

研究报告

白粉菌 BGP(TG)在不同抗性草地早熟禾叶片上的侵染过程观察

梁银萍[#], 许志宇[#], 孙小涵, 范乐, 师令俊, 朱慧森, 许庆方, 赵祥^{*}

山西农业大学草业学院, 山西 太谷 030801

梁银萍, 许志宇, 孙小涵, 范乐, 师令俊, 朱慧森, 许庆方, 赵祥. 白粉菌 BGP(TG)在不同抗性草地早熟禾叶片上的侵染过程观察[J]. 微生物学通报, 2023, 50(11): 4839-4851.

LIANG Yinping, XU Zhiyu, SUN Xiaohan, FAN Le, SHI Lingjun, ZHU Huisen, XU Qingfang, ZHAO Xiang. Infection process of *Blumeria graminis* f. sp. *poae* BGP(TG) on the leaves of *Poa pratensis* with different resistance[J]. Microbiology China, 2023, 50(11): 4839-4851.

摘要: 【背景】草地早熟禾(*Poa pratensis*)白粉病是气传性病害, 种植抗病品种是防治白粉病最经济、环保和有效的方法。【目的】明确禾布氏白粉菌 BGP(TG)在 3 个不同抗性草地早熟禾叶片上的侵染过程和乳突在草地早熟禾抗白粉病中起的重要角色。【方法】利用考马斯亮蓝染色结合显微镜观察的方法, 对不同抗性的 3 个草地早熟禾品种进行白粉菌侵染过程观察, 统计分生孢子形成次生芽管的速度、吸器和乳突的形成情况, 分析白粉菌对不同抗性草地早熟禾侵染过程的差异。【结果】‘探险家’草地早熟禾病症较其他 2 个品种更为严重, 禾布氏白粉菌 BGP(TG)侵染不同抗性品种的侵染过程基本一致, 但‘探险家’叶片上初生吸器形成早于其他 2 个品种; 接菌 1–2 d 后, 在‘太行’叶表面分生孢子形成 5 级芽管的速度显著低于‘探险家’和‘黑杰克’; 接种 1 d 后, ‘太行’草地早熟禾有效乳突形成率显著高于‘黑杰克’($P<0.05$), ‘黑杰克’有效乳突形成率显著高于‘探险家’($P<0.05$)。【结论】明确了白粉菌在草地早熟禾叶片上的侵染过程和乳突在草地早熟禾抵御白粉菌侵入过程中起的重要作用, 为草地早熟禾白粉病的预防和防治提供了理论基础和参考。

关键词: 草地早熟禾; 禾布氏白粉菌; 侵染过程; 乳突; 芽管

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: sxndzhaox@126.com

Received: 2023-07-13; Accepted: 2023-08-17; Published online: 2023-09-19

Infection process of *Blumeria graminis* f. sp. *poae* BGP(TG) on the leaves of *Poa pratensis* with different resistance

LIANG Yinping[#], XU Zhiyu[#], SUN Xiaohan, FAN Le, SHI Lingjun, ZHU Huisen, XU Qingfang, ZHAO Xiang^{*}

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

Abstract: [Background] *Poa pratensis* powdery mildew caused by *Blumeria graminis* f. sp. *poae* is an airborne disease, and planting resistant species is the most economical, environmentally friendly, and effective method for controlling this disease. [Objective] To observe the infection process of BGP(TG) on the leaves of three *P. pratensis* species with different resistance and clarify the role of papillae in the resistance of *P. pratensis* to powdery mildew. [Methods] Coomassie brilliant blue staining was combined with microscopy to observe the infection process of BGP(TG). The rate of secondary germ tube formation and the formation of haustoria and effective papillae in the three species were determined. [Results] The powdery mildew symptoms in ‘Explorer’ were more serious than those in the other two species, and the infection process of BGP(TG) was similar in different species. However, the formation of primary haustoria on the leaves of ‘Explorer’ was earlier than that of the other two species. One- or two-days post inoculation with BGP(TG), the formation of fifth-level germ tubes on the surface of ‘Taihang’ was slower than that of ‘Explorer’ and ‘Black Jack’. One day post inoculation with BGP(TG), more effective papilla was formed on ‘Taihang’ than on ‘Black Jack’, and the effective papilla formation rate on ‘Black Jack’ was higher than that on ‘Explorer’ ($P < 0.05$). [Conclusion] This study clarifies the infection process of *B. graminis* f. sp. *poae* and provides a theoretical basis for the prevention and control of powdery mildew in *P. pratensis*.

