

落叶松－杨栅锈菌致病性分化研究^①

任本权，曹支敏，潘彦平，余仲东

(西北农林科技大学 林学院 陕西 杨陵 712100)

摘 要 对采自山西、吉林、黑龙江、内蒙古、四川、甘肃、青海、北京等省(市)的 11 个落叶松－杨栅锈菌(*Melampsora larici-populina*)分离物进行了鉴别寄主反应型测定以及潜育期、产孢量的观察,结果表明,落叶松－杨栅锈菌存在较明显的生理分化,并将其分为 3 个致病类群。类群Ⅰ包括青海、吉林、黑龙江、甘肃以及陕西宁陕、周至的 6 个分离物,类群Ⅱ包括四川、内蒙古和陕西宝鸡、太白的 4 个分离物,类群Ⅲ为北京的 1 个分离物。

关键词 落叶松-杨栅锈菌 生理分化 杨树

中图分类号 S763.11 文献标识码 A 文章编号 1001-7461(2003)02-0051-04

Pathogenic Specialization in *Melampsora larici-populina*

REN Ben-quan, CAO Zhi-min, PAN Yan-ping, YU Zhong-dong

(College of Forestry, NW Sci-Tech Univ. of Agr. and For., Yangling, Shaanxi, 712100, China)

Abstract: Eleven collection of *Melampsora larici-populina* originating from Shaanxi, Jilin, Heilongjiang, Neimenggu, Sichuan, Gansu, Qinghai and Beijing were compared from the aspects of host reaction type, infectious latency and sporulation on six poplar clones. Qualitative and quantitative reaction type suggests the significant existence of the pathogenic specialization in *Melampsora larici-populina*. The tested eleven collections of the group were divided into three pathotype. Six collections from Qinghai, Jilin, Heilongjiang, Gansu and Ningshan, Zhouzhi in Shaanxi were classified in the first group. Four collections from Sichuan, Neimenggu and Baoji, Taibai in Shaanxi were classified in the second group. One collection from Beijing was classified in the third group.

Key words: *Melampsora larici-populina*; pathogenic specialization; poplar

落叶松－杨栅锈病(*Melampsora larici-populina*)又称青杨叶锈病,其病原物可侵染青杨派、黑杨派及其杂交种、胡杨等多种杨树^[1],遍及欧、亚、美、非及大洋洲等所有杨树种植地区,在我国广泛分布于东北、华北、西北及西南地区。该病使杨树幼苗繁育和造林受到极大威胁,并造成成林材积损失和材质下降,严重时可导致植株死亡,是杨树锈病中分布最广、危害最大的一种病害^[2~4]。国内外实践证明,利用抗病品种防治栽培植物锈病是最经济有效的措施。因此,筛选培育杨树抗锈性品种成为一个急待解决和深入研究的重要课题。而对锈菌生物学特性、致病性及生理分化等方面的研究则显得尤为重要。

Van Vloten(1949)首次报道了落叶松-杨栅锈菌的生理分化现象,即发生于荷兰的 3 个生理小种和 1 个变种^[5],之后,国外的学者对杨树栅锈菌的生理分化进行了较为系统的研究^[6~9]。在法国、比利时、荷兰等国家,发现了 2 个生理小种,并将其命名为 E1 和 E2^[10],之后又在法国发现了 E3 以及比利时发现了侵染力更强的 E4 小种^[11~13]。

在我国,曹支敏 1998 年首次报道了该锈菌在陕西秦岭地区的生理分化现象并初步定名为 MLP₁、MLP₂、MLP₃ 3 个小种^[14],但涉及全国范围的研究还是空白。本研究主要是对采自我国东北、西北、华北、西南等全国范围内的松杨栅锈菌菌样进行了生物学测定,进一步探讨该锈菌在我国的生理分化情况。

① 收稿日期 2002-09-16
基金项目 国家自然科学基金资助项目(39970616)
作者简介 任本权(1977-)男,山西汾阳人,研究生,研究方向为森林病理。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试树种 选取 8 种不同的杨树 1 年生扦插苗及 2 年生实生苗(卜氏杨)作为鉴别寄主(表 1),以上供试鉴别寄主分别在西北农林科技大学林学院和植保学院温室盆栽培养。

