

云南省玉米大斑病菌生理小种的鉴定及交配型分析

王利智 康志钰 吴景芝 吴毅歆 毛自朝 何月秋

云南农业大学农学与生物技术学院/教育部农业生物多样性与病虫害控制重点实验室, 昆明 650201

摘要 采用2套 *Ht* 单基因鉴别品种,对2007—2009年采自云南省13个地区的81份玉米大斑病菌菌株进行了生理小种鉴定,利用分子标记技术对菌株交配型进行了分析。结果表明,云南省玉米大斑病菌生理小种和交配型组成复杂,81个菌株可分为0、1、2、3、12、23、2N、3N、12N、23N和123N等11个小种类型,其中能克服鉴别寄主上所有显性抗病基因的123N小种占22.2%,为优势小种;依据分子标记,81个菌株可分成A、a、Aa3种交配型菌株及中性菌株,分别占49.4%、12.3%、29.6%和8.6%。此外,在同一区域内存在多个生理小种和不同的交配型菌株。

关键词 玉米大斑病菌;生理小种;交配型;鉴定

中图分类号 S432.2⁺1; S435.131.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2011)02-0187-06

大斑刚毛球腔菌 *Setosphaeria turcica* (Luttrell Leonard et Suggs), 其无性态为大斑突脐孢 *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard et Suggs。该病菌引起的玉米大斑病广泛分布在世界玉米产区,也严重影响我国北方春玉米产区和西南冷凉山区玉米生产^[1-2]。由于大斑病生理小种的变异,原来抗大斑病的玉米品种丧失抗性的事例时有报道^[3-4]。自2002年以来,玉米大斑病呈明显加重趋势,一些品种发病严重,特别是在东北春玉米区和西南玉米区的局部地区已经成灾^[5-6]。1986年吴安国等^[7]首次报道云南省玉米大斑病菌生理小种的研究后,在较长一段时间里,流行小种一直以0小种为主。之后,他们又鉴定出云南存在3号生理小种,即新命名的23号小种^[8]。1994年北京、天津、吉林和云南等地玉米大斑病菌1号和2号小种分离频率分别达到58.3%^[9]和37.5%^[10]。

近年来,我国玉米大斑病菌的变异进一步复杂化,特别是123N号生理小种的出现,其所携带的致病基因可以克服当前已知的所有抗大斑病显性基因。新小种的出现主要是由于病原菌与抗病品种共同进化的结果,而有性杂交是导致大斑病菌变异的主要途径之一^[11]。针对近年来云南省玉米大斑病危害呈加重趋势,笔者自2007—2009年采集了云南

省主要玉米产区玉米大斑病菌菌株,分析它们的生理小种和交配性组成,旨在为抗玉米大斑病育种及布局新品种提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 病原菌的采集与分离

在2007—2009年,收集了云南省玉溪、保山、临沧、红河和大理等13个州(市)的玉米大斑病叶标本,采用组织分离和保湿培养法,将分生孢子涂布在4%的水琼脂平板上,于25℃下培养5~8h,在双目扩大镜下,每个样本分离1个单孢菌株,共获得81个玉米大斑病菌菌株(表1)。

1.2 鉴别寄主

2套 *Ht* 单基因的鉴别寄主由中国农业科学院王晓鸣研究员和河北农业大学董金皋教授惠赠。它们分别为OH43(对照)、OH43*Ht1*、OH43*Ht2*、OH43*Ht3*、OH43*HtN*和黄早四*Ht1*、黄早四*Ht2*、黄早四*Ht3*、黄早四*HtN*。

1.3 生理小种鉴定

将2套鉴别寄主种子播种于40cm×30cm×8cm的铁盘里,置于温室中培养,每份品种留苗5株。经单孢纯化的大斑病菌接在PSA培养基上,置于25℃培养箱内培养10d。待玉米长到4~5叶