Keywords: *Poa pratensis*; *Blumeria graminis*; infection process; papilla; germ tubes

草地早熟禾是一种多年生草本植物，被广泛应用于广场和公园的草坪建植^[1-2]。同时也作为一种重要的优质放牧型草被使用^[3-6]。随着我国草坪产业的快速发展，以及草坪建植面积的不断扩大和集约化管理程度的提高，草坪病害已逐渐成为降低草坪质量和缩短利用年限的主要影响因素之一^[7-8]。白粉病是草地早熟禾最严重的气传病害之一，其病原物为禾布氏白粉菌早熟禾专化型(*Blumeria graminis* f. sp. *poae*)，白粉病的发生会对草地早熟禾的观赏和使用价值造成严重影响^[9]。

植物在自然界生长的过程中经常会遭受到

外界各类病原菌的入侵，植物为了保护自身受到伤害，形成了一系列复杂的抗病防御机制以抵御病原菌的侵染^[10]。植物对外来有害微生物入侵的防御机制包括两类：(1) 植物受到病原物胁迫时，可通过病原物表面分子激发的基础性免疫(pattern-triggered immunity, PTI)、病原物效应因子激发的免疫(effector-triggered immunity, ETI)、系统获得抗性(systemic acquired resistance, SAR)和过敏反应(hypersensitive response, HR)抵抗病原物的侵入，植物还可通过合成并积累植物激素、氨基酸、酶类和次生代谢产物等，调控抗性基因的表达和抗氧化防御机制的发生

以限制病原菌的进一步扩展;(2) 植物的物理结构和化学成分对病原物侵染具有抑制作用, 物理结构包括叶片表面上的绒毛、蜡质层、角质层、栅栏组织、海绵组织、胼胝质和乳突等, 化学成分包括木质素、酚类化合物、酚类化合物的氧化物等抑菌物质和各种病程相关的蛋白等^[11-15]。其中, 乳突是植物与病原物互作位点的植物细胞壁加厚形成的突状结构, 乳突可构成病原体渗透或传播的物理屏障, 在抵抗真菌入侵方面发挥重要作用^[16-18]。Suzuki 等^[19]研究发现, 日本梨(*Pyrus pyrifolia* var. *culta*)受梨黑斑病菌(*Alternaria kikuchiana* Tanaka)侵染时, 侵染部位的细胞壁形成由胼胝质沉积而产生的乳突, 并且在病情发展后期, 抗性品种的乳突数显著多于感病品种。魏晓羽等^[20]研究发现, 抗白粉病野生葡萄的表皮细胞壁增厚形成的乳突数明显多于易感病品种。乳突的形成是禾谷类作物遭到病原菌侵染后产生的一种典型的非专业化防御反应^[21]。李伟东^[21]研究结果表明, 小麦白粉菌在抗、感材料上乳突形成时间基本一致, 但抗性材料上乳突形成百分率在 28 h 后仍保持在较高水平, 与感病材料差异明显; 朱琨等^[22]研究发现乳突密度、乳突宽度和叶片上下表皮厚度与草地早熟禾对白粉病的抗性呈正相关关系。但也有研究表明, 有效乳突才是抵御白粉菌吸器形成的关键^[23]。梁银萍^[24]研究发现, 抗性小麦 L658 受白粉菌胁迫后 48 h 和 72 h, 叶片在孢子侵入的位置形成有效乳突百分率是感病小麦 L958 的 2 倍以上。

植物病原物的侵染过程研究对白粉病发生的预测与防治具有重要的作用。小麦白粉菌在小麦上的侵染过程可以反映小麦对白粉菌的抗性, 有助于分析小麦对白粉菌的抗性机制^[25]。对比研究白粉病菌在不同葡萄抗病资源的侵染过程, 确定抗病反应的关键时期, 对于葡萄白

