

文章编号: 1005-0906(2010)01-0131-04

玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术的评价

石菁¹, 张金文¹, 陆继有²

(1. 甘肃农业大学农学院, 兰州 730070; 2. 甘肃农业大学富农高科技种业有限公司, 兰州 730070)

摘要: 选用西北灌区生产上具有代表性的 10 个玉米品种, 采用不同接种方法及接种浓度在玉米不同生育时期人工接种玉蜀黍黑粉菌, 研究抗性鉴定技术, 筛选出一整套重复性好、发病完全、受外界因素干扰小的接种技术体系。结果表明, 供试玉米品种接种玉蜀黍黑粉菌的最佳方法是注射法, 最佳接种时期为 6 叶 1 心期, 最佳接种浓度为 $9 \times 10^3 \sim 10 \times 10^3$ 个孢子/mL。

关键词: 玉米; 玉蜀黍黑粉菌; 抗性鉴定

中图分类号: S435.131.41

文献标识码: A

Evaluation of Technique for Resistance Identification on *Ustilago maydis*

SHI Jing¹, ZHANG Jin-wen¹, LU Ji-you²

(1. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070;

2. Funong High-technology Crop Seed Company of Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Effect on incidence rate of common smut on 10 different resistant varieties of corn in northwest of China, in field conditions by different inoculating methods, inoculating time, dosages for inoculation were compared. The results indicated that the most effective inoculating method was to inject spores into the corn plant, which caused the highest incidence rate of *Ustilago maydis*. The optimal time of inoculation was at 6 leaf-stage of corn plant. The optimal dosage of the pathogen for injection was at $9 \times 10^3 - 10 \times 10^3$ spore/mL.

Key words: Corn; *Ustilago maydis*; Identification of resistance

玉米瘤黑粉病又称玉米普通黑粉病, 其病原菌为玉蜀黍黑粉菌[*Ustilago maydis* (DC.) Corda = *U. zeae* (Beckm.) Unger], 属于担子菌亚门。玉米瘤黑粉病是一种世界性的玉米病害, 在美国^[1]、欧洲^[2]、前苏联^[3]等国家和地区均有发生。主要发生在温暖干燥地区, 且春播区较夏播区更为严重, 发病率一般为 5% ~ 10%, 可造成 30% ~ 80% 的产量损失^[4]。在我国各玉米种植区玉米瘤黑粉病普遍发生^[5], 但在西北和华北玉米产区发生较为频繁, 危害也较重。2000 年全国玉米瘤黑粉病发病面积达 180 万 hm^2 , 绝收 3 万 hm^2 , 平均减产 10% ~ 30%, 严重达 40% 以上。选用抗

病品种是防治玉米瘤黑粉病最有效的措施, 而品种抗病性鉴定特别是对育种基础材料进行准确的鉴定并做出合理的抗性评价是选育抗病玉米品种的基础。为此需要建立一种用于玉米瘤黑粉病抗性鉴定的可靠方法。

目前, 国内外玉米瘤黑粉病抗性鉴定方法有菌粉拌种法、菌粉灌心法、病菌孢子注射接种法等^[6], 不同接种方法的接种时期和接种的病菌孢子浓度都不相同。菌粉拌种法和菌粉灌心法接种鉴定的玉米, 田间发病呈点块状, 受环境因素干扰大, 可重复性及准确性均较差^[7]; 注射接种法则因接种浓度和接种时期不同而产生抗性评价结果的不一致。本试验选用西北灌区玉米生产上具有代表性的 10 个不同抗性品种, 对目前采用的不同接种方法进行比较, 筛选出一套受外界因素干扰小、可重复性好、发病完全的接种方法, 为完善玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术体系提供科学依据。

1 材料与方法

收稿日期: 2008-12-30; 修回日期: 2009-04-03

基金项目: 国家科技支撑计划课题“高淀粉活秆成熟玉米筛选及栽培技术集成示范”专题(2007BAD52B08)

