

甘肃省大麦条纹病菌遗传多样性及致病力差异

李葆春^{1#}, 司二静^{1,2#}, 杨淑莲³, 孟亚雄^{1,2}, 马小乐^{1,2}, 王化俊^{1,2*}

(1. 甘肃省干旱生境作物学重点实验室, 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 兰州 730070;

2. 甘肃农业大学农学院, 兰州 730070; 3. 甘肃农业大学档案馆, 兰州 730070)

摘要 为了解甘肃省大麦条纹病菌原菌 *Pyrenophora graminea* 的遗传多样性及致病力差异, 运用 RAPD 分子标记技术对大麦条纹病菌不同菌株进行遗传多样性分析, 并采用三明治法进行菌株致病力差异研究。结果表明: 17 个 RAPD 标记从 45 个菌株中扩增出 126 条带, 平均每个标记 7.41 条带, 遗传相似系数范围为 0.468 3~0.984 1, 平均值为 0.830 8, 当遗传相似系数为 0.723 6 时, 可将供试菌株划分为 4 个类群, 分别包含 41、2、1 和 1 个菌株; 致病力测定结果显示菌株 QWC 较菌株 QQ 致病力强, 两菌株除在品种‘甘啤 2 号’和‘GP-3’上无致病力外, 在其他供试品种上致病力均存在差异。表明大麦条纹病菌不同菌株间存在遗传差异, 且菌株 QWC 和菌株 QQ 存在致病力差异。

关键词 大麦条纹病菌; 随机扩增多态性 DNA; 遗传多样性; 致病力差异

中图分类号: S 435.123 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2018287

Genetic diversity analysis and virulence differentiation of *Pyrenophora graminea*, the pathogen of barley leaf stripe in Gansu province

LI Baochun¹, SI Erjing^{1,2}, YANG Shulian³, MENG Yaxiong^{1,2}, MA Xiaole^{1,2}, WANG HuaJun^{1,2}

(1. Gansu Provincial Key Laboratory of Aridland and Crop Science, Gansu Key Laboratory of Crop Important & Germplasm Enhancement, Lanzhou 730070, China; 2. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 3. Archives of Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract The genetic diversity of *Pyrenophora graminea* collected from different regions in Gansu, was detected with RAPD markers, and the virulence difference between isolate QQ and isolate QWC was tested by the sandwich method. The results showed that a total of 126 fragments were obtained from 45 isolates. Among them, all of the fragments were polymorphic, with an average of 7.41 fragments per RAPD marker. The genetic similarity ranged from 0.468 3 to 0.984 1, with the average of 0.830 8. Isolates in the study were classified into 4 groups at a genetic similarity level of 0.723 6. Virulence test showed that isolate QWC had higher virulence than isolate QQ, and isolate QWC and isolate QQ had virulence difference on all barley varieties except ‘Ganpi 2’ and ‘GP-3’, which were immune to isolate QWC and isolate QQ. The results indicated that there was genetic difference among 45 isolates and a clear virulence differentiation between isolate QWC and isolate QQ.

Key words *Pyrenophora graminea*; RAPD; genetic diversity; virulence differentiation

大麦作为全球第四大禾谷类作物, 与其他麦类作物相比, 其抗旱、耐瘠和耐盐性更强, 在全世界广泛种植, 而我国大麦贸易长期处于净进口状态^[1]。经过育种工作者多年的努力, 目前已经育成部分品种, 缓解了我国啤酒大麦市场的供求矛盾。随着我国人均啤酒消费量的上升、人口的增加以及大麦粮

草双高育种目标的提出, 对啤用大麦需求进一步加大, 但我国大麦生产和发展过程受到大麦条纹病 (barley leaf stripe) 的影响, 该病害是由麦类核腔菌 *Pyrenophora graminea* (anamorph *Drechslera graminea*) [(Rabenh. ex. Schlech.) Shoemaker] 引起的种传病害, 在大多数大麦种植地区发生严重, 导

收稿日期: 2018-07-05 修订日期: 2018-10-24

基金项目: 甘肃农业大学引进人才专项(GSAU-RCZX201706); 甘肃农业大学盛彤笙科技创新基金(GSAU-STS-1735); 国家自然科学基金(31171558, 31460347); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-05)

