

2017—2021 年陇南条锈菌有性菌系毒性结构分析

贾秋珍^{1,2,3}, 张 勃^{1,2,3}, 曹世勤^{2,3,4}, 王晓明^{1,2,3}, 孙振宇^{1,2,3}, 黄 瑾^{1,2,3}, 骆惠生^{1,2,3}, 李青青^{1,2,3}

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 农业农村部天水作物有害生物野外科学观测实验站, 甘肃 甘谷 741200; 3. 农业农村部国家植物保护甘谷观测实验站, 甘肃 甘谷 741200; 4. 甘肃省农业科学院小麦研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 有性菌系监测研究对揭示其在条锈菌变异中的作用及新小种的发现具有重要意义。2017—2021 年对甘肃陇南条锈菌越夏区感病转主寄主小檗种类进行了调查, 从天水市秦州区, 陇南市成县、西和县 3 种小麦条锈菌感病转主寄主小檗上获得了 67 个有性菌系共计 454 个单孢。将其先后接种于中国鉴别寄主上进行苗期毒性鉴定, 结果发现, 天水陇南主要感病转主寄主为堆花小檗、短柄小檗及假猪豪刺。在已归类小种类型中, 共鉴定出 28 个生理小种和致病类型。优势小种类型均为条中 34 号、条中 32 号、条中 33 号、贵 22-14, 出现频率分别为 14.54%、15.86%、4.85%、3.96%。未归小种类型中, 洛类、贵农、水源、Hy 和中四类型出现频率分别为 1.98%、15.64%、12.56%、8.15%、4.63%。这为阐明陇南越夏区条锈菌毒性群体结构复杂, 该区是条锈菌新小种的策源地提供了数据支撑。

关键词: 陇南越夏区; 转主寄主; 小檗; 条锈菌; 有性菌系; 毒性结构

中图分类号: S435.121.42

文献标志码: A

文章编号: 2097-2172(2022)01-0094-05

doi: 10.3969/j.issn.2097-2172.2022.01.018

Analysis on Population Structure and Virulence of the Sexual Isolates of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* from Southern Gansu Province during 2017—2021

JIA Qiuzhen^{1,2,3}, ZHANG Bo^{1,2,3}, CAO Shiqin^{2,3,4}, WANG Xiaoming^{1,2,3}, SUN Zhenyu^{1,2,3}, HUANG Jin^{1,2,3}, LUO Huisheng^{1,2,3}, LI Qingqing^{1,2,3}

(1. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pests in Tianshui, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R. China, Gangu Gansu 741200, China; 3. National Agricultural Experimental Station for Plant Protection at Gangu, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R. China, Gangu Gansu 741200, China; 4. Wheat Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: Monitoring the sexual production of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* (*Pst*) is of great importance in ascertaining the variation reasons of the new isolates of *Pst* in population structure and virulence. To understand population structure and virulence of *Pst* infecting alternate host of *Berberis*, from 2017 to 2021, 67 sexual isolates about 454 single spores were obtained in infected leaves of *Berberis* from Qinzhou, Chengxian, Xihe, which were at over-summering area of *Pst*, and then isolated and identified in Chinese differential cultivars in seeding stage. The results showed that the infected alternate host of *Berberis* were *Berberis brachypoda*, *Berberis aggregate* and *Berberis soulieana* in Tianshui and Longnan. There were 28 races/isolates identified. The main races/isolates were CYR34, CYR32, CYR33, G22-14, and their frequencies were 14.54%, 15.86%, 4.85% and 3.96%, respectively. Undefined types included Lovin types, Guinong types, Shuiyuan types, Hy types and Zhong 4 types, and their frequencies were 1.98%, 15.64%, 12.56%, 8.15% and 4.63%, respectively. According to these studies, the results cleared that the population structure and virulence of over-summering area of southern Gansu Province were complex, it is heart and key area of Chinese prevalent scope of *Pst*.

