

大田玉米接种禾谷镰刀菌的不同方法比较

刘建¹ 陈旭¹ 李新新¹ 邹文玉² 唐国来¹ 张东鹤¹ 苏培森³ 徐瑞斌⁴ 叶海龙¹

(¹上海市农业技术推广服务中心,上海 201103; ²上海航育种子有限公司,上海 201100; ³聊城大学农学与农业工程学院,

山东聊城 252000; ⁴北京市农林科学院玉米研究所,北京 100097)

摘要:禾谷镰刀菌是危害玉米田间种植最严重的真菌病害之一,研究玉米禾谷镰刀菌的接种规律对于了解玉米禾谷镰刀菌病害的发生机制及培育和鉴定抗禾谷镰刀菌玉米品种资源等方面具有重要意义。采用灌根法、注射法和喷雾法对苗期、拔节期和抽穗期玉米进行禾谷镰刀菌田间接种,结果表明在玉米抽穗期采用注射法进行接种效果显著。

关键词:玉米;禾谷镰刀菌;接种方式;灌根法;注射法;喷雾法

Comparison of Different Inoculation Methods for Field Maize with *Fusarium graminearum*

LIU Jian¹, CHEN Xu¹, LI Xinxin¹, ZOU Wenyu², TANG Guolai¹,
ZHANG Donghe¹, SU Peisen³, XU Ruibin⁴, YE Hailong¹

(¹Shanghai Agricultural Technology Extension Service Center, Shanghai 201103; ²Shanghai Hangyu Seed Co., Ltd., Shanghai

201100; ³College of Agriculture and Agricultural Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252000, Shandong;

⁴Maize Research Institute, Beijing Academy of Agriculture and Forestry, Beijing 100097)

玉米是我国最重要的农作物之一,用途非常广泛,不仅是深受人民喜爱的口粮作物,而且由于其富含淀粉和脂肪,也是重要的饲料作物^[1-2]。同时,由于玉米的高产和适应性强,还是人类在生产中利用最多的谷类作物,加工制成的淀粉以及发酵成的酒精是医药、化工、能源和纺织等产业的重要原料^[3-4]。目前我国玉米种植面积和总产已经超过了水稻和小麦,成为种植面积和总产最高的农作物^[3],因此玉米种植安全是我国农业和工业发展的重要保障。

禾谷镰刀菌是一种田间危害非常广泛的真菌病原菌,主要危害玉米、水稻和小麦等多种禾谷类作物,在玉米中会引起青枯病、茎基腐病和穗粒腐病等多种病害,是玉米中发生最普遍、危害最严重和防治最困难的真菌性病害^[5-8]。关于禾谷镰刀菌接种方法的研究相对较少,目前主要是通过菌丝埋根法和

牙签法插入等方法接种,但是往往不能取得较好的接种效果,所以研究玉米禾谷镰刀菌的接种时期和接种方法,了解玉米禾谷镰刀菌的接种规律,对于抗禾谷镰刀菌玉米新品种的培育以及抗禾谷镰刀菌农药的研制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料 禾谷镰刀菌菌丝和孢子液由上海市农作物种子质量检测中心繁殖。玉米材料为目前玉米研究应用最广泛的源自美国的纯合自交系B73,该自交系是玉米最早全基因组测序的品系,由上海市农业科学院作物育种栽培研究所提供。

1.2 试验地点 室内试验于2023年5月在上海市农作物种子质量检测中心进行,大田试验于2023年5-9月在上海航育种子基地进行。

1.3 试验方法

1.3.1 禾谷镰刀菌孢子液培养方法 取40g完整绿豆于1L纯净水中,加热煮沸10min,无菌棉纱布

过滤,取上清液于试剂瓶中得绿豆汤培养液,静置放凉。取少许新鲜培养的禾谷镰刀菌菌丝于绿豆汤培养液中,置于摇床在 28℃ 和 220r/min 条件下培养 3d。取培养后的禾谷镰刀菌孢子液进行 4000r/min 离心富集,并在显微镜下利用血球计数板对孢子进行计数,经无菌水稀释后,调整禾谷镰刀菌孢子达到 10^4 个/mL,得到禾谷镰刀菌孢子接种液,现配现用。

