

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202311040

吴巧芬, 马晓雅, 夏科, 等. 2024. 白及锈病病原菌的鉴定及抗锈病资源筛选 [J]. 广西植物, 44(6): 1129–1137.

WU QF, MA XY, XIA K, et al., 2024. Identification of *Bletilla striata* rust pathogen and resistance resources screening [J]. Guihaia, 44(6): 1129–1137.

## 白及锈病病原菌的鉴定及抗锈病资源筛选

吴巧芬<sup>1</sup>, 马晓雅<sup>1,2</sup>, 夏科<sup>1</sup>, 路茜<sup>1,2</sup>, 刘巧<sup>1</sup>, 赵志国<sup>1</sup>, 郑文俊<sup>2\*</sup>, 仇硕<sup>1\*</sup>(1. 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室, 广西桂林 541006;  
中国科学院

2. 桂林理工大学 旅游与风景园林学院, 广西桂林 541006)

**摘要:** 为鉴定引起广西种植区白及锈病的病原菌种类且筛选抗锈病的白及资源, 该研究对白及锈病病原菌进行分离, 并采用形态学和分子生物学的方法对病原菌进行鉴定, 同时通过人工接种病原菌法对 23 份白及进行锈病抗性评价以及筛选抗锈病的白及资源。结果表明: (1) 从白及感病叶片中分离的锈病病原菌 X2 夏孢子呈金黄色, 卵圆形或椭圆形, 大小为 (21.43~30.95)  $\mu\text{m}$   $\times$  (13.10~19.05)  $\mu\text{m}$ ; 冬孢子呈橘红色、红褐色, 倒卵形或棍棒状, 大小为 (17.25~30)  $\mu\text{m}$   $\times$  (5.5~6.65)  $\mu\text{m}$ 。(2) 把菌株 X2 全长 689 bp 的 ITS 序列 (OQ826009) 与 GenBank 已登陆的序列进行相似性分析发现, 菌株 X2 与 *Coleosporium* sp. (KY783686.1) 匹配度最高, 序列一致性为 95.86%, 但系统发育树表明, X2 与 *Coleosporium bletiae* (MN108161.1, OP363680.1) 聚为一类群; 结合形态学和分子生物学的方法, 鉴定菌株 X2 为 *Coleosporium bletiae*。(3) 人工接种菌株 X2 14 d 后, 23 份白及的病情指数范围在 0~70.7 之间, 并根据病情指数将 23 份白及划分为 6 个抗性等级, 即表现为免疫的白及 1 份, 病情指数为 0; 表现为高抗的白及 4 份, 病情指数为 1.7~4.7; 表现为抗病的白及 6 份, 病情指数为 5.6~9.4; 表现为中抗的白及 5 份, 病情指数为 12.7~18.3; 表现为感病的白及 5 份, 病情指数为 32.0~49.1; 表现为高感的白及 2 份, 病情指数为 62.2~70.7。综上认为, 表现为免疫和高抗的 5 份白及(分别来自云南红河、广西恭城、广西百色、贵州遵义、湖北宜昌)病情指数低、抗锈病能力强, 可推广应用或作为培育抗锈病优良种质的亲本材料。该研究结果为后续开展白及锈病的有效防治与致病机理研究提供了支撑。

**关键词:** 白及, 锈病, 病原菌鉴定, 鞘锈菌, 抗病资源

中图分类号: Q945.8 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2024)06-1129-09

## Identification of *Bletilla striata* rust pathogen and resistance resources screening

WU Qiaofen<sup>1</sup>, MA Xiaoya<sup>1,2</sup>, XIA Ke<sup>1</sup>, LU Xi<sup>1,2</sup>, LIU Qiao<sup>1</sup>,  
ZHAO Zhiguo<sup>1</sup>, ZHENG Wenjun<sup>2\*</sup>, QIU Shuo<sup>1\*</sup>

收稿日期: 2024-02-28 接受日期: 2024-04-21

基金项目: 广西重点研发计划项目(桂科 AB18294026); 桂林市技术应用与推广计划项目(20220135-1); 广西科学院园艺植物种质资源创新及利用创新研究团队启动经费项目(CQZ-E-1919); 广西植物研究所基本业务费项目(桂植业 24011); 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室自主研究课题(ZRJJ2023-9)。

第一作者: 吴巧芬(1993—), 硕士, 助理研究员, 主要从事药用植物栽培研究, (E-mail) 2547508570@qq.com。

\*通信作者: 郑文俊, 博士, 教授, 主要从事民族乡土景观及风景旅游规划研究, (E-mail) 149480860@qq.com; 仇硕, 博士, 副研究员, 主要从事园艺植物种质资源创新与利用研究, (E-mail) qiushuo001@163.com。

( 1. Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. College of Tourism & Landscape Architecture, Guilin University of Technology, Guilin 541006, Guangxi, China )

**Abstract:** In order to identify the pathogen that caused rust of *Bletilla striata* in Guangxi Zhuang Autonomous Region and to screen resistance resources for *B. striata*, the rust pathogen was isolated from infected leaves of *B. striata* and identified using morphology and molecular methods. At the same time, the resistance of 23 *B. striata* from different regions was evaluated by artificial inoculation of pathogen. The results were as follows: (1) The urediopores of strain X2 isolated from diseased leaves in *B. striata* were golden yellow, oval, (21.43–30.95)  $\mu\text{m} \times$  (13.10–19.05)  $\mu\text{m}$ . The teleutospores were golden yellow, obovate or clavate, (17.25–30)  $\mu\text{m} \times$  (5.5–6.65)  $\mu\text{m}$ . (2) The length of ITS sequence of strain X2(OQ826009) was 689 bp, which were compared with other ITS sequences in the GenBank, and the similarity reached 95.86% compared with *Coleosporium* sp. (KY783686.1). But the phylogenetic tree showed that the sequence was clustered together with two sequences of *Coleosporium bletiae* (MN108161.1, OP363680.1). The strain X2 was identified as *Coleosporium bletiae* by combining morphology and molecular methods. (3) After 14 days of artificial inoculation with strain X2, the disease index of 23 *Bletilla striata* ranged from 0 to 70.7. And the resistance of strain X2 from 23 *B. striata* were divided into six different levels according to the disease index. Among them, one immune materials was identified for the disease index was 0. Four highly resistant materials were identified for the disease index was 1.7–4.7. Six disease-resistant materials were identified for the disease index was 5.6–9.4. Five medium-resistant materials were identified for the disease index was 12.7–18.3. Five susceptible materials were identified for the disease index was 32.0–49.1 and two highly susceptible materials were identified for the disease index was 62.2–70.7. In conclusion, five materials (one immune material and four highly resistant materials) of *B. striata* from different places (Honghe City in Yunnan Province, Gongcheng County and Baise City in Guangxi Zhuang Autonomous Region, Zunyi City in Guizhou Province and Yichang City in Hubei Province, respectively) can be promoted directly or applied as parent materials for creating excellent germplasm to resist the rust in *B. striata* for they express immune or highly resistance. This study provides the basis for further research on pathogenesis and control of rust in *B. striata*.