* 通信作者 E-mail: whuaj@163.com
为并列第一作者

致大麦严重减产^[2-3]。大麦条纹病主要发生在北美、北非、俄罗斯、欧洲、印度和中国等。国内该病害主要分布在沿长江流域的浙江、江苏、四川、甘肃河西走廊地区以及青藏高原裸大麦区等。近年来大麦条纹病在我国江苏、浙江、四川和湖北等地的重病区平均发病率高达 35.3%^[4],河西走廊玉门市发病率达 60%,造成 30%~40%的产量损失^[5],甘肃省古浪县重病田块发病率达到 27%^[6]。

大麦条纹病菌遗传多样性分析国内外已有报道,Jawhar 等^[7]运用 12 个随机引物对来自叙利亚不同地区的大麦条纹病菌进行 RAPD 分析,结果表明不同菌株间有明显遗传差异;王春明等^[8]运用 10 个随机引物对甘肃省的 11 个大麦条纹病菌标样进行 RAPD 分析,11 个供试菌株间遗传距离为 0.02~0.31。Bayraktar 等^[9]对采自不同地区大麦条纹病菌进行 ITS-RFLP 和 ISSR 分析,ITS-RFLP 结果显示供试菌株间无差异,而 ISSR 分析显示供试菌株可划分为 4 个簇。司二静等^[10]利用 ISSR 标记对甘肃省不同地区的大麦条纹病菌进行遗传多样性分析,结果表明 90.24%的片段具有多态性,遗传相似系数为 0.44~1,当遗传相似系数为 0.68 时,可将供试菌株划分为 4 个类群。

抗病育种是病害防治经济有效的途径,抗性评价是抗病育种的前提条件,而不同菌株间致病力差异给抗性评价带来了很大困扰,只有在明确菌株间致病力差异的基础上才有可能获得准确的抗性评价,国内外关于大麦抗条纹病菌致病力差异已有报道,Tekauz^[11]评价了 3 个菌株对 57 份大麦品种进行抗性评价,结果表明 3 个菌株在致病力上存在显著差异,WRS1237 致病力最强而 WRS1238 致病力最弱。Gatti 等^[12]依据菌丝生长速率、致病力和蛋白类型进行群体变异分析,将供试菌株划分成无致病力、中等致病力和强致病力,且不同致病力的类群拥有不同的蛋白类型。Bayraktar 等^[9]在 48 个大麦品种上对 13 个菌株进行致病力变异分析,结果显示菌株存在很高的致病力变异。吴宽然^[13]通过对 13 个菌株的侵染调查分析,发现各个菌株间的致病力差异较大。司二静等^[10]采用三明治法对 43 个大麦条纹病菌进行致病力差异研究,其中强致病力、中等致病力和弱致病力菌株分别为 2 个、21 个和 20 个,表明不同菌株间存在明显致病力差异。目前关于甘肃省大麦条纹病菌在不同品种上的致病力差异研究还未见报道。

本研究对来源于甘肃省不同地区、不同年份的大麦条纹病菌运用 RAPD 标记进行遗传多样性分

析,并通过三明治法接种不同大麦品种进行菌株间致病力差异研究,以期为深入开展该病害的流行规律和抗病育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株:45 个 *Pyrenophora graminea* 菌株由甘肃省干旱生境作物学重点实验室麦类种质创新课题组提供,菌株详细信息见表 1。

