DB23

DB23/T XXXX-2023

玉米穗腐病抗源鉴定及评价技术规程

(征求意见稿)

起草单位:黑龙江省农业科学院玉米研究所、东北农业大学、中国

农业科学院作物科学研究所

联系人: 扈光辉

联系电话: 13633640876

邮 箱: gh_hu75@126.com

2024-XX-XX 发布

2024-XX-XX 实施

黑龙江省市场监督管理局 发布

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。

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。本文件由黑龙江省农业农村厅提出。

本文件起草单位:黑龙江省农业科学院玉米研究所、东北农业大学、中国农业科学院作物科学研究所。

本文件主要起草人: 扈光辉、杨剑飞、朴琳、李永刚、王天宇、李春辉、龚士琛、李国良、付立新、王明泉、胡少新、王志国。

玉米穗腐病抗源鉴定及评价技术规程

1 范围

本标准规定了进行玉米穗腐病抗源鉴定及评价技术的接种体制备、抗病性鉴定圃、接种、病情调查、抗病性评价和田间档案。

抗镰孢穗腐病鉴定技术方法和抗性评价标准。

本标准适用于栽培玉米($Zea\ Mays\ L.$)自交系和杂交种对玉米镰孢穗腐病的田间抗性 鉴定和评价。

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。

GB 4401.1-2008 粮食作物种子 第1部分: 禾谷类 NY/T 1248.8-2016 玉米抗病虫性鉴定技术规范 第8部分: 镰孢穗腐病 DB 23/T 017-2008 玉米生产技术规程

3 术语和定义

3.1 花丝通道注射接种 silk channel injection inoculation

利用注射器在果穗花丝通道侧边将镰孢菌分生孢子悬浮液注射到果穗中而进行玉米抗镰孢穗腐病鉴定的技术。

3.2 玉米镰孢穗腐病 Fusarium ear rot of maize

玉米镰孢穗腐病,是由禾谷镰孢、串株镰孢等多种镰孢菌侵染所引起的、发生在玉米的病害。玉米果穗及子粒均可受此病危害。

3.3 抗玉米穗腐病鉴定 Identification of resistance Fusarium ear rot of maize resistance

通过人工接种玉米镰孢穗腐病菌,以确定玉米对镰孢穗腐病的抗感反应类型。

3.4 接种体 inoculum

用于接种以引起病害的病原物或病原物的一部分。

4 接种体制备

4.1 培养基制备

PDA 平板培养基: 取 200g 去皮马铃薯块,切成小块,加入 800ml~1000mL 的水煮沸 30min,用双层纱布过滤后,用蒸馏水补足 1000mL,加入 20g 葡萄糖,少量多次加入共 18g 琼脂粉,并不断搅拌,分装至锥形瓶内,然后将其放置于温热灭菌器中 121℃灭菌 20min,将培养基倒入培养皿中备用。

PDB 液体培养基: 取 200g 去皮马铃薯块,切成小块,加入 800ml~1000mL的水煮沸 30min,用双层纱布过滤后,用蒸馏水补足 1000mL,加入 20g 葡萄糖,分装至锥形瓶内,然后将其放置于温热灭菌器中 121℃灭菌 20min 后备用。

4.2 病原菌准备

取发生穗腐病的玉米籽粒,置于 75%的酒精中浸泡 2s~3s,取出后置于质量体积比为 1.5%的次氯酸钠中浸泡 2min~3min,再经无菌水换洗 3 次,晒干后用灭菌剪刀从中间剪开后将其中一块转移至 PDA 平板培养基中,置于 25℃~27℃环境中,黑暗培养 3d 后挑取病原菌至试管中保存。依据柯赫氏法则进行致病力测定,确定为玉米穗腐病病原菌的菌株后采用形态学及分子生物学方法进行属种鉴定,从比例占绝对优势的镰孢菌中选取致病力较强的菌株作为接种的目标菌株。

4.3 孢子悬浮液制备

从试管中挑取目标菌株,接种到 PDA 平板培养基上,目标病原菌在 PDA 平板培养基上生长 7d 后,将布满菌的 PDA 平板切成小块,转接至 PDB 液体培养基中,25℃自然光条件下摇床振荡(120rpm)培养 7d,用灭菌双层纱布过滤掉菌丝和杂质,制成分生孢子悬浮液,然后利用血球计数法将孢子悬浮液浓度调至 2×10⁶孢子/m1,4℃条件下保存。