作者简介: 石菁(1983-), 女, 甘肃张掖人, 硕士, 主要从事玉米遗传育种研究。E-mail: shijing19831001@sina.com

张金文为本文通讯作者。Tel: 13609377489

E-mail: jwzhang305@163.com

1.1 供试材料

试验选用在甘肃富农高科技种业有限公司张掖玉米育种基地观察鉴定出的 10 个不同抗性的玉米杂交种为材料。其中中科 4 号、郑单 958、安玉 5 号、农大 108 和辽单 565 为抗病品种,沈单 16、掖单 13、鲁单 981、辽单 527 和西玉 3 号为感病品种。这些玉米品种均为西北灌区生产上的主栽品种。

1.2 试验方法

1.2.1 供试病原菌

供试病原菌来源于甘肃农业大学平凉育种站。秋季从典型病株上采集病瘤,风干后装纸盒内置通风处保存,使用前将病瘤破碎收集黑粉菌冬孢子,冬孢子充分碾碎后过 40 目筛,使病原菌成为均一的菌粉^[8]。

1.2.2 接种方法、时期及浓度

试验设注射法、拌种法两种接种方法。拌种法是将冬孢子配制成 0.1% 菌液,然后在播前浸泡供试玉米种子进行接种。注射法是将冬孢子分别配制成 $1 \times 10^3 \sim 2 \times 10^3$ (C1)、 $9 \times 10^3 \sim 10 \times 10^3$ (C2)、 $2 \times 10^4 \sim 3 \times 10^4$ (C3) 个孢子 /mL 悬浮液(分别相当于 16×10 倍显微镜下 5、25、50 个冬孢子 / 视野),分别于 3 叶 1 心期(B1)、6 叶 1 心期(B2)、8 叶 1 心期(B3)3 个时期进行接种,接种时分别用注射器吸取制备好的 3 个不同浓度的孢子悬浮液,把针头刺入玉米植株茎秆中部^[9],每株注入菌液 1 mL 左右。

1.2.3 试验设计及数据处理

田间接种鉴定在甘肃农业大学黄羊镇教学实习农场进行,试验地为 5 年末种玉米的地块。注射法采用裂-裂区试验设计,以品种为主区(A1…A10),以不同接种时期为裂区(B1、B2、B3),浓度为裂-裂区(C1、C2、C3),以不接种为对照(田间自然发病区,CK),

另加拌种法接种区,重复 3 次,随机排列。

秋季在玉米乳熟期分别调查各品种各处理区发病株数,按下列公式计算发病率:

发病率=(发病株数 / 接种总株数) × 100%

校正发病率=[(处理发病率-空白对照发病率)/(1-空白对照发病率)] × 100%

田间病情分级描述及抗性评价参照《玉米病虫害手册》的方法,将玉米瘤黑粉病情指数划分为 1~9 级^[10]。

试验数据采用 DPS3.01 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同接种方法的玉米发病情况

对 10 个不同抗性的玉米品种采用不同方法人工接种后,其田间发病率校正平均值如表 1 所示。注射法和拌种法接种均可引起不同抗性玉米品种发病,其中注射法接种发病率在 1.4%~67.8%,拌种法接种发病率在 0.2%~9.6%,对照发病率在 0~9.0%。拌种法不仅发病率低,且田间发病呈点块状,根据抗性评价标准评价 10 个品种集中在高抗、抗病和中抗之间,没有出现感病品种,说明此方法受环境干扰大,准确性较差。注射法发病率高,田间发病完全,10 个不同抗性的玉米品种在注射接种胁迫下,可表现出准确的抗性鉴定结果。掖单 13、辽单 527、西玉 3 号发病率在 2.98%~67.8%,抗性评价为高感(HS);鲁单 981、沈 16 发病率在 11.5%~39.9%,抗性评价为感病(S);郑单 958、安玉 5 号、中科 4 号发病率在 2.3%~9.9%,抗性评价为中抗(MR);农大 108、辽单 565 发病率在 1.4%~4.9%,抗性评价为抗病(R)。说明此方法受环境因素干扰小,鉴定品种抗病性较为稳定,可作为玉米瘤黑粉病抗性鉴定接种的首选方法。

表 1 不同接种方法、时期、浓度对寄主发病率的影响(校正平均值)

Table 1 Results of inoculating methods, periods, dosages and incidence of varieties %

