

研究报告

山西省草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)的鉴定及致病力分析

梁银萍[#], 许志宇[#], 吴凡, 朱慧森, 蒋霖, 赵宇民, 赵祥, 许庆方^{*}

山西农业大学草业学院, 山西 太谷 030801

梁银萍, 许志宇, 吴凡, 朱慧森, 蒋霖, 赵宇民, 赵祥, 许庆方. 山西省草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)的鉴定及致病力分析[J]. 微生物学通报, 2023, 50(10): 4389-4400.

LIANG Yinping, XU Zhiyu, WU Fan, ZHU Huisen, JIANG Lin, ZHAO Yumin, ZHAO Xiang, XU Qingfang. Identification and pathogenicity of *Blumeria graminis* f. sp. *poae* the BGP(TG) strain isolated from *Poa pratensis* infected with powdery mildew in Shanxi Province[J]. Microbiology China, 2023, 50(10): 4389-4400.

摘要: 【背景】草地早熟禾(*Poa pratensis*)是一种被广泛使用的兼具观赏性和设施性的冷季型草坪草, 白粉病的发生严重降低了草地早熟禾的质量和使用寿命。【目的】对山西农业大学温室草地早熟禾白粉病病原物进行分离、纯化、鉴定和致病力分析, 为草地早熟禾白粉病的防治提供理论依据。【方法】采用形态特征观察、核糖体内源转录间隔区(ribosomal DNA internally transcribed spacer, rDNA-ITS)序列分析进行分离株 BGP(TG)的鉴定; 通过分生孢子密集抖落接种法测定 BGP(TG)对 23 份草地早熟禾材料的致病力。【结果】草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)分生孢子串生、无色、椭圆形, 长和宽分别为(23.31–34.67) μm 和(11.33–15.77) μm , 成熟吸器为指状; rDNA-ITS 序列分子发育分析结果表明分离株 BGP(TG)与禾布氏白粉菌早熟禾专化型(*Blumeria graminis* f. sp. *poae*)聚于同一分支; BGP(TG)对 23 份草地早熟禾的致病力测定结果显示, 白粉病发病率为 49.47%–77.72%, 病情指数为 14.41–53.12; 仅‘太行’草地早熟禾对 BGP(TG)表现为中抗, ‘应县’‘黑杰克’和‘浑源’草地早熟禾表现为中感, ‘探险家’和‘奖品’草地早熟禾表现为极感, 其余 17 个品种表现为高感, 占比达 73.91%。【结论】山西省草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)的致病力较强,

资助项目: 山西农业大学博士科研启动经费(2020BQ74); 山西省高等学校科技创新项目(2021L166); 博士来晋工作奖励资金科研项目(SXBYKY2021023); 山西省中央引导地方科技发展资金(YDZJSX2022B006); 山西省重点研发计划(202102140601006)

[#]对本文贡献相同

This work was supported by the Doctoral Scientific Foundation of Shanxi Agricultural University (2020BQ74), the Scientific and Technological Innovation Program of Higher Education Institutions in Shanxi Province (2021L166), the Doctoral Scientific Foundation for Returned Scholars in Shanxi Province (SXBYKY2021023), the Shanxi Province Central Guide Local Science and Technology Development Fund (YDZJSX2022B006), and the Key Research and Development Program of Shanxi Province (202102140601006).

[#]These authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding author. E-mail: xuqfsxau@126.com

Received: 2023-06-08; Accepted: 2023-08-17; Published online: 2023-09-13

进一步挖掘‘太行’草地早熟禾的抗白粉病基因，对草地早熟禾抗白粉病育种工作具有重要意义。

关键词：草地早熟禾；禾布氏白粉菌；病原鉴定；致病力

Identification and pathogenicity of *Blumeria graminis* f. sp. *poae* the BGP(TG) strain isolated from *Poa pratensis* infected with powdery mildew in Shanxi Province

LIANG Yinping[#], XU Zhiyu[#], WU Fan, ZHU Huisen, JIANG Lin, ZHAO Yumin, ZHAO Xiang, XU Qingfang^{*}

College of Grassland Science, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi, China

Abstract: [Background] *Poa pratensis* is a species of widely used ornamental and facility cold-season turfgrass. Powdery mildew caused by *Blumeria graminis* f. sp. *poae* seriously reduces the lawn quality and shortens the service life of *P. pratensis*. [Objective] To isolate, identify, and determine the pathogenicity of the isolate BGP(TG) and provide a theoretical foundation for the prevention and control of powdery mildew in *P. pratensis*. [Methods] BGP(TG) isolated from a greenhouse of Shanxi Agricultural University was identified based on the morphological characteristics and ribosomal DNA internally transcribed spacer (rDNA-ITS) sequence. The pathogenicity of the isolate was determined with 23 samples of *P. pratensis*. [Results] The conidiospores of the pathogen were in chains, colorless, and oval, with the size of (23.31–34.67) $\mu\text{m} \times (11.33–15.77) \mu\text{m}$ and finger-like mature haustoria. The phylogenetic analysis based on rDNA-ITS sequences showed that the BGP(TG) isolate and *B. graminis* f. sp. *poae* shared the same branch. The pathogenicity tests showed that the disease index ranged from 14.41 to 53.12, and the incidence ranged from 49.47% to 77.72% nine days after 23 samples of *P. pratensis* were inoculated with BGP(TG). Only the native species ‘Taihang’ in Shanxi Province showed moderate resistance to BGP(TG). ‘Yingxian’, ‘Black Jack’, and ‘Hunyuan’ showed moderate sensitivity, and ‘Explorer’ and ‘Award’ showed extreme sensitivity. The other 17 species showed high sensitivity, accounting for 73.91%. [Conclusion] The pathogenicity of BGP(TG) in Shanxi Province was strong. Mining the genes conferring resistance to powdery mildew from *P. pratensis* ‘Taihang’ will be of great significance for the breeding of *P. pratensis* with resistance to powdery mildew.

