

# 玉米灰斑病菌致病性分化研究

王桂清<sup>1</sup>, 陈捷<sup>2</sup>

(1. 聊城大学 农学院, 山东 聊城 252059; 2. 上海交通大学 农业与生物学院, 上海 201101)

**摘要:** 从我国玉米品种资源中首次成功筛选出 9 个具有广泛血缘代表性的自交系, 即沈 137, 78599-1, Mo17, 478, C8605-2, E28, 598, Va35, K12, 作为玉米灰斑病菌的生理分化鉴别寄主; 8 个主栽品种, 即沈试 29, 沈试 31, 铁单 9, 掖单 13, 丹 413, 丹玉 18, 沈农 87, 东单 54, 作为辅助鉴别寄主, 从而确定了玉米灰斑病菌生理分化鉴别寄主体系。采用田间成株期鉴定, 高粱粒灌心法进行接种, 根据在鉴别寄主上的发病等级, 将采自北方玉米主产区的 23 个玉米灰斑病菌菌株划分成 5 个致病类型。研究表明, 我国玉米灰斑病菌存在一定程度的致病性分化, 通过病级评价可将 23 个玉米灰斑病菌菌株分成 5 个致病类型, 其中致病类型 I 为强致病类型, 致病类型 IV 为弱致病类型, II, III 组致病类型介于两者之间, 而致病类型 V 属于不确定类型。研究结果为我国玉米品种抗性鉴定、灰斑病流行监测和品种合理布局提供了理论依据。

**关键词:** 玉米灰斑病菌; 致病性分化; 鉴别寄主

中图分类号: S435.13 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2006)03-0100-05

## Pathogenic Differentiation of Gray Leaf Spot Pathogen in Maize

WANG Gui-qing<sup>1</sup>, CHEN Jie<sup>2</sup>

(1. College of Agronomy, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China;

2. School of Agriculture & Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201101, China)

**Abstract:** A set of maize inbreds or cultivars were firstly screened as GLS (*Cercospora zeae-maydis*) pathogen differential hosts with genetic background which current cultivars shared in China, such as inbreds Shen 137, 78599-1, Mo17, 748, C8605-2, E28, 598, Va35, K12 were identified as major ones, and cultivars Shenshi29, Shenshi31, Tiedan9, Yedan13, Dan413, Danyu18, Shennong87, Dongdan54 as affiliated ones. In term of disease rank on differential host, 23 GLS strains could be classified into 5 pathogenicity groups through identification at adult stage. The pathogen-grown sorghum grains were used for inoculation into plant whorl. Among pathogenicity types we detected, the pathogenicity type I appeared to be highest virulence to host plants, and pathogenicity type IV is weak one, pathogenicity types II, III were in middle place. The pathogenicity type V so far seemed to be difficult to be evaluated in pathogenicity. The result mentioned above provided a sound basis for breeding and identifying resistant cultivars, scientifically planting resistant cultivars in growing areas as well as monitoring of pathogen differentiation.

**Key words:** Gray leaf spot pathogen; Pathogenic differentiation; Differential host

20 世纪 90 年代以来, 玉米灰斑病发展蔓延迅速, 现已成为北方玉米产区的主要病害之一。国内外过去对该病害的研究主要集中在发生规律、防治方法、遗传学等方面<sup>[1~6]</sup>。而在玉米灰斑病菌 (*Cercospora zeae-maydis* Tehon & Daniels) 的致病力分化等方面国内外研究甚少, 尚未建立玉米灰斑病菌生理

分化的鉴别寄主系统, 无法明确我国是否存在玉米灰斑病菌致病性分化类群或生理小种及优势菌群和分布, 限制了有针对性进行品种合理布局和抗性育种工作, 因此研究玉米灰斑病菌致病性分化鉴别寄主体系是一项重要的基础性工作。玉米灰斑病菌的致病力分化研究, 不仅可以丰富该病害流行学的基

收稿日期: 2005-12-06

基金项目: 国家“十五”攻关项目 (2001BA509B05)