品 种 Varieties	注射法 Injection methods									拌种法	对 照
	3 叶 1 心期 3 leaf-stage			6 叶 1 心期 6 leaf-stage			8 叶 1 心期 8 leaf-stage			Bacterin seed dressing	CK
	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3		
沈 16	11.5	32.9	23.4	18.4	34.9	30.2	14.4	37.7	27.6	5.3	3.7
中科 4 号	5.1	8.6	7.1	6.5	9.9	8.6	5.5	9.3	8.1	0.4	0.2
掖单 13	30.6	55.4	46.8	36.9	66.9	56.8	32.9	59.1	51.3	9.6	8.5
郑单 958	2.3	8.1	6.4	4.2	9.6	7.8	3.4	8.7	7.5	0.3	0.0
安玉 5 号	3.5	9.4	7.1	6.8	9.8	8.4	5.8	9.6	7.7	0.9	0.3
鲁单 981	16.8	33.9	30.4	23.2	39.9	36.9	20.6	37.1	34.1	6.2	5.5
农大 108	1.4	3.8	3.2	2.8	4.9	4.8	3.0	4.3	3.6	0.4	0.0
辽单 565	2.3	3.5	4.0	3.8	4.4	4.2	2.6	4.1	4.2	0.3	0.0
辽单 527	29.8	41.8	34.9	33.9	59.6	51.8	31.5	46.3	40.8	9.3	9.0
西玉 3 号	33.5	61.4	48.9	40.4	67.8	59.7	37.6	62.7	54.6	8.6	4.2

2.2 不同接种时期及不同接种浓度发病率差异评价

为明确不同抗性品种在不同时期注射不同浓度对玉米瘤黑粉病发病的影响程度，对校正发病率进

行方差分析(表 2)。从表 2 可以看出,不同抗性品种(A)与不同接种时期(B)和不同接种浓度(C)之间互作，对玉米瘤黑粉病发病的影响均存在显著差异。

表 2 注射接种法方差分析结果
Table 2 Analysis of variance on injection

变异来源 Source of variation	平方和 SS	自由度 DF	均 方 MS	F 值 F-value	显著性 Significance
区组	0.748 74	2	0.374 37		
处理 A	90 574.685 37	9	10 063.853 93	21 555.516 91	**
处理 B	1 231.435 90	2	615.717 90	1 420.826 80	**
A × B	778.196 70	18	43.233 20	99.764 50	**
处理 C	7 748.380 52	2	3 874.190 26	11 143.404 39	**
A × C	4 400.080 96	18	244.448 94	703.112 97	**
B × C	43.119 26	4	10.779 81	31.006 18	**
A × B × C	228.479 26	36	6.346 65	18.254 97	*
误差	41.720 00	120	0.347 67		

注:** 为 1%显著水平;* 为 5%显著水平。
Note: **and *indicated the significance at 1% and 5% level, respectively.

为进一步确定最佳接种时期和最佳接种浓度，对不同抗性品种、不同接种时期及不同接种浓度发病率进行显著性分析。表 3 表明，西玉 3 号、掖单 13、辽单 527 发病率均值在 40%以上,按抗性评价标准为高感(HS)品种;鲁单 981、沈 16 发病率均值在 10%~30%,为感病(S)品种;中科 4 号、安玉 5 号和郑单 958 发病率均值在 5.1%~10%,为中抗(MR)品种;辽单 565、农大 108 发病率在 1.1%~5%,为抗病(R)品种。各品种发病率均值除中科 4 号和安玉 5 号之间差异不显著外,其他品种之间均存在显著差异。

表 3 不同抗性品种发病率差异比较
Table 3 Difference of incidences at different varieties

品 种 Varieties	发病率均值(%) Incidence mean	显著性 5%	Significance 1%
西玉 3 号	51.8	a	A
掖单 13	48.5	b	B
辽单 527	41.1	c	C
鲁单 981	30.3	d	D
沈单 16	26.6	e	E
中科 4 号	7.6	f	F
安玉 5 号	7.5	f	F
郑单 958	6.5	g	G
辽单 565	4.3	h	H
农大 108	3.4	i	I

