0.76)b	53.92±0.14*	(56.00±1.89)b	54.77±2.66	(42.50±4.50)b	39.33±3.88
Fg180730	(68.50±0.25)a	52.83±0.29*	(53.08±1.15)b	54.75±1.77	(61.08±1.76)b	59.58±0.58	(63.33±5.69)b	61.50±2.83
Fg180673	(67.92±0.63)a	45.25±1.89*	(51.75±0.50)b	54.42±0.76*	(59.25±1.25)b	58.25±0.50	(43.58±5.34)b	46.88±0.18
Fg47	(71.08±0.58)a	57.00±0.66*	(50.67±0.52)b	53.08±0.63*	(63.75±3.12)b	58.25±1.77	(40.50±7.13)b	40.08±3.76
Fg39	(66.58±0.63)a	50.88±0.53*	(53.50±0.66)b	57.00±0.75*	(63.25±0.66)b	62.92±1.04	(38.00±1.50)b	51.08±3.75*
Fg180590	(67.63±1.24)a	48.17±0.63*	(53.25±0.25)b	57.17±0.38*	(63.75±2.63)b	58.08±2.52	(51.83±13.56)b	45.50±3.90
Fg180621	(70.00±0.43)a	50.25±0.35*	(53.00±0.66)b	53.58±0.76	(63.83±0.72)b	60.42±3.62	(46.50±7.28)b	54.75±5.65

1) 表中数据为 3 次重复的平均值±标准差。不同字母表示 25°C 下同一种菌株在盐胁迫处理和对照 H₂O 处理间菌落直径有显著差异 (t 测验, $P<0.05$)。* 表示同一菌株在相同胁迫处理下 25°C 和 30°C 下菌落直径有显著差异 (t 测验, $P<0.05$)。

Data shown in the table are mean±SD of three repetitions. The different letters indicate the significant difference in colony diameter of the same isolate between salinity stress treatment and H₂O treatment at 25°C (t -test, $P<0.05$). * indicates the significant difference in colony diameter of the same isolate between treatments at 25°C and 30°C under the same stress treatment (t -test, $P<0.05$).

在细胞壁胁迫(刚果红和 SDS)培养下,不论是在 25℃ 还是 30℃ 下,所有供试菌株的菌落直径均小于同一温度下对照的菌落直径。就同一胁迫而言,所有供试菌株在 30℃ 下的菌落直径也均小于 25℃ 下的菌落直径,且大多差异显著(表 4, $P < 0.05$)。

30℃ 下,耐高温菌株与温度敏感型菌株对刚果红和 SDS 胁迫反应没有明显差异(刚果红: $F = 0.97, P = 0.33$; SDS: $F = 0.83, P = 0.37$)。表明高温使禾谷镰孢对细胞壁胁迫因子刚果红和 SDS 更加敏感,但不同温度敏感型菌株之间没有差异。

表 4 不同温度下禾谷镰孢菌株在刚果红和 SDS 胁迫培养基上的菌落直径¹⁾

Table 5 Colony diameter of *Fusarium graminearum* isolates on the medium containing Congo Red and SDS at 25℃ and 30℃

菌株编号 Isolate number	菌落直径/mm Colony diameter					
	H ₂ O		0.05%刚果红 Congo Red		0.05% SDS	
	25℃	30℃	25℃	30℃	25℃	30℃
Fg180664	70.83±0.80*	53.67±0.52	43.83±0.52*	41.08±0.29	33.50±4.44	28.42±1.26
Fg180663	69.58±0.58*	51.50±0.25	44.00±0.43*	40.58±0.14	28.67±1.18	28.00±1.39
Fg180680	69.92±0.76*	49.42±0.29	45.42±0.38*	38.92±0.14	26.33±1.84	28.08±1.26
Fg180730	72.92±0.76*	51.00±0.25	46.17±0.38*	42.92±0.38	51.92±4.69*	40.33±4.35
Fg180673	71.92±1.38*	44.92±2.31	45.25±1.64*	35.42±1.76	47.00±5.66*	32.92±3.26
Fg47	70.00±2.63*	51.92±0.58	45.42±0.38*	40.50±0.25	22.92±2.57*	27.83±1.66
Fg39	67.92±0.38*	48.75±0.25	44.50±0.66*	41.75±0.66	31.83±1.38*	29.33±0.52
Fg180590	70.58±0.88*	45.17±0.14	50.17±0.95*	41.92±0.58	52.92±4.40*	31.00±3.27
Fg180621	73.00±1.09*	41.67±0.52	51.00±0.66*	38.42±0.29	51.33±2.45*	31.92±0.52