作者简介: 王桂清 (1968-), 女, 河北泊头人, 副教授, 博士, 主要从事植物保护的教学与科研工作; 陈捷为通讯作者。

础理论研究, 而且对指导玉米灰斑病的防治和抗病育种工作均具有重要的意义。本研究采用田间成株期鉴定技术, 对不同的玉米灰斑病菌菌株进行了致病力划分, 研究了其生理分化的鉴别寄主体系。

1 材料和方法

1.1 供试菌株的来源和培养

供试的玉米灰斑病菌菌株于 2000 年主要采自辽宁、吉林、黑龙江、河北等玉米产区的 10 多个市县。将病样进行常规的单病斑分离和单孢纯化培养, 并在玉米叶煎汁培养基上进行扩繁和保存备用。菌株编号、采集地点和来源寄主列于表 1。

表 1 供试菌株

Tab. 1 Isolates of *Cercospora zeae-maydis*

菌株 Isolates	used in this study	
	采集地点 Collection location	来源寄主 Source
20- 01	辽宁辽中	丹 413
20- 10	辽宁抚顺	特用玉米
20- 11	辽宁抚顺	铁单 4
20- 15	辽宁沈阳	沈试 30
20- 16	辽宁沈阳	登 3119
20- 17	辽宁沈阳	铁单 9
20- 18	辽宁沈阳	丹玉 16
20- 20	辽宁瓦房店	瓦试 18
20- 21	辽宁瓦房店	丹 3034
20- 26	辽宁丹东	辽源 1 号
20- 28	辽宁丹东	东单 60
20- 29	辽宁丹东	K162× K163
20- 33	吉林公主岭	吉单 209
20- 34	吉林公主岭	九单 48
20- 35	吉林公主岭	四单 28
20- 36	吉林公主岭	美甜九号
20- 40	河北张家口	冀丰 58
20- 42	黑龙江哈尔滨	黑 119
20- 43	黑龙江哈尔滨	龙丹 11
20- 46	黑龙江北安	黄莫
20- 47	辽宁绥中	沈试 29
20- 48	辽宁兴城	农大 368
20- 49	辽宁兴城	沈 9728

1.2 鉴别寄主筛选的供试自交系和品种

1998~ 2001 年课题组在辽宁省铁岭、丹东、瓦房店、凤城等地区对玉米灰斑病发生情况和玉米品种的抗感情况进行了普查。在此基础上又根据吴纪昌等和李哲等关于玉米品种和自交系对灰斑病的抗感性报道<sup>[7,8]</sup>, 同时在筛选自交系时还考虑了其所属类群, 在筛选品种时还注重了其种植的广泛程度, 挑选出以下寄主作为筛选所用材料。

自交系: Mo17, Va35, 478, C8605-2, K12, E28, 598, 丹 340, H21, 78599-1, 掖 107, 598, 鲁单 92, 沈 137。

品种及亲本: 沈试 29( 沈 137× Q126-1)、沈试 31( 沈 136× 旅 9 宽)、海试 19( 8001× 360)、铁单 9( 7922× 丹 340)、掖单 13( 478× 丹 340)、丹 413( 799× 丹 340)、丹玉 18( 1324× E28)、沈农 87( C8605-2× 丹 340)、东单 54( 757× 沈 137)、东试 110。

用于鉴别寄主的玉米自交系和品种, 播种在土质和肥力均匀、地势平整、环境一致的鉴定圃内, 鉴定圃分成若干小区, 重复 3 次, 随机排列。鉴定圃面积 155 m× 24 m, 划分成 35 个对区, 对区面积 4 m× 24 m, 每区共 24 垄, 垄的走向为东西向, 每垄 10 穴, 两边各留 2 垄保护行。

1.3 鉴定结果调查

采用田间成株期鉴定, 接种方法为高粱粒灌心。接种后每天观察叶片显症情况, 及时记录病斑出现的初始期、反应型种类和病斑症状特征, 调查在接种后 10 d 进行。病级共分 7 级, 即 0 级: 免疫(I), 全株叶片无病斑; 0.5 级: 高抗(HR), 全株叶片病斑占叶片面积的 5% 以下; 1 级: 抗病(R), 全株叶片病斑占叶片面积的 5% ~ 10%; 2 级: 中抗(MR), 全株叶片病斑占叶片面积的 10% ~ 25%; 3 级: 中感(MS), 全株叶片病斑占叶片面积的 25% ~ 50%; 4 级: 感病(S), 全株叶片病斑占叶片面积的 50% 以上; 5 级: 高感(HS), 全株叶片有大量病斑, 叶片多数枯死。