表 1 供试菌株

Table 1 The strains in the study

菌株编号 Isolate no.	菌株名称 Isolate name	寄主 Host	采集地点 Sampling locality	采集时间/年-月 Sampling date
1	JT	大麦	甘肃景泰	2009-06
2	CWT	大麦	甘肃景泰	2009-06
3	SSW	大麦	甘肃景泰	2009-06
4	YC	大麦	甘肃永昌	2009-06
5	QWC	大麦	甘肃永登	2009-06
6	SW	大麦	甘肃金川	2009-06
7	GL	大麦	甘肃古浪	2009-06
8	SD	大麦	甘肃山丹	2009-06
9	SGS	大麦	甘肃景泰	2012-06
10	CJZ	大麦	甘肃永昌	2012-06
11	XSB	大麦	甘肃永昌	2012-06
12	QZ	大麦	甘肃凉州	2012-06
13	XTB	大麦	甘肃民乐	2012-06
14	HZZ	大麦	甘肃甘州	2012-06
15	QQ	大麦	甘肃山丹	2012-06
16	QQ-4	大麦	甘肃山丹	2012-06
17	DQ	大麦	甘肃玉门	2012-06
18	DQ-2	大麦	甘肃玉门	2012-06
19	CH	大麦	甘肃山丹	2012-06
20	HZ	大麦	甘肃古浪	2012-06
21	SSB	大麦	甘肃永昌	2012-06
22	HYH	大麦	甘肃凉州	2012-06
23	TB	大麦	甘肃永昌	2012-06
24	SS	大麦	甘肃古浪	2012-06
25	HZT	大麦	甘肃古浪	2012-06
26	HSH	大麦	甘肃凉州	2013-06
27	HS	大麦	甘肃凉州	2013-06
28	NH-1	大麦	甘肃山丹	2014-06
29	NH-2	大麦	甘肃山丹	2014-06
30	ZHZH	大麦	甘肃甘州	2014-06
31	DZ	大麦	甘肃永昌	2014-06
32	LB-1	大麦	甘肃永昌	2014-06
33	LB-2	大麦	甘肃永昌	2014-06
34	HJX-1	大麦	甘肃永昌	2014-06
35	HJX-2	大麦	甘肃永昌	2014-06
36	YPH	大麦	甘肃永昌	2014-06
37	ZYM	大麦	甘肃凉州	2014-06
38	SGST	大麦	甘肃民乐	2014-06
39	WG	大麦	甘肃民乐	2014-06
40	SBC	大麦	甘肃民乐	2014-06
41	SGXT	大麦	甘肃民乐	2014-06
42	MLS	大麦	甘肃民乐	2014-06
43	GKM	青稞	甘肃碌曲	2014-06
44	SSH	大麦	甘肃古浪	2014-06
45	SKL	大麦	内蒙古额尔古纳	2014-06

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 10 g、琼脂 17 g,蒸馏水定容至 1 L。

试剂及仪器:2×Master Mix,中科瑞泰(北京)生物科技有限公司;Marker I,天根生化科技(北京)有限公司;其他试剂均为国产分析纯。070-851 PCR 仪,德国 Amresco 公司;JY04S-3E 凝胶成像分析系统,北京君华鑫科技有限公司;041BR94395 型电泳仪,美国 Bio-Rad 公司。

供试大麦:由甘肃农业大学甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室/甘肃省干旱生境作物学重点实验室麦类种质创新课题组提供,主要来源于

国外引进栽培品种和国内其他省份栽培品种,国内品种 29 份,国外品种 33 份,分别来源于 9 个国家。

1.2 方法

1.2.1 45 个大麦条纹病菌菌株 RAPD 分析

不同菌株 DNA 的提取参考改良 CTAB 法^[9-10,14]。RAPD 引物由北京六合华大基因科技股份有限公司合成,菌株间表现多态性的引物信息见表 2。PCR 扩增体系为 10 μL:2×Master Mix 5 μL、10 μmol/L 引物 1 μL、60 ng/μL 模板 1 μL,加 ddH₂O 至 10 μL。PCR 扩增程序为:94℃预变性 3 min;94℃变性 30 s;37℃退火 30s;72℃延伸 2 min,共 35 个循环;72℃延伸 10 min,4℃保存,PCR 产物经 1.5%琼脂糖凝胶电泳检测。

表 2 RAPD 分析引物序列和多态性条带

Table 2 Sequence of the primers and number of polymorphic fragments obtained by RAPD analysis

引物 Primer	序列(5'-3') Sequence	多态性片段数量 Number of polymorphic fragments	引物 Primer	序列(5'-3') Sequence	多态性片段数量 Number of polymorphic fragments
S66	GAACGGACTC	4	S2088	GGGAAGCGTC	4
S84	AGCGTGTCTG	5	S2089	CCCGCTTTCC	3
S86	GTGCCTAACC	4	S2094	CTTTGCGCAC	8
S122	GAGGATCCCT	6	S2099	AGGCCAACAG	16
S1080	TGATGGCGTC	3	OPK08	GAACACTGGG	8
S2082	ACGCCTGTAG	14	OPK12	TGGCCCTCAC	9
S2083	TGGACTCGGT	14	OPA03	AGTCAGCCAC	3
S2084	CCCAAGCGAA	8	B10	CTGCCTGGGAC	6
S2086	CAGCGGGTCA	11			

