

辽宁省玉米镰孢穗腐病原菌的鉴定与分布

肖淑芹¹ 许佳宁¹ 闫丽斌¹ 隋韵涵¹ 薛春生^{1*} 陈捷^{2*}

(1. 沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866; 2. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240)

摘要: 为明确辽宁省玉米镰孢穗腐病的病原菌种类及其分布特征, 采用形态学与分子生物学鉴定方法, 对2015年9月采自辽宁省13个地区的84份玉米穗腐病样品进行分离鉴定, 同时依据镰孢菌分离频率确定其在辽宁省玉米生态区的分布特征。结果表明, 从辽宁省84个玉米穗腐病样分离物中鉴定出3个种, 即拟轮枝镰孢菌 *Fusarium verticillioides*、禾谷镰孢菌 *F. graminearum* 和层出镰孢菌 *F. proliferatum*, 分别为67、9和8株, 占79.77%、10.71%和9.52%。按照柯赫式法则, 验证了3种镰孢菌代表菌株FV-39、FG-1和FP-2是玉米品种郑单958穗腐病的致病菌。拟轮枝镰孢菌为辽宁省玉米镰孢穗腐病的优势致病菌, 广泛分布于辽东、辽南、辽中、辽北和辽西5个玉米生态区, 分别占16.67%、11.90%、21.42%、10.72%和19.05%; 禾谷镰孢菌主要分布于辽西地区, 层出镰孢菌主要分布于辽中和辽北地区。

关键词: 辽宁省; 玉米穗腐病; 镰孢菌; 分布特征

Identification and distribution of *Fusarium* species causing maize ear rot in Liaoning Province

Xiao Shuqin¹ Xu Jianing¹ Yan Libin¹ Sui Yunhan¹ Xue Chunsheng^{1*} Chen Jie^{2*}

(1. Department of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning Province, China;

2. School of Agriculture & Biology, Shanghai JiaoTong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: In order to understand the *Fusarium* species of maize ear rot in Liaoning Province, 84 kernel samples were collected from 13 regions in Liaoning Province in September of 2015, and were identified with morphology and species-specific molecular detection. The distribution characters of *Fusarium* species were clarified. The results showed that three species of *Fusarium* were identified from 84 isolates, including 67 isolates of *F. verticillioides* (79.77%), nine isolates of *F. graminearum* (10.71%) and eight isolates of *F. proliferatum* (9.52%). The pathogenicity of FV-39, FP-2 and FG-1 isolates was tested on maize variety Zhengdan 958 respectively according to Koch's Postulate. *Fusarium verticillioides* distributed in eastern, southern, central, northern and western ecological zones of Liaoning Province, isolates of frequency were 16.67%, 11.90%, 21.42%, 10.72% and 19.05%. *Fusarium proliferatum* distributed in western Liaoning, and *F. graminearum* in central and northern Liaoning.

Key words: Liaoning Province; maize ear rot; *Fusarium* spp.; distribution characters

玉米穗腐病(maize ear rot)又称穗粒腐病, 是世界玉米产区的主要穗部病害。我国各玉米产区均报道过有穗腐病发生, 但以北方春玉米区、黄淮海夏玉

米区和西南山地玉米区3大种植区为主发区(李洪连等, 1999; 张婷等, 2011; 张小飞等, 2012)。40多种病原菌单独或复合侵染均可引发玉米穗腐病, 包

基金项目: 国家自然科学基金(31271992), 国家现代农业(玉米)产业技术体系(CARS-02)

* 通讯作者 (Authors for correspondence), E-mail: cshxue@sina.com, jiechen59@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2016-03-05