**Key words:** *Bletilla striata*, rust, pathogen identification, *Coleosporium* sp., resistance resource

白及(*Bletilla striata*)是兰科白及属(*Bletilla*)多年生草本植物,又名白芨,别名白根、地螺丝、羊角七等(中国植物志,1999)。白及是一种重要的中药材品种,具有收敛止血、消肿生肌功效,可外治创伤出血、疮疡肿毒、皮肤皲裂,内治吐血、咳血、慢性胃溃疡以及肿瘤等(Sun et al., 2016; Zhang et al., 2019; 中华人民共和国药典,2020)。白及既可用于止痒、消退色斑、消除痤疮、防止粗糙,也可作糊料,制作高级香烟的烟蒂以及酿酒等(刘光斌等,2005; 宋志姣等,2019)。此外,白及叶态优美、花型独特、花大色艳,还可用于园艺观赏。随着白及规模化种植面积的不断扩大,病虫害发生越来越多,其中锈病是近年来较为严重的主要病害之一,全国多地均有白及锈病流行的现象(游崇娟,2012)。因此,有必要确定白及锈病的发生情况及病原菌种类,并筛选抗病性较好的种质资源。

白及锈病是由真菌寄生引起的一类病害,受锈病侵染严重的叶片上密布孢子堆,从而导致光

合作用受阻、叶片扭曲干枯,不仅影响白及的美观,还使白及产量和品质下降(宋莉莎,2019;徐明玥等,2023)。近年来,在广西地区白及锈病连年大面积发生,总体发病率在50%以上,给生产造成极大损失。余中莲等(2021)研究表明,锈病病原菌是气传性寄生菌,随气流传播,受环境影响较大,温度、水分、风力等均可影响锈菌的传播,作物生产区一旦感染该病害,就很难防控。锈菌致病种类繁多,同种锈菌可感染不同植物,同种植物也可感染多种锈菌(余中莲等,2021),仅云南省保山市的紫皮石斛就发现了柄锈菌(*Puccinia* sp.)和鞘锈菌(*Coleosporium* sp.)两种不同属的病原菌(胡永亮等,2013;赵桂华等,2016)。据调查结果显示,湖北、贵州、重庆等地白及锈病在4—6月均有发生,有的种植区发病率在90%以上(刘燕琴等,2017;宋莉莎,2019;徐明玥等,2023)。前人研究鉴定了贵州、湖北、江西、云南等地白及锈病病原菌为鞘锈菌(*Coleosporium* sp.)(游崇娟,2012;宋

莉莎,2019;徐明玥等,2023)。然而,广西地区未见白及锈病病原菌的相关报道。现阶段,白及锈病的防控主要有农业管理和化学药剂防治,防治效果一般,并且容易引起农药残留、污染环境等问题(赵仁全等,2016;刘燕琴等,2017;杨德辉等,2018)。有研究认为,在农业生产中,选育和推广抗锈病的品种是控制和治理锈病最经济、安全和有效的途径(于海天等,2020;成良强等,2022)。

基于以上情况,广西种植区的白及锈病病原菌是否和其他地区的一致仍需要鉴定,同时不同地理来源的白及对锈病抗性是否存在差异也需要进行评价。本研究通过对白及锈病的调查和病原菌的形态学及分子生物学鉴定,并进一步通过人工接种法对不同地理来源的 23 份白及进行抗性评价,拟探讨:(1)广西种植区白及锈病的发病特

征;(2)广西种植区白及锈病病原菌在系统发育上属于哪个类别;(3)不同地理来源的白及对锈病抗性的差异。本研究首次对不同地理来源的白及进行抗性评价,并筛选对锈病具有较好抗性的白及材料,以期明确广西种植的白及锈病发生情况及病原菌种类,为后续开展白及锈病的有效防治与致病机理研究提供基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

供试白及均从不同地理来源引种栽培于桂林市雁山区广西植物研究所科研试验种植基地(110°17' E、25°01' N)(表 1);供试的菌株取自 3 号白及锈病感染叶片上的病原菌,并将其命名为 X2。

表 1 不同地理来源的白及资源统计表

Table 1 List of *Bletilla striata* resource from different geographical sources

编号 No.	来源地 Place of origin	编号 No.	来源地 Place of origin
1	广西资源 Ziyuan, Guangxi	13	湖南永州 Yongzhou, Hunan
2	广西资源 Ziyuan, Guangxi	14	江西永新 Yongxin, Jiangxi
3	广西桂林 Guilin, Guangxi	15	江西修水 Xiushui, Jiangxi
4	广西恭城 Gongcheng, Guangxi	16	江西上饶 Shangrao, Jiangxi
5	广西河池 Hechi, Guangxi	17	四川巴中 Bazhong, Sichuan
6	广西靖西 Jingxi, Guangxi	18	四川广元 Guangyuan, Sichuan
7	广西百色 Baise, Guangxi	19	重庆 Chongqing
8	广西贺州 Hezhou, Guangxi	20	湖北宜昌 Yichang, Hubei
9	云南罗平 Luoping, Yunnan	21	湖北襄阳 Xiangyang, Hubei
10	云南红河 Honghe, Yunnan	22	安徽广德 Guangde, Anhui
11	贵州遵义 Zunyi, Guizhou	23	江苏南京 Nanjing, Jiangsu
12	湖南桑植 Sangzhi, Hunan		

