

玉米穗腐病样品中层出镰刀菌的分离与鉴定

卢维宏^{1,2} 黄思良^{1*} 陶爱丽^{1,2} 武爱波³ 王春梅¹ 黎起秦²

(1. 南阳师范学院生命科学与技术学院, 南阳 473061; 2. 广西大学农学院, 南宁 530005;
3. 上海交通大学生命科学与技术学院, 上海 200240)

摘要: 为了解豫西南玉米穗腐病的病原菌, 于2009年9月在河南省南阳市6个县区采集玉米穗腐病样品, 进行病原菌的分离与单孢纯化。依据致病性、形态及分子检测结果进行病原菌鉴定。研究结果表明, 分离得到的105株镰刀菌中, 层出镰刀菌 *Fusarium proliferatum* 为70株, 占分离镰刀菌的66.7%, 属优势种群。在基于核糖体基因内转录间隔区 (rDNA-ITS) 与翻译延长因子 *1α* 基因 (*tef*) 序列构建的系统发育树中, 3株代表菌株 Fp1、Fp2 和 Fp3 分别与 GenBank 登记的层出镰刀菌在自举值89%和91%水平相聚同一群。层出镰刀菌的生长温度为13~34℃, 最适温度为28℃; 在pH 5.0和6.0各有1个生长高峰; 碳源对该菌营养生长的影响较为稳定, 而氮源对其营养生长影响的变幅较大。

关键词: 玉米; 层出镰刀菌; 致病性; 鉴定

Isolation and characterization of *Fusarium proliferatum* from maize ear rot samples

Lu Weihong^{1,2} Huang Siliang^{1*} Tao Aili^{1,2} Wu Aibo³ Wang Chunmei¹ Li Qiqin²

(1. College of Life Sciences and Technology, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, Henan Province, China; 2. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; 3. College of Life Sciences and Technology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: To know the pathogens causing maize ear rot in southwestern Henan, the maize ear rot samples were collected from 6 counties in Nanyang City in September, 2009. Pathogens were isolated from the samples and purified with single spore isolation. The pathogens were identified based on results of pathogenicity tests, morphological observations and molecular analyses. Seventy isolates were identified as members of *Fusarium proliferatum*, contributing about 66.7% of the *Fusarium* isolates obtained and indicating that *F. proliferatum* was a predominant *Fusarium* species causing maize ear rot in Nanyang. Two phylogenetic trees were established based on rDNA-ITS (internal transcribed spacer) and *tef* (translation elongation factor *1α* gene) sequences, respectively. Three representative isolates Fp1, Fp2 and Fp3 clustered with GenBank-derived *F. proliferatum* isolates at 89% bootstrap level for rDNA-ITS sequences, and 91% for *tef* gene sequences. *F. proliferatum* could grow at temperatures of 13–34 °C with 28 °C as the optimum. Growth peaks occurred at pH 5.0 and pH 6.0, respectively. Vegetative growth of *F. proliferatum* was found to be significantly influenced by nitrogen sources compared to carbon sources.

Key words: maize; *Fusarium proliferatum*; pathogenicity; identification

基金项目: 河南省科技创新团队建设项目(2010JRTSTH012)

作者简介: 卢维宏, 男, 1984年生, 硕士研究生, 研究方向为植物真菌病害防治, email: luweihong_002@163.com

* 通讯作者 (Author for correspondence), email: silianghuang@126.com

收稿日期: 2010-08-09

玉米是重要的粮食作物。2009 年我国玉米播种面积为 3 071.67 万 hm^2 , 产量约为 1 595.5 亿 kg, 随着食品工业和饲料产业的发展, 玉米作为主要食品和饲料作物的地位也日益上升^[1]。玉米在生长过程中受多种病原物的危害, 病害问题已成为玉米产业可持续发展的重要限制因子。穗腐病又名玉米穗粒腐病, 是由多种病原菌引起的世界性玉米病害。镰刀菌是引起玉米穗腐病的主要病原菌, 不仅直接造成玉米产量损失, 其分泌的毒素还影响玉米的品质, 对玉米的食品安全性构成威胁。不同气候带玉米产区中, 玉米穗腐病致病镰刀菌的种群结构可能发生改变^[2]。因此准确鉴定玉米穗腐病的病原菌是进行玉米穗腐病防控的基础。

