

甘蔗抗黑穗病的鉴定新方法及其品种抗性评价

沈万宽¹ 姜子德² 杨湛端³ 刘睿³ 陈健文³ 邓海华³

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

2. 华南农业大学资源环境学院, 广州 510642;

3. 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 为建立甘蔗黑穗病抗性鉴定新方法,对甘蔗黑穗病菌冬孢子进行单孢分离和交配型鉴定,以相异交配型1:1的混合菌体注射接种甘蔗小苗生长点或其下嫩梢,并对接种菌体的浓度、接种量进行优化,结果表明:注射接种较适合的交配型孢子浓度为 5×10^5 个/mL,接种菌液注射量以每株90 μ L较为适宜;与浸渍接种相比,注射接种发病潜伏期短、发病率高,能较充分地评价寄主的抗性水平及生理小种类型。应用新建立的注射接种和常用浸渍接种对22份甘蔗品种(材料)进行接种,结果表明:注射接种有感病品种1个,高感品种21个;浸渍接种有抗病品种1个,中抗品种2个,感病品种8个,高感品种11个。

关键词 甘蔗; 黑穗病; 注射接种; 浸渍接种; 品种; 抗性

中图分类号 S 432.4⁺1; S 435.661 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2014)02-0051-06

甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)是中国重要糖料作物,也是有发展潜力的可再生能源作物。由甘蔗鞭黑粉菌(*Ustilago scitaminea* Sydow)引起的甘蔗黑穗病(sugarcane smut disease),自1877年南非纳塔尔(Natal)首先报道以来^[1],该病现已成为世界范围内广泛流行的重要甘蔗病害,除巴布亚新几内亚(Papua New Guinea)外,所有植蔗国家和地区均有该病发生的报道^[2-3]。甘蔗黑穗病也是中国大陆蔗区经济危害性最严重的主要甘蔗病害之一^[4-5]。目前,中国甘蔗主栽品种普遍感染黑穗病,田间发病率超过10%,有的田块甚至超过50%,经济损失严重^[4]。

抗病育种是防治甘蔗黑穗病最经济最有效的措施,抗病性鉴定方法是抗病育种的关键技术之一,常用的甘蔗黑穗病抗性鉴定方法是冬孢子浸渍法^[6]。沈万宽等^[7]、王维赞等^[8]采用冬孢子浸渍法对引进甘蔗品种进行黑穗病抗性鉴定;杨李和^[9]应用冬孢子浸渍法对云南割手密种、斑茅种、滇蔗茅种后代进行黑穗病抗性鉴定;夏红明等^[10]采用冬孢子浸渍法对甘蔗优异育种材料进行黑穗病抗性鉴定。这些方法鉴定结果比较接近自然条件下黑穗病田间发生水平,但由于采用的接种体为混合冬孢子,不能鉴定出

寄主所抗感的黑穗病菌生理小种类型。另外,还需要采集大量的甘蔗黑穗病菌冬孢子作为接种源,所以工作量较大。

甘蔗鞭黑粉菌隶属担子菌门的黑粉菌属,其厚垣孢子在潮湿的环境下,萌发形成长短不一的担子^[11-12],其上着生4个无色透明、椭圆形的担孢子,其中2个为“+”交配型,2个为“-”交配型,“+”和“-”交配型的担孢子相结合形成具有侵染力的双核菌丝体^[13];单独的“+”或“-”担孢子不能形成菌丝,也不具有侵染力,但可以不断芽殖^[14-15]。以甘蔗鞭黑粉菌的“+”和“-”交配型菌体作为接种体进行甘蔗黑穗病抗性鉴定尚未见报道。笔者对甘蔗鞭黑粉菌冬孢子进行了单孢分离培养和交配型鉴定,并以“+”和“-”交配型菌体作为接种体,旨在探讨甘蔗黑穗病抗性鉴定新方法,为甘蔗抗黑穗病育种提供技术支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 供试品种

供试甘蔗品种(材料):粤糖02-373、粤糖02-305、粤糖03-373、粤糖03-393、粤糖04-232、粤糖91-976、HoCP93-746、CP72-1210、ROC10、ROC22、