粉病的防治、抗病基因资源利用有重要意义^[26]。白粉菌在禾本科植物上的侵染过程通常为 3 个阶段, 即孢子萌发形成附着胞芽管(侵染前接触阶段), 入侵栓侵入寄主细胞形成指状吸器(侵染寄主叶片细胞和扩展阶段), 初生菌丝延伸并在菌丝丛中产生分生孢子梗和分生孢子(叶表的扩展阶段)^[27]。侵染过程形成的吸器, 可以快速、准确地反映植物对白粉菌的抗性, 植物为抵抗白粉菌的侵染形成了乳突, 乳突分为有效乳突和无效乳突, 有效乳突可以成功阻碍白粉菌吸器的形成, 无效乳突不能阻碍白粉菌吸器的形成。国内外关于白粉菌侵染过程的研究主要集中在小麦^[21,28]、葡萄^[29]和黄瓜^[30]等高经济植物上, 仅有 Zhu 等^[2]于 2020 年报道了我国河南省草地早熟禾白粉病病原菌分生孢子梗、分生孢子链和菌丝等的研究。目前对草地早熟禾白粉病的研究主要集中在病原物的鉴定、抗性品种筛选和病害的防治, 草地早熟禾抗白粉病的机制研究和白粉菌在草地早熟禾的侵染过程研究相对较少, 对草地早熟禾抗病反应的关键时期尚不明确, 品种间抗病差异也知之甚少。草地早熟禾接种白粉菌后乳突发挥的作用和白粉菌在草地早熟禾上的侵染过程缺乏系统而全面的研究。因此, 本研究采用考马斯亮蓝染色法, 通过光学显微镜对草地早熟禾白粉菌在不同抗性品种草地早熟禾上的侵染过程进行观察, 明确白粉菌在不同抗性品种草地早熟禾上侵染过程的异同, 以揭示与品种抗病性的关系, 有助于深入了解草地早熟禾-白粉菌互作机制, 为草地早熟禾抗白粉病育种和草地早熟禾白粉病的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

研究选用 3 份草地早熟禾品种, 其中‘探险

家'购于北京正道种业有限公司, '黑杰克'购于北京克劳沃草业技术开发公司, '太行'由山西农业大学草业学院提供。山西农业大学草地保护学实验室前期研究发现, '探险家' '黑杰克'和'太行'分别对禾布氏白粉菌早熟禾专化型菌株BGP(TG)表现为极感、中感和中抗^[31]。

禾布氏白粉菌早熟禾专化型(*B. graminis* f. sp. *poae*)菌株 BGP(TG)分离自山西农业大学草业学院温室(37°25'N, 112°35'E), 在'探险家'草地早熟禾叶片上保存^[31]。

1.1.2 主要试剂和仪器

考马斯亮蓝 R-250, 北京索莱宝科技有限公司; 冰醋酸和甲醇, 天津市凯通化学试剂有限公司。光学显微镜, Olympus 公司; 光照培养箱, 合肥达斯卡特生物科技有限公司。

1.2 种子处理与幼苗的培养

分别选取大小一致且颗粒饱满的'探险家' '黑杰克'和'太行'草地早熟禾种子, 首先将种子在浓度为 75%的酒精中浸泡 1 min, 然后利用无菌水冲洗种子 3-5 次至无酒精气味, 最后在盛有灭菌基质(育苗基质:沙子体积比为 2:1)的育苗钵中均匀播种, 播种量为 10 g/m², 并覆盖 2-3 mm 蛭石。3份草地早熟禾品种分别种植 16个育苗钵, 种植草地早熟禾的 48个育苗钵放置于光照培养箱内随机区组排列(温度 20 °C, 16 h/8 h 的光/暗周期, 相对湿度 60%±2%), 出苗前每天喷洒蒸馏水以保持水分充足, 出苗后每隔 5 d 浇水一次, 待草地早熟禾播种 1 个月后备用。

1.3 白粉菌在不同抗性草地早熟禾品种叶片的发病症状及侵染过程的观察

1.3.1 发病症状的观察

将不同抗性的 3 个草地早熟禾材料按 1.2 培养 1 个月, 用分生孢子密集抖落接种法进行接种, 同时在草地早熟禾植株叶片附近随机放置 3 片盖玻片, 在光学显微镜下检查 5 个视野的孢子密

度, 控制接种的孢子密度为 100-200 个/mm²^[32], 接种后放置于光照培养箱中培养, 于第 9 天观察并拍照记录。

1.3.2 侵染过程的观察

将不同抗性的 3 个草地早熟禾材料按 1.2 培养 1 个月, 用密集抖落接种法进行接种, 接种孢子密度为 100-200 个/mm², 接种后放置于光照培养箱中培养。于接菌后 4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48、72 和 168 h 取样, 每个时间点 3 个重复, 每个重复取 5-10 段叶片。取样后立即对叶片进行脱色, 采用异丙醇熏蒸对接种 24 h 前的叶段脱色透明^[33], 用 AA 液(酒精:冰醋酸体积比为 1:1)对接种 24 h 后的叶段脱色透明。将脱色后的叶片用考马斯亮蓝染色液(0.15%三氯乙酸水溶液:0.6%考马斯亮蓝 R-250 甲醇溶液体积比为 1:1)染色 4 h^[24], 之后用蒸馏水漂洗, 保存于冰醋酸:甘油:水(1:4:15, 体积比)混合液中^[28]。在显微镜下观察染色后的叶片, 记录 3 个品种草地早熟禾接种白粉菌后 24 h 的 50-100 个互作位点的乳突、吸器形成情况和接种白粉菌后 24、28、32、36、40、44 和 48 h 的 50-100 个互作位点的芽管数量。

