

DB 62

甘 肃 省 地 方 标 准

DB62/T 5228—2026

玉米鞘腐病抗性鉴定技术规范

Rule for evaluation of maize resistance to sheath rot

2026 – 05 – 09 发布

2026 – 08 – 09 实施

甘肃省市场监督管理局 发 布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 鞘腐病病原菌接种体制备 1

 4.1 病原菌分离 1

 4.2 病原菌鉴定 1

 4.3 接种体繁殖 1

5 抗性鉴定圃设置 2

 5.1 田间鉴定圃 2

 5.2 鉴定设计 2

 5.3 种植要求 2

6 接种 2

 6.1 接种时期 2

 6.2 接种方法 2

7 病情调查 2

 7.1 调查时间 2

 7.2 病情分级 2

 7.3 调查方法 3

 7.4 病情指数 3

8 抗性评价 3

 8.1 抗性评价标准 3

 8.2 鉴定有效性评价 3

 8.3 重复鉴定 4

 8.4 抗性评价 4

9 档案管理 4

附录 A（资料性） 拟轮枝镰孢鉴定与培养 5

附录 B（资料性） 鉴定对照材料 6

附录 C（规范性） 鉴定记载表格 7

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。

本文件由甘肃省农业农村厅提出并监督实施。

本文件由甘肃省粮食油料作物栽培标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：甘肃省农业科学院植物保护研究所、会宁县农业技术推广中心、甘肃省农业技术推广总站、甘肃省庆城县玄马镇农业农村综合服务中心。

本文件主要起草人：郭成、牛婷婷、骆惠生、王春明、周天旺、付欢、郭致杰、李圆、张小杰、闫喆林。

本文件由甘肃省粮食油料作物栽培标准化技术委员会负责解释。

玉米鞘腐病抗性鉴定技术规范

1 范围

本文件规定了玉米鞘腐病抗性鉴定的接种体制备、鉴定圃设置、病原菌接种、病情调查及抗性评价的方法和标准。

本文件适用于玉米（*Zea mays* L.）自交系、杂交种、群体、开放授粉品种以及野生玉米和玉米近缘种对鞘腐病抗性的田间人工接种鉴定和评价。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

玉米鞘腐病 Maize sheath rot

由镰孢菌（*Fusarium spp.*）侵染所引起的以玉米叶鞘部位发病为主的真菌性病害。发病初期呈褐色、黑色或黄色的椭圆形斑点，后逐渐扩展为圆形、椭圆形或不规则病斑，多个病斑会合形成黄色或黑褐色斑块，蔓延至整个叶鞘，导致叶鞘干枯死亡。

4 鞘腐病病原菌接种体制备

4.1 病原菌分离

以组织分离法从发生鞘腐病的玉米叶鞘病健交界处分离致病镰孢菌。病原菌经形态学鉴定确认为镰孢菌（*Fusarium spp.*）后，进行纯化培养、单孢分离和致病性测定。

4.2 病原菌鉴定

鉴定采用形态学方法并结合分子鉴定技术对病原菌进行特异性检测，分子鉴定引物参考翻译延伸因子（*translation elongation factor 1 alpha, TEF-1 α*）进行序列测定，通过基因序列比对，确定为拟轮枝镰孢（*Fusarium verticillioides*），见附录A。通过接种玉米叶鞘，明确病原菌的致病性。

4.3 接种体繁殖

4.3.1 接种菌株选择

选择覆盖不同生态区不同地点来源的中高致病力优势混合菌株。

4.3.2 拟轮枝镰孢的收集

在接种前需要进行病原物接种体的培养，将病菌接种于PDA培养基平板，25℃下黑暗培养5 d~7 d。接入PD液培养基中，在25℃、自然光下静置培养10 d~15 d。以双层纱布过滤培养物并获得分生孢子悬浮液，用无菌水将分生孢子悬浮液浓度调至 1×10^6 孢子/mL~ 2×10^6 孢子/mL，即可用于接种，见附录A.3。

5 抗性鉴定圃设置

5.1 田间鉴定圃

鉴定圃应选择地势平坦、肥力中等以上地块，具备自主灌溉条件，感病品种接种拟轮枝镰孢后的病情级别常年稳定达到7级~9级。

5.2 鉴定设计

鉴定材料随机排列或顺序排列，每50份~100份鉴定材料设1组已知抗病和感病对照材料，不足50份时按50份对待，四周设立保护行，对照材料见附录B.1。

5.3 种植要求

田间播种时间与当地大田生产播种时间相同，5 cm~10 cm土层土壤温度稳定在10℃以上时播种。灌溉区结合整地施腐熟农家肥30000 kg/hm²~37500 kg/hm²，纯N 150 kg/hm²~225 kg/hm²，P₂O₅ 120 kg/hm²~150 kg/hm²，K₂O 120 kg/hm²~150 kg/hm²；旱作区结合整地施腐熟农家肥30000 kg/hm²~37500 kg/hm²、纯N 170 kg/hm²~180 kg/hm²、P₂O₅ 135 kg/hm²~165 kg/hm²、K₂O 120 kg/hm²~135 kg/hm²。每份鉴定材料种植2行，种子不能进行包衣处理，行长5 m，行距0.6 m，株距0.2 m，每行留苗20株~25株。

6 接种

6.1 接种时期

在玉米抽雄初期进行接种，接种可全天进行。

6.2 接种方法

接种采用注射法，器具为可进行连续定量注射的连动注射器。用注射器吸液管吸取2 mL混匀的病原菌分生孢子悬浮液，从植株叶基部注入叶鞘内部，每株仅接种第1个雌穗所在的叶鞘。