表 1 供试树种及其来源

Table 1 Poplar species and their origins

树 种	来 源
卜氏杨 <i>Populus purdomii</i>)	陕西宁陕火地塘
44-117(<i>P. deltoides</i> × <i>P. trichocarpa</i>)	陕西户县
美洲黑杨(<i>P. deltoides</i>)	陕西杨陵
青杨(<i>P. cathayana</i>)	陕西宁陕火地塘
欧美杨 <i>P. × euramericana</i> (Dode)Guineir)	陕西杨陵
健杨(<i>P. × euramericana</i> cv. 'Robusta ')	陕西杨陵
尤金杨 <i>P. × euramericana</i> cv. 'Eugenei ')	陕西杨陵
I-214(<i>P. × euramericana</i> cv. 'I-214 ')	陕西杨陵

1.1.2 菌样来源 供试菌株以夏孢子为材料。试验所用菌种采自吉林省长春市、黑龙江省哈尔滨市、四川省宝兴县、甘肃省临夏回族自治州、内蒙古呼和浩特市、北京市、青海省西宁市、陕西省宝鸡市、宁陕县等 11 个地区的青杨派和黑杨派上。采集带有夏孢子的新鲜病叶,装入冰壶带回(表 2)。采用李振岐等的方法^[15]将各菌样经单孢子堆分离并扩大繁殖后,收集夏孢子并干燥 15~20 d,分装在真空干燥的安培管中,置于低温(4℃)下保存备用。

以上菌样经过形态学鉴定,证明均属 *Melampsora larici-populina* Kleb.

表 2 供试菌样及来源

Table 2 Rust isolates and their origins

菌样编号	采集寄主	采集地
Qh	青杨(<i>Populus cathayana</i>)	青海西宁
Hd	卜氏杨(<i>P. purdomii</i>)	陕西宁陕
Tt	卜氏杨(<i>P. purdomii</i>)	陕西宝鸡
Cq	青杨(<i>P. cathayana</i>)	吉林长春
Zs	小青杨(<i>P. pseudo-simonii</i>)	黑龙江哈尔滨
Bq	青杨(<i>P. cathayana</i>)	北京林科院
Nm	小黑杨(<i>P. xiaohei</i>)	内蒙古呼和浩特
Sb	卜氏杨(<i>P. purdomii</i>)	四川宝兴
Gl	小叶杨(<i>P. simonii</i>)	甘肃临夏
Th	卜氏杨(<i>P. purdomii</i>)	陕西周至
Ts	卜氏杨(<i>P. purdomii</i>)	陕西太白

1.2 试验方法

1.2.1 菌种繁殖 参照李振岐等^[15]小麦锈菌接种法,在温室中的卜氏杨上繁殖各地采回的菌样,接种时先在叶背喷一层水膜,再用手蘸取适量的夏孢子

悬浮液,均匀涂抹于叶背,然后将接种幼苗置保湿桶保湿 24 h,置于 18~23℃ 的温室中培育。各接种菌样的幼苗进行隔离培养,待孢子堆成熟后即可收集夏孢子并扩繁至足够量。

1.2.2 菌样的致病性测定 2002 年 4~6 月,分别将上述各纯化菌样经 12 h 水化处理后,接种于卜氏杨、44-117 杨进行繁殖。用新鲜的各繁殖菌样按涂抹法分别均匀接种于卜氏杨(ck)、44-117 杨、美洲黑杨、青杨、欧美杨、健杨、尤金杨和 I-214 的叶片上。每个品种接 3 盆,1 盆为对照。挑选叶龄一致的叶片接种,且孢子悬浮液的浓度控制在 2×10^4 个夏孢子/mL。然后定期观察并记载各处理的潜育期、反应型和单位面积(cm^2)的夏孢子堆个数(重复统计 3 次,取其平均值),参照方仲达(1998)^[16]、曹支敏(1998)^[14]等制定的分级标准,制定落叶松-杨栅锈菌的寄主反应型分级标准(表 3)。

表 3 落叶松-杨栅锈菌寄主反应型分级标准

Table 3 The grade standard of host reaction type of *Melampsora larici-populina*

反应型	记载符号	寄主反应和反应级
免疫	0	不产生夏孢子堆,叶子正常,无症状
近免疫	0;	不产生夏孢子堆,出现失绿或坏死斑点
高抗	1	夏孢子堆小且量很少,周围有枯死反应
中抗	2	夏孢子堆小到中等,周围有坏死或失绿边缘
中感	3	夏孢子堆中等大小,周围无坏死反应,多散生
高感	4	夏孢子堆大而密,常相互连结,周围无坏死反应