### 1.2 方法

1.2.1 白及锈病调查 2022 年 4—10 月,观察 3 号白及的田间自然发病情况,拍照、记录白及锈病症状,并统计发病植株和病害严重程度。

1.2.2 病原菌形态观察 选取锈病典型症状病叶,于体视显微镜下观察孢子堆形态。挑取叶片背面夏孢子,将其置于载玻片上,用无菌水做浮载剂,制成临时玻片。对产生冬孢子的叶片则采用切片法制成玻片,即用刀片切取含有冬孢子堆的叶片组织,观察横切面。将制成的玻片置于莱卡正置

式显微镜 DM2500 下观察病原菌形态,对病原菌进行拍照,同时测量夏孢子和冬孢子的大小。

1.2.3 分子生物学鉴定 选取与白及锈病夏孢子形态相同的新鲜病叶,用无菌毛刷轻轻刷下叶背的夏孢子,采用 CTAB 法提取病原菌 DNA。用 rDNA-ITS 引物 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')/ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')进行 PCR 扩增。反应体系共 25  $\mu\text{L}$ : Master Mix 12.5  $\mu\text{L}$ 、10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  引物各 1  $\mu\text{L}$ 、30  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  模板 DNA 1  $\mu\text{L}$ 、ddH<sub>2</sub>O 9.5  $\mu\text{L}$ 。反应程序: 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性

3 min, 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 30 个循环; 72 °C 终延伸 5 min; PCR 产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测后, 送武汉擎科生物科技有限公司测序。将测序获得的菌株 rDNA-ITS 序列在 GenBank 数据库中进行 BLAST 同源性比对分析, 下载同源性较高的 rDNA-ITS 序列。基于供试菌株和选取同源性大于 95% 的其他菌株 ITS 序列的 rDNA-ITS 序列, 采用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树。

#### 1.2.4 白及锈病抗性鉴定

1.2.4.1 人工接种锈病孢子 将上述(1.2.3)病叶的夏孢子堆用无菌毛刷轻轻刷进无菌水中, 制备成病原菌孢子悬浮液(光学显微镜 100 倍视野下 20~25 个孢子), 加入 0.1% 浓度的吐温-80, 均匀喷洒在 23 份不同地理来源的健康白及叶片背面, 以加入 0.1% 吐温-80 的无菌水为对照, 套上塑料袋保湿 24 h, 每个处理 6 株, 3 个重复; 接种后每天观察植株情况, 14 d 后以叶片为取样单位统计发病情况, 并记录相关数据。

1.2.4.2 锈病抗性评价 参照贺占雪等(2019)的方法, 结合广西地区白及锈病的发病特点稍作改进。接种锈病病原菌后根据白及每张叶片上病斑面积占整个叶面积的百分比进行病害分级。分级标准: 0 级, 无病斑; 1 级, 病斑占叶面积 0~20%; 2 级, 病斑占叶面积 21%~40%; 3 级, 病斑占叶面积 41%~60%; 4 级, 病斑占叶面积 61%~80%; 5 级, 病斑占叶面积在 80% 以上。病情指数( $I_D$ ) =  $\sum$ (各级病叶数×该级代表数值)/(调查总叶片数×最重级别代表数值)×100。根据病情指数将白及材料抗性评价标准进行划分, 即免疫(immune, I), 病情指数=0; 高抗(high resistance, HR), 0<病情指数≤5; 抗病(resistance, R), 5<病情指数≤10; 中抗(moderate resistance, MR), 10<病情指数≤30; 感病(susceptible, S), 30<病情指数≤50; 高感(high susceptible, HS), 病情指数>50。

#### 1.3 数据处理与分析

使用 Excel 2010 和 SPSS 22.0 软件进行数据统计和分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 白及锈病的发生情况

经调查发现, 2022 年广西桂林市种植区的白及 4 月上旬开始出现锈病, 受锈病侵染的叶片背

面散生许多粉末状的黄色夏孢子堆, 叶片正面有淡黄色的病斑, 随着时间的推移, 夏孢子堆边缘变蜡质, 颜色逐渐变深; 9 月下旬, 夏孢子堆周围形成表面蜡状、光滑的红褐色冬孢子堆, 冬孢子堆单生或聚在一起成圆环状。广西桂林市种植区的白及锈病主要危害叶片, 未见侵染花、果、叶鞘, 锈菌传播速度快, 发病率高, 其中 3 号白及达到 100%, 被害严重的叶片形成大型枯斑、干枯, 严重影响白及的观赏效果和产量(图 1)。

