

玉米南方锈病菌和普通锈病菌的快速区分方法

A fast method for distinguishing southern rust pathogen *Puccinia polysora* from common rust pathogen *Puccinia sorghi*

黄莉群 张克瑜 董佳玉 孙秋玉 李磊福 马占鸿*

(中国农业大学植物保护学院植物病理学系, 北京 100193)

HUANG Liqun ZHANG Keyu DONG Jiayu SUN Qiuyu LI Leifu MA Zhanhong*

(Department of Plant Pathology, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

玉米锈病是我国玉米生产中的重要病害,其病原菌隶属于担子菌亚门冬孢菌纲锈菌目柄锈菌属真菌。我国发生的玉米锈病主要是玉米南方锈病和普通锈病(梁克恭和武小菲,1993),分别由多堆柄锈菌 *Puccinia polysora* 和高粱柄锈菌 *P. sorghi* 引起。多堆柄锈菌夏孢子呈圆形或椭圆形,表面有少量刺状突起,橘黄色至红褐色(赵志祥等,2018)。高粱柄锈菌夏孢子近似球形或椭圆形,淡黄色或黄褐色,表面有微刺(傅俊范等,2011)。段定仁和何宏珍(1984)在海南省首次发现玉米南方锈病,此后该病逐年往北蔓延。玉米南方锈病危害较大,严重时可导致绝收。该病北移后,有些地区2种玉米锈病混合发生,给玉米锈病的鉴别和监测预警工作带来了困难。国内外学者采用分子鉴定方法对玉米锈病类型进行检测区分,如Crouch & Szabo(2011)采用实时荧光定量PCR技术将高粱柄锈菌和多堆柄锈菌加以区分;冷伟锋等(2012)利用ITS序列对我国玉米锈病进行了分子检测;马庆周等(2017)利用3对引物也对河南省玉米锈病病原菌进行了诊断,但分子鉴定过程繁琐,试验成本高,所需时间长,不适于实际生产。为了寻找一种快速、简便鉴别高粱柄锈菌和多堆柄锈菌这2种玉米锈病病原菌的方法,本研究拟采用硫酸和盐酸对这2种玉米锈菌夏孢子进行处理,并对处理后的形态进行观察和分析,以期为玉米锈病的快速诊断和鉴别提供方法。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌种:自海南省三亚市新鲜玉米叶片上采集玉米南方锈菌夏孢子堆,经温室扩繁获得新鲜夏

孢子;自宁夏回族自治区固原市新鲜玉米叶片上采集玉米普通锈菌夏孢子堆,经温室扩繁获得新鲜夏孢子。

试剂及仪器:试剂均为国产分析纯。Primo Star 正置显微镜,德国Carl Zeiss公司。

1.2 方法

将36%~38%盐酸、98%硫酸分别与水按照35:65、55:45、75:25、95:5和100:0体积比稀释。用接种针分别挑取每种玉米锈菌的少量新鲜夏孢子粉,置于滴有不同体积比盐酸和硫酸的载玻片上,待锈菌夏孢子在酸溶液中充分散开,盖上盖玻片,立即于10×10倍和10×40倍显微镜下由低倍到高倍观察原生质体收缩情况,并拍照,以清水处理为对照。不同体积比2种酸处理后每种玉米锈菌夏孢子随机选取3个视野,每个视野随机选取50~80个夏孢子,统计原生质体发生变化的夏孢子个数,并计算其在所观察夏孢子数中所占的比例,每个处理重复3次。

2 结果与分析

2.1 清水处理后2种玉米锈菌夏孢子的形态

经清水处理后,高粱柄锈菌和多堆柄锈菌2种玉米锈菌新鲜夏孢子在显微镜下均未发生原生质体收缩现象,两者颜色差异不大,形态接近,在显微镜下极难分辨(图1-a、d)。

2.2 盐酸处理后2种玉米锈菌夏孢子的形态

当盐酸与水体积比为35:65、55:45时,高粱柄锈菌和多堆柄锈菌夏孢子原生质体都没有明显变化;当体积比为75:25、95:5时,高粱柄锈菌夏孢子原生质体收缩为多个小团,其比例为100%,而多堆柄锈菌夏孢子原生质体收缩为1个大团,比例为