收稿日期:2010-06-22

基金项目:云南省科技支撑计划项目(2006NG19)和云南省行业体系项目

王利智,硕士研究生。研究方向:植物病理学。E-mail: mawiz2008@hotmail.com

通讯作者:何月秋,博士,教授。研究方向:植物病理学。E-mail: ynfh2007@163.com

表1 菌源编号与采集地点

Table 1 Number and collection site of the target isolates

| 年份-编号 Year-code | 采集地点 Collection site | 年份-编号 Year-code | 采集地点 Collection site |
|--------------------|--|--------------------|--|
| 2007-01 | 临沧临翔区凤翔街道南信桥 Nanxin Bridge, Fengxiang Township, Linxiang, Lincang | 2008-42 | 德宏州瑞丽市城关 Chengguan, Ruili City, Dehong |
| 2007-02 | 临沧凤庆县凤山镇后山 Houshan, Fengshan Township, Fengqing County, Lincang | 2008-43 | 德宏州瑞丽市畹町 Wanding, Ruili City, Dehong |
| 2007-03 | 大理市南涧县碧溪 Bixi, Nanjian County, Dali City | 2008-44 | 德宏州瑞丽市畹町 Wanding, Ruili City, Dehong |
| 2007-04 | 大理市南涧县南涧镇太平村 Taiping Village, Nanjian Township, Nanjian County, Dali City | 2008-45 | 德宏州陇川县护国 Huguo, Longchuan County, Dehong |
| 2007-05 | 昭通市彝良县洛泽河镇邻东村 Lindong Village, Luozehe Township, Yiliang County, Zhaotong City | 2008-46 | 德宏州潞西遮放 Zhefang, Luxi, Dehong |
| 2007-06 | 昭通市彝良县洛泽河镇邻东村 Lindong Village, Luozehe Township, Yiliang County, Zhaotong City | 2008-47 | 德宏州弄目 Nongmu, Dehong |
| 2007-07 | 昭通市彝良县洛泽河镇邻东村 Lindong Village, Luozehe Township, Yiliang County, Zhaotong City | 2008-48 | 德宏州弄目 Nongmu, Dehong |
| 2007-08 | 昭通市昭阳区沙坝八社 Saba eighth Cooperative, Zhaoyang, Zhaotong City | 2008-49 | 德宏州陇川县户撒 Husa, Longchuan County, Dehong |
| 2007-09 | 昭通市昭阳区沙坝七社 Saba seventh Cooperative, Zhaoyang, Zhaotong City | 2008-50 | 德宏州陇川县户撒 Husa, Longchuan County, Dehong |
| 2007-10 | 昭通市镇雄县乌峰旧府关房 Guanfang, old Prefecture of Wufeng, Zhenxiong County, Zhaotong | 2008-51 | 德宏州梁河县芒东 Mangdong, Lianghe County, Dehong |
| 2007-11 | 文山州砚山维摩落水洞 Slocker, Weimo Village, Yanshan County, Wenshan | 2008-52 | 德宏州梁河县芒东 Mangdong, Lianghe County, Dehong |
| 2007-12 | 普洱市城关 Chengguan, Pu'er City | 2008-53 | 红河州金平县营盘乡 Yingpan Village, Jinping County, Honghe |
| 2007-13 | 玉溪市红塔区高仓龙村 Gaocanglong Village, Hongta, Yuxi City | 2008-54 | 红河州金平县铜厂乡 Tongchang Village, Jinping County, Honghe |
| 2007-14 | 玉溪市通海县高大乡普丛村 Pucong Village, Gaoda Township, Tonghai County, Yuxi City | 2008-55 | 红河州金平县铜厂乡 Tongchang Village, Honghe |
| 2007-15 | 玉溪市通海县高大乡五街村 Wujie Village, Gaoda Township, Tonghai County, Yuxi City | 2008-56 | 红河州开远市乐白道 Lebai Road, Kaiyuan City, Honghe |
| 2007-16 | 玉溪市通海县高大乡五街村 Wujie Village, Gaoda Township, Tonghai County, Yuxi City | 2008-57 | 红河州开远市小龙潭 Xiaolong Pool, Kaiyuan City, Honghe |
| 2007-17 | 玉溪市通海县高大乡五街村 Wujie Village, Gaoda Township, Tonghai County, Yuxi City | 2008-58 | 红河州开远市乐白道酒房 Lebai Road Jufang, Kaiyuan City, Honghe |
| 2007-18 | 玉溪市通海县高大乡五街村 Wujie Village, Gaoda Township, Tonghai County, Yuxi City | 2008-59 | 红河州开远市平街乡宗舍村 Zongshe Village, Pingjie Township, Kaiyuan City, Honghe |
| 2007-19 | 玉溪市通海县河西镇代文 Daiwen, Hexi Township, Tonghai County, Yuxi City | 2008-60 | 红河州开远市平街乡宗舍村 Zongshe Village, Pingjie Township, Kaiyuan City, Honghe |
| 2007-20 | 玉溪市通海县河西镇代文 Daiwen, Hexi Township, Tonghai County, Yuxi City | 2008-61 | 红河州开远市中和营坝心村 Baxin Village, Zhongheyang Township, Kaiyuan City, Honghe |