Keywords: *Poa pratensis*; *Blumeria graminis*; pathogen identification; pathogenicity

植物白粉病(powdery mildew)是最常见的植物病害之一^[1],是由子囊菌门(*Ascomycota*)锤舌菌纲(*Leotiomycetes*)白粉菌目(*Erysiphales*)真菌引起的一种分布广泛的植物专性活体寄生性病害^[2-3],白粉病病原物依赖于活体植物细胞生长、繁殖^[4-5],在全球范围内感染超过 10 000 种

被子植物^[2]。白粉病危害许多禾本科牧草和草坪草的生长与发育,如草地早熟禾(*Poa pratensis*)、狗牙根(*Cynodon dactylon*)、匍匐翦股颖(*Agrostis stolonifera*)、细叶羊茅(*Festuca filiformis*)和鸭茅(*Dactylis glomerata*)等,其中以草地早熟禾、狗牙根和细叶羊茅发病最重^[6-7]。禾本科植物白粉

病原物为禾布氏白粉菌(*Blumeria graminis*), 其形态特征为菌丝体外生, 吸器指状且深裂, 分生孢子串生, 分生孢子梗基部球形, 闭囊壳扁球形, 附属丝菌丝状, 异常退化, 少且短^[8]。白粉病危害禾草地上组织, 以叶和叶鞘受害较重, 发病时病部出现白色粉状霉层, 初期为小点状, 后汇集成片, 严重时覆盖整个叶片, 进而影响植物的光合作用, 提高呼吸强度和蒸腾速率, 最终导致叶片干枯死亡^[9-11], 对产草量、种子产量、牧草品质和适口性均有较严重的影响^[12]。

草地早熟禾是一种重要的多年生禾本科植物^[13], 是城市草坪建植中广泛使用的冷季型草坪草之一, 主要用于广场和公园的草坪建设^[14]。随着我国草坪业的迅速发展, 草坪建植面积的不断扩大和集约化管理程度的提高, 草坪病害的发生增多, 已逐渐成为降低草坪质量和缩短草坪利用年限的主要因素之一^[15-16], 白粉病对草地早熟禾的观赏价值和使用年限造成严重影响。在不同的地理生态环境中, 植物白粉菌通过与寄主长期的互作形成不同的生理小种^[17], 如莫龙飞等^[18]、袁悦等^[19]研究发现, 在山东和武汉地区引起甜瓜白粉病的病原菌为单囊壳属白粉菌 1 号生理小种, 而赵文言^[20]研究发现, 新疆南疆地区引起甜瓜白粉病的病原菌为单囊壳属白粉菌 5 号生理小种。Zhu 等^[21]于 2020 年首次报道了我国河南省草地早熟禾白粉病病原菌的研究, Bao 等^[22]于 2022 年首次报道了‘青海’扁茎早熟禾白粉病病原菌的研究, 但目前尚无关于山西省草地早熟禾白粉病的报道。国内外关于草地早熟禾白粉病抗性品种的筛选和病原菌致病力研究较少, 仅有 Czembor 等^[23]通过对不同生境草地早熟禾进行白粉病抗性筛选, 研究发现共 20 份草地早熟禾抗性较强, 其中湿地生境的高抗生态型比例最高; 董文科等^[24]通过室内抗性评价筛选到高抗草地早熟禾品种

‘黑杰克’。

药剂防治是植物白粉病防控的有效手段, 但是防治方法单一会引起化学农药的“3R”(即生物抗药性、有害生物再增猖獗和农药残留)问题^[25], 培育和种植抗性品种可减少杀菌剂的使用, 然而现有对白粉病具有较高水平抗性的草地早熟禾品种较少^[23,26]。本研究分离纯化山西农业大学温室草地早熟禾白粉病病原菌, 通过白粉菌形态学特征观察和分子手段对分离纯化的草地早熟禾白粉病病原菌进行鉴定, 并测定该病原菌对 23 份草地早熟禾材料的致病力, 以期对草地早熟禾白粉病抗性鉴定提供致病力强的白粉菌菌株, 对草地早熟禾白粉病的发生预测及绿色防控具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试草地早熟禾材料

供试的 23 份草地早熟禾材料由北京正道种业公司、北京克劳沃草业技术开发公司和山西农业大学草业学院提供(表 1)。

1.1.2 供试菌株的分离与保存

2021 年 9 月于山西农业大学草业学院温室(37°25'N, 112°35'E)采集草地早熟禾发白粉病叶片, 采用分生孢子抖落法接种于种植 30 d 的‘探险家’草地早熟禾幼苗, 待叶片上有白粉菌单孢子堆长出, 剪取生长状况较好的单个分生孢子堆, 利用单孢子堆纯化培养法和分生孢子抖落法接种于草地早熟禾幼苗, 连续纯化 5 代, 获得白粉菌分离株 BGP(TG)。白粉菌分离株 BGP(TG)在‘探险家’草地早熟禾活体植株上扩繁并保存, 每隔 15 d 利用分生孢子抖落法在‘探险家’草地早熟禾叶片上转接一次。期间, 草地早熟禾放置于光照培养箱中培养[设置温度为 20 °C; 光/暗周期为 16 h/8 h; 相对湿度(60±2)%]。

表 1 草地早熟禾品种(居群)及来源

Table 1 Information on tested species and sources of *Poa pratensis*

No.	Species	Source
1	探险家 Explorer	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
2	斗士 Fighter	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
3	蓝之梦 Blue Dream	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
4	优异 Merit	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
5	洁妮II JennyII	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
6	乐土 Paradise	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
7	奇迹 Miracle	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
8	幸运星 Lucky Star	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
9	珠峰 Everest	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
10	蓝神 Blue God	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
11	蓝仙儿 Blue Fairy	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
12	奖品 Award	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
13	如意 Ruyi	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
14	奔腾 Pentium	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
15	水星 Mercury	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
16	蓝精灵 Smurfs	北京正道种业有限公司 Beijing Rytway Seed Limited Company
17	黑杰克 Black Jack	北京克劳沃草业技术开发公司 Beijing Clover Seed and Turf Company
18	午夜 Midnight	北京克劳沃草业技术开发公司 Beijing Clover Seed and Turf Company
19	耐力 Endurance	北京克劳沃草业技术开发公司 Beijing Clover Seed and Turf Company
20	应县 Yingxian	山西农业大学草业学院 College of Grassland Science, Shanxi Agricultural University
21	太行 Taihang	山西农业大学草业学院 College of Grassland Science, Shanxi Agricultural University
22	新歌莱 NuGlade	山西农业大学草业学院 College of Grassland Science, Shanxi Agricultural University
23	浑源 Hunyuan	山西农业大学草业学院 College of Grassland Science, Shanxi Agricultural University

1.1.3 主要试剂和仪器

考马斯亮蓝 R-250 和 2×*Taq* PCR Mix, 北京索莱宝科技有限公司; PCR 引物, 生工生物工程(上海)股份有限公司。光照培养箱, 合肥达斯卡特生物科技有限公司; 光学显微镜, Olympus 公司; PCR 仪, Bio-Rad 公司; 超微量紫外可见分光光度计, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.2 病原菌鉴定