1) 表中数据为 3 次重复的平均值±标准差。* 表示同一菌株在相同胁迫处理下 25℃ 和 30℃ 下菌落直径有显著差异(t 测验, $P < 0.05$)。下同。

Data shown in the table are mean±SD of three repetitions. * indicates the significant difference in colony diameter of the same isolate between treatments at 25℃ and 30℃ under the same stress (t -test, $P < 0.05$). The same applies below.

25℃ 和 30℃ 下,在含 0.05% H₂O₂ 的培养基上所有供试菌株的菌落直径均小于同一温度下对照的菌落直径。且在 0.05% H₂O₂ 胁迫下,所有菌株在 30℃ 下的菌落直径均显著低于 25℃ (表 5, $P < 0.05$)。

30℃ 下,耐高温菌株与温度敏感型菌株对 H₂O₂ 氧化胁迫反应没有明显差异($F = 3.94, P = 0.06$)。表明,30℃ 高温使禾谷镰孢对氧化胁迫因子 H₂O₂ 的胁迫更加敏感,但不同温度敏感型菌株之间没有差异。

表 5 不同温度下禾谷镰孢菌株在过氧化氢胁迫培养基上的菌落直径

Table 5 Colony diameter of *Fusarium graminearum* isolates on H₂O₂ stress medium at 25℃ and 30℃

菌株编号 Isolate number	菌落直径/mm Colony diameter			
	H ₂ O		0.05% H ₂ O ₂	
	25℃	30℃	25℃	30℃
Fg180664	73.67±4.07*	59.42±0.80	62.25±5.29*	57.67±0.52
Fg180663	78.25±1.52*	59.08±0.38	66.58±1.38*	54.83±0.52
Fg180680	80.00±1.56*	57.17±0.14	70.08±1.59*	54.75±0.43
Fg180730	79.38±0.88*	60.17±0.29	70.42±1.81*	55.17±1.01
Fg180673	79.50±0.90*	56.58±2.88	73.08±0.63*	56.00±1.80
Fg47	80.75±1.39*	58.08±0.29	67.83±0.80*	52.75±0.25
Fg39	72.75±5.30*	57.50±0.50	64.42±1.84*	57.17±0.95
Fg180590	78.50±1.39*	55.58±0.52	61.83±2.70*	51.83±0.52
Fg180621	79.67±0.58*	57.42±0.76	68.92±2.16*	52.42±0.52

2.5 高温胁迫对禾谷镰孢致病力和产 DON 毒素的影响

禾谷镰孢在 25℃ 和 30℃ 下对小麦胚芽鞘致病力结果如表 6 所示,不同禾谷镰孢菌株在不同温度下对小麦胚芽鞘的致病力不同,与 25℃ 相比,30℃ 高温下 5 株耐高温菌株处理的小麦胚芽鞘的病斑长

度分别表现为增加(Fg180664, $P < 0.05$)、降低(Fg180663 和 Fg180680, $P < 0.05$) 和没有差异(Fg180730 和 Fg180673),而 4 株温度敏感型菌株中除菌株 Fg180590 侵染小麦胚芽鞘引起的病斑长度小于 25℃ 外,菌株 Fg47, Fg39 和 Fg180621 的病斑长度均显著长于 25℃ ($P < 0.05$),且 30℃ 与 25℃ 病斑长度

