

DOI:10.3969/j.issn.2096-8248.2024.01.004

玉米中藤仓镰刀菌复合群的分离鉴定及生物学特性研究*

董霆, 乔守宁, 马桂珍

(江苏海洋大学 环境与化学工程学院, 江苏 连云港 222005)

摘要:为明确我国玉米穗腐病病原的组成特征,2019—2021年连续在我国玉米主产区采集穗腐病样品,采用常规组织分离培养法进行病原菌的分离,基于形态学和分子生物学对筛得的菌株进行鉴定,并进行生物学特性分析。共获得属于6个种的618株藤仓镰刀菌复合群(*Fusarium fujikuroi* species complex, FFSC)菌株,其中*F. verticillioides*为优势种,分离频率为85.11%;其余5个种分离频率较低,分别为*F. fujikuroi* (2.27%),*F. proliferatum* (10.03%),*F. andiyazi* (0.65%),*F. temperatum* (1.29%)及*F. subglutinans* (0.65%)。生物学性质分析表明,*F. verticillioides*的菌丝生长速率最快,无性生殖能力最强;供试的58个菌株在离体条件下都能够合成镰刀菌酸(fusaric acid, FA),*F. andiyazi*合成FA含量最高;*F. fujikuroi*,*F. proliferatum*和*F. verticillioides*离体培养时能够合成高浓度的B类伏马毒素(fumonisin, FB);不同种间比卡菌素(bikaverin, BIK)的含量没有显著性差异($P > 0.05$);*F. fujikuroi*,*F. proliferatum*和*F. temperatum*主要产生白僵菌素(beauverin, BEA);*F. andiyazi*和*F. fujikuroi*合成MON的能力显著高于*F. subglutinans*和*F. proliferatum* ($P < 0.05$)。玉米穗的侵染表明*F. subglutinans*的致病力显著高于其他种($P < 0.05$)。结果明确了我国玉米穗腐病的主要病原菌类型及其代表菌株的致病力及产毒能力。

关键词:玉米穗腐病;藤仓镰刀菌复合群;分离鉴定;生物学特性

中图分类号:Q93-3

文献标志码:A

文章编号:2096-8248(2024)01-0024-08

引用格式:董霆,乔守宁,马桂珍.玉米中藤仓镰刀菌复合群的分离鉴定及生物学特性研究[J].江苏海洋大学学报(自然科学版),2024,33(1):24-31.

Isolation, Identification and Biological Characteristics of *Fusarium fujikuroi* Species Complex in Maize

DONG Ting, QIAO Shouning, MA Guizhen

(School of Environmental and Chemical Engineering, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China)

Abstract: In order to clarify the composition characteristics of the pathogen of maize ear rot in China, the samples of maize ear rot were collected continuously in the main maize producing areas of China from 2019 to 2021, and the pathogen was isolated by conventional tissue isolation and culture method. The screened strains were identified based on morphology and molecular biology, and their biological characteristics were analyzed. A total of 618 strains of *Fusarium fujikuroi* species complex (FFSC) belonging to 6 species were obtained, of which *F. verticillioides* was the dominant species. The separation frequency was 85.11%. The separation frequencies of

* 收稿日期:2023-03-10;修订日期:2023-04-27

基金项目:国家重点研发计划项目(2022YFD1400100)

作者简介:董霆(1998—),女,江苏连云港人,硕士研究生,研究方向为生物化工,(E-mail)18262794906@163.com。

通信作者:马桂珍(1963—),女,河北遵化人,教授,博士,硕士生导师,研究方向为抗菌微生物及植物病害生物防治,(E-mail)guizhenma@sohu.com。

the other five species were *F. fujikuroi* 2.27%, *F. proliferatum* 10.03%, *F. andiyazi* 0.65%, *F. temperatum* 1.29%, *F. subglutinans* 0.65%. Biological characterization showed that *F. verticillioides* had the fastest mycelial growth rate and the strongest asexual reproduction ability. The 58 strains could synthesize fusaric acid (FA) in vitro, and the content of FA in *F. andiyazi* was the highest. *F. fujikuroi*, *F. proliferatum* and *F. verticillioides* can synthesize high concentrations of fumonisin B (FB) in vitro culture; There was no significant difference in the content of bikaverin (BIK) among different species ($P > 0.05$). *F. fujikuroi*, *F. proliferatum* and *F. temperatum* mainly produced beauvericin (BEA); The ability of *F. andiyazi* and *F. fujikuroi* to synthesize MON was significantly higher than that of *F. subglutinans* and *F. proliferatum* ($P < 0.05$). The infection of maize ears showed that the pathogenicity of *F. subglutinans* was significantly higher than that of other species ($P < 0.05$). This study clarified the main pathogen types of maize ear rot in China and the pathogenicity and toxin-producing ability of its representative strains.

