文章编号：1005-0906(2019)05-0176-05 DOI: 10.13597/j.cnki.maize.science.20190526

吉林省玉米根腐镰孢菌种类鉴定和防治药剂筛选

贾 娇,张 伟,孟玲敏,李 红,晋齐鸣,苏前富
(吉林省农业科学院植物保护研究所,吉林 公主岭 136100)

摘 要：通过形态学和分子生物学方法对2016年采自吉林省36个村镇的玉米根腐病样品进行镰孢菌分离和鉴定,并通过田间试验筛选有效药剂。结果发现,共分离获得84株镰孢菌,主要包括尖孢镰孢、禾谷镰孢、拟轮枝镰孢、层出镰孢、三线镰孢等11种镰孢菌,其中尖孢镰孢平均分离频率最高,为45.2%;其次是禾谷镰孢,平均分离频率为20.2%。从分布区域看,尖孢镰孢是白城、吉林、辽源和通化地区玉米根腐病的主要致病菌,分离频率分别为75%、54.5%、85.7%和45.5%;禾谷镰孢是松原和四平地区玉米根腐病的主要致病菌,分离频率分别为41.7%和41.7%。田间试验表明,5种药剂的防治效果为16.35%～81.26%,药种比为10 g/kg的10%咯菌腈悬浮种衣剂对玉米根腐病防治效果最好,防效达81.26%。吉林省玉米根腐病的主要病原菌为尖孢镰孢,药种比为10 g/kg的10%咯菌腈悬浮种衣剂可用于玉米根腐病的田间防治。

关键词：玉米;玉米根腐病;镰孢菌;药剂筛选
中图文分类号：S435.132 **文献标识码**：A

Identification of *Fusarium* Species causing Maize Root Rot in Jilin Province and Screening of Fungicides

JIA Jiao, ZHANG Wei, MENG Ling-min, LI Hong, JIN Qi-ming, SU Qian-fu
(*Institute of Plant Protection*, *Jilin Academy of Agricultural Sciences*, *Gongzhuling* 136100, China)

Abstract: To clarify the population structure characteristics of *Fusarium* species causing maize root rot in 36 counties of Jilin province and effective seed-coating fungicides, the pathogenic fungus of maize root rot was identified with the method of isolation and sequence of rDNA-ITS, *CL* and efficacy of the used fungicides were evaluated in the field. The results showed 11 species were identified among the 84 isolates of *Fusarium*, including *F. oxysporum, F. graminearum, F. verticillioides, F. proliferatum, Fusarium tricinatum* and so on. The isolation frequency of *F. oxysporum* was the highest, accounted for 45.2%. The next isolation frequency of *F. graminearum* is 20.2%. *Fusarium oxysporum* was the dominant species causing maize root rot in Baicheng, Jilin, Liaoyuan and Tonghua with frequencies of 75%, 54.5%, 85.7% and 45.5%, respectively. *Fusarium graminearum* was the dominant species in Songyuan and Siping city with frequencies of 41.7% and 41.7%, respectively. Field trials showed that the control effect of 5 fungicides on maize root rot was 16.35%-81.26%, and among them, 10 g/kg of 10% fludioxoni FSC had the greatest control effect with control efficacy up to 81.26%. The results indicated that the main pathogen of maize root rot was *F. oxysporum* in Jilin province, 10 g/kg of 10% Fludioxoni FSC could be used to control maize root rot.

Key words: Maize; Maize root rot; *Fusarium*; Fungicide screening

玉米根腐病是玉米苗期重要真菌病害之一,主要危害玉米初生根导致根系变褐、腐烂,发病严重时幼苗死亡。该病害在全世界各个玉米产区普遍发生,严重地块发病率高达80%～100%,是影响玉米的产量和品质重要病害之一[1～3]。吉林省玉米播种面积333.22万hm^2,占全省粮食播种面积的71%,占全国玉米播种面积的9.54%,且由于种植品种更替、栽培管理模式改变以及环境条件影响造成玉米根腐病发生呈加重趋势[4,5]。

镰孢菌种类多且可在土壤中存活10年以上,不仅造成玉米根腐病,而且是危害大豆、棉花、小麦和

录用日期：2018-12-10
基金项目：国家玉米产业技术体系(CARS-02)、作物根腐病综合治理技术方案(201503112-5)
作者简介：贾 娇(1981-),女,博士,主要从事玉米病害研究。E-mail:jiajiao821@163.com
苏前富为本文通讯作者。E-mail:qianfusu@163.com

