

玉米穗腐病样本中温和镰孢菌的鉴定及其生物学特性

孙 华, 李 坡, 郭 宁, 石 洁, 张家齐, 张海剑

(河北省农林科学院植物保护研究所/农业部华北北部作物有害生物综合治理重点实验室/
河北省农业有害生物综合防治工程技术研究中心, 河北 保定 071000)

摘 要: 为明确引起玉米穗腐病的一种不常见镰孢菌病原菌及其生物学特性, 对采集的镰孢菌穗腐病样本进行病原菌分离和纯化, 并通过柯赫氏法则(Koch's Rule)、形态学特征和分子生物学技术对菌株进行鉴定。结果表明, 分离到的菌株ZBSF002为温和镰孢菌(*Fusarium temperatum*), 是玉米穗腐病的致病菌。对其生物学特性研究表明, 温和镰孢菌的最适碳源是可溶性淀粉, 最适氮源是酵母浸粉, 生长温度范围为10℃~35℃, 最适温度为30℃。在pH值为4~11的培养基上均能生长和产孢, 在pH值7~10培养基上菌丝生长较快且产孢量较大。光照对菌丝生长和产孢量影响不显著, 菌株在光照、黑暗、交替光照3种培养条件下均能生长和产孢, 连续光照条件下菌丝生长较快, 且产孢量较大。病原菌菌丝和分生孢子致死温度为65℃、10 min。

关键词: 玉米; 玉米穗腐病; 温和镰孢菌; 生物学特性

中图分类号: S435.131

文献标识码: A

Identification and Biological Characteristics of *Fusarium temperatum* Causing Maize Ear Rot

SUN Hua, LI Po, GUO Ning, SHI Jie, ZHANG Jia-qi, ZHANG Hai-jian

(Plant Protection Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, IPM Centre of Hebei Province/Key Laboratory of IPM on Crops in Northern Region of North China, Ministry of Agriculture, Baoding 071000, China)

Abstract: In order to confirm an uncommon *Fusarium* sp. causing maize ear rot and its biological characteristics, the isolation ZBSF002 was isolated and purified from *Fusarium* species maize ear rot, and the pathogenicity was identified based on the Koch's rule, morphological characteristics, and molecular biological techniques. The results showed that ZBSF002 was *Fusarium temperatum* that causing maize ear rot. Biological characteristics showed that the optimum carbon and nitrogen sources of the isolate ZBSF002 were soluble starch and yeast extract, respectively. The temperature range of mycelial growth and sporulation was 10℃–35℃, and the optimum temperature was 30℃. The isolate could grow and produce conidia at pH 4–11, but the optimum pH for hyphae growth and sporulation was 7–10. The isolate could grow and produce conidia in continuous illumination, darkness and alternate darkness(12 h), and illumination(12 h), but hyphae grows fastest and spores produce the largest in continuous illumination. The lethal temperature for the mycelia and conidia was 65℃ for 10 minutes.

Key words: Maize; Maize ear rot; *Fusarium temperatum*; Biological characteristic

录用日期: 2019-04-11

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-02)、国家自然科学基金
基金青年科学基金项目(31601590)

作者简介: 孙 华, 女, 河北沧州人, 学士, 主要从事玉米穗腐病研究。E-mail: 1550416593@qq.com

石 洁为本文通讯作者。Tel: 0312-5915682

E-mail: shij99@163.com

玉米是全世界广泛分布的粮食作物之一, 同时也是重要的饲料作物、工业原料和能源植物^[1]。中国是世界上仅次于美国的第二大玉米生产国, 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^[2-4]。玉米穗腐病是玉米生长后期的主要病害^[5, 6], 已报道的引起玉米穗腐病的病原菌种类已达到四十余种^[7]。近年来, 随着耕作制度、气候等环境的变化, 引起玉米穗腐病的病

原菌种类也随之增多,因此,加强对新病原菌的研究至关重要。

镰孢菌是引起玉米穗腐病的主要病原菌^[8,9],还可引起玉米根腐病、茎基腐病、鞘腐病和顶腐病等,导致农作物减产而造成经济损失^[10],且镰孢菌产生的毒素等次生代谢产物可引起人畜中毒,严重时甚至造成死亡^[11]。引起玉米穗腐病的镰孢菌主要有拟轮枝镰孢菌(*Fusarium verticillioides*)、层出镰孢菌(*F. proliferatum*)、禾谷镰孢菌(*F. graminearum*)、木贼镰孢菌(*F. equiseti*)、亚黏团镰孢菌(*F. subglutinans*)等^[12,13]。镰孢菌是真菌类群中最难鉴定的属之一^[14]。根据大小型分生孢子的形状、培养性状、产孢细胞和分生孢子梗的形态等对镰孢菌进行鉴定。随着分子生物学的发展,Guadet等^[15]将分子系统学方法引入镰孢菌种的鉴定。ITS区序列变异大于种内变异,一般仅能鉴定到复合种水平,对于亲缘较近的种难以分辨。*EF-1 α* 和 β -*tubuli*基因则相对保守,可以较好地 将镰孢菌鉴定到种^[16]。