在欧洲、非洲等地, 有关玉米穗腐病的致病镰刀菌及其毒素种类的研究较多, 其中拟轮枝镰刀菌 *Fusarium verticillioides* (异名: 串珠镰刀菌 *Fusarium moniforme*)、层出镰刀菌 *F. proliferatum* 和亚黏团镰刀菌 *F. subglutinans* 被认为是引起玉米穗腐病的主要病原菌^[3-5], 这 3 种镰刀菌产伏马菌素能力均较强^[6-8]。近 20 年来, 我国对玉米穗腐病的病原也开展了研究^[2-9], 普遍认为拟轮枝镰刀菌 *F. verticillioides* 为优势病原菌, 禾谷镰刀菌 *F. graminearum* 次之^[10-12]。河南省是我国重要的粮食产区, 也是玉米的主要种植区。南阳市地处豫西南地区, 北靠伏牛山, 东扶桐柏山, 西依秦岭, 南临汉江, 属南北气候过渡带, 是河南省重要玉米产区。当地玉米穗腐病发生比较普遍, 但尚未见关于该地区玉米穗腐病病原鉴定的报道。为此, 作者近年对南阳市玉米穗腐病进行了调查, 发现多种镰刀菌可引起当地玉米穗腐病, 其中层出镰刀菌 *F. proliferatum* 作为玉米穗腐病的病原菌在国内鲜有报道。本试验采用形态观察和分子鉴定技术对玉米穗腐病样本中分离的层出镰刀菌进行鉴定, 并对其生物学特性进行了研究。

1 材料与方法

1.1 病原菌分离与致病性测定

1.1.1 病原菌分离

2009 年 9 月在南阳市 6 个县区(卧龙区、内乡县、西峡县、方城县、唐河县、桐柏县)采集玉米穗腐病样品, 每个县区随机调查 2 块玉米田, 每块玉米田采用 5 点取样法进行样品采集, 每点采集 3 份病穗, 带回实验室后, 首先对病穗进行症状描述并拍照, 然后用镊子剥取发病籽粒, 用 75% 酒精处理 10 s,

0.1% 升汞消毒 5 min, 无菌水冲洗 3 次, 置于马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)平板上, 28℃ 培养 3 天, 挑取菌落边缘菌丝体, 转接于 PDA 斜面上保存。分离物采用单孢分离法进行纯化^[13]。

1.1.2 致病性测定

依据 Koch 法则, 将单孢菌株在 PDA 平板 28℃ 培养 3 天, 用直径 5 mm 的打孔器切取菌落边缘菌饼, 分别刺伤接种到 3~4 叶期的玉米叶片和果穗上, 28℃ 下套袋保湿培养, 3 天后观察发病情况, 描述症状。设接种纯 PDA 的玉米叶片和果穗为空白对照。每处理设 3 次重复。对发病的叶片和果穗, 分别取病健交界组织和病籽粒, 用 75% 酒精处理 10 s, 0.1% 升汞表面消毒(叶片 3 min, 病籽粒 5 min)。无菌水冲洗 3 次后置于 PDA 平板上 28℃ 下培养 3 天, 获得再分离菌株, 并观察再分离菌株与原接种菌株在相同培养条件下的形态差异。

1.2 病原菌鉴定

1.2.1 形态学鉴定

以病原菌菌落及分生孢子形态为鉴定依据。将分离的菌株接种在 PDA 平板上, 28℃ 下培养 3 天, 观察菌落形态, 在显微镜下随机测量 100 个分生孢子的大小, 记录其形态特征, 并与相关文献^[14-16]描述进行比对。

1.2.2 分子鉴定

将单孢菌株在适温下活化 3 天, 分别转接至 100 mL 马铃薯葡萄糖液体培养基(PDB)中, 28℃ 180 r/min 摇床培养 2~3 天。用灭菌的漏斗(内垫 3 层灭菌擦镜纸)过滤菌丝体后, 用灭菌水冲洗菌丝体至滤出液澄清。挑取适量菌丝体于灭菌的研钵中, 加入液氮后迅速研磨至白色粉末。转移适量粉末于 1.5 mL Eppendorf 3810 型微量离心管中, 加入 700 μL 的裂解液(氯化钠 2.92 g、乙二醇四乙酸 0.78 g、三羟甲基胺基甲烷 0.3 g、聚乙烯吡咯烷酮 0.5 g、十二烷基磺酸钠 1 g、双蒸水 50 mL), 混匀后于 65℃ 水浴 1 h; 4℃、12 000 r/min 离心 10 min, 取上清; 加入等体积的苯酚: 氯仿: 异戊醇 = 25: 24: 1(v/v)的混合有机溶剂, 4℃、12 000 r/min 离心 10 min, 取上清; 用同样的混合有机溶剂重复抽提 2 次。加入 2 倍体积的预冷无水乙醇和 1/10 体积的醋酸钠, -20℃ 沉淀 1 h 后 4℃、12 000 r/min 离心 10 min, 弃上清。用 75% 乙醇清洗沉淀 3 次, 晾干后加入 25 μL 的双蒸水溶解沉淀, 作为基因组 DNA 置于 -20℃ 冰箱备用。当扩增核糖体基因内转录间隔区(rD-