Key words: maize ear rot; *Fusarium fujikuroi* species complex; isolation and identification; biological characteristics

0 引言

玉米是我国第一大粮食作物,其种植面积约为 4 000 万公顷,总产量超过 2 亿吨,在农业和工业生产中的重要地位^[1]。近年来,随着玉米种植结构调整、耕作栽培方式转变、品种更新换代、种植面积及地域扩大、全球性灾害性天气增加,玉米穗腐病重发态势明显。玉米穗腐病菌产生的有毒次级代谢产物污染玉米籽粒,对人畜健康造成重大危害,对玉米生产安全构成重大威胁^[2-3]。

玉米穗腐病的致病菌主要包括镰刀菌、青霉菌、曲霉菌、枝孢菌、单核孢菌等 20 多种霉菌,且多数存在复合侵染现象。不同产区穗腐病病原组成可能存在差异,美国学者 Ullstrup 研究认为引起玉米灰色粒穗腐病的病原菌主要是 *Botryosphaeria zaeae*, 亚洲印度地区的玉米穗腐病由 *Trichoderma viride* 引起^[4]。国内学者对我国不同省区的玉米穗腐病进行分离鉴定,认为引起陕西玉米穗腐病优势种为 *F. monilifome*^[5], 东北地区玉米穗腐病的优势种为 *F. semitectum*^[6], 西南地区玉米穗腐病的优势病原菌为 *F. verticillioides*^[7]。近年来的研究表明,藤仓镰刀菌复合群(*Fusarium fujikuroi* species complex, FFSC)是玉米穗腐病的主要病原,且已经成为影响玉米质量安全的重要威胁^[8]。明确玉米中镰刀菌种群结构是有效防控病害的基础。

本文针对我国玉米主产区穗腐病开展了系统监测,通过分析我国玉米穗腐病优势菌群的组成并解析相关生物学特性,测定病原菌的致病力及产毒特

征,为进一步开展玉米穗腐病相关研究提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 仪器和试剂 NaClO,分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司。

UltraVIEW VoX 荧光电动显微镜,美国珀金埃尔默股份有限公司;N-EVAP 112 氮吹仪,美国 Organomation Associates 公司;Labcyler PCR 扩增仪,德国 SensoQuest 有限责任公司;YQ-04-13 凝胶成像系统,伯乐生命医学产品有限公司;DYY-6C 琼脂糖电泳仪,北京六一生物科技有限公司;SN510C 立式压力蒸汽灭菌器,日本平山制作所;生化培养箱,天津市泰斯特仪器有限公司。

1.1.2 培养基 马铃薯葡萄糖琼脂培养基:200 g 马铃薯去皮煮沸 30 min,纱布过滤,加入 20 g 葡萄糖和 20 g 琼脂粉,蒸馏水定容至 1 L。

绿豆汤培养基:10 g 绿豆煮沸 30 min,纱布过滤,蒸馏水定容至 1 L。

PBS 缓冲液:NaCl 7.9 g,KCl 0.2 g,KH₂PO₄ 0.24 g(或 Na₂HPO₄ 1.44 g),K₂HPO₄ 1.8 g,溶于 800 mL 蒸馏水中,HCl 调 pH 至 7.4,定容至 1 L。

所有培养基分装后,121 °C 灭菌 20 min。

1.2 方法

1.2.1 玉米样品的采集 2019—2021 年连续在我国江苏、山东、湖北、安徽、黑龙江、吉林、辽宁、河南、河北、山西、云南、贵州、新疆、甘肃、陕西、四川等地

采集玉米病粒样品,并记录采集地点、采集时间、品种、田间管理措施等相关信息。

1.2.2 玉米样品中病原菌的分离、纯化及保存 随机挑取病粒,用10%的NaClO浸泡3 min,无菌水清洗两次,置于PDA培养基平板上,25℃培养3~4 d。使用绿豆汤培养基制备分生孢子,参考方中达《植病研究方法》^[9]进行单孢分离纯化。

1.2.3 玉米中分离菌的形态学鉴定 单孢菌株转移至PDA培养基平板上,培养4 d,观察色素是否产生,镜检菌丝形态、孢子大小、隔膜数量等形态特征,参考王拱辰《常见镰刀菌鉴定指南》的方法^[10]分析观察结果进行初步鉴定。

1.2.4 玉米中分离菌延伸因子基因序列分析 挑取PDA培养基平板上镰刀菌不同菌株的菌丝,利用UE-MN-MS-GDNA-250基因组DNA小量制备试剂盒,提取镰刀菌总DNA;以提取的DNA为模板,使用真菌鉴定通用引物对EF1T(ATGGGTA-AGGAGGACAAGAC)/EF2T(GGAAGTACCAGT-GATCATGTT)^[11],扩增翻译延伸因子基因。PCR反应体系见表1。PCR反应条件:94℃预变性5 min;4℃变性30 s,58℃退火30 s,72℃延伸1 min,33个循环;72℃终延伸10 min。