表 2 鉴别寄主和辅助鉴别寄主筛选(自交系)

Tab. 2 The screen of differential hosts and accessory differential hosts( Inbred line)

菌株 Isolates	自交系 Inbred line								
	K12	78599-1	C8605-2	598	沈 137 Shen137	478	Va35	Mo17	E28
20-01	2.0	1.0	1.0	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	3.0
20-10	3.0	0.5	3.0	3.0	1.0	2.0	3.0	1.0	3.0
20-11	2.0	1.0	2.0	2.0	1.0	2.0	2.0	1.0	2.0
20-15	3.0	2.0	2.0	1.0	0.5	4.0	1.0	0.5	3.0
20-16	4.0	1.0	3.0	3.0	1.0	4.0	3.0	1.0	4.0
20-17	2.0	0.5	1.0	1.0	1.0	2.0	0.5	1.0	3.0
20-18	1.0	0.5	1.0	1.0	0.5	1.0	0.5	0.5	3.0
20-20	2.0	1.0	2.0	2.0	0.5	2.0	2.0	2.0	1.0
20-21	2.0	0.5	1.0	0.5	0.5	2.0	1.0	0.5	4.0
20-26	2.0	0.5	1.0	1.0	1.0	2.0	1.0	1.0	2.0
20-28	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	1.0	1.0	1.0	2.0
20-29	3.0	1.0	0.5	3.0	0.5	3.0	3.0	0.5	3.0
20-33	4.0	0.5	3.0	3.0	0.5	3.0	3.0	1.0	3.0
20-34	1.0	2.0	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0	0.5	3.0
20-35	3.0	1.0	3.0	3.0	1.0	3.0	3.0	3.0	3.0
20-36	4.0	1.0	0.5	1.0	1.0	3.0	2.0	0.5	3.0
20-40	4.0	1.0	3.0	3.0	1.0	4.0	4.0	3.0	4.0
20-42	3.0	0.5	3.0	4.0	0.5	3.0	4.0	3.0	3.0
20-43	3.0	2.0	2.0	1.0	0.5	4.0	2.0	1.0	2.0
20-46	2.0	1.0	1.0	1.0	0.5	1.0	3.0	1.0	3.0
20-47	4.0	1.0	3.0	3.0	1.0	4.0	3.0	1.0	3.0
20-48	2.0	1.0	1.0	2.0	0.5	2.0	2.0	0.5	1.0
20-49	1.0	0.5	1.0	2.0	1.0	2.0	1.0	0.5	3.0

2 结果与分析

2.1 鉴别寄主的筛选

通过 2001, 2002 年 2 年的鉴别寄主的筛选试验(鉴定结果如表 2 和表 3), 确认自交系 Mo17, E28, 478, Va35, 598, C8605-2, 沈 137, K12, 78599-1 可以作

为鉴别寄主, 品种丹 413、沈农 87、掖单 13、丹玉 18、沈试 29、沈试 31、铁单 9 和东单 54 可以作为辅助鉴别寄主, 对来自全国主要玉米产区的玉米灰斑病菌具有良好的鉴别能力。病菌在自交系上的抗、感反应差异比在品种上明显且稳定, 这与自交系在遗传上的纯合性有关。

表 3 鉴别寄主和辅助鉴别寄主筛选(品种)

Tab. 3 The screen of differential hosts and accessory differential hosts( Cultivar)