收稿日期: 2013-07-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(31201259)、广东省科技攻关项目(2010B020302001)、国家甘蔗产业技术体系建设项目(CARS-20-1-4)和华南农业大学校长基金项目(K13009)

沈万宽,博士,研究员。研究方向:甘蔗抗病育种与生物技术。E-mail: wkshen69@126.com

崖城 71-374、桂糖 00-122、粤糖 93-159、良糖 2 号、桂糖 11 号、CP85-384、粤糖 63-237、ROC20、ROC25 等 19 个；以 N:Co310(感小种 1、抗小种 2)、F134(感小种 2、抗小种 1)、N:Co376(对小种 1、2 免疫)为对照品种。

供试甘蔗品种(材料)均来源于广州甘蔗糖业研究所甘蔗种质保育圃,其中“粤糖”由广州甘蔗糖业研究所育成,“桂糖”由广西甘蔗研究所育成;“崖城”由海南甘蔗育种场育成;“ROC”、“F”和“良糖”由台湾糖业研究所育成;“N:Co”由南非育成;“CP”和“HoCP”由美国育成。

1.2 冬孢子的采集与保存

于 2012 年 5 月下旬,从广东省翁源县茂源糖业公司试验基地采集主栽品种 ROC22 上新抽出的黑穗病鞭子(冬孢子),于室温自然风干 4~5 d,用毛笔轻轻刮下各鞭子上的冬孢子,将冬孢子充分混匀后分装于小滤纸袋中(每袋 10 g),保存于 4℃ 冰箱中备用。

1.3 单孢分离与交配型鉴定

参照 Singh 等^[16]的方法进行。在无菌条件下,取上述微量新鲜甘蔗黑穗病菌冬孢子用 YEPS(蔗糖 20 g/L,蛋白胨 20 g/L,酵母浸出物 10 g/L,pH 值 6.5)液体培养基(含 50 μg/mL 氨基青霉素),经多次充分稀释,吸取 100~200 μL 稀释液均匀涂板于 YEPS 固体培养基上,于 28~30℃,培养 2~3 d,挑取 1 个白色羊毛状单菌落于 1~2 mL YEPS 液体培养基中,经多次充分稀释,吸取 100~200 μL 稀释液均匀涂板于 YEPS 固体培养基上,于 28~30℃ 培养 2~3 d,分别挑取 10~15 个酵母状单菌落于 YEPS 液体培养基中,于 28~30℃,200 r/min 振荡培养 1~2 d,分别吸取 1 μL 菌液于 YEPS 固体平板上进行相互交叉配合,充分吹干后,于 28~30℃ 培养 48~60 h,检测菌落生长情况。菌落为白色羊毛状的,则两菌株为异型(+、-)交配型单倍体担孢子;菌落为酵母状的,则两菌株为同型(+、+或-、-)交配型单倍体担孢子。

1.4 注射接种试验

1) 菌液浓度的选择。将上述鉴定出的 1 对异型(+、-)交配型单倍体担孢子 WT1 和 WT2 分别配制成浓度为 5×10^2 、 5×10^3 、 5×10^4 、 5×10^5 、 5×10^6 、 5×10^7 个/mL 孢子悬浮液。接种前,将同浓度的 WT1 和 WT2 两种交配型担孢子悬浮液等体积混合并充分混匀,用 1 mL 的灭菌医用注射器吸取

200 μL 孢子混合液小心注射于甘蔗小苗(ROC22,材料种植于网室中)生长点或其下嫩梢接种。每处理注射接种 90 株小苗(重复 3 次,每重复 30 株)。接种后材料仍种植于网室里并正常管理,定期调查甘蔗黑穗病,并将记录后的甘蔗黑穗病株连根拔除,以免再侵染。连续调查 4 个月,统计总发病株数,计算每处理最终发病率。

2) 菌液注射量的确定。将上述异型交配型菌株 WT1 和 WT2 均配制成浓度为 5×10^5 个/mL 孢子悬浮液等体积混合并充分混匀,作为接种菌液。用 1 mL 的注射器分别注射 200 μL 无菌水及 30、60、90、120、150、180 μL 孢子混合液于甘蔗小苗(ROC22,材料种植于网室中)生长点或其下嫩梢。每处理注射接种 90 株小苗(重复 3 次,每重复 30 株)。接种后材料仍种植于网室里并正常管理,定期调查甘蔗黑穗病,计算每处理最终发病率。