Key words: Over-summering area of southern Gansu Province; Alternate host; *Berberis*; *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*; Sexual-isolate; Population structure

收稿日期: 2022-08-29

基金项目: 国家自然科学基金(31860484); 国家重点研发计划(2021YFD1401001-08); 金城科普专家项目。

作者简介: 贾秋珍(1963—), 女, 陕西大荔人, 研究员, 主要从事小麦条锈病研究工作。Email: jiaqiuzhen@163.com。

通信作者: 张 勃(1980—), 男, 陕西西安人, 博士, 主要从事小麦条锈病研究工作。Email: zbo29@163.com。

条锈菌毒性不断变异是造成小麦条锈病频繁发生及品种抗病性丧失的主要原因^[1-3]。对条锈菌变异开展监测研究是我国条锈病持续控制对策中的一项长期性、基础性工作,并在条锈病有效防控中发挥了极其重要的作用^[1,4]。近年来的研究发现,小麦条锈菌是全孢型长循环生活史类型锈菌,能够产生 5 种类型锈菌孢子(0 为性孢子, I 为锈孢子; II 为夏孢子; III 为冬孢子; IV 为担孢子),生活史过程是在主要寄主小麦上完成无性繁殖,在转主寄主小檗或十大功劳上完成有性繁殖^[5-12]。有性生殖是条锈菌毒性变异的主要来源之一,这不仅为长期从事小麦条锈菌毒性变异监测的植物病理学者们提供了新的研究领域,而且对条锈菌新小种的侦察及条锈病防治策略的进一步完善具有重要意义。基于此,甘肃省农业科学院植物保护研究所小麦锈菌研究团队自 2017 年始,对陇南越夏区感病转主寄主小檗进行了初步调查,并对从其中分离获得的有性单孢菌系进行了生理小种鉴定,旨在为该区域小麦条锈病的持续控制提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 感病小檗锈子器采集

自 2017 年始,每年 5 月底至 6 月中下旬,在甘肃陇南条锈菌越夏区的天水市秦州区、陇南市成县、西和县,借助《中国植物志》第 29 卷(电子版网址: <http://frps.eflora.cn/>)^[13],对小檗科(Berberidaceae)小檗属(*Berberis*)的记录种,采用书本对照与专家确认相结合的办法,对该区域发病小檗进行生物学种类鉴定。在此基础上,对自然感病的小檗采集成熟锈子器后,剪成 20 cm 左右小段,15~20 段为 1 捆,及时用泥土包埋枝条下端,置于纸杯中做短暂性保鲜处理,以避免叶片失水萎蔫,保障锈孢子的活力及有性菌系分离所需。

1.2 有性菌系分离

对不同区域采集到的不同种类感病小檗,在甘肃省农业科学院植物保护研究所兰州低温温室,用清水喷湿锈子器后,置于第 1 叶展开并喷有均匀露珠的感病小麦品种铭贤 169 麦苗上方,以便锈孢子吸水弹射于感病小麦苗上。随后在 9~12℃下黑暗保湿 48 h,移入 14~18℃低温温室培养,15~20 d 后检查发病情况。对出现花斑并长出条锈菌的叶片,用玻璃罩隔离培养。每个叶片

为 1 个有性菌系,对获得的不同有性菌系编号保存,以备单孢分离。

1.3 有性单孢菌系的分离鉴定

在兰州温室,对获得的有性菌系用孢子沉降塔进行单孢菌系分离,对分离的单孢菌系在铭贤 169 上扩繁并在中国鉴别寄主上进行表型鉴定。反应型分级采用 0、0₁、1、2、3、4 共六级标准。通过抗感反应与中国条锈菌模式菌种划分标准进行归类比较测定有性菌系毒性。

2 结果与分析

2.1 陇南越夏区主要感病小檗种类

2017—2021 年 5 月底至 6 月中下旬,对甘肃陇南条锈菌越夏区发病转主寄主小檗种类进行调查发现,天水市秦州区娘娘坝镇徐家店村优势种群为短柄小檗(*B. brachypoda* Maxim);天水市秦州区娘娘坝镇钱家坝村优势种群为堆花小檗(*B. aggregata* Schneid);天水市秦州区大门镇和麦积区麦积镇下李庄村优势种群均为堆花小檗和短柄小檗;陇南市成县鸡峰山优势种群为堆花小檗,其次是假豪猪刺(*B. soulieana* Schneid);陇南市西和县城关镇优势种群是堆花小檗。