的比值都大于 5。以上研究结果表明,大部分耐高温菌株在 30℃ 下致病力不变或降低,而大部分敏感菌株在 30℃ 下致病力反而增加。

供试的 9 株禾谷镰孢菌株在 25℃ 和 30℃ 条件下产 DON 毒素量见表 6,温度对不同菌株产毒量的影响不同。耐高温菌株 Fg180663 在 30℃ 条件下产生的 DON 毒素量显著低于 25℃,而 Fg180664、Fg180680 和 Fg180673 在 30℃ 条件下的毒素含量是 25℃ 下的 5 倍以上;温度敏感型菌株 Fg39、Fg180590 和 Fg180621 在 30℃ 条件下的毒素含量

仅为 25℃ 下的 2 倍左右。总体而言,高温(30℃)对大部分菌株的 DON 毒素的产量有一定促进作用,多数菌株在 30℃ 条件下产生的毒素量显著增加。

综上,高温对禾谷镰孢对小麦胚芽鞘致病力的影响与对 DON 毒素含量的影响因菌株不同而有差异(表 6),对于菌株 Fg180664、Fg180663、Fg180730、Fg39 和 Fg180621,高温对致病力和产毒素量的影响一致,在 30℃ 条件下,其毒素含量增加,对小麦胚芽鞘的致病力也增加;毒素含量降低,致病力也减弱。而菌株 Fg180680、Fg180673、Fg47 和 Fg180590 则恰好相反。

表 6 不同温度对禾谷镰孢菌株致病力和产 DON 毒素的影响¹⁾

Table 6 Aggressiveness and DON content of *Fusarium graminearum* isolates at 25℃ and 30℃

菌株编号 Isolate number	病斑长度 ^a /cm Lesion length		30℃与25℃病斑 长度比 Lesion length ratio (30℃:25℃)	DON 毒素含量 ^b /(μg/mL) DON content		30℃与25℃DON 毒素 含量比 DON content ratio (30℃:25℃)
	25℃	30℃		25℃	30℃	
	Fg180664	0.12±0.13		0.88±0.71*	7.17	
Fg180663	1.22±1.18*	0.19±0.12	0.16	0.98±0.15*	0.16±0.01	0.16
Fg180680	2.22±0.53*	1.10±0.83	0.50	0.04±0.02	0.54±0.19*	13.28
Fg180730	0.16±0.21	0.21±0.20	1.28	0.43±0.09	0.37±0.14	0.86
Fg180673	0.14±0.07	0.14±0.10	1.02	0.14±0.01	1.47±0.38*	10.33
Fg47	0.17±0.20	1.05±0.91*	6.27	0.13±0.01	0.08±0.02	0.24
Fg39	0.32±0.41	1.81±0.53*	5.69	0.30±0.12	0.59±0.02*	1.96
Fg180590	2.16±0.47*	0.33±0.27	0.15	0.56±0.06	0.82±0.03*	1.47
Fg180621	0.21±0.20	1.72±0.45*	8.13	0.65±0.08	1.34±0.25*	2.06

1) a: * 代表同一个菌株在 25℃ 和 30℃ 下病斑长度有显著差异($P<0.05$); b: * 代表同一个菌株在 25℃ 和 30℃ 下 DON 毒素含量有显著差异($P<0.05$)。

a: * represents the significant difference in lesion length of the same isolate between 25℃ and 30℃ treatments ($P<0.05$); b: * represents the significant difference in DON toxin content of the same isolate between 25℃ and 30℃ treatments ($P<0.05$).