1.3.2 玉米种植方法 全部采用育苗移栽的方式进行种植,将 B73 玉米种子置于苗床中培养,直至 2 叶 1 心时,于傍晚进行大田移栽。田间小区种植应注意株距和行间距,便于大田接种试验。本试验采用田间小区行距 0.7m,株距 0.3m,行长 10m,种植小区间隔 2m,便于接种。每个处理种植 3 个小区,每个小区移栽 25 株,做好玉米防虫和施肥工作。在傍晚进行病菌接种,并在接种后第 1 天、第 3 天、第 5 天、第 7 天、第 9 天进行大水漫灌 1 次(下雨天除外),接种 24d 后,观察大田玉米发病情况。

1.3.3 玉米移栽时间 为保证在苗期、拔节期和抽穗期的玉米接种时间一致,消除不同时期天气对禾谷镰刀菌接种效果的影响,本试验首先确定共同接种时间,通过查阅上海市往年气象资料,确定 7~8 月份平均温度约为 29℃,平均降水量在 40mm 以上,适合禾谷镰刀菌的自然生长繁殖;其次确定了 3 次育苗移栽的时间,分别是 5 月初、6 月初和 7 月初,5 月初移栽玉米用于 7 月上旬抽穗期玉米接种,6 月初移栽玉米用于 7 月上旬拔节期玉米接种,7 月初移栽玉米用于本月上旬苗期玉米接种。

1.3.4 大田玉米苗期接种方法 待玉米生长至第 3 片叶完全展开时进行接种。灌根法:用注射器吸取 5mL 孢子液,打入根部土壤附近。注射法:用普通医用注射器吸取 1mL 孢子液,斜向下 45° 插入玉米中胚轴的中心,然后缩回打出针管内玉米组织后,再次沿插入轨迹插入注射。喷雾法:每株用针头轻微

划伤最幼嫩的叶片,将孢子液喷于受伤叶片表面。

1.3.5 室内玉米苗期接种试验 每组根据《农作物种子检验规程》在 30℃ 沙培条件下培养箱培养,待生长至第 1 片叶完全长出时(播种 3d 后)进行接种,每组均匀播种 25 粒。采用灌根法、注射法和喷雾法 3 组接种处理,每组 3 个重复,接种方法参照大田玉米苗期接种方法。播种 10d 后根据水分情况浇灌稀释 1000 倍的花无缺植物营养液,培养箱设置湿度 100%,接种 2 周后,观察玉米发病情况。

1.3.6 大田玉米拔节期接种方法 待玉米生长至第 6 片叶完全展开时进行接种。灌根法:用注射器吸取 5mL 孢子液,打入根部土壤附近。注射法:用兽用注射器吸取 1mL 孢子液,斜向下 45° 插入玉米茎基部中心,然后缩回打出针管内玉米茎秆组织后,再次沿插入轨迹插入注射。喷雾法:每株用针头轻微划伤最幼嫩的叶片,将孢子液喷于受伤叶片表面。

1.3.7 大田玉米抽穗期接种方法 待玉米生长至雄穗完全抽出时进行接种。灌根法、注射法及喷雾法操作同拔节期的接种方法。

1.3.8 玉米禾谷镰刀菌田间鉴定标准 接种 24d 后进行田间性状的鉴定,观察是否有茎部褐色病斑、茎基部是否变软、是否发生青枯、是否发生倒伏来作为田间判定玉米禾谷镰刀菌发病情况的标准。