对2015年春玉米区玉米穗腐病病原菌进行分离,将分离到的镰孢菌用拟轮枝镰孢菌、层出镰孢菌和禾谷镰孢菌特异性引物进行鉴定,筛选出非上述镰孢菌,认定为不常见镰孢菌。采用*EF-1 α* 和 β -*tubuli*序列分析与形态学相结合的方式对分离到的不常见镰孢菌进行鉴定和致病性测定,并从最适碳源、氮源、温度、pH值、光照和致死温度等方面对该菌进行研究,为该病原菌引起玉米穗腐病的流行、传播、防治和抗性品种选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株:2015年春玉米区穗腐病病原菌分离所得。培养基:马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):马铃薯200 g,葡萄糖20 g,琼脂粉20 g,蒸馏水1 000 mL。查氏培养基(Czapek):硝酸钠3 g,磷酸氢二钾1 g,硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)0.5 g,氯化钾0.5 g,硫酸亚铁0.01 g,蔗糖30 g,琼脂20 g,蒸馏水1 000 mL。康乃馨培养基(CLA)^[17]:将新鲜康乃馨叶片用自来水冲洗干净,切成小片,大小约5 mm×5 mm,置于干燥箱中,于70℃干燥约3~4 h直至叶片干燥且不失绿,用 γ -射线灭菌2 h。将灭菌叶片置于灭菌培养皿中,倒入45℃ 2%的水琼脂,接种时靠近叶片处。

主要试剂:真菌基因组DNA提取试剂盒,北京艾德莱生物科技有限公司;2×Es Taq MasterMix(含染料)北京康为世纪生物科技有限公司;Biowest Agarose G-10,南京生兴生物技术有限公司;pMD18-T

载体,宝生物工程(大连)有限公司;感受态大肠杆菌DH5 α ,天根生化科技(北京)有限公司;引物由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 病原菌分离

将样本病健交界处的子粒用2.0%次氯酸钠消毒3 min后,再用75%乙醇消毒3 min,然后用无菌水冲洗3遍后用灭菌滤纸吸干子粒表面水分,置于PDA培养基中28℃培养3 d后挑取新长出的菌丝接种到新的PDA培养基上进行培养。

1.2.2 致病性测定

将在PDA上28℃培养7 d的菌株制成 1×10^6 个/mL的孢子悬浮液,采用花丝通道接种法^[18]接种至授粉3~5 d的获白、掖478、黄早4、X178、自330、昌7-2、Mo17、丹340等不同血缘自交系和郑单958、先玉335杂交种玉米的果穗上,注射无菌水作对照。收获期对样本进行病原菌分离。

1.2.3 病原菌鉴定

将菌株接种至PDA培养基和CLA培养基上,28℃黑暗培养10 d后,观察并描述菌落形态、颜色,大小分生孢子的有无、大小及形状等。刮取PDA培养基上培养10 d的菌株菌丝,用艾德莱真菌基因组DNA提取试剂盒提取DNA,用引物TEF-F/TEF-R(5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3'/5'-GGARG-TACCAGTSATCATGTT-3')^[19]和Bt1a/Bt1b(5'-TTC-CCCCGTCTCCACTTCTTCATG-3'/5'-GACGAGATCGTTCATGTTGAAGTC-3')^[20]分别对病原菌的*EF-1 α* 和 β -*tubuli*基因进行PCR扩增。PCR反应体系为25 μ L,DNA 1 μ L、10 μ mol/L上游引物和下游引物各0.5 μ L、Taq Mix 12.5 μ L,加ddH₂O补足至25 μ L。PCR反应程序:95℃预变性10 min;95℃变性1 min;53℃退火30 s(退火温度视引物而定),72℃延伸45 s,38个循环,72℃延伸10 min,4℃保存扩增产物。产物在1%的琼脂糖凝胶上电泳,染色,拍照,胶回收,将回收产物与pMD18-T载体连接,转入到大肠杆菌DH5 α 中,将阳性克隆(至少3个)交由北京诺赛基因组研究中心测序,测序结果提交GenBank获得登录号并在NCBI网站上进行BLAST比对。利用MEGA5.2软件采用邻近法(Neighbor-Joining)构建系统发育树。

1.2.4 生物学特性

碳源对病原菌菌落生长速度和产孢能力的影响:用查氏培养基作为基础培养基,分别用麦芽糖、果糖、半乳糖、葡萄糖、可溶性淀粉等量置换其中的蔗糖,配成6种碳源培养基,25℃黑暗培养6 d后采

用十字交叉法测量菌落直径,记录不同培养基上的菌落长势,然后在离心管中加入5 mL无菌水,用1 cm打孔器打取菌饼后放入无菌水中,剧烈震荡制成孢子悬浮液,采用血球计数板法测定产孢量,每个处理3次重复。

氮源对病原菌菌落生长速度和产孢能力的影响:用查氏培养基作为基础培养基,分别用牛肉膏、蛋白胨、酵母浸膏、尿素、氯化铵、硝酸铵等量置换其中的硝酸钠,配成7种氮源培养基,25℃黑暗培养6 d后测量菌落直径和产孢量,每个处理3次重复。