1.4 数据分析

利用 Microsoft Excel 2016 进行数据处理, 采用 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), 并选用 Origin 2021 软件作图。

2 结果与分析

2.1 白粉菌侵染不同抗性草地早熟禾品种叶片的症状

草地早熟禾接种白粉菌 BGP(TG)第 9 天时, '探险家'叶片表面被白粉层覆盖, '太行'和'黑杰克'白色粉层所占叶面积远低于'探险家'(图 1)。

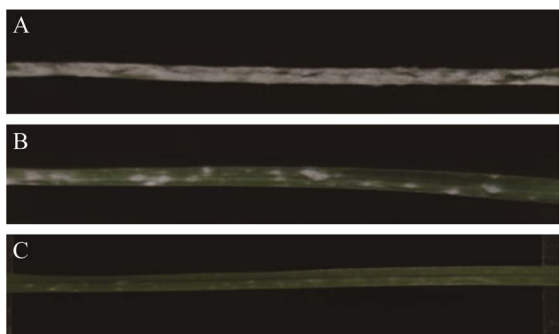


图 1 不同抗性草地早熟禾品种接种白粉菌 9 d 的症状 A、B 和 C 分别为‘探险家’‘黑杰克’和‘太行’接种白粉菌 9 d 的发病症状

Figure 1 Symptoms of *Poa pratensis* species with different resistance to powdery mildew 9 days after powdery mildew inoculation. A, B and C were the symptoms of powdery mildew inoculated for 9 days in ‘Explorer’, ‘Black Jack’ and ‘Taihang’, respectively.

2.2 白粉菌在不同抗性草地早熟禾品种上的侵染过程

白粉菌分离株 BGP(TG)在不同抗性草地早熟禾品种叶片上的侵染过程基本一致, 如图 2 所示。白粉菌分生孢子在草地早熟禾叶片上依次形成初生芽管、次生芽管、附着胞、侵入钉、初生吸器、成熟吸器和菌丝等进程。在 3 个不同抗性的草地早熟禾品种叶片上, 白粉菌分生孢子约在 4 h 于其顶端或肩胛处开始萌发形成一个短的初生芽管(primary germ tube, PGT) (图 2A1、2A2 和 2A3)。随后逐渐异侧或同侧形成次生芽管(appressorium germ tube, AGT), 并在约 8 h 芽管顶部膨大形成附着胞(appressorium, AP) (图 2B1、2B2 和 2B3)。为了进一步侵入植物细胞, 在 16 h 附着胞顶端形成侵入钉(penetration peg, PP) (图 2C1、2C2 和 2C3)。在‘探险家’叶片上, 初生吸器(initial haustoria, HI) (图 2D1)在约 20 h 出现, ‘黑杰克’和‘太行’叶片上, 初生吸器在 24 h 出现(图 2E2、2E3)。3 个草地早熟禾品种叶片上, 成熟吸器(mature

haustoria, MH)在 2 d 形成(图 2F1、2F2 和 2F3), 从寄主吸收养分供白粉菌的生长, 次级菌丝在 2 d 产生, 并随侵染时间增加广泛传播。3 d 后, 白粉菌菌丝(hyphae, Hy)伸长, 且‘探险家’上菌丝覆盖直径高于‘黑杰克’和‘太行’(图 2G1、2G2 和 2G3); 接种 7 d 后, 3 个品种叶片上白粉菌菌丝上垂直生有分生孢子链, 且在‘探险家’叶片上分生孢子链密度高于‘黑杰克’和‘太行’(图 2H1、2H2 和 2H3)。

2.3 不同抗性草地早熟禾品种受白粉菌侵染后乳突的形成差异

依据白粉菌分生孢子在草地早熟禾叶片上侵染位点有无吸器和乳突的形成, 分为 4 种情况: 有吸器无乳突(图 3A)、有吸器有乳突(图 3B)、无吸器无乳突(图 3C)、无吸器有乳突(图 3D)。其中, 图 3B 中虽有乳突形成, 但同时有吸器的形成, 所以该乳突未成功阻碍白粉菌的侵入, 因此图 3B 的乳突为无效乳突, 图 3D 的乳突为有效乳突。

