文章编号: 1005-0906(2005)04-0117-04

玉米丝黑穗病及病菌生理分化研究进展

贺字典¹, 陈捷², 高增贵¹, 庄敬华¹

(1.河北科技师范学院农学系, 河北 昌黎 066600; 2.上海交通大学农业与生物学院, 上海 201101)

摘要: 玉米丝黑穗病是玉米生产上的一种主要病害, 从玉米丝黑穗病的发生与危害、病原菌生物学、抗病性鉴定与育种、防治、病原菌生理分化以及植物病原菌生理分化鉴定技术等方面进行了综述。

关键词: 玉米丝黑穗病; 生理分化; 鉴别寄主

中图分类号: S435.131.42

文献标识码: A

Progress on Studies of Head Smut Physiological Differential in Maize

HE Zi-dian¹, CHEN Jie², GAO Zeng-gui¹, ZHUANG Jing-hua¹

(1. Department of Agronomy, Hebei Sci-tech & Normal College, Hebei Changli 066600, China;

2. College of Agriculture and Living Things, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201101, China)

Abstract: Corn head smut [*Sporisorium relianum* (kuhn.) langdon & Fullerton] is one of major serious diseases threatening corn production. A detail review was made on the research progress of smut occurrence, pathogen biology and virulence differentiation, evaluation of cultivar resistance and breeding and IPM measures.

Key words: Maize head smut; Physiological differentiation; Differential host

80年代由于抗病品种的推广和使用, 玉米丝黑穗病一度得到控制。但近几年玉米丝黑穗病重新出现, 并且日趋严重, 直接威胁到玉米可持续生产。北美、墨西哥、澳大利亚、新西兰、南非、欧洲相继报道玉米丝黑穗病大面积发生。在我国东北、华北、西北和西南丘陵地区也加重流行。玉米丝黑穗病已成为继玉米大、小斑病之后的一种主要病害, 该病害的演替可能与气候变化、栽培制度变更有关, 也可能与病菌的生理小种变异有关。因此, 本文对玉米丝黑穗病及病菌生理分化研究进展做一综述。

1 玉米丝黑穗病的研究概况

1.1 发生与危害

玉米丝黑穗病于1876年在意大利首次报道, 我国于1919年在东北地区首次发现, 目前该病已遍布世界各玉米产区。20世纪80年代, 由于抗病品种的推广和使用, 玉米丝黑穗病曾得到了控制, 但在90年代后期由于气候、栽培方式和品种更换等原因, 玉

米丝黑穗病又大面积发生和流行。重庆、山西、内蒙古、云南、辽宁、吉林和黑龙江等省(市)都相继报道玉米丝黑穗病的大面积发生。玉米丝黑穗病的再度发生与流行已经严重影响了玉米的产量和品质, 给玉米生产造成了严重损失。东北地区玉米丝黑穗病的大发生, 仅2002年就造成产量损失10%~15%, 其中黑龙江省发病面积44万hm², 占全省玉米种植面积的20%; 吉林省发病面积60万hm², 占全省玉米种植面积的20%; 辽宁省发病面积3.3万hm², 占全省玉米种植面积的2.3%^[1]。

1.2 病原菌生物学与生理分化

玉米丝黑穗病的病原菌是 *Sporisorium relianum* (kuhn.) langdon & Fullerton^[2]。病菌冬孢子萌发不需要经过生理后熟, 但用金刚砂预处理菌粉, 破坏冬孢子壁, 能使萌发率和萌发速度明显提高^[3]。冬孢子萌发适温为25℃左右, 氧气能促进冬孢子萌发, 在黑暗条件下也能加快萌发速度。此外, 果糖、木糖、玉米植株汁液、土壤浸出液、抗坏血酸等作培养液对冬孢子萌发也有很好的效果^[4]。康绍兰等(1995)用0.05 mol/L HCl 处理冬孢子显著提高了冬孢子的萌发率, 而不同浓度的NaOH则对冬孢子萌发具有抑制作用, 这说明冬孢子萌发需要酸性条件^[5,6]。