温度对病原菌菌落生长速度和产孢能力的影响:选用PDA培养基,设5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃共8个温度的培养条件,黑暗培养6 d后,测量菌落直径和产孢量,每个处理3次重复。

pH值对病原菌菌落生长速度和产孢能力的影响:选用PDA培养基,用HCl和NaOH调节pH值,配成pH值分别为4、5、6、7、8、9、10、11共8种培养基。将病原菌接种到不同培养基上25℃黑暗培养6 d后,测量菌落直径和产孢量,每个处理3次重复。

光照对病原菌菌落生长速度和产孢能力的影响:选用PDA培养基,24 h连续光照、24 h连续黑暗、12 h光照+12 h黑暗交替3种光照条件下,25℃恒温培养,6 d后测量不同处理的菌落直径和产孢量,每

个处理3次重复。

病原菌菌丝和分生孢子致死温度测定:将5 mm菌饼接入灭菌15 mL离心管中,每管5 mL无菌水,5个菌饼,分别在40℃、45℃、50℃、55℃、60℃、65℃、70℃的恒温水浴锅中处理10 min,处理时缓慢摇动试管使之受热均匀。将处理后的菌饼移植到PDA平板中央,25℃黑暗培养6 d,观察菌丝生长情况。将孢子悬浮液装入离心管中,分别置于40℃、45℃、50℃、55℃、60℃、65℃、70℃水浴锅中恒温处理10 min,冷却后将孢子悬浮液涂布到PDA培养皿上,25℃黑暗培养6 d后,观察生长情况。

2 结果与分析

2.1 致病性测定

将分离菌株ZBSF002通过花丝通道接种法接种至授粉3~5 d的玉米果穗上,在丹340、掖478、昌7-2、郑单958和先玉335上均引起子粒腐烂,呈褐色,表面覆盖灰白色霉层(图1),对照未发病。对发病子粒进行病原菌分离,分离到与接种菌株培养性状相同的病原菌。在获白和黄早4上有发病症状,未分离到与接种菌株相同的病原菌,在X178、自330和Mo17上未见发病症状,5个品种是否对该菌株具有抗性还需进行回接验证。



图1 温和镰孢菌引起玉米穗腐病的症状

Fig.1 Symptoms on ears inoculated with *Fusarium temperatum*

2.2 病原菌鉴定

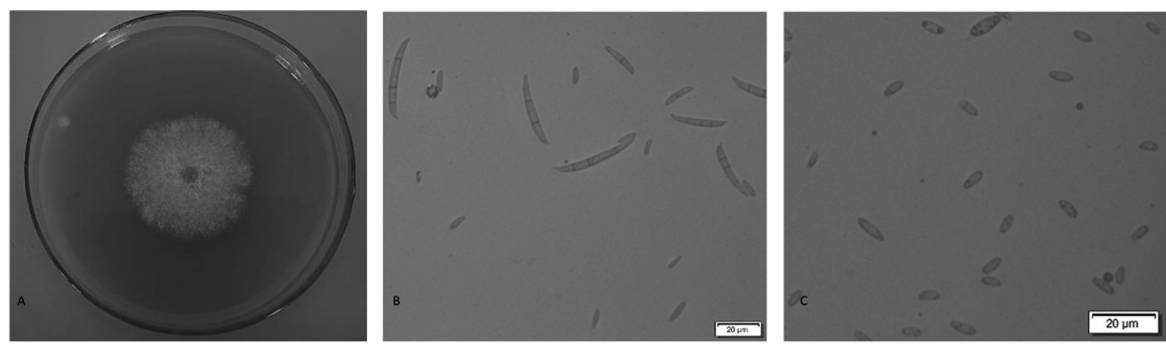
该菌在PDA培养基上产生白色絮状菌丝,随着时间增长菌丝颜色变为粉白色,培养基背面颜色由无色到橘黄色,再到深紫色,产生大量透明的卵形或椭圆形小型分生孢子,以假头状着生于分生孢子梗上,孢子大小 $(2.81 \sim 7.05)\mu\text{m} \times (0.42 \sim 1.98)\mu\text{m}$;在CLA培养基上产生透明的镰刀型大型分生孢子,有1~4个隔膜,孢子大小 $(17.71 \sim 49.48)\mu\text{m} \times (3.15 \sim$

$5.77)\mu\text{m}$ (图2),不产生厚垣孢子。根据该菌形态特征,鉴定为亚黏团镰孢菌(*Fusarium subglutinans*)或温和镰孢菌(*Fusarium temperatum*)。

用EF-1 α 和 β -tubuli基因分别扩增出1条约为700 bp和530 bp的片段,将测序结果提交给GenBank,获得登录号MH013344和MH013343。将分离菌株的EF-1 α 基因序列与GenBank上已有的温和镰孢菌(KC964112.1、KC179825.1、KX432282.1)和亚

黏团镰孢菌(AF160289.1、HM067691.1、KM213994.1) 基因序列进行比对。结果表明,分离菌株与温和镰孢菌的同源性达99%。以层出镰孢菌 *F. proliferatum* 为外群,利用MEGA5.2软件,采用邻近法构建的系

统发育树,菌株ZBSF002与温和镰孢菌聚在一起,而层出镰孢菌则处在系统发育树的外围(图3)。因此鉴定该菌株ZBSF002为温和镰孢菌。



注:A代表在PDA上的菌落;B代表大型分生孢子;C代表小型分生孢子。
Note: A, Colony in appearance on PDA; B, Macroconidium; C, Microconidium.