‘探险家’‘黑杰克’和‘太行’受白粉菌侵染 1 d 后, 白粉菌分生孢子在草地早熟禾叶片上侵染位点处无乳突形成的两种情况所占比例均最低, “有吸器无乳突”所占比例均低于“无吸器无乳突”, 但二者仅在‘太行’草地早熟禾中达到显著差异($P < 0.05$)。‘探险家’和‘黑杰克’受白粉菌侵染 1 d 后, 白粉菌分生孢子在草地早熟禾叶片上侵染位点处“有吸器有乳突”所占比例高于“无吸器有乳突”, 但是‘太行’受白粉菌侵染 1 d 后, “无吸器有乳突”的分生孢子所占比例最高, 且显著高于‘探险家’和‘黑杰克’“无吸器有乳突”的分生孢子所占比例($P < 0.05$), 因此‘太行’接种白粉菌后, 分生孢子侵入钉处有效乳突形成率高于‘探险家’和‘黑杰克’, 且‘黑杰克’有效乳突形成率显著高于‘探险家’有效乳突形成率($P < 0.05$), 然而‘探险家’无效乳突形成率显著高

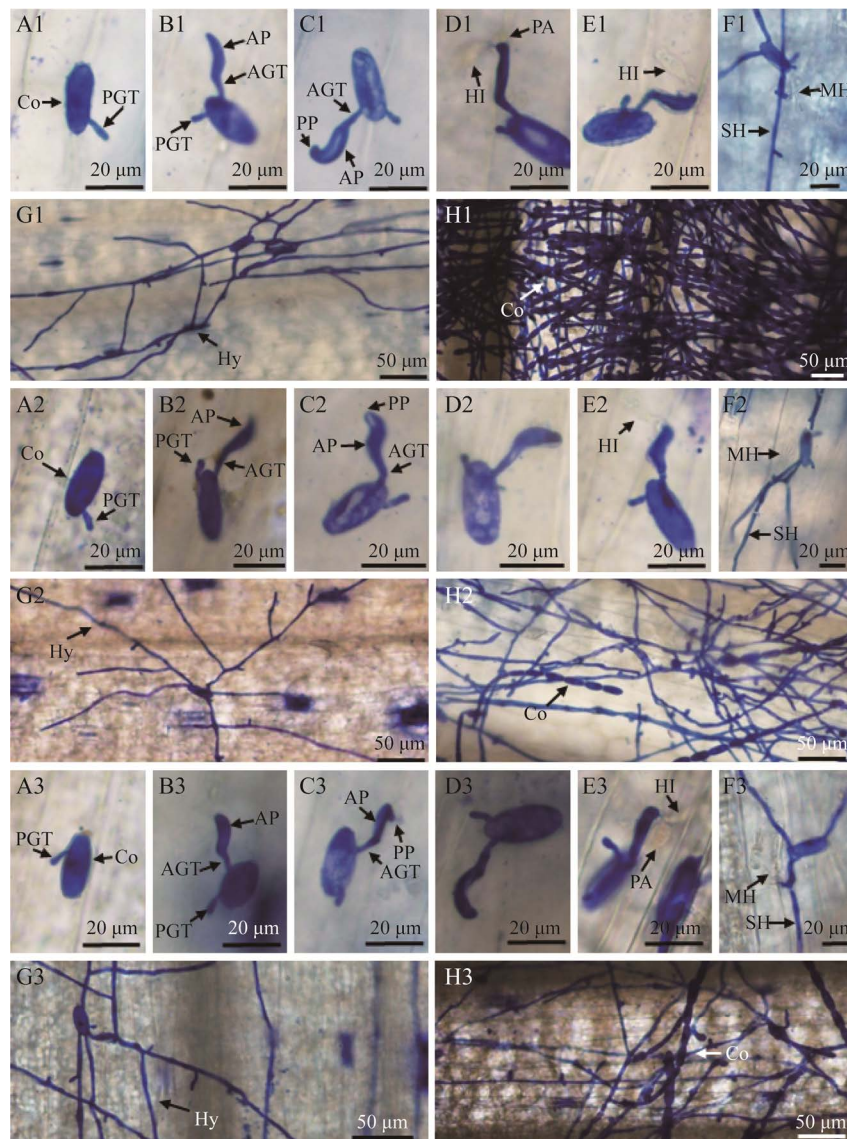


图 2 白粉菌在不同抗性品种草地早熟禾的侵染过程 A1、B1、C1、D1、E1、F1、G1 和 H1 分别为‘探险家’接种 4 h、8 h、16 h、20 h、1 d、2 d、3 d、7 d 时白粉菌的侵染情况. A2、B2、C2、D2、E2、F2、G2 和 H2 分别为‘黑杰克’接种 4 h、8 h、16 h、20 h、1 d、2 d、3 d、7 d 时白粉菌的侵染情况. A3、B3、C3、D3、E3、F3、G3 和 H3 分别为‘太行’接种 4 h、8 h、16 h、20 h、1 d、2 d、3 d、7 d 时白粉菌的侵染情况. Co: 分生孢子; PGT: 初生芽管; AGT: 附着胞芽管; AP: 附着胞; PP: 侵入钉; HI: 初生吸器; MH: 成熟吸器; PA: 乳突; SH: 次生菌丝; Hy: 菌丝