1.3.9 数据分析 主要采用 SPSS 22.0 和 Microsoft Excel 2003 进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 禾谷镰刀菌的鉴定 为了确定所接种的真菌类型为禾谷镰刀菌,本研究进行了禾谷镰刀菌的形态学鉴定。首先通过马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA 培养基)接种禾谷镰刀菌,3d 后正面可以看到气生菌丝呈白色至浅黄色的絮状物铺满整个 PDA 培养基(图 1A),反面呈现浅锦葵红色(图 1B),符合禾谷镰刀菌 PDA 培养基生长特性;其次取禾谷镰

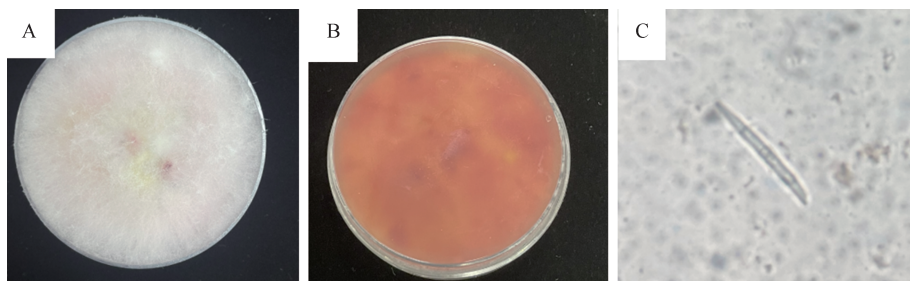
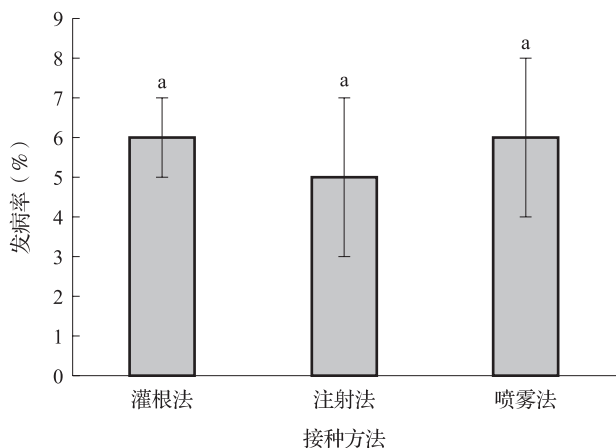


图 1 禾谷镰刀菌形态学鉴定

刀菌孢子液进行显微镜下观察,发现大型分生孢子呈典型镰刀型,孢子有2~7个分格,顶细胞渐细,腹细胞平直(图1C),符合禾谷镰刀菌孢子典型性状。综上,本试验所采用的真菌材料均为禾谷镰刀菌。

2.2 大田玉米苗期不同接种方法比较 玉米苗期是指从播种发芽到拔节期前的生长期,本研究选择第3片叶完全展开时进行接种,一方面是由于移栽后长出的新叶可以保证玉米幼苗移栽成功,另一方面玉米种子生长到3叶期的时间相对较短,如果筛选到有效的接种方法,将大大缩短试验时间。通过灌根法、注射法和喷雾法对大田内玉米幼苗进行禾谷镰刀菌的接种,24d后对玉米植株进行茎部褐色病斑、茎基部是否变软、青枯和倒伏情况的统计,发现3种接种方法玉米发病率均较低,平均发病率低于6%,且没有明显差异(图2),表明玉米苗期可能不适合禾谷镰刀菌的接种。



不同字母表示处理间差异达显著水平,下同

图2 大田玉米苗期不同接种方法发病率比较

2.3 室内玉米苗期不同接种方法比较 以上研究表明大田条件下苗期玉米接种发病效果较差,但是大田苗期玉米的接种可能容易受到紫外线、温度或湿度等自然条件的影响,为了更准确地排除外在条件的影响,采取了培养箱种植接种的方法进行鉴定,但是由于受到培养箱玉米生长条件的限制,只采取了苗期玉米培养箱接种鉴定的方法,并且在第1片叶完全展开时进行了禾谷镰刀菌的接种。研究发现,室内玉米苗期接种禾谷镰刀菌的发病率仍然较低,发病率均低于6%,并且3种禾谷镰刀菌接种方法均没有差异(图3),这说明在本试验确定的研究方法中,玉米苗期可能不适合禾谷镰刀菌的接种鉴定。