### 2.2 白及锈病病原菌的形态特征

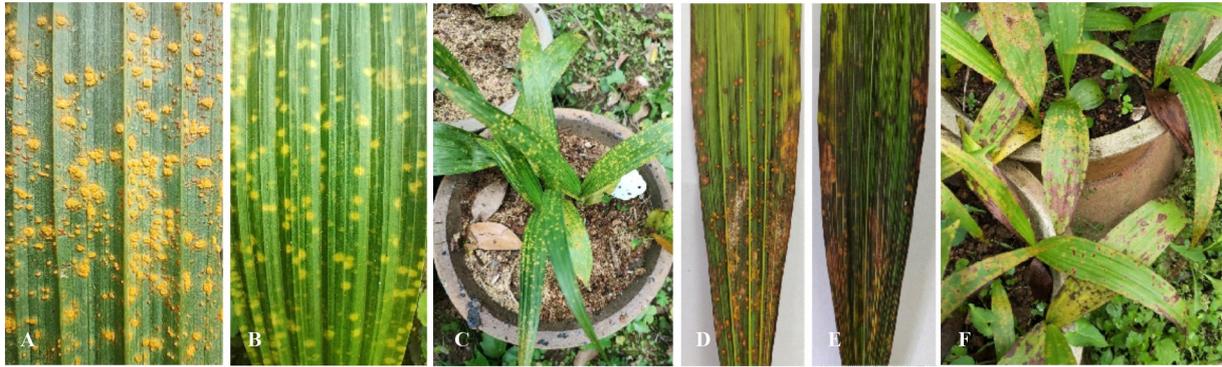
选取白及的典型锈病叶片, 对病原菌形态特征进行观察, 结果如图 2 所示, 广西桂林市种植的白及锈病病原菌具有夏孢子和冬孢子两种形态。夏孢子堆呈黄色、橘黄色, 粉末状, 无包被, 中心隆起, 单个夏孢子堆的直径为 0.2~0.5 mm(图 2:A, B); 夏孢子呈金黄色, 卵圆形或椭圆形, 大小为 (21.43~30.95)  $\mu\text{m}$  × (13.10~19.05)  $\mu\text{m}$ , 长宽比小于 2:1, 壁无色, 表面有疣状突起(图 2:C, D)。冬孢子堆呈橘红色、红褐色, 由多个冬孢子排列成栅栏状排列, 表面覆盖有透明的胶状物; 冬孢子为倒卵形、棍棒状, 大小为 (17.25~30.0)  $\mu\text{m}$  × (5.5~6.65)  $\mu\text{m}$ , 长宽比小于 5:1, 壁无色(图 2:E)。上述特征与 *Coleosporium bletiae* 的形态特征基本相符(游崇娟, 2012)。

### 2.3 白及锈病病原菌的分子鉴定

采用 ITS1/ITS4 引物对菌株 X2 的 ITS 序列进行扩增。测序结果显示, 菌株 X2 的 ITS 序列(OQ826009)长度为 698 bp。将所得到的 ITS 序列在 GenBank 数据库中进行同源性比对, 结果显示菌株 X2 与锈病病原菌 *Coleosporium* sp. (KY783686.1) 的匹配度最高, 序列一致性为 95.86%。但是, 以里氏木霉 *Trichoderma reesei* (Z31016.1) 为外群对照, 基于菌株 X2 的 ITS 序列与同源性大于 95% 的其他菌株的 ITS 序列构建系统发育树, 结果显示菌株 X2 与鞘锈菌属(*Coleosporium*) 的白及鞘锈菌 *Coleosporium bletiae* (MN108161.1, OP363680.1)、马先蒿鞘锈菌 *Coleosporium pedicularidis* (KP017554.1)、千里光鞘锈菌 *Coleosporium senecionis* (KY810475.1)、兔儿伞鞘锈菌 *Coleosporium cacaliae* (KY810462.1)、鞘锈菌 *Coleosporium* sp. (MW666045.1)、风铃草鞘锈菌 *Coleosporium campanulae* (KP017555.1) 聚为一个大类群, 而与 *Coleosporium bletiae* (MN108161.1,

OP363680.1)聚为一个小类群,亲缘关系最近,但单独一支(图3)。以上结果说明广西桂林市种植

的白及锈病病原菌为 *C. bletiae*,但与已报道的白及锈病致病菌存在一定的遗传分化。

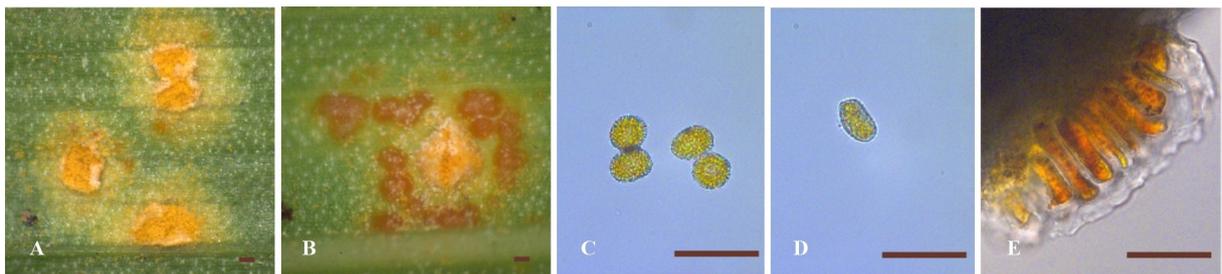


A, B. 感染夏孢子的叶片 (A. 背面; B. 正面); C. 感染夏孢子的病株; D, E. 感染冬孢子的叶片 (D. 背面; E. 正面); F. 感染冬孢子的病株。

A, B. Leaves infected with urediospore (A. Back; B. Front); C. Plants infected with urediospore; D, E. Leaves infected with teleutospore (D. Back; E. Front); F. Plants infected with teleutospore.

图 1 白及锈病发病的症状

Fig. 1 Symptoms of rust on *Bletilla striata*



A, B. 夏孢子堆; C, D. 夏孢子; E. 冬孢子。标尺: A, B=0.1 mm; C-E=50  $\mu\text{m}$ 。

A, B. Uredinium; C, D. Urediospore; E. Teleutospore. Scale bars: A, B=0.1 mm; C-E=50  $\mu\text{m}$ .

图 2 锈病病原菌的形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of rust pathogen

#### 2.4 白及种质资源的锈病抗性鉴定

人工接种菌株 X2 14 d 后,白及发病症状与田间自然发病症状相似,叶片有淡黄色的夏孢子堆,但不同来源的白及病害程度存在较大差异(图4)。根据病害程度计算 23 份白及的病情指数范围为 0~70.7,不同地理来源白及之间的差异性如表 2 所示。根据病情指数将 23 份白及对菌株 X2 的抗性划分为 6 个等级,其中来自云南红河的白及表现为免疫(I),病情指数为 0,占试验总数的 4.35%;来自广西恭城、广西百色、贵州遵义和湖北宜昌的白及表现为高抗(HR),病情指数为 1.7~4.7,占试验总数的 17.39%;来自广西贺州、湖南桑

