

东北地区玉米茎腐病的研究^{*}

1. 镰刀菌的鉴定

尹志

(吉林省农科院植保所)

玉米茎腐病是世界各玉米产区普遍而又严重的病害之一(10)。在美国22个州,全世界23个国家有过报导。近年来,茎腐病在我国发生有加重的趋势,成为发展玉米生产的限制因素之一,引起了植病和育种工作者的高度重视。据报导,许多真菌与玉米茎腐病有关系(8、10);同时还确认,不同年份、不同地区引起玉米茎腐病的病原种类不同(1、2、3、4、6)。此病在国外玉米产区已进行了广泛而深入的研究,但在我国东北地区,无论是病原鉴定、病原菌的致病性及其与寄主组织的关系等方面,均未有过研究报导。本文系这方面的研究结果。

材料与方 法

(一) 标样采集与分离 1984年8月下旬至9月中旬采集典型的玉米茎腐病株标样119个。其中公主岭36个、通化14个、白城5个、榆树县2个、吉林11个、哈尔滨6个、佳木斯10个、牡丹江19个、沈阳2个、凤城14个。在室内用茎基病部标样,经0.1%升汞酒精表面消毒后,放在PDA平板培养基上于25℃条件下培养,2—3天后将培养物转移到PDA斜面上。从中分离筛选出43个菌株,经复壮纯化,并对其中F₆、F₇、F₁₃四个菌株进行测试。

(二) 培养性状、孢子形态及大小的观察 将纯化的镰刀菌菌落切取0.2cm菌块移植于PDA平皿中央,每菌株移植三皿,置于25℃恒温下培养5天,测量菌落直径,观察其形态和基质色泽,以及各菌株在平皿内产生孢子的情况。然后将分离菌再分别移植于PSA、燕麦片、察氏、蒸米、高粱及修改的别拉伊氏(由Joffe修改)等几种培养基的试管或平皿中,25℃培养7—14天,观察记载菌落形态、基质色泽、大、小型分生孢子及厚垣孢子的有无产生和形态特点,并仔细观察产孢细胞或分生孢子梗形态。各菌株测量50个分生孢子的长和宽统计其幅度。

(三) 有性阶段诱发 将分离株接种到大试管中的无菌麦粒上,25℃培养10天,再将带菌麦粒置于铺有一层纱布并保持湿润的灭菌石英砂上,置25℃,8瓦黑光灯和20瓦日光灯12小时明暗交替条件下,观察子囊壳的产生。

(四) 致病性测定 选用感病杂交种“吉单101”在温室内盆栽,盆栽土壤采用高压蒸气灭菌20磅一小时。田间试验用“吉单101”,种子用0.1%升汞酒精液表面消毒2分钟,再用无菌水冲洗净,晾干后播种。温室和田间均采用牙签和注射两种接种方法,接种部位茎基部第二节。在接种后10—20天内调查,根据接种茎节髓组织变色的面积划分四级,然后统计出病的病情指数。温室试验分别于3月15日、4月1日、4月11日三次播种;分别

* 本研究得到导师胡言成研究员白金滔副教授的指导,深表感谢。

于5月20日、6月10日、和6月24日三次接种。田间播种日期4月25日，先后于6月10日、6月31日和7月10日三次接种进行致病性测定。

试验结果

(一) 病状及病原分离结果 根据田间调查，玉米茎腐病一般在玉米乳熟后期开始出现，至蜡熟中、后期达到高峰。其典型症状为茎基部发软，用手指挤压时无弹性，剖杆检查可见病节内部组织腐烂，维管束游离，褐腐或红腐。病株茎秆腐烂多扩展到地面上第二、三节，严重时可扩展到第四节以上。多数病株有明显的根腐，初生根和次生不定根均腐烂破裂，表面和内部色泽变红，须根减少。1984—1985年从东北各地采集的119株标样中，总计分离出43个镰刀菌株，其中串珠镰刀菌12个(占27.9%)，禾谷镰刀菌9个(占20.9%)。此外还有尖镰孢菌，茄病镰刀菌、木贼镰刀菌及其它还未鉴定出的种类。在分离过程中，还发现有其它种类的真菌存在，关于这些真菌与茎腐病的关系，有待于进一步研究。