3 结论与讨论

温度对病原菌生长、繁殖和致病力都有很大的影响。本研究分析了 25℃ 和 30℃ 对多个禾谷镰孢株的产孢量、孢子萌发速率、胁迫以及致病力和产毒能力等生物学性状方面的影响,结果表明,相对高温(30℃)对于 9 种禾谷镰孢的菌丝生长均有明显的抑制作用,这与已有的报道和实验室前期研究结果一致,25℃ 是禾谷镰孢最适生长温度,温度升高菌丝生长速率下降^[11]。与之相反,30℃ 的相对高温对于供试禾谷镰孢菌株的孢子萌发有一定的促进作用,但是不影响最终的孢子萌发率。由于孢子萌发过程是一个能量需求过程,适当的高温能够提供更多的能量,从而使孢子的萌发进程加快。同时,高温促进部分耐高温菌株的产孢量显著增加,降低部分温度敏感型菌株的产孢量,表明产孢阶段是耐高温菌株抵

御高温的一个关键发育阶段。

对供试禾谷镰孢菌株的三类胁迫研究表明,相对高温(30℃)使菌株对盐胁迫(NaCl 和 CaCl₂)的耐受能力提高,该研究结果与对酵母的研究结果类似,酵母通过 Na⁺、K⁺、Ca²⁺ 的外流,囊泡中的区隔化、增加质膜对某种离子的吸收来限制其他离子的吸收等来抵御盐胁迫,也可能是温度诱导使酵母对盐胁迫条件产生交叉保护^[11-12]。

高温对禾谷镰孢的致病力和 DON 毒素产量都产生了一定的影响,大部分耐高温菌株在 30℃ 下的致病力不变或降低,而大部分敏感菌株在 30℃ 下的致病力反而增加。但是,温度对不同菌株致病力的影响与对 DON 毒素产生量的影响并不一致。这与已报道的结果吻合,禾谷镰孢的产孢量与致病力没有相关性^[13-14]。

以上研究结果明确了温度对禾谷镰孢生长、致

病力及毒素产生的影响,明确了耐高温菌株可能通过增加产孢量来抵御高温,因此,产孢阶段是耐高温菌株抵御高温的一个关键发育阶段。且部分耐高温菌株在高温下毒素的产生会增加,该研究结果为禾谷镰孢温度适应性规律的研究奠定了基础,对进一步深入认识该菌的温度适应性进化的分子机理,研究气候背景下小麦赤霉病的流行及预测预报和病害防控策略的制定具有重大意义。

