

昆明地区玉米灰斑病病斑的扩展规律*

卢灿华 吴景芝 马荣 何月秋**

云南农业大学农学与生物技术学院/农业生物多样性应用技术国家工程研究中心, 昆明 650201

摘要 在田间条件下采用喷雾法接种, 观测昆明地区玉米灰斑病不同叶层和部位病斑面积与数量, 分析其与接种天数和温湿度持续时间关系。结果表明: 玉米灰斑病病斑扩展与温度在 20~30 °C 的时间累计值、10 °C 以上的有效积温、接种天数、相对湿度 90% 以上的时间积累值和品种抗性等均极显著相关 ($P < 0.01$); 抗病品种病斑小而少、产孢少, 感病品种则相反; 病害主要发生在穗位及以下叶片, 病斑主要分布在叶片的中上部, 并以纵向扩展为主, 横向扩展不明显。

关键词 玉米灰斑病; 病斑; 扩展

中图分类号 S 435.131.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)04-0431-05

玉米灰斑病 (maize gray leaf spot disease) 又称尾孢叶斑病, 由玉蜀黍尾孢菌 (*Cercospora zeae-maydis* Tehon & Daniels) 侵染引起。该病 1925 年在美国发现, 随后在非洲、北美洲、中美洲、南美洲以及亚洲等地流行^[1-4]。1991 年在中国辽宁省部分地区发生玉米灰斑病, 并传播至黑龙江、吉林、河北、山东、山西、云南等地区, 现已成为严重影响玉米生产的叶部病害^[5-7], 发病时造成玉米减产 5%~30%, 发生严重时减产高达 79%, 甚至绝收^[8-10]。

随着农作物种植结构的调整, 玉米种植面积在扩大, 特别是用于鲜食及冷藏的甜玉米种植面积亦在逐年扩大^[11]。玉米在云南省农业产业结构中占有重要的地位, 占全省粮食总产的 30.3%。但近年来种植大部分的品种均不抗病^[5], 加之高氮栽培和缺乏精细管理, 致使以玉米灰斑病为主的叶斑病在近年来发生面积逐渐扩大, 并且有继续扩大的趋势。目前, 玉米灰斑病在云南省保山、丽江、大理、楚雄、德宏、临沧、思茅、红河、文山、玉溪、昆明、曲靖等地均有不同程度的发生, 特别是在中国西部、西南部地区以及相邻的缅甸山区的部分品种上能造成毁灭性损失。温度和相对湿度对玉米灰斑病的发生速度和产孢量有显著影响, 尤其是当气温在 25~30 °C 时, 湿度对病情的影响更为显著^[12]。李春海^[13]对玉米灰斑病流行进行了模拟, 认为 Logistic 模型最能反映该病流行动态, 从玉米出苗开始到 7 月上旬为指

数增长期, 从 7 月上旬到 8 月下旬为 Logistic 期, 从 9 月上旬到玉米生育期结束为衰退期。然而, 昆明位于云贵高原的西侧, 海拔高度在 1 800~1 900 m, 玉米生长期正值雨季, 玉米灰斑病的流行规律还不清楚。

笔者在田间条件下采用人工接种的方法, 分析了昆明地区相关环境因子与病斑扩展的关系, 旨在为玉米灰斑病害的流行监测、预测预报和有效防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

种植抗病玉米品种 YA74824、YA06821 和感病品种会单 4 号, 用于测定病菌的产孢能力, 并选 YA74824 和会单 4 号品种用于病斑的扩展试验。试验地按南北向设置, 采用宽窄行种植, 宽行 80 cm, 窄行 40 cm, 株距 25 cm。玉米苗移栽后管理同常规。

供试病菌来自云南省峨山县双江镇宝山村的高感品种会单 4 号的田间病叶。病叶于 26 °C 温室中保湿培养 1 d, 然后用 0.01% Tween-20 灭菌水冲洗孢子, 制成孢子密度为 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/mL 的孢子悬浮液。于玉米大喇叭口期, 傍晚采用喷雾法接种^[14]。接种后用 HOBO Pro series 温湿度观测仪记录田间温度和相对湿度。