利用上述优化建立的注射接种法,对供试品种进行注射接种,每个材料注射接种 60 株小苗(重复 3 次,每重复 20 株),正常管理并定期调查黑穗病,计算每处理最终发病率。

1.5 浸渍接种试验

将检验合格的甘蔗黑穗病菌冬孢子配制成 5×10^6 个/mL 的孢子悬浮液(2 g 干燥冬孢子兑无菌水 1 L),再将种芽(每品种 30 个新鲜单芽)置于孢子悬浮液中浸泡 30 min,取出放入塑料袋内封口,经过保湿催芽 24 h 后种植(重复 3 次,每重复 10 个单芽),正常管理并定期调查黑穗病,计算每处理最终发病率。

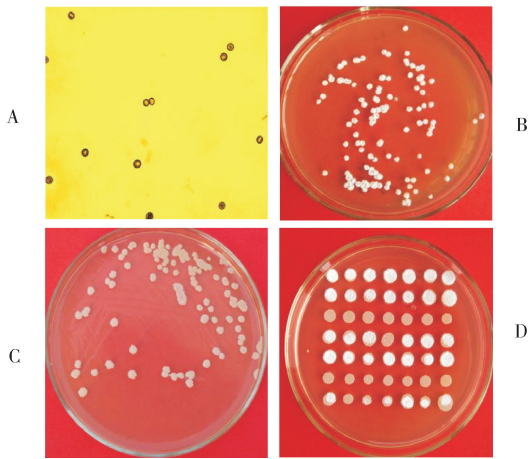
1.6 甘蔗黑穗病抗性分级标准

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,采用 1~9 级分级标准进行抗性分级^[8]。

2 结果与分析

2.1 黑穗病菌单孢分离和交配型的鉴定

在显微镜下观察甘蔗黑穗病菌,可见近圆形、棕褐色的厚垣孢子(图 1-A);厚垣孢子为休眠孢子(冬孢子),在 YEPS 培养基上可产生白色羊毛状的单菌落(图 1-B);挑取羊毛状的单菌落进行稀释分离,可获得酵母状单菌落(图 1-C)。对单菌落进行交叉配合可鉴定其交配型(图 1-D),若产生羊毛状菌落,则为相异交配型;若产生酵母状菌落,则为同型交配型。



A. 甘蔗鞭黑粉菌冬孢子(200×) Teliospores of *U. scitaminea* (200×); B. 羊毛状单菌落 Fuzz-like monocolony; C. 酵母状单菌落 Yeast-like monocolony; D. 有性配合 Sexual mating of monosporidial.

图1 甘蔗鞭黑粉菌单孢分离和有性配合
Fig.1 Monosporidial isolation and sexual mating of *U. scitaminea*

2.2 注射接种主要参数的优化

1) 最佳菌液浓度的确定。为选择最佳的孢子浓度注射接种甘蔗小苗,利用10倍稀释法分别将甘蔗黑穗病菌相异交配型担孢子配制成一系列浓度梯度,等体积混合后接种甘蔗小苗。测定结果表明,甘蔗黑穗病的发生率随着孢子浓度的增加而增加,当孢子浓度为 5×10^4 个/mL、 5×10^5 个/mL、 5×10^6 个/mL、 5×10^7 个/mL时,甘蔗黑穗病发生率分别为39.20%、59.29%、75.47%和81.67%。甘蔗黑穗病冬孢子浸渍接种试验中,冬孢子浓度为 5×10^6 个/mL,为方便注射接种和浸渍接种鉴定结果的比较,同时又能使寄主充分发病,故选用交配型孢子浓度 5×10^5 个/mL较为适宜。

2) 最佳菌液注射量的确定。注射接种试验的测定结果表明,甘蔗黑穗病的发生率随着菌液注射量的增加而增加,当菌液注射量在 $0 \sim 90 \mu\text{L}$ 时,随着接种量的增加,黑穗病发生率从0增加至65.57%,增加值较大;当菌液注射量在 $90 \sim 180 \mu\text{L}$ 时,随着接种量的增加,黑穗病发生率从65.57%增加至75.47%,增加值较小。综合考虑黑穗病发生率、菌液注射量等因素,菌液注射量以每株 $90 \mu\text{L}$ 较为适宜。