(二) 致病性测定结果 温室和田间接种试验表明： F_5 、 F_7 、 F_{10} 、 F_{13} 四个菌株对玉米茎秆均有较强的致病力，其它致病性较弱，没有研究。由表1、表2看出：在室内牙签接种 F_5 的致病力较强，二次重复平均病情指数88.8%。其余三个菌株差异不大，三次接种平均病指变化于65—79.6%。田间接种以 F_{10} 病指最高，达92.2%， F_5 、 F_7 和 F_{13} 三个菌株的病情指数分别为84.6%、85.0%和82.5%。温室接种对照未发病，而田间接种对照亦发病，但病指数较低，二次重复平均是32.5%。田间和温室试验结果一致，四个菌株都能引起茎腐病，菌株之间的致病力无明显差异。田间接种对照发病，这可能是由于土

表1 玉米茎腐病病原菌温室致病性测定结果

菌株	接种日期	接种株数	病情指数 (%)			接种再分离
			牙签接种	平均	注射接种	
F_5	5月20日	各4	97.5	88.8	62.5	与原病菌相同，鉴定是禾谷镰刀菌
	6月24日	5	90.0		—	
F_7	5月20日	各4	75.0	75.0	87.5	F_7 、 F_{10} 和 F_{13} 经鉴定串珠镰刀菌
	6月10日	5	65.0		—	
	6月24日	5	85.0		—	
F_{10}	5月20日	各4	68.8	79.6	93.8	
	6月10日	5	80.0		—	
	6月24日	5	90.0		—	
F_{13}	5月20日	各4	56.3	65.0	50.0	
	6月10日	4	93.8		—	
	6月24日	5	45.0		—	
CK	5月20日	各4	0	0	0	
	6月10日	4	0		—	
	6月24日	5	0		—	

壤未经任何消毒处理，接种点也未用棉花塞住，田间自然病菌通过接种点进入茎组织内引起的发病。

表 2 玉米茎腐病病原菌田间致病性测定结果

菌 号	接种日期	接种株数	病 情 指 数 (%)			
			牙 签	平 均	注 射	平 均
F ₅	7月20日	各10	85.0	84.6	55.5	67.5
	7月31日	各10	84.1		79.6	
F ₇	7月20日	各10	87.5	85.0	60.0	72.5
	7月31日	各10	82.5		85.0	
F ₁₀	7月20日	各10	90.0	92.2	72.5	78.8
	7月31日	各10	94.4		85.0	
F ₁₃	7月20日	各10	100.0	82.5	77.5	77.5
	7月31日	各10	65.0		77.5	
CK	7月20日	各10	40.0	32.5	30.0	18.8
	7月21日	各10	25.0		7.5	

(三) 病原鉴定结果 F₅、F₇、F₁₀、F₁₃四个菌株经接种发病后，再分离仍得到原菌株，对其进行室内鉴定，结果认为F₅是禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum*)，F₇、F₁₀和F₁₂三个菌株是串珠镰刀菌 (*F. moniliforme*)。这二种菌的主要培养性状及形态是：

1. 串珠镰刀菌 (*Fusarium moniliforme* Sheldon) 在PDA上培养4天，菌落直径4.8—5.4厘米。气生菌丝茸毛状，白色—淡青莲，在察氏培养基上荷花白—玫瑰粉，在蒸米饭上培养为洋葱紫—葡萄紫，在改进的别氏培养基上菌丝稀少，未见厚垣孢子。

在PDA平板上盛产小型分生孢子，卵形或纺锤形，成串状，3.9—14.3×1.8—3.9μm，平均8.0×2.5μm。大型分生孢子在PDA上不易产生，在Sach营养液*中培养产生锥形或稍微镰刀形的大孢子，顶端细胞变细，脚胞明显，多为3—5隔。