括镰孢菌 *Fusarium* spp.、青霉菌 *Penicillium* sp.、曲霉菌 *Aspergillus* spp.、蠕孢菌 *Bipolaris* sp.、木霉菌 *Trichoderma* sp.、丝核菌 *Rhizoctonia* sp.、枝孢菌 *Cladosporium* sp.、毛霉菌 *Mucor* sp. 和链格孢菌 *Alternaria* sp. 等(张婷等, 2011; 秦子惠等, 2014)。其中镰孢菌是玉米穗腐病的主要致病菌, 但不同国家和地区致病种和优势种不同(Logrieco et al., 2002)。

我国已报道引起穗腐病的镰孢菌有拟轮枝镰孢菌 *F. verticillioides*、禾谷镰孢复合种 *F. graminearum* species complex、尖镰孢复合种 *F. oxysporum* species complex、茄镰孢复合种 *F. solani* species complex、层出镰孢菌 *F. proliferatum*、黄色镰孢菌 *F. culmorum*、木贼镰孢菌 *F. equiseti*、半裸镰孢菌 *F. semitectum*、克鲁克威尔镰孢菌 *F. crookwellense* 和弯角镰孢菌 *F. camptocera* 等(张婷等, 2011; 秦子惠等, 2014), 拟轮枝镰孢菌和禾谷镰孢复合种是我国广泛分布的优势致病种类, 其中拟轮枝镰孢菌主要分布在黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、北京、河北、河南、山东、安徽、四川、湖南和湖北等省(市、区), 禾谷镰孢复合种则主要分布于山西、陕西、甘肃、云南和贵州等省, 东北地区与黄淮地区也有较多分布, 其中禾谷镰孢菌复合种内的禾谷镰孢菌分布最广泛(秦子惠等, 2014)。

目前, 从全国范围研究玉米镰孢穗腐病致病菌种类及分布受到采样点和样本数量的限制, 不能全面反应出所涉省份玉米镰孢穗腐病菌的种类与分布, 而从各省或省内范围对玉米镰孢穗腐病菌的研究多数集中在单一优势种鉴定及其分布(郭成等, 2014)。拟轮枝镰孢菌和禾谷镰孢菌一直被认为是辽宁省玉米镰孢穗腐病的优势种(秦子惠等, 2014), 但盖晓彤等(2015)从东北地区玉米穗腐病样品中分离出 45 株层出镰孢菌, 约占镰孢菌的 35.4%, 为该地区第 2 大镰孢菌优势种。因此, 为明确和掌握辽宁省玉米镰孢穗腐病主要致病菌群及其动态变化规律, 本研究对从辽宁省主要玉米种植区采集的穗腐病样本进行致病菌分离, 通过形态学和分子生物学鉴定, 明确辽宁省玉米穗腐镰孢菌的种类构成及其在各地区的分布特征, 以期制定该地区玉米镰孢穗腐病的防控策略提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料: 2015 年 9 月从辽宁省沈阳(14)、新民(6)、辽阳(3)、抚顺(5)、大连(5)、瓦房店(8)、阜新

(4)、丹东(7)、凤城(6)、锦州(7)、铁岭(8)、昌图(6)和辽中(5)13 个市县共采集 84 份玉米穗腐病样品, 将采集样品分装在牛皮纸袋中带回实验室, 放置在常温通风处。供试玉米品种为郑单 958, 由河南秋乐种业科技股份有限公司提供。

培养基: 马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 15 g、琼脂粉 20 g, 蒸馏水定容至 1 L; 马铃薯葡萄糖(potato dextrose, PD)液体培养基: PDA 培养基中不添加琼脂; 合成低营养琼脂(spezieller nährstoffarmer agar, SNA)培养基: KH_2PO_4 1.0 g、 KNO_3 1.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g、 KCl 0.5 g、蔗糖 0.2 g、葡萄糖 0.5 g、琼脂 20.0 g, 蒸馏水定容至 1 L。

