

甘蔗品种(品系)对黑穗病的抗性鉴定与评价

沈万宽¹ 杨湛端² 刘福业²

1. 华南农业大学农学院/农业部华南地区作物栽培科学观察实验站, 广州 510642;

2. 广州甘蔗糖业研究所/广东省甘蔗改良与生物炼制重点实验室, 广州 510316

摘要 为探明甘蔗品种(品系)对黑穗病的抗性水平,以采自广东省甘蔗主产区的甘蔗黑穗病菌混合冬孢子作为接种源,采用浸渍接种与自然感染相结合的方法,对34个甘蔗品种(品系)进行新植黑穗病抗性鉴定。鉴定结果表明:抗性水平为高抗(HR)的品种(品系)有00-319、01-121、00-256、01-125、01-79,占供试品种的14.7%;抗性水平为抗(R)的品种(品系)有01-120、粤糖03-233、CP93-1634,占8.8%;抗性水平为中抗(MR)的品种(品系)有粤糖96-86、99-57,占5.9%;抗性水平为中感(MS)的品种(品系)有01-246、粤糖95-168、01-160、粤糖91-1102、01-244、粤糖00-318、CP89-2143、CP94-1100,占23.5%;抗性水平为感病(S)的品种(品系)有98-73、粤糖99-66、粤糖91-976、ROC22、NCo376、ROC20、粤糖03-393,占20.6%;抗性水平为高感(HS)的品种(品系)有ROC10、97-639、粤农83-88、F134、粤糖03-373、粤糖02-205、粤糖02-373、粤糖04-232、NCo310,占26.5%。

关键词 甘蔗; 黑穗病; 品种; 抗性

中图分类号 S 432.2⁺¹; S 566.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2014)05-0040-05

甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)是重要的糖料作物和有发展潜力的可再生能源作物。中国现已发展成为仅次于巴西、印度的世界第三大甘蔗糖生产大国,每年甘蔗种植面积超过130万hm²,甘蔗糖年产量约1300万吨,占中国年食糖总产量的90%以上^[1]。

甘蔗黑穗病(sugarcane smut disease)又称甘蔗鞭黑穗病、甘蔗黑粉病和甘蔗灰包病,是一种气传真菌病害,由甘蔗鞭黑粉菌(*Ustilago scitaminea* Sydow)引起,该病原菌隶属担子菌亚门黑粉菌目黑粉菌科的黑粉菌属^[2-3]。自1877年在南非纳塔尔首先报道甘蔗黑穗病以来,该病害现已成为世界范围内广泛流行的重要甘蔗病害^[4-6]。甘蔗黑穗病也是中国蔗区最严重的甘蔗病害,目前的甘蔗主栽品种均能普遍感染黑穗病,且田间发病率较高,经济损失十分严重^[7-11]。

抗病育种是防治甘蔗黑穗病最经济最有效的措施,世界主要甘蔗糖业生产大国(美国、巴西、印度、古巴、澳大利亚、中国等)都将甘蔗对黑穗病的抗性作为品种选育的一个主要指标^[2,12]。沈万宽等^[11]采用人工浸渍接种法,对近年从澳大利亚引进的甘

蔗品种进行黑穗病抗性鉴定,从中筛选出Q200B、Q190、Q171等抗性水平为抗病的品种;王维赞等^[12]采用人工浸渍接种与自然感染相结合的方法,对从国内外引进的14个甘蔗品种进行黑穗病抗性鉴定,筛选出台糖88/99和台糖89/1626两个高抗黑穗病品种。笔者采用人工浸渍接种与田间自然感染相结合的方法,对34个甘蔗品种(品系)进行黑穗病抗性鉴定与评价,旨在为甘蔗新品种选育和推广应用以及亲本评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试品种(品系)

供试甘蔗品种(品系):98-73、00-319、01-121、01-120、00-256、01-246、粤糖95-168、01-160、粤糖96-86、粤糖03-233、粤糖91-1102、01-125、01-244、粤糖00-318、99-57、01-79、粤糖99-66、粤糖91-976、ROC22、CP93-1634、CP89-2143、CP94-1100、ROC10、97-639、粤农83-88、ROC20、粤糖03-373、粤糖03-393、粤糖02-305、粤糖02-373、粤糖04-232、NCo310、NCo376、F134等34个,均来自广州甘蔗糖业研究所保育基地。