续表 1 Continued from Table 1

| 年份-编号 Year-code | 采集地点 Collection site | 年份-编号 Year-code | 采集地点 Collection site |
|--------------------|--|--------------------|---|
| 2008-21 | 临沧临翔区南美乡南美村 Nanmei Village | 2008-62 | 红河州个旧市锡城镇 Xicheng Township, Gejiu City, Honghe |
| 2008-22 | 大理市三塔银桥镇 Yinqiao Township, Santa, Dali City | 2008-63 | 昆明市云南农业大学 Yunnan Agricultural University, Kunming City |
| 2008-23 | 大理市三塔银桥镇 Yinqiao Township, Santa, Dali City | 2008-64 | 昆明市禄劝县撒营盘乡 Shayingpan Village, Luquan County, Kunming City |
| 2008-24 | 大理市三塔银桥镇 Yinqiao Township, Santa, Dali City | 2008-65 | 昆明市禄劝县团街新街 Tuanjixinjie, Luquan County, Kunming City |
| 2008-25 | 宾川县宾居镇 Binju Township, Binchuan County | 2008-66 | 昆明市禄劝县团街新街 Tuanjixinjie, Luquan County, Kunming City |
| 2008-26 | 昭通镇雄县乌峰旧府关房 Guanfang, Old Prefecture of Wufeng, Zhenxiong County, Zhaotong | 2008-67 | 禄丰金山镇南雄三棵树村 Lufeng County, Chuxiong |
| 2008-27 | 文山州麻栗坡县城关 Chengguan, Malipo County, Wenshan | 2008-68 | 禄丰金山镇南雄三棵树村 Lufeng County, Chuxiong |
| 2008-28 | 文山州文山县追栗街乡 Zhuli Street Village, Wenshan County, Wenshan | 2008-69 | 禄丰金山镇南雄三棵树村 Lufeng County, Chuxiong |
| 2008-29 | 文山州文山县追栗街乡 Zhuli Street Village, Wenshan County, Wenshan | 2008-70 | 楚雄市富民镇土洞乡 Tudong Village, Fuming Township, Chuxiong |
| 2008-30 | 普洱市墨江县赖蚌村 Laibang Village, Mojiang County, Pu'er City | 2008-71 | 曲靖市会泽县乐业镇 Leye Township, Huize County, Qujing |
| 2008-31 | 普洱市墨江县双龙乡 Shuanglong Village, Mojiang County, Pu'er City | 2008-72 | 曲靖市富源县植保站 Plant Protection Station, Fuyuan County, Qujing City |
| 2008-32 | 普洱市墨江县双龙乡烧烤城 Barbecue Area of Shuanglong Village, Mojiang County, Pu'er City | 2008-73 | 曲靖市富源县植保站 Plant Protection Station, Fuyuan County, Qujing City |
| 2008-33 | 玉溪市峨山县小街 Xiaojie, Eshan County, Yuxi City | 2008-74 | 丽江市永胜县植保植检站 PPS, Yongsheng County, Lijiang City |
| 2008-34 | 玉溪市峨山县小街 Xiaojie, Eshan County, Yuxi City | 2009-75 | 大理市永平县胜泉村龙滩社 Longtanshe, Shengquan Village, Yongping County, Dali City |
| 2008-35 | 玉溪市峨山县高平 Gaoping, Eshan County, Yuxi City | 2009-76 | 玉溪市红塔区 Hongta, Yuxi City |
| 2008-36 | 保山市隆阳区汉庆岩腊村 Yanjing Village, Hanqing, Longyang, Baoshan City | 2009-77 | 保山市隆阳区板桥老营村 Laoying Village, Banqiao, Longyang, Baoshan City |
| 2008-37 | 保山市隆阳区大官市 Daguanshi, Longyang, Baoshan City | 2009-78 | 保山市隆阳区板桥老营村 Laoying Village, Banqiao, Longyang, Baoshan City |
| 2008-38 | 德宏州农科所 Institute of Agricultural Sciences, Dehong | 2009-79 | 保山市施甸县水常乡兵斗村 Bingdou Village, Shuichang Township, Shidian County, Baoshan City |
| 2008-39 | 德宏州农科所 Institute of Agricultural Sciences, Dehong | 2009-80 | 保山市施甸县姚关大马邑 Damayi, Yaoguan, Shidian County, Baoshan City |
| 2008-40 | 德宏州勐嘎镇 Mengga Township, Dehong | 2009-81 | 保山市施甸县水常乡小官市村 Xiaoguanshi Village, Shuichang Township, Shidian County, Baoshan City |
| 2008-41 | 德宏州瑞丽市畹町乡昆板 Kunban, Wanding Township, Ruili City, Dehong | | |