收稿日期: 2010-02-13; 修回日期: 2010-04-06

* 云南省科技支撑计划项目 (2006NG19) 和云南省农业产业技术体系项目资助

** 通讯作者. E-mail: ynfh2007@163.com

卢灿华, 男, 1985 年生, 硕士研究生. 研究方向: 分子植物病理学. E-mail: lucanhua1985@163.com

1.2 病斑扩展的观测

病斑扩展从出现明显病斑之日起开始观测,每隔 2 d 调查 1 次,持续记录 23 d。

1) 病斑面积和数量。分别选取抗病品种(YA74824, Y)和感病品种(会单 4 号, H)各 10 株,每株调查穗下第 3 叶、穗位叶和穗上第 3 叶(分别记为 I, II, III),每片叶选取叶基部、叶中部和叶上部 3 个部位(分别记为 A, B, C),各部位用脂溶性记号笔画定 3 cm×4 cm 作为观测单元,取样时尽量避开叶尖、叶鞘和叶脉处。每次调查观测时间为 09:00—11:00。

2) 病斑长度和宽度。固定选取均匀一致的抗病和感病品种穗位叶的中部病斑各 10 个,用直尺测量病斑的长度和宽度。

3) 病斑上的孢子数量。采集不同品种的病斑,并选取 1 cm²,用 400 μL 0.01% Tween-20 灭菌水洗下孢子,取 200 μL 置于血球计数板,记录孢子数。

1.3 数据分析

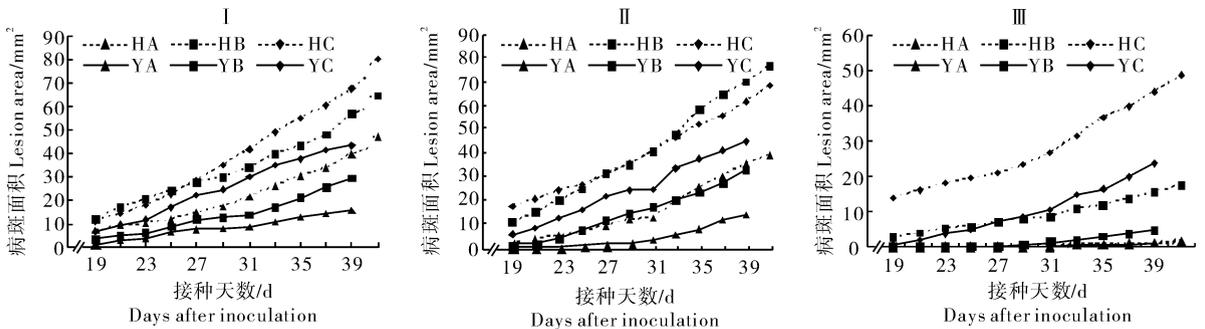
试验数据采用 Microsoft Excel 软件进行处理,线性回归由 SPSS 13.0 完成,利用 SAS 5.1.2600 进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 相同叶层病斑面积随接种天数的变化

2008 年 8 月 13 日采用喷雾法将玉米灰斑病病原孢子接种于供试玉米植株叶片上。接种后第 13 天,感病品种会单 4 号玉米植株叶片上只有个别病斑出现,第 17 天后就有大量病斑出现。

玉米植株相同叶层不同部位间病斑面积有差异(图 1)。由图 1 可知,玉米植株穗下第 3 叶的病斑面积在叶片基部最小,中部次之,上部最多;穗位叶基部病斑面积最小,中部和上部病斑面积差异不大;穗上第 3 叶病斑面积增长缓慢,且相对较小。病斑面积在相同叶片各部位的大小顺序为基部<中部<上部。抗病品种 YA74824 植株叶片上病斑少而小,其扩展速度比感病品种会单 4 号慢,且叶片上部病斑面积和数目极显著大于中部和基部叶片,叶基部最小。试验结果表明,无论抗病品种还是感病品种,玉米植株叶片上病斑面积都随接种后天数的增加以近似直线增长,但叶片基部因直立形状而不利于病菌孢子的着落,故病斑面积均小于叶片中上部。