图2 病原菌的形态特征

Fig.2 The morphological characteristics of the pathogen

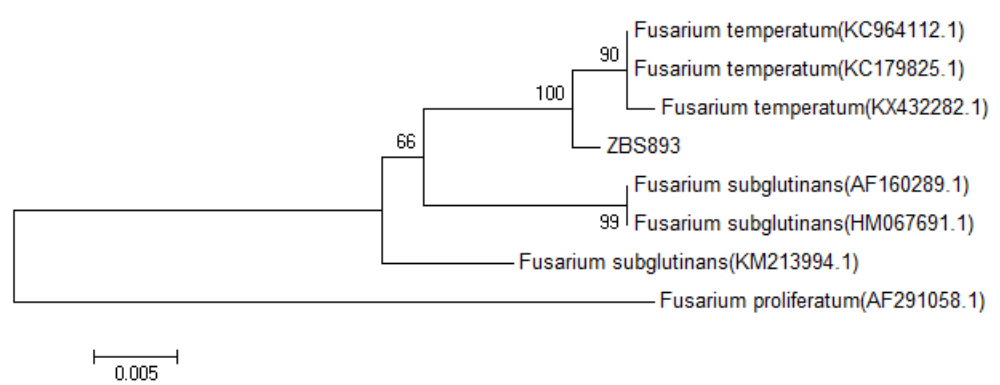


图3 分离菌株ZBSF002和相关菌株 *EF-1α* 序列系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of isolate ZBSF002 and its related strains based on *EF-1α* and gene sequences

2.3 生物学特性

2.3.1 碳源对病原菌营养生长和产孢量的影响

表1 碳源对菌丝生长和产孢量的影响

Table 1 Effect on mycelia growth and sport number with different carbon sources

碳 源 Carbon	菌落直径(mm) Colony diameter	菌落长势 Colony growth	产孢量(×10 ⁵ 个/mL) Spore number
蔗 糖	61.50±0.72 c	++	9.33±0.44 a
葡萄糖	64.00±1.03 d	++	9.83±0.6 a
麦芽糖	64.83±0.70 d	++	8.50±0.87 a
半乳糖	35.83±0.31 a	+	11.83±0.6 a
果 糖	55.80±0.87 b	+++	9.67±0.73 a
可溶性淀粉	54.83±0.40 b	+++	15.83±2.62 b

注:“+”表示菌丝比较稀薄;“++”表示菌丝疏密适中,长势一般;“+++”表示菌丝生长良好。小写字母表示在0.05水平上差异显著。下表同。
Note: “+” indicated that the mycelium is relatively thin; “++” indicated that the mycelium is dense and moderate, and the growth is normal; “+++” indicated that the mycelium is growing well; Lower case letters indicated significant differences at the 0.05 level. The same below.

菌株在6种碳源上均能生长,在半乳糖上生长最慢,培养6 d菌落直径为35.83 mm;在葡萄糖和麦芽糖培养基上生长最快,培养6 d菌落直径分别为64.00 mm和64.83 mm,菌落长势一般;在果糖和可溶性淀粉培养基上的菌落直径略小于葡萄糖和麦芽糖培养基,菌丝生长良好,且在可溶性淀粉上的产孢量最大,表明可溶性淀粉为该菌的最适碳源(表1)。

表2 氮源对菌丝生长和产孢量的影响

Table 2 Effect on mycelia growth and sport number with different nitrogen sources

氮 源 Nitrogen	菌落直径(mm) Colony diameter	菌落长势 Colony growth	产孢量($\times 10^5$ 个/mL) Spore number
硝酸钠	44.67 $\pm$ 0.21 a	++	9.17 $\pm$ 0.17 c
尿 素	46.67 $\pm$ 0.21 c	+	1.83 $\pm$ 0.08 a
硝酸铵	45.67 $\pm$ 0.21 b	++	2.53 $\pm$ 0.23 ab
氯化铵	44.83 $\pm$ 0.17 a	++	4.10 $\pm$ 0.10 b
牛肉膏	60.17 $\pm$ 0.17 e	++	9.33 $\pm$ 0.30 c
蛋白胨	50.83 $\pm$ 0.17 d	++	7.70 $\pm$ 0.78 c
酵母浸粉	50.33 $\pm$ 0.21 d	+++	50.42 $\pm$ 1.10 d

2.3.3 温度和pH值对病原菌营养生长和产孢量的影响

菌株在10℃~35℃均能够生长,在30℃时菌丝生长速度最快且产孢量最大,培养6 d菌落直径为79.00 mm,产孢量为 8.07×10^6 个/mL;在35℃时菌丝生长和产孢量均受到抑制,培养6 d菌落直径仅为