NA-ITS) 序列时,用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGT-GAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATT-GATATGC-3') 进行 PCR 反应。反应体系:10 × PCR Buffer 5.0 μL、Mg²⁺ 3 μL、10 mmol/L dNTP 1.5 μL、引物 ITS1 1.5 μL、引物 ITS4 1.5 μL、5 U/μL *Taq* 酶 0.3 μL、ddH₂O 33.2 μL、DNA 模板 4.0 μL,总体积为 50 μL。扩增程序:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 40 s,56 °C 退火 40 s,72 °C 延伸 45 s,共 32 个循环;最后 72 °C 延伸 7 min。当扩增 *tef* 基因(翻译延长因子 1α 基因)时,用引物 EF1T (5'-ATGGGTAAGGAGGA-CAAGAC-3') 和 EF2T (5'-GGAAGTACCAGTGATCAT-GTT-3') 按 O'Donnell 等^[17] 的反应体系和程序进行 PCR 反应。分别取 3 μL PCR 产物经过 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测,以 DL2000 DNA marker 为分子量标准,电泳结束后,拍照记录电泳结果。PCR 产物送至大连宝生物有限公司进行纯化和测序后,用 <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> 的 BLAST 程序进行同源性比较,并用软件 MEGA version 4.0^[18] 在重复 10 000 次下分别构建基于 rDNA-ITS 序列和 *tef* 基因序列的系统树。

1.3 生物学特性研究

1.3.1 温度对病原菌营养生长及孢子形成的影响

将代表菌株 Fp1 在 PDA 平板上 28 °C 下培养 3 天,用灭菌的内径 5 mm 的打孔器切取菌落边缘菌饼,移至 PDA 培养基平板中央,将 PDA 平板分别置于 7、10、13、16、19、22、25、28、31、34、37、40 °C 下恒温培养,第 3 天测量菌落直径及产孢量。每处理设 3 次重复。

1.3.2 pH 值对病原菌营养生长的影响

按 1.3.1 的方法将代表菌株 Fp1 接种于 pH 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0 的 100 mL PDB 培养基中^[19],在 28 °C 下静置培养 5 天,用已知重量的 3 层滤纸过滤,于 80 °C 下烘干 12 h 后称重,去除滤纸重量后得到菌丝体干重。每处理设 3 次重复。

1.3.3 病原菌对碳、氮源的利用

碳、氮源基本培养基配方:K₂HPO₄ 1 g、KCl 0.5 g、MgSO₄ · H₂O 0.5 g、FeSO₄ · H₂O 0.01 g、琼脂粉 17 g、水 1 000 mL。测试不同碳源对菌株 Fp1 生长的影响时,1 000 mL 基础培养基中加入 2 g KNO₃ 作为氮源,再加待测碳源 30 g;测试不同氮源时,1 000 mL 基础培养基中加入 20 g 葡萄糖作为碳源,然后加入待测氮源 2 g^[20]。供试碳源有 12 种:葡萄糖、蔗糖、

D-果糖、木糖、甘露醇、L-阿拉伯糖、乳糖、麦芽糖、半乳糖、L-山梨糖、木糖醇和可溶性淀粉;供试氮源有 8 种:甘氨酸、L-胱氨酸、氯化铵、脲、硝酸钠、L-组氨酸、磷酸二氢铵和 DL-丙氨酸。

将供试代表菌株 Fp1 转接至 PDA 平板上,28 °C 下活化培养 3 天,用内径为 5 mm 的打孔器切取菌落边缘菌饼,分别转接至含有不同的碳、氮源的培养基平板中央,在 28 °C 下培养 5 天,观察菌落形态,测量其直径。每处理设 3 次重复。