期,在玉米大斑病菌培养好的培养基中加入适量含0.5% Tween-20的无菌水,刮洗培养基,孢子液用双层纱布过滤,配成浓度为 1×10^4 个/mL的孢子悬浮液,喷雾接种50 mL。接种后,将育苗盘移入25℃、相对湿度90%以上的接种室中,黑暗48 h后,转入同一温室接受自然光照。病情稳定后(约10 d),调查病情,确定生理小种类型。

1.4 鉴定标准

R型:病斑初为黄绿色水浸状条斑,后中间变褐,边缘有明显的较宽的黄色晕圈,病斑狭长,出现早,枯死慢,称为褪绿斑;S型:病斑初为灰绿色水浸状斑,后扩大为梭形大斑,灰褐色,边缘无明显晕圈,出现晚,枯死快,称为萎蔫斑。

1.5 生理小种命名

根据1989年Leonard等^[12]提出的生理小种命名系统进行命名。

1.6 交配型的分子测定

根据已有子囊菌交配型研究结果设计简并引物,采用何月秋^[13]的CTAB法提取玉米大斑病菌基

因组DNA。反应程序等参考张泗举^[14]的方法。

2 结果与分析

2.1 玉米大斑病菌生理小种的组成及分布

依据鉴定品种的反应型,2007—2009年采集了云南省13个州(市)的81个玉米大斑病菌菌株可分出0、1、2、3、12、23、2N、3N、12N、23N、123N共11个生理小种(表2),其中123N号小种出现频率为22.2%,12N号和23N号小种均为16.0%,0号小种为12.3%,1、2、23等3小种均为6.2%,12号和2N号小种均为4.9%,3N号小种为3.7%,3号小种为2.5%(表3)。试验结果表明,云南省玉米大斑病菌生理分化明显,且呈多样性和复杂化,即使从同一个村不同样本上分离到的菌株,其生理小种也不同,如昭通市彝良县洛泽河镇邻东村分离的3个菌株,2个为小种23N,1个属于123N;玉溪市通海县高大乡五街村的3个菌株分属于23N,0和1号小种(表2)。9个鉴别品种对每个单孢菌株的反应一致,且抗感反应明晰,说明鉴别结果可靠。

表2 2007—2009年的云南省玉米大斑病菌生理小种和交配型

Table 2 Physiological races and mating types of *Setosphaeria turcica* isolates collected from Yunnan Province during 2007 to 2009