1.2.1 病原菌形态学观察

利用粘贴法^[27]观察草地早熟禾白粉病病原菌分生孢子的形态特征, 利用考马斯亮蓝染色法^[28]观察病原菌附着胞、吸器和分生孢子梗的形态。使用无菌水作为浮载剂, 在光学显微镜下进行观察和拍照。

1.2.2 病原菌分子生物学鉴定

收集新鲜草地早熟禾白粉病病原菌分生孢子, 利用十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)法提取病原菌分生孢子总 DNA^[29]。用真菌通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')对病原菌核糖体 DNA 内源转录间隔区(ribosomal DNA internally transcribed spacer, rDNA-ITS)进行序列扩增^[29]。PCR 反应体系(50 μL): 2×*Taq* PCR Mix 25 μL, 上、下游引物(10 μmol/L)各 2 μL, DNA 模板(30 ng/μL) 2 μL, ddH₂O 19 μL。PCR 反应条件: 94 °C 3 min; 94 °C 45 s, 55 °C 40 s, 72 °C 60 s, 35 个循环; 72 °C 10 min^[30]。用 1%

琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物合格后, 将其送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。所得的病原菌 rDNA-ITS 序列经拼接后, 利用 NCBI 对其进行序列比对, 使用 MEGA X 软件与匹配的其他白粉菌序列进行系统发育分析, 利用邻接法(neighbor-joining method)构建系统发育树, 利用自展检验法进行系统发育树的可靠性检验, 自展值(bootstrap)设置为 1 000 次。

1.3 草地早熟禾白粉菌致病力的测定

准备 23 份草地早熟禾材料草种, 选取籽粒饱满且大小均一的种子, 将其分别置于 23 个直径为 9 cm 的培养皿中用 75% 的酒精浸泡 1 min, 然后用无菌水将种子冲洗 3-5 次至无酒精气味, 用滤纸吸干种子表面的水分, 将种子均匀撒播在盛有灭菌基质(育苗基质:沙子的体积比为 2:1)的育苗钵(长 6 cm, 宽 6 cm, 高 11 cm)中, 播种量为 10 g/m², 并覆盖 2-3 mm 的蛭石。每份草地早熟禾材料播种 3 盆, 播种后将育苗钵置于光照培养箱内随机区组培养[设置温度 20 °C; 16 h/8 h 的光/暗周期; 相对湿度(60±2)%]。出苗前期每天喷洒水以保持水分充足, 出苗后每隔 5 d 浸灌一次。培养 1 个月后, 用白粉菌分生孢子密集抖落接种法进行接种, 分生孢子接种密度为 100-200 个/mm²[31]。接种后第 9 天, 每个重复随机调查 25 株, 统计植株叶片白粉病发病率、发病严重度并计算病情指数, 根据发病率和病情指数对分离株 BGP(TG)的致病力进行分析。草地早熟禾叶片感染白粉病的严重度分级标准参考董文科等[24], 抗性分级标准为: DI (disease index)=0, 免疫(immune, I); 0<DI<5.0, 高抗(highly resistant, HR); 5.0<DI<15.0, 中抗(moderately resistant, MR); 15.0<DI<25.0, 中感(moderately susceptible, MS); 25.0<DI<50.0, 高感(highly susceptible, HS); DI>50.0, 极感(extremely susceptible, ES)。病情指数计算公式为:

$$\text{病情指数(DI)} = \frac{\sum \text{各级病叶数} \times \text{分级}}{\text{叶数总和} \times \text{最高分级}} \times 100。$$

1.4 数据分析

利用 Microsoft Excel 2016 进行数据处理, 利用 SPSS 26.0 软件进行数据的统计分析(单因素方差分析, Duncan 法进行多重比较), 利用 Origin 2021 软件作图。

2 结果与分析

2.1 草地早熟禾白粉菌鉴定结果

2.1.1 病原菌形态学鉴定结果

利用光学显微镜观察草地早熟禾白粉病病原菌分生孢子的形态和大小, 同时测量分生孢子大小, 对病原菌进行初步鉴定。分离株 BGP(TG)分生孢子呈椭圆形且无色, 孢子长为 23.31-34.67 μm, 孢子宽为 11.33-15.77 μm (n=100), 长宽比为 2.08±0.24 (图 1A), 分生孢子串生成念珠状(图 1B), 分生孢子萌发产生的次生芽管顶端膨大形成附着胞(图 1C), 且会形成指状的成熟吸器从植物吸取养分(图 1D), 在菌丝上形成直立的分生孢子梗, 继而产生新的分生孢子(图 1E)。依据形态学特征将分离株 BGP(TG)初步鉴定为禾布氏白粉菌。

2.1.2 病原菌 rDNA-ITS 序列分析

利用 rDNA-ITS 引物对 BGP(TG)的目的序列进行 PCR 扩增, 测序后拼接得到长度约 581 bp 的 rDNA-ITS 序列, 将获得的序列提交到 GenBank, 登录号为 OQ845831, 在 NCBI 进行 BLAST 比对分析, 选择相似性比较高的基因序列构建系统发育树。结果显示分离株 BGP(TG)的 rDNA-ITS 序列与禾布氏白粉菌早熟禾专化型(*Blumeria graminis* f. sp. *poae*) (AB273523.1 和 MA452631.1) 聚于同一分支(图 2), 它们的亲缘关系较近, 因此将 BGP(TG)鉴定为禾布氏白粉菌早熟禾专化型(*B. graminis* f. sp. *poae*)。