试剂及仪器: PCR 扩增试剂盒、 $2 \times \text{Taq}$ PCR Mix、DNA 提取试剂盒均购自北京康润诚业生物科技有限公司; 其它试剂均为国产分析纯。DYY-10C 型电泳仪, 北京六一仪器厂; UVP 凝胶成像系统, 美国 UVP 公司; 2720 Thermal Cycler PCR 仪, 美国 Applied 公司; GDN-2500-4 型光照培养箱, 宁波市乐电仪器制造有限公司; B-380 型光学显微镜, 意大利 Optika 公司。

1.2 方法

1.2.1 玉米穗腐病病原菌的分离鉴定

从每一个病穗上随机挑取籽粒 20 粒, 在 5% 的 NaClO 中浸泡表面消毒 5 min, 取出后放入无菌水中浸泡片刻后取出, 放置于加有链霉素的 PDA 平板上, 然后于 25℃ 恒温光照培养箱内 12 h 光照与 12 h 黑暗交替培养, 待菌丝长出后挑取菌丝先端进行纯化培养(张婷等, 2011)。挑取部分菌丝置于装有 1.0 mL 无菌水的 2.0 mL 灭菌试管中, 稀释 10 倍, 用血球计数器计测 20 个孢子/格, 再稀释 10 倍, 配制浓度为 1 个/ μL 的孢子悬浮液, 吸取 30 μL 置于 SNA 平板上, 涂板后于 25℃ 培养 48 h, 选取单菌落置于 SNA 平板上再培养 4~5 d, 即获得单孢纯培养(张昊等, 2008)。观察分离物菌落、分生孢子梗和分生孢子形态特征, 依据《真菌鉴定手册》(魏景超, 1979)进行初步鉴定。

1.2.2 病原菌的形态学鉴定

将经 1.2.1 步骤鉴定到的镰孢属真菌纯培养后, 取其菌丝体接种于直径 9 cm 的 PDA 和 SNA 平板上, 于 25℃ 恒温光照培养箱内 12 h 光照与 12 h 黑暗交替培养, 3 d 后测量菌落直径并观察颜色变化, 在光学显微镜下观察分生孢子和厚垣孢子的形状与着生方式, 测量分生孢子大小, 至少测量 100 个分生孢

子。参考Booth(1971)关于镰孢菌分类依据的描述进行形态学鉴定。

1.2.3 病原菌的分子生物学鉴定

在形态学鉴定的基础上进行分子生物学鉴定。选取经形态学鉴定为拟轮枝镰孢菌的代表菌株FV-1、FV-8、FV-20、FV-33、FV-38和FV-39,层出镰孢菌代表菌株FP-2、FP-3、FP-6、FP-7和FP-16,以及1个禾谷镰孢菌菌株FG-1,用PDA平板培养至满皿后用解剖刀柄刮取菌丝体备用。利用禾谷镰孢复合种特异性引物Fg16NF/Fg16NR(5'-ACAGATGACAA-GATTCAGGCACA-3', 5'-TTCTTTGACATCTGTT-CAACCCA-3')(Nicholson et al., 1998)和延伸因子TEF-1 α 基因引物TEF-F/TEF-R(5'-ATGGGTA-AGGARGACAAGAC-3', 5'-GGARGTACCAGTSA-TCATGAA-3')(Schaafsma et al., 2008)、拟轮枝镰孢菌特异性引物VER1/VER2(5'-CTTCCTGCGAT-GTTTCTCC-3', 5'-AATTGGCCATTGGTATTATAT-ATCAT-3')(Mulè et al., 2004)和层出镰孢菌特异性引物PRO1/PRO2(5'-CTTTCCGCCAAGTTTCTTC-3', 5'-TGTCAGTAACTCGACGTTGTTG-3')(Mulè et al., 2004)进行PCR扩增。20 μ L PCR反应体系: 2 $\times$ Taq PCR Mix 10.0 μ L、基因组DNA模板1.0 μ L(100 ng)、10.0 μ mol/L上下游引物各0.8 μ L、重蒸水7.6 μ L。PCR扩增条件: 94 $^{\circ}$ C预变性5 min; 94 $^{\circ}$ C变性30 s, 57 $^{\circ}$ C/55 $^{\circ}$ C/53 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸1 min, 35个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min, 4 $^{\circ}$ C保存。PCR扩增产物送生工生物工程(上海)股份有限公司测序,并将其与GenBank数据库中其它拟轮枝镰孢菌、禾谷镰孢菌和层出镰孢菌等的相关基因序列进行比对。利用Mega 5.0软件采用邻接法(neighbour-joining, NJ)构建系统发育树。