Figure 2 Observation on the infection process of powdery mildew in different resistant species of *Poa pratensis*. A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1 and H1 are the infection of powdery mildew when the ‘Explorer’ is inoculated for 4 h, 8 h, 16 h, 20 h, 1 d, 2 d, 3 d and 7 d, respectively. A2, B2, C2, D2, E2, F2, G2 and H2 are the infection of powdery mildew when the ‘Black Jack’ is inoculated for 4 h, 8 h, 16 h, 20 h, 1 d, 2 d, 3 d and 7 d, respectively. A3, B3, C3, D3, E3, F3, G3 and H3 are the infection of powdery mildew when the ‘Taihang’ is inoculated for 4 h, 8 h, 16 h, 20 h, 1 d, 2 d, 3 d and 7 d, respectively. Co: Conidia; PGT: Primary germ tube; AGT: Appressorium germ tube; AP: Appressorium; PP: Penetration peg; HI: Initial haustoria; MH: Mature haustoria; PA: Papilla; SH: Secondary hyphae; Hy: Hyphae.

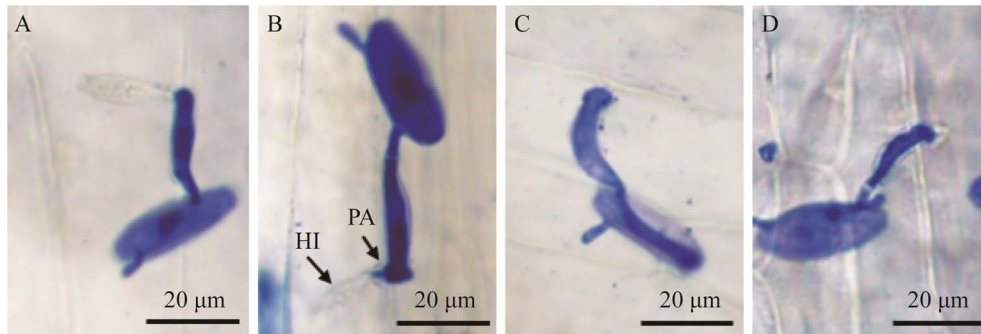


图 3 白粉菌-草地早熟禾互作位点乳突和吸器形成示意图 A: 有吸器, 无乳突. B: 有吸器, 有乳突. C: 无吸器, 无乳突. D: 无吸器, 有乳突

Figure 3 The formation of papillae and haustoria at the interaction site 1 d after inoculation with powdery mildew. A: Haustoria, none papillae. B: Haustoria, papillae. C: None haustoria, none papillae. D: None haustoria, papillae.

于‘黑杰克’ ($P<0.05$), ‘黑杰克’无效乳突形成率显著高于‘太行’ ($P<0.05$), 因此在草地早熟禾‘探险家’中虽有乳突形成, 但无效乳突所占比例较‘黑杰克’和‘太行’多, 不能成功阻碍白粉菌的侵入(图 4)。

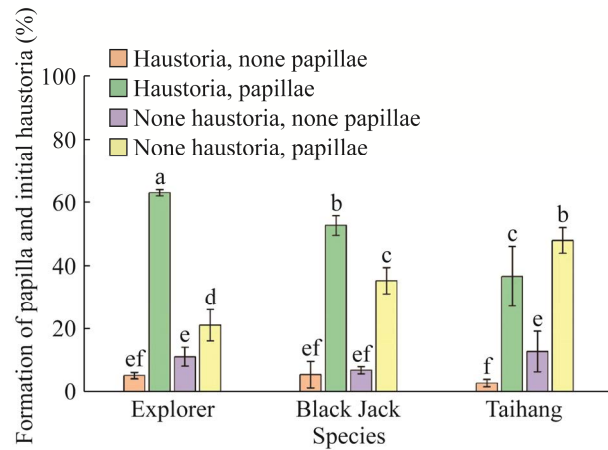


图 4 接种白粉菌 1 d 后互作位点乳突和吸器形成情况 不同小写字母表示不同品种、不同形成情况之间有差异显著($P<0.05$)

Figure 4 The formation of papillae and haustoria at the interaction site 1 d after inoculation with powdery mildew. Different lowercase letters indicated that there were significant differences among the proportion of different formation conditions in different species at 0.05 level.