| 年份-编号 Year-code | 生理小种 Race | 交配型 M. T. | 年份-编号 Year-code | 生理小种 Race | 交配型 M. T. | 年份-编号 Year-code | 生理小种 Race | 交配型 M. T. |
|--------------------|--------------|--------------|--------------------|--------------|--------------|--------------------|--------------|--------------|
| 2007-01 | 23N | Aa | 2007-28 | 23N | Aa | 2008-55 | 123N | A |
| 2008-02 | 0 | Aa | 2007-29 | 0 | A | 2008-56 | 12 | A |
| 2007-03 | 12N | Aa | 2007-30 | 1 | A | 2008-57 | 123N | A |
| 2007-04 | 123N | - | 2007-31 | 123N | A | 2008-58 | 3 | A |
| 2007-05 | 0 | a | 2007-32 | 1 | - | 2008-59 | 12N | A |
| 2009-06 | 0 | a | 2007-33 | 123N | A | 2008-60 | 123N | A |
| 2008-07 | 1 | A | 2008-34 | 123N | A | 2008-61 | 3N | A |
| 2008-08 | 23 | a | 2008-35 | 0 | A | 2008-62 | 2N | Aa |
| 2008-09 | 123N | - | 2008-36 | 3N | A | 2008-63 | 1 | Aa |
| 2008-10 | 12N | Aa | 2009-37 | 0 | A | 2008-64 | 12N | Aa |
| 2007-11 | 23N | A | 2009-38 | 123N | Aa | 2008-65 | 12N | a |
| 2007-12 | 123N | A | 2009-39 | 23N | Aa | 2008-66 | 3 | a |
| 2007-13 | 23N | - | 2009-40 | 12N | Aa | 2008-67 | 12N | A |
| 2007-14 | 3N | A | 2009-41 | 2N | A | 2008-68 | 23 | A |
| 2007-15 | 123N | A | 2008-42 | 23N | Aa | 2008-69 | 23 | Aa |
| 2007-16 | 2 | - | 2008-43 | 2 | Aa | 2008-70 | 1 | Aa |
| 2008-17 | 12 | A | 2009-44 | 2N | A | 2008-71 | 12N | Aa |
| 2007-18 | 123N | A | 2008-45 | 123N | a | 2008-72 | 23N | A |
| 2008-19 | 123N | A | 2008-46 | 123N | A | 2008-73 | 12N | A |
| 2008-20 | 123N | A | 2008-47 | 2 | A | 2008-74 | 2 | A |
| 2008-21 | 12 | A | 2008-48 | 12N | - | 2008-75 | 0 | Aa |
| 2007-22 | 23 | Aa | 2008-49 | 12 | - | 2008-76 | 123N | A |
| 2008-23 | 12N | A | 2008-50 | 0 | a | 2008-77 | 0 | A |
| 2008-24 | 2N | Aa | 2008-51 | 123N | a | 2008-78 | 23N | A |
| 2008-25 | 123N | Aa | 2008-52 | 2 | Aa | 2008-79 | 0 | a |
| 2007-26 | 23 | Aa | 2008-53 | 123N | a | 2008-80 | 12N | Aa |
| 2007-27 | 23N | A | 2008-54 | 23N | Aa | 2008-81 | 12N | A |

表 3 云南省各地区玉米大斑病菌生理小种和交配型组成

Table 3 Physiological races and mating types in different areas of Yunnan Province

| 地区 Prefecture | 交配型 Mating type | | | | 生理小种组成 Race composition | | | | | | | | | | | 总计 Total |
|--------------------|-----------------|------|------|----------------|-------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|-------------|
| | A | a | Aa | 中性菌株 Neuter | 0 | 1 | 2 | 3 | 12 | 23 | 2N | 3N | 12N | 23N | 123N | |
| 临沧 Lincang | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 3 |
| 普洱 Pu'er | 1 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 4 |
| 保山 Baoshan | 2 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 2 | 1 | 7 |
| 德宏 Dehong | 7 | 4 | 2 | 2 | 1 | 0 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 6 | 15 |
| 大理 Dali | 1 | 3 | 1 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 7 |
| 楚雄 Chuxiong | 3 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4 |
| 丽江 Lijiang | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 文山 Wenshan | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 4 |
| 玉溪 Yuxi | 9 | 0 | 2 | 1 | 3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 3 | 12 |
| 红河 Honghe | 4 | 2 | 4 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 | 3 | 1 | 10 |
| 昆明 Kunming | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 4 |
| 曲靖 Qujing | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 3 |
| 昭通 Zhaotong | 5 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 0 | 7 |
| 总计 Total | 40 | 10 | 24 | 7 | 10 | 5 | 5 | 2 | 4 | 5 | 4 | 3 | 13 | 13 | 18 | 81 |
| 百分率/% Frequency | 49.4 | 12.3 | 29.6 | 8.6 | 12.3 | 6.2 | 6.2 | 2.5 | 4.9 | 6.2 | 4.9 | 3.7 | 16.0 | 16.0 | 22.2 | 100.0 |