利用国际鉴别寄主鉴定丝黑穗病菌高粱专化

收稿日期: 2004-11-09

基金项目: 国家“十五”攻关项目(2001BA509B04)

作者简介: 贺字典(1972-), 女, 沈阳农业大学硕士研究生。

Tel: 13503232184

E-mail: gyfhdzgyf@sohu.com 或 zidianhe@sohu.com

陈捷为本文通讯作者。

型,美国有3个生理小种,中国有4个生理小种^[7,8],而丝黑穗病菌玉米专化型的鉴别寄主体系尚未建立起来,各生理小种间是否存在遗传物质的差异,还未见报道。华致甫等^[9](1995)用妇人指等5个自交系作鉴别寄主,对玉米丝黑穗病菌的致病力进行了试验,认为我国至少存在5个生理小种,其中1号小种分布较普遍,为优势小种,主要分布在四川、吉林、陕西和云南,并对酸性磷酸酯酶和酯酶同工酶进行了谱带比较,差异显著。近几年,Mo17对玉米丝黑穗病菌免疫性的丧失是否因为玉米丝黑穗病菌出现了新的生理小种,还未见相关报道。

1.3 发生规律

玉米丝黑穗病是幼苗系统侵染的土传病害,只有初侵染,无再侵染。病菌主要以冬孢子在土壤、粪肥或附在种子表面越冬,成为次年的初侵染来源,牲畜取食的病菌冬孢子经消化道消化后仍具有侵染能力。病菌冬孢子在土壤中可存活3~5年,且侵染期较长^[10]。

冬孢子萌发产生的双核菌丝侵入寄主幼苗生长锥,完成侵染过程,以侵染胚芽为主,根部侵染次之。康绍兰等^[11](1995)证明冬孢子还可以从叶片侵入,引起局部黄斑症状,病菌在寄主的组织间或细胞内扩展,接种后50d就可以在寄主组织内形成冬孢子。冬孢子侵染玉米的适宜温度为21~28℃,需较低或中等的土壤含水量,土壤缺氮时易发病。冬孢子能否顺利完成侵染则取决于寄主植物的抗性、土壤中的孢子数量、侵染时期的温度和土壤湿度。

玉米从种子萌发到5叶期都可以侵染发病,但最适宜的时期是从种子萌发到1叶期,到8叶或9叶期不易侵染发病。因此,玉米适期播种,使幼苗加快生长,就可避开侵染时期。

1.4 抗病性鉴定与抗病育种

玉米丝黑穗病属于幼苗系统侵染病害,从苗期到成株期均可鉴定玉米是否发病。苗期主要采用幼苗褪绿斑点鉴定、质壁分离法、乳酚棉兰染色法鉴定。应用较多的是乳酚棉兰染色法^[12]。成株期鉴定主要是接种后在乳熟期进行田间调查^[13]。苗期鉴定省地、省时,可快速鉴定寄主的抗病性,而成株期鉴定结果可靠,但用地量大,鉴定材料纯度要高,群体不少于50株,同时需要在多个环境中鉴定。

玉米丝黑穗病的发病轻重与品种抗病性高低关系密切,因此,玉米丝黑穗病品种资源库的建立是相当重要的。王晓鸣等^[14](2000)、高卫东等^[15](1997)对全国玉米种质资源进行了抗病性鉴定,表明不同地区的玉米材料对丝黑穗病抗性强弱明显不同,依次为

东北地区、长江流域、黄河流域、广西和海南地区、华北地区。张文忠等(2002)认为,玉米丝黑穗病的抗性受遗传因子和土壤带菌特性共同作用,抗性的遗传特点属核型遗传,不受胞质基因控制,杂交种特性与双亲关系密切。因此,在自交系的改良上可采用轮回选择的方法,逐渐积累抗性基因,不断提高群体的抗病性^[16]。赵晋锋等(2002)认为,玉米杂交种后代的抗性多介于双亲之间,因此在杂交种选育中,尽可能地把优质高抗自交系作亲本,而不能采用高感材料^[17]。同时利用抗病品种时,应搞好多种抗源的合理搭配,以防止品种单一化带来新的生理小种上升为优势小种。种质资源的抗性鉴定及其种质资源库的建立对抗病育种会起到良好的作用,这些材料将会拓宽抗病种质基础,提高玉米品种的抗病水平。