2 结果与分析

2.1 症状

层出镰刀菌引起的玉米穗腐病多从玉米穗梢部开始发生,导致玉米籽粒褐变或者干瘪(图 1-A)。空气湿度较高时,病部产生白色霉层,即病原菌的菌丝体和分生孢子。此外,病原菌也可以通过果穗中的虫蛀部位进行侵染(图 1-B),被侵染的籽粒变为深褐色,周围有白色稀疏霉层,潮湿时霉层可迅速布满整个玉米果穗。通过微伤口接种果穗时,病部褐变,产生白色霉状物;通过微伤口接种叶片时,28 °C 培养 3 天后接菌处出现水渍状椭圆形的病斑,上有稀疏的白色菌丝,病斑背面布满白色霉层。接种空白 PDA 的叶片和玉米果穗(对照区)均不发病。

2.2 病原菌分离及其致病性

从南阳市 6 个县区 12 块玉米田共采集 80 份玉米穗腐病样品,从样品中共分离获得 105 株单孢镰刀菌。经接种,所分离的镰刀菌在有伤接种时均可侵染玉米果穗和叶片,将从接种发病组织中再分离的菌株与原接种菌株在 PDA 平板上 28 °C 下培养 3 天,两者的菌落和分生孢子形态完全一致。表明分离的镰刀菌均对健康玉米有致病性,是玉米穗腐病的病原菌。在形态学上与层出镰刀菌相符的有 70 株,暂称拟似层出镰刀菌,占总分离镰刀菌的 66.7%。

2.3 病原菌的形态

拟似层出镰刀菌在 PDA 培养基上 28 °C 培养 3 天,菌落圆形,菌丝体毛絮状,生长旺盛,外围一圈菌丝体生长稀疏,后期中央菌丝体由白色转为紫色(图 1-C)。对代表菌株 Fp1 的分生孢子在显微镜下进行观测(大、小型分生孢子的随机观测样品数均为 100)。结果表明,大型分生孢子呈镰刀形或纺锤形,无色透明,具 2~5 个隔膜(图 1-D),大小 20.6~49.0 μm × 2.3~4.9 μm,平均 34.5 μm × 3.5 μm;小型分生孢子长卵形、梨形或肾形,无色透明,大小

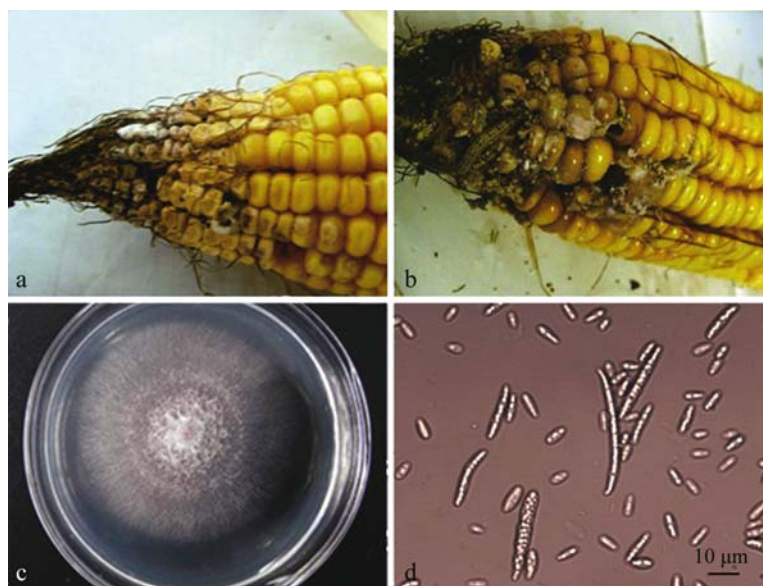


图 1 玉米穗腐病田间症状及其致病层出镰刀菌

Fig. 1 Field symptoms of maize ear rot and its causal agent *Fusarium proliferatum*

注: A: 果穗梢部症状; B: 虫蛀部位感染; C: PDA 平板上层出镰刀菌的菌落; D: 层出镰刀菌的分生孢子。Note: A: Symptoms on the top of a maize ear; B: infections occurred from the insect feeding sites; C: colony of *F. proliferatum* on a PDA plate; D: conidia of *F. proliferatum*.