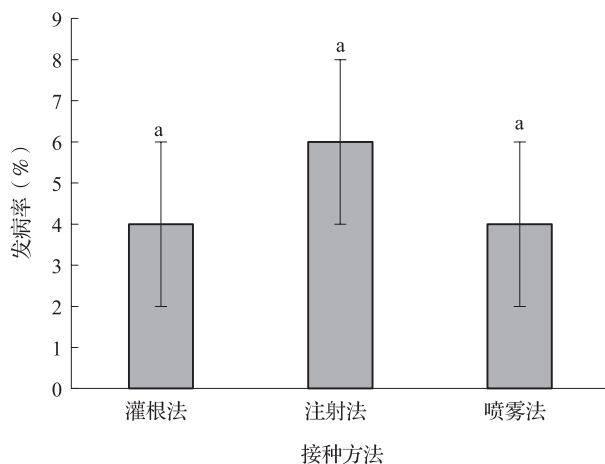


图3 室内玉米苗期不同接种方法发病率比较

2.4 大田玉米拔节期不同接种方法比较 玉米拔节期是指玉米从第6片叶完全展开到第11片叶完全展开的阶段,是玉米幼穗生长最旺盛的时期。本研究以玉米第6片叶完全展开时通过注射法、喷雾法和灌根法对玉米幼苗进行禾谷镰刀菌的接种,24d后对玉米植株进行茎部褐色病斑、茎基部发病情况、青枯和倒伏情况的统计,发现3种方法接种效果差异显著,注射法显著高于灌根法,灌根法显著高于喷雾法。值得注意的是喷雾法和灌根法接种后的发病率较低,玉米发病率低于15%,注射法接种后玉米的发病率在25%左右,相对于灌根法和喷雾法的接种效果有一定程度的提高(图4),表明如果要缩短试验时间可以考虑在拔节初期采用注射法对玉米进行禾谷镰刀菌接种。

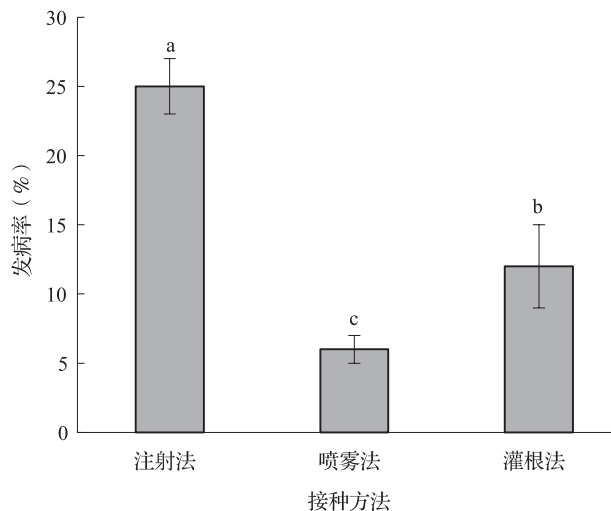


图4 玉米拔节期不同接种方法发病率比较

2.5 玉米抽穗期不同接种方法比较 玉米抽穗期是指雄穗完全抽出的时期,是决定玉米产量的关键时期。本研究以玉米雄穗刚好完全抽出时进行接种,24d后通过对玉米发病情况的统计,发现注射法的接种效果显著高于喷雾法和灌根法,玉米的田间发病率接近50%,接种效果较好。喷雾法和灌根法接种后发病率较低,玉米的田间发病率低于15%(图5),表明在抽穗期采用注射法对玉米进行禾谷镰刀菌的接种效果较好。

