

玉米 高粱主要病害抗病性鉴定技术规范
第 9 部分：玉米北方炭疽病

Rules for evaluation of sorghum and maize for resistance to diseases
Part 9: Eye spot of maize

(报批稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是DB21/T 2219《玉米 高粱主要病害抗病性鉴定技术规范》的第9部分。DB21/T 2219已发布或计划发布以下部分：

- 第1部分：高粱靶斑病抗性鉴定；
- 第2部分：高粱煤纹病抗性鉴定；
- 第3部分：高粱镰孢菌茎腐病抗性鉴定；
- 第4部分：高粱丝黑穗病抗性鉴定；
- 第5部分：玉米灰斑病抗性鉴定；
- 第6部分：玉米弯孢菌叶斑病抗性鉴定；
- 第7部分：玉米青霉穗腐病；
- 第8部分：玉米木霉穗腐病；
- 第9部分：玉米北方炭疽病；
-。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由辽宁省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：沈阳农业大学、辽宁省植保植检总站、辽宁省林业有害生物防治检疫站、辽宁省农业发展服务中心、绥中县农业事务服务中心。

本文件主要起草人：肖淑芹、高越、崔雪、薛春生、夏子豪、曲智、朴静子、葛芳、屈丽莉、赵世学、黄宇飞、孙慕君、李眷、鲁旭鹏、姜策、杨森月。

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可以通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况，依法进行评估及复审。

归口管理部门联系方式：辽宁省农业农村厅(沈阳市和平区太原北街2号)，联系电话：024-23447862。

文件起草单位联系方式：沈阳农业大学(沈阳市沈河区东陵路120号)，联系电话：024-88487148。

引 言

玉米、高粱种植面积约占辽宁省谷类作物一半以上。近年来，在玉米、高粱生产中病害的发生趋于严重，已成为制约玉米、高粱生长发育和优质高产的重要因素。因此，开展玉米、高粱主要病害抗病性鉴定，为抗病育种和病害流行预测预警提供技术支撑意义重大。为确保标准制定的系统性和应用的便利性，针对辽宁省玉米、高粱主要病害抗病性鉴定技术需求，特制定本系列标准。DB21/T 2219本次发布了一个部分：

——第9部分：玉米北方炭疽病。

本系列标准还将陆续发布其他玉米、高粱主要病害的抗病性鉴定技术部分。

玉米 高粱主要病害抗病性鉴定技术规范

第 9 部分：玉米北方炭疽病

1 范围

本文件规定了玉米北方炭疽病 (*Kabatiella zea*) 抗病性鉴定的准备、接种、调查、抗性评价和鉴定结果汇总等技术内容。

本文件适用于栽培玉米 (*Zea mays* L.) 种质资源和品种对玉米北方炭疽病抗性的鉴定及评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

DB21/T 2219.8 玉米 高粱主要病害抗性鉴定技术规范 第8部分：玉米木霉穗腐病。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 准备

4.1 接种物

4.1.1 病原物的分离、鉴定和保存

4.1.1.1 分离

从田间采集具有典型玉米北方炭疽病症状的叶片，以组织分离法从病斑上分离病原物后，再利用单孢分离法获得纯化培养物。

4.1.1.2 鉴定和保存

纯化培养物经形态学特征和分子生物学鉴定结果将其确定为玉蜀黍球梗孢（见附录 A）。待纯化菌株菌落长至 1/2 培养皿（90mm）时，用马铃薯葡萄糖培养液（Potato Dextrose，简称 PD）洗下分生孢子，过滤后获得分生孢子悬浮液与 50%甘油 1:1 比例混匀，-80℃保存备用。PD 的配制应符合 DB21/T 2219.8 的规定。

4.1.2 接种物的制备

4.1.2.1 培养基配制

接种前需配制马铃薯葡萄糖琼脂（Potato Dextrose Agar，简称 PDA）培养基和玉蜀黍球梗孢培养基（*Kabatiella zea* medium，简称 KZM）。KZM 的配制方法：选取羧甲基纤维素 10g+麦芽糖 5g+蛋白