表1 PCR扩增体系

Table 1 PCR amplification system

组分	体积/ μL
rTaq mix (2 \times)	12.5
引物 1	0.5
引物 2	0.5
模板	1.5
ddH ₂ O	10

PCR扩增产物送至上海生工生物工程有限公司进行序列测定。所得序列在GenBank数据库中进行比对,从GenBank数据库中搜索了常见镰刀菌的EF-1 α 基因序列,选用代表菌株A19208, A20182, V19216, V20162, F19037, F20076, P19215, P20090, S20089, S20215, T20217, T20200所测序列,利用Clustal X进行序列的对齐和格式的转换,用MEGA 7软件构建系统发育树。利用最大简约法对EF-1 α 基因序列进行分析,自展值设置为1 000。

1.2.5 分离菌菌落生长速率测定 将分离到的目标菌株在PDA平板25℃培养4 d,沿菌落边缘打取菌碟转接至PDA平板中央,25℃培养4~5 d。

每隔24 h用十字交叉法测量菌落直径,根据时间绘制半径与时间的回归曲线,从而获得菌丝生长速率。每个菌株重复3次。比较不同种的营养生长能力。

1.2.6 分离菌产孢能力测定 PDA平板25℃培养4 d,沿菌落边缘打取菌碟接种至30 mL绿豆汤培养基,在25℃,175 r/min条件下,光照培养5 d,血球计数板记录并统计孢子产量。每个菌株重复3次。比较不同种的产孢能力。

1.2.7 分离菌毒素合成能力测定 用PDA培养基活化所选取的供试菌株,待菌株长出菌丝后,用无菌打孔器打取供试菌株转接到PDA培养基平板上,25℃培养14 d。检测串珠镰刀菌素(moniliformin, MON)、白僵菌素(beauvericin, BEA)、伏马毒素(fumonisin B, FB1, FB2, FB3)、镰刀菌酸(fusaric acid, FA)和比卡菌素(bikaverin, BIK)的合成水平。

(1) 样品前处理。将培养14 d的培养产物粉碎混匀,称质量后转移至三角瓶中,加入30 mL乙腈/水(V(乙腈):V(水)=4:1),180 r/min振荡2 h,利用直径为15 mm定量滤纸过滤上清液至50 mL离心管中,准确吸取4 mL滤液于洁净玻璃试管中,氮吹至近干。加入复溶提取液乙腈(色谱纯)/水(V(乙腈):V(水)=1:1)准确定容至1 mL,涡旋振荡30 s使固体充分溶解,过0.22 μm 微孔滤膜至上样小瓶,利用高效液相色谱-串联质谱进行毒素检测,比较不同种菌株的毒素合成类型。每菌株进行3次重复。

(2) 毒素检测方法。液质联用使用AB SCIEX 6500质谱仪。色谱条件如下。色谱柱:Agilent XDB C18, 3.5 μm , 2.1 \times 150 mm,流速0.4 mL/min;进样量3 μL ;柱温40℃。梯度洗脱条件:水相A为体积分数0.1%甲酸水(HPLC级甲酸),有机相B为纯甲醇(HPLC级);0—0.5 min 10%B, 0.5—2.0 min 50%B, 2.0—4.0 min 60%B, 4.0—5.0 min 95%B, 5.0—8.0 min 95%B, 8.0—8.1 min 10%B, 8.1—10 min 10%B。

质谱条件如下。离子化方式:电喷雾离子源(ESI+和ESI-);扫描方式:多反应监测模式(MRM);离子源温度600℃;雾化气55 psi;辅助气60 psi;气帘气30 psi;喷雾电压:5 500 V(ESI+), 4 500 V(ESI-);碰撞室射出电压:10 V(ESI+), -6 V(ESI-)。

1.2.8 分离菌的致病力测定 制备分离菌株的分生孢子悬浮液,调节浓度为 10^5 个/mL,采用花丝通道注射法接种到玉米吐丝后一周的健康玉米果穗

上。每个菌株接种 10 个玉米穗为 10 次重复。收获期调查穗腐病的发病情况,计算病情指数。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum \text{病级} \times \text{各病级发病穗数}}{\text{最高病级} \times \text{调查总穗数}} \times 100。$$