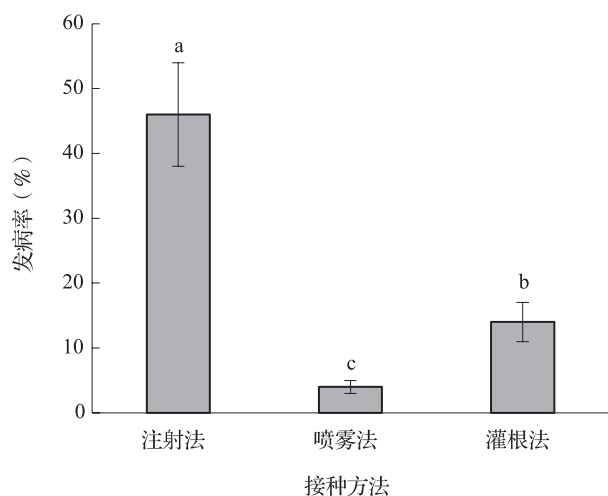


图5 玉米抽穗期不同接种方法发病率比较

2.6 玉米拔节期和抽穗期采用注射法接种禾谷镰刀菌的田间性状比较 上述研究表明,在拔节期和抽穗期对玉米采用注射法接种禾谷镰刀菌田间发病效果相对较好,所以本试验对其田间发病的性状进行了具体的统计,发现玉米抽穗期的田间接种效果明显好于拔节期(图6)。在拔节期进行注射接种玉米禾谷镰刀菌后,超过20%的玉米植株茎部出现褐色病斑且茎基部变软,约10%的玉米植株出现青枯和倒伏;在抽穗期进行注射接种玉米禾谷镰刀菌后,超过40%的玉米植株发生茎部病斑且茎基部变软,超过20%的玉米植株发生了青枯和倒伏(图6)。结果表明,玉米抽穗期通过茎基部注射禾谷镰刀菌孢子的方法各个指标均优于拔节期接种,是更适合玉米田间接种禾谷镰刀菌的方法。

3 结论与讨论

本试验表明抽穗期玉米禾谷镰刀菌接种的效果优于拔节期,拔节期的接种效果优于苗期,和前人的研究结果类似^[9]。这可能与禾谷镰刀菌的繁殖条件有关,禾谷镰刀菌作为一种真菌更适合生长在富含糖类营养物质的条件下,玉米苗期和拔节期糖类有机物合成相对较少,抽穗期及后期玉米属于生殖生长,其茎秆含有大量可溶性糖类等营养物质用