2.2 有性菌系分离结果

2017—2021 年对采集的发病小檗叶片上锈子器中的锈孢子进行分离,共获得 67 个有性菌系,共计 454 个单孢。其中 2017 年 6 个有性菌系,32 个单孢;2018 年 2 个有性菌系,24 个单孢;2019 年 28 个有性菌系,178 个单孢;2020 年 13 个有性菌系,127 个单孢;2021 年 18 个有性菌系,93 个单孢(表 1)。

2.3 有性单孢菌系鉴定

对 2017—2021 年获得的 454 个有性条锈菌单孢菌系进行毒性分析发现,5 年间已归类型有 243 个,未归类型有 211 个,分别占 53.52% 和 46.48%。其中已归类型中,共监测到洛 13-3、洛 13-8、条中 32 号、Hy4、Hy8、Hy29、Hy30、Hy103、条中 33 号、水 3、水 4、水 5、水 5-2、水 7、水 35、水 159、条中 34 号、贵 22-13、贵 22-14、贵 22-51、贵 22-74、贵 22-78、贵 22-83、贵 22-104、贵 22-108、ZS-1、ZS-18、ZS-52 等 28 个生理小种和致病类型(表 2)。

2.3.1 已归类型 2017 年 6 个有性菌系 32 个单

表 1 2017—2021 年陇南越夏区条锈菌有性菌系获得地点及数量

采集地点	2017年		2018年		2019年		2020年		2021年		合计	
	有性菌 系数	单孢 数	有性菌 系数	单孢 数	有性菌 系数	单孢 数	有性菌 系数	单孢 数	有性菌 系数	单孢 数	有性菌 系数	单孢 数
	天水市秦州区皂郊镇徐家店村	3	10			6	46	7	70	13	69	29
天水市秦州区娘娘坝镇钱家坝村	1	10	1	17	7	43	3	27			12	97
天水市秦州区镇					8	59					8	59
天水市麦积区麦积镇下李庄村	1	2									1	2
陇南市成县鸡峰山	1	10	1	7	6	25	1	10	5	24	14	76
陇南市西和县城关镇					1	5	2	20			3	25
合计	6	32	2	24	28	178	13	127	18	93	67	454

表 2 2017—2021 年监测出的小麦条锈菌有性菌系类型及所占比例

归类	小种 类型	小种/菌系 类型	有性菌系/个					合计 /个	所占比例 /%	
			2017年	2018年	2019年	2020年	2021年			
洛13类	洛13类	洛13-3			1		3	4	0.88	
		洛13-8			1		1	2	0.44	
HY类群	条中 32 号	Hy4	4	2	24	24	18	72	15.86	
		Hy8			2		3	2	0.44	
		Hy29			3	2	3	8	1.76	
		Hy30				1		1	0.22	
		Hy103					1	1	0.22	
		水源类群	条中 33 号			9	8	5	22	4.85
		水3		1	1			2	0.44	
水4			1			1	0.22			
水5	1					1	0.22			
水5-2				1			1	0.22		
水7				1			1	0.22		
水35				7			7	1.54		
水159				3			3	0.66		
贵农类群	条中34号	贵22-13	1	2	17	24	22	66	14.54	
		贵22-14		2	4	7	5	18	3.96	
		贵22-51				1		1	0.22	
		贵22-74				1		1	0.22	
		贵22-78			1	2		3	0.66	
		贵22-83					1	1	0.22	
		贵22-104					2	2	0.44	
		贵22-108				3	4	7	1.54	
		中四类群	ZS-1		1	1	4	2	8	1.76
ZS-18	1			3		4	0.88			
ZS-52	1			1		2	0.44			
未归 类型	洛13类 Hy类 水源类 贵农类 中四类 其他类	洛13类			3	2	4	9	1.98	
		Hy类			21	11	5	37	8.15	
		水源类	7	4	35	8	3	57	12.56	
		贵农类	11	9	20	20	11	71	15.64	
		中四类	4	2	12	2	1	21	4.63	
		其他类	2	1	10	1	2	16	3.52	