植、四川巴中、四川广元、重庆及湖北襄阳的白及表现为抗病(R),病情指数为 5.6~9.4,占试验总数的 26.09%;来自广西资源(1号)、广西河池、江西修水、江西上饶、江苏南京的白及表现为中抗(MR),病情指数为 12.7~18.3,占试验总数的 21.74%;来自广西资源(2号)、广西桂林、广西靖西、江西永新及安徽广德的白及表现为感病(S),病情指数为 32.0~49.1,占试验总数的 21.74%;来自云南罗平、湖南永州的白及表现为高感(HS),病情指数为 62.2~70.7,占试验总数的 8.69%。

以上结果说明,不同地理来源的白及对菌株 X2 的抗性存在较大差异。在 23 份白及中,免疫和

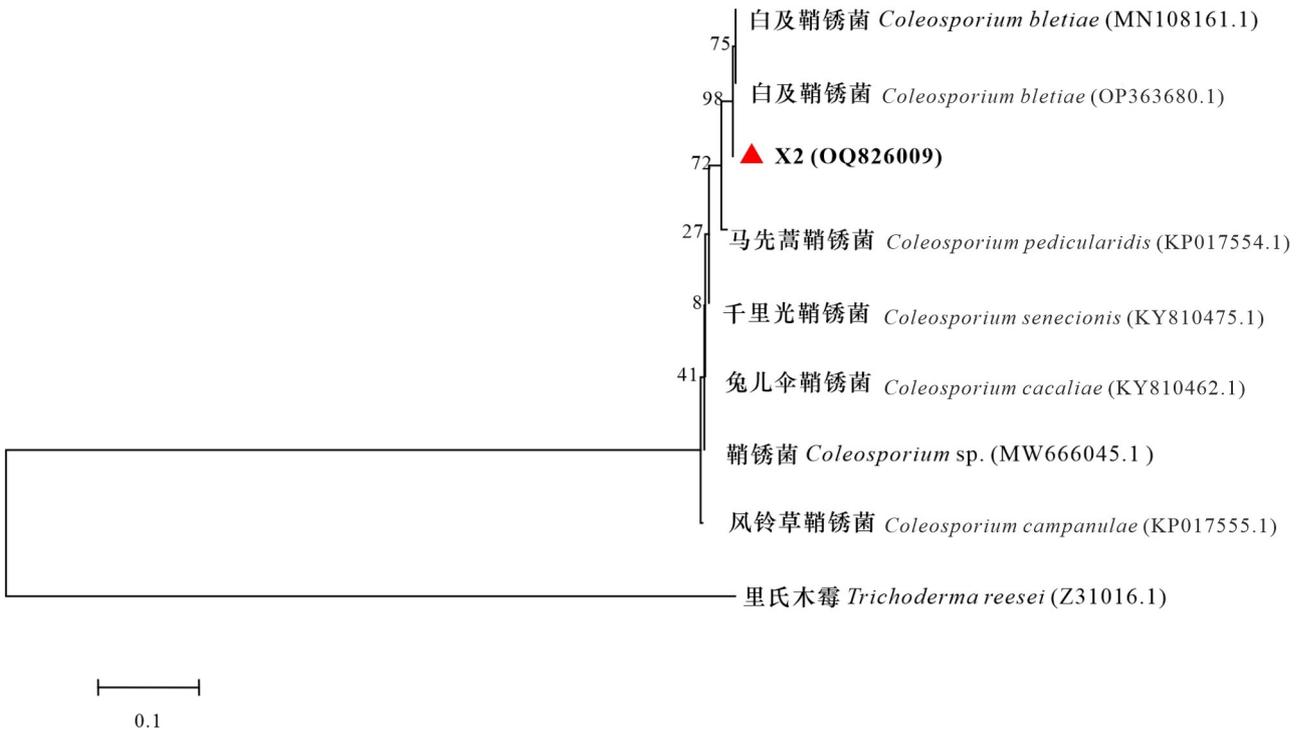


图3 基于白及锈病病原菌 X2 与其他鞘锈菌属菌株 rDNA-ITS 基因序列构建的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of the strain X2 isolated from rust of *Bletilla striata* and other *Coleosporium* based on rDNA-ITS sequences

高抗的白及病情指数低于 5.0, 表现抗锈病能力强; 抗病和中抗的资源最多, 共有 11 份, 病情指数为 5.6~17.0。

### 3 讨论与结论

#### 3.1 广西种植区的白及锈病发病特征

余中莲等(2021)的报道认为, 锈病可危害植物的茎、叶、花、果等组织, 严重影响药用植物的产量和品质。本研究发现, 锈病主要危害白及的叶片, 侵染初期叶片背面散生粉末状的黄色夏孢子堆, 侵染后期密布黄色孢子堆, 进而导致叶片光合作用受阻, 从而影响白及的发育, 这与湖北白及锈病发病特征一致(徐明玥等, 2023)。然而, 与贵州等其他白及种植区相比(宋莉莎, 2019), 广西种植区的白及发病时间相对较早, 发病率及病情指数高, 其原因可能是锈病属于气传性病害, 环境、气候等条件均可影响其发病时间、传播速度和病情指数(余中莲等, 2021), 这与王晓鸣等(2020)和杨双昱等(2022)在玉米和花椒等农作物上的研究报告类似。

此外, 陈文娟等(2018)和高新培等(2023)的研究表明, 不同地区锈病的发病情况与寄主和锈菌的遗传背景有关。因此, 还需进一步研究不同白及种植区锈病病原菌的寄主以及遗传背景等。

#### 3.2 广西种植区的白及锈病病原菌鉴定

Kaneko(1981)的研究认为, 孢子的形态大小可作为锈菌传统分类的依据。本研究通过形态学观察发现, 广西种植区的白及锈病病原菌具有夏孢子、冬孢子两种形态, 其中夏孢子金黄色, 卵圆形或椭圆形, 表面有疣状突起; 冬孢子橘红色或红褐色, 倒卵形、棍棒状, 与已报道的白及鞘锈菌相似(游崇娟, 2012)。本研究还发现, 广西种植区的白及锈菌冬孢子小于宋莉莎(2019)报道的白及锈菌冬孢子, 其原因可能是病原菌的孢子形态大小随地理分布、寄主植物、取样时间和测试者及测定方式的不同发生的变化(游崇娟, 2012; 席刚俊等, 2018; 罗凯等, 2021), 这进一步说明不能单凭孢子形态大小对锈菌进行分类。rDNA-ITS 序列因具有较高的保守性常被用于锈病病原菌分类和系统发育的研究。韩盛等(2022)基于 ITS 序列鉴定伊犁橡



A. 云南红河, 免疫; B. 贵州遵义, 高抗; C. 广西贺州, 抗病; D. 广西桂林, 感病。

A. Honghe, Yunnan, immune; B. Zunyi, Guizhou, high resistance; C. Hezhou, Guangxi, resistance; D. Guilin, Guangxi, susceptible.