I. 穗下第 3 叶 The third leaf below ear; II. 穗位叶 Ear leaf; III. 穗上第 3 叶 The third leaf above ear;

A. 叶基部 Leaf base; B. 叶中部 Leaf middle; C. 叶上部 Leaf frontier; H. 会单 4 号 Huidan 4; Y. YA74824.

图 1 相同叶层不同部位灰斑病的病斑面积进展曲线

Fig. 1 Disease progress curve of lesion area of maize gray leaf spot at different leaf positions for the same leaf layer

2.2 不同叶层病斑面积随各因子的变化

相关性分析表明,感病玉米品种会单 4 号不同叶层不同部位的病斑面积与接种天数(days after inoculation, DPI)、10 °C 以上的有效温度(effective accumulated temperature ≥ 10 °C, EAT)、温度在 20~30 °C 的时间积累值(cumulative hours of favorable temperature 20~30 °C, Tt)、温度在 20~30 °C 和相对湿度在 90% 以上的时间积累值(cumulative hours of favorable temperature 20~30 °C and relative humidity $\geq 90\%$, TDVt)和相对湿度在 90% 以上的时间积累值(cumu-

lative hours of favorable relative humidity $\geq 90\%$, RHt)等因子均极显著相关($P < 0.01$),相关程度依次为 $Tt > EAT > TDVt > DPI > RHt$ (表 1)。这表明玉米灰斑病流行主要受温度影响,特别是 1 d 内温度 20~30 °C 的持续时间对病斑的扩展起到关键作用,有效积温和相对湿度也是影响病害发生的重要因子。

线性回归分析得出感病玉米品种会单 4 号的病斑面积(y)与接种天数(x, $19 \leq x \leq 41$)的回归方程,各方程的 R^2 均较大,残差的均方较小,各方程斜率值间差异极显著($t = 5.477, P = 0.001$)(表 2)。

表 1 玉米会单 4 号病斑面积与各因子间的相关系数¹⁾

Table 1 Correlation coefficients between lesion area and impacting factors for Huidan 4

因子 Factor	穗下第 3 叶 The third leaf below ear			穗位叶 Ear leaf			穗上第 3 叶 The third leaf above ear		
	基部 Base	中部 Middle	上部 Frontier	基部 Base	中部 Middle	上部 Frontier	基部 Base	中部 Middle	上部 Frontier
DPI	0.984**	0.992**	0.995**	0.969**	0.995**	0.995**	0.915**	0.989**	0.980**
Tt	0.998**	0.993**	0.994**	0.995**	0.993**	0.995**	0.966**	0.995**	0.997**
RHt	0.974**	0.982**	0.990**	0.955**	0.988**	0.988**	0.895**	0.978**	0.969**
TDVt	0.988**	0.992**	0.998**	0.974**	0.996**	0.997**	0.924**	0.990**	0.984**
EAT	0.992**	0.998**	0.998**	0.982**	0.996**	0.998**	0.934**	0.996**	0.990**

1)** : 表示在 0.01 水平上差异显著 Represent significance at 0.01 level.

表 2 病斑扩展的线性模型及其显著性检验

Table 2 Liner model and significance test of lesion development

部位 Site	模型表达式 Model expression	R ² Square R	标准误差 Standard error	F 值 F value	显著性 Approx Pr	残差的均方 Mean SE	
I	叶基部 Leaf base	y=1.699x-29.084	0.968	2.330	304.034	0.000	5.431
	叶中部 Leaf middle	y=2.160x-30.463	0.982	2.081	616.250	0.000	4.331
	叶上部 Leaf frontier	y=3.023x-50.893	0.990	2.245	1037.452	0.000	5.039
II	叶基部 Leaf base	y=1.757x-36.347	0.940	3.360	156.439	0.000	11.291
	叶中部 Leaf middle	y=3.079x-51.505	0.989	2.404	938.366	0.000	5.781
	叶上部 Leaf frontier	y=2.333x-30.327	0.989	1.839	920.740	0.000	3.382
III	叶基部 Leaf base	y=0.071x-1.674	0.837	0.236	51.443	0.000	0.056
	叶中部 Leaf middle	y=0.648x-10.125	0.978	0.730	450.626	0.000	0.532
	叶上部 Leaf frontier	y=1.579x-19.081	0.961	2.396	248.609	0.000	5.739