收稿日期:2013-11-23

基金项目:国家甘蔗产业技术体系建设专项(CARS-20-1-4)、广东省科技攻关项目(2010B020302001)和华南农业大学高层次人才引进启动基金项目(K13009)

沈万宽,博士,研究员。研究方向:甘蔗抗病育种与栽培生理。E-mail:wkshen69@126.com

1.2 病菌冬孢子的采集与保存

于试验当年(2004—2012年)的5月中下旬,分别从广东省甘蔗主要产区遂溪、雷州、徐闻、翁源等地的ROC22、ROC16、ROC25及粤糖89-113等主栽品种上采集新鲜黑穗病鞭子(冬孢子),于室温自然风干4~5d,用毛笔轻轻刮下各鞭子上的冬孢子,并将冬孢子充分混匀后分装于小滤纸袋中(每袋10g),保存于4℃冰箱中备用。

1.3 病菌活性的检测

取微量待测的甘蔗黑穗病菌混合冬孢子,用无菌水混匀,经YEPS培养基平板培养2~3d(28℃)后检测冬孢子的菌丝生长状况;另取微量混合冬孢子,经1%水琼脂培养(含50μg/mL氨基青霉素)后镜检冬孢子的萌芽率。

1.4 接种、种植与发病调查

1)接种。采用浸种法进行人工接种。用检验合格的冬孢子配制 5×10^6 个/mL的孢子悬浮液(2g干燥冬孢子兑水1L),将种芽(每品种60个新鲜单芽)置于孢子悬浮液中浸泡30min,取出放入塑料袋内封口,经过保湿催芽24h后种植。

2)种植。接种材料种植于广州甘蔗糖业研究所试验基地h或华南农业大学广州增城教学科研基地,小区单行(行长3m)、不完全随机区组排列、重复3次,每行(区)种植20个接种单芽,植后覆盖薄土,其余田间管理按常规大田生产操作。

3)调查。种植后发现黑穗病株时进行第一次调查(约植后30~40d),以后每隔7d调查1次,连续调查6个月后终止。每次调查发现病株时,记载后将其连根拔除,以免重复记载发病株数。在调查终期,合计发病株数及总株数,计算其株发病率。

1.5 田间自然感染黑穗病发生率调查

在田间甘蔗黑穗病发病高峰期(5—6月),选取代表性的田块,连续调查50株甘蔗植株的黑穗病发生株数(含早期症状),计算各品种的病株发生率。

1.6 甘蔗黑穗病抗性分级标准

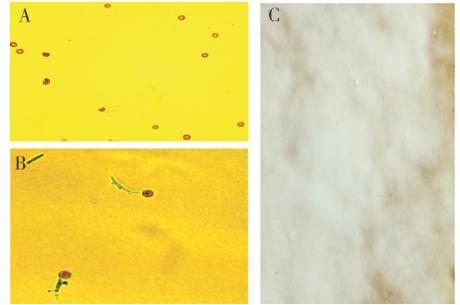
采用1~9级分级标准进行抗性分级,按照国家甘蔗育种“九五”攻关指标,以每丛发病株率评价供试品种的抗病性^[12]。

2 结果与分析

2.1 甘蔗黑穗病菌冬孢子的活性检测

在显微镜下观察采集的甘蔗黑穗病菌冬孢子,可见近圆形、棕褐色厚垣孢子(图1-A);厚垣孢子

为休眠孢子,在YEPS培养基或1%琼脂糖上均可萌芽(图1-B),产生具有致病力的白色羊毛状双核菌丝体(图1-C)。检测结果显示冬孢子的萌芽率超过90%,表明用于接种的甘蔗黑穗病菌冬孢子活性较好,达到接种要求。



A: 甘蔗黑穗病菌冬孢子(200×) Teliospores of sugarcane smut (200×); B: 甘蔗黑穗病菌冬孢子萌芽(200×) Teliospore germination of sugarcane smut (200×); C: 甘蔗黑穗病菌冬孢子萌芽后形成的“羊毛状”双核菌丝“Fuzz-like” dikaryon hyphae derived from teliospore germination of *Ustilago scitaminea* Sydow.