2 结果与分析

从表 4 可以看出,美洲黑杨对 11 个菌样表现为近免疫或高抗;卜氏杨、44-117 和 I-214 均表现为高感,各菌样在欧美杨、青杨、健杨、尤金杨上的反应型差异较大,从高感到高抗。在欧美杨上,11 个菌样中的 Qh、Hd、Cq、Zs、Bq、Gl、Th 表现为中感到高感,Ts、Sb 表现为中抗,Tt 和 Nm 表现为高抗;在青杨上,Qh、Cq、Zs、Gl 表现为高感反应,Hd、Th 表现为中感,Ts、Nm、Tt、Sb 表现为高抗反应,而 Bq 则表现为高抗-近免疫;在健杨上,Qh、Hd、Cq、Zs、Bq、Gl、Th 表现为高感到中感反应,Tt、Sb 表现为中抗,Ts、Nm 表现为高抗反应;在尤金杨上,Tt 和 Nm 表现为高抗反应,其他菌株表现为感病反应。比较各菌样在欧美杨、青杨、健杨、尤金杨上的差别,大致可将 11 个菌样分为 3 个致病类群,第Ⅰ类为 Qh、Cq、Zs、Gl、Th、Hd,这 6 个菌样在欧美杨、青杨、健杨、尤金杨上均表现为感病反应。第Ⅱ类为 Ts、Sb、Nm、Tt 表现为抗病反应型。第Ⅲ类为 Bq,Bq 在欧美杨、健杨上均表现为高感反应型,但在青杨上却表现

为高抗－近免疫型,有别于第Ⅰ类群和第Ⅱ类群,故划为第Ⅲ类群。同时,接种后定期观察记载各菌样潜育期及夏孢子堆数量(表 5)发现,亲和性(感病性)反应的潜育期较短(4~7 d),产孢量大(一般为 15~50 个/cm²);不亲和反应(抗病性)的潜育期较长(7~9 d),产孢量少(一般为 1~10 个/cm²)。近免疫品种的潜育期更长,一般为 13~16 d,仅出现褪绿反应而不产生孢子堆。根据这些定量指标来划分 11 个菌样,同样可得出与表 4 相一致的 3 个类群。

表 4 供试菌样在鉴别寄主上的反应型

Table 4 Reaction type of the isolates on different hosts

鉴别寄主	菌 株											
	Qh	Hd	Tt	Cq	Zs	Bq	Nm	Sb	Gl	Th	Ts	
卜氏杨(ck)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
44-117	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
美洲黑杨	0;	0;	0;0	~10;	0;	0;	0;	0;	0;	0;	0;	
青杨	4	3-	1	3+	4	0;	~1	1	1	4	3	1 ⁺
欧美杨	4	3	1	4	4	4	1	2-	4	3 ⁺	2-	
健杨	4	4	2-	4	4	4	1	2	4	3 ⁺	1 ⁺	
尤金杨	4	4	1 ⁺	4	4	4	1	4	4	3	3	
I-214	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	

表 5 供试菌样在鉴别寄主上的潜育期和产孢量
Table 5 Latency and sporulation of isolates on different poplar species

鉴别寄主	菌 株																					
	Qh		Nm		Hd		Sb		Tt		Gl		Cq		Th		Zs		Ts		Bq	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
卜氏杨 _(ck)	4	39	4	28	5	36	4	22	4	41	4	31	5	19	5	27	5	48	4	30	5	24
44-117	6	32	6	19	6	22	6	34	5	27	5	45	6	25	5	31	5	37	4	31	6	42
美洲黑杨	13	0	15	0	16	0	13	1	14	0	14	0	16	0	15	0	14	0	14	0	15	0
青杨	6	45	7	9	8	4	7	22	7	27	11	1	9	3	8	4	6	42	7	17	8	5
欧美杨	6	31	6	14	7	3	6	50	6	40	5	28	7	3	8	6	7	43	6	24	7	8
健杨	5	19	7	16	7	8	5	31	5	26	5	22	7	4	7	7	6	20	6	17	7	9
尤金杨	4	35	6	22	7	6	4	45	6	33	4	38	8	4	5	17	6	34	4	28	7	25
I-214	5	31	6	17	6	28	4	39	4	42	4	48	5	22	4	35	5	30	6	47	6	19