2.3 不同品种叶片单个病斑的扩展

试验结果表明,2 个玉米品种灰斑病单个病斑面积的进展曲线均近似直线,但感病品种增长速率比抗病品种快。

会单 4 号和 YA74824 玉米灰斑病单个病斑增长天数可持续 40 d 以上。YA74824 病斑长度可达 27 mm 以上,病斑宽度可达 1.1 mm 以上,病斑面积可达 30 mm² 以上,扩展率为 0.89~2.09 mm²;

会单 4 号病斑长度可达 35 mm 以上,宽度可达 1.8 mm 以上,面积高可达 63 mm² 以上,扩展率为 2.17~4.06 mm²。抗病品种和感病品种病斑扩展主要表现在长度增长上,而宽度增长均不明显(表 3)。

统计分析结果表明,抗病品种与感病品种的病斑长度、宽度和面积间差异极显著(P≤0.01)。说明玉米灰斑病病斑扩展受寄主植株基因型的影响,抗病品种的病斑小于感病品种。

表 3 不同品种玉米灰斑病单个病斑的扩展动态

Table 3 Single lesion development of gray leaf spot on different varieties

接种天数/d Days after inoculation	Tt	RHt	会单 4 号 Huidan 4			YA748244		
			长/mm Length	宽/mm Width	面积/mm ² Area	长/mm Length	宽/mm Width	面积/mm ² Area
20	0.0	22.5	5.57	1.18	6.67	4.90	0.86	4.21
22	4.5	54.0	9.25	1.28	11.79	8.20	0.88	7.22
24	13.0	73.0	12.50	1.30	16.25	10.00	0.90	9.00
26	24.0	97.5	15.25	1.35	20.59	12.20	0.92	11.22
28	32.5	129.5	18.38	1.45	26.64	14.40	0.92	13.25
30	40.0	163.0	21.25	1.53	32.41	16.40	0.94	15.42
32	55.0	185.0	23.50	1.63	38.19	18.20	1.00	18.20
34	69.0	208.0	26.50	1.63	43.06	20.00	1.02	20.40
36	85.0	229.5	29.25	1.75	51.19	23.30	1.02	23.77
38	102.5	250.5	32.50	1.78	57.69	25.40	1.10	27.94
40	121.0	268.5	35.38	1.80	63.68	27.10	1.12	30.35

病斑面积扩展回归方程:

$$\text{会单 4 号 } y=2.861x-52.361 \\ (R^2=0.995, F=1\,748.171);$$

$$\text{YA74824 } y=1.278x-21.891 \\ (R^2=0.989, F=828.480)$$

式中 y 为病斑面积(mm^2), x 为接种天数($20 \leq x \leq 40$)。该方程的生物学意义是指玉米灰斑病在发病显症后,感病品种会单 4 号上病斑面积每天增长 2.861 mm^2 ,而抗病品种 YA74824 上病斑面积扩增较慢,每天增长 1.278 mm^2 。

2.4 不同品种穗位叶中部病斑的产孢量

调查结果表明,不同玉米品种穗位叶中部病斑的产孢量差异显著(表 4)。感病品种病斑上的孢子量均极显著地多于抗病品种($P \leq 0.01$),且随着病斑的扩展,孢子脱落、萌发或产孢能力下降,病斑上的孢子呈逐渐减少的趋势。无论何时调查,会单 4 号产生的孢子数均多于 YA06821 和 YA74824,在接种后 35 d 时,前者分别约是后两者的 4 倍和 2 倍;接种后 64 d 时,前者分别约是后两者的 7.6 倍和 2.4 倍。

表 4 不同品种各调查日期病斑的产孢量

Table 4 Spore number on the lesion area of different

日期(月/日) Date (Month/day)	接种天数/d Days after inoculation	varieties in observe date		
		会单 4 号 Huidan 4	YA06821	YA74824
09/18	35	30.00 A	4.20 B	15.60 B
09/25	42	32.60 A	16.60 B	12.00 B
10/07	54	17.40 A	0.40 B	3.80 B
10/17	64	9.20 A	1.20 B	3.80 B