豇豆等多种农作物的主要致病菌[6~9]。国内学者报道,引起玉米根腐病的病原菌主要有4种,分别为镰孢菌 *Fusarium* spp、腐霉菌 *Pythium* spp、丝核菌 *Rhizoctonia* spp 和孺孢菌 *Helminthosporium* spp[10,11]。任金平等报道,拟轮枝镰孢菌和禾谷镰孢菌是造成吉林省玉米幼苗根腐病的主要致病菌[12]。纪莉景等研究报道,河北省玉米根腐病的主要病原菌为禾谷镰孢菌 *F. graminearum*[13]。本研究通过组织分离和 *ITS*、*CL* 基因序列比对方法,对造成吉林省玉米根腐病的致病镰孢菌种类进行鉴定,并通过种子包衣技术筛选出防治禾谷镰孢根腐病的有效药剂,为研究该病害的发生规律和防治方法提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　供试材料

1.1.1　玉米根腐病样品

2016年在吉林省大安市、白城市镇赉县和洮南市、松原市长岭县和前郭县、吉林市舒兰县和昌邑区、四平市双辽县和公主岭市、通化市集安县和梅河口市、辽源市东辽县共12个县区,每个县分别在3个村镇调查取样,样品在牛皮纸袋中保存带回实验室内进行主胚根发病部位的带菌检测。

1.1.2　供试培养基和玉米品种

供试培养基为马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 15 g,蒸馏水 1 L。供试玉米品种为吉德359。

1.1.3　化学药剂

供试药剂灭菌唑、甲霜灵、咯菌腈、抑霉唑和噁霉灵购于吉林八达农药有限公司。

1.2　方法

1.2.1　病原菌的分离

将采集的发病玉米植株根部经无水乙醇表面消毒,再用清水冲洗3次,将灭菌的样品转移至PDA培养基上,25℃黑暗培养2 d,挑取分离的镰孢菌于新的PDA上培养,通过制备梯度稀释的分生孢子悬浮液法进行单胞分离,获得纯化菌株。

1.2.2　病原菌的分子鉴定

在分离菌株的菌丝体中提取基因组DNA,引物ITS1:5'-TCCGTAGGTGAACCTG CGG-3'和ITS4:5'-TCCTCCGCTTATTGATGTGC-3'进行PCR扩增 *ITS* 基因序列,引物CL1:5'-GAGTTCAAGGAGGCCTTCTC-3'和CL2:5'-TTTTTGCATCATGAGTTGGAC-3'扩增Calmodulin(*CL*)基因序列[12],将获得的单一条带PCR纯化产物送吉林省库美生物技术有限公司测序。

1.2.3　田间防治药剂筛选

田间药剂试验在吉林省农业科学院公主岭试验地进行。每种药剂配制成10%的种衣剂,按照1:100比例进行玉米种子包衣。每个小区面积为4行×5 m,行距为65 cm,株距为22 cm,每个处理3次重复,不包衣为对照。在播种时,每行垄沟内均匀撒带有禾谷镰孢的高粱粒30 g,接种病菌后覆土,小区进行常规田间管理。在玉米3~4叶1心期,以玉米主胚根是否腐烂为调查标准,调查玉米根腐病的发病率。

发病率=发病株数/总株数×100%;

防治效果=(对照发病率-处理发病率)/对照发病率×100%。

2　结果与分析

2.1　吉林省玉米根腐病致病镰孢菌的种类

表1　吉林省玉米根腐镰孢菌分离频率

Table 1　The isolation frequency of *Fusarium* strains of corn root rot in Jilin province

镰孢菌 *Fusarium* spp.	菌株数(株) Number of stains	总分离频率(%) Total isolation frequency	分离频率(%) Frequency					
			白城	松原	吉林	辽源	四平	通化
F. oxysporum	38	45.2	75.0		54.5	85.7	25.0	45.5
F. graminearum	17	20.2		41.7		14.3	41.7	
F. verticillioides	10	11.9		33.3	27.3			27.3
F. proliferatum	3	3.6					12.5	
F. temperatum	6	7.1	8.3	8.3			4.2	27.3
F. tricinatum	3	3.6					12.5	
F. culmorum	1	1.2		8.3				
F. napiforme	1	1.2	8.3					
F. acumninatum	3	3.6			18.2		4.2	
F. redolens	1	1.2		8.3				
F. brachygibbosum	1	1.2	8.3					