图1 甘蔗黑穗病菌冬孢子活性检测

Fig. 1 Viability determination for teliospores of *Ustilago scitaminea* Sydow

2.2 甘蔗黑穗病发病潜伏期及株发病率

从病原菌侵入至出现病害症状的这段时间称为病害发病潜伏期。病害发病潜伏期是评价寄主对入侵病原菌防御能力的一个指标。由表1可知,所有供试甘蔗品种(品系)的黑穗病发病潜伏期为28~140d。发病潜伏期小于60d的有5个甘蔗品种(品系),占供试品种的12.8%;发病潜伏期60~100d的有19个甘蔗品种(品系),占48.7%;发病潜伏期101~140d的有10个甘蔗品种(品系),占25.6%。这表明人工接种后大都数甘蔗品种或品系的黑穗病发病潜伏期为60~100d。从表1还可以看出,供试甘蔗品种(品系)的黑穗病株发病率介于0~88.4%,黑穗病发病潜伏期较长的甘蔗品种(品系),其黑穗病株发病率相对较低;反之,潜伏期较短的甘蔗品种(品系),其黑穗病株发病率相对较高。

2.3 甘蔗黑穗病抗性鉴定结果

根据表1甘蔗黑穗病抗性鉴定结果,抗性水平为高抗(HR)的品系有00-319、01-121、00-256、01-125、01-79,占供试品种的14.7%;抗性水平为抗(R)的品种(品系)有01-120、粤糖03-233、CP93-1634,占供试品种的8.8%;抗性水平为中抗(MR)

的品种(品系)有粤糖 96-86、99-57, 占供试品种的 5.9%; 抗性水平为中感(MS)的品种(品系)有 01-246、粤糖 95-168、01-160、粤糖 91-1102、01-244、粤糖 00-318、CP89-2143、CP94-1100, 占供试品种的 23.5%; 抗性水平为感病(S)的品种(品系)有 98-73、粤糖 99-66、粤糖 91-976、ROC22、NCo376、ROC20、粤糖 03-393, 占供试品种的 20.6%; 抗性水平为高感(HS)的品种(品系)有 ROC10、97-639、粤农 83-88、F134、粤糖 03-373、粤糖 02-205、粤糖 02-373、粤糖 04-232、NCo310,

占供试品种的 26.5%。

2.4 甘蔗黑穗病田间的自然发病率

由表 1 可知, 在田间黑穗病菌的自然感染条件下, 供试甘蔗品种(品系)的黑穗病发生率均较人工接种胁迫下黑穗病发生率明显降低。在田间自然感染条件下, 供试品种(品系)的黑穗病株发生率介于 0~28%。大部分供试品种(品系)的田间黑穗病自然感染发病率低于 10%, 甚至不发病。田间自然感染条件下黑穗病发生率较高的品种有 ROC22、粤糖 99-66 和粤糖 91-976。