3 讨论

玉米灰斑病属季节性流行病害,环境因子能影响其侵染和扩展。在自然条件下,玉米灰斑病菌孢子在玉米病残体上越冬,翌年在适宜条件下萌发,但较少侵染玉米幼苗,当玉米进入喇叭口期,该菌便大量侵染植株。玉米灰斑病菌孢子适于在适温高湿的条件下萌发与生长,如温度 $20 \sim 30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、湿度 $\geq 81\%$ 有利于孢子萌发, $24 \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$ 菌丝生长最快^[15-18]。本试验结果表明,在田间条件下,1 d 内温度在 $20 \sim 30 \text{ }^\circ\text{C}$ 和相对湿度在 90% 以上的持续时间对病斑扩展极为重要,这一结论与 Paul 等的研究结果相似^[8]。昆明地区 4—5 月份平均温度较低,降雨量相对较少,6—9 月上旬气温较高,雨量充沛,这一气候

特征正好与玉米生长的物候学相吻合。玉米灰斑病的发生程度取决于温度、相对湿度和降雨量。目前大面积栽培的玉米品种抗性较差^[5],因此,昆明地区和与此海拔及生态条件相近的地区,灰斑病的防治应侧重于种子处理和前期防治。鉴于玉米灰斑病发生盛期在大喇叭口期以后,在温度适宜和有水源条件的地方,建议适当提早播种,使玉米易感病期尽量避开 7—9 月的雨季。

Gordon 等的研究表明,品种基因型抗性影响病斑长度和数量^[19]。本试验的结果亦表明,玉米品种对灰斑病的抗性存在很大差异,主要表现在病斑扩展速率、病斑长度、病斑面积、病斑数量和产孢量等。抗病品种 YA74824 上的病斑扩展慢,病斑小而少,孢子少;相反,感病品种会单 4 号病斑大得多,扩展快,面积大,严重度高,孢子量多。但从病斑扩展的方向来看,由于受到包围叶脉的厚壁组织的阻隔,病斑主要表现在纵向扩展,横向扩展不明显。

本试验连续观察了玉米不同叶层和部位病斑数量和面积。接种是在玉米进入大喇叭口期(8 月中旬),由于潜育期较长,即使在感病品种会单 4 号上,潜育期也达 13 d,出现大量病斑的时间已至 8 月下旬,叶片已较老,因而本研究中病害的严重程度除天气因素外,主要取决于初次侵染的病菌数量。从病情结果来看,玉米灰斑病菌侵染主要在穗位叶及穗位叶以下,穗位叶以上较少,上部叶片发病较轻;同一叶片上的病斑主要集中于中上部,叶基部较少。这可能是因为玉米上部叶片较挺直、坚硬,接种孢子液不易滞留很长时间、易于干燥、侵入点少,而中下部叶片所处环境中的湿度较上部叶片的湿度大,叶面积大于上部叶片,保持孢子液时间较长。同一叶片中、上部发病重,叶基部发病较轻也可能与孢子液滞留时间有关。因此,建议在选育玉米品种时,为了提高工作效率和鉴定的准确性,尽可能地选留株型紧凑、叶片直立的单株,并在病害调查时集中调查中下层叶片的中上部位。

参 考 文 献

- [1] TEHON L R, DANIELS E. Notes on parasitic fungi of Illinois [J]. *Mycologia*, 1925, 17: 240-249.
- [2] BEDADA L T. Maize (*Zea mays* L.) grain yield and disease severity evaluated in four varieties planted at five different dates in south-western Ethiopia [J]. *Research on Crops*, 2005, 6(3): 579-586.
- [3] VANEGAS-ANGARITAS H, DE-LEON C, NARRO-LEON