注:A表示潜育期(d),B表示夏孢子堆数(个/cm²)。

3 结论与讨论

落叶松-杨栅锈菌在我国存在着较明显的致病性分化,初步将 11 个菌样划分为三大类群:类群Ⅰ有 Qh、Cq、Zs、Gl、Th、Hd,致病性较强;类群Ⅱ有 Ts、Sb、Nm、Tt,致病性较弱;类群Ⅲ有 Bq。青杨对其表现为免疫到近免疫。其中 Cq 能在美洲黑杨上产生极少量的夏孢子,与其他菌样又有所区别;Hd 与类群Ⅰ中的其他菌样相比,致病性又相对稍弱,暂把它归到类群Ⅰ,这些差异仍需今后进一步深入研究。

本研究与曹支敏(1998)^[14]等对秦岭林区的落叶松－杨栅锈菌的生理分化研究结果有些相似,但 MLP₁ 和 MLP₂ 在本研究中被划到一个类群。与国外研究相比,类群Ⅱ与欧洲 E1、E2、E3 有所不同,在健杨上,E1、E2、E3 均表现出感病反应,而类群Ⅱ均表现出抗性反应,类群Ⅰ与 E1、E2 相似,但两者关系尚不清楚。

由于不同研究者所采用的鉴别寄主不同,因此给鉴定结果的比较带来了一定的困难。本研究所采用的 8 种鉴别寄主中,有 5 种是国际上研究落叶松-杨栅锈菌的通用鉴别寄主,具有一定代表性和比较性。今后,需进一步完善松-杨栅锈菌的鉴别寄主,

结合国内实际和国外情况,筛选出一套鉴别能力强又能与国际标准相接轨的鉴别寄主。

本试验表明,接种后的寄主反应型,受接种量以及接种叶片叶龄的影响很大,因而掌握和控制接种的孢子浓度尤为重要,同时要选择叶龄相差不大的叶片接种,尽可能保证各菌样接种条件的一致性。虽然现代分子生物学技术(如 RAPD、RFLP)已应用到某些病原菌的群体分化上,但这些技术涉及稳定性、安全性等问题,因此在研究该锈菌小种致病性分化上,寄主反应型、潜育期以及产孢量都不失为重要的指标。

参考文献：

[1] 袁嗣令.中国乔灌木病害[M].北京:中国林业出版社,1998. 110-112.

[2] 周仲铭,袁毅.杨树叶锈病研究概况[J].北京林学院学报,1985 (4):84-102.

[3] Steenackers J, Steenackers M, Steenackers V. Diseases of poplars-effects on growth and wood duality[J]. Bulletin Trimestriel Centre de Populiculture du Hainaut, Cahiers Techniques de l'Objectif 1, 1995 (3):4-20.

[4] Pinon J, Frey P. Structure of *Melampsora larici-populina* population on wild and cultivated poplar[J]. Eur. J. of Plant Pathol. , 1997, 103(2):159-173.

[5] Van V H. Hybridization experiment with races of *Melampsora*

larici-populina Kleb.[J]. Tijdschr. Pl. Ziekten ,1949 ,55 :196-209.

[6] Sharma J K , Heather W A , Winer P. Effect of leaf maturity and shoot age of clones of *Populus* species on susceptibility to *Melampsora larici-populina* [J]. Phytopathology , 1980 ,70 (6) 548-554.

[7] Pinon J , Frey P , Husson C , et al. Poplar rust (*Melampsora larici-populina*): the development of E4 pathotypes in France since 1994 [A]. In : Jalkanen R. Crane P E , Walla J A , et al. Proceeding first IUFRO rusts of forest trees WP conf. [C]. Saariselka : Finland Finnish Forest Research Institute , 1998 ,712 57-64.

[8] Pinon J. Frequency and evolution of *Melampsora larici-populina* Kleb. races in north-western France [J]. Annales des Sciences Forestieres , 1992 ,49 (1) :1-15.