1.2.2 大麦条纹病菌菌株 QWC 和 QQ 的致病力测定
致病力测定方法采用三明治法^[10,15],将菌株 QWC 和 QQ 分别在 PDA 培养基上培养 7 d,在菌落边缘打取菌饼,置于新 PDA 培养基上,在 22℃下恒温培养 7 d,用来接种大麦种子。

种子用 70%乙醇处理 30 s,再用 5%次氯酸钠处理 5 min,经无菌水冲洗多次后将种子彻底晾干,然后将种子置于生长 7 d 的两层菌丝的 PDA 培养基中间,每个重复接种 30 粒大麦种子,每个品种 3 次重复,6℃黑暗放置 20 d 后转移至直径 12 cm 花盆,L//D=12 h//12 h,培养 45 d 后待病斑完全显现时进行观察记载每次重复的全部幼苗数,及出现症状的幼苗数。

1.3 数据分析

将电泳结果 DNA 图谱中清晰且可重复的条带记为“1”,无条带记为“0”,利用软件 NTSYSpc 2.10e 计算各菌株间遗传相似性系数(genetic similarity, GS),采用 UPGMA(unweighted pair group method with arithmetic mean)法进行聚类分析。

致病力划分参照 Bayraktar 等^[9]:发病率>

70%为强致病力,20%<发病率≤70%为中等致病力,0<发病率≤20%为弱致病力,发病率=0 为无致病力。

2 结果与分析

2.1 45 个大麦条纹病菌菌株 RAPD 分析

17 个 RAPD 引物在 45 个大麦条纹病菌中共扩增出 126 条谱带,平均每个引物扩增出 7.41 条带。不同菌株间的遗传相似系数范围为 0.468 3~0.984 1,菌株 HJX-1 与 LB-2 的遗传相似系数最大,表明二者遗传距离和遗传差异均最小,菌株 LB-2 与 NH-1 的遗传相似系数也较大,为 0.976 2。菌株 ZYM 与 QZ 的遗传相似系数最小,表明二者遗传距离和遗传差异均最大,菌株 YPH 与 QZ 的遗传相似系数也较小,仅为 0.484 1。供试菌株遗传相似系数平均值为 0.830 8,表明供试菌株间群体遗传差异较小,可能是引物数量较少所致,也可能与菌株主要来源于河西地区有关。

2.2 聚类分析

以 UPGMA 法对供试的 45 个菌株构建聚类

图,在遗传相似系数为 0.540 0 时,可划分为 2 类群,菌株 QZ 单独为一类群,剩余菌株构成第二类群;0.723 6 时可将供试菌株划分 I、II、III 和 IV 为 4 个类群,分别包含 41、2、1 和 1 个菌株,其中菌株 DQ-2 和菌株 QZ 各为一类,菌株 HZZ 和 ZHZZ 构成一类,而剩余 41 个菌株划分为一类(图 1)。本研究 中菌株来源于不同地区,通过聚类分析发现采集于同一地区的菌株未被聚在一起,如 DQ 和 DQ-2 均来源于甘肃玉门东渠同一田块的不同感病植株,但被划分在不同类群中,表明菌株 DQ 和 DQ-2 间存在一定遗传差异,此外来源于内蒙古的菌株 SKL 与来源于甘肃永昌的 XSB 聚在一起,遗传相似系数较大,因此基于 RAPD 分析结果表明大麦条纹病菌菌株类群与菌株的地理来源间没有明显的相关性。