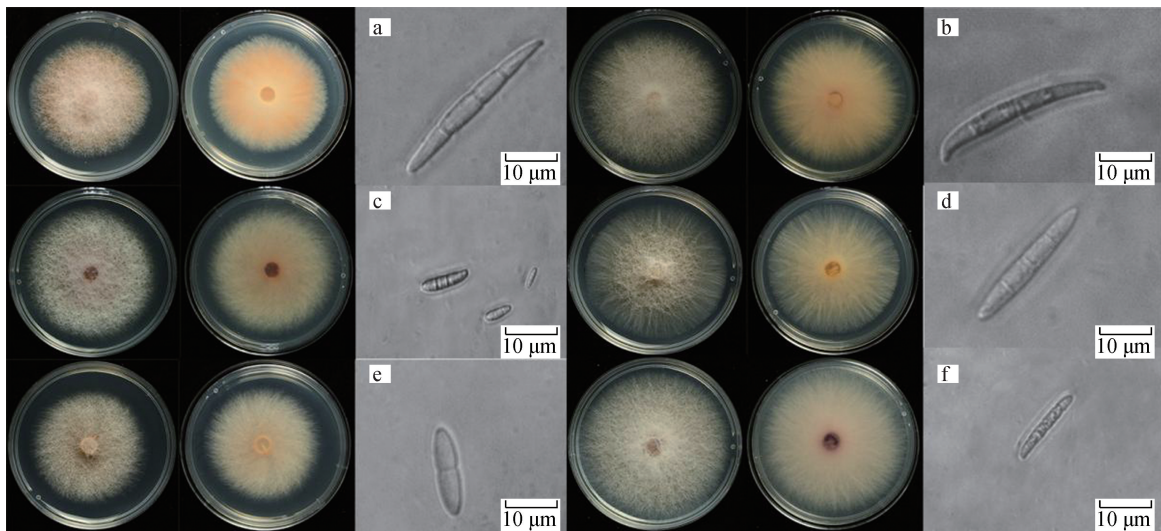
实验于江苏省农业科学院试验基地进行,玉米品种为江玉 877,田间常规管理。

2 结果与分析

2.1 玉米样品病原菌的分离鉴定

从 16 个省的玉米样品中共分离出真菌 618 株,根据病原菌菌落色素产生情况,以及菌丝形态、孢子

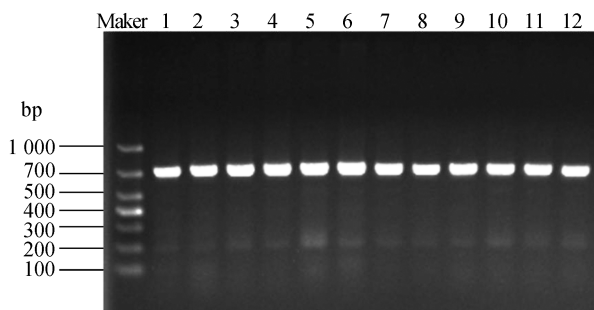
大小、隔膜数量(图 1),初步判定病原菌均为镰刀菌属。利用 EF-1 α 引物进行 PCR 扩增后,如图 2 所示,所有供试菌株序列都在 750 bp 左右。将得到的基因片段进行测序,序列经过 BLAST 比对,所有菌株同源性均在 98% 以上。结合形态学鉴定,明确了 618 株菌株均属于藤仓镰刀菌复合群,分别为 *F. verticillioides* (526 株,分离频率 85.11%)、*F. andiyazi* (4 株,分离频率 0.65%)、*F. subglutinans* (4 株,分离频率 0.65%)、*F. temperatum* (8 株,分离频率 1.29%)、*F. fujikuroi* (14 株,分离频率 2.27%)、*F. proliferatum* (62 株,分离频率 10.03%)、*F. verticillioides* 为优势菌。各种类菌落形态如下。



注:a—*F. andiyazi*; b—*F. fujikuroi*; c—*F. subglutinans*; d—*F. verticillioides*; e—*F. temperatum*; f—*F. proliferatum*。

图 1 FFSC 菌落及分生孢子形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of FFSC colonies and conidia



注:1—A19208;2—A20182;3—V19216;4—V20162;
5—F19037;6—F20076;7—P19215;8—P20090;
9—S20089;10—S20215;11—T20217;12—T20200。

图 2 不同菌株的 EF-1 α 序列扩增产物电泳图谱

Fig. 2 Electrophoresis patterns of EF-1 α sequence amplification products of different strains

F. verticillioides 在 PDA 培养基上培养一段时间,正面观察菌丝从中央向外延长呈从卷毛状,达到菌落边缘,菌丝平铺伸展,边缘整齐。培养前期,菌落呈现出粉色,后期渐变为紫粉色,菌落颜色由菌落中央向外逐渐淡化;*F. verticillioides* 产大型分生孢子,呈纺锤形,有多于 2 个隔膜。

F. andiyazi 在 PDA 培养基上,菌丝生长茂密,结构紧密,呈绒毛状,菌丝边缘呈絮状,其菌落颜色从培养皿正面观察,菌丝稠密呈现白色,从培养皿背面观察,菌落中央为白色,向外延伸至菌丝 1/2 处,有一圈明显的橙粉色,颜色由此向外呈辐射状向菌丝边缘不规律延伸;孢子呈纺锤状,有隔膜且隔膜处向中间紧缢。

