

文章编号: 1005-0906(2005)03-0109-03

# 玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术研究

张春民, 刘玉英, 石 洁, 张老章

(河北省农科院植物保护研究所, 河北 保定 071000)

**摘要:** 比较了不同接种方法、接种时期、接种量及接种液预处理方法对大田玉米瘤黑粉病发病率的影响, 结果表明: 大田玉米瘤黑粉病的最佳接种时期为 6 叶 1 心期, 最佳接种方法为孢子液注射法和菌沙法, 注射法最适宜接种孢子浓度为  $7 \sim 8 \times 10^3$  个/mL, 孢子液预处理能明显提高接种效果。

**关键词:** 玉米; 瘤黑粉病; 接种; 抗性; 鉴定技术

中图分类号: S435.131

文献标识码: A

## Inoculation Technique for Identification of Corn Resistance to Common Smut

ZNANG Chun-min, LIU Yu-ying, SHI Jie, ZNANG Lao-zhang

(Institute of Plant Protection, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Baoding 071000, China)

**Abstract:** Effect on incidence rate of common smut, *Ustilago maydis*, in field conditions by different inoculating methods, inoculating time, dosages for inoculation and the pretreatment methods of the teliospore suspension before inoculation were compared. The results showed that the optimal time of inoculation is at 6 leaf-stage of corn plant (V4 stage), two most effective inoculating methods are to inject the teliospore or put the mixture of teliospore and fine sand into the whorl of the corn plants, which caused the highest incidence rate of common smut. The optimal dosage of the pathogen for injection is at  $7 - 8 \times 10^3$  teliospore/mL. The pretreatment for teliospore suspension before inoculation significantly increased the smut incidence.

**Key words:** Corn; Common smut; Inoculating methods; Resistance; Appreciation technology

玉米瘤黑粉病原菌为玉蜀黍黑粉菌 *Ustilago maydis* (DC.) Corda(=*U. zae* (Beckm.) Unger), 我国在 50、60 年代曾大面积发生, 70~90 年代大部分年份零星发生。近年来由于耕作制度及气候变化, 玉米瘤黑粉病发病率逐年回升, 现常年发生率在 5%~10%, 是我国黄淮海区和东北区主要玉米病害之一, 也是该区玉米新品种审定时进行抗性评价的病害。瘤黑粉病对我国的玉米生产区, 尤其是西北、华北、东北地区玉米生产造成了极大的损失。据不完全统计, 2000 年全国玉米发病面积在 180 万  $\text{hm}^2$ , 绝收的不低于 3 万  $\text{hm}^2$ 。一般地块病株率达 20%~30%, 平均减产 10%~30%, 有的地块发病率高达 85%。

玉米品种对瘤黑粉病抗性表现差异显著, 利用抗病品种能有效的控制病害的发生。目前, 国内玉米

抗瘤黑粉病田间鉴定接种方法为菌粉灌心法, 接种时期为大喇叭口期, 调查时期为灌浆期, 抗性水平根据发病株率表示。但是我们在操作过程中发现采用该方法, 品种发病率较低, 且田间发病呈点、块状, 受环境因素干扰大, 可重复性及准确性差。因此, 我们结合多年人工接种鉴定玉米瘤黑粉病的经验, 对几种可行的玉米瘤黑粉病人工接种鉴定方法进行了进一步的比较研究, 筛选出一套可重复性好, 发病完全, 受外界因素干扰小的接种方法, 为育种及相关单位筛选抗源服务, 加速玉米瘤黑粉病的抗病育种进程。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试品种

供试玉米杂交种为郑黄糯 1 号(高感品种)。每处理种植 1 行, 行长 6 m, 行距 0.67 m, 每行 30 株。前茬为空闲地, 未接种过瘤黑粉病。

### 1.2 接种物制备

将上年度采集并鉴定、保存的黑粉瘤外部包膜破碎, 收集瘤中的病菌冬孢子。将冬孢子团充分捻

收稿日期: 2004-08-23; 修回日期: 2005-04-30

基金项目: 国家十五攻关(2004BA509B04)课题资助, 国家攻关粮食丰产科技工程(2004BA520A07-02-01)