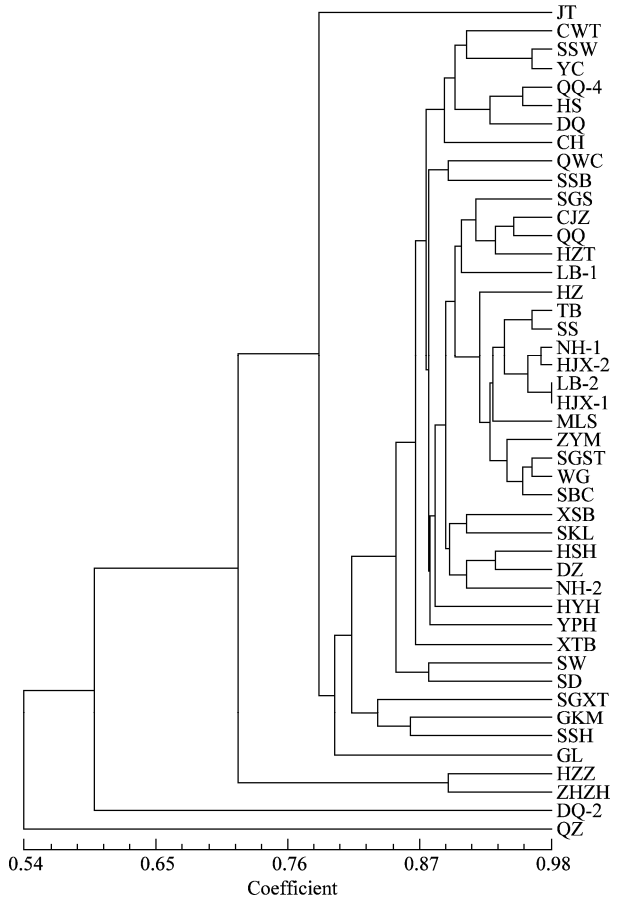


图 1 45 个菌株 RAPD 标记聚类分析图

Fig. 1 Cluster analysis of 45 *Pyrenophora graminea* isolates with RAPD marker

2.3 菌株 QWC 和 QQ 的致病力差异

将菌株 QWC 和 QQ 分别接种于 62 份不同来源的大麦品种上研究其致病力差异。结果表明,接种菌株 QWC 的大麦材料的发病率为 0~90.12%,接种菌株 QQ 的发病率为 0~66.67%;在 62 个大麦

品种上接种 QWC 和 QQ 平均发病率分别为 38.28% 和 10.04%,分别表现为中等致病力和弱致病力,菌株 QWC 致病力与菌株 QQ 相比较强。菌株 QWC 在 62 个品种上的致病力表现依次为 9 个品种上表现强致病力、36 个品种上表现为中等致病力和 11 个品种上表现为弱致病力,6 个品种上表现为无致病力;菌株 QQ 对供试 62 个品种均未表现出强致病力,在 12 个品种上表现为中等致病力,30 个品种上表现为弱致病力,20 个品种上表现为无致病力(表 3)。QWC 和 QQ 除在品种‘甘啤 2 号’和‘GP-3’上表现为无致病力外,在多数品种上致病力差异较大。在整体水平上虽然菌株 QWC 比菌株 QQ 致病力强,但是在个别品种上菌株 QQ 比菌株 QWC 致病力强,如在‘BARI193’和‘内 08PJ-36’上菌株 QWC 表现为无致病力而菌株 QQ 表现为中等致病力。基于不同品种对供试菌株的反应差异表明菌株 QWC 和菌株 QQ 存在明显的致病力差异。

表 3 不同大麦品种人工接种 QWC 和 QQ 后抗性评价

Table 3 Resistance of barley accessions to isolate QWC and QQ by artificial inoculation

品种 Variety	来源 Source	菌株 QWC <i>Pyrenophora graminea</i> QWC		菌株 QQ <i>Pyrenophora graminea</i> QQ	
		发病率/% Disease incidence	致病力等级 Virulence grade	发病率/% Disease incidence	致病力等级 Virulence grade
Baudin	澳大利亚	35.42	中	16.67	弱
Lina	丹麦	88.89	强	5.26	弱
安特 13	丹麦	39.65	中	6.67	弱
德 13	德国	48.56	中	15.00	弱
99 德 7	德国	56.52	中	7.14	弱
Alexis	德国	88.24	强	2.22	弱
Cristina	德国	55.56	中	26.83	中
vodka	法国	85.28	强	4.44	弱
FNKF-2	法国	32.98	中	10.00	弱
TABORA	法国	36.55	中	9.70	弱
Podie	法国	50.00	中	4.76	弱
Fergus	加拿大	71.43	强	0.00	无
Z140V015W	美国	33.33	中	6.08	弱
Z036Q029R	美国	78.06	强	0.00	无
GERTRUD	美国	46.67	中	6.67	弱
Z203U004V	美国	9.89	弱	0.00	无
Monex	美国	94.44	强	10.00	弱
Z141V055W	美国	12.50	弱	6.25	弱
BARI193	美国	0.00	无	25.20	中
G0615119T	美国	93.75	强	0.00	无
Z07190489	美国	59.14	中	0.00	无
Z120V016W	美国	8.09	弱	11.11	弱
Z122v027w	美国	31.09	中	25.00	中
甘木二条	日本	40.64	中	0.00	无
牛古特	日本	29.17	中	38.09	中
阿玛玛黄金	日本	68.75	中	16.67	弱
麒麟直 1 号	日本	50.00	中	30.69	中
韭崎 12 号	日本	10.20	弱	15.15	弱
法尔菲特	匈牙利	33.33	中	0.00	无
Raxana	匈牙利	12.50	弱	6.52	弱
Jubilant	匈牙利	25.17	中	0.00	无