表 1 甘蔗品种(品系)对黑穗病的抗性鉴定结果

Table 1 Smut resistance identification results of sugarcane varieties or clones

品种(品系) Varieties or clones	潜伏期/d Latent period	发病率/% Disease incidence	抗性级别 Resistance grade	抗性类型 Resistance types	自然发病率/% Disease incidence in nature	鉴定年份 Identification year
98-73	28	50	7	感病 S	0	2004
00-319	/	0	1	高抗 HR	0	2004
01-121	/	0	1	高抗 HR	0	2004
01-120	59	7	3	抗病 R	0	2004
00-256	/	0	1	高抗 HR	0	2004
01-246	80	21	5	中感 MS	0	2004
粤糖 95-168 YT95-168	122	15	5	中感 MS	2	2004
01-160	122	23	5	中感 MS	0	2004
粤糖 96-86 YT96-86	140	12	4	中抗 MR	4	2006
粤糖 03-233 YT03-233	91	7	3	抗病 R	0	2006
粤糖 91-1102 YT91-1102	97	19	5	中感 MS	4	2006
01-125	/	0	1	高抗 HR	0	2006
01-244	118	18	5	中感 MS	0	2006
粤糖 00-318 YT00-318	112	20	5	中感 MS	2	2006
99-57	96	10	4	中抗 MR	0	2006
01-79	/	0	1	高抗 HR	0	2006
粤糖 99-66 YT99-66	83	50	7	感病 S	16	2006
粤糖 91-976 YT91-976	132	31	6	感病 S	12	2006
ROC22	83	40	7	感病 S	28	2008
CP93-1634	107	6	2	抗病 R	0	2008
CP89-2143	102	19	5	中感 MS	0	2008
CP94-1100	124	13	5	中感 MS	0	2008
ROC10	70	63	8	高感 HS	4	2008
97-639	65	80	9	高感 HS	8	2008
粤农 83-88 YN83-88	100	67	8	高感 HS	10	2008
NCo310	70	83	9	高感 HS	8	2008
F134	73	80	9	高感 HS	8	2008
NCo376	100	50	7	感病 S	2	2008
ROC20	102	31	6	感病 S	4	2008
ROC22	78	39	7	感病 S	24	2012
粤糖 03-373 YT03-373	61	72	8	高感 HS	4	2012
粤糖 03-393 YT03-393	74	37	7	感病 S	2	2012
粤糖 02-305 YT02-305	56	80	9	高感 HS	4	2012
粤糖 02-373 YT02-373	50	88	9	高感 HS	4	2012
粤糖 04-232 YT04-232	42	86	9	高感 HS	2	2012
NCo310	75	52	8	高感 HS	6	2012
F134	60	66	8	高感 HS	10	2012
NCo376	60	43	7	感病 S	4	2012
ROC20	78	48	7	感病 S	6	2012

3 讨论

本试验中,34个参试品种(品系)对黑穗病抗性达中抗(MR)或以上抗性水平的占29.4%,抗性水平为中感(MS)或以下的占70.6%,反应出参试品种或品系对黑穗病的抗性水平普遍不高。20世纪80年代后期,中国大陆开展甘蔗抗黑穗病育种,在甘蔗抗黑穗病鉴定技术^[13]、抗性评价体系^[14]、抗性机制^[15-18]及抗源筛选^[19-20]等方面做了许多研究,取得了一定成效,先后育成了粤糖85-177、粤糖83-271等高抗甘蔗黑穗病品种,以及引进了高抗黑穗病品种ROC10,并进行了推广应用,对甘蔗黑穗病的发生与流行起到较好的抑制作用^[2]。近年来,由于甘蔗黑穗病生理小种的变化,使原有抗病品种抗性丧失,并沦为感病品种,如原高抗黑穗病品种ROC10,在本试验中对黑穗病的抗性为高感。另外,有些感病品种还发展成为绝对主栽培品种,如感病品种ROC22种植面积占总面积的60%以上,导致中国大陆蔗区甘蔗黑穗病发生严重,经济损失重大。因此,加强中国大陆蔗区甘蔗黑穗病菌生理小种鉴定,明确蔗区甘蔗黑穗病菌生理小种类型、优势生理小种及其动态分布,针对优势生理小种进行抗源筛选、杂交组合配制及新抗病品种(品系)选育与推广应用,是扭转当前蔗区甘蔗黑穗病严重发生被动局面的关键措施^[2]。

本试验采用人工浸渍接种与田间自然感染相结合的方法,评价供试品种(品系)对甘蔗黑穗病的抗性水平。一些人工接种高感品种(品系),田间自然感染黑穗病发生率并不高,如粤糖03-393、粤糖04-232、粤糖03-337、粤糖02-305等的人工接种鉴定为高感黑穗病,但其田间自然感染黑穗病发生率依次为2%、2%、4%、4%,按照抗性分级标准均为高抗或抗病品种,主要原因是这些品种均为近年新育成品种,其种植造次较少,甘蔗黑穗病菌在种茎中尚未能大量积累;相反人工接种鉴定为感病的品种,如ROC22、粤糖91-976等,其田间自然感染黑穗病发生率相对较高,分别为28%和16%,主要原因是这些品种育成时间较长,种植造次较多,尤其是ROC22连续作为主栽品种种植10多年之久,黑穗病菌在种茎中大量积累,导致其田间自然条件下黑穗病发生率高且危害严重。这与王维赞等^[12]的研究结果基本一致。