F. subglutinans 菌丝与 PDA 培养基结合紧密,气生菌丝不发达,菌丝为棉絮状,菌落颜色为浅紫色,菌丝生长为不规则延伸;孢子为小型分生孢子,呈短圆棒状,一般有 2 个隔膜。

F. temperatum 在 PDA 培养基上气生菌丝较为发达,从培养皿背面观察,菌丝呈螺旋状向外生长,颜色为淡橙色,菌落边缘较为整齐;孢子呈椭圆状,为小型分生孢子,一般只有 1 个隔膜且隔膜处向中间紧缢。

F. fujikuroi 气生菌丝稀疏但较为发达,菌丝形态呈现绒絮状,菌落边缘参差不齐;菌落中央为橙色,颜色由中央向外延伸渐变为白色;孢子呈镰刀状,一端扁平,一端弯钩装,有大于 2 个隔膜。

F. proliferatum 在 PDA 培养基上呈放射状生长,气生菌丝发达且生长较为茂密,从培养基反面观察,随着培养时间的增加,层出镰刀菌菌丝由菌落

中央向外延伸呈现为淡紫色,菌落边缘稀疏,为锯齿状;孢子为小型分生孢子,呈棒槌状,两端钝化。

图 3 为根据各个种代表菌株的 EF-1 α 序列通过 Clustal X 和 MEGA 7 构建的系统进化树,图中数字为 Bootstrap 值。供试的 12 株镰刀菌被分成了 6 组,2 个外群 *Aspergillus flavus* (MH279408. 1) 和 *Aspergillus oryzae* (KY425742. 1) 聚为一簇,为 G 组;A 组菌株 A19208 和 A20182 与 *F. andiyazi* (MN158136. 1) 聚为一簇;B 组菌株 V19216 和 V20162 与 *F. verticillioides* (MN861780. 1) 聚为一簇;C 组菌株 F19037 和 F20076 与 *F. fujikuroi* (MK443268. 1) 聚为一簇;D 组 P19215 和 P20090 与 *F. proliferatum* (KM462953. 1) 聚为一簇;E 组 S20089 和 S20215 与 *F. subglutinans* (OL828683. 1) 聚为一簇;F 组 T20217 和 T20200 与 *F. temperatum* (KC964119. 1) 聚为一簇。