续表 3 Table 3(Continued)

品种 Variety	来源 Source	菌株 QWC <i>Pyrenophora graminea</i> QWC		菌株 QQ <i>Pyrenophora graminea</i> QQ	
		发病率/%	致病力等级	发病率/%	致病力等级
		Disease incidence	Virulence grade	Disease incidence	Virulence grade
Jaxana	匈牙利	36.38	中	7.33	弱
S-1	叙利亚	29.45	中	31.19	中
蒲麦 4 号	中国福建	26.52	中	2.78	弱
甘啤 2 号	中国甘肃	0.00	无	0.00	无
BY-1	中国甘肃	33.33	中	2.22	弱
甘啤 1 号	中国甘肃	12.04	弱	26.19	中
0010-13	中国甘肃	18.75	弱	6.73	弱
9910-49	中国甘肃	5.56	弱	0.00	无
8810-3-1-3	中国甘肃	37.50	中	0.00	无
ZYM0876	中国甘肃	22.73	中	0.00	无
9821-137	中国甘肃	8.33	弱	0.00	无
舟曲扁二棱	中国甘肃	78.57	强	0.00	无
0020-4	中国甘肃	0.00	无	2.38	弱
GP-3	中国甘肃	0.00	无	0.00	无
杨农 1174	中国江苏	25.65	中	0.00	无
奥比黑	中国江苏	0.00	无	10.37	弱
内 08PJ-36	中国内蒙古	0.00	无	33.02	中
潼麦 1 号	中国陕西	64.31	中	4.18	弱
舟麦 1 号	中国浙江	33.33	中	0.00	无
舟麦 2 号	中国浙江	55.00	中	12.25	弱
ZYM0890	中国西藏	43.74	中	20.22	中
西-野大麦	中国西藏	38.13	中	0.00	无
ZYM0207	中国西藏	16.67	弱	24.44	中
ZYM0339	中国西藏	68.42	中	10.00	弱
ZYM-3394	中国西藏	42.07	中	8.89	弱
ZYM0433	中国西藏	33.33	中	18.63	弱
ZYM0379	中国西藏	45.00	中	25.25	中
ZYM6953	中国西藏	26.57	中	66.67	中
矮早三号	中国浙江	50.42	中	0.00	无
秀 79-2	中国浙江	5.88	弱	0.00	无
浙农大 2	中国浙江	90.12	强	3.89	弱

3 讨论

寄主与病原菌的自身特点及相互关系对抗病育种和病害防治具有非常重要的指导意义,两者是相互斗争相互依存关系,而病原菌遗传多样性和致病力差异对病害防治尤为重要,本研究通过 RAPD 方法对不同来源的大麦条纹病菌进行遗传多样性分析,并通过人工接种方法对不同菌株进行致病力差异研究。

本研究结果显示 RAPD 分析可以揭示供试菌株间遗传差异,与 Jawhar 等^[7]和王春明等^[8]的结果较一致,并且本研究选取的引物数量多于前者,本研究筛选到 17 条在供试菌株间表现多态性引物,而 Jawhar 等^[7]和王春明等^[8]分别只筛选到 9 条和 2 条多态性 RAPD 引物。本试验 RAPD 分析结果显示扩增谱带在菌株间均表现多态性,与王春明等^[8]报道的 46.15% 相比较,产生此差异可能与本研究