1.2.4 病原菌的致病性测定

基于1.2.2~1.2.3部分的鉴定结果,将轮枝镰孢菌FV-39、禾谷镰孢菌菌株FG-1和层出镰孢菌FP-2于PDA平板上培养7 d后备用;水煮软木质牙签2~3次,晒半干后尖部向上倒置装入广口瓶中,倒入PDA培养基,使牙签露出约1/4,灭菌;将扩繁后的上述菌株接入装有牙签的广口瓶培养基中,25 $^{\circ}$ C黑暗培养10~14 d,当牙签被病原菌覆盖至尖部后,即可用于田间接种。在玉米吐丝后10 d,按照王丽娟等(2007)描述的双牙签法将病原菌接种于健康的郑单958果穗上,发病后取病穗病健交界处的籽粒,于PDA培养基上分离和纯化后,观察分离菌株与接种菌株的形态特征是否一致。

1.2.5 镰孢菌的分布特征

根据84份病果穗上真菌分离鉴定结果,统计镰孢菌数量并计算不同镰孢菌在辽宁省各生态区所占比例,即分离频率。分离频率=不同镰孢菌菌株数/镰孢菌总数 $\times$ 100%。

2 结果与分析

2.1 玉米病穗籽粒上真菌的分离鉴定

从84份玉米穗腐病样品中共分离获得6属153株真菌,包括镰孢菌属*Fusarium* spp.、青霉属*Penicillium* sp.、曲霉属*Aspergillus* spp.、木霉属*Trichoderma* sp.、丝核菌属*Rhizoctonia* sp.和粉红聚端孢菌*Trichothecium roseum*,各得到84、32、18、14、3和2株真菌,分别占所分离获得真菌总数的54.9%、20.9%、11.7%、9.2%、2.0%和1.3%。

2.2 镰孢菌的形态学鉴定结果

FV-1等6株菌株在PDA和SNA培养基上气生菌丝白色卷毛状,后变成灰紫色,背面从无色、灰黄色至灰紫色、深紫色至近黑色,不易产大型分生孢子,小型分生孢子棒槌形,被初步鉴定为拟轮枝镰孢菌;FG-1菌株在PDA和SNA培养基上气生菌丝白色棉絮状,背面红色,大型分生孢子较直,3~5个隔膜,不易产生小型分生孢子,被初步鉴定为禾谷镰孢菌。FP-1等5株菌株在PDA和SNA培养基上菌丝白色毛絮状,菌落边缘稀疏,后转变为紫色,大型分生孢子具2~5个隔膜,小型分生孢子长卵形、梨形或肾形,被初步鉴定为层出镰孢菌。

2.3 镰孢菌的分子生物学鉴定结果

根据形态学鉴定结果,对FV-1等6株菌株和FP-1等5株菌株的基因组DNA进行PCR扩增后测序,将序列在GenBank中比对后,确定FV-1等6株菌株、FP-1等5株菌株分别为拟轮枝镰孢菌和层出镰孢菌,与GenBank中登录的拟轮枝镰孢菌(KU158868.1)和层出镰孢菌(KJ410033.1)亲缘关系最近,同源性均达100%,且分别与亲缘关系最近的拟轮枝镰孢和层出镰孢位于系统发育树的同一分支,聚为一类(图1)。以Fg16NF/Fg16NR为引物,对菌株FG-1的基因组DNA进行PCR扩增,测序后将序列在GenBank中比对,与禾谷镰孢菌1号染色体部分序列同源性为99%。在此基础上以TEF-1 α 基因引物TEF-F/TEF-R进行PCR扩增,测序后将TEF-1 α 序列在GenBank中比对后,确定菌株FG-1为禾谷镰孢菌,与GenBank中登录的禾谷镰孢菌(JX118857.1)亲缘关系最近,同源性达100%,亦与