孢, 共监测出已知小种类型 8 个, 占监测出小种类型的 25.00%, 其中条中 32 号 4 个, 占 12.50%; 条中 34 号 1 个, 占 3.13%; 水 5 类型 1 个, 占 3.13%; ZS-18、ZS-52 类型各 1 个, 均占 3.13%。2018 年 2 个有性菌系 24 个单孢, 共监测出已知小种类型 8 个, 占监测出小种类型的 33.33%, 其中条中 32 号、条中 34 号、贵 22-14 各 2 个, 各占 8.33%; 水 3 类型、ZS-1 类型各 1 个, 各占 4.17%。2019 年 28 个有性菌系 178 个单孢, 共监测出已知小种类型 77 个, 占监测出小种类型的 43.26%, 其中洛 13-3、洛 13-8 类型各 1 个, 各占 0.56%; 条中 32 号 24 个, 占 13.48%; Hy4 类型 2 个, 占 1.12%; Hy8 类型 3 个, 占 1.69%; 条中 33 号 9 个, 占 5.06%; 条中 34 号 17 个, 占 9.55%; 贵 22-14 类型 4 个, 占 2.25%; 贵 22-78 类型 1 个, 占 0.56%; ZS-1 类型 1 个, 占 0.56%。2020 年 13 个有性菌系 127 个单孢, 共监测出已知小种类型 83 个, 占监测出小种类型的 65.35%, 其中条中 32 号 24 个, 占 18.90%; Hy8 类型 2 个, 占 1.57%; Hy29 类型、Hy103 类型各 1 个, 各占 0.78%; 条中 33 号 8 个, 占 6.30%; 条中 34 号 24 个, 占 18.90%; 贵 22-14 类型 7 个, 占 5.51%; 贵 22-13 类型、贵 22-51 类型、贵 22-74 类型各 1 个, 各占 0.78%; 贵 22-78 类型 2 个, 占 1.57%; 贵 22-108 类型 3 个, 占 2.36%; ZS-1 类型 4 个, 占 3.15%; ZS-18 类型 3 个, 占 2.36%; ZS-52 类型 1 个, 占 0.79%。2021 年 13 个有性菌系 93 个单孢, 共监测出已知小种类型 67 个, 占监测出小种类型的 72.04%, 其中洛 13-3 类型 3 个, 占 3.49%, 洛 13-8 类型 1 个, 占 1.16%; 条中 32 号 18 个, 占 19.36%; Hy8 类型 3 个, 占 3.23%; Hy30 类型 1 个, 占 1.08%; 条中 33 号 5 个, 占 5.38%; 条中 34 号 22 个, 占 23.66%; 贵 22-14 类型 5 个, 占 5.38%; 贵 22-83 类型 1 个, 占 1.08%; 贵 22-104 类型 2 个, 占 2.15%; 贵 22-108 类型 4 个, 占 4.30%; ZS-1 类型 2 个, 占 2.15%。

2.3.2 未归类型

2017 年共监测出未归小种类型 24 个, 占监测出小种类型的 75.00%, 分别是水源未归 7 个, 占 21.88%; 贵农未归 11 个, 占 34.38%; 中四未归 4 个, 占 12.50%; 未归其他 2 个, 占 6.25%。2018 年共监测出未归小种类型 16