5.7 ~ 13.9 μm $\times$ 2.4 ~ 4.8 μm , 平均 8.5 μm $\times$ 3.3 μm 。菌株 Fp1 形态指标与层出镰刀菌^[16-18]相符。

2.4 分子鉴定

对 70 株拟似层出镰刀菌用 rDNA-ITS 序列的通用引物 ITS1 和 ITS4 进行 PCR 扩增, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳。结果显示, 扩增产物均约为 500 bp, 经测序后发现, 所有拟似层出镰刀菌的 rDNA-ITS 序列与 GenBank 中的层出镰刀菌有 98 ~ 100% 的最大相似性。菌株 Fp1、Fp2 和 Fp3 的 rDNA-ITS 的扩增结果如图 2-A 所示。它们的 rDNA-ITS 片段分别为 520、

518 和 520 bp (GenBank 登记号分别为: HM769951、HM769952 和 HM769953)。菌株 Fp1、Fp2 和 Fp3 的 *tef* 基因扩增结果如图 2-B 所示, 它们的 *tef* 基因片段分别为 666、666 和 672 bp (GenBank 登记号分别为: JF972639、JF972640 和 JF972641)。在构建的基于 rDNA-ITS 序列 (图 3) 和基于 *tef* 基因序列 (图 4) 的系统发育树中, 代表菌株 Fp1、Fp2 和 Fp3 与层出镰刀菌分别在自举值 89% 和 91% 水平相聚于同一群。从分子水平证明供试菌株为层出镰刀菌 *F. proliferatum*。

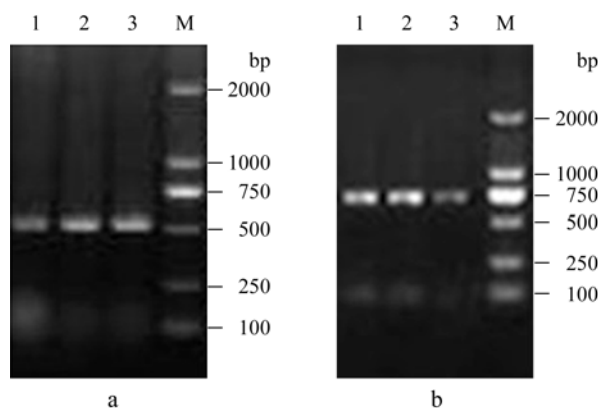


图 2 层出镰刀菌基因组 DNA 的 PCR 产物电泳图

Fig. 2 Electrophoretograms for PCR products of *Fusarium proliferatum* genomic DNA

注: a: rDNA-ITS; b: *tef* 基因。1: 菌株 Fp1; 2: 菌株 Fp2; 3: 菌株 Fp3; M: DL2000 DNA marker。Note: a: rDNA-ITS; b: *tef* gene. 1: Isolate Fp1; 2: isolate Fp2; 3: isolate Fp3; M: DL2000 DNA marker.

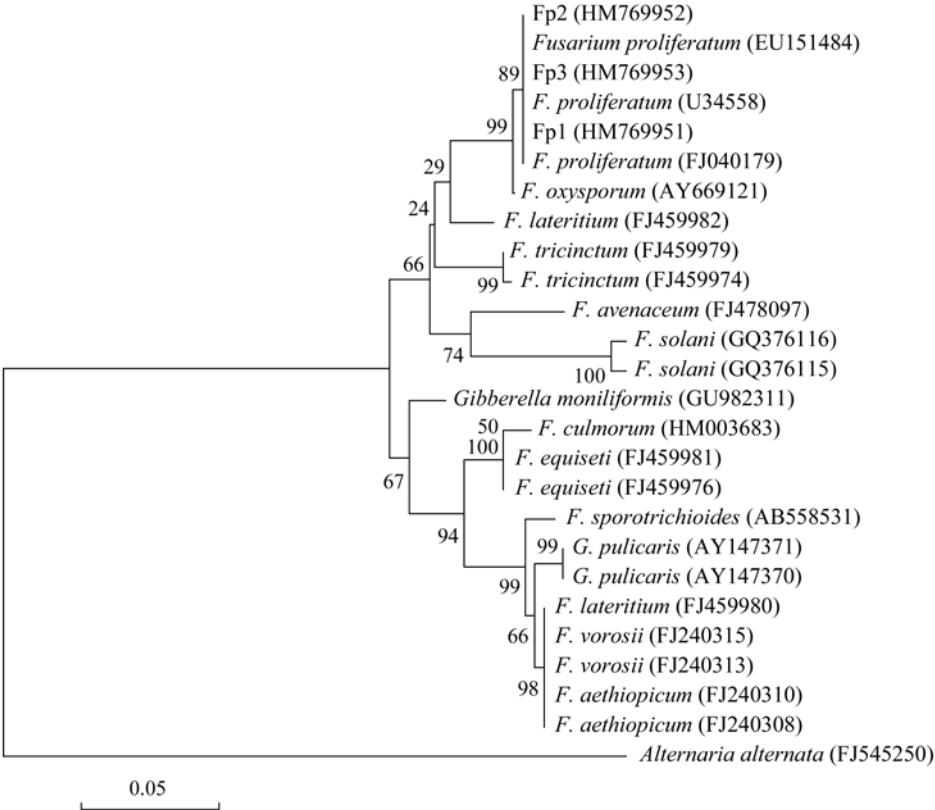


图 3 基于 rDNA-ITS 序列构建的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on rDNA-ITS sequences