对采集吉林省36个县市的玉米根腐病样品进行病原菌分离，通过组织分离法和ITS基因序列的Blast比对发现，分离获得84株镰孢菌，主要包括常见的尖孢镰孢 *Fusarium oxysporum*、禾谷镰孢 *Fusarium graminearum*、拟轮枝镰孢 *Fusarium verticillioides*、层出镰孢 *Fusarium proliferatum*、温暖镰孢 *Fusarium temperatum*、三线镰孢 *Fusarium tricinatum* 和不常见的 *Fusarium culmorum*、*Fusarium napiforme*、*Fusarium acumninatum*、*Fusarium redolens*、*Fusarium brachygibbosum* 共计11种镰孢菌(表1)。ITS和CL序列比对结果发现，各种镰孢菌与标准菌株的同源性均在99%或以上(表2)。

表2 分离的不同种类镰胞菌的ITS/CL序列比对结果

Table 2 Aliment results of nucleotide sequences of ITS or CL between current isolations and corresponding standard strains

镰孢菌 *Fusarium* spp.	标准菌株 Standard strain	基 因 Gene	基因登录号 Number of Genebank	同源性(%) Homology
Fusarium oxysporum	gss143	*ITS*	MH292454.1	100
Fusarium graminearum	FSHG	*ITS*	KU939070.1	100
Fusarium verticillioides	A105	*ITS*	KX607113.1	99
Fusarium proliferatum	CNE9	*ITS*	WY355384.1	99
Fusarium temperatum	M18062	*CL*	KC964154.1	99
Fusarium tricinatum	WBS020	*ITS*	KU350730.1	99
Fusarium culmorum	A543	*ITS*	KX462999.1	99
Fusarium napiforme	2010	*ITS*	KU950733.1	99
Fusarium acumninatum	RP128_2_5	*ITS*	KX067809.1	99
Fusarium redolens	PUF026	*CL*	HQ412336.1	99
Fusarium brachygibbosum	Fbr2	*ITS*	KU528864.1	99

2.2 优势种群比较

镰孢菌分离结果显示，*F. oxysporum* 分离频率最高，其次为 *F. graminearum*，分离频率分别为45.2%和20.2%。从区域分布来看，*F. oxysporum* 分布最广，在白城、吉林辽源、四平和通化分离获得，分离频率分别为75%、54.5%、85.7%25%和45.5%；*Fusarium graminearum* 在松原、辽源和通化均分离获得，分离频率分别为41.7%、14.3%和41.7%；*Fusarium verticillioides* 在松原、吉林和通化均分离获得，分离频率分别为33.3%、27.3%和27.3%；*Fusarium temperatum* 在白城、松原、四平和通化分离获得，分离频率分别为8.3%、8.3%、4.2%和27.3%；其他镰孢菌在个别地区也有发现，分离频率较低。结果表明，吉林省玉米根腐病主要致病镰孢菌为 *F. oxysporum*，不同地区玉米根腐病优势致病镰孢菌种类存在差异。

2.3 不同化学种衣剂对玉米根腐病的防治效果

表3 不同种衣剂对玉米根腐病防治效果

Table 3 Control effect of seed-coating formulations on the root rot of maize

处 理 Treatment	药种比(g/kg) Dosage	病株率(%) Disease incidence	防治效果(%) Control efficacy
10%灭菌唑FSC	10	9.19±0.32 c	30.73±10.73 c
10%甲霜灵FSC	10	11.18±0.81 b	16.35±6.99 d
10%咯菌腈FSC	10	2.81±0.35 f	81.26±2.32 a
10%抑霉唑FSC	10	8.97±0.36 c	32.74±7.89 c
10%噁霉灵FSC	10	4.38±1.34 e	67.36±9.04 a
CK		13.44±1.67 a	

注：表中数据为平均数±标准差，同列数据后不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在$p<0.05$水平差异显著。

Note: The data in the table were the mean ± SD. Different letters in the same column indicated significant difference at $p<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

种子经不同种衣剂包衣后播种，在玉米3～4叶1心期时，各药剂处理组的玉米根腐病发病率明显低于对照，防治效果之间存在明显差异。药种比为10 g/kg的咯菌腈、噁霉灵、抑霉唑、灭菌唑和甲霜灵

悬浮种衣剂的防治效果分别为81.26%、67.36%、32.74%、30.73%和16.35%。结果表明,药种比为10 g/kg的10%的咯菌腈对玉米根腐病具有较好的防治效果。