5 抗病性鉴定圃

5.1 鉴定圃设计

鉴定材料采取随机排列,每隔50行鉴定材料设置1组已知抗病、感病对照材料,对照选用玉米自交系X178(抗)、B73(感)。鉴定圃设计符合NY/T 1248.8-2016标准。

鉴定材料采用单行区种植,3次重复,随机排列,小区行长5m,行距0.65m,植株密度为75000株/hm²。

5.2 鉴定圃播种

鉴定材料播种时间与大田播种时间相当,也可根据当年农业生产气候条件适当调整播种期。播种时期符合 DB 23/T 017-2008 标准。

鉴定材料种子不进行包衣处理,播种方式采用机器开沟,人工点播,每穴点播种子2粒,出苗后每穴保留1株健康的植株。种子符合GB 4401.1-2008标准。

5.3 田间管理

田间管理及虫草害防治与大田生产相同,田间管理过程中不使用对穗腐病有防治作用的药剂,生产过程符合DB 23/T 017-2008标准。

6 接种

6.1 接种时期

接种时期为玉米雌穗吐丝后3~5天或花丝长度达5~10 cm后,接种可全天进行。

6.2 接种部位及方法

利用可定量的连续注射器,在果穗花丝通道侧边插入至通道中空部位,每穗注射接种2 mL孢子悬浮液。接种后进行常规田间管理。

7 病情调查

7.1 调查时间

在鉴定材料进入腊熟末期,感病材料发病较严重的情况下即可进行调查。

7.2 调查方法

调查时采收接种的雌穗,去除苞叶后逐穗调查并对雌穗被病菌侵染的面积进行分级记载。病情分级应按表A. 1执行。记录每份鉴定材料的总株数和各发病级别株数。

8 抗病性评价

8.1 抗病性评价方法

根据不同材料的病情级别, 计算每份鉴定材料的平均病情级别, 平均病情级别计算公式 见式1。

$$ERSA=\Sigma ERS (1...n) / n$$
 (式1)

式中: ERSA为穗腐病平均病情级别(Ear rot score on average)。 Σ ERS(1...n)为单份鉴定材料每一果穗穗腐病病情级别的总和,1为第一个果穗,n为最后第n个果穗; 计算保留1位小数。

鉴定材料的抗性评价方法按表A. 2执行。

8.2 有效性判别

当设置的感病对照材料鉴定为感病,该批次鉴定视为有效。

8.3 重复鉴定

当鉴定材料初次鉴定结果抗性表现为高抗或抗,应在第二年进行重复性鉴定。

8.4 抗病性评价

将初次鉴定结果同重复鉴定结果进行比较,以记载的最高病情指数为准,依此结果对鉴定材料的抗病性进行评价,将调查结果录入表A.3,计算平均病情级数,评价抗性水平。

9 田间档案

应建立田间档案,内容包括:鉴定材料名称、接种时间、调查时间、接种总株数、各病情级别发病株数、病情指数和抗病性评价。

附录 A

(规范性)

玉米镰孢穗腐病调查及评价分级标准

A. 1 玉米穗腐病鉴定田间病情指数分级表A.1

表A.1 玉米穗腐病鉴定田间病情指数分级

病情分级	描述
1	发病面积占果穗总面积 0%~1%
3	发病面积占果穗总面积 2%~10%
5	发病面积占果穗总面积 11%~25%
7	发病面积占果穗总面积 26%~50%
9	发病面积占果穗总面积 51%~100%

A.2 玉米对穗腐病抗性的评价标准表A.2

表A. 2 玉米对穗腐病抗性的评价标准

平均病情级别	抗 性
≤1.5	高抗 Highly resistant (HR)
1.6~3.5	抗 Resistant (R)
3.6~5.5	中抗 Moderately resistant (MR)
5.6~7.5	感 Susceptible (S)
≥7.5	高感 Highly susceptible (HS)

A. 3 玉米抗镰孢穗腐病鉴定结果记载表A. 3

表 A. 3 玉米抗镰孢穗腐病鉴定结果记载表

鉴定地点:			接	种体编号	、来源:			
接种日期:	调查日期:				技术	技术负责人:		
品种编号	总株数	病情分级					平均病情	抗性评价
		0	1	3	5	7	级别	加生肝机

001

(002				
	702				
	• • •	• • •			