注:括号中为相关菌株的 GenBank 登记号。分支位置中的数字表示自举值。标尺表示每个核苷酸位点上的 0.05 替换值。Note: The numbers in parentheses represent the accession numbers in GenBank. The numbers in each branch points denote the percentages supported by bootstrap. The scale bar represents 0.05 substitutions per nucleotide position.

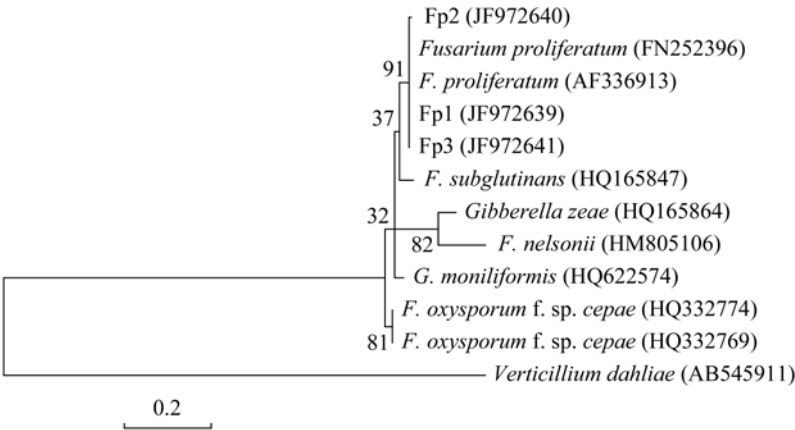


图 4 基于 *tef* 基因序列构建的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree based on *tef* gene sequences

注:括号中为相关菌株的 GenBank 登记号。分支位置中的数字表示自举值。标尺表示每个核苷酸位点上的 0.2 替换值。Note: The numbers in parentheses represent the accession numbers in GenBank. The numbers in each branch points denote the percentages supported by bootstrap. The scale bar represents 0.2 substitutions per nucleotide position.

2.5 病原菌生物学特性

2.5.1 温度对病原菌营养生长及产孢的影响

培养 3 天时,代表菌株 Fp1 在 13 ~ 34 ℃ 的温度

范围内均可生长(平均菌落直径 1.5 ~ 6.0 cm),其中适宜温度为 25 ~ 31 ℃(菌落平均直径 5.7 ~ 6.0 cm),最适温度为 28 ℃(菌落平均直径 6.0 cm)。低

于 10 ℃ 或高于 37 ℃ 菌丝停止生长。产孢的温度范围为 10 ~ 34 ℃ (平均产孢量 $4.0 \times 10^5 \sim 6.9 \times 10^7$ 个孢子/菌落), 22 ~ 34 ℃ 较适合产孢 (平均产孢量 $1.6 \times 10^7 \sim 6.9 \times 10^7$ 个孢子/菌落), 28 ℃ 时最适产孢 (平均产孢量 6.9×10^7 个孢子/菌落), 低于 13 ℃ 产孢受到明显抑制 (平均产孢量低于 4.0×10^5 个孢子/菌落)。

2.5.2 pH 值对病原菌营养生长的影响

代表菌株 Fp1 在 pH 4.0 ~ 9.0 范围内均可生长, 在 pH 5.0 和 6.0 时分别出现生长高峰, 其中 pH 5.0 为小高峰, pH 6.0 为大高峰 (图 5)。表明该菌株的营养生长虽对 pH 要求不严格, 但在偏酸性环境中的生长量更大。

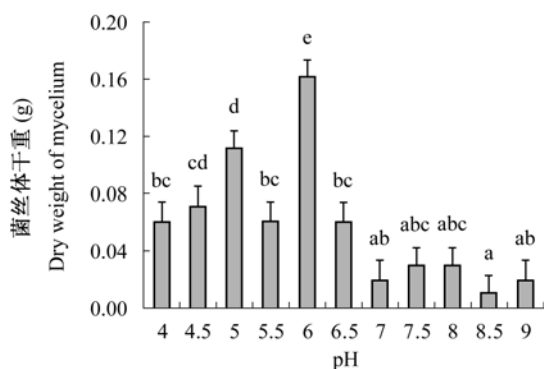


图 5 pH 对层出镰刀菌菌株 Fp1 营养生长的影响

Fig. 5 Effect of pH on vegetative growth of *Fusarium proliferatum* isolate Fp1

注: 具有相同小写字母者表示在 $P = 0.05$ 水平上差异不显著。Note: The same lowercase (s) represent no significant difference at $P = 0.05$.