作者简介: 张春民(1956-), 女, 助研, 从事玉米病虫害综合防治研究。  
石洁为本文通讯作者。Tel: 0312-5065870

碎,用50目细筛过筛,使病原菌成为均一的菌粉。

**菌土配制:**每100g菌粉拌100kg过筛的细土,病菌与土壤充分拌匀,配制成0.1%菌土用于接种。

**菌沙配制:**每100g菌粉拌100kg过筛的细沙,病菌与沙充分拌匀,配制成0.1%菌沙用于接种。

### 1.3 接种方法

**孢子液制备:**每100g菌粉对水4L,充分搅拌后将菌液用300目筛网过滤,备用。

**菌土灌心法:**将菌土撒入玉米心叶中,接种量控制在5g/株。接菌土前用手指捏喇叭口内的幼叶,以造成伤口,促进病原菌的侵染,播种时接种,菌土撒在地表层。

**菌沙灌心法:**将菌沙撒入玉米心叶中,接种量控制在5g/株。接菌沙后用手指隔着喇叭口轻捏幼叶,以造成伤口,促进病原菌的侵染;播种时接种,菌沙撒在地表层。

**注射法:**用连动注射器吸取制好的菌液,把针头刺入玉米植株的中下部,注入菌液1mL左右,见心叶中冒液即可。

**孢子液灌心法:**用滴管吸取制好的菌液,滴入心叶中,每株1mL。滴前用手指捏喇叭口内的幼叶,以造成伤口,促进病原菌的侵染。

### 1.4 最佳接种时期及接种方法比较

采用分期播种,在玉米播种时3叶1心、6叶1心、8叶1心及大喇叭口期,采用心叶撒菌土、心叶撒菌沙、注射法、孢子液灌心法同时接种瘤黑粉菌。

### 1.5 接种量比较

将孢子液分别配成 $1 \sim 2 \times 10^3$ 、 $3 \sim 4 \times 10^3$ 、 $7 \sim 8 \times 10^3$ 、 $2 \sim 3 \times 10^4$ 、 $4 \sim 5 \times 10^4$ 、 $6 \sim 7 \times 10^5$ 个冬孢子/mL悬浮液(分别相当于 $16 \times 10$ 倍显微镜下5、10、20、50、100和150个冬孢子/视野),加吐温适量,用注射法接种,玉米生育期为6叶1心。

### 1.6 接种液预处理对接种效果的影响

处理1:冬孢子液放置24h后再用注射法接种;处理2:取玉米嫩叶8g,研磨成汁后加在1000mL冬孢子液中接种;处理3:冬孢子液放置24h后再加玉米汁液后接种;以不加玉米汁液未放置冬孢子液接种为对照。接种孢子浓度: $7 \sim 8 \times 10^3$ ,玉米生育期为6叶1心。

### 1.7 接种后保湿对接种效果的影响

采用菌沙法、孢子液灌心法接种,接种后每天上午清水灌心保湿,连续3d,以不灌心为对照,玉米生育期为6叶1心。

### 1.8 调查方法及标准

在玉米乳熟期逐株调查植株上是否发生黑粉

瘤,有瘤则记为发病株,记载调查总株数、发病株数,计算发病株率。

$$\text{发病株率}(\%) = (\text{发病株数} / \text{调查总株数}) \times 100$$

表1 玉米瘤黑粉病抗性评价标准

病情级别	发病株率(%)	抗性评价标准
1	0 ~ 1.0	HR
3	1.1 ~ 5.0	R
5	5.1 ~ 10.0	MR
7	10.1 ~ 40.0	S
9	40.1 ~ 100	HS