2.3.2 氮源对病原菌营养生长和产孢量的影响

菌株在7种氮源上均能生长,且差异较显著。在含牛肉膏的培养基上生长最快,6 d菌落直径为60.17 mm。在酵母浸粉上的菌落直径虽然小于牛肉膏培养基,菌落长势和产孢量均显著大于其他培养基。因此,酵母浸粉为该菌的最适氮源(表2)。

66.80 mm,产孢量为 2.01×10^6 个/mL;在40℃时菌丝不生长且不产孢。因此,该菌的最适生长温度为30℃(图4)。菌株对酸碱度适应范围较广,在pH值为7~10上菌丝生长较快且产孢量较大,培养6 d后平均菌落直径为66.17~72.83mm,平均产孢量为 $3.14\times 10^6\sim 4.32\times 10^6$ 个/mL(图4)。

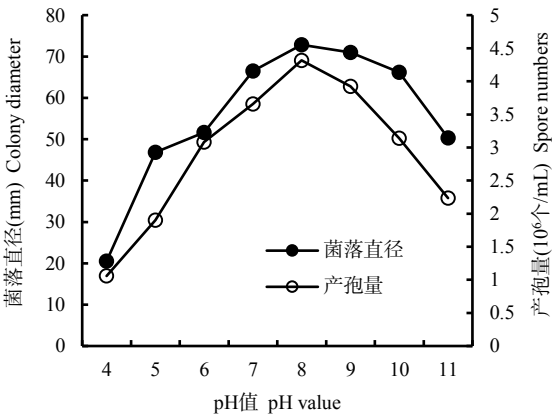
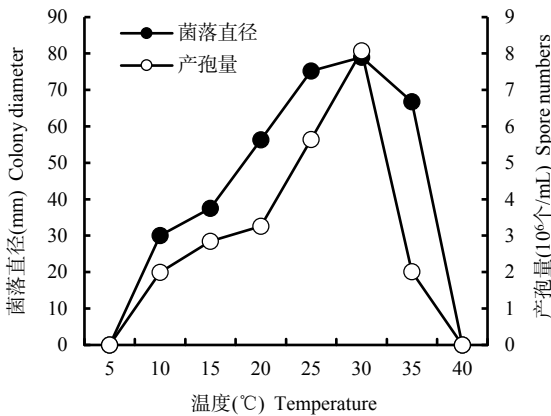


图4 温度、pH值对菌丝生长和产孢量的影响

Fig.4 Effect of temperature and pH values on mycelium growth and spore numbers

2.3.4 光照对病原菌营养生长和产孢量的影响

菌株在光照、黑暗、交替光照培养条件下均能生长,在连续光照条件下菌丝生长较快,且产孢量较大,分别达70.00 mm和 11.03×10^6 个/mL,完全黑暗条件下菌丝生长最慢,产孢量最小,分别为60.33 mm和 7.75×10^6 个/mL(表3)。综合分析表明,连续光照有

利于该病原菌的培养。

2.3.5 病原菌菌丝和孢子致死温度

菌株在水温40℃~60℃经10 min处理的菌丝和孢子在PDA培养基上均能生长,在65℃~70℃、10 min处理的菌丝和孢子不再生长,表明该菌菌丝和孢子的致死温度均为65℃、10 min。

表3 不同光照对菌丝生长和产孢量的影响
Table 3 Effects of different light on mycelium growth and spore number

光照处理 Light treatment	菌落直径(mm) Colony diameter	产孢量(×10 ⁶ 个/mL) Spore number
连续光照	70.00±0.26 c	11.03±0.51 c
完全黑暗	60.33±0.21 a	7.75±0.05 a
12 h 光暗交替	63.83±0.31 b	9.73±0.27 b

3 结论与讨论

玉米穗腐病是世界玉米产区普遍发生的真菌性病害,在玉米生长后期、收获期和贮存期造成玉米果穗或部分子粒的腐烂,造成玉米的直接产量损失,而且带菌种子发芽率和幼苗成活率均降低,造成进一步损失^[21]。镰孢菌和曲霉菌等病原菌产生的毒素不仅降低玉米质量,也给食品和饲料安全带来重大隐患,威胁人畜健康。

国内外许多研究表明,在大多数国家和地区,镰孢菌是玉米穗腐病的主要病原菌,其中,拟轮枝镰孢菌和禾谷镰孢复合种是引起玉米穗腐病的优势病原菌,其他镰孢菌如黄色镰孢菌、弯角镰孢菌、新知镰孢菌、温和镰孢菌等相继被报道。由温和镰孢和拟轮枝镰孢菌、亚黏团镰孢菌、藤仓镰孢菌等组成的藤仓赤霉复合种^[22],不仅在引起玉米穗腐病症状上极为相似,而且其ITS区的基因序列也基本一致,无法鉴定到亚种。因此,对于镰孢菌引起的玉米穗腐病多采用病原菌分离、形态学与*EF-1α*基因序列相结合的方法对病原菌进行鉴定。本团队于2015年在我国春玉米区穗腐病病原菌调查过程中发现一种不常见病原菌,经鉴定确定为温和镰孢菌。