脲 1.5g+磷酸二氢钾 1g 混合加入 1000mL 蒸馏水定容，分装后 121 °C 高压灭菌 30 min。PDA 的配制应符合 DB21/T 2219.8 的规定。

4.1.2.2 接种物获取

将保存菌株接种于PDA培养基，25℃黑暗条件下培养7d后，用无菌打孔器获取菌落直径为6mm的菌饼，将其接种于KZM培养基，接种前培养物经三层已灭菌纱布过滤，获得分生孢子悬浮液，用无菌水将分生孢子的浓度调至 1×10^6 个/mL，加入0.01%吐温20，即可用于田间接种。

4.2 鉴定圃

4.2.1 圃地选择

应选择土壤肥力中等以上，具有良好自然发病环境和排灌设施的地块。

4.2.2 试验设计

鉴定材料随机排列或顺序排列。进行品种抗病性鉴定时，每30行鉴定材料设1组已知抗病和感病对照材料（见附录B）；进行种质资源抗病性鉴定时，每50行鉴定材料设1组已知抗病和感病对照材料。圃地周边应设置保护行。

4.2.3 种植要求

鉴定材料播种时间、方式与生产田相同。鉴定小区行长3m，行距与植株密度根据各区域品种试验要求确定，条播或穴播，每行保苗13株~15株。种质资源鉴定种植2行，品种鉴定种植4行。土壤肥力水平和耕作管理方式与生产田相同。

5 接种

5.1 接种时期

玉米心叶末期。接种时宜选择在阴天或雨后傍晚。

5.2 接种方法

采用喷雾接种法。将接种物均匀喷雾于植株叶片上，接种量为8mL/株~10mL/株。

5.3 接种前后的田间管理

鉴定材料全生育期不施杀菌剂，同一项操作在同一天完成。要保持田间大气湿度，若遇干旱天气，应及时田间浇灌，满足发病条件。

6 调查

6.1 调查时间

玉米乳熟末期。同批次接种材料应在同一天完成。

6.2 调查方法

目测每份鉴定材料群体发病情况。逐株逐叶调查，重点部位为玉米果穗上、下方各3片叶，根据症状描述，记录每份材料病情级别。病情分级、相对应的症状描述见表1。

表1 玉米对北方炭疽病抗性鉴定的病情级别划分

病情分级	症状描述(病斑面积占叶片面积比例)
1	$A \leq 5\%$
3	$5\% < A \leq 10\%$
5	$10\% < A \leq 30\%$
7	$30\% < A \leq 70\%$
9	$A > 70\%$

注：病斑面积占叶片面积比例以A表示。

7 抗性评价

7.1 鉴定有效性判别

当设置感病对照材料平均病情级别 ≥ 5.6 时，该批次鉴定判定有效。

7.2 抗性评价标准

计算每份鉴定材料的平均病情级别，并依据平均级别确定该鉴定材料对北方炭疽病的抗性。抗性的划分标准见表2。

表2 玉米对北方炭疽病抗性评价标准

平均病情级别	抗性
$D \leq 1.5$	高度抗病 Highly resistant (高抗 HR)
$1.5 < D \leq 3.5$	抗病 Resistant (抗 R)
$3.5 < D \leq 5.5$	中度抗病 Moderately resistant (中抗 MR)
$5.5 < D \leq 7.5$	感病 Susceptible (感 S)
$7.5 < D$	高度感病 Highly susceptible (高感 HS)