2.2 玉米大斑病菌交配性分子检测结果

采用张泗举^[14]报道的引物,对 81 个大斑病菌菌株进行 PCR 检测,扩增出的 DNA 片段与张泗举报道的相符,即 a 交配型特异片段 859 bp 和 A 交配型特异片段 238 bp,交配型 Aa 同时带有这 2 个片段。其中交配型 A 的菌株 40 个,交配型 a 的 10 个,交配型 Aa 的 24 个,中性菌株的 7 个,分别占 49.4%、12.3%、29.6%和 8.6%(表 2,表 3)。Aa 交配型为两性菌株,它与 A 和 a 均有交配潜力,其分布频率仅次于交配型 A,这可能增加了玉米大斑病菌发生有性交配的可能性,进而使得该病菌生理分化更加复杂。从交配型在地州之间分布来看,各交配型菌株没有明显规律可循,如临沧所分离的 3 株菌株均为两性菌株 Aa 型,而 A、a 和 Aa 3 种交配型菌株在德宏、大理、红河和曲靖均有分布,德宏、大理、玉溪和昭通均存在中性菌株。即使在同一自然村同一地块采集的菌株,可分离到不同交配型菌株,如红河开远市平街乡宗舍村 2 个菌株分属 A 和 a 交配型;楚雄州禄丰县金山镇南雄三棵树村 2 个菌株分属 Aa 和 A 交配型(表 2)。

3 讨论

由于云南省的特殊立体地理气候,以及大约有 800 多个杂交组合及自留地方品种,玉米大斑病菌在近 30 年来未曾大面积发生和流行。但由于复杂的地理环境和气候的多样性,以及品种的多样性种

植,也导致了玉米大斑病菌在云南各玉米产区的群体分布呈现复杂化。笔者从 81 株大斑病菌中鉴定出多达 11 个生理小种,12N、23N 号小种所占比例较大,均达 16.0%,特别是 123N 号生理小种高达 22.2%。因这些小种致病谱较广,严重威胁 *Ht* 基因的骨干玉米自交系,故应引起玉米育种工作者注意。王玉萍等^[15]从我国 10 个省 100 份大斑菌中鉴定出 15 个生理小种,与之相比较,仅 13 号、N 号、1N 号和 123 号 4 个生理小种没有分离到,共有小种达 73.3%,足以证明云南省玉米大斑病菌生理小种组成非常复杂。

有性生殖是一些植物病原真菌发生变异的一种重要机制。该机制可以使不同致病能力的菌株间发生遗传物质重组,拓宽子代菌株的致病范围,形成新的致病小种。因此,研究病原菌的交配型及交配能力,有助于了解病原菌的致病变异方向和制订病害防治策略。张泗举^[14]证明已知交配型的菌株均为可育,利用分子生物学与对峙培养法检测大斑病菌交配型结果基本一致。由于对峙培养测定病菌交配型的条件较严格,如诱导物及培养条件的不一致均可导致病菌之间产生子囊壳的能力不同,而分子生物学从病菌自身的遗传基础着手,避免了对峙培养检测交配型的不足,缩短了检测时间,提高了工作效率。笔者对所分离的 81 株玉米大斑病菌进行了分子检测,测定出有 A、a、Aa 3 种交配型和中性菌株。Aa 型为两性菌株,即与 2 个亲和群都能产生子囊和

子孢子的菌株类型,而中性菌株即同2个相反亲和群的标准菌株杂交都不产生子囊壳,鉴定不出交配型的菌株类型。这也说明交配型的多样性,特别是在同一采样田块可分离到不同交配型菌株,这可能是云南省生理小种多样的另一个原因。因此,针对云南省立体气候明显、生态类型多样的玉米种植区,应加强不同抗病基因来源的自交系组合,培育出遗传基础更为广泛的玉米新品种,以促进病菌稳定化的选择,减缓病菌进化速度,延长抗病高产品种的使用年限。

致谢 云南省各地州(市)、县植保站同行为研究采集并提供标本,谨致谢意!