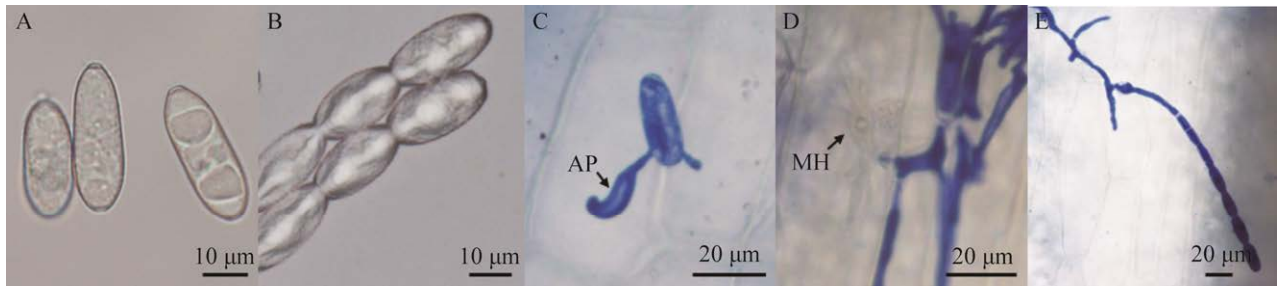


图 1 山西省草地早熟禾白粉病病原菌的形态特征 A: 未萌发的分生孢子. B: 串生分生孢子. C: 形成附着胞的分生孢子. D: 形成成熟吸器的分生孢子. E: 分生孢子梗和分生孢子. AP: 附着胞; MH: 成熟吸器

Figure 1 Morphological characteristics of powdery mildew pathogen of *Poa pratensis* in Shanxi Province. A: Ungerminated conidia. B: Serial conidia. C: Conidia with appressorium. D: Conidia with mature haustoria. E: Conidiophore and conidia. AP: Appressorium; MH: Mature haustoria.

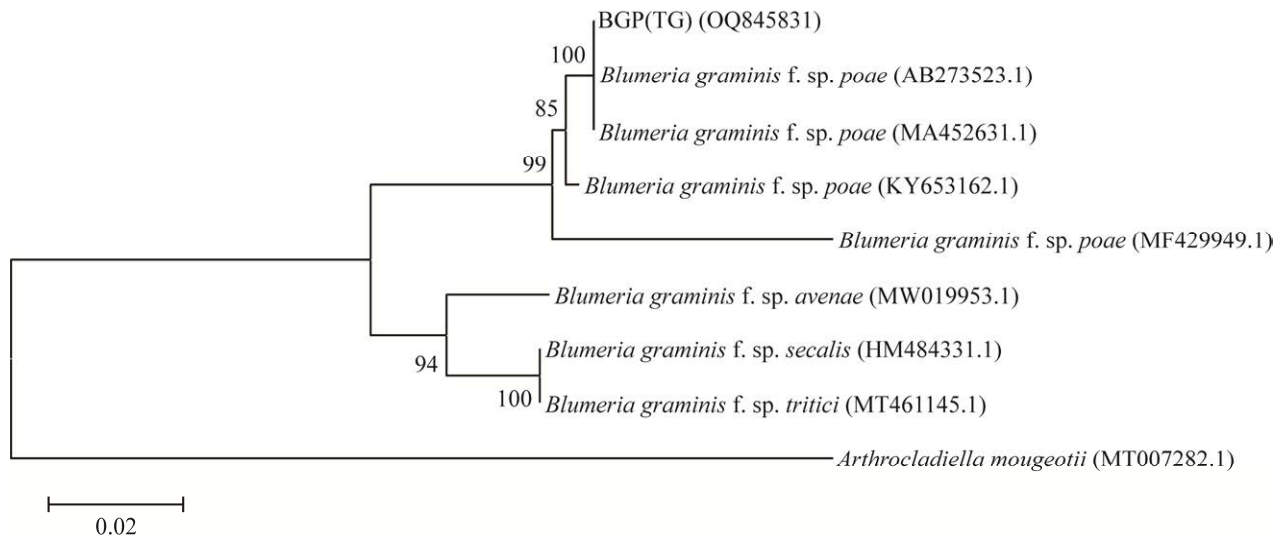


图 2 基于 rDNA-ITS 序列构建的 BGP(TG)系统发育树 括号内序号为 GenBank 登录号; 分支点上数字代表自展支持率; 标尺 0.02 代表进化的分支差异长度

Figure 2 Phylogenetic tree of BGP(TG) based on rDNA-ITS sequences. The serial numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The numbers on the nodes indicate the support percentages of bootstrap; The scale 0.02 represents 2% nucleotide difference.

2.2 白粉菌 BGP(TG)致病力的测定

草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)对 23 种供试草地早熟禾致病力存在差异, 供试草地早熟禾受白粉菌侵染后第 9 天, 病情指数为 14.41–53.12, 发病率为 49.47%–77.72% (图 3)。

病情指数结果分析显示, ‘太行’ ‘应县’ ‘黑杰克’ 和 ‘浑源’ 草地早熟禾病情指数分别为 14.41、16.39、19.83 和 22.76, 四者无显著差异 ($P>0.05$), 但它们均显著低于其他 19 份草地早熟禾材料 ($P<0.05$), 其中 ‘太行’ 草地早熟禾病情指数最