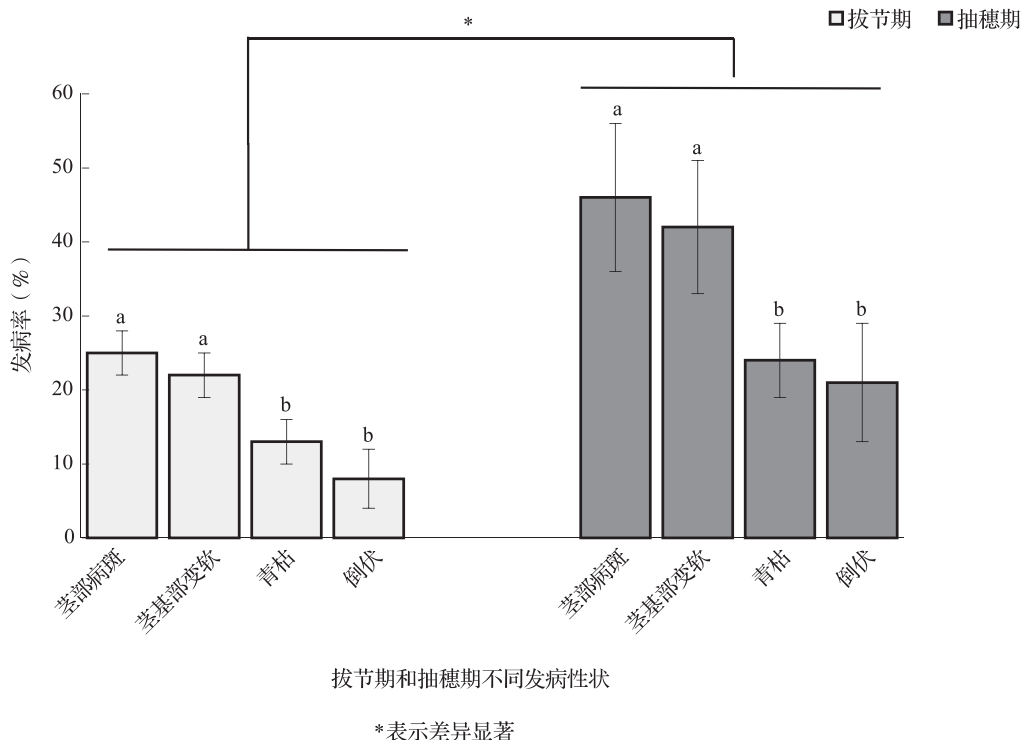


图6 拔节期和抽穗期玉米注射法接种禾谷镰刀菌的田间性状比较

于籽粒的生长,所以玉米在抽穗期后可能更容易被禾谷镰刀菌侵染,本研究关于室内苗期接种的数据也支持这一结果。但是目前关于禾谷镰刀菌侵染玉米的生理机制研究还较少,并且玉米生长前期接种禾谷镰刀菌不容易发病的详细机制也有待进一步的研究。在玉米拔节期和抽穗期通过注射禾谷镰刀菌孢子液的染病效果要显著优于其他方法,这可能与禾谷镰刀孢子入侵植物时需要伤口以及需要长时间保持较高浓度和活性有关。在大田进行禾谷镰刀菌孢子的接种容易受到干旱、紫外线和温度的影响,但是通过将禾谷镰刀菌注射到玉米茎内,能较长时间地保持湿润的入侵环境,且能较少受到其他不利因素的影响,有利于玉米植株感染禾谷镰刀菌。所以,通过在玉米抽穗期进行茎基部注射禾谷镰刀菌孢子的接种方法可能更有利于玉米发病。

近年来,我国玉米主要采用秸秆还田、密植栽培和绿色农药防治等方式进行种植,秸秆还田大大增加了土壤病原菌的基数,特别是在小麦、水稻和玉米等禾谷类作物上都可繁殖的病菌,其还田秸秆成为了自然培养基,玉米再种植后极易染病。密植栽培又增加了病原菌在不同玉米植株之间传播的速度。目前登记的在玉米上可以防治禾谷镰刀菌的绿色农药非常少,且防治效果较差,造成玉米茎基腐病和穗腐病等土传病害逐年加重。玉米禾谷镰刀菌接种试验周期一般较长,发病率容易受温度、湿度和光照等自然条件影响,目前关于玉米抗禾谷镰刀菌生

理及分子机理的研究相对较少。如果能从本研究确定的接种方法结合全基因组关联分析或数量基因定位等生物信息学方法挖掘出玉米相关抗病基因,对于筛选抗病种质资源以及玉米抗禾谷镰刀菌基因的快速鉴定将具有重要的意义。