温和镰孢菌不仅能引起玉米穗腐病,还能引起玉米苗枯病和茎腐病^[23]。近年来,比利时、塞尔维亚、美国、阿根廷和法国等国家先后对温和镰孢菌引起玉米穗腐病进行报道^[24-26],且在比利时是玉米穗腐病5大致病菌之一^[27]。在我国,王建华等在贵州和湖北的玉米穗腐病样本上分离到温和镰孢菌^[28]。2011年、2012年郭聪聪等^[29]在甘肃分离到温和镰孢菌。2013年,张昊等在吉林省的玉米穗腐病样本上分离到温和镰孢菌^[30]。2015年,本团队分别在内蒙古、吉林和黑龙江分离到该病原菌。温和镰孢菌在我国引起的玉米穗腐病不断在新的省份被发现。温和镰孢菌不仅能造成玉米减产,而且能产生多种毒素,如串珠镰刀菌素、白僵菌素和伏马毒素FB1等,其中,伏马毒素B可导致猪肺水肿并发症、马脑白质

软化症、大鼠肝癌等疾病,可诱发人类食道癌,还能导致神经管缺陷,严重威胁人畜的健康。因此,应加强对温和镰孢菌的研究,为该病原菌引起病害的防治提供理论依据。

通过对温和镰孢菌生物学特性进行研究,结果表明,温和镰孢菌的最适碳源是可溶性淀粉,最适氮源是酵母浸粉,生长温度范围为10℃~35℃,最适温度为30℃,菌丝在pH值为7~10的培养基上生长较快,连续光照有利于该病原菌的培养,病原菌菌丝和孢子致死温度为65℃、10 min。运用柯赫氏法则对温和镰孢菌进行致病性测定,发病子粒呈褐色,表面覆盖白色霉层,证实了温和镰孢菌是玉米穗腐病的致病菌之一。

温和镰孢菌的最适碳源为可溶性淀粉,淀粉是玉米子粒的主要成分,为温和镰孢菌的生长繁殖提供丰富的碳源。玉米穗腐病是玉米生长后期的主要病害,多发生在9月份,气温多为25℃~30℃,且昼长夜短,利于病原菌的生长。温和镰孢菌的最适pH值为7~10,因此,中性和碱性环境利于病原菌的生长。明确温和镰孢菌生物学特性,为进一步研究温和镰孢菌引起玉米穗腐病的发生规律及制定有效防治措施提供理论依据,同时对温和镰孢菌在其他作物上的病害防治提供参考。

参考文献:

[1] 夏春兰,付廉杰,谭继立,等.新疆玉米自交系通用多态引物库的构建研究[J].新疆农业科学,2015,52(12):2173-2179.
Xia C L, Fu L J, Tan J L, et al. Research on the construction of universal polymorphic primer database of maize inbred lines in Xinjiang[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2015, 52(12): 2173-2179. (in Chinese)
[2] 刘双,关淑艳,孙苏,等.玉米愈伤组织培养体系优化及ICE1基因的遗传转化[J].吉林农业大学学报,2017,39(5):518-523.
Liu S, Guan S Y, Sun S, et al. Optimization of maize callus culture system and genetic transformation of ICE1[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2017, 39(5): 518-523. (in Chinese)
[3] 尚赏,郭书亚,张艳,等.豫东地区夏玉米子粒直接机收研究初报[J].山东农业科学,2017,49(2):85-88.