个, 占监测出小种类型的 66.67%, 分别是水源未归 4 个, 占 16.67%; 贵农未归 9 个, 占 37.50%; 中四未归 2 个, 占 8.33%; 未归其他 1 个, 占 4.17%。2019 年共监测出未归小种类型 101 个, 占监测出小种类型的 56.74%, 分别是洛 13 类未归 3 个, 占 1.69%; Hy 未归 21 个, 占 11.80%; 水源未归 35 个, 占 19.67%; 贵农未归 20 个, 占 11.24%; 中四未归 12 个, 占 6.74%; 未归其他 10 个, 占 5.62%。2020 年共监测出未归小种类型 44 个, 占监测出小种类型的 34.65%, 分别是洛类未归 2 个, 占 1.57%; 水源未归 8 个, 占 6.30%; Hy 未归 11 个, 占 8.66%; 贵农未归 20 个, 占 15.48%; 中四未归 2 个, 占 1.57%; 未归其他 1 个, 占 0.79%。2021 年共监测出未归小种类型 26 个, 占监测出小种类型的 27.96%, 分别是洛类未归 4 个, 占 4.30%; Hy 未归 5 个, 占 5.38%; 水源未归 3 个, 占 3.23%; 贵农未归 11 个, 占 11.83%; 中四未归 1 个, 占 1.08%; 未归其他 2 个, 占 2.15%。

3 讨论与结论

从近年来的调查结果看, 转主寄主小檠在陇南越夏区广泛分布, 但不同海拔及生境条件下优势小檠种类不一。如在天水市秦州区皂郊镇徐家店村, 优势种群为植株高大(株高 2.0 m 以上)、枝叶繁茂且叶片大并柔嫩多汁的短柄小檠, 而在距离不足 20 km 的秦州区娘娘坝镇钱家坝村, 优势种群变为植株矮小(株高 0.5 ~ 1.0 m)、叶片小的堆花小檠; 在陇南市成县鸡峰山的阳坡处, 也多以植株矮小的堆花小檠为主, 在阴凉环境下主要是株高在 1.0 m 左右、叶片坚硬且肥厚的假豪猪刺为主; 与此同时, 由于各地气候条件不一, 小檠发病高峰也不一致, 其中假豪猪刺一般为于 5 月中下旬, 短柄小檠和堆花小檠一般在 5 月下旬至 6 月上旬。

研究发现, 转主寄主小檠在条锈病病原菌抗逆存活、新小种产生、病原菌群体遗传多样性以及提供菌源感染小麦等主要寄主中起作用^[12]。在不同的气候条件下, 转主寄主小檠和主要寄主的物候期重合性在小檠对小麦条锈菌的作用中存在一定差异^[14]。在陇南越夏区, 采集点的感病小檠与小麦田临近或直线距离均不超过 1 km, 而且小檠发病时田间小麦正处于扬花灌浆期, 产生的锈

孢子可随风着落于临近小麦叶片上并定殖、存活和繁殖、蔓延。陇南越夏区麦秸垛的广泛存在为冬孢子的存活、4月下旬到5月上旬后降水量的偏多为冬孢子的萌发和侵染小檉叶片提供了有利条件。这也进一步证明了诸多结论,如陇南越夏区小麦条锈菌群体有丰富的群体遗传多样性和高度的毒性变异特点,是条锈菌毒性基因库^[15];天水地区的小麦条锈菌群体表型和基因型显著不同于进行严格无性繁殖的欧洲、澳大利亚和新西兰群体^[16],群体遗传多样性丰富度方面较法国 20 a 累积群体高 7 倍^[17]。其主要原因是转主寄主小檉的广泛分布及哺育品种大量存在所致。本研究结果表明,5 年间有性菌系群体中条中 32 号共监测出 72 个,占 15.86%,居第 1 位;其次是条中 34 号 66 个,出现频率 14.54%;条中 33 号 22 个,占 4.85%;贵 22-14 类型 18 个,占 3.96%。2017—2021 年甘肃省 1 728 份条锈菌无性菌系中,条中 34 号共监测出 508 个,占 29.40%,居第 1 位;条中 32 号共监测出 297 个,占 17.19%,居第 2 位;贵 22-14 类型 83 个,占 4.80%,居第 3 位;条中 33 号监测出 76 个,占 4.40%,居第 4 位^[18]。有性与无性条锈菌优势小种及类型总趋势基本一致。有性菌系各年度间均监测出不同比例的 ZS 菌系。这也进一步证明了陇南越夏区条锈菌群体毒性结构复杂,是中国小麦条锈菌常发易变区的原因所在。