图 4 不同抗性评价的白及材料

Fig. 4 Different resistance evaluation of *Bletilla striata*

表 2 23 份白及材料对锈病病原菌的抗病性测定

Table 2 Determination of resistance to the rust pathogen in 23 *Bletilla striata*

编号 No.	来源地 Place of origin	病情指数 Disease index	抗性 Resistance	编号 No.	来源地 Place of origin	病情指数 Disease index	抗性 Resistance
1	广西资源 Ziyuan, Guangxi	15.1±2.5ab	MR	13	湖南永州 Yongzhou, Hunan	70.7±14.7f	HS
2	广西资源 Ziyuan, Guangxi	37.8±7.8cd	S	14	江西永新 Yongxin, Jiangxi	49.1±10.0de	S
3	广西桂林 Guilin, Guangxi	32.0±4.0c	S	15	江西修水 Xiushui, Jiangxi	14.7±1.3ab	MR
4	广西恭城 Gongcheng, Guangxi	4.7±0.3ab	HR	16	江西上饶 Shangrao, Jiangxi	12.7±1.5ab	MR
5	广西河池 Hechi, Guangxi	18.3±3.3b	MR	17	四川巴中 Bazhong, Sichuan	7.0±1.0ab	R
6	广西靖西 Jingxi, Guangxi	41.3±3.5cd	S	18	四川广元 Guangyuan, Sichuan	5.8±0.4ab	R
7	广西百色 Baise, Guangxi	3.0±1.5ab	HR	19	重庆 Chongqing	9.4±2.4ab	R
8	广西贺州 Hezhou, Guangxi	6.7±0.4ab	R	20	湖北宜昌 Yichang, Hubei	3.3±2.2ab	HR
9	云南罗平 Luoping, Yunnan	62.2±6.2ef	HS	21	湖北襄阳 Xiangyang, Hubei	5.6±1.5ab	R
10	云南红河 Honghe, Yunnan	0a	I	22	安徽广德 Guangde, Anhui	40.1±3.5cd	S
11	贵州遵义 Zunyi, Guizhou	1.7±0.9a	HR	23	江苏南京 Nanjing, Jiangsu	15.0±1.7ab	MR
12	湖南桑植 Sangzhi, Hunan	8.9±2.2ab	R				

注：不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

Note: Different small letters represent significant differences ( $P<0.05$ ).

胶草锈病的病原菌为山柳菊柄锈菌 (*Puccinia hieracii*)；邓东等(2022)利用 ITS 序列鉴定云南省玉溪豌豆上的锈病病原菌应为豌豆专化型 (*Uromyces viciae-fabae* ex *P. sativaum*)，而来源于其它地区蚕豆上的锈病病原菌为蚕豆专化型 (*U. viciae-fabae* ex *V. faba*)。本研究基于 ITS 序列鉴定

广西种植区的白及锈病病原菌为鞘锈菌，与徐明玥等(2023)和游崇娟(2012)在白及锈病上的研究结果一致。Park 和 Wellings(2012)的研究认为，基因突变和重组是锈菌高度变异的原因。前人的研究表明，锈菌易受到自身和寄主产生的诱变物质或传播过程中某些自然因素以及化学药剂

的刺激,从而导致遗传物质发生改变,而异核现象和有性生殖可能使锈菌发生基因重组(张静秋等, 2013; Ali et al., 2014; 姚强, 2018)。本研究通过构建系统发育树,发现广西种植区的白及锈病病原菌与 *Coleosporium bletiae* (MN108161.1, OP363680.1)聚为一个类群,但为不同分支,说明病原菌与这些 *Coleosporium bletiae* 之间存在遗传分化,可能是不同的生理小种,这与黄亮(2022)和郭云燕等(2013)在小麦条锈菌和玉米南方锈菌上的研究结果类似。下一步应该采集不同种植区的白及锈病病原菌进行深入鉴定及遗传多样性分析,为白及锈病防控奠定基础。

### 3.3 不同地理来源的白及对锈病的抗性差异

王晓鸣等(2020)和段璐瑶等(2020)的研究认为,植物在不同地理环境间形成的种质资源及育成品种的遗传背景存在较大差异,而抗性基因(组合)的不同会影响其对锈病的抗性。陈文娟等(2018)研究表明,不同地理来源的玉米种质对南方锈病的抗性存在较大差异,而抗性玉米种质之间遗传多样性较高。谭小艳等(2021)研究表明,新泰地区引进的黄花菜品种普遍为锈病易感植株,而当地的品种抗病能力较强。本研究对23份不同地理来源的白及进行了锈病抗性评价发现,不同地理来源的白及存在较大的抗性差异,导致这种现象的原因可能是不同地区的白及长期受生殖隔离的影响而引起的,造成这种抗性差异的原因需要进一步分析生理生化及分子水平上的差异。本研究筛选了1份免疫、4份高抗、6份抗病、5份中抗、5份感病、2份高感的白及,其中表现免疫和高抗的仅有5份,分别来自云南红河、广西恭城、广西百色、贵州遵义、湖北宜昌,病情指数相对较低,抗锈病能力强,可推广应用或作为培育抗锈病优良种质的亲本材料。而抗病和中抗的资源虽然具有一定的抗性,但随着发病时间的持续,病情加重,不宜直接推广。