## 2 结果与分析

### 2.1 最佳接种时期及接种方法

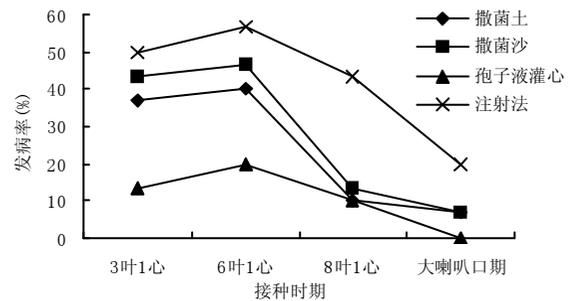


图1 接种时期及接种方法对发病率的影响

图1结果表明:4种接种方法中注射法接种发病率最高,平均为42.5%;撒菌沙法发病率次之,为28.7%;撒菌土法发病率为19.3%;孢子液灌心法效果最差,发病率平均为10.8%;对照发病3.3%。

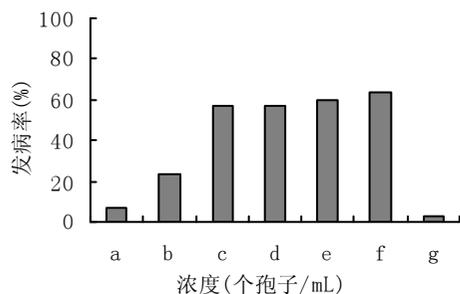
最佳接种时期为6叶1心期,注射法发病率为56.7%,撒菌沙法为46.7%,撒菌土法为40.0%,孢子液灌心法为20.0%;其次为3叶1心期,注射法发病率为50.0%,撒菌沙法为43.3%,撒菌土法为36.7%,孢子液灌心法为13.3%;8叶1心后接种效果显著下降,大喇叭口期接种效果最差,注射法发病率为20.0%,撒菌沙法为6.7%,撒菌土法为6.7%,孢子液灌心法为0。

孢子液灌心法在各个时期接种均达不到高感标准;注射法接种效果(除大喇叭口期接种外)均达到高感标准。撒菌土法除在6叶1心期接种外,其它时期接种发病率均达不到高感标准。撒菌沙法在3叶1心期和6叶1心期接种,发病率为43.3%和46.7%,8叶1心期和大喇叭口期接种均达不到高感标准。

在试验中观察到:3叶1心期接种,黑粉瘤易在叶片和茎秆发生,且注射法接种造成36.7%的植株畸形、不生长;8叶1心时接种,黑粉瘤易在雄穗上发生,造成小花畸形;大喇叭口期接种造成的畸形较

多,部分雄穗抽不出来,黑粉瘤易在叶上发生;播种时撒菌土或菌沙,黑粉瘤多发生在茎秆和雌穗上;6叶1心期接种效果最好,黑粉瘤多发生在茎秆和雌穗上,畸形较少。

## 2.2 接种量比较



a=1~2×10<sup>3</sup>, b=3~4×10<sup>3</sup>, c=7~8×10<sup>3</sup>, d=2~3×10<sup>4</sup>,  
e=4~5×10<sup>4</sup>, f=6~7×10<sup>3</sup>, g=对照

图2 接种量对发病率的影响

图2结果表明:注射法接种的最佳接种浓度为7~8×10<sup>3</sup>个孢子/mL,和孢子浓度为2~3×10<sup>4</sup>个孢子/mL的接种效果相同,均为56.7%;孢子浓度为4~5×10<sup>4</sup>、6~7×10<sup>3</sup>个孢子/mL的接种效果基本相似,为60.0%和63.3%。接种浓度为1~2×10<sup>3</sup>个孢子/mL时发病率为6.7%,接种浓度为3~4×10<sup>3</sup>个孢子/mL时发病率为23.3%,均达不到高感标准。