- L. Genetic analysis of tolerance to *Cercospora* spp. in tropical maize inbred lines[J]. *Agrociencia*, 2007, 41(1):35-43.
- [4] VIEIRE R A, SCAPIM C A, MOTERLE L M, et al. Diallel analysis of leaf disease resistance in inbred Brazilian popcorn cultivars[J]. *Genetics and Molecular Research*, 2009, 8(4): 1427-1436.
- [5] 马荣, 吴景芝, 吴毅歆, 等. 云南省区试玉米新品种对4种叶斑病的抗性鉴定[J]. *种子*, 2009, 28(3):64-67.
- [6] 涂永海, 沙本才, 何月秋. 凤庆县玉米灰斑病发生规律初步研究[J]. *云南农业大学学报*, 2007, 22(4):604-607.
- [7] 吕国忠, 张益先, 梁景颐, 等. 玉米灰斑病发生流行规律及品种抗病性[J]. *植物病理学报*, 2003, 33(5):462-467.
- [8] PAUL P A, MUNKVOLD G P. A model-based approach to preplanting risk assessment for gray leaf spot of maize[J]. *Phytopathology*, 2004, 94(12):1350-1357.
- [9] CALDWELL P M, WARD J M J, MILES N, et al. Assessment of the effects of fertilizer applications on gray leaf spot and yield in maize[J]. *Plant Disease*, 2002, 86(8):859-866.
- [10] BHATIS A, MUNKVOLD G P. Relationships of environmental and cultural factors with severity of gray leaf spot in maize[J]. *Plant Disease*, 2002, 86(10):1127-1133.
- [11] 李儒海, 朱文达, 褚世海. 武汉地区夏玉米田杂草发生动态及化学防治技术[J]. *华中农业大学学报*, 2003, 22(1):18-22.
- [12] PAUL P A, MUNKVOLD G P. Influence of temperature and relative humidity on sporulation of *Cercospora zea-maydis* and expansion of gray leaf spot lesions on maize leaves[J]. *Plant Disease*, 2005, 89:624-630.
- [13] 李春海. 沈阳地区玉米灰斑病时间动态模型研究[J]. *玉米科学*, 2008, 16(6):111-113.
- [14] 王桂清, 陈捷. 玉米灰斑病菌人工接种方法[J]. *玉米科学*, 2006, 14(6):148-150.
- [15] CARSON M L, GOODMAN M M, WILLIAMSON S M. Variation in aggressiveness among isolates of *Cercospora* from maize as a potential cause of genotype-environment interaction in gray leaf spot trials[J]. *Plant Disease*, 2002, 86(10):1089-1093.
- [16] 王桂清, 高增贵, 吕国忠, 等. 环境条件对玉米灰斑病菌生长的影响[J]. *辽宁农业科学*, 2004(6):17-20.
- [17] 张益先, 吕国忠, 梁景颐, 等. 玉米灰斑病菌生物学特性研究[J]. *植物病理学报*, 2003, 33(4):292-295.
- [18] 李海春, 傅俊范, 薛腾, 等. 玉米灰斑病菌菌丝生长的最适温度和pH值[J]. *湖北农业科学*, 2007, 46(5):751-753.
- [19] GORDON S G, LIPPS P E, PRATT R C. Heritability and components of resistance to *Cercospora zea-maydis* derived from maize inbred VO613Y[J]. *Phytopathology*, 2006, 96(6): 593-598.

Lesion Development of Maize Gray Leaf Spot Disease in Kunming Area

LU Can-hua WU Jing-zhi MA Rong HE Yue-qiu

*Faculty of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University/
The National Center for Agricultural Biodiversity Exploitation, Kunming 650201, China*

Abstract The spore number and lesion area of maize gray leaf spot disease caused by *Cercospora zea-maydis* Tehon & Daniels in different layers and parts of the leaf were studied by using spray inoculation method under the field condition in Kunming, and the relationship between disease severity and the days after inoculation, time-duration of temperature and relative humidity was analyzed. The result indicated that the correlation between lesion development and time-duration of temperature 20-30 °C, effective accumulated temperature ≥ 10 °C, days after inoculation, time of relative humidity $\geq 90\%$ and variety resistance was very significant ($P < 0.01$). Small lesion and few spores appeared on resistant varieties, but big lesion and more spores on the susceptible ones. Lesion occurred largely on the ear leaf and below, in the middle and front of the leaf. The lesion development was mainly longitudinal and altitudinal development was not evident.

Key words maize gray leaf spot disease; lesion; development

(责任编辑:陈红叶)