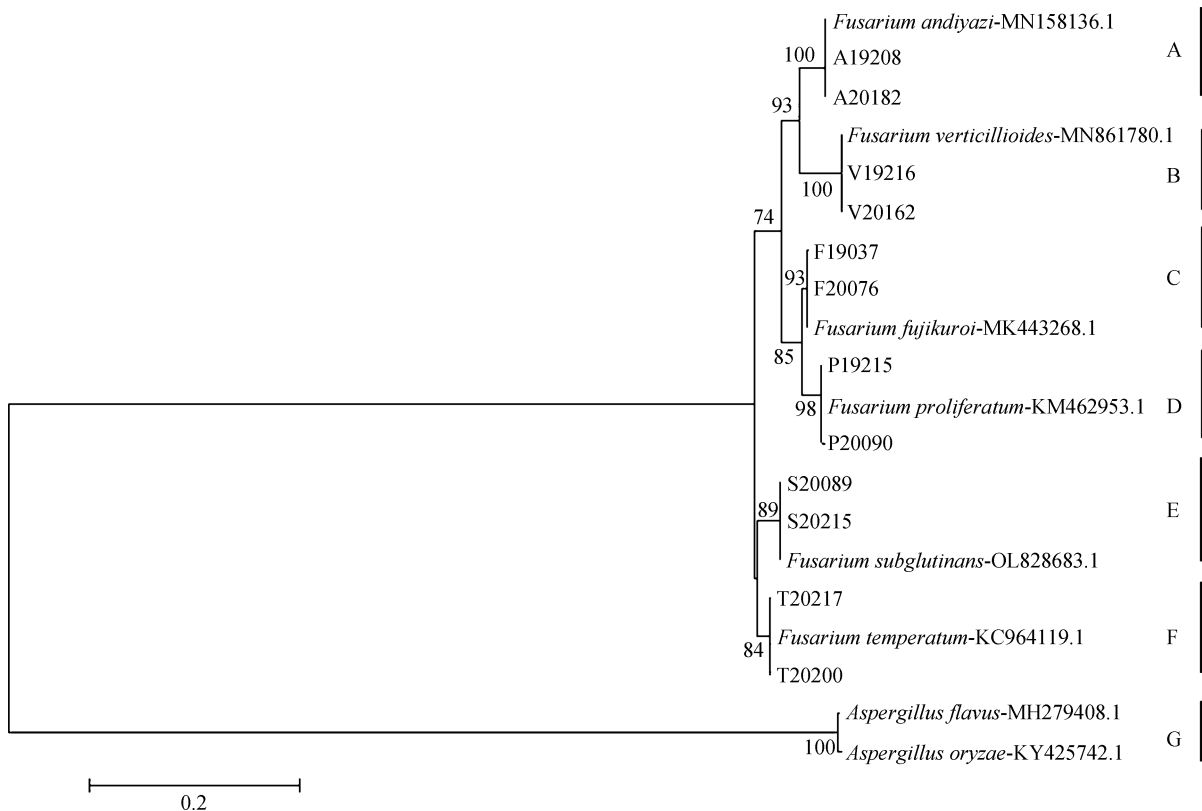


图 3 分离到的藤仓镰刀菌复合群基于 EF-1 α 的系统发育分析

Fig. 3 Phylogenetic analysis of the isolated *Fusarium fujikuroi* species complex based on EF-1 α

2.2 分离菌菌落生长速率测定

随机选择 *F. andiyazi* (4 株)、*F. fujikuroi* (8 株)、*F. subglutinans* (4 株)、*F. verticillioides* (21 株)、*F. temperatum* (7 株)、*F. proliferatum* (14 株)

共 58 个菌株测定生长速率,结果如图 4 所示。FFSC 中生长最快的种是 *F. verticillioides*,生长速率为 0.25 mm/h,显著高于其他种($P < 0.05$);*F. fujikuroi*, *F. proliferatum*, *F. andiyazi*, *F. temperatum*

和 *F. subglutinans* 的生长速率分别为 0.21, 0.21, 0.19, 0.21, 0.20 mm/h, 差异不显著 ($P > 0.05$)。

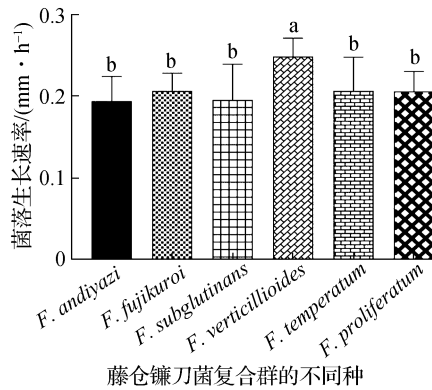


图 4 藤仓镰刀菌复合群的菌丝生长

Fig. 4 Colony growth of *Fusarium fujikuroi* species complex

2.3 分离菌产孢能力测定

供试菌株同“2.2”, 测定分离菌的产孢能力, 结果如图 5 所示。FFSC 6 个种的产孢量均达到了 10^5 个/mL, 其中, *F. verticillioides* 和 *F. proliferatum* 产孢能力最强, 产孢量分别约为 2.2×10^6 个/mL 和 1.9×10^6 个/mL, 两者之间差异不显著

($P > 0.05$); *F. subglutinans* 产孢能力最弱, 产孢量约为 7.7×10^5 个/mL, 显著低于其他 5 个种 ($P < 0.05$)。

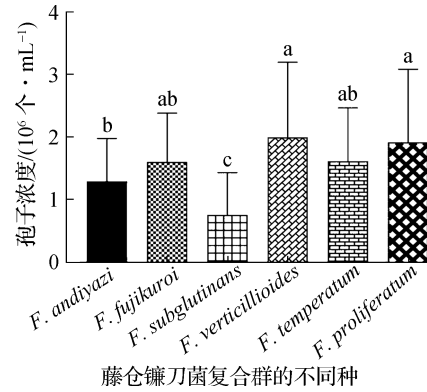


图 5 藤仓镰刀菌复合群的产孢能力

Fig. 5 Sporulation ability of *Fusarium fujikuroi* species complex

2.4 分离菌的毒素合成特征分析

供试菌株同“2.2”, 6 个种菌株接种至 PDA 培养基上产毒培养 14 d, 样品经 HPLC-MS 检测, 分析产生毒素的类型及浓度, 结果见表 2。

表 2 藤仓镰刀菌复合群 MON, BEA, FBs, FA 和 BIK 合成浓度

Table 2 Concentrations of MON, BEA, FBs, FA and BIK in *Fusarium fujikuroi* species complex

菌株	合成浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)			
	MON	BEA	FB1	FB2
<i>F. andiyazi</i>	6 745.95 ± 1 379.30a	25.34 ± 18.36c	0.00 ± 0.00b	0.00 ± 0.00c
<i>F. subglutinans</i>	341.98 ± 186.10b	0.00 ± 0.00c	0.00 ± 0.00b	0.00 ± 0.00c
<i>F. temperatum</i>	0.00 ± 0.00b	709.18 ± 134.15b	0.00 ± 0.00b	0.00 ± 0.00c
<i>F. fujikuroi</i>	5 224.83 ± 649.91a	1 860.30 ± 193.17a	15 709.89 ± 1 701.81a	7 248.65 ± 973.75a
<i>F. proliferatum</i>	826.14 ± 275.36b	1 199.91 ± 183.95b	11 225.61 ± 1 498.18a	3 274.38 ± 630.15b
<i>F. verticillioides</i>	0.00 ± 0.00b	0.00 ± 0.00c	13 387.59 ± 923.42a	4 158.09 ± 372.45b