- Shang S, Guo S Y, Zhang Y, et al. Preliminary Research on mechanical harvesting corn kernel in Eastern Henan Plain[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2017, 49(2): 85–88. (in Chinese)
- [4] 燕树锋, 刘海芳, 孙书库, 等. 玉米抗茎秆倒伏相关因素的影响[J]. 分子植物育种, 2017, 15(6): 2353–2358.
- Yan S F, Liu H F, Sun S K, et al. The effects of correlative factors on stem lodging resistance in maize[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(6): 2353–2358. (in Chinese)
- [5] 孙 华, 郭 宁, 石 洁, 等. 海南玉米穗腐病原菌分离鉴定及优势种的遗传多样性分析[J]. 植物病理学报, 2017, 47(5): 577–583.
- Sun H, Guo N, Shi J, et al. Characterization of the maize ear rot pathogens and genetic diversity analysis of dominant species in Hainan[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2017, 47(5): 577–583. (in Chinese)
- [6] 邹庆道, 陈 捷, 张子君. 玉米镰孢菌穗、茎腐病侵染循环的相互关系[J]. 植物保护学报, 2003, 30(4): 435–436.
- Zou Q D, Chen J, Zhang Z J. Mutual relationship of infection cycles between ear rot and stalk rot caused by *Fusarium* spp.[J]. Journal of Plant Protection, 2003, 30(4): 435–436. (in Chinese)
- [7] 段灿星, 王晓鸣, 宋风景, 等. 玉米抗穗腐病研究进展[J]. 中国农业科学, 2015, 48(11): 2152–2164.
- Duan C X, Wang X M, Song F J, et al. Advances in research on maize resistance to ear rot[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(11): 2152–2164. (in Chinese)
- [8] 史亚娟, 孙新艳, 袁虹霞, 等. 引起玉米穗腐病的两种镰孢菌双重PCR快速检测体系的建立[J]. 植物病理学报, 2017, 47(1): 35–39.
- Shi Y J, Sun X Y, Yuan H X, et al. Duplex PCR detection of two *Fusariums* causing maize ear rot[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2017, 47(1): 35–39. (in Chinese)
- [9] 孙 华, 张海剑, 郭 宁, 等. 黄淮海夏玉米主产区穗腐病原菌的分离鉴定[J]. 植物保护学报, 2017, 44(5): 796–802.
- Sun H, Zhang H J, Guo N, et al. Isolation and identification of pathogens causing maize ear rot in Huang–Huai–Hai summer corn region [J]. Journal of Plant Protection, 2017, 44(5): 796–802. (in Chinese)
- [10] 秦子惠, 任 旭, 江 凯, 等. 我国玉米穗腐病致病镰孢种群及禾谷镰孢复合种的鉴定[J]. 植物保护学报, 2014, 41(5): 589–596.
- Qin Z H, Ren X, Jiang K, et al. Identification of *Fusarium* species and *F. graminearum* species complex causing maize ear rot in China[J]. Journal of Plant Protection, 2014, 41(5): 589–596. (in Chinese)
- [11] 蔡静平, 刘新影, 翟焕趁. 禾谷镰孢菌DON毒素生物合成调控研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2016, 37(1): 114–119.
- Cai J P, Liu X Y, Zhai H C. Progress on the regulation of DON toxin produced by *Fusarium graminearum* [J]. Journal of Henan University of Technology(Natural Science Edition), 2016, 37(1): 114–119. (in Chinese)
- [12] 金社林, 郭 成, 魏宏玉, 等. 玉米穗腐病样品中木贼镰孢菌的分离鉴定及生物学特性[J]. 草地学报, 2014, 22(1): 182–187.
- Jin S L, Guo C, Wei H Y, et al. Isolation, identification and biological characteristics of *Fusarium equiseti* from maize ear rot samples [J]. Acta Agrestia Sinica, 2014, 22(1): 182–187. (in Chinese)
- [13] 马红霞, 孙 华, 郭 宁, 等. 禾谷镰孢复合种毒素化学型及遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2018, 51(1): 82–95.
- Ma H X, Sun H, Guo N, et al. Analysis of toxigenic chemotype and genetic diversity of the *Fusarium graminearum* species complex[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(1): 82–95. (in Chinese)
- [14] 张向民. 镰孢菌属分类学研究历史与现状[J]. 菌物研究, 2005, 3(2): 59–62.
- Zhang X M. History and current research on taxonomy of the genus *Fusarium*[J]. Journal of Fungal Research, 2005, 3(2): 59–62. (in Chinese)
- [15] Guadet J, Julien J, Lafay J F, et al. Phylogeny of some *Fusarium* species, as determined by large-subunit rRNA sequence comparison[J]. Molecular Biology & Evolution, 1989, 6(3): 227–242.
- [16] 胡 兰, 姜 钰, 徐秀德. 基于形态学和EF-1 α 序列特征的我国高粱子粒贮藏镰孢菌种群鉴定[J]. 作物杂志, 2013(4): 129–132.
- Hu L, Jiang Y, Xu X D. Identification of sorghum seed-borne *Fusarium* population based on fungi morphology and EF-1 α sequence[J]. Crops, 2013(4): 129–132. (in Chinese)
- [17] Fisher N L, Burgess L W, Toussoun T A, et al. Carnationleavesasa substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species[J]. Phytopathology, 1982, 72: 151–153.
- [18] Reid L M, Spaner D, Mather D E, et al. Resistance of maize hybrids and inbreds following silk inoculation with three isolates of *Fusarium graminearum*[J]. Plant Disease, 1993, 77(12): 1248–1251.
- [19] O'Donnell K, Ward T J, Abern D, et al. Multilocus genotyping and molecular phylogenetics resolve a novel head blight pathogen within the *Fusarium graminearum* species complex from Ethiopia[J]. Fungal Genetics and Biology, 2008, 45(11): 1514–1522.
- [20] Glass N L, Donaldson G C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(4): 1323–1330.
- [21] Calvert O H, Zuber M S. Ear-rotting potential of *Helminthosporium maydis* race T in corn[J]. Phytopathology, 1973, 63(6): 769–772.
- [22] Robles-barrios K F, Medina-canales M G, Rodriguez-tovar A V, et al. Morphological and molecular characterization, enzyme production and pathogenesis of *Fusarium temperatum* on corn in Mexico[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2015, 37(4): 495–505.
- [23] Varela C P, Casal O A, Padin M C, et al. First report of *Fusarium temperatum* causing seedling blight and stalk rot on maize in Spain [J]. Plant Disease, 2013, 97(9): 1252.
- [24] Fumero M V, Sulyok M, Chulze S. Ecophysiology of *Fusarium temperatum* isolated from maize in Argentina[J]. Food Additives & Contaminants: Part A Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment, 2016, 33(1): 147–156.
- [25] Ridout M E, Newcombe G, Godfrey B. First report of *Fusarium temperatum* in diseased sweet corn ears in the Western United States [J]. Plant Disease, 2016, 100(12): 2527.
- [26] Boutigny A L, Scaufflaire J, Ballois N, et al. *Fusarium temperatum*, isolated from maize in France[J]. European Journal of Plant Pathology, 2017, 148: 997–1001.