参考文献:

- [1] 李振岐,曾士迈. 中国小麦锈病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [2] 韩德俊,康振生. 中国小麦品种抗条锈病现状及存在问题与对策[J]. 植物保护, 2018, 44(5): 1-12.
- [3] 康振生,王晓杰,赵杰,等. 小麦条锈菌致病性及其变异研究进展[J]. 中国农业科学, 2015, 48(17): 3439-3453.
- [4] 曹世勤,贾秋珍,宋建荣,等. 甘肃省冬小麦抗条锈菌 CYR34 育种策略[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(5): 1129-1133.
- [5] ZHAO J, WANG L, WANG Z Y, et al. Identification of eighteen species as alternate hosts of *Puccinia striiformis* f.sp. tritici and virulence variation in the pathogen isolates from natural infection of barberry plants in China [J]. Phytopathology, 2013, 103: 927-934.
- [6] JIN Y, SZABO L, CARSON M, et al. Century-old mystery of *Puccinia striiformis* life history solved with the identification of *Berberis* as an alternate host[J]. Phytopathology, 2010, 100(5): 433-435.
- [7] WANG Z Y, ZHAO J, CHEN X M, et al. Virulence variation of *Puccinia striiformis* f.sp. tritici collected from *Berberis* spp. in China[J]. Plant Disease, 2016, 100: 131-138.
- [8] 刘尧,陈晓云,马云,等. 甘肃陇南感病小檉在小麦条锈病发生中起提供(初始)菌源作用的直接证据[J]. 植物病理学报, 2021, 51(3): 366-380.
- [9] 赵杰,张宏昌,姚娟妮,等. 中国小麦条锈菌转主寄主小檉的鉴定[J]. 菌物学报, 2011, 30(6): 895-900.
- [10] 李巧,覃剑锋,赵元元,等. 源自陕、甘野生小檉的小麦条锈菌有性生殖后代的毒性分析[J]. 植物病理学报, 2016, 46(6): 809-820.
- [11] ZHAO J, WANG MN, CHEN XM, et al. Role of alternate hosts in epidemiology and pathogen variation of cereal rust [J]. Annual Review of Phytopathology, 2016, 54: 207-228.
- [12] 赵杰,郑丹,左淑霞,等. 小麦条锈菌有性生殖与毒性变异的研究进展[J]. 植物保护学报, 2018, 45(1): 7-19.
- [13] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志: 第 29 卷 [M/OL]. 北京: 科学出版社, 2004 [2015-12-01]. <http://frps.eflora.cn/>.
- [14] WANG M N, WAN A M, CHEN X M. Barberry as alternate host is important for *Puccinia graminis* f. sp. tritici but not for *Puccinia striiformis* f. sp. tritici in the U.S. Pacific Northwest[J]. Plant Disease, 2015, 99(11): 1507-1516.
- [15] 谢水仙,万安民,张庆勤,等. 小麦新资源对条锈病白粉病的抗性鉴定[J]. 植物保护, 1997, 23(6): 4-6.
- [16] MBOUP M, LECONTE M, GAUTIER A, et al. Evidence of genetic recombination in wheat yellow rust populations of a Chinese overwintering area[J]. Fungal Genetics and Biology, 2009, 46: 299-307.
- [17] DUAN X Y, TELLIER A, WAN A M, et al. *Puccinia striiformis* f. sp. tritici presents high diversity and recombination in the overwintering zone of Gansu, China [J]. Mycologia, 2010, 102(1): 44-53.
- [18] 贾秋珍,曹世勤,王晓明,等. 2017 年—2018 年甘肃省小麦条锈菌生理小种变异监测[J]. 植物保护, 2021, 47(2): 214-218.