菌株	合成浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)		
	FB3	FA	BIK
<i>F. andiyazi</i>	0.00 ± 0.00c	7 110.73 ± 475.25a	115.30 ± 57.47a
<i>F. subglutinans</i>	0.00 ± 0.00c	1 627.08 ± 516.55cd	158.99 ± 48.30a
<i>F. temperatum</i>	0.00 ± 0.00c	503.83 ± 250.48d	48.68 ± 12.72a
<i>F. fujikuroi</i>	1 274.91 ± 194.77b	3 722.95 ± 469.45b	17.82 ± 8.61a
<i>F. proliferatum</i>	971.98 ± 205.01b	3 293.47 ± 447.33bc	25.78 ± 9.89a
<i>F. verticillioides</i>	3 703.28 ± 270.09a	3 293.47 ± 225.81d	46.28 ± 36.87a

注:表中数据为平均值±标准差($n=3$),不同小写字母代表同一列数据的差异显著性($P < 0.05$)。

由表 2 可知,不同种之间菌株毒素合成存在差异。所有供试菌株都能合成较高浓度 FA, 其中 *F. andiyazi* 合成 FA 浓度最高, 6 个种产生 BIK 浓度

均较低, 种间差异不显著 ($P > 0.05$)。 *F. andiyazi*, *F. fujikuroi*, *F. subglutinans* 和 *F. proliferatum* 4 个种能合成 MON, 其中 *F. andiyazi* 和 *F. fujikuroi*

合成 MON 的能力显著高于 *F. subglutinans* 和 *F. proliferatum* ($P < 0.05$);除了 *F. subglutinans* 和 *F. verticillioides* 外其余 4 个种都能产生 BEA, *F. fujikuroi* 产生能力最强;分离菌中 *F. fujikuroi*, *F. proliferatum* 和 *F. verticillioides* 能够产生 FB,且积累浓度较高。

2.5 分离菌的致病力测定

图 6 的致病力测定结果表明,FFSC 不同菌株均能引起玉米病害,病斑呈粉褐色、黑褐色,从玉米穗顶部向下扩展,病情严重的玉米穗覆盖一层白色和粉色霉层,且难以与苞衣剥离;不同菌株致病力不同,菌株病情指数均在 20~60 之间, *F. subglutinans* 致病力最高,显著高于其他 5 个种 ($P < 0.05$),其次是 *F. temperatum*, 剩余 4 个种之间差异不显著 ($P > 0.05$)。

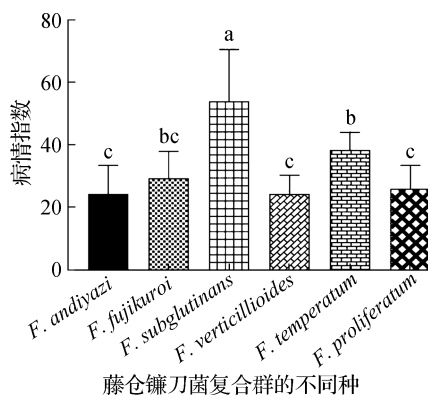


图 6 接种不同菌株的玉米穗病情指数

Fig. 6 Disease index of maize ear inoculated with different strains

3 讨论

在目前的生产状况下,明确我国玉米穗腐病的主要致病菌组成及其分布特点,对进一步开展玉米穗腐病相关研究和综合治理具有重要意义。但是现有研究范围十分有限^[5-8]。本研究在前人研究基础上,扩大采样范围,从中国玉米主产区(东北、西北、西南、东部)分离鉴定出玉米穗腐病主要优势菌群为 FFSC,包含 6 个种,分别为 *F. verticillioides*, *F. fujikuroi*, *F. proliferatum*, *F. andiyazi*, *F. temperatum* 和 *F. subglutinans*,其中 *F. verticillioides* 为优势病原菌,次优势菌为 *F. proliferatum*,这与席靖豪^[12]和李新风等^[13]的研

究结果相似,后者的次优势菌为 *F. graminearum*。与李杨^[8]的研究相比,本文新增了 *F. temperatum* 和 *F. subglutinans* 两个种,表明 FFSC 会随着地理环境的改变,其种群组成也会有所变化。