3　结论与讨论

镰孢菌是造成我国不同玉米种植区发生玉米根腐病的主要致病菌之一。晋齐鸣等研究发现,在吉林省保护性耕地土壤中致病菌分离频率由高到低依次为*F. verticillioides*、*Pythium* spp和*F. graminearum*,其中*F. verticillioides*是造成玉米根腐病的主要致病菌[14]。刘治刚等报道,贵州滨州地区玉米根腐病主要病原菌为*F. verticillioides*[15]。本研究发现,造成吉林省玉米根腐病的致病镰孢菌主要有尖孢镰孢菌*F. oxysporum*、禾谷镰孢菌*F. graminearum*、拟轮枝镰孢菌*F. verticillioides*、层出镰孢菌*Fusarium proliferatu*、温暖镰孢菌*Fusarium temperatum*、黄色镰孢菌*Fusarium culmorum*、三线镰孢菌*F. tricinatum*、芳香镰孢菌*Fusarium redolens*等11种,其中*F. oxysporum*分离频率最高、分布范围最广;其次是禾谷镰孢菌。本研究推测吉林省玉米根腐病的致病镰孢菌种类在发生变化。因此,应对吉林省玉米根腐病的致病镰孢菌进行及时监测,并根据不同地区的优势致病菌进行有针对性的防治药剂筛选。

李建强等研究报道,通过种子包衣可以提高玉米的出苗率,且对玉米苗枯病具有一定防治效果[16]。本研究通过采用种子包衣技术针对*F. graminearum*进行有效防治药剂筛选,结果发现,10%咯菌腈按1∶100进行种子包衣对*F. graminearum*根腐病具有较好的防治效果。郝俊杰等研究发现,咯菌腈处理玉米种子对玉米出苗率、根长、干重均有较好的效果,且减轻镰孢菌根腐病的发生[17]。贾娇等发现,咯菌腈对*F. graminearum*的EC_{95}值为0.529 μg/mL,*F. graminearum*对咯菌腈存在中等或高等抗药性风险[18]。潘龙其等报道,98%咯菌腈对紫花苜蓿根腐病病原菌*F. oxysporum*的抑制作用最大,EC_{50}值为2.06 μg/mL,可作为防治紫花苜蓿根腐病的首选药剂[19],咯菌腈对*F. graminearum*具有明显的抑制效果。本研究表明,10%咯菌腈种衣剂可作为防治玉米根腐病的优选药剂,由于镰孢菌对咯菌腈可产生一定抗性风险,推荐咯菌腈与其他药剂复配使用。

参考文献:

[1] Chang I P, Kommendhal T. Biological control of seedling blight of corn by coating kernels with antagonistic microorganisms[J]. Phytopathology, 1968, 58: 1395-1401.

[2] Kommendhal T, Chang I P. Biocontrol of corn root infection in the field by seed treatment with antagonists[J]. Phytopathology, 1975, 65: 296-300.

[3] 马桂珍,暴增海,杨文兰,等. 玉米苗期根腐病的病原学研究[J]. 河北农业技术师范学院学报,1995,9(4):7-11.
Ma G Z, Bao Z H, Yang W L, et al. Study on etiology of maize root rot in seeding stage[J]. Journal of Hebei Agrotechnical Teachers Tollege, 1995, 9(4): 7-11. (in Chinese)

[4] 常　雪,周淑香,丁　岩,等. 吉林省玉米苗期害虫种类及发展趋势分析[J]. 玉米科学,2018,26(1):160-166.
Cang X, Zhou S X, Ding Y, et al. Maize seedling pest species and the occurrence trend analysis in Jilin province[J]. Journal of Maize Sciences, 2018, 26(1): 160-166. (in Chinese)

[5] 王晓鸣,晋齐鸣,石　洁,等. 玉米病害发生现状与推广品种对未来病害发展的影响[J]. 植物病理学报,2006,36(1):1-11.
Wang X M, Jin Q M, Shi J, et al. The status of maize diseases and the possible effect of variety resistance on diseases occurrence in the future[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2006, 36(1): 1-11. (in Chinese)

[6] Chang K F, Hwang S F, Conner R L, et al. First report of *Fusarium proliferatum* causing root rot in soybean(Glycine max L) in Canada [J]. Crop Protection, 2015, 67: 52-58.

[7] Dilfuza E, Dilfuza J, Abeer H. *Pseudomonas* induces salinity tolerance in cotton(*Gossypium hirsutum*) and resistance to *Fusarium* root rot through the modulation of indole-3-acetic acid[J]. 2015, 6(22): 773-779.