## 2.3 接种液预处理对接种效果的影响

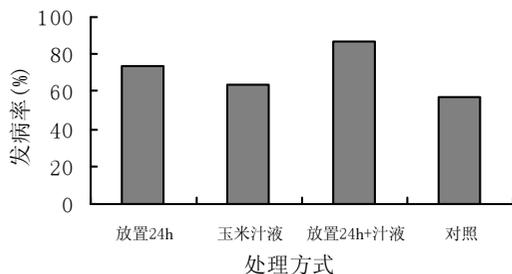


图3 预处理对发病率的影响

图3结果表明:3种处理均能显著提高发病率,其中冬孢子液放置24h再加玉米汁液后接种效果最好,发病率为86.7%,比对照提高30.0%;其次为冬孢子液放置24h后再用注射法接种发病率为73.3%,比对照提高16.6%;冬孢子液中加玉米汁液后接种,发病率为63.3%,比对照提高6.6%。

## 2.4 接种后保湿对发病率的影响

图4结果表明:接种后保湿可显著提高发病率,孢子液灌心法保湿后发病率为36.7%,提高16.7%;菌沙法发病率从46.7%提高到66.7%;菌土法发病率从40.0%提高到53.3%。

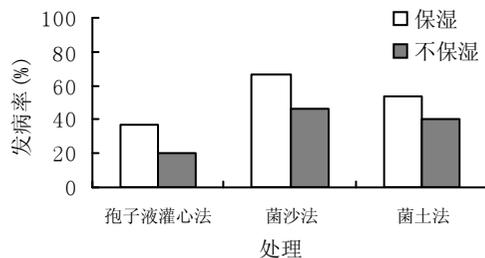


图4 保湿对发病率的影响

## 3 结论与讨论

通过以上试验结果表明,瘤黑粉病的最佳接种时期为6叶1心期,此时接种,黑粉瘤多发生在茎秆和雌穗上,和田间自然表现相同。

最佳接种方法为孢子液注射法和菌沙法。注射法最适宜孢子浓度为7~8×10<sup>3</sup>个/mL;注射法接种定量、定部位、伤口大小相同,接种后不用保湿,工作量大,适于大田多个品种的抗性鉴定;菌沙法接种最接近自然发病,但由于保湿的工作量比较大,不适于田间多个品种的接种鉴定。

黑粉瘤可出现在雌穗、叶、茎秆及雄穗上,只有长在穗部才对产量造成损失,但是国内玉米瘤黑粉病田间抗病鉴定调查方法及评价标准根据发病率表示,长在任何部位都记入结果;而国外通常采用在玉米穗部注射孢子液的方法来测定玉米品系的抗性,调查及评价标准采用穗腐病的标准,两种方法的优劣有待于进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 张雪君,黄丽敏,胡海军.玉米黑粉病及其综合防治[J].中国种业,2001,(3):38-39.
- [2] Malcolm C Shurtleff. Compendium of corn disease[M]. 1980. APS Press. 105.
- [3] 廖琴,孙世贤.中国玉米新品种动态[M].北京:中国农业科学技术出版社,2003.
- [4] 渠元春.玉米黑粉病的发生与防治[J].玉米科学,2002,10(4):73-74.
- [5] 陈三凤,刘德虎,李季伦.玉米瘤黑粉菌的遗传交配型[J].微生物学通报,2000,(2).
- [6] 王辉,何云龙,谢立剑.制种田玉米瘤黑粉病的发生及防治[J].中国种业,2003,(2).
- [7] 刘正坪,赵占军,张贵,等.玉米瘤黑粉病菌冬孢子生物学特性研究[J].现代化农业,1998,(1).
- [8] Pataky J K, Nankam C, Kerns M R. Evaluation of a silk-inoculation technique to differentiate reactions of sweet corn hybrids to common smut. Phytopathology, 1995, 85: 1323-1328.
- [9] Dutoit L J, Pataky J K. Variation associated with silk channel inoculation for common smut of sweet corn. Plant Dis., 1999. 83: 727-732.