中所用菌株数量较多,且地理来源更加丰富有关。菌株 GKM 采集于甘肃省甘南青稞感病植株,而聚类结果显示菌株 GKM 与来源于甘肃古浪的菌株 SSH 遗传差异较小,聚在一起,这与王春明等^[8]报道的菌株类群与不同寄主有一定的相关性的研究结论不一致,可能与供试菌株数量有关。本研究结果表明 RAPD 聚类与河西地区菌株地理来源无相关性,与 Bayraktar 等^[9]的研究结果相一致,造成该现象的原因与大麦条纹病为种传病害有关,同一地区不同地块种子来源地不同,不同种植区域间的种子调运对病原菌在不同地理区域间的传播也起到重要的作用。

本研究通过不同品种经人工接种不同菌株后的发病率对不同菌株进行致病力差异研究,结果显示不同菌株间致病力差异较大,与前人研究结果^[10, 13]相一致。司二静等^[10]在大麦品种‘Isotta’上对 43 株大麦条纹病菌进行致病力测定,其中菌株 QWC 和菌株 QQ 分别划分为强致病力菌株和弱致病力菌株,而本研究选取菌株 QWC 和菌株 QQ 在 62 份大麦上进行致病力测定,结果显示菌株 QWC 较菌株 QQ 致病力强,与司二静等^[10]的研究结果一致。因菌株 QWC 和菌株 QQ 存在明显致病力差异,在部分品种上菌株 QWC 表现无致病力,但是菌株 QQ 却能使该品种致病,如‘BARI193’和‘内 08PJ-36’。本研究只筛选到品种‘甘啤 2 号’和‘GP-3’对菌株 QWC 和菌株 QQ 均表现为抗病,接种后未发现感病植株,后续应考虑通过构建遗传群体在免疫品种中挖掘抗性基因或 QTL,进而更好地为大麦条纹病的抗病育种提供抗性资源。

由于本研究中只选用了 40 条 RAPD 引物中多态性较高的 17 条 RAPD 对供试菌株进行遗传多样性分析,若要更加详细地进行甘肃省大麦条纹菌的遗传多样性分析,还需进行大量的 RAPD 引物筛选或采用其他标记方法进行相关研究。本研究只选用菌株 QWC 和菌株 QQ 在不同大麦品种上进行致病力差异研究,后续应选取更多菌株在不同品种上进行致病力差异研究,通过菌株间遗传差异和致病力差异为小麦条纹病抗病育种和病原菌致病机理研究提供理论依据。

参考文献

[1] 李先德,孙致陆,张京. 2014 年世界和中国大麦生产与贸易形势及 2015 年展望[J]. 农业展望,2015,11(2):43-47.
[2] ARABI M I E, JAWHAR M, AL-SAFADI B, et al. Yield re-

sponses of barley to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) under experimental conditions in southern Syria [J]. Journal of Phytopathology, 2004, 152(8/9): 519–523.

[3] PORTA-PUGLIA A, DELOGU G, VANNACCI G. *Pyrenophora graminea* on winter barley seed: effect on disease incidence and yield losses[J]. Journal of Phytopathology, 1986, 117(1):26–33.

[4] 陈桂华, 褚金云, 金保根, 等. 金山区大麦条纹病暴发情况及原因分析[J]. 上海农业科技, 2009(5):134.

[5] 靳生杰, 洪平, 张丽琼. 玉门市大麦条纹病的发生与防治[J]. 农业科技与信息, 2008(13):35–36.

[6] 司二静. 大麦条纹病病原菌基因组测序及 SSR 标记开发[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.

[7] JAWHAR M, SANGWAN R S, ARABI M I E. Identification of *Drechslera graminea* isolates by cultural characters and RAPD analysis [J]. Cereal Research Communications, 2000, 28(1):87–93.

[8] 王春明, 郑果, 洪流, 等. 甘肃省不同地区大麦条纹病菌致病力测定及 RAPD 分析[J]. 中国植保导刊, 2014, 34(4):10–14.

[9] BAYRAKTAR H, AKAN K. Genetic characterization of *Pyrenophora graminea* isolates and the reactions of some barley cultivars to leaf stripe disease under greenhouse conditions [J]. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 2012, 36(2):

329–339.

[10] 司二静, 杨淑莲, 李葆春, 等. 甘肃省大麦条纹病病原菌致病力分化、rDNA-ITS 及遗传多样性分析[J]. 植物保护学报, 2017, 44(1):84–92.