1.5 抗性机制

赵羹梅等(1996)揭示了生育早期玉米芽鞘细胞表现出固有的抗性^[18]。感病品种根系渗出物对病原菌有刺激作用,而抗病品种的根系渗出物对病原菌则有抑制作用^[19]。李兴红(1995)等对苗期的抗性机制进行了研究,认为幼苗中Vc和总糖的含量与冬孢子在胚芽鞘上的萌发率呈显著的正相关,揭示了玉米幼苗期抗侵入的固有抗性^[20]。还指出受玉米丝黑穗病菌侵染后,幼苗胚芽鞘内表皮丧失质壁分离能力的细胞百分率,感病品种显著高于抗病的玉米材料。因此,冬孢子在玉米幼苗胚芽鞘上的萌发率、幼苗中Vc和总糖的含量以及病菌侵入后胚芽鞘内表皮丧失质壁分离能力的细胞百分率可作为玉米早期抗丝黑穗病的鉴定指标。

1.6 防治措施

推广使用抗病品种;加强农业保健措施,减少菌源,适时播种,避开低温,减少病菌的侵染几率;及时摘除瘤体并携至田外深埋,减少病菌在田间的扩散和在土壤中的存留;生产上实行轮作制度,避免寄主的连续出现,在生长季节加强玉米的田间管理,增施氮、磷、钾肥;使用合适的种衣剂等。

总之,利用抗病品种,有选择性的使用种衣剂和提高播种质量,加强田间管理就能有效地控制玉米丝黑穗病的发生与危害。

2 植物病原真菌生理分化的鉴定技术

2.1 鉴别寄主在植物病原真菌生理分化鉴定中的应用

植物病原真菌生理分化鉴定是寄主专化性研究的重要内容,及时地分析掌握这些病菌小种组成及消长情况,对指导品种合理布局、防病抗病具有重要

意义。Mains Jackson^[21]于1921年首次报道了用 Kanved 和 Malakaf 将叶锈菌区分为 2 个菌系,并于 1926 年用 Malakof、Weebster、Turkey47 等 11 个品种作为鉴别寄主,把小麦叶锈菌区分为 12 个生理小种^[22]。Johnston和Mains(1932)^[23]淘汰了Turkey、Norka和Similis 3 个鉴别寄主,所剩 8 个品种作为国际通用鉴别寄主,鉴定了小麦秆锈菌生理分化情况。用国际鉴别寄主鉴定病菌生理小种存在一定缺陷,即不能完全反映出病菌与生产上所用品种之间的相互关系,以后在国际鉴别寄主的基础上又增加了辅助鉴别寄主。近几年我国植病工作者对我国主要作物病害的病菌生理分化鉴别寄主体系的建立做了大量的工作,为我国病菌生理小种与国际病菌生理小种的比较奠定了基础。如杨祁云等^[24](2001)筛选了稻瘟病菌生理小种辅助鉴别寄主,张丽娟等^[25](1997)建立了大豆灰斑病菌生理小种鉴别寄主体系,植病免疫室^[26,27]对玉米主栽品种和自交系进行了大量的筛选,分别建立了玉米弯孢病菌和玉米灰斑病菌生理小种的鉴别寄主体系,但玉米丝黑穗病菌的鉴别寄主体系尚未建立起来。鉴别寄主技术能从表型上直接反映出病原菌与寄主互作的结果,但需要做大量的工作和花费很长的时间才能建立起一套较完善的鉴别寄主体系。

2.2 同工酶及可溶性蛋白在病原真菌生理分化鉴定中的应用

随着同工酶技术的发展与成熟,同工酶电泳技术已广泛用于病原菌遗传和变异方面的研究。自从 Chang L. Q.等^[28](1962)首次应用可溶性蛋白电泳技术标记脉胞菌(*Neurospora*)的遗传与变异以来,可溶性蛋白和同工酶电泳技术已应用于真菌几乎所有门