100%,且盐酸与水体积比为95:5时两者差异最为明显(图1-b、e);当体积比达到100:0时,高粱柄锈

菌夏孢子原生质体则不再发生收缩,但多堆柄锈菌夏孢子原生质体依然收缩为1个大团。

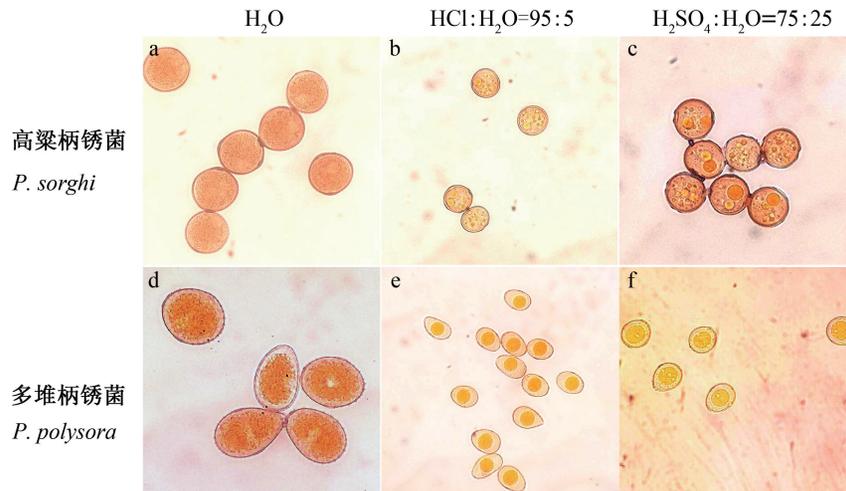


图1 显微镜下高粱柄锈菌和多堆柄锈菌夏孢子形态(10×40倍)

Fig. 1 Forms of the urediospore of *Puccinia sorghi* and *P. polysora* (10×40 times)

2.3 硫酸处理后2种玉米锈菌夏孢子的形态

当硫酸与水体积比为35:65、55:45、95:5和100:0时,高粱柄锈菌和多堆柄锈菌夏孢子原生质体均没有变化,但当体积比为75:25时,高粱柄锈菌和多堆柄锈菌夏孢子原生质体出现了差异,前者收缩为多个小团,比例为100%(图1-c),后者收缩为1个大团,比例也为100%(图1-f)。

3 讨论

本研究结果表明,当盐酸与水体积比为95:5、硫酸与水体积比为75:25时,2种玉米锈菌夏孢子原生质体变化较大,很容易区分,可作为区分这2种玉米锈病的新方法。该方法具有孢子用量少、成本低、方便、快捷等优点。本研究中经盐酸和硫酸处理后观察到的2种玉米锈菌夏孢子原生质体浓缩状况与陈万权等(2008)采用盐酸对小麦锈菌处理后所观察到的结果不尽相同。陈万权等(2008)研究发现叶锈菌和秆锈菌夏孢子活力、盐酸浓度、病原菌生理小种对盐酸处理后条锈菌夏孢子原生质体浓缩状况有较大影响。因此,36.5%浓盐酸处理后锈菌夏孢子的原生质体浓缩状况只能作为小麦锈病田间快速诊断检测的辅助手段,不能作为锈病种类鉴别的唯一标准。

参考文献 (References)

CHEN WQ, LIU TG, YU XM. 2008. Morphological observation of wheat rust urediniospores with hydrochloric acid solutions. *Plant Protection*, 34(6): 70-73 (in Chinese) [陈万权, 刘太国, 余秀梅. 2008. 小麦锈菌夏孢子经盐酸处理后的形态观察. *植物保护*, 34(6): 70-73]

CROUCH JA, SZABO LJ. 2011. Real-time PCR detection and discrimination of the southern and common corn rust pathogens *Puccinia polysora* and *Puccinia sorghi*. *Plant Disease*, 95(6): 624-632

DUAN DR, HE HZ. 1984. Description of a rust *Puccinia polysora* on corn in Hainan Island. *Acta Mycologica Sinica*, 3(2): 125-126 (in Chinese) [段定仁, 何宏珍. 1984. 海南岛玉米上的多堆柄锈菌. *真菌学报*, 3(2): 125-126]

FU JF, KANG XJ, ZHOU RJ, YU SY. 2011. Identification of the pathogen of corn rust and its biological characteristics in Liaoning Province. *Journal of Maize Sciences*, 19(2): 135-139 (in Chinese) [傅俊范, 康晓军, 周如军, 于舒怡. 2011. 辽宁省玉米锈病病原菌鉴定及其生物学研究. *玉米科学*, 19(2): 135-139]

LENG WF, LI GZ, MA ZH. 2012. Distribution and molecular detection of corn rust in China. *China Plant Protection*, 32(12): 18-21 (in Chinese) [冷伟锋, 李桂芝, 马占鸿. 2012. 我国玉米锈病分布与分子检测. *中国植保导刊*, 32(12): 18-21]

LIANG KG, WU XF. 1993. The occurrence and harm of corn rust in China. *Plant Protection*, 19(5): 34 (in Chinese) [梁克恭, 武小菲. 1993. 我国玉米锈病的发生与为害情况. *植物保护*, 19(5): 34]

MA QZ, MA LL, ZHANG YL, YU SQ, GENG YH, ZHANG M. 2017. Molecular detection of the pathogens causing corn rust in Henan Province. *Journal of Plant Protection*, 44(3): 523-524 (in Chinese) [马庆周, 马乐乐, 张亚龙, 于思勤, 耿月华, 张猛. 2017. 河南省玉米锈病病原菌的分子检测. *植物保护学报*, 44(3): 523-524]

ZHAO ZX, XIAO M, CHEN Y, YAN WR, XIAO WB. 2018. Identification of com rust in district of off-season multiplication and research of pathogenic biological characteristic. *Molecular Plant Breeding*, 16(1): 289-296 (in Chinese) [赵志祥, 肖敏, 陈圆, 严婉荣, 肖彤斌. 2018. 南繁区玉米锈病种类鉴定及病原生物学特性. *分子植物育种*, 16(1): 289-296]

(责任编辑:张俊芳)