- Zhao G Y, Wang J, Zhang Y J. Study on the efficiency of maize production based on parametric and non-parametric analysis: Case of Jilin province[J]. *Issues in Agricultural Economy*, 2009(2): 15–21. (in Chinese)
- [2] 杨 春, 钟 钰. 基于DEA模型的山西玉米生产效率研究[J]. *农机化研究*, 2014(5): 106–110.
- Yang C, Zhong Y. Research on the maize production efficiency of Shanxi based on DEA Model[J]. *Journal of Agricultural Mechanization Research*, 2014(5): 106–110. (in Chinese)
- [3] 姜天龙, 李美佳. 基于Malmquist指数法的东北三省玉米生产效率评价[J]. *玉米科学*, 2015, 23(6): 154–158.
- Jiang T L, Li M J. Evaluation of TFP on maize production in north-east three provinces of China based on malmquist index[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2015, 23(6): 154–158. (in Chinese)
- [4] 赵红雷, 贾金荣. 基于随机前沿分析的中国玉米生产技术效率研究[J]. *统计与信息论坛*, 2011, 26(2): 52–58.
- Zhao H L, Jia J R. Research on technical efficiency of maize production in China based on stochastic frontier analysis[J]. *Statistics & Information Forum*, 2011, 26(2): 52–58. (in Chinese)
- [5] 陈素琼, 张广胜. 不同类型劳动力转移农户玉米生产技术效率的实证研究——以辽宁省为例[J]. *江苏农业科学*, 2014, 42(9): 416–419.
- Chen S Q, Zhang G S. Empirical research on technical efficiency of maize production of different types of labor transfer rural households: Case of Liaoning province[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2014, 42(9): 416–419. (in Chinese)
- [6] 高雪萍, 檀竹平. 基于DEA-Tobit模型粮食主产区家庭农场经营效率及其影响因素分析[J]. *农林经济管理学报*, 2015, 14(6): 577–584.
- Gao X P, Tan Z P. Operational efficiency of family farms and influencing factors based on DEA-Tobit model[J]. *Journal of Agro-Forestry Economics and Management*, 2015, 14(6): 577–584. (in Chinese)
- [7] Farrell M J. The measurement of productive efficiency[J]. *Journal of the Royal Statistical Society*, 1957, 120(3): 253–290.
- [8] Ray S C. Resource-use efficiency in public schools: A study of connecticut data[J]. *Management Science*, 1991, 37(12): 1620–1628.
- [9] Hoff A. Second stage DEA: Comparison of approaches for modelling the DEA score[J]. *European Journal of Operational Research*, 2007, 181(1): 425–435.
- [10] McDonald J. Using least squares and tobit in second stage DEA efficiency analyses[J]. *European Journal of Operational Research*, 2009, 197(2): 792–798.
- [11] Charnes A, Cooper W W, Rhodes E. Measuring the efficiency of decision making units[J]. *European Journal of Operational Research*, 1978, 2(6): 429–444.
- [12] Banker R D, Charnes A, Cooper W W. Some models for estimating technical and scale inefficiencies in data envelopment analysis[J]. *Management Science*, 1984, 30(9): 1078–1092.

(责任编辑: 栾天宇)

(上接第183页)

- [27] Scaufflaire J, Mahieu O, Louvieux J, et al. Biodiversity of *Fusarium* species in ears and stalks of maize plants in Belgium[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2011, 131(1): 59–66.
- [28] Wang J H, Zhang J B, Li H P, et al. Molecular identification, mycotoxin production and comparative pathogenicity of *Fusarium temperatum* isolated from maize in China[J]. *Journal of Phytopathology*, 2014, 162(3): 147–157.
- [29] 郭聪聪, 朱维芳, 付 萌, 等. 甘肃省玉米子粒中镰孢菌分离频率及伏马毒素含量监测[J]. *植物保护学报*, 2015, 42(6): 942–948.
- Guo C C, Zhu W F, Fu M, et al. Occurrence of *Fusarium* species and fumonisins associated with maize kernels from Gansu Province [J]. *Journal of Plant Protection*, 2015, 42(6): 942–948. (in Chinese)
- [30] Zhang H, Luo W, Pan Y, et al. First report of *Fusarium temperatum* causing *Fusarium* ear rot on maize in northern China[J]. *Plant Disease*, 2014, 98(9): 1273.

(责任编辑: 姜媛媛)