2.5.3 病原菌对碳、氮源的利用

代表菌株 Fp1 在供试碳氮源中 28 ℃ 下培养 5 天均能生长。生长较好的碳源为 D-果糖和蔗糖, 平均菌落直径 ≥ 7.8 cm; 生长较差的碳源为木糖醇、L-阿拉伯糖、可溶性淀粉、乳糖和木糖, 平均菌落直径 ≤ 7.3 cm; 生长居中的碳源为葡萄糖、甘露醇、麦芽糖、L-山梨糖和半乳糖, 平均菌落直径 7.4 ~ 7.7 cm。12 种不同碳源处理区中, 最小平均菌落直径与最大平均菌落直径差异仅为 1.1 cm。生长较好的氮源为硝酸钠、甘氨酸和 L-组氨酸, 平均菌落直径 ≥ 6.0 cm; 生长较差的氮源为 L-胱氨酸、氯化铵和 DL-丙氨酸, 平均菌落直径 ≤ 3.6 cm; 生长居中的氮源为磷酸二氢铵和脲, 平均菌落直径 3.7 ~ 5.9 cm。8 种不同氮源处理区中, 最小平均菌落直径与最大平均菌落直径差异高达 4.6 cm。

3 讨论

本研究从河南省南阳市 6 个县采集的 80 份玉米穗腐病样品中共分离获得 105 株镰刀菌, 其中 70 株为拟似层出镰刀菌, 根据柯赫氏法则对其致病性进行了测定, 并结合形态学、rDNA-ITS 和 *tef* 基因序列分析, 将拟似层出镰刀菌鉴定为层出镰刀菌 *Fusarium proliferatum* (Mats.) Nirenberg。该菌约占分离镰刀菌的 66.7%, 属优势种群。国外报道, 层出镰刀菌为玉米穗腐病的主要病原菌之一^[3-5], 与本研究结果基本相符。国内报道, 河北、陕西、吉林玉米产区引起穗腐病的镰刀菌以拟轮枝镰刀菌 (异名: 串珠镰刀菌) 为优势种^[21-23]; 云南玉溪地区则以禾谷镰刀菌 *F. graminearum* 为优势种^[24]。徐秀德等^[14]在黑龙江、辽宁、吉林等地发现层出镰刀菌可引起玉米鞘腐病, 并作为国内玉米新病害进行了报道。本研究不仅明确了层出镰刀菌引起的玉米穗腐病在我国的发生, 而且揭示该菌为南阳玉米产区穗腐病的优势病原菌。我国不同玉米产区穗腐病致病镰刀菌的优势种群存在显著差异, 可能与各地玉米品种和气候条件有关。

本研究进行了层出镰刀菌对玉米穗部和叶片的接种, 发现该菌在有伤条件下均可侵染玉米组织。由此推测, 玉米穗部不是层出镰刀菌唯一可侵染的部位, 玉米地上部分在条件适合时 (如伤口等) 均有可能被侵染。国外的相关研究表明, 层出镰刀菌可以产生毒性较强的真菌毒素^[6-8, 16]。Watson^[16]研究认为, 该菌在玉米籽粒中产生的伏马菌素与人体食道癌有关, 马和猪对该毒素也非常敏感。因此, 从食品安全考虑, 层出镰刀菌对玉米穗部的危害更应引起重视。

在 12 种不同碳源处理区中, 最小平均菌落直径与最大平均菌落直径差异仅为 1.1 cm, 而 8 种不同氮源处理区中, 最小平均菌落直径与最大平均菌落直径差异高达 4.6 cm, 表明不同氮源对该菌营养生长的影响显著大于碳源。这可能与碳源仅作为病原菌生长的能量来源, 而氮源直接影响相关酶的合成有关。氮源不仅影响病原菌的能量代谢, 对病原菌的其它生命活动均产生作用。层出镰刀菌在 pH 5 和 pH 6 处理区中分别出现营养生长高峰。相关研究表明, 镰刀菌等生物体内普遍存在同工酶^[25-27], 由此推测, 该菌至少有两套同工酶酶系与营养生长相关, 一套酶系在 pH 5.0 时活性最高, 而另一套则