7 病情调查

7.1 调查时间

在玉米乳熟期进行调查。

7.2 病情分级

田间病情分级及相对应的症状描述，见表1。

表1 玉米鞘腐病症状级别划分

病情分级	症状描述
0	叶鞘上无病斑
1	0<病斑覆盖叶鞘面积≤10%
3	10<病斑覆盖叶鞘≤30%
5	30<病斑覆盖叶鞘≤50%
7	50<病斑覆盖叶鞘≤70%
9	70<病斑覆盖叶鞘≤100%

7.3 调查方法

根据病害症状描述，对所有植株逐株记载病情级别，见附录C.1。

7.4 病情指数

病情指数的计算公式，见公式（1）：

$$DI = \sum [(Di \times Dd) / (Mi \times Md)] \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：
DI——病情指数；
Di——该级别植株数；
Dd——症状级别；
Mi——调查总株数；
Md——最高级别。

8 抗性评价

8.1 抗性评价标准

鉴定材料抗性评价依据公式（1）计算所得病情指数确定，见表2。

表2 玉米鞘腐病抗性评价标准

病情指数	抗性
0≤DI≤10.0	高抗（High resistance HR）
10.0<DI≤20.0	抗病（Resistance R）
20.0<DI≤40.0	中抗（Moderately resistant MR）
40.0<DI≤60.0	感病（Susceptible S）
60.0<DI≤100	高感（Highly susceptible HS）

8.2 鉴定有效性评价

当高感对照的病情指数大于40.0，该批次抗鞘腐病鉴定结果视为有效。

8.3 重复鉴定

玉米品种/种质的抗性初次鉴定为中抗以上时，次年进行重复鉴定。

8.4 抗性评价

根据重复抗性鉴定结果对鉴定材料进行抗病性评价，以记载的最高病情指数为最终鉴定结果。

9 档案管理

鉴定圃选择、鉴定材料、所用接种菌株的分布地点及编号、接种体繁殖、接种时间、接种时期、调查时间、调查数据、鉴定技术负责人、评价日期、评价结果等应统一归档管理，留存种子应在4℃储藏柜保留5年以上。

附 录 A
(资料性)
拟轮枝镰孢鉴定与培养

A.1 拟轮枝镰孢学名和形态描述

学名: *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg

拟轮枝镰孢在培养基上产生卷毛状白色或者淡紫色的菌丝，培养时间越长逐渐变为灰紫色、深紫色乃至黑色。大型分生孢子细长呈镰刀，3个~5个隔膜，大小在(21.7 μm~40.5 μm)×(4.7 μm~5.6 μm)，平均为 30.4 μm×4.0 μm；小型分生孢子椭圆形或棒槌形，较多，0个~1个隔，大小在(5.9 μm~9.2 μm)×(2.9 μm~4.2 μm)，平均为7.7 μm×3.7 μm。产孢梗通常呈现“V”字形，为单瓶梗或者复瓶梗。

A.2 镰孢菌不同种和复合种的分子检测

对形态学鉴定初步确认为镰孢菌的分离物进行镰孢种的分子检测。

镰孢属和主要镰孢菌种分子检测的特异性引物，基因扩增引物见表A.1。

TEF-1α基因片段扩增的50.0 μL反应体系：1U的Taq聚合酶0.5 μL，10×PCR buffer 5.0 μL，dNTP (2.5 mM) 4.0 μL，引物 (10 μmol/L) 各1.0 μL，DNA模板2.5 μL，加ddH₂O补足至50.0 μL。PCR扩增条件：94℃预变性4 min，94℃变性40 s，53℃退火40 s，72℃延伸1 min，35个循环，72℃延伸10 min，4℃保存。

表A.1 镰孢属和种的特异性引物

镰孢菌种/鉴定基因	引物	引物序列 (5'-3')	扩增片段 (bp)	退火温度 (℃)
镰孢菌属 <i>Fusarium</i> spp.	ItsF	AACTCCCAAACCCCTGTGAACATA	431	58
	ItsR	TTTAACGGCGTGGCCGC		
拟轮枝镰孢 <i>F. verticillioides</i>	VER1	CTTCCTGCGATGTTTCTCC	578	56
	VER2	AATTGGCCATTGGTATTATATATCTA		
	SUB2	CAGTATGGACGTTGGTATTATATCTAA		
<i>TEF-1α</i>	TEF-F	5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3'	700	55
	TEF-R	5'-GGARGTACCAGTSATCATGTT-3'		

A.3 镰孢菌培养与保存

A.3.1 马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (Potato dextrose agar medium, PDA)

马铃薯200 g，葡萄糖20 g，琼脂18 g~20 g，蒸馏水1000 mL。分装在三角瓶中后121℃高压灭菌20 min后备用。PDA培养基用于镰孢菌生长培养及菌种保存，培养温度为25℃，保存温度为4℃。

A.3.2 马铃薯葡萄糖液体培养基 (Potato dextrose medium, PD)

马铃薯200 g，葡萄糖20 g，蒸馏水1000 mL。分装在三角瓶中 (500 mL三角瓶中分装150 mL)，121℃高压灭菌20 min后备用。PD培养基用于镰孢菌的菌丝培养 (用于病菌DNA提取) 和产孢培养。

附 录 B
(资料性)
鉴定对照材料

B.1 鉴定对照材料

抗性鉴定采用对照材料为2个自交系：齐319（中抗）、罗31（高感）。

附 录 C
(规范性)
鉴定记载表格

C.1 鉴定记载表格

玉米抗鞘腐病抗性鉴定种质编号、名称、病情级别根据分级标准进行记载，并计算病情指数，评价抗性类型，见表C.1。

表C.1 _____年玉米抗鞘腐病鉴定结果记载表

编号	品种/种质名称	病情级别						病情指数	抗性
		0	1	3	5	7	9		

鉴定技术负责人（签字）：

评价日期：