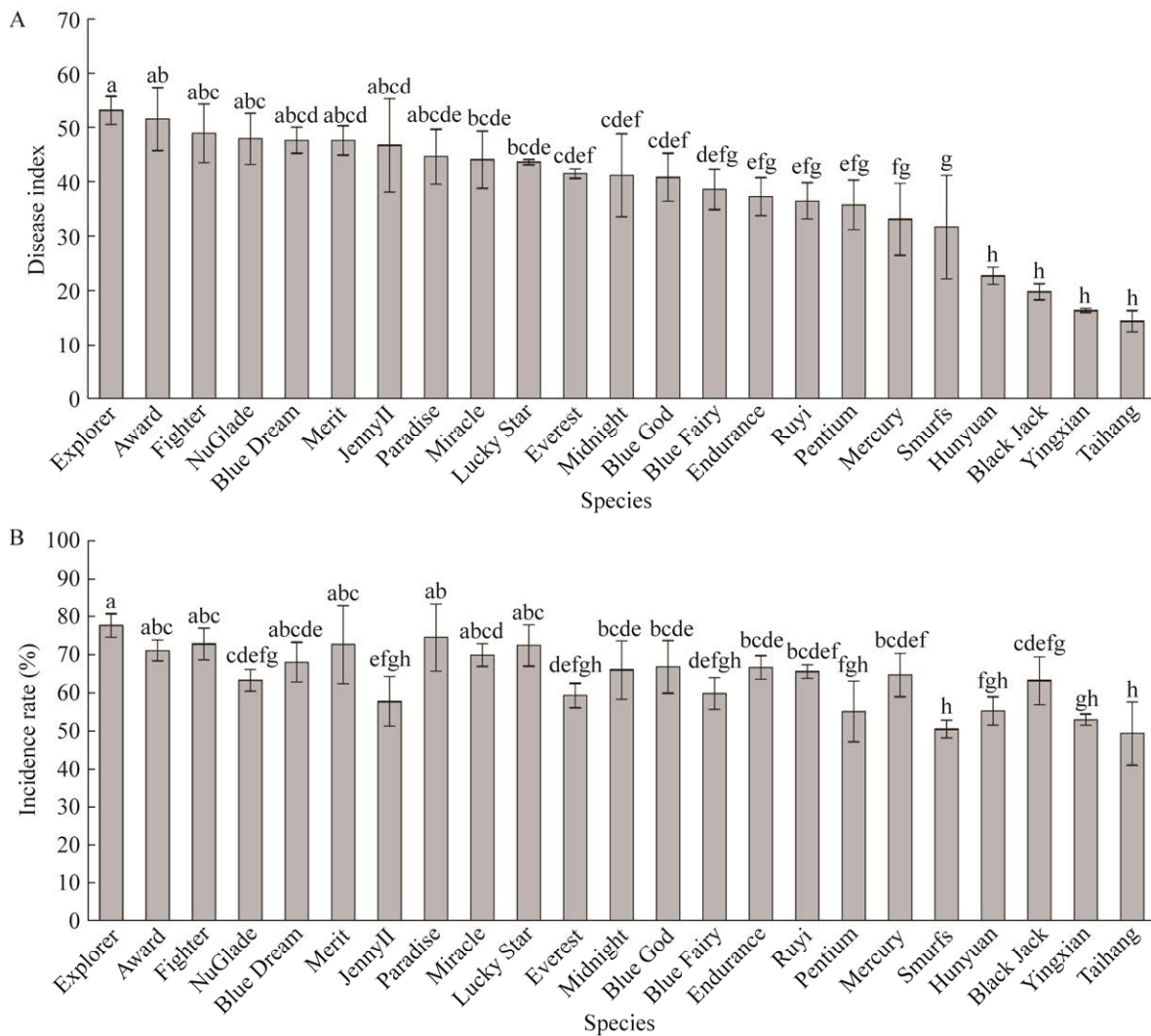


图3 山西省草地早熟禾白粉菌的致病力 A: 不同草地早熟禾材料接种 BGP(TG) 9 d 后病情指数的统计结果. B: 对不同草地早熟禾材料接种 BGP(TG) 9 d 后发病率的统计结果. 不同小写字母表示不同草地早熟禾材料间有显著差异($P < 0.05$)

Figure 3 Pathogenicity of *Poa pratensis* powdery mildew in Shanxi Province. A: The statistical results of disease index of different species of *P. pratensis* inoculated with BGP(TG) 9 days after inoculation. B: The statistical results of the incidence rate of *P. pratensis* inoculated with BGP(TG) 9 days after inoculation. Different lowercase letters indicate significant differences between different species ($P < 0.05$).

低, 因此‘太行’草地早熟禾对分离株 BGP(TG) 抗性最强; ‘探险家’‘奖品’‘斗士’‘新歌莱德’‘蓝之梦’‘优异’‘洁妮II’和‘乐土’病情指数分别为 53.12、51.56、48.9、47.91、47.62、47.6、46.72 和 44.63, 无显著差异($P > 0.05$), 其中‘探

险家’病情指数最高, 因此‘探险家’对分离株 BGP(TG) 抗性最弱. 从发病率来看, ‘太行’发病率最低, 为 49.47%; 其次为‘蓝精灵’‘应县’‘奔腾’‘浑源’‘洁妮II’‘珠峰’和‘蓝仙儿’, 发病率分别为 50.61%、53.08%、55.19%、55.33%、57.84%、

59.36%和 59.89%，与‘太行’无显著差异($P>0.05$)。‘探险家’发病率最高，为 77.72%，其次为‘乐土’‘斗士’‘优异’‘幸运星’‘奖品’‘奇迹’和‘蓝之梦’，发病率分别为 74.57%、72.8%、72.75%、72.43%、71.1%、69.89%和 68.04%，与‘探险家’无显著差异($P>0.05$)。

2.3 山西省草地早熟禾白粉菌的致病力分析

23 份草地早熟禾材料中，只有‘太行’草地早熟禾感染白粉菌后病情指数介于 5–15 之间，对 BGP(TG)表现为中抗，占比为 4.35%；‘应县’‘黑杰克’和‘浑源’草地早熟禾感染白粉病后病情指数介于 15–25 之间，对 BGP(TG)表现为中感，占比为 13.04%；‘探险家’和‘奖品’草地早熟禾感染白粉病后病情指数高于 50，对 BGP(TG)表现为极感，占比为 8.70%；其余 17 份草地早熟禾品种感染白粉病后病情指数介于 25–50 之间，对 BGP(TG)表现为高感，占比为 73.91% (图 4)。综上所述，对 BGP(TG)有抗性的草地早熟禾材料占比较少。

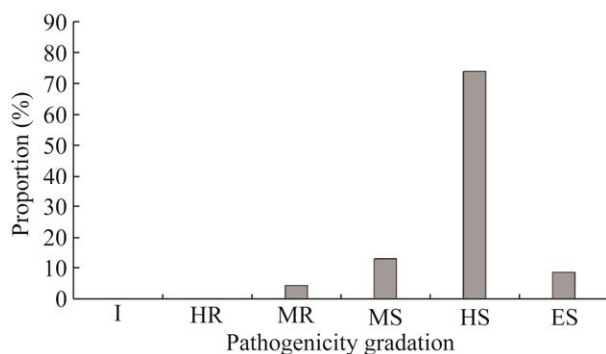


图 4 草地早熟禾白粉病病原菌 BGP(TG)的致病力分级比例 I: 免疫; HR: 高抗; MR: 中抗; MS: 中感; HS: 高感; ES: 极感

Figure 4 Pathogenicity grading ratio of *Poa pratensis* powdery mildew pathogen BGP(TG). I: Immune; HR: Highly resistant; MR: Moderately resistant; MS: Moderately susceptible; HS: Highly susceptible; ES: Extremely susceptible.