以上亲缘关系最近的禾谷镰孢菌位于系统发育树的

同一分支,聚为一类(图1)。

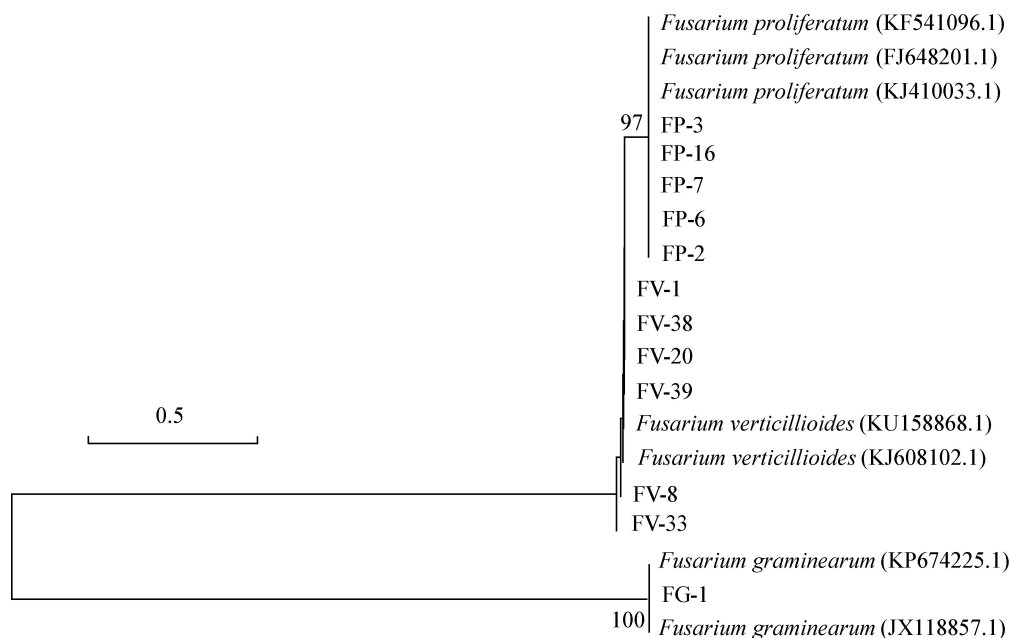


图1 基于特异性序列的镰孢菌和相关菌种的系统发育进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of *Fusarium* spp. and its related species based on specific sequences

2.4 镰孢菌致病性鉴定结果

接种轮枝镰孢菌,初期在接种部位产生白色小斑点,病斑逐步扩展,呈腐烂状,籽粒间布满白色菌丝体;层出镰孢菌接种后籽粒变为褐色,周围产生白色霉层,湿度大时霉层可布满果穗;禾谷镰孢菌接种后接种点变色,籽粒皱缩,产生粉红色霉层。3种镰孢菌接种后表现出的症状与自然发病的田间病穗症状相同,且全部发病,接种点病穗率为100%,而对照未发病。对接种病穗进行病菌分离,分离到与供试菌株培养性状相同的病原菌,表明分离到的3种镰孢菌确为玉米镰孢穗腐病的致病菌。

2.5 辽宁省玉米镰孢穗腐病菌的分布

根据镰孢菌大型分生孢子、小型分生孢子和产孢结构以及在PDA和SNA等培养基上的菌落形态特征,结合镰孢菌特异性引物PCR扩增后序列分析结果,共鉴定出84株镰孢菌,其中拟轮枝镰孢菌、禾谷镰孢菌、层出镰孢菌分别为67、9和8株,分别占分离到的镰孢菌的79.77%、10.71%和9.52%,是镰孢菌穗腐病的主要致病种群,广泛分布于辽宁省各玉米种植区。