2.4 不同抗性品种草地早熟禾对白粉菌分生孢子芽管数量的影响

白粉菌在草地早熟禾叶片上的侵染过程中, 本研究发白粉菌分生孢子芽管数量会随侵染时间发生变化, 从仅有初生芽管和次生芽管, 到生出 3 级芽管、4 级芽管和 5 级芽管(图 5), 以 4 h 为间隔, 统计 1-2 d 各级芽管占比情况见表 1。

‘探险家’ ‘黑杰克’和‘太行’草地早熟禾接种白粉菌后, 含 2 支芽管的分生孢子在 3 个品种草地早熟禾中均在 24 h 达到最高占比, 且在接种白粉菌 24 h 后, ‘探险家’上有 2 支芽管的分生孢子占比显著低于‘黑杰克’ ($P<0.05$), ‘黑杰克’上有 2 支芽管的分生孢子占比显著低于‘太行’ ($P<0.05$); ‘探险家’ ‘黑杰克’和‘太行’草地早熟禾分别接种白粉菌 28、32 和 32 h 后, 含 3 支芽管的分生孢子分别达到最高占比; 在‘探险家’ ‘黑杰克’和‘太行’草地早熟禾分别接种白粉菌 40、40 和 48 h 后, 含 4 支芽管的分生孢子分别达到最高占比; ‘探险家’ ‘黑杰克’和‘太行’草地早熟禾分别接种白粉菌 40、44 和 44 h 后, 出现含 5 支芽管的分生孢子, 且均在 48 h 达到

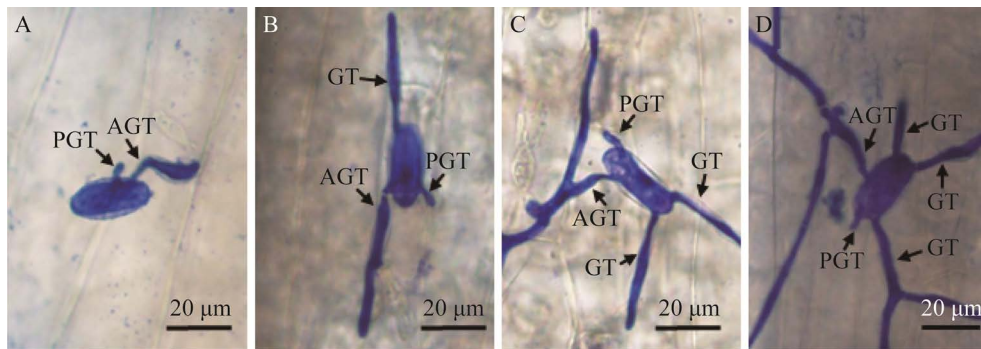


图5 白粉菌侵染 1-2 d 不同芽管数量的分生孢子示意图 A: 分生孢子上仅有初生芽管和次生芽管. B: 分生孢子上除初生芽管和次生芽管外, 还有 3 级别芽管. C: 除初生芽管、次生芽管和 3 级芽管外, 还有 4 级芽管. D: 除初生芽管、次生芽管、3 级芽管和 4 级芽管外, 还有 5 级芽管. PGT: 初生芽管; AGT: 附着胞芽管; GT: 芽管

Figure 5 Conidia representative graph with different number of germ tubes 1-2 d after powdery mildew inoculation. A: There are only primary and secondary germ tubes on conidia. B: In addition to primary and secondary germ tubes, there is a third-level germ tube on conidia. C: In addition to primary, secondary and third-level germ tube, there is a fourth-level germ tube on conidia. D: In addition to primary, secondary, third-level and fourth-level germ tube, there is a fifth-level germ tube on conidia. PGT: Primary germ tube; AGT: Appressorium germ tube; GT: Germ tube.

最高占比, 且在接种白粉菌 48 h 后, ‘探险家’上有 5 支芽管的分生孢子占比显著高于‘黑杰克’ ($P < 0.05$), ‘黑杰克’上有 5 支芽管的分生孢子占比显著高于‘太行’ ($P < 0.05$) (表 1)。

3 讨论与结论

3.1 白粉菌在不同草地早熟禾品种叶片上侵染过程的差异

目前, 有关白粉菌侵染草地早熟禾的细胞学研究较少, 仅见 Zhu 等^[2]于 2020 年报道了我国河南省草地早熟禾白粉病病原菌分生孢子梗、分生孢子链和菌丝等的研究, 尚无关于草地早熟禾白粉菌在植物叶片上整个侵染过程的研究。本研究结果表明, 白粉菌分生孢子在草地早熟禾叶片上依次产生初生芽管、次生芽管、附着胞、侵入钉、吸器和次生菌丝, 最后形成分生孢子链完成侵染过程, 与 Hu 等^[32]对小麦白粉菌在不同抗性小麦品种上侵染过程的研究