菌株 Isolates	品 种 Cultivar							
	掖单 13 Yedan13	铁单 9 Tiedan9	沈 试 31 Shenshi31	东 单 54 Dongdan54	丹 413 Dan413	沈 试 29 Shenshi29	沈 农 87 Shennong87	丹玉 18 Danyu18
20-01	2.0	3.0	0.5	2.0	1.0	0.5	3.0	1.0
20-10	3.0	2.0	0.5	1.0	0.5	1.0	2.0	1.0
20-11	2.0	4.0	0.5	0.5	0.5	1.0	1.0	0.5
20-15	3.0	4.0	1.0	2.0	2.0	3.0	3.0	2.0
20-16	4.0	3.0	1.0	1.0	3.0	2.0	2.0	3.0
20-17	2.0	3.0	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0	0.5
20-18	3.0	4.0	0.5	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5
20-20	2.0	3.0	2.0	1.0	1.0	0.5	4.0	2.0
20-21	2.0	2.0	1.0	3.0	0.5	1.0	1.0	1.0
20-26	3.0	4.0	3.0	2.0	2.0	3.0	4.0	2.0
20-28	3.0	2.0	4.0	1.0	2.0	3.0	4.0	3.0
20-29	3.0	4.0	0.5	0.5	2.0	0.5	1.0	0.5
20-33	2.0	2.0	4.0	2.0	2.0	3.0	2.0	1.0
20-34	2.0	3.0	0.5	2.0	3.0	0.5	2.0	1.0
20-35	3.0	2.0	0.5	0.5	1.0	2.0	3.0	0.5
20-36	2.0	2.0	1.0	0.5	1.0	1.0	2.0	0.5
20-40	4.0	4.0	3.0	1.0	3.0	2.0	3.0	3.0
20-42	2.0	3.0	0.5	0.5	0.5	1.0	2.0	2.0
20-43	3.0	3.0	2.0	2.0	0.5	2.0	2.0	3.0
20-46	2.0	2.0	2.0	1.0	0.5	1.0	2.0	1.0
20-47	4.0	3.0	3.0	0.5	0.5	2.0	3.0	3.0
20-48	2.0	3.0	3.0	2.0	1.0	2.0	4.0	1.0
20-49	3.0	2.0	1.0	2.0	2.0	1.0	4.0	2.0

2.2 病菌的生理分化分析

研究表明, 我国玉米灰斑病菌在致病力水平上存在较明显的生理分化现象。

2.2.1 病菌在鉴别寄主上致病类型的划分 使用筛选的 9 个鉴别寄主, 可将 23 个菌株初步分成 6 个致病类型(表 4)。

致病类型 I 属于强致病类型(A 组)。其菌株 20-35, 20-40, 20-42 对除沈 137, 78599-1 以外的所有其他鉴别寄主都表现感病或高感反应型。因此, 沈 137, 78599-1 自交系中可能含有抗 20-35, 20-40, 20-42 的主效基因, 基本属于非亲和性互作的类型。而和其他鉴别寄主互作则属于亲和性互作, 具有一定的致病专化性, 但主要是其致病性强。

致病类型 II 属于强致病类型(B 组)。其菌株 20-10, 20-16, 20-33, 20-47 对除沈 137, 78599-1、Mo17 以外的所有其他鉴别寄主都表现感病或高感反应型。因此, Mo17 自交系中含有抗 20-10, 20-16, 20-33, 20-47 的主效基因, 基本属于非亲和性互作的类

型。与 A 组菌株相比较可能又缺少一个针对 Mo17 致病性基因。

致病类型 II 属于中等致病类型(C 组)。包括 1 个供试菌株 20-29。它能使 478, E28, 598, Va35, K12 产生典型感病反应, 而在鉴别寄主沈 137, 78599-1, Mo17, C8605-2 上产生抗病反应。

致病类型 IV 属于中等致病类型(D 组)。其菌株 20-15, 20-36, 20-43 在鉴别寄主 478, E28, K12 上表现亲和或基本亲和性互作, 产生典型的感病型病斑; 而在沈 137, Va35, Mo17, 78599-1, 598, C8605-2 上则表现非亲和性反应, 产生抗病性反应。

致病类型 V 属于弱致病类型(E 组)。它包括菌株 20-01, 20-17, 20-18, 20-21, 20-34, 20-46, 20-49, 能使 E28 产生较强的感病反应, 而在其他鉴别寄主上产生抗病反应。