3 讨论与结论

植物白粉病病原菌鉴定主要依据病原菌无性阶段分生孢子的形态特征、分生孢子的萌发方式和有性阶段闭囊壳的显微观察判定^[32]，但因为其无性阶段形态差异不大，且有性阶段的闭囊壳并非总能观察到，所以仅根据显微镜观察进行白粉病病原菌的分类鉴定工作相对困难。随着分子生物学的快速发展，分子特征分析已成为病原体鉴定的重要辅助方法，基于 rDNA-ITS 序列的分子系统发育分析已广泛用于白粉病的分类和鉴定^[33-34]。本研究通过显微观察方法结合分子生物学方法对山西省草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)进行双重鉴定。草地早熟禾白粉病病原菌分离株 BGP(TG)分生孢子形态特征与 Zhu 等^[21]对河南新乡草地早熟禾白粉病病原物描述一致。分离株 BGP(TG)的 rDNA-ITS 序列与草地早熟禾白粉菌(AB273523.1 和 MA452631.1)聚于同一分支。综上所述，结合形态特征和分子发育分析，将分离株 BGP(TG)鉴定为禾布氏白粉菌早熟禾专化型(*B. graminis* f. sp. *poae*)。

不同生态条件下，禾布氏白粉菌可能存在不同致病力的生理小种^[35-36]。董文科等^[24]通过对 10 个草地早熟禾品种进行室内白粉病抗性评价发现，‘黑杰克’为高抗材料、‘耐力’为中感材料。本研究发现‘黑杰克’为中感材料而‘耐力’为高感材料，与董文科等^[24]研究结果相比说明不同地区白粉菌对相同品种草地早熟禾致病力不同。Okon 等^[36]研究发现，不同年份、不同地区的白粉菌菌株对相同品种的燕麦有不同的致病力，本研究也证实了这一情况，表明不同地区的草地早熟禾白粉菌致病力存在差异，山西省草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)的致病力更强。此外，环境温度^[37-38]和接种方式^[39]等因

素也会影响植物白粉病的发生, 不同地区草地早熟禾白粉病病原菌的致病性有待于进一步系统研究。

由于草地早熟禾无融合生殖和染色体倍性水平变异的存在^[23,26,40], 草地早熟禾抗白粉病品种选育工作进展缓慢, 目前对于白粉病具有较高水平抗性的草地早熟禾品种较少^[23,26]。Czembor 等^[23]对波兰采集的 444 种生态型草地早熟禾进行了白粉病抗性筛选, 发现抗性品种占比 14.00%; 在其他禾本科植物中, 马金娟等^[41]通过对陕西省 137 份区试小麦品种(系)进行白粉病抗性鉴定发现, 白粉病高感的品种占比 84.7%, 抗病品种占比 7.3%; 延荣等^[42]通过对 371 份小麦材料进行苗期抗白粉病菌株 E09 和 E20 评价发现, 其中抗 E09 的材料占 6.2%, 抗 E20 的占 11.9%。本研究结果表明, 23 份供试草地早熟禾材料接种 BGP(TG)后的病情指数为 14.41–53.12, 发病率为 49.47%–77.72%, 仅有山西乡土草种‘太行’草地早熟禾对供试白粉菌表现为中抗, 占比 4.35%, 高感和极感材料占比 82.60%。这些结果表明供试材料对山西省草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)的抗性普遍较差, 即山西省草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)的致病力较强。因此仍需加强草地早熟禾抗白粉病品种的培育, 进一步筛选抗性材料, 挖掘并克隆抗白粉菌的新基因, 同时筛选携带多个抗白粉病基因的聚合体材料, 培育抗白粉病草地早熟禾新材料。此外, 植物 mildew resistance locus O (MLO)蛋白是白粉菌成功侵入寄主的必需要素, 一个或多个 MLO 基因的缺失突变体对白粉菌具有广谱抗性, MLO 介导的白粉病抗性在育种中具有重要作用^[43]。本研究未发现对白粉菌免疫或者高抗的草地早熟禾材料, 因此草地早熟禾中可能存在 MLO 基因, 由于感白粉的 MLO 基因存在, 导致草地早熟禾不能抵抗白

粉菌的入侵, 所以研究者可以进一步挖掘草地早熟禾 MLO 基因, 干扰 MLO 基因的表达, 使草地早熟禾获得对白粉病的抗性。

综上所述, 山西省草地早熟禾白粉病的病原菌为禾布氏白粉菌早熟禾专化型(*B. graminis* f. sp. *poae*), 供试草地早熟禾中没有对山西省草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)免疫或高抗的材料, 山西省草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)的致病力较强, 仅‘太行’草地早熟禾对山西省草地早熟禾白粉菌分离株 BGP(TG)表现为中抗。因此, ‘太行’草地早熟禾可作为草地早熟禾抗白粉病的种质资源, 利用草地早熟禾抗白粉病基因培育抗病品种是防治草地早熟禾白粉病的有效途径, 本研究对草地早熟禾白粉病的发生预测及绿色防控具有重要意义。

REFERENCES

- [1] MARMOLEJO J, SIAHAAN SAS, TAKAMATSU S, BRAUN U. Three new records of powdery mildews found in Mexico with one genus and one new species proposed[J]. *Mycoscience*, 2018, 59(1): 1-7.
- [2] HANLIN RT, AMANO K. Host range and geographical distribution of the powdery mildew fungi[J]. *Mycologia*, 1990, 82(4): 533.
- [3] KIRK PM, CANNON PF, MINTER DW, STALPERS JA. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*[M]. 10th edition. UK: CABI Publishing, Wallingford, 2008: 1-771.
- [4] BRAUN U, COOK RTA. *Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery Mildews)*[M]. Utrecht the Netherland: CBS Biodiversity Series 11, 2012: 1-707.
- [5] PERFECT SE, GREEN JR. Infection structures of biotrophic and hemibiotrophic fungal plant pathogens[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2001, 2(2): 101-108.
- [6] 唐淑荣, 管观秀, 刘淑艳. 中国白粉菌目分类学研究现状[J]. *菌物研究*, 2018, 16(3): 138-149.
TANG SR, GUAN GX, LIU SY. Advances on the taxonomy of *Erysiphales* in China[J]. *Journal of Fungal Research*, 2018, 16(3): 138-149 (in Chinese).
- [7] 杨福荣, 尤少增, 张文平. 草坪白粉病的防治[J]. *中国林副特产*, 2002(2): 32.