### 参考文献:

ALI S, GLADIEUX P, LECONTE M, et al., 2014. Origin, migration routes and worldwide population genetic structure of the wheat yellow rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [J]. PLoS Pathog, 10(1): e1003903.  
CHEN WJ, LI WC, YANG ZH, et al., 2018. Preliminary identification and genetic diversity analysis of maize germplasm resources for resistance to southern corn rust

[J]. J Plant Genet Resour, 19(2): 225-231. [陈文娟, 李万昌, 杨知还, 等, 2018. 玉米抗南方锈病种质资源初步鉴定及遗传多样性分析 [J]. 植物遗传资源学报, 19(2): 225-231.]  
CHENG LQ, GUO JB, LI W, et al., 2022. Novel genotypes and quantitative trait locus for rust resistance in peanut [J]. Chin J Oil Crop Sci, 44(5): 1074-1080. [成良强, 郭建斌, 李威涛, 等, 2022. 花生抗锈病种质筛选及抗性 QTL 分析 [J]. 中国油料作物学报, 44(5): 1074-1080.]  
Chinese Pharmacopoeia Commission, 2020. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Part I [S]. Beijing: China Medical Science Press: 103. [国家药典委员会, 2020. 中华人民共和国药典: 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社: 103.]  
DENG D, SUN FF, SUN SL, et al., 2022. Molecular identification of pathogens causing rust disease on faba bean and pea [J]. J Plant Prot, 49(4): 1071-1076. [邓东, 孙菲菲, 孙素丽, 等, 2022. 蚕豆和豌豆锈病病原菌的分子鉴定 [J]. 植物保护学报, 49(4): 1071-1076.]  
DUAN LY, YAO FJ, LONG L, et al., 2020. Evaluation of resistance to stripe rust and analysis of *Yr* genes of wheat landraces from different spring wheat growing regions in China [J]. J Plant Prot, 47(5): 973-986. [段璐瑶, 姚方杰, 龙黎, 等, 2020. 中国不同春麦区小麦地方种质抗条锈病评价及抗性基因分析 [J]. 植物保护学报, 47(5): 973-986.]  
Flora of China Editorial, 1999. Flora Reipublicae Popularis Sinicae: Vol. 18 [M]. Beijing: Science Press: 50. [中国植物志编辑委员会, 1999. 中国植物志: 第18卷 [M]. 北京: 科学出版社: 50.]  
GAO XP, ZHAO Y, LIU BF, et al., 2023. Population genetic analysis of *Puccinia striiformis tritici* in main winter-increasing areas based on virulent phenotypes and genotypes [J]. Sci Agric Sin, 56(14): 2629-2642. [高新培, 赵莹, 刘博凡, 等, 2023. 基于毒性表型和基因型的主要冬繁区小麦条锈菌群体遗传分析 [J]. 中国农业科学, 56(14): 2629-2642.]  
GUO YY, CHEN MG, SUN SL, et al., 2013. Genetic diversity of *Puccinia polysora* Underw. in China [J]. Sci Agric Sin, 46(21): 4523-4533. [郭云燕, 陈茂功, 孙素丽, 等, 2013. 中国玉米南方锈病病原菌遗传多样性 [J]. 中国农业科学, 46(21): 4523-4533.]  
HAN S, GAO Q, XING T, et al., 2022. Isolation and identification of pathogens causing rust disease on *Taraxacum kok-saghyz* Rodin in Xinjiang [J]. Xinjiang Agric Sci, 59(5): 1231-1235. [韩盛, 高强, 邢涛, 等, 2022. 新疆橡胶草锈病病原菌的分离与鉴定 [J]. 新疆农业科学, 59(5): 1231-1235.]  
HE ZX, MA JP, YANG B, et al., 2019. Evaluation of the resistance of main walnut varieties in Yunnan Province to *Alternaria alternata* [J]. Plant Prot, 45(4): 195-200. [贺占雪, 马建鹏, 杨斌, 等, 2019. 云南主栽核桃品种对 *Alternaria alternata* 叶枯病的抗病性评价 [J]. 植物保护, 45(4): 195-200.]  
HU YL, BAI XH, LI GL, et al., 2013. Identification of the pathogen of *Dendrobium* rust and its fungicide screening [J]. Chin J Trop Agric, 33(10): 53-55. [胡永亮, 白学慧, 李桂琳, 等, 2013. 石斛锈病病原初步鉴定及其防治