参考文献

- [1] MA Zhengqiang, XIE Quan, LI Guoqiang, et al. Germplasm, genetics and genomics for better control of disastrous wheat *Fusarium* head blight [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020(S1): 1541-1568.
- [2] 马忠华, 陈云, 尹燕妮. 小麦赤霉病流行成灾原因分析及防控对策探讨[J]. *中国科学基金*, 2020, 34(4): 464-469.
- [3] CHEN Yun, KISTLER H C, MA Zhonghua. *Fusarium graminearum* trichothecene mycotoxins: biosynthesis, regulation, and management [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2019, 57(1): 15-39.
- [4] XU Fei, LIU Wei, SONG Yuli, et al. The distribution of *Fusarium graminearum* and *F. asiaticum* causing *Fusarium* head blight of wheat in relation to climate and cropping system [J]. *Plant Disease*, 2021, 105(10): 2830-2835.
- [5] NIELSEN L K, JENSEN J D, NIELSEN G C, et al. *Fusarium* head blight of cereals in Denmark: species complex and related mycotoxins [J]. *Phytopathology*, 2011, 101(8): 960-969.
- [6] SAREMI H, BURGESS L W. Effect of soil temperature on distribution and population dynamics of *Fusarium* species [J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2000(2): 119-125.
- [7] 纪莉景, 栗秋生, 王亚娇, 等. 温度对假禾谷镰刀菌生长、侵染及茎基腐病发生的影响[J]. *植物病理学报*, 2020, 50(6): 723-730.
- [8] 赵亚男. 两种小麦赤霉病菌温度敏感性和杀菌剂抗性研究及防治药剂筛选[D]. 张家口: 河北北方学院, 2020.
- [9] 武爱波. 禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum*) 致病力鉴定、毒素检测及其分子生物学研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
- [10] 种学法. 禾谷镰刀菌类动力 GTP 酶 FgSey1 功能研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
- [11] ZHANG Xing, ST LEGER R J, FANG Weigu. Stress-induced pyruvate accumulation contributes to cross protection in a fungus [J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(3): 1158-1169.
- [12] 郑聃, 付畅, 戴绍军, 等. 盐胁迫下酿酒酵母和鲁氏酵母渗透调节方式的对比与分析[J]. *哈尔滨师范大学自然科学学报*, 2007(2): 91-95.
- [13] 李瑞明, 吴继红. 温度对赤霉病菌生长及其致病性的影响[J]. *江西农业科技*, 1981(11): 8-9.
- [14] 赵纯森, 马星霞, 武爱波, 等. 禾谷镰刀菌培养性状与致病力的相关性分析[J]. *华中农业大学学报*, 2005(3): 254-257.
- (责任编辑: 杨明丽)
- (上接 115 页)
- [13] 钟裕俊, 潘立婷, 杜素洁, 等. 北京地区豌豆彩潜蝇的寄主植物及发生动态[J]. *植物保护*, 2021, 47(3): 232-236.
- [14] ZHANG Bing, LIU Huai, HULL-SANDERS H, et al. Effect of host plants on development, fecundity and enzyme activity of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2011, 10(8): 1232-1240.
- [15] FARAHANI S, NASERI B, TALEBI A A. Comparative life-table parameters of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on five host plants [J]. *Journal of the Entomological Research Society*, 2011, 13(1): 91-101.
- [16] 李引, 冷春蒙, 胡迪, 等. 不同寄主植物对小菜蛾生长发育和繁殖的影响[J]. *西北农业学报*, 2019, 28(3): 475-480.
- [17] 苟长青, 孙鹏, 刘端春, 等. 不同寄主对牧草盲蝽生长发育的影响[J]. *环境昆虫学报*, 2019, 41(5): 1065-1069.
- [18] 丛胜波, 王玲, 王金涛, 等. 斜纹夜蛾对不同寄主植物的取食和产卵选择研究[J]. *河南农业科学*, 2020, 49(12): 91-96.
- [19] 苟玉萍, 刘倩, 刘长仲. 不同寄主植物对异迟眼蕈蚊生长发育和繁殖的影响[J]. *植物保护*, 2015, 41(1): 28-32.
- [20] 李定旭, 雷喜红, 李政, 等. 不同寄主植物对桃小食心虫生长发育和繁殖的影响[J]. *昆虫学报*, 2012, 55(5): 554-560.
- [21] 苏超, 景军, 王猛猛, 等. 不同寄主植物对三条橙灯蛾生长发育和繁殖的影响[J]. *应用昆虫学报*, 2013, 50(6): 1614-1621.
- [22] 潘锦勇, 王兴琴. 不同寄主植物叶片对棉铃虫的生物学和营养效应比较[J]. *植物保护*, 2009, 35(3): 74-76.
- [23] 郭婷婷, 门兴元, 于毅, 等. 二点委夜蛾适应性与玉米苗营养物质和次生代谢物质含量的关系[J]. *昆虫学报*, 2018, 61(8): 984-990.
- [24] 徐正浩, 崔绍荣, 何勇, 等. 植物次生代谢物质和害虫防治[J]. *植物保护*, 2004, 30(4): 8-11.
- [25] 王亚军, 邹传山, 杨璟, 等. 3种植物次生代谢物质对舞毒蛾生长发育的影响[J]. *吉林农业大学学报*, 2018, 40(2): 145-151.
- [26] JEUGHALE G, BHALKARE S. Effect of different host plants on toxicity of indoxacarb to *Spodoptera litura* (Fab.) [J]. *International Journal of Plant Protection*, 2016, 9(1): 30-34.
- [27] 张惠玲, 万国栋. 武威市白刺草地资源及其保护利用[J]. *草业科学*, 2003, 20(9): 63-65.
- [28] 王俊梅, 史青茂, 李建廷, 等. 白刺夜蛾防治指标的研究[J]. *草地学报*, 2000, 8(1): 46-48.
- (责任编辑: 杨明丽)