参考文献

- [1] 李鑫. 青贮玉米在饲料中的应用. 山东畜牧兽医, 2023, 44 (10): 22-23, 27
- [2] 鲁苗苗, 辛婷婷, 贾濡, 张佳欣, 李贺勤, 赵延明, 张海艳, 李朝霞, 裴玉贺, 赵美爱, 韩登旭, 袁志鹏, 张巧巧, 李莉, 陈全全, 杜雪梅, 薛艳芳, 夏海勇, 刘铁山, 汪黎明, 何军光, 马云国, 王宝卿, 陈景堂, 宋希云, 岳海旺, 顾日良, 王建华, 江绪文. 中国玉米种子质量: 十年变迁和未来展望. 中国种业, 2023 (12): 6-10
- [3] 谢廷波. 玉米品种选择的重要性探析. 种子科技, 2020, 38 (2): 87-88
- [4] 陈秀兰, 王兴旺. 中国工业深加工行业的生产效率研究——以玉米工业深加工为例. 工业技术经济, 2015, 34 (8): 59-64
- [5] 徐劲松, 徐勤芳. 从农事操作角度谈玉米苗枯病的防治. 科学种养, 2009 (10): 27
- [6] 胡梅, 陈根强, 侯军, 林晓民, 李洪连. 玉米青枯病研究进展. 河南农业科学, 2009 (8): 8-11
- [7] 朱倩丽, 赵官涛, 王露, 何翔, 张洋洋, 王常清, 聂江山, 陈秀蓉. 基于巢式PCR技术对玉米种子携带禾谷镰刀菌的检测体系. 草业科学, 2023, 40 (9): 2257-2265
- [8] 董华芳, 宋伟彬, 代小冬, 李晶晶, 刘春元, 吴建宇. 玉米穗部不同组织对串珠镰刀菌和禾谷镰刀菌的抗性研究. 玉米科学, 2006 (4): 141-144
- [9] 闵营辉. 玉米茎基腐病菌侵染时期研究及品种抗病性鉴定. 郑州: 河南农业大学, 2013

(收稿日期: 2023-12-06)

(上接第87页)

鲜亮具有良好的商品性,可作为高品质甜糯玉米进行推广种植,旺源光彩产量仅次于彩甜糯520,且具有良好的品质,也可作为甜糯玉米的选择之一。综上所述,本研究筛选出的金冠2054、万黑糯109、彩甜糯520以及旺源光彩4个品种在产量、品质等方面表现优异,适宜在兰州地区推广种植。

参考文献

- [1] 李婧, 张慧, 厉宝仙. 浙江鲜食玉米种植现状及发展对策. 浙江农业科学, 2021, 62 (9): 1679-1681
- [2] 史振声. 鲜食玉米品种品质鉴定及标准的探讨. 玉米科学, 2006 (14): 69-70
- [3] 吕佳雯, 李文霞, 常敏, 李凯, 董晓菲, 辛中宽. 鲜食玉米品种综合性

状及品质鉴定. 中国种业, 2021 (2): 50-54

- [4] 黄婷, 周园园, 龚奕杰, 梁迎暖, 倪琳琳, 陈颖. 昆山地区樱桃番茄新品种筛选试验及综合评价. 中国种业, 2023 (11): 77-84
- [5] 邓艳凤, 肖水平, 王涛, 杨绍群, 杨秀, 刘新稳. 利用主成分和隶属函数法评价40份早熟棉F₂材料. 棉花科学, 2022, 44 (1): 24-29
- [6] 邹军, 袁雨晴, 张吉友, 姜莎莎, 黄体祥, 李书文, 林英, 何世兰. 贵州鲜食玉米丰产稳定性及品质分析评价. 种子, 2018, 37 (9): 125-128, 131
- [7] 冷静文, 尚云成, 刘婷婷, 王立群, 王辉, 刘伟. 鲜食甜玉米主要农艺性状及品质性状研究. 农业科技通讯, 2019 (2): 87-89
- [8] 许卫猛, 魏常敏, 李桂芝, 宋万友, 周文伟. 黄淮海糯玉米新品种主要农艺和产量性状的通径分析. 中国种业, 2017 (2): 50-52
- [9] 王鸿雁, 席旭东, 梁平, 李娟. 旱作区鲜食玉米品种筛选及品质鉴定. 中国种业, 2023 (3): 91-94
- [10] 皇甫柏树. 豫北地区鲜食糯玉米优质高产栽培技术. 种业导刊, 2023 (3): 19-21

(收稿日期: 2023-11-22)