- 药剂筛选 [J]. 热带农业科学, 33(10): 53-55.]
- HUANG L, 2022. Pangenome assembly of wheat stripe rust and population structure analysis of wheat stripe rust in central and western China [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University. [黄亮, 2022. 小麦条锈菌泛基因组构建及中国中西部五省小麦条锈菌群体结构分析 [D]. 成都: 四川农业大学.]
- KANEKO S, 1981. The species of *Coleosporium*, the causes of pine needle rusts in the Japanese Archipelago [J]. Rept Tottori Myco Inst, 19: 1-159.
- LIU GB, HUANG Z, HUANG CG, et al., 2005. Functions and application in cosmetics of *Bletilla striata* (Thunb) Reichb. F [J]. Deterg Cosmet, 28(8): 22-24. [刘光斌, 黄忠, 黄长干, 等, 2005. 天然植物白芨胶的功能及在化妆品中的应用 [J]. 日用化学品科学, 28(8): 22-24.]
- LIU YQ, LIU J, LIU X, et al., 2017. Occurrence characteristics and chemical control of *Bletilla striata* rust [J]. Mod Agric Sci Technol, 22: 80-81. [刘燕琴, 刘杰, 刘旭, 等, 2017. 白及锈病发生特点及药剂防治效果研究 [J]. 现代农业科技, 22: 80-81.]
- LUO K, LI ZS, JIANG Y, et al., 2021. Pathogen identification and fungicide screening of *Dendrobium officinale* rust disease [J]. Subtrop Plant Sci, 50(4): 318-322. [罗凯, 李泽生, 姜艳, 等, 2021. 铁皮石斛锈病病原鉴定及药剂筛选 [J]. 亚热带植物科学, 50(4): 318-322.]
- PARK RF, WELLINGS CR, 2012. Somatic hybridization in the Uredinales [J]. Ann Rev Phytopathol, 50: 219-239.
- SONG LS, 2019. Studies on pathogen identification and disease control of major fungal diseases on *Bletilla striata* [D]. Guiyang: Guizhou University. [宋莉莎, 2019. 白及主要真菌病害病原鉴定及防治研究 [D]. 贵阳: 贵州大学.]
- SONG ZJ, TANG D, LI Y, et al., 2019. Microwave-assisted extraction, antioxidant activity and deproteinization of polysaccharides from *Bletilla formosana* [J]. Nat Prod Res Dev, 31(8): 1317-1325. [宋志姣, 汤丹, 李悦, 等, 2019. 小白及多糖提取、脱蛋白工艺及抗氧化性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 31(8): 1317-1325.]
- SUN AJ, LIU JQ, PANG SQ, et al., 2016. Two novel phenanthraquinones with anti-cancer activity isolated from *Bletilla striata* [J]. Bioorg Med Chem Lett, 26(9): 2375-2379.
- TAN XY, MA YH, LI C, et al., 2021. Investigation on the incidence of daylily leaf rust and its control measures [J]. China Cucurbits Veg, 34(5): 101-104. [谭小艳, 马耀华, 李创, 等, 2021. 黄花菜叶锈病发病情况调查及防治对策 [J]. 中国瓜菜, 34(5): 101-104.]
- WANG XM, LIU J, GUO YY, et al., 2020. Multiorigins of initial infection sources of *Puccinia polysora* causing southern rust of maize in China [J]. J Maize Sci, 28(3): 1-14. [王晓鸣, 刘骏, 郭云燕, 等, 2020. 中国玉米南方锈病初侵染源的多源性 [J]. 玉米科学, 28(3): 1-14.]
- XI GJ, ZHAO N, ZHAO JR, et al., 2018. Identification of new diseases of *Coleosporium zanthoxyli* in *Dendrobium officinale* [J]. J SW For Univ (Nat Sci), 38(2): 202-205. [席刚俊, 赵楠, 赵菊润, 等, 2018. 铁皮石斛花椒鞘锈菌新病害鉴定分析 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 38(2): 202-205.]
- XU MY, JIANG JW, LIU GS, et al., 2023. Pathogen identification and field control agents screening of leaf rust of *Bletilla striata* [J]. Plant Prot, 49(4): 269-275. [徐明玥, 江健伟, 刘良森, 等, 2023. 白及锈病的病原鉴定及其田间防治药剂筛选 [J]. 植物保护, 49(4): 269-275.]
- YANG DH, LI DC, LIU Q, et al., 2018. Comparative test of the effect of several drugs on the control of *Bletilla striata* rust disease [J]. S China Agric, 12(30): 46-47. [杨德辉, 李定超, 留青, 等, 2018. 几种药剂对防治白及锈病效果对比试验 [J]. 南方农业, 12(30): 46-47.]
- YAO Q, 2018. Study on the epidemic rule of wheat stripe rust in Qinghai Province [D]. Yangling: Northwest A & F University. [姚强, 2018. 青海省小麦条锈病流行规律研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学.]
- YANG SY, YANG L, ZENG Q, et al., 2022. Studies on the incidence and chemical control of prickly ash rust in Sichuan Province [J]. J Sichuan For Sci Technol, 43(2): 138-144. [杨双昱, 杨莉, 曾全, 等, 2022. 四川省花椒锈病发病规律及药剂防治研究 [J]. 四川林业科技, 43(2): 138-144.]
- YOU CJ, 2012. Taxonomic and phylogenetic study of a rust genus *Coleosporium* in China [D]. Beijing: Beijing Forestry University. [游崇娟, 2012. 中国鞘锈菌的分类学和分子系统发育研究 [D]. 北京: 北京林业大学.]
- YU HT, WANG LP, YANG F, et al., 2020. Improvement of a method for resistance evaluation of faba bean (*Vicia faba* L.) rust and screening for resistance germplasm [J]. Acta Phytopathol Sin, 50(6): 702-710. [于海天, 王丽萍, 杨峰, 等, 2020. 蚕豆抗锈病鉴定方法的改进及资源筛选 [J]. 植物病理学报, 50(6): 702-710.]
- YU ZL, YANG J, LEI MY, et al., 2021. Status quo of and challenges for research on rust disease in medicinal plants [J]. China J Chin Mat Med, 46(14): 3566-3576. [余中莲, 杨娟, 雷美艳, 等, 2021. 药用植物锈病研究现状与展望 [J]. 中国中药杂志, 46(14): 3566-3576.]
- ZHANG C, GAO F, GAN S, et al., 2019. Chemical characterization and gastroprotective effect of an isolated polysaccharide fraction from *Bletilla striata* against ethanol-induced acute gastric ulcer [J]. Food Chem Toxicol, 131: 110539.
- ZHANG JQ, LIU B, CHEN WQ, et al., 2013. Temperature-sensitivity of population of *Puccinia striiformis* Westend [J]. Acta Phytopathol Sin, 43(1): 88-90. [张静秋, 刘博, 陈万权, 等, 2013. 小麦条锈菌群体温度敏感性测定 [J]. 植物病理学报, 43(1): 88-90.]
- ZHAO GH, XI GJ, ZHAO N, et al., 2016. The first report of *Dendrobium devonianum* Paxt. caused by *Coleosporium paederiae* in China [J]. J W Chin For Sci, 45(5): 128-131. [赵桂华, 席刚俊, 赵楠, 等, 2016. 鸡矢藤鞘锈菌引起的紫皮石斛锈病首次报道 [J]. 西部林业科学, 45(5): 128-131.]
- ZHAO RQ, WANG DQ, LIU H, et al., 2016. Pathogen identification and control of *Bletilla striata* rust disease [J]. Agric Technol Serv, 33(16): 71. [赵仁全, 王大群, 刘海, 等, 2016. 白及锈病病原鉴定及其防治方法 [J]. 农技服务, 33(16): 71.]