[11] TEKAUZ A. Reaction of Canadian barley cultivars to *Pyrenophora graminea*, the incitant of leaf stripe [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1983, 5(4): 294–301.

[12] GATTI A, RIZZA F, DELOGU G, et al. Physiological and biochemical variability[of the barley] in a population of *Drechslera graminea* [J]. Journal of Genetics & Breeding, 1992, 46: 179–186.

[13] 吴宽然. 大麦条纹病菌种群遗传结构分析及抗性种质鉴定[D]. 杭州: 浙江师范大学, 2013.

[14] WEILAND J J, STEFFENSON B J, CARTWRIGHT R D, et al. Identification of molecular genetic markers in *Pyrenophora teres* f. *teres* associated with low virulence on ‘Harbin’ barley [J]. Phytopathology, 1999, 89(2): 176–181.

[15] PECCHIONI N, FACCIOLI P, TOUBIA-RAHME H, et al. Quantitative resistance to barley leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) is dominated by one major locus[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93(1/2): 97–101.

(责任编辑: 杨明丽)

(上接 182 页)

明确引起仓储玉米籽粒霉变病原菌的种类, 可为进一步防治玉米仓储病害提供理论依据。

参考文献

[1] MARASAS W F O. Fumonisin: their implications for human and animal health [J]. Natural Toxins, 1995, 3(4):193–198.

[2] 孙华, 郭宁, 石洁, 等. 海南玉米穗腐病病原菌分离鉴定及优势种的遗传多样性分析[J]. 植物病理学报, 2017, 47(5):577–583.

[3] 孙华, 张海剑, 马红霞, 等. 春玉米区穗腐病病原菌组成、分布及禾谷镰孢复合种的鉴定[J]. 植物病理学报, 2018, 48(1):8–15.

[4] 刘增然, 张光一, 王南南, 等. 储存玉米中黄曲霉毒素主要产生菌的检测及污染预防研究[J]. 植物保护, 2017, 43(6):46–52.

[5] CHAVERRI P, BRANCORROCHA F, JAKLITSCH W, et al. Systematics of the *Trichoderma harzianum* species complex and the re-identification of commercial biocontrol strains [J]. Mycologia, 2015, 107(3):558–590.

[6] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.

[7] 孔华忠. 中国真菌志-青霉属及相关有性型属[M]. 北京: 科学出版社, 2007.

[8] WHITE T J, BRUNS T, LEE S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]//INNIS M A, GELFAND D H, SNINSKY J J, et al. PCR Protocols: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press, 1990: 315–322.

[9] O'DONNELL K, WARD T J, ABERRA D, et al. Multilocus genotyping and molecular phylogenetics resolve a novel head

blight pathogen within the *Fusarium graminearum* species complex from Ethiopia [J]. Fungal Genetics and Biology, 2008, 45(11):1514–1522.

[10] CARBONE I, KOHN L M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes [J]. Mycologia, 1999, 91(3): 553–556.

[11] JAKLITSCH W M, KOMON M, KUBICEK C P, et al. *Hypocrea voglmayrii* sp. nov. from the Austrian Alps represents a new phylogenetic clade in *Hypocrea/Trichoderma* [J]. Mycologia, 2005, 97(6): 1365–1378.

[12] 韩勇军. 哈茨木霉对禾谷镰孢病原菌的抑菌活性研究[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(2):356–358.

[13] MISLIVEC P B, TUIITE J. Species of *Penicillium* occurring in freshly-harvested and in stored dent corn kernels [J]. Mycologia, 1970, 62(1): 67–74.

[14] 秦子惠, 任旭, 江凯, 等. 我国玉米穗腐病致病镰孢种群及禾谷镰孢复合种的鉴定[J]. 植物保护学报, 2014, 41(5):589–596.

[15] 张衡宇. 植物生防菌哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*)的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2011.

[16] 陈凯, 李纪顺, 王贻莲, 等. 洞庭湖湿地木霉多样性及生防活性[J]. 微生物学通报, 2017, 44(10):2307–2320.

[17] 姚瑞丽. 玉米穗腐病病原鉴定、产毒条件及田间防控研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2015.

[18] 张广志, 张新建, 陈泉, 等. 哈茨木霉复合种内 3 个中国新记录种的分离和鉴定[J]. 山东科学, 2015, 28(6):43–46.

(责任编辑: 杨明丽)