本试验供试品种NCo310、NCo376、F134是中

国台湾地区甘蔗黑粉菌生理小种的鉴别寄主,其中NCo310感小种1、抗小种2、F134感小种2、抗小种1、NCo376对小种1及小种2免疫^[21-22]。中国大陆蔗区由台湾引进甘蔗品种较多且历史较长,从20世纪70至80年代主栽品种F134到目前主栽品种ROC22、ROC16等均为从台湾引进,可以推断中国大陆蔗区甘蔗黑粉菌生理小种应该与中国台湾差不多。本试验中鉴别寄主NCo376(对小种1及小种2免疫)2008年和2012年人工接种黑穗病的发生率分别为50%和43%,说明由于接种源混合冬孢子存在新的生理小种(或致病力变异菌株),导致原免疫品种NCo376变成感病品种。由此可以推断出广东省蔗区已存在新的甘蔗黑穗病菌生理小种。这与沈万宽等^[11]和陈健文等^[23]的研究结果基本一致。

本试验中,ROC22、ROC20、F134、NCo310及NCo376都参加了2008年和2012年2年的抗性鉴定,虽然同一品种2年的人工接种黑穗病发生率不同,但其抗性鉴定类型一致,反应出传统的甘蔗黑穗病人工浸渍接种鉴定结果具有较好的重演率。这种鉴定方法能够充分保留鉴定品种对黑穗病菌的形态学抗性和生理生化抗性,鉴定结果比较合理、可靠^[14]。当然,甘蔗品种对黑穗病的抗性水平是由寄主、病原菌及环境等因素决定的,环境可以影响黑穗病菌的萌芽、菌丝生长等,并影响黑穗病菌的致病力,从而影响甘蔗品种对黑穗病的抗性水平。为了克服不同接种年份、不同接种地点等环境因素对甘蔗品种抗性水平的影响,建议在供试品种中加入一套已知抗性的不同抗性水平的标准品种作为对照。

参 考 文 献

- [1] CHEN R K, YUAN Z N. Sugarcane production and research in China [J]. *International Sugar Journal*, 2010, 112: 452-457.
- [2] 沈万宽, 姜子德, 邓海华, 等. 甘蔗黑穗病及其病原菌研究进展 [J]. *热带作物学报*, 2013, 34(10): 2063-2068.
- [3] VANKY K. The new classificatory system for smut fungi and two new genera [J]. *Mycotaxon*, 1999, 91: 35-49.
- [4] MCMARTIN A. Sugarcane smut: reappearance in Natal [J]. *Southern Afr Sugar J*, 1945, 29: 55-57.
- [5] 沈万宽, 姜子德, 杨湛端, 等. 甘蔗抗黑穗病的鉴定新方法及其品种抗性评价 [J]. *华中农业大学学报*, 2014, 33(2): 51-56.
- [6] SINGH N, SOMAI B M, PILLAY D. Smut disease assessment by PCR and microscopy in inoculated tissue cultured sugarcane cultivars [J]. *Plant Science*, 2004, 167: 987-994.
- [7] 李杨瑞, 杨丽涛. 20世纪90年代以来我国甘蔗产业和科技的新发展 [J]. *西南农业学报*, 2009, 22(5): 1469-1476.