在玉米生育的 3 个时期接种均可引起不同抗性的玉米品种发病，发病率在 3 个时期均表现出显著

差异,6 叶 1 心期接种发病率最高，发病最完全,稳定性也最好,8 叶 1 心期次之,3 叶 1 心期最差 (表 4)。用不同浓度在不同生育期接种后均可引起不同抗性品种发病，且在不同浓度处理下发病率差异达极显著水平,9 × 10³ ~ 10 × 10³ 个孢子 /mL 浓度处理下发病率最高，受外界环境影响也最小,2 × 10⁴ ~ 3 × 10⁴ 个孢子 /mL 浓度处理次之,1 × 10³ ~ 2 × 10³ 个孢子 /mL 发病率最小(表 5)。

表 4 不同接种时期发病率差异比较
Table 4 Difference of incidences at different time

接种时期 Inoculating time	发病率均值(%) Incidence mean	显著性 5%	Significance 1%
6 叶 1 心期	25.5	a	A
8 叶 1 心期	22.5	b	B
3 叶 1 心期	20.3	c	C

表 5 不同接种浓度发病率差异比较
Table 5 Difference of incidences at different levels

接种浓度(个孢子 /mL) Bacterium content	发病率均值(%) Incidence mean	显著性 5%	Significance 1%
9 × 10 ³ ~ 10 × 10 ³	28.5	a	A
2 × 10 ⁴ ~ 3 × 10 ⁴	24.2	b	B
1 × 10 ³ ~ 2 × 10 ³	15.6	c	C

3 结论与讨论

试验结果表明,进行玉米瘤黑粉病抗病性鉴定时,其接种的最佳方法是注射法。注射器针头可直接刺入到玉米植株叶轮至茎秆处,此部位接近幼穗生长发育部位,病菌可与寄主幼嫩组织直接接触使侵染成为可能,并且针头刺过植株茎秆会留下创伤口,为病原菌的侵入创造了条件。用注射法接种能做到定量、定时、定部位,且造成伤口大小也相同,因而受环境干扰小,可重复性、稳定性、准确性均较好,由于工作量小,适宜于大田多个品种的抗性鉴定。

玉蜀黍黑粉菌是黑粉菌中局部侵染的代表类型,菌原自侵染点向外可作一定距离的弥散,但不是系统侵染,发病部位一般在病原侵入点周围,且侵染与寄主生育阶段有关。本研究中,玉米瘤黑粉接种的最佳时期为6叶1心期,这与张春民等的研究结果一致。在3叶1心期时接种发病率普遍偏低,这可能与苗期温度比较低有关,低温不利于孢子的萌发。

用于注射接种法的3个浓度所引起植株的发病率不同,随着菌液浓度加大发病率明显提高,但当浓度达到一定量时发病率并没有继续上升,说明注射浓度不是菌量越大接种效果越好。在本试验中, $9 \times$

$10^3 \sim 10 \times 10^3$ 个孢子/mL 浓度接种效果最好,10个参试品种均表现出最大发病率,但此剂量是否为最佳浓度还有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] Shurtleff M C. Compendium of corn diseases.(2nd edn) American Phytopathological Society[M]. St. Paul, Minnesota. 1971: 45-46.
- [2] Zscheischler J, Estler M C, Gro B, et al. Mais. Anbau und Verwertung [M]. DLG-Verlag, Frankfurt/Main, 1979: 51-52.
- [3] 刘惕若. 黑粉菌与黑粉病[M]. 北京: 农业出版社, 1984.
- [4] 鄂文弟, 王振华, 张立国, 等. 玉米瘤黑粉病的研究进展[J]. 玉米科学, 2006, 14(1): 153-157.
- [5] 李春民, 徐雅洁, 于俊香, 等. 2000年巴林左旗玉米瘤黑粉病大发生的原因及防治对策[J]. 内蒙古农业科技, 2001(5): 42-43.
- [6] 方中达. 植病研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1998.
- [7] 张春民, 刘玉英, 石洁, 等. 玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术研究[J]. 玉米科学, 2005, 13(3): 109-111.
- [8] 刘长华, 王振华. 玉米丝黑穗病田间接种浓度与发病率关系的研究[J]. 玉米科学, 2008, 16(1): 119-121.
- [9] Thakur R P. Smut gall development in adult corn plants inoculated with *Ustilago maydis*[J]. Plant Disease, 1989(11): 921-925.
- [10] 王晓鸣, 戴法超, 廖琴, 等. 玉米病虫害田间手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.