注：平均病情级别以D表示。

7.3 重复鉴定

若鉴定材料初次鉴定时表现为高抗、抗、中抗，应在次年进行重复鉴定。

7.4 抗性评价

对初次鉴定结果和重复鉴定结果进行比较，以记载的最高病情级别为最终鉴定结果，并依此结果对鉴定材料进行抗性评价。

8 鉴定结果汇总

玉米北方炭疽病鉴定结果整理后填入鉴定结果表格，见图1。

____年玉米抗北方炭疽病鉴定结果表				
编 号	品种/种质名称	来 源	病情级别	抗性评价
注1：鉴定地点 注2：接种病原菌株编号及来源 注3：接种日期 注4：调查日期 注5：调查人				

图1 玉米抗北方炭疽病鉴定结果汇总表样式图

附录 A
(资料性)
玉蜀黍球梗孢

A.1 学名和形态学鉴定

引起玉米北方炭疽病的致病菌是玉蜀黍球梗孢 *Kabatiella zae* Narita et Hiratsuka, 异名为玉蜀黍出芽短梗霉【*Aureobasidium zae* Narita et Hiratsuka) Dingle】。

玉蜀黍球梗孢形态特征：在PDA培养基上生长缓慢、菌落革质，呈放射波纹状，表面有极短的粉末状菌丝，初呈乳白色，随着菌龄增加，颜色渐变为粉红色，最后变为灰褐色或黑色。分生孢子盘大多埋生于寄主气孔下，极小，淡褐色，无刚毛。分生孢子梗短棒形，无色或淡褐色，顶端膨大，其上聚生分生孢子。分生孢子单胞无色，棍棒形，两端微尖，不分隔，大小为 $17.5\ \mu\text{m}\sim 32.5\ \mu\text{m}\times 2.5\ \mu\text{m}\sim 5.0\ \mu\text{m}$ ，平均为 $3.51\ \mu\text{m}\times 25.28\ \mu\text{m}$ 。

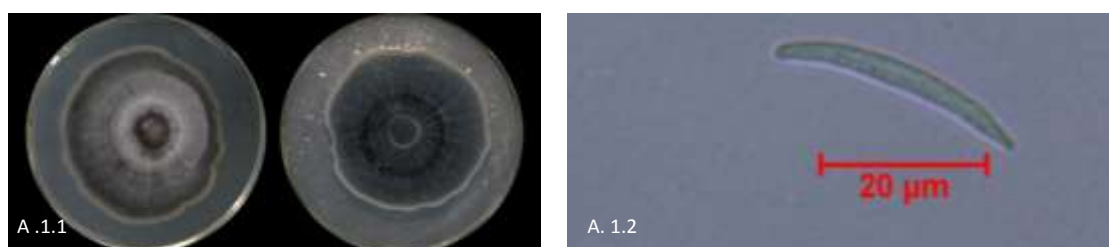


图 A.1 玉米北方炭疽病菌菌落 (A.1.1) 和分生孢子形态 (A.1.2)

A.2 分子鉴定

对玉蜀黍球梗孢脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic acid, DNA) 中的内转录间隔区 (Internal Transcribed Spacer, ITS) 和 26S 核糖体 DNA 进行 PCR 扩增，对扩增片段进行测序和比对，扩增引物为真菌的通用引物 (表 A.1)。

PCR 反应体系 (25 μL)：上下游引物 (10 μM) 各 1 μL ，模板 DNA (100ng/ μL) 1 μL ，2 \times *Taq* PCR mix 12.5 μL ，ddH₂O 9.5 μL 。

PCR 反应条件：95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5min，95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1min，55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30s，72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30s，30 个循环，72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10min。两个基因扩增的 PCR 体系和反应条件相同。

表A.1 真菌通用 PCR 引物及反应条件

基因	引物名称	序列 (5'-3')	PCR产物长度 (bp)
ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	557
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	
26S rDNA	NL1	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG	570
	NL4	GGTCCGTGTTTCAAGACGG	

附 录 B
(资料性)

玉米北方炭疽病抗性鉴定对照材料

B.1 抗病对照材料

齐319, 对玉米北方炭疽病表现稳定抗病 (Resistant, R), 由美国玉米杂交种78599经多代自交选育而成。

B.2 感病对照材料

掖478, 对玉米北方炭疽病表现稳定感病 (Susceptible, S), 由沈5003与U8112杂交后代选育而成。