- [8] 吴伟怀,李锐,贺春萍,等.海南岛甘蔗病害初步调查[J].热带作物学报,2007,28(4):112-116.
- [9] 王伯辉.我国甘蔗病害的发生现状与研究进展[J].中国糖料,2007(3):48-51.
- [10] 熊国如,李增平,赵婷婷,等.海南蔗区甘蔗病害种类及发生情况[J].热带作物学报,2010,31(9):1588-1594.
- [11] 沈万宽,邓海华.引进甘蔗品种黑穗病抗性鉴定及结果分析[J].中国农学通报,2011,27(19):234-238.
- [12] 王维赞,何红,朱秋珍,等.引进甘蔗新品种对黑穗病抗性的鉴定[J].中国农学通报,2010,26(15):285-288.
- [13] 王建南,薛其清,陈如凯,等.甘蔗抗黑穗病育种技术的研究 I. 品种抗病性鉴定技术的研究[J].甘蔗,1994,1(3):1-7.
- [14] 阙友雄,许莉萍,林剑伟,等.甘蔗品种黑穗病抗性评价体系的建立[J].植物遗传资源学报,2006,7(1):18-23.
- [15] 许莉萍,陈如凯.甘蔗黑穗病及其抗病育种的现状与展望[J].福建农业学报,2000,15(2):26-31.
- [16] 龚得明,林彦铨,陈如凯.甘蔗抗黑穗病育种技术的研究 III. 甘蔗芽若干特性与抗黑穗病的关系[J].作物学报,1996,22(3):362-364.
- [17] 林彦铨,陈如凯,龚得明.甘蔗抗黑穗病的数量遗传分析[J].福建农业大学学报,1996,25(3):271-275.
- [18] 王建南,陈如凯,薛其清.从配合力分析探讨甘蔗家系抗黑穗病的育种潜力[J].植物保护学报,1996,23(3):241-246.
- [19] 夏红明,陈学宽,范源洪,等.甘蔗优异育种材料的抗黑穗病鉴定[J].甘蔗,2003,10(3):5-7.
- [20] 杨李和.云南割手密、斑茅种、滇蔗茅种后代黑穗病抗性研究初报[J].甘蔗,2004,11(1):10-14.
- [21] HISIEH W H, LEE C S. Compatibility and pathogenicity of two races of *Ustilago scitaminea* Sydow in Taiwan [J]. Taim-an Sugar, 1978, 25:46-48.
- [22] LEU L S, TENG W S. Pathogenic strains of *Ustilago scitaminea* Sydow [J]. Sugarcane Pathology News, 1972(8):12-13.
- [23] 陈健文,沈万宽,杨湛端,等.正负交配型孢子接种法鉴定重要甘蔗品种(系)对黑穗病的抗性[J].甘蔗糖业,2013(1):23-26.

Identification and evaluation of some sugarcane varieties or clones for smut resistance

SHEN Wan-kuan¹ YANG Zhan-duan² LIU Fu-ye²

1. College of Agronomy, South China Agricultural University/
Scientific Observing and Experimental Station of Crop Cultivation in South China,
Ministry of Agriculture, Guangzhou 510642, China;

2. Guangzhou Sugarcane Industry Research Institute/Guangdong Key Laboratory of
Sugarcane Improvement and Biorefinery, Guangzhou 510316, China

Abstract In order to prompt smut resistance levels of sugarcane varieties or clones, using mixed spores of *Ustilago scitaminea* Sydow collected in main sugarcane-producing areas in Guangdong Province as a inoculum. Adopt the method of combination of dipping inoculation with natural infection, smut resistance identification has been carried out to 34 sugarcane varieties or clones through new plant field experiments. The evaluation results showed that 00-319, 01-121, 00-256, 01-125 and 01-79 were highly resistant to smut (HR), accounting for 14.7%; 01-120, YT03-233 and CP93-1634 were of the resistance (R), accounting for 8.8%; YT96-86 and 99-57 were of the middle resistance (MR), accounting for 5.9%; 01-246, YT95-168, 01-160, YT91-1102, 01-244, YT00-318, CP89-2143 and CP94-1100 were of the middle sensitivity to smut (MS), accounting for 23.5%; 98-73, YT99-66, YT91-976, ROC22, NCo376, ROC20 and YT03-393 were sensitive to smut (S), accounting for 20.6%; ROC10, 97-639, YN83-88, F134, YT03-373, YT02-205, YT02-373, YT04-232 and NCo310 were highly sensitive to smut (HS), accounting for 26.5%.

Key words sugarcane; smut disease; varieties; resistance