类的研究。刘曙照等^[29](1994)报道,稻瘟病酯酶同工酶谱的相似性与致病性有关。袁凤杰等^[30](1998)对大豆灰斑病的不同生理小种进行可溶性蛋白和同工酶电泳,发现供试小种间存在同工酶表型特异性,同工酶谱带深则致病性强,谱带浅则致病性弱。褚西宁^[31](1994)对 9 株根霉可溶性蛋白的天然态和 SDS 解聚态、酯酶同工酶、葡萄糖淀粉酶和超氧化物歧化酶进行了比较研究,以酯酶同工酶酶谱的区分能力最好,不仅能显示种间的差异,也能在一定程度上显示不同菌株间的微小区别。鄢洪海^[32](2001)对玉米弯孢菌的可溶性蛋白、酯酶、过氧化物酶、淀粉酶、多酚氧化酶、超氧化物歧化酶及苹果酸脱氢酶作了分析比较,认为病原菌具有丰富的遗传多态性,并且同工酶的编码基因在不同菌株中的分布差异明显。邹庆道等^[33](2000)对玉米穗、茎腐病禾谷镰刀菌和串珠镰刀菌分析后认为,串珠镰刀菌各地区同源性高,亲缘关系近,而禾谷镰刀菌亲缘关系因地区不同而差异显著。目前同工酶技术已被广泛用于水稻稻瘟病菌、棉花枯萎病菌、小麦赤霉病菌等多种病原菌生理分化及亲缘关系鉴定方面的研究。同工酶和可溶性蛋白是基因产物,也能反映出病原菌与寄主互作的关系,但同工酶作为一种遗传标记也存在不足,主要是适宜标记的酶种类有限和酶的多态性低等^[34]。

2.3 DNA 分子标记技术在病原真菌生理分化中的应用

自从 20 世纪 80 年代 Boistein 等^[35]首次成功利用 RFLP 作为遗传标记构建人类遗传连锁图以来,DNA 分子标记技术迅速发展,并在植物遗传学研究中得到广泛应用,如 RFLP、RAPD、AFLP、DAF、DDRT-PCR、VNTR 和 SCARS 等,其主要区别见表 1。

表 1 几种主要分子标记技术的比较

项目	RFLP	RAPD	AFLP	DAF	DDRT
分布	普遍存在	普遍存在	普遍存在	普遍存在	普遍存在
遗传	稳定	稳定	稳定	稳定	稳定
多态性	高	高	高	高	高
技术难度	中等	低	中等	低	高
可靠性	高	中等	中等	低	高
所需 DNA 质量	纯	粗提	粗提	粗提	纯
所需 DNA 数量(ng)	2~10	10~50	50	50	50
同位素	需要	不	不	不	需要
所需探针类型	物种特异性的低拷贝的基因组 DNA 或 cDNA	10 个随机寡聚核苷酸	设计合成一对特定序列的核苷酸	7~8 个寡聚核苷酸	T12MN、10 个随机寡聚核苷酸
产物检测	放射性自显影	琼脂糖电泳 EB 染色	琼脂糖电泳 EB 染色	聚丙烯酰胺银染	放射性自显影
成本高低	高	低	低	低	低

DNA 分子标记技术能够揭示出病原菌的群体遗传结构、群体遗传多样性、群体遗传变异和群体内遗传分化等方面的特性,特别是 RFLP 和 RAPD 标

记已成为检测植物真菌群体遗传变异的有力工具。Braithwaiteetal^[36](1990)对 *Colletotrottrchum gloeosporioides* 的两种生物型进行了 RFLP 分析,结果表明,

两者在澳大利亚是遗传学不同的两个类群。冯洁等^[37]从 140 个 RAPD 分子标记中找到了不同小种的特征性条带,并经克隆转化后获得了 DNA 特异性片段核酸序列。鄢洪海等^[32]对玉米弯孢菌、王桂清等^[27]对玉米灰斑病菌的 DNA 进行了 RAPD 分析,认为不同生理小种间特征性条带差异显著。目前,RAPD 技术已成功用于茄属镰刀菌、小麦条锈病菌、大豆灰斑病菌、稻瘟病菌、玉米大斑病菌等多种重要植物病原真菌的遗传分析。