- YANG FR, YOU SZ, ZHANG WP. Prevention and control of lawn powdery mildew[J]. Quarterly of Forest by-Product and Speciality in China, 2002(2): 32 (in Chinese).
- [8] 郑儒永, 余永年. 中国真菌志第一卷: 白粉菌目[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 1-552.
- ZHENG RY, YU YN. Flora of Fungi in China, Volume I: Powdery Mildew[M]. Beijing: Science Press, 1987: 1-552 (in Chinese).
- [9] 陈国亮. 草坪草锈病、白粉病在天水地区的发生与防治对策[J]. 农业科技与信息, 2012(15): 19-20.
- CHEN GL. Occurrence and control countermeasures of turfgrass rust and powdery mildew in Tianshui area[J]. Agricultural Science-Technology and Information, 2012(15): 19-20 (in Chinese).
- [10] 张会茹. 草坪白粉病的诊断及防治[J]. 农技服务, 2008, 25(12): 72-73.
- ZHANG HR. Diagnosis and control of lawn powdery mildew[J]. Agricultural Technology Service, 2008, 25(12): 72-73 (in Chinese).
- [11] 朱琨, 刘丽杰, 周璐, 李珊珊, 范震宇, 吴纪一, 尼尼. 外源激素对染白粉菌草地早熟禾叶片膜透性及表面结构的影响[J]. 草地学报, 2021, 29(6): 1210-1216.
- ZHU K, LIU LJ, ZHOU L, LI SS, FAN ZY, WU JY, NI N. Effects of exogenous hormones on membrane permeability and surface structure of *Poa pratensis* leaves infected by powdery mildew[J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(6): 1210-1216 (in Chinese).
- [12] 胡远彬, 梁小玉, 季杨, 易军. 牧草白粉病的研究进展[J]. 中国草食动物科学, 2019, 39(1): 55-58.
- HU YB, LIANG XY, JI Y, YI J. Research progress in powdery mildew of forage[J]. China Herbivore Science, 2019, 39(1): 55-58 (in Chinese).
- [13] WIENERS RR, FEI SZ, JOHNSON RC. Characterization of a USDA Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) core collection for reproductive mode and DNA content by flow cytometry[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2006, 53(8): 1531-1541.
- [14] LUO HS, ZHOU ZX, SONG GL, YAO HX, HAN LB. Antioxidant enzyme activity and microRNA are associated with growth of *Poa pratensis* callus under salt stress[J]. Plant Biotechnology Reports, 2020, 14(4): 429-438.
- [15] 古丽君, 徐秉良, 李彬, 梁巧兰. 草坪禾草根腐病病原菌生物学特性研究[J]. 草业学报, 2012, 21(3): 93-98.
- GU LJ, XU BL, LI B, LIANG QL. Biological characteristics of a pathogen of turfgrass root rot disease[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2012, 21(3): 93-98 (in Chinese).
- [16] 朱琨, 郑桂华, 刘丽杰, 周璐, 李珊珊, 范震宇, 钟玥, 尼尼. 草地早熟禾叶片表皮解剖结构与抗白粉病性的研究[J]. 草地学报, 2021, 29(7): 1430-1435.
- ZHU K, ZHENG GH, LIU LJ, ZHOU L, LI SS, FAN ZY, ZHONG Y, NI N. Study on anatomical structure of leaf epidermis and powdery mildew resistance in *Poa pratensis*[J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(7): 1430-1435 (in Chinese).
- [17] 郭庆东. 抗小麦白粉病相关基因 *TiASP* 与 *TaCPS1* 的功能分析[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2016.
- Guo QD. Functional analysis of wheat powdery mildew resistance related gene *TiASP* and *TaCPS1*[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [18] 莫龙飞, 孙建磊, 高超, 董玉梅, 王崇启, 肖守华, 吴春燕, 焦自高. 山东地区甜瓜白粉病生理小种的鉴定[J]. 中国瓜菜, 2021, 34(4): 36-40.
- MO LF, SUN JL, GAO C, DONG YM, WANG CQ, XIAO SH, WU CY, JIAO ZG. Identification of physiological races of melon powdery mildew pathogen in Shandong[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2021, 34(4): 36-40 (in Chinese).
- [19] 袁悦, 任俭, 王转茸, 李煜华, 曾红霞, 张娜, 熊建顺, 朱志坤, 汤谧. 武汉地区甜瓜白粉病病原菌生理小种鉴定[J]. 长江蔬菜, 2022(22): 65-69.
- YUAN Y, REN J, WANG ZR, LI YH, ZENG HX, ZHANG N, XIONG JS, ZHU ZK, TANG M. Identification of physiological races of melon powdery mildew pathogens in Wuhan[J]. Journal of Changjiang Vegetables, 2022(22): 65-69 (in Chinese).
- [20] 赵文言. 新疆部分地区甜瓜白粉病生理小种鉴定及抗性评价和遗传分析[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学硕士学位论文, 2014.
- ZHAO WY. Powdery mildew identification of physiological races in some areas of Xinjiang and heterosis analysis of resistance in melon[D]. Urumqi: Master's Thesis of Xinjiang Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [21] ZHU M, JI J, SHI WQ, LI YF. Occurrence of powdery mildew caused by *Blumeria graminis* f. sp. *poae* on *Poa pratensis* in China[J]. Plant Disease, 2021, 105(4): 1212.
- [22] BAO GS, WEI XX, LIU WH. First report of powdery mildew caused by *Blumeria graminis* on *Poa pratensis*