在 pH 6.0 时显示最大活性。这两套酶系还有待进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- [1] 徐彦. 2009 年中国玉米加工业发展现状及趋势. 农业展望, 2010(2): 25 - 27
- [2] 陈捷. 我国玉米穗、茎腐病病害研究现状与展望. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(5): 393 - 401
- [3] Fandohan P, Hell K, Marasas W F O, et al. Infection of maize by *Fusarium* species and contamination with fumonisin in Africa. African Journal of Biotechnology, 2003, 2(12): 570 - 579
- [4] Visentin I, Tamietti G, Valentino D, et al. The ITS region as a taxonomic discriminator between *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum*. Mycological Research, 2009, 113: 1137 - 1145
- [5] Cumagun C J R, Ramos J S, Dimaano A O, et al. Genetic characteristics of *Fusarium verticillioides* from corn in the Philippines. Journal of General Plant Pathology, 2009, 75: 405 - 412
- [6] Menniti A M, Gregori R, Neri F. Activity of natural compounds on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production in stored maize kernels. International Journal of Food Microbiology, 2010, 136: 304 - 309
- [7] Jurado M, Marín P, Callejas C, et al. Genetic variability and fumonisin production by *Fusarium proliferatum*. Food Microbiology, 2010, 27: 50 - 57
- [8] Dutton M F. The African *Fusarium*/maize disease. Mycotoxin Research, 2009, 25: 29 - 39
- [9] 陈威, 吴建宇, 袁虹霞. 玉米穗粒腐病抗病资源鉴定. 玉米科学, 2002, 10(4): 59 - 60, 101
- [10] 李洪连, 张新, 袁虹霞, 等. 玉米杂交种穗粒腐病原鉴定. 植物保护学报, 1999, 26(4): 305 - 308
- [11] 邹庆道, 陈捷, 张子君. 玉米镰孢菌穗、茎腐病感染循环的相互关系. 植物保护学报, 2003, 30(4): 435 - 436
- [12] Xu S F, Chen J, Gao Z G, et al. Maize stalk rot and ear rot in China. Acta Phytopathologica Sinica, 2006, 36(3): 193 - 203
- [13] 黄思良, 甲元啓介. 糸状菌の簡易単孢子分離法の改良. 鳥取大学農学部研究報告, 1991, 44: 1 - 3
- [14] 徐秀德, 姜钰, 王丽娟, 等. 玉米新病害——鞘腐病研究初报. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3083 - 3087
- [15] Leslie J F, Summerell B A. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, 2006
- [16] Watson A. *Fusarium* cob rot of corn. Primefacts, 2007: 243
- [17] 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. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95: 2044 - 2049
- [18] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24(8): 1596 - 1599
- [19] 罗远蝉, 黄思良, 黎起秦. 芒果蒂腐病菌 *Diplodina* sp. 生物学特性的研究. 石河子大学学报(自然科学版), 2004, 22(z1): 159 - 163
- [20] 史国英, 胡春锦, 罗掉爱, 等. 毛葡萄穗轴褐腐病原鉴定及其生物学特性. 植物病理学报, 2010, 40(3): 242 - 249
- [21] 孔令晓, 罗畔池. 玉米穗粒腐病原菌鉴定及致病性. 玉米科学, 1995, 3(增刊): 29 - 31
- [22] 马秉元, 龙书生, 李亚玲, 等. 玉米穗粒腐病的病原鉴定及致病性测试. 植物保护学报, 1998, 25(4): 300 - 304
- [23] 任金平, 吴新兰, 孙秀华. 吉林省玉米镰刀菌穗腐病和茎腐病病原菌感染循环研究. 玉米科学, 1995, 3(增刊): 25 - 28
- [24] 李顺德, 黄业修. 玉溪地区玉米穗粒腐病发生与危害调查. 植物保护, 1998, 24(5): 20 - 21
- [25] 李霞, 陈丽珊, 王云月. 香荚兰根腐病原菌酯酶同工酶分析. 云南农业大学学报, 2005, 20(1): 27 - 30
- [26] 宋丽娜, 周涵韬, 车建美, 等. 不同寄主尖孢镰刀菌同工酶异质性的研究. 厦门大学学报(自然科学版), 2004, 43(增刊): 84 - 86
- [27] 邹庆道, 陈捷, 张子君. 玉米穗、茎腐病镰刀菌相互关系的同工酶分析. 植物保护学报, 2003, 30(3): 279 - 283