辽东地区(抚顺市、丹东市和凤城市)共分离得到镰孢菌16株,轮枝镰孢菌、禾谷镰孢菌和层出镰孢菌分别为14、1和1株,分离频率为16.67%、1.19%和1.19%;辽南地区(大连市和瓦房店市)共分离得

到镰孢菌12株,轮枝镰孢菌、禾谷镰孢菌和层出镰孢菌分别为10、1和1株,分离频率为11.90%、1.19%和1.19%;辽中地区(沈阳市、新民市、辽阳市和辽中县)共分离得到镰孢菌22株,轮枝镰孢菌、禾谷镰孢菌和层出镰孢菌分别为18、2和2株,分离频率为21.42%、2.38%和2.38%;辽北地区(铁岭市和昌图县)共分离得到镰孢菌14株,轮枝镰孢菌、禾谷镰孢菌和层出镰孢菌分别为9、1和4株,分离频率为10.72%、1.19%和4.76%;辽西地区(阜新市和锦州市)共分离得到镰孢菌20株,轮枝镰孢菌和禾谷镰孢菌分别为16株和4株,分离频率为19.06%和4.76%(表1)。

3 讨论

穗腐病是玉米收获期和贮藏期的常见病害,由多种病原菌侵染引发。世界各玉米种植国家以及中国各玉米种植区的优势穗腐病菌各不相同,如美国、加拿大和阿根廷玉米穗腐病的主要致病菌为镰孢菌(Schaafsma et al., 2008; Sampietro et al., 2011),我国大部分地区如山东、河南、四川、辽宁及甘肃等省玉米穗腐病的致病优势菌也为镰孢菌,但山西省的优势菌为蠕孢菌,四川省的优势菌除了镰孢菌外还包括木霉菌(李新风等, 2012; 张小飞等, 2012)。本研究结果表明镰孢菌是辽宁省玉米穗腐病的优势菌,

与张婷等(2011)和秦子惠等(2014)的研究结果相同。综上所述,镰孢菌是世界上大多数玉米种植区

的优势穗腐病菌。

表1 辽宁省玉米穗腐镰孢菌的分布

Table 1 Distribution of *Fusarium* in Liaoning Province

生态区 Ecological zone	轮枝镰孢菌 <i>F. verticillioides</i>		禾谷镰孢菌 <i>F. graminearum</i>		层出镰孢菌 <i>F. proliferatum</i>		总数 Total isolates
	株数	分离频率	株数	分离频率	株数	分离频率	
	No. of	Frequency	No. of	Frequency	No. of	Frequency	
	isolates	(%)	isolates	(%)	isolates	(%)	
辽东 Eastern Liaoning	14	16.67	1	1.19	1	1.19	16
辽南 Southern Liaoning	10	11.90	1	1.19	1	1.19	12
辽中 Central Liaoning	18	21.42	2	2.38	2	2.38	22
辽北 Northern Liaoning	9	10.72	1	1.19	4	4.76	14
辽西 Western Liaoning	16	19.06	4	4.76	0	0.00	20
合计 Total	67	79.77	9	10.71	8	9.52	84

秦子惠等(2014)研究表明我国大部分地区玉米穗腐病的优势病原菌为拟轮枝镰孢和禾谷镰孢复合种,但河南省南阳市的优势菌为层出镰孢菌(卢维宏等,2011),甘肃省的优势菌为拟轮枝镰孢菌和黄色镰孢菌(郭成等,2014)。张婷等(2011)认为辽宁省的优势病原菌为半裸镰孢菌,拟轮枝镰孢菌次之;盖晓彤等(2015)分离结果表明,东北地区玉米镰孢穗腐病优势种为拟轮枝镰孢菌、层出镰孢菌和禾谷镰孢菌。本研究结果表明,拟轮枝镰孢菌、禾谷镰孢菌和层出镰孢菌为辽宁省的优势致病菌,分离频率占镰孢菌的79.77%、10.71%和9.52%,与张婷等(2011)和盖晓彤等(2015)结果不完全相同,推测可能与取样数量、地点及年份有关。由此可见,在我国大部分玉米产区拟轮枝镰孢菌均是穗腐镰孢优势种之一。