- var. *anceps* 'Qinghai' in China[J]. Plant Disease, 2022, 106(4): 1294.
- [23] CZEMBOR E, FEUERSTEIN U, ŻUREK G. Powdery mildew resistance in Kentucky bluegrass ecotypes from Poland[J]. Plant Breeding and Seed Science, 2001, 45(2): 21-31.
- [24] 董文科, 马祥, 毛春晖, 邓婧慧, 贾秀秀, 张顺萍, 郭珊珊, 马晖玲. 10个草地早熟禾品种对白粉病的抗性评价及生理特性分析[J]. 草原与草坪, 2020, 40(3): 47-56.
- DONG WK, MA X, MAO CH, DENG JH, JIA XX, ZHANG SP, GUO SS, MA HL. Resistance evaluation and physiological characteristic analysis of ten *Poa pratensis* varieties to powdery mildew[J]. Grassland and Turf, 2020, 40(3): 47-56 (in Chinese).
- [25] 薛勇, 杨正容, 黄晓斌, 许建国. 正确处理“3R”问题确保农产品质量安全[J]. 湖北植保, 2017(6): 60-62.
- XUE Y, YANG ZR, HUANG XB, XU JG. Correctly handling the “3R” problem and ensuring the quality and safety of agricultural products[J]. Hubei Plant Protection, 2017(6): 60-62 (in Chinese).
- [26] 董文科. 草地早熟禾抗白粉病机理研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学博士学位论文, 2020.
- DONG WK. Study on the resistance mechanism of *poa pratensis* to powdery mildew (*Blumeria graminis* DC.)[D]. Lanzhou: Doctoral Dissertation of Gansu Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [27] 蒲小剑. 红三叶抗白粉病的生理和分子机制及抗病基因 *TpGDSL* 的克隆与遗传转化[D]. 兰州: 甘肃农业大学博士学位论文, 2021.
- PU XJ. Physiological and molecular mechanisms of resistance to powdery mildew in red clover (*Trifolium pratense* L.), cloning and genetic transformation of *TpGDSL* gene[D]. Lanzhou: Doctoral Dissertation of Gansu Agricultural University, 2021 (in Chinese).
- [28] CHANG XL, LUO LY, LIANG YP, HU YT, LUO PG, GONG GS, CHEN HB, KHASKHELI MI, LIU TG, CHEN WQ, ZHANG M. Papilla formation, defense gene expression and HR contribute to the powdery mildew resistance of the novel wheat line L699 carrying *Pm40* gene[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2019, 106: 208-216.
- [29] 屈淑平, 綦聪, 王云莉, 姜宇, 徐文龙, 崔崇士. 南瓜白粉病病原菌及种质资源抗性鉴定[J]. 东北农业大学学报, 2018, 49(12): 9-17.
- QU SP, QI C, WANG YL, JIANG Y, XU WL, CUI CS. Identification of resistance to pathogens and germplasm resources of pumpkin powdery mildew[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2018, 49(12): 9-17 (in Chinese).
- [30] 马原松, 裴冬丽, 王文静, 李成伟. 河南省几种白粉菌的 ITS 序列分析[J]. 河南农业科学, 2012, 41(9): 87-90.
- MA YS, PEI DL, WANG WJ, LI CW. ITS sequence analysis of several powdery mildew from Henan Province[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2012, 41(9): 87-90 (in Chinese).
- [31] HU YT, LIANG YP, ZHANG M, TAN FQ, ZHONG SF, LI X, GONG GS, CHANG XL, SHANG J, TANG SW, LI T, LUO PG. Comparative transcriptome profiling of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* during compatible and incompatible interactions with sister wheat lines carrying and lacking *Pm40*[J]. PLoS One, 2018, 13(7): e0198891.
- [32] 梁巧兰, 徐秉良, 颜惠霞, 陈荣贤, 薛应钰. 南瓜白粉病病原菌鉴定及寄生范围测定[J]. 菌物学报, 2010, 29(5): 636-643.
- LIANG QL, XU BL, YAN HX, CHEN RX, XUE YY. Hull-less pumpkin powdery mildew and its host range[J]. Mycosystema, 2010, 29(5): 636-643 (in Chinese).
- [33] GLAWE DA. The powdery mildews: a review of the world's most familiar (yet poorly known) plant pathogens[J]. Annual Review of Phytopathology, 2008, 46: 27-51.
- [34] BRADSHAW M, BRAUN U, MEEBOON J, TOBIN P. Phylogeny and taxonomy of powdery mildew caused by *Erysiphe* species on *Corylus* hosts[J]. Mycologia, 2021, 113(2): 459-475.
- [35] 孙浩洋, 赵桂琴, 柴继宽, 曾亮, 焦润安, 金小雯, 官文龙, 黎蓉. 种植区环境对燕麦种质成株期白粉病抗性的影响[J]. 草原与草坪, 2019, 39(4): 31-38.
- SUN HY, ZHAO GQ, CHAI JK, ZENG L, JIAO RA, JIN XW, GONG WL, LI R. Effect of planting area environment on resistance to powdery mildew in oats germplasm[J]. Grassland and Turf, 2019, 39(4): 31-38 (in Chinese).
- [36] OKOŃ SM, OCIEPA T. Virulence structure of the *Blumeria graminis* DC.f. sp. *avenae* populations occurring in Poland across 2010-2013[J]. European Journal of Plant Pathology, 2017, 149(3): 711-718.
- [37] 李伯宁, 周益林, 段霞瑜. 小麦白粉病与温度的定量关系研究[J]. 植物保护, 2008, 34(3): 22-25.
- LI BN, ZHOU YL, DUAN XY. Effects of temperature on wheat powdery mildew[J]. Plant Protection, 2008, 34(3): 22-25 (in Chinese).

- [38] 黄苗苗. 甘肃省小麦白粉病菌的温度敏感性及其抗病性遗传分析[D]. 兰州: 甘肃农业大学硕士学位论文, 2015.
- HUANG MM. The sensitivity of isolates of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* from Gansu province was tested and inheritance of resistance to wheat[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Gansu Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [39] 郑坤. 番茄白粉病苗期抗病性鉴定方法及抗病种质资源筛选[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2012.
- ZHENG K. The resistance identification of tomato powdery mildew seedling and selection of resistance resources[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2012 (in Chinese).
- [40] MEYER WA. Breeding disease-resistant cool-season turfgrass cultivars for the United States[J]. *Plant Disease*, 1982, 66(1): 341.
- [41] 马金娟, 杨鹏, 巢凯翔, 刘欢, 杨金叶, 李强, 王保通. 2016–2017 年陕西省小麦区试品种(系)综合抗病性鉴定与评价[J]. *麦类作物学报*, 2018, 38(10): 1195-1198.
- MA JJ, YANG P, CHAO KX, LIU H, YANG JY, LI Q, WANG BT. Identification and evaluation of the comprehensive resistance of regional trial varieties (lines) in Shaanxi Province during 2016–2017[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2018, 38(10): 1195-1198 (in Chinese).
- [42] 延荣, 耿妙苗, 李晓静, 安浩军, 温树敏, 刘桂茹, 王睿辉. 河北省小麦品种和种质资源抗白粉病鉴定与抗病基因分子标记检测[J]. *植物遗传资源学报*, 2020, 21(3): 683-694.
- YAN R, GENG MM, LI XJ, AN HJ, WEN SM, LIU GR, WANG RH. Phenotyping and marker-assisted gene identification of powdery mildew resistance in wheat commercial varieties and germplasm resources from Hebei Province[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21(3): 683-694 (in Chinese).
- [43] 张孝廉, 张吉顺, 雷波, 余婧, 赵德刚. 植物 MLO 蛋白研究进展[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(7): 1159-1171.
- ZHANG XL, ZHANG JS, LEI B, YU J, ZHAO DG. Research progress of MLO proteins in plants[J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(7): 1159-1171 (in Chinese).