2.3 供试品种黑穗病抗性鉴定

1) 黑穗病发生率。由表1可知,在浸渍接种中,

22个供试品种(材料)黑穗病的发生率为7.7%~100.0%;注射接种中,黑穗病发生率为36.4%~100.0%。

与浸渍接种相比,22个供试品种(材料)注射接种的黑穗病发生率仅桂糖00-122、粤糖04-232和粤糖03-393等3个品种略有下降,分别降低0.22%、11.90%和20.70%;崖城71-374的黑穗病发生率2种接种方法相同,均为100%,其余18个品种的黑穗病发生率均有不同程度增加,增加幅度为4.9%~65.0%。

2) 黑穗病发病潜伏期。发病潜伏期是评价品种抗病性的主要指标。由表1可知,在浸渍接种中,22个供试品种(材料)的黑穗病发病潜伏期为49~159d;注射接种中,22个供试品种的黑穗病发病潜伏期为35~90d。

与浸渍接种相比,22个供试品种(材料)注射接种的黑穗病发病潜伏期仅ROC10、ROC22和粤糖03-393相同或略延长,其余19个品种均有不同程度缩短,缩短幅度为2~86d,其中缩短20d以上的有10个品种,占45.45%。

3) 黑穗病抗性评价。由表1可知,采用浸渍接种法抗性水平达R和MR的甘蔗品种(材料)均仅有1个,分别为CP85-384、ROC25,均占5.26%;抗性水平为S的有粤糖02-305、粤糖91-976、粤糖93-159、良糖2号、CP72-1210、ROC10、ROC20等7个品种,占36.84%;抗性水平为HS的有粤糖02-373、粤糖03-373、粤糖03-393、粤糖04-232、粤糖63-237、桂糖00-122、桂糖11、崖城71-374、ROC22、HoCP93-746等10个品种,占52.64%;没有抗性水平为HR及MS的品种,对照品种N:Co310、F134和N:Co376的抗性水平依次为HS、S及MS。注射接种抗性水平为S的品种仅有粤糖03-393,占5.26%;其余18个供试品种的抗性水平均为HS,占94.74%;没有抗性水平为HR、R、MR及MS的品种,对照品种N:Co310、F134和N:Co376的抗性水平均为HS。

与浸渍接种相比,注射接种仅粤糖03-393抗性水平提高,抗病类型由HS变为S;10个品种的抗病水平不变,抗病类型均为HS;8个品种抗病类型由S变化为HS,均有1个品种的抗病类型由MS、MR、R变化为HS。

表 1 供试品种(材料)黑穗病的发生率、潜伏期及抗性评价¹⁾

Table 1 Smut incidence, latent period and resistance evaluation level of the tested varieties (materials)

品种(材料) Varieties (materials)	浸渍接种 Dipping inoculation method				注射接种 Injection inoculation method			
	潜伏期/d Latent period	发病率/% Disease incidence	抗性级别 Resistance grade	抗病类型 Resistance types	潜伏期/d Latent period	发病率/% Disease incidence	抗性级别 Resistance grade	抗病类型 Resistance types
粤糖 02-373 YT02-373	62	80.0	9	HS	52	100.0	9	HS
粤糖 02-305 YT02-305	102	46.2	7	S	73	75.0	8	HS
HoCP93-746	90	53.8	8	HS	66	100.0	9	HS
粤糖 91-976 YT91-976	113	42.9	7	S	73	92.3	9	HS
CP72-1210	90	33.3	6	S	66	83.3	9	HS
ROC10	90	50.0	7	S	90	83.9	9	HS
ROC22	62	57.1	8	HS	73	75.0	8	HS
崖城 71-374 YC71-374	49	100.0	9	HS	35	100.0	9	HS
桂糖 00-122 GT00-122	90	71.4	8	HS	66	69.2	8	HS
粤糖 93-159 YT93-159	90	38.5	7	S	73	85.7	9	HS
粤糖 03-373 YT03-373	90	53.8	8	HS	73	75.0	8	HS
粤糖 03-393 YT03-39	62	57.1	8	HS	66	36.4	7	S
良糖 2 号 LT2	76	29.4	6	S	66	88.3	9	HS
ROC25	159	10.0	4	MR	73	75.0	8	HS
桂糖 11 GT11	54	76.9	9	HS	52	81.8	9	HS
CP85-384	97	7.7	3	R	90	57.1	8	HS
粤糖 63-237 YT63-237	103	60.0	8	HS	52	100.0	9	HS
粤糖 04-232 YT04-232	62	84.6	9	HS	52	72.7	8	HS
ROC20	90	37.5	7	S	66	71.4	8	HS
N;Co310	62	53.8	8	HS	52	61.5	8	HS
F134	90	42.9	7	S	66	66.7	8	HS
N;Co376	103	14.3	5	MS	66	71.4	8	HS