本研究结果显示拟轮枝镰孢菌广泛分布于辽宁省各玉米生态区,而禾谷镰孢菌主要分布于辽西地区,层出镰孢菌主要分布在辽中和辽北地区,由于受采样地点和样本数量的限制,层出镰孢菌和禾谷镰孢菌的分布区域研究还不够完善,由于还未见辽宁省各地区穗腐镰孢菌分布的报道,因此无法比较。镰孢菌分布广泛、寄主范围宽,除造成小麦、玉米等主要农作物罹病,导致减产和品质下降,该属真菌还能产生多种真菌毒素,对人类健康和畜牧业的可持续发展构成严重威胁。辽宁省玉米栽培区气候和土壤类型多样,在已有研究的基础上,下一步有必要针对不同生态类型玉米栽培区开展穗腐病优势病原菌

遗传多样性等方面的研究。

参 考 文 献 (References)

- Booth C. 1971. The genus *Fusarium*. Kew, Surrey, UK: Commonwealth Mycological Institute
- Gai XT, Yao Y, Pan XJ, Chen N, Tang L, Liang BB, Gao ZZ. 2015. Identification *Fusarium* spp. causing maize ear rot and stalk rot in northeast of China. Proceedings of the Chinese Society of Plant Protection in 2015. Beijing: China Society of Plant Protection, pp. 415 (in Chinese) [盖晓彤, 姚远, 潘晓静, 陈楠, 唐琳, 梁兵兵, 高增贵. 2015. 东北地区玉米穗腐病和茎腐病镰孢菌种类鉴定. 中国植物保护学会2015年学术年会论文集. 北京: 中国植物保护学会, pp. 415]
- Guo C, Wei HY, Guo MK, He SQ, Jin SL, Chen HM, Wang XM, Guo JG. 2014. Isolation, identification and biological characteristics of *Fusarium verticillioides* from maize ear rot samples in Gansu Province. Acta Phytopathologica Sinica, 44(1): 17–25 (in Chinese) [郭成, 魏宏玉, 郭满库, 何苏琴, 金社林, 陈红梅, 王晓鸣, 郭建国. 2014. 甘肃玉米穗腐病样品中轮枝镰孢菌的分离鉴定及生物学特性. 植物病理学报, 44(1): 17–25]
- Li HL, Zhang X, Yuan HX, Li JQ. 1999. Identification of pathogens causing ear and seed rot in corn hybrids. Journal of Plant Protection, 26(4): 305–308 (in Chinese) [李洪连, 张新, 袁红霞, 李健强. 1999. 玉米杂交种穗粒腐病原鉴定. 植物保护学报, 26(4): 305–308]
- Li XF, Wang JM, Zhang ZG, Gao JM, Hao XJ, He YC. 2012. Isolation and identification of the pathogen *Fusarium* causing maize ear rot in Shanxi Province. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 32(3): 218–223 (in Chinese) [李新风, 王建明, 张作刚, 高俊明, 郝晓娟, 贺运春. 2012. 山西省玉米穗腐病原镰孢菌的分离与鉴定. 山西农业大学学报(自然科学版), 32(3): 218–223]