致病类型 VI 属于弱致病类型(F 组)。它包括菌株 20-11, 20-20, 20-26, 20-28, 20-48, 对所有鉴别寄主的致病性均不强。

2.2.2 病菌在鉴别寄主和辅助鉴别寄主上致病类型的综合划分 从表 2 和表 3 中可以看出, 玉米灰斑病菌不同菌株不仅对鉴别寄主( 自交系) 的致病力不同, 而且对主栽品种( 辅助鉴别寄主) 的致病力也不同。生产上种植的主要是玉米品种而不是自交系, 若只根据自交系对玉米灰斑病菌进行致病类型划分, 其结果则在生产实践中会受到限制。因此有必要将玉米灰斑病菌根据鉴别寄主和辅助鉴别寄主进行致病类型的综合划分。

根据在品种中感病反应型( 病级为 3 级或 4 级) 的品种数, 再结合鉴别寄主的划分结果, 可以将 23 个玉米灰斑病菌菌株划分为 5 种致病类型。

致病类型 I 属于强致病类型( A 组)。包括菌株 20-40 和 20-47, 其在 8 个辅助鉴别寄主中感病反应型的品种数超过或等于 5 个( 63% ), 并在鉴别寄主的划分结果中属于强致病类型。

致病类型 II 属于中强致病类型( B 组)。包括菌

株 20-15, 20-16 和 20-43, 其在 8 个辅助鉴别寄主中感病反应型的品种数超过或等于 3 个( 37% ), 并在鉴别寄主的划分结果中属于强或中等致病类型。

致病类型 II 属于中弱致病类型( C 组)。包括菌株 20-29 和 20-33, 其在 8 个辅助鉴别寄主中感病反应型的品种数大于或等于 2 个( 25% ), 并在鉴别寄主的划分结果中属于强或中等致病类型。

致病类型 IV 属于弱致病类型( D 组)。包括菌株 20-01, 20-11, 20-17, 20-18, 20-20, 20-21, 20-34, 20-46 和 20-49, 其在 8 个辅助鉴别寄主中感病反应型的品种数少于或等于 2 个( 25% ), 并在鉴别寄主的划分结果中属于弱致病类型。

致病类型 V 属于不确定致病类型( E 组)。包括菌株 20-10, 20-26, 20-28, 20-35, 20-36, 20-42 和 20-48, 其不符合以上 4 种情况, 即自交系上的反应与品种上的反应不一致。

表 4 病菌在鉴别寄主上反应型测定结果

Tab 4 The reaction type identified on differential host

菌株 Isolates	沈 137 Shen137	78599-1	Mo17	C8605-2	Va35	598	478	K12	E28
20-11	R	R	R	MR	MR	MR	MR	MR	MR
20-20	HR	R	MR	MR	MR	MR	MR	MR	R
20-48	HR	R	HR	R	MR	MR	MR	MR	MR
20-26	R	HR	R	R	R	R	MR	MR	MR
20-28	HR	R	R	R	R	R	R	R	MR
20-01	HR	R	R	R	HR	R	R	MR	MS
20-17	R	HR	R	R	HR	R	MR	MR	MS
20-18	HR	HR	HR	R	HR	R	R	R	MS
20-21	HR	HR	HR	R	R	HR	MR	MR	S
20-34	R	MR	HR	HR	R	R	R	R	MS
20-46	HR	R	R	R	MR	R	R	MR	MS
20-49	R	HR	HR	R	R	MR	MR	R	MS
20-15	HR	MR	HR	MR	R	R	S	MS	MS
20-36	R	R	HR	HR	MR	R	MS	S	MS
20-43	HR	MR	R	MR	MR	R	S	MS	MR
20-29	HR	R	HR	HR	MS	MS	MS	MS	MS
20-10	R	HR	R	MS	MS	MS	MR	MS	MS
20-16	R	R	R	MS	MS	MS	S	S	S
20-33	HR	HR	R	MS	MS	MS	MS	S	MS
20-47	R	R	R	MS	MS	MS	S	S	MS
20-35	R	R	MS	MS	MS	MS	MS	MS	MS
20-40	R	R	MS	MS	S	MS	S	S	S
20-42	HR	HR	MS	MS	S	S	MS	MS	MS