不管是鉴别寄主技术、可溶性蛋白和同工酶电泳技术,还是 DNA 分子标记技术在病原菌生理分化鉴定中已是成熟的技术,但对玉米丝黑穗病菌生理分化鉴定中的应用尚未见到相关报道。

3 前景与展望

玉米丝黑穗病目前已遍布我国大部分玉米产区,是玉米生产上的一种主要病害,严重威胁着玉米的可持续生产。对该病的病原菌生物学、抗性鉴定及抗原筛选等方面已做了大量的工作。但在病菌生理分化方面还有很多工作要做,当前亟待解决的问题就是通过鉴别寄主或其他技术明确玉米丝黑穗病菌生理小种的类型及生产上的优势种群,进而指导品种合理布局,控制病害的发生发展,最终达到防治病害的目的。

玉米丝黑穗病菌由于与寄主长期互作产生致病性分化,并由此产生了针对不同品种的专化性类型。因此,通过对遗传背景清楚的品种或自交系进行筛选,就可建立起玉米丝黑穗病菌生理分化的鉴别寄主体系。通过鉴别寄主技术来确定玉米丝黑穗病菌生理分化类型是当前应用最广泛的方法。从表型上来寻找病菌和寄主的专化性关系固然重要,但要做大量的工作和足够的时间才能形成一个较完整的鉴别寄主体系。寻求鉴别寄主鉴定技术以外的方法,如应用同工酶和可溶性蛋白技术、DNA 分子标记技术进行亲缘关系与致病性分析等,是目前尚未建立完整玉米丝黑穗病菌生理分化鉴别寄主体系情况下的必要补充和辅助手段。

参考文献:

- [1] 晋齐鸣,王晓鸣,王作英,等.东北春玉米丝黑穗病大发生原因及对策[J].玉米科学,2003,11(1):86-87.
- [2] 张满良.农业植物病理学[M].北京:世界图书出版公司,1997.144-145.
- [3] 贾菊生,张前.玉米丝黑穗病菌冬孢子萌发条件的研究[J].植物保护学报,1990,17(2):109.
- [4] 张超冲.玉米丝黑穗病原生物学特性研究[J].广西农学院学报,1984,(1):12.
- [5] 康绍兰,李兴红,乔秀娟,等.玉米丝黑穗病菌冬孢子生物学特性的研究 I.[J].河北农业大学学报,1994,17(3):78-83.
- [6] 康绍兰,李兴红,乔秀娟,等.玉米丝黑穗病菌冬孢子生物学特性的研究 II.[J].河北农业大学学报,1995,18(3):57-60.
- [7] Halisky P M.Physiologic specialization and genetics of the head smut fungi [J]. Bot. Rev., 1965, 31(1): 114-150.
- [8] 徐秀德,卢庆善,潘景芳.中国高粱丝黑穗病菌小种对美国小种鉴别寄主致病力测定[J].辽宁农业科学,1994,(1):8-10.
- [9] 华致甫,白宝璋,赵晓军.玉米丝黑穗菌生理分化研究[J].吉林农业大学学报,1995,17(2):32-35.
- [10] 齐兆生.中国农作物病虫害玉米类[M].北京:中国农业科学院植物保护研究所,1995.
- [11] 康绍兰,李兴红,郭华强,等.玉米丝黑穗病菌对玉米叶片的侵染过程[J].河北农业大学学报,1995,18(4):128-129.
- [12] 刘惕若.黑粉菌与黑粉病[M].北京:北京农业出版社,1980.121-131.
- [13] 王振华,姜艳喜,王元华,等.玉米丝黑穗病的研究进展[J].玉米科学,2002,10(4):61-64.
- [14] 王晓鸣,戴法超,朱振东,等.玉米自交系和杂交种的抗病特性研究[J].中国农业科学,2000,33(增刊):132-140.
- [15] 高卫东,戴法超,朱小阳.玉米种质资源对四种病害的抗性鉴定[J].植物保护学报,1997,24(2):191-192.
- [16] 张文忠,宋殿珍,赵晋锋,等.玉米抗丝黑穗病遗传特性研究[J].玉米科学,2002,10(4):67-69.
- [17] 赵晋锋,宋殿珍,张文忠,等.玉米丝黑穗病发生与防治及抗病育种的一些探讨[J].山西农业科学,2002,30(2):60-62.
- [18] 赵羹梅,张鹏宴,蒋小满.过氧化物酶活性与玉米自交系对丝黑穗病抗性的关系[J].植物病理学报,1996,26(1):37-39.
- [19] Martinez Carole, Buee Marc, Jauneau Alain, et al. Effects of a fraction from maize root exudates on haplo id strains of *Sporisorium reilianum* f. sp. deae[J]. Plant and Soil, 2001, 236(2): 145-153.
- [20] 李兴红,康绍兰,曹志敏.玉米苗期对丝黑穗病抗性机制初探[J].河北农业大学学报,1995,18(4):39-43.
- [21] Mains E B, Jackson H S. Two strains of *Puccinia triticina* on wheat in the united states [J]. Phytopathology, 1921, 11(1): 40-45.
- [22] Mains E B, Jackson H S. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat *Puccinia triticina* Erikss[J]. Phytopathology, 1926, 16(1): 89-120.
- [23] Johnston C O, Mains E B. Studies on physiologic specialization in *Puccinia triticina*[J].Tech BULL U S Dep Agric., 1932, 13(1): 22-26.
- [24] 杨折云,朱小源,范仕容,等.广东稻瘟病菌生理小种辅助鉴别寄主的筛选及应用[J].植物病理学报,2001,28(2):190-191.
- [25] 张丽娟,杨庆凯,徐奉学.大豆灰斑病菌生理小种鉴别寄主体系的建立[J].大豆科学,1998,17(1):39-43.
- [26] 鄢洪海,陈捷,高增贵,等.玉米弯孢菌叶斑病菌生理分化鉴定技术的研究[J].沈阳农业大学学报,2000,31(5):472-475.
- [27] 王桂清.玉米灰斑病菌生物多态性与生理分化机理研究[D].沈阳:沈阳农业大学博士论文,2003.113-122.
- [28] Chang L Q & stewards F C. Electrophoresis separation of the soluble protein of *Neurospora*. Nature, 1962, 19(3): 756-759.
- [29] 刘曙照,李清铎.稻瘟病和生理小种可溶性蛋白特性初探[J].植物病理学报,1994,24(3):203-206.

(上接第 120 页)

- [30] 袁凤杰,杨庆凯.大豆灰斑病菌生理小种同工酶分析[J].植物病理学报,1998,28(1):39-42.
- [31] 褚西宁.九株根霉可溶性蛋白和三种酶的电泳图谱比较研究[J].真菌学报,1994,13(2):121-126.
- [32] 鄢洪海.玉米弯孢叶斑病菌生理分化及分子生物学研究[D].沈阳:沈阳农业大学博士论文,2001.38-47.
- [33] 邹庆道,朱勇,刘丽,等.运用同工酶标记对玉米穗、茎腐病串珠镰刀菌亲缘关系的研究[J].杂粮作物,2000,20(1):46-49.
- [34] 严华军,笑乃虎.DNA分子标记技术及其在植物遗传多样性研

究中的应用[J].生命科学,1996,29(4):1-9.

- [35] Boistein D, et al. Constuction of a genetic linkage map using restriction fragment length polymorphism [J].Am. J.Hum Genetic, 1980, 32(2): 314-331.
- [36] Braithwaite K S, Irwin J A G, Manners J M. Restriction fragment length polymorphims in *Colletotrottrchum gloeosprioides* inflecting stylosanthos spp.in Australia[J]. Mycol, Res., 1990, 94: 1129-1137.
- [37] 冯洁,孙文姬,石磊岩,等.我国棉花枯萎菌生理小种特异性DNA扩增片段的筛选及序列测定[J].植物病理学报,2000,30(1):35-41.