- Logrieco A, Mulè G, Moretti A, Bottalico A. 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 108(7): 597–609
- Lu WH, Huang SL, Tao AL, Wu AB, Wang CM, Li QQ. 2011. Isolation and characterization of *Fusarium proliferatum* from maize ear rot sample. *Journal of Plant Protection*, 38(3): 233–239 (in Chinese) [卢维宏, 黄思良, 陶爱丽, 武爱波, 王春梅, 黎起秦. 2011. 玉米穗腐病样品中层出镰刀菌的分离与鉴定. *植物保护学报*, 38(3): 233–239]
- Mulè G, Susca A, Stea G, Moretti A. 2004. A species-specific PCR assay based on the calmodulin partial gene for identification of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*. *European Journal of Plant Pathology*, 110(5/6): 495–502
- Nicholson P, Simpson DR, Weston G, Rezanoor HN, Lees A K, Parry DW, Joyce D. 1998. Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 53(1): 17–37
- Qin ZH, Ren X, Jiang K, Wu XF, Yang ZH, Wang XM. 2014. Identification of *Fusarium* species and *F. graminearum* species complex causing maize ear rot in China. *Journal of Plant Protection*, 41(5): 589–596 (in Chinese) [秦子惠, 任旭, 江凯, 武小菲, 杨知还, 王晓鸣. 2014. 我国玉米穗腐病致病镰孢种群及禾谷镰孢复合种的鉴定. *植物保护学报*, 41(5): 589–596]
- Sampietro DA, Diaz CG, Gonzalez V, Vattuone M, Ploper LD, Catalan CAN, Ward TJ. 2011. Species diversity and toxigenic potential of *Fusarium graminearum* complex isolates from maize fields in northwest Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1): 359–364
- Schaafsma AW, Limay-Rios V, Tamburic-Illincic L. 2008. Mycotoxins and *Fusarium* species associated with maize ear rot in Ontario, Canada. *Cereal Research Communications*, 36(S6): 525–527
- Wang LJ, Xu XD, Liu ZH, Dong HY, Jiang Y, Zhang MH. 2007. Inoculation technique and screening maize germplasm resistance to *Fusarium* ear rot. *Journal of Plant Genetic Resources*, 8(2): 145–148 (in Chinese) [王丽娟, 徐秀德, 刘志恒, 董怀玉, 姜钰, 张明会. 2007. 玉米抗镰刀菌穗腐病接种方法及抗病资源筛选研究. *植物遗传资源学报*, 8(2): 145–148]
- Wei JC. 1979. *Fungal identification manual*. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press (in Chinese) [魏景超. 1979. 真菌鉴定手册. 上海: 上海科学技术出版社]
- Zhang H, Zhang Z, Xu JS, Xu J, Zhang LQ, Pan ZC, Tian Q, Feng J. 2008. A rapid and simple method for obtaining single-spore isolates of *Fusarium* species – agar dilution lineation separation. *Plant Protection*, 34(6): 134–136 (in Chinese) [张昊, 张争, 许景升, 徐进, 张丽勃, 潘哲超, 田茜, 冯洁. 2008. 一种简单快速的赤霉病菌单孢分离方法—平板稀释划线分离法. *植物保护*, 34(6): 134–136]
- Zhang T, Sun XD, Lü GZ. 2011. *Fusarium* species and its isolation frequency from rot ears of maize in northeast China. *Journal of Fungal Research*, 9(1): 9–14, 36 (in Chinese) [张婷, 孙晓东, 吕国忠. 2011. 我国东北地区玉米穗腐镰孢菌的种类及其分离频率. *菌物研究*, 9(1): 9–14, 36]
- Zhang XF, Zou CJ, Cui LN, Li X, Yang XR, Luo HH. 2012. Identification of pathogen causing maize ear rot and inoculation technique in southwest China. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 25(6): 2078–2082 (in Chinese) [张小飞, 邹成佳, 崔丽娜, 李晓, 杨晓蓉, 罗怀海. 2012. 西南地区玉米穗腐病病原分离鉴定及接种方法研究. *西南农业学报*, 25(6): 2078–2082]

(责任编辑:李美娟)