镰刀菌毒素是农产品质量安全的重要隐患,因此一直是国内外的研究热点。本文进一步对 FFSC 毒素合成特征进行分析,发现该复合群所产毒素类型共有 5 种,分别为 FB, FA, MON, BEA 和 BIK。 *F. verticillioides*, *F. proliferatum* 和 *F. fujikuroi* 之间在 FB 合成量上没有显著性差异,而 Choi 等^[14]认为 *F. fujikuroi* 产伏马毒素的能力更强,Palacios 等^[15]和 Leslie 等^[16]认为 *F. proliferatum* 产伏马毒素的能力更强,与本文结论略有差异,其原因可能在于毒素合成与菌株来源、培养条件等多种因素有关。前人的研究往往重点关注玉米中几种常见毒素(ZEN, DON 和伏马毒素),而本研究还着重关注了新型毒素 FA, MON, BEA 和 BIK,为玉米质量安全监测提供了新的评估对象^[17-18]。同时,玉米穗的致病力试验表明 FFSC 中 *F. subglutinans* 对玉米穗的致病力较强,其次为 *F. temperatum* 和 *F. fujikuroi*,这与李杨^[8]的研究结果不一致,说明该复合群存在种间致病力的分化,需要进一步研究。

本研究对中国玉米主产区的穗腐病优势菌群进行了分离鉴定与致病性测定,但是因为气候变化、种植模式的调整随时都可能对镰刀菌种群构成产生重要影响,因此中国玉米穗腐病病原菌动态演变规律仍然是今后研究的重点。玉米作为我国主要的粮食作物,穗腐病对其造成的危害不可小觑,本文明确了中国玉米穗腐病的主要致病菌组成及其分布特点,为进一步开展玉米穗腐病相关研究提供基础信息,为综合治理提供理论基础和科学依据。

参考文献:

- [1] 杨丽,陈义翔. 玉米产需形势分析概述[J]. 黑龙江粮食, 2021(9):34-35.
- [2] 王宝宝. 玉米穗腐病致病镰孢菌鉴定与寄主抗性[D]. 北京:中国农业科学院, 2020.
- [3] 吴畏,田宇昂,白宇汐,等. 云南玉米穗腐病致病菌鉴定与共生群落分析[J]. 中国测试, 2022, 48(2):56-65.
- [4] 张艳,谭静. 玉米穗粒腐病的研究进展[J]. 现代农业科技, 2014(21):121-122.
- [5] 马乘元,龙书生,李多川,等. 陕西省玉米穗粒腐病的病原菌鉴定及各分离菌分布频率[J]. 西北农林科技大学

- 学报(自然科学版),1995(S2):98-103.
- [6] 张婷,孙晓东,吕国忠.我国东北地区玉米穗腐镰孢菌的种类及其分离频率[J].菌物研究,2011,9(1):9-14.
- [7] 张小飞,邹成佳,崔丽娜,等.西南地区玉米穗腐病病原分离鉴定及接种方法研究[J].西南农业学报,2012,25(6):2078-2082.
- [8] 李杨.不同谷物中藤仓镰刀菌复合群种群结构与特性研究[D].泰安:山东农业大学,2019.
- [9] 方中达.植病研究方法[M].3版.北京:中国农业出版社,1998.
- [10] 王拱辰.常见镰刀菌鉴定指南[M].北京:中国农业科技出版社,1996.
- [11] O'DONNELL K, KISTLER H C, CIGELNIK E, et al. Multiple evolutionary origins of the fungus causing *Panama disease* of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1998, 95(5): 2044-2049.
- [12] 席靖豪.黄淮海夏玉米穗腐病病原多样性分析及玉米新品种抗病性鉴定[D].郑州:河南农业大学,2018.
- [13] 李新风,王建明,张作刚,等.山西省玉米穗腐病病原镰刀菌的分离与鉴定[J].山西农业大学学报(自然科学版),2012,32(3):218-223.
- [14] CHOI J H, LEE S, NAH J Y, et al. Species composition of and fumonisin production by the *Fusarium fujikuroi* species complex isolated from Korean cereals[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 267: 62-69.
- [15] PALACIOS S A, SUSCA A, HAIDUKOWSKI M, et al. Genetic variability and fumonisin production by *Fusarium proliferatum* isolated from durum wheat grains in Argentina[J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 201: 35-41.
- [16] LESLIE J F, ZELLER K A, LOGRIECO A, et al. Species diversity of and toxin production by *Gibberella fujikuroi* species complex strains isolated from native prairie grasses in Kansas[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(4): 2254-2262.
- [17] 陈新元,董飞,仲伶俐,等.四川省主要粮食作物中镰刀菌毒素污染规律分析[J].四川农业大学学报,2021,39(2):141-148.
- [18] 祭芳,张新明,徐学万,等.镰刀菌毒素限量及检测方法标准现状研究[J].农产品质量与安全,2018,4(4): 59-65.

(责任编辑:秦海明 实习编辑:张昌保)