3 结论与讨论

3.1 我国玉米灰斑病菌存在一定程度的致病性分化

研究表明, 我国玉米灰斑病菌存在一定程度的致病性分化, 通过 9 个鉴别寄主和 8 个辅助鉴别寄

主, 可将采自国内大部分玉米主产区的 23 个玉米灰斑病菌菌株划分成 5 个致病类型, 其中致病类型 I 为强致病类型, 在鉴别所用的自交系或品种中感病反应型( 病级为 3 级或 4 级) 的频率超过 60%; 致病类型 IV 为弱致病类型, 在鉴别所用的自交系或品种中感病反应型( 病级为 3 级或 4 级) 的频率小于

25% ; II, III 二组致病类型介于两者之间; 而致病类型 V 属于不确定类型, 即自交系上的反应与品种上的反应不一致。研究中发现, 灰斑病与大斑病和弯孢菌叶斑病明显不同, 后 2 种病害在鉴别寄主上的抗病或感病反应有较特异性反应型, 可识别性强, 而灰斑病的抗病与感病反应之间很难单独用病斑反应型区分, 而只有病级上的区别, 并且依靠各病级及其在不同鉴别寄主上出现的频率, 结合其他性状, 才能较准确的判断出致病类型的种类。即这种致病性分化主要反映在病斑数量上的变化或某些病级出现频率的差异, 而非单一病斑反应型的差异。因此这种致病性分化的程度可能低于典型质量性状遗传控制的病害。同时还发现, 各种致病类型在地理分布规律上不明显, 可能与全国玉米品种遗传背景趋同有关。通过扩大菌株数量和采集的区域, 增加遗传上含有不同抗病基因鉴别寄主的数量, 有可能鉴定出更多的致病分化类型。

### 3.2 建立了玉米灰斑病菌生理分化鉴别寄主体系

本研究建立了玉米灰斑病菌生理分化鉴别寄主体系。为了提高灰斑病菌致病性分化鉴定的准确性, 本研究除采用自交系作为鉴别寄主外, 还采用骨干品种作为辅助鉴别寄主。9 个自交系和 8 个品种对玉米灰斑病菌生理分化具有较高的鉴别作用, 可以分别作为构建病菌生理分化鉴别寄主和辅助鉴别寄主。由于本研究的鉴别寄主均为我国玉米生产中的骨干自交系, 与目前主栽的品种有着密切的血缘关系, 因此所鉴定出的致病分化类型可以反映出主

栽品种定向选择引起的病菌生理分化的规律, 同时还助于评价和推测正在推广及拟推广使用的杂交品种的抗病性。以自交系为主体的鉴别系统避免了单纯使用品种鉴定的弊端(如周期性短、抗性遗传背景复杂、代表性差等)。由于初步选用的具有鉴别能力的自交系抗病遗传还达不到近等基因系水平, 所以测定结果还不能认为是真正意义上的玉米灰斑病菌生理小种, 因此应加强对生理分化鉴别寄主与病菌互作的遗传规律研究。

### 参考文献:

- [1] 吴纪昌, 白金凯. 玉米上一种新病害——尾孢菌叶斑病大发生[J]. 玉米科学, 1992, (C12): 67–68
- [2] 王桂清, 高增贵, 吕国忠, 等. 环境条件对玉米灰斑病菌的影响[J]. 辽宁农业科学, 2004, (6): 17–20
- [3] 高增贵, 付波. 玉米灰斑病发生和流行规律及其发病条件的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(5): 460–464
- [4] 王桂清, 高增贵, 唐树戈, 等. 玉米灰斑病菌的遗传多样性研究[J]. 植物病理学报, 2005, 35(2): 187–189
- [5] Bubeck D M. Quantitative trait loci controlling resistance to gray leaf spot in maize[J]. Crop Science, 1993, 33(4): 838–847
- [6] Couatest S T. Sources of resistance to gray leaf spot of corn[J]. Plant Disease, 1994, 78: 1153–1155
- [7] 吴纪昌, 马丽君. 玉米抗尾孢菌叶斑病鉴定与抗病材料利用[J]. 辽宁农业科学, 1997, 5: 25–28
- [8] 李哲, 秦友权. 辽宁省玉米杂交种遗传基础分析与评价[J]. 辽宁农业科学, 1997, 5: 39–43