[8] 纪莉景,栗秋生,王连生,等. 河北省小麦冠腐病发生现状及病原菌初探[J]. 植物保护,2016,42(5):154-157.
Ji L J, Li Q S, Wang L S, et al. Occurrence and pathogen composition of wheat crown rot in Hebei province[J]. Plant Protection, 2016, 42(5): 154-157. (in Chinese)

[9] 刘河庆,席亚东,陈　玲,等. 一种新的豇豆根腐病病原菌鉴定及室内药剂筛选[J]. 植物保护,2018,44(2):177-183.
Liu H Q, Xi Y D, Chen L, et al. Identification of a new pathogen for cowpea root rot and fungicide screening[J]. Plant Protection, 2018, 44(2): 177-183. (in Chinese)

[10] 晋齐鸣,骈跃斌,宋淑云,等. 玉米苗期病害诊断与防治技术研究[J]. 吉林农业大学学报,2004,26(4):355-359.
Jin Q M, Pian Y B, Song S Y, et al. Study on the techniques of diagnosing and controlling corn seedling diseases[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2004, 26(4): 355-359. (in Chinese)

[11] 王丽娟,徐秀德,姜　钰,等. 东北玉米苗枯病病原镰孢菌rDNA ITS鉴定[J]. 玉米科学,2011,19(4):131-133,137.
Wang L J, Xu X D, Jiang Y, et al. Identification of the Fusarium isolations of rDNA ITS in maize seedling blight in northeast of China [J]. Journal of Maize Sciences, 2011, 19(4): 131-133, 137. (in Chinese)

[12] 任金平,吴新兰,庞志超,等. 吉林省玉米苗病发生为害及病原真菌种类调查[J]. 玉米科学,1995,3(S1):3.
Ren J P, Wu X L, Pang Z C, et al. A study on occurrence of corn seedling diseases and species of pathogenic fungi in Jilin province [J]. Journal of Maize Sciences, 1995, 3(S1): 3. (in Chinese)

[13] 纪莉景,栗秋生,王连生,等 . 河北省玉米根腐病病原菌组成及防治药剂筛选[C] . 植物病理学研究进展,2015:13-16 .

[14] 晋齐鸣,宋淑云、李 红,等 . 不同耕作方式玉米田土壤病原菌数量分布与病害相关性的研究[J] . 玉米科学,2007,15(6):93-96 .
Jin Q M, Song S Y, Li H, et al. Investigations on soil pathogens quantitative distribution and disease acess from different cultivated types in the maize field[J]. Journal of Maize Sciences, 2007, 15(6): 93-96. (in Chinese)

[15] 刘治刚 . 玉米苗期根腐病生防木霉菌的筛选[J] . 贵州农业科学,2010,38(9):114-115 .
Liu Z G. Screening of Trichoderma against root rot caused by *Fusarium moniliforme* during seedling stage of maize[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2010, 38(9): 114-115. (in Chinese)

[16] 李健强,李洪连,袁红霞,等 . 种子包衣防治玉米苗期病害及对生长和产量的影响[J] . 中国农业大学学报,1999,4(5):82-86 .
Li J Q, Li H L, Yuan H X, et al. Effect of seed coating treatment on the control of seedling disease, growth and yield of corn[J]. Journal of China Agricultural University, 1999, 4(5): 82-86. (in Chinese)

[17] 郝俊杰,刘佳中,孙 静,等 . 杀菌剂种子处理对镰孢菌侵染玉米的影响[J] . 玉米科学,2013,21(5):120-126 .
Hao J J, Liu J Z, Sun J, et al. Effects of Fusarium seed treatment on maize seeding infected with *Fusarium* species[J]. Journal of Maize Sciences, 2013, 21(5): 120-126. (in Chinese)

[18] 贾 娇,苏前富,孟玲敏,等 . 抗咯菌腈禾谷镰刀菌的紫外诱导及其生物学特性[J] . 植物保护,2016,42(4):43-47 .
Jia J, Su Q F, Meng L M, et al. Ultraviolet induction and characteristics of *Fusarium graminearum* resistant to fludioxonil[J]. Plant Protection, 2016, 42(4): 43-47. (in Chinese)

[19] 潘龙其,张 丽,袁庆华,等 . 不同杀菌剂对拟枝孢镰刀菌的毒力测定及田间防效[J] . 中国农业大学学报,2016,21(1):87-96 .
Pan L Q, Zhang L, Yuan Q H, et al. Toxicity measurement and field control of alfalfa root rot *Fusarium sporotrichioide*[J]. Journal of China Agricultural University, 2016, 21(1): 87-96. (in Chinese)

(责任编辑:姜媛媛)