参 考 文 献

- [1] 白金铠,宋佐衡. 玉米病害的病菌变异与抗病品种选育[J]. 玉米科学,1994(1):67-72.
- [2] DONG J, FAN Y, GUI X, et al. Geographic distribution and genetic analysis of physiological races of *Setosphaeria turcica* in Northern China[J]. American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 2008, 3(1): 389-398.
- [3] 杨继良,王斌. 玉米大斑病抗性遗传的研究进展[J]. 遗传, 2002, 24(4): 501-506.

- [4] 吴格娥,张家卫,石群. 几个玉米新品种的丰产性及对大斑病的抗性比较[J]. 种子, 2007, 26(6): 93-94.
- [5] 王晓鸣,晋齐鸣,石洁,等. 玉米病害发生现状与推广品种抗性对未来病害发展的影响[J]. 植物病理学报, 2006, 36(1): 1-11.
- [6] 李丽昀,李铸华,沙本才,等. 剑川县玉米大斑病发生规律及其防治[J]. 云南农业科技, 2008(1): 54-56.
- [7] 吴安国,雪玲,牟莉芸. 云南玉米大斑病菌生理小种变异研究 I [J]. 云南农业科技, 1986(3): 15-17.
- [8] 吴安国,牟莉芸. 云南省玉米大斑病菌生理小种研究 II [J]. 云南农业科技, 1989(3): 18-21.
- [9] 安鑫龙,郑晓莲,董金皋. 玉米大斑病长蠕孢生理小种的遗传变异[J]. 微生物学通报, 2002, 29(2): 53-56.
- [10] 高卫东,戴法超,朱小阳,等. 玉米大斑病菌生理分化研究[J]. 中国农业科学, 1994, 27(2): 90-91.
- [11] 孙淑琴,温雷蕾,董金皋. 玉米大斑病菌的生理小种及交配型测定[J]. 玉米科学, 2005, 13(4): 112-113, 123.
- [12] LEONARD K J, LEVY Y, SMITH D R. Proposed nomenclature for pathogenic races of *Exserohilum turcicum* on corn[J]. Plant Disease, 1989, 73(9): 776-777.
- [13] HE Q Y. An improved protocol for fungal mycelium culture and DNA preparation[J]. Mycosystema, 2000, 19(3): 434.
- [14] 张泗举. 玉米大斑病菌交配型基因片段的克隆与分析[D]. 保定:河北农业大学植物保护系, 2008.
- [15] 王玉萍,王晓鸣,马青. 我国玉米大斑病菌生理小种组成变异研究[J]. 玉米科学, 2007, 15(2): 123-126.

Identification of physiological races and analysis of mating type of *Setosphaeria turcica* in Yunnan Province

WANG Li-zhi KANG Zhi-yu WU Jing-zhi WU Yi-xin MAO Zi-chao HE Yue-qiu

Faculty of Agronomy and Biotechnology/Key Laboratory of Agricultural Biodiversity and Pests and Diseases Control, Ministry of Education, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

Abstract Eighty one *Setosphaeria turcica* isolates were collected from 13 corn planting areas of Yunnan Province during 2007 to 2009, which were identified by using two sets of the corn differentials containing single *Ht* resistance genes and their mating types were analyzed by using molecular markers. The results showed that both physiological races and mating types of the pathogen were very complicated in Yunnan Province. The isolates could be divided into 11 races including 0, 1, 2, 3, 12, 23, 2N, 3N, 12N, 23N and 123N, among which 123N could overcome all of the single dominant resistance genes of the differentials to *S. turcica* and accounted for 22.2%. Based on the molecular markers, the 81 isolates were divided into three mating types including A, a and Aa, and neuter, accounting for 49.4%, 12.3%, 29.6% and 8.6%, respectively. In addition, different races and mating types of *S. turcica* existed in the same area.

Key words *Setosphaeria turcica*; physiological races; mating type; identification