1 隔 19.0—26.0×2.6—2.9μm

2 隔 20.8—33.8×2.6—2.9μm

3 隔 31.2—57.2×2.9—3.9μm

4 隔 49.4—57.2×3.6—3.9μm

5 隔 48.1—76.0×2.9—4.2μm

6 隔 59.8—70.2×3.9—4.2μm

7 隔 78.0—80.6×3.9—4.7μm

平均 46.5×3.5μm，为简单瓶状小梗。在麦粒培养基上未见子囊壳。

2. 禾谷镰刀菌 (*F. graminearum* Schwabe) 在PDA上培养4天的菌落直径7.8—8.0厘米，气生菌丝棉絮状，白色—草珠红，梗紫，间有浅驼色至深咖啡色的菌丝团。

* Sach液配方: KNO₃ 1g, Ca₃(PO₄)₂ 0.5g, MgSO₄ 0.5g, CaSO₄ 0.5g, NaCl 0.25g, FeSO₄ 少量, 蒸馏水 1,000ml。

在察氏培养基上谷鞘红，在燕麦片培养基上暗红色，在蒸米培养基上粉红一舌红色，在别氏培养基上菌丝稀疏无色，不产生厚垣孢子。

在PDA平板上很少产生大型分生孢子，在高粱粒上很容易产生镰刀形大型孢子，顶端细胞渐细，呈喙状，多数3—5隔。

1 隔 18.2—28.6×3.4—3.9 μm

2 隔 22.1×3.4 μm

3 隔 19.5—35.1×3.6—4.7 μm

4 隔 29.9—41.6×4.2—4.7 μm

5 隔 32.5—44.2×4.4—4.7 μm

平均32.5×4.1 μm 。不产生小型分生孢子，在麦粒培养基上未锈发出子囊壳。

结 论

(一) Kommedal 等(9、10)认为，引起玉米茎腐病的镰刀菌种类有好几种，这些镰刀菌种作为一个复合体侵染玉米茎引起的腐烂，比其单独侵染要严重得多。在本试验中，也分离到好几种镰刀菌，其中以串珠镰刀菌和禾谷镰刀菌的分离频率最高。温室和田间试验也证明：串珠镰刀菌和禾谷镰刀菌是引起玉米茎腐病的优势病原种类，二者对玉米品种均有较强的致病力，病情指数高达80—90%。至于其它镰刀菌种类在茎腐病中起什么作用，是否是玉米茎腐病病原复合体的一部分，有待进一步研究。

(二) 镰刀菌的一些培养性状，易受培养基的种类，平皿中培养基的量、pH、光和温度等因素的影响而发生改变，所以在鉴定中，应该严格控制上述因素。有些分离菌在PDA平板上，很难产生大型分生孢子，这对种的鉴定带来一定困难，所以要采用营养不够丰富的培养基进行锈发。如用高粱粒培养基，可使禾谷镰刀菌产生很多大型孢子，用Sach营养液培养，能够锈发串珠镰刀菌产生大型孢子。有性世代在镰刀菌的鉴定中也很重要，但有性世代的锈发是困难的。在本试验中，所有分离菌都未锈发出子囊壳，这可能是由于光照和湿度条件控制不够严格的结果。

(三) 玉米茎腐病致病性测定的接种方法与其它叶斑类病害不同，本试验采用注射和牙签二种方法。虽然这二种方法都取得了较好的效果，相比之下，牙签接种法有更大的优越性。其特点是接种量比较均匀一致，可以快速接种大量群体。

参 考 文 献

- (1) 马秉元等：1985，陕西关中地区玉米青枯病原菌及其致病性的研究。《植物病理学报》15(3)：150—152。
- (2) 张超冲等：1983，玉米青枯病菌的侵染及发病规律研究。《广西农学院学报》1期：53—62。
- (3) 徐作珽等：1985，山东玉米茎腐病病原菌的初步研究。《植物病理学报》15(2)：103—108。
- (4) 商鸿生等：1984，玉米镰刀菌秆腐病的初步研究《植物保护》10(5)：9—10。
- (5) 全国小麦赤霉病研究协作组：1984，我国小麦赤霉病穗部镰刀菌种类，分布及致病性。《上海师范学院学报》(3)：69—82。
- (6) 陈鸿逵等：1982，镰刀菌研究：浙江省大、小麦赤霉病穗上的镰刀菌种类及其致病性。《植物病理学报》12期(8)：1—11。
- (7) 至(11)略