1) HR:高抗 High resistant; R:抗病 Resistant; MR:中抗 Moderately resistant; MS:中感 Moderately susceptible; S:感病 Susceptible; HS:高感 High susceptible.

3 讨论

本试验对甘蔗黑穗病菌冬孢子进行单孢分离和交配型鉴定,以等体积 5×10^5 个/mL 相异交配型混合菌体作为接种体,用注射器吸取接种菌液注射甘蔗小苗生长点或其下嫩梢接种,建立起甘蔗黑穗病注射接种抗性鉴定方法。该方法发病潜伏期短,发病率高,可充分鉴定出寄主品种的抗性水平,也可以鉴定出寄主品种所抗感的黑穗病菌生理小种类型及接种体的致病力强弱。另外,无需大量采集甘蔗黑

穗病菌冬孢子作为接种源,只需采集极微量冬孢子进行单孢分离及交配型鉴定,并对菌体进行扩大培养即可满足接种需要。分离培养的交配型菌体还可以加甘油低温保存,需要时进行菌体活化培养,再次作为接种菌体,可一次采集冬孢子分离培养,多次作为接种体使用^[17]。

本试验中,注射接种黑穗病的发生率普通高于同品种(材料)浸渍接种的黑穗病发生率,这可能与甘蔗对黑穗病的形态学抗性有关。甘蔗黑穗病菌冬孢子在蔗芽萌发,产生菌丝后入侵至蔗茎内部,菌丝

通过胞间连丝扩展,至蔗株生长点时则造成生长点变异,进而产生黑色鞭状物^[11,14]。前人的研究结果表明,蔗芽大小、芽沟深浅、芽鳞紧凑程度、萌芽孔位置等芽的结构特点与甘蔗品种的抗病性有关^[18-20]。浸渍接种因为存在芽的形态学抗性,而注射接种因接种菌体直接注射至生长点或其下嫩梢,缺少芽的形态学抗性,故其黑穗病发病率高于前者,发病潜伏期也短于前者。但浸渍接种因为未破坏甘蔗植株形态学抗性,其黑穗病抗性鉴定结果比较接近田间黑穗病实际发生情况,抗性鉴定结果更合理。

对照品种 N:Co310、N:Co376、F134 是中国甘蔗黑穗病菌生理小种鉴别寄主,其中 N:Co310 感小种 1、抗小种 2, F134 感小种 2、抗小种 1, N:Co376 对小种 1 及小种 2 免疫^[21-22]。本试验中鉴别寄主 N:Co376(对小种 1 和小种 2 免疫)浸渍和注射接种黑穗病发生率分别为 14.3% 和 71.4%,说明本试验接种菌体的致病力明显强于以前中国蔗区存在的甘蔗黑穗病 1 号和 2 号生理小种的致病力,极有可能代表一种新的甘蔗黑穗病生理小种类型。笔者曾报道,目前中国蔗区存在新的甘蔗黑穗病生理小种^[7],本试验结果佐证了此观点。