[9] Heather W A , Sharma J K. Physiologic specialization in hyperparasitism of rances of *Melampsora larici-populina* by isolates of *Cladosporium tenuissimum* [J]. Eur. J. For. Path. , 1987 ,17 : 185-188.

[10] Pinon J , Van B C , Cenetet I , et al. Two pathogenic races of *Melampsora larici-populina* in north-western Europe [J]. Eur. J. For. Path. 1987 ,17 (1) 47-53.

[11] Pinon J , Peulon V. Evidence of third physiological race of *Melampsora larici-populina* Kleb. in Europe [J]. Cryptogamie Mycologie ,1989 ,10 (2) 95-106.

[12] Pinon J. Variability in the genus populus in sensitive to *Melampsora rusts* [J]. Silvae Gennetica ,1992 ,41 (1) 25-32.

[13] Landmann G , Barthod C. La sante des forets health in France , 1994 [J]. Revue-Forestiere-Francaise ,1996 ,48 (2) 99-108.

[14] 曹支敏 ,李振歧 ,胡景江 ,落叶松-杨栅锈菌生理分化研究 [J]. 西北林学院学报 ,1998 ,13 (1) 53-57.

[15] 李振歧 ,商鸿生.小麦锈病及其防治 [M]. 上海 :上海科技出版社 ,1989.211-229.

[16] 方中达. 植病研究法 [M]. 北京 :中国农业出版社 ,1998. 361-362.

(上接第 41 页)

2.4 诱导生根

将无根苗接入不同生根培养基中 ,15 d 后在附加 0.5 mg/L 的 IBA 培养基中有根出现 ,25 d 即可形成较健壮的根 ,每株平均生根 5~7 条 ,根长 0.5~2.0 cm ,生根率为 100% ,而在 IBA 为 1.0 的培养基中 ,25 d 天左右才有根出现 ,并且愈伤组织较大 ,生根率为 90%。

2.5 驯化和移栽

香叶试管苗在培养间打开瓶盖炼苗 2~3 d 后 ,即可移栽到温室大棚。移栽前要清洗掉根部培养基 ,但由于香叶为须根系 ,在试管内生长比较脆弱 ,因此清洗时要轻 ,以免损坏根系 ,将其直接移入大棚温室的基质中 ,进行雾状喷水 ,相对湿度保持在 85% 以上 ,无需设置保温保湿的小环境 ,移栽成活率可达 95% 以上。

3 结论与讨论

组织培养中 ,外植体的消毒是比较重要的一个环节 ,本实验中用间歇消毒法取得了理想的效果。

香叶茎段、无菌嫩茎和嫩叶作为外植体 ,均可诱导产生愈伤组织 ,但以嫩叶较易诱导出愈伤组织 ,最适合的生长素与细胞分裂素组合为 NAA0.1 + BA

2.0 ,其诱导的愈伤组织质量较佳 ,茎芽分化和增殖的最佳组合为 BA0.25 + IBA0.1。

为了奠定大规模商业化生产的基础 ,需要探索进一步降低成本的有效途径。

参考文献 :

[1] 天然香料手册编委会.天然香料手册 [M]. 北京 :轻工业出版社 ,1989.196-198.

[2] 陈正华. 木本植物组织培养及应用 [M]. 北京 :高等教育出版社 ,1986.513-525.

[3] Ahuja M R. A commercially feasible micropropagation method for asper [J]. Silvae Genetica ,1984 ,33 :174-176.

[4] Daniel T C , Scott A M. Plantlet regeneration from somatic embryos of American chestnu [J]. Can. J. For. Res. , 1997 ,27 : 1805-1812.

[5] Gonzalez B M , Herradon E. The development of a protocol for the encapsulation-desiccation and in vitro culture of embryonic axes of *Quercus suber* [J]. Silvae Genetica ,1999 ,48 (1) 25-28.

[6] 刘增群 ,董金阜 ,龚梧芳 ,等. 香叶天竺葵的组织培养 [J]. 植物生理通讯 ,1991 (4) 44.

[7] 黄学林 ,李筱英. 高等植物组织离体培养的形态建成及其调控 [M]. 北京 :科学出版社 ,1995.24-25.

[8] 荆家海. 植物生理学 [M]. 西安 :陕西科学技术出版社 ,1994. 188.