参 考 文 献

- [1] MCMARTIN A. Sugarcane smut: reappearance in Natal [J]. Southern African Sugar Journal, 1945, 29: 55-57.
- [2] 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.
- [3] RILEY I T, JUBB T F, EGAN B T, et al. First outbreak of sugarcane smut in Australia [J]. Proceeding of International Society of Sugar Cane Technology, 1999, 23(2): 333-336.
- [4] 沈万宽. 广东蔗区甘蔗病害现状与综合防治措施[J]. 甘蔗糖业, 2004(1): 1-5.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 杨李和. 云南割手密种、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.
- [10] 夏红明, 陈学宽, 范源洪, 等. 蔗优异育种材料的抗黑穗病鉴定[J]. 甘蔗, 2003, 10(3): 5-7.
- [11] ANTOINE R. Smut [M]//MARTIN J P, ABBOTT E V, HUGHES C G. Sugarcane disease of the world. Amsterdam: Elsevier Publishing Company, 1961: 327-354.
- [12] ALEXANDER K C, KRISHNA R K. Studies on smut disease (*Ustilago scitaminea*) of sugarcane: longevity and viability of teliospores [J]. Indian Journal of Sugarcane Technology, 1978 (1): 47-49.
- [13] ALEXANDER K C, SRINIVASAN K V. Sexuality in *Ustilago scitaminea* Syd. [J]. Current Science, 1966, 35: 603-604.
- [14] ALBERT H H, SCHENCK S. PCR amplification from a homologue of the *bE* mating-type gene as a sensitive assay for the presence of *Ustilago scitaminea* DNA [J]. Plant Disease, 1996, 80 (10): 1189-1192.
- [15] FERREIRA S A, COMSTOCK J C. Smut [M]//RICAUD C, EGAN B T, GILLASPIE JR A G, et al. Disease of sugarcane. Amsterdam: Elsevier, 1989: 211-229.
- [16] SINGH N, SOMAI B M, PILLAY D. Molecular profiling demonstrates limited diversity amongst geographically separate strains of *Ustilago scitaminea* [J]. FEMS Microbiology Letters, 2005, 247: 7-15.
- [17] 沈万宽, 姜子德, 陈健文, 等. 一种甘蔗黑穗病抗性鉴定方法: 中国, ZL 2011 1 0099531. 7[P]. 2012-05-23.
- [18] PADMANABAN P, ALEXANDER K C, SHANMUGAM N. Studies on certain characters associated with smut resistance [J]. India Phytopathology, 1988, 41: 594-598.
- [19] GLORIA B A, ALBERNAS M C C, AMORIM L, et al. Structural characteristics of buds of sugarcane cultivars with different levels for resistance to smut [J]. Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten and Pflanzenschutz, 1995, 102: 502-508.
- [20] 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.
- [21] HISIEH W H, LEE C S. Compatibility and pathogenicity of two races of *Ustilago scitaminea* Sydow in Taiwan [J]. Taiwan Sugar, 1978, 25: 46-48.
- [22] LEU L S, TENG W S. Pathogenic strains of *Ustilago scitaminea* Sydow [J]. Sugarcane Pathology Newsletter, 1972(8): 12-13.

New resistance identification method and resistance evaluation of sugarcane varieties to smut disease

SHEN Wan-kuan¹ JIANG Zi-de² YANG Zhan-duan³

LIU Rui³ CHEN Jian-wen³ DENG Hai-hua³

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. *College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;*

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

Abstract In order to develop a new resistance identification method of sugarcane to smut disease, caused by the fungus *Ustilago scitaminea* Sydow, and provide technical support to breeding of smut resistant sugarcane, single teliospore of *Ustilago scitaminea* Sydow was isolated and cultured, mating type of sporidia was also identified, by using a 1 : 1 mixture (plus and minus) mating types as inoculum. Injection inoculation was carried out at the growing point or young stem below it in younger sugarcane seedlings, and the concentration of mating type (plus and minus) and injection volume were optimized in this study. The results showed that comparatively the most suitable mating type concentration was 5×10^5 sporidia/mL, the relatively appropriate injection volume was 90 μ L per plant in injection inoculation method. In comparison with common dipping inoculation, injection inoculation has a shorter latent period, high incidence, and it is possible to sufficiently evaluate resistance level of host and the type of physiological race. On this basis, twenty-two sugarcane varieties (materials) were inoculated by using the newly established injection inoculation and common dipping inoculation, the results showed that there were one susceptible variety, twenty-one high susceptible varieties by using injection inoculation method; however, one resistant variety, two moderately resistant varieties, eight susceptible varieties and eleven high susceptible varieties by using common dipping inoculation method.

Key words sugarcane; smut disease; injection inoculation; dipping inoculation; varieties; resistance

(责任编辑:陈红叶)