结果一致。许多研究表明, 分生孢子萌发从而在植物叶片上形成芽管的过程是禾布氏白粉菌整个侵染过程中的最早步骤^[34-35]。本研究中, 分生孢子在不同抗性草地早熟禾品种叶片上均于 4 h 形成初生芽管, 随后形成次生芽管, 这表明草地早熟禾对白粉病的抗性不影响白粉菌孢子的萌发, 即白粉菌在侵入植物细胞前的生长变化不受品种抗病性的影响^[36], 与 Chang 等^[28]研究结果一致。吸器是白粉菌唯一侵入寄主体内并能从中获取养分的器官, 吸器的发育情况在一定程度上能够反映整个病菌的生长与代谢状态, 因而又是评价寄主细胞抗性的重要性状^[37]。本研究中, 吸器形成占比依次为‘探险家’>‘黑杰克’>‘太行’, 较抗性品种, 感病品种上白粉菌的侵入成功率更高, 这与章珍等^[38]对白粉菌侵染不同抗性小麦品种的显微观察研究结果一致。本研究发现, 白粉菌在抗性较强的草地早熟禾品种叶片上比在抗性较低的叶片上形成的次级

表 1 接种白粉菌 1-2 d 不同芽管数量的分生孢子占比情况统计

Table 1 Statistics on the proportion of conidia with different number of germ tubes inoculated with powdery mildew for 1-2 days

Species	Hours post inoculation (h)	2 branch proportion (%)	3 branch proportion (%)	4 branch proportion (%)	5 branch proportion (%)
Explorer	24	61.66±0.59Ca	38.34±0.59Ac	—	—
	28	21.58±3.16Cb	78.42±3.16Aa	—	—
	32	10.90±1.10Cc	72.27±0.27ABb	16.82±0.82Ac	—
	36	8.54±1.88Bcd	39.79±0.21Cc	51.67±1.67Ad	—
	40	8.61±1.20Bcd	7.68±2.12Cd	80.88±2.45Aa	2.83±0.87Ac
	44	6.60±1.09Cde	6.67±1.93Bd	75.44±1.16Ab	11.30±0.22Ab
	48	5.52±0.89Be	6.14±0.60Cd	57.36±0.40Ac	30.98±0.19Aa
Black Jack	24	81.33±5.03Ba	18.67±5.03Bd	—	—
	28	47.15±1.65Bb	52.85±1.65Bb	—	—
	32	18.91±3.82Bc	74.15±3.71Aa	6.48±1.01Be	—
	36	12.25±0.65Bde	47.14±3.59Bc	40.61±2.93Bd	—
	40	11.03±3.07Bde	18.07±0.12Bd	70.91±2.96Ba	—
	44	14.55±0.26Bcd	10.17±1.52Be	62.59±2.85Bb	10.75±0.36Ab
	48	8.51±2.26Ae	13.97±1.66Bde	56.56±3.44Ac	20.96±4.04Ba
Taihang	24	90.78±2.12Aa	9.22±2.12Ce	—	—
	28	55.74±3.61Ab	44.26±3.61Cb	—	—
	32	28.87±3.87Ac	65.83±4.85Ba	5.30±1.09Bd	—
	36	22.05±3.99Ad	62.60±3.82Aa	15.35±5.28Cc	—
	40	16.98±1.98Ad	34.74±0.26Ac	48.28±1.72Cb	—
	44	16.99±1.47Ad	26.68±2.55Ad	53.93±4.69Cb	2.40±0.68Bb
	48	8.06±0.36ABe	21.68±1.48Ad	60.24±1.30Aa	10.03±0.55Ca

不同小写字母表示同一品种不同接种时间各芽管数量的分生孢子占比有差异显著 ($P<0.05$); 不同大写字母表示同一接种时间不同品种各芽管数量的分生孢子占比有显著差异 ($P<0.05$); —: 分生孢子的百分率为 0

Different lowercase letters indicated that the proportion of conidia with different number of germ tubes at different inoculation times in same specie was significantly different ($P<0.05$); Different capital letters indicated that there are significant differences in the proportion of conidia with different number of germ tube sat the same inoculation time in different species ($P<0.05$); —: Indicated that the percentage of conidia was 0.

菌丝和分生孢子链覆盖密度低, 这与郭卫丽等^[36]对不同抗性南瓜幼苗期白粉菌侵染过程的研究结果一致。与抗病品种南瓜相比, 感病品种上菌丝发生量多, 且扩展速度更快、分生孢子链更多, 即白粉菌侵入植物细胞后的生长变化与抗病性密切相关^[30,39]。

3.2 乳突对白粉菌侵染草地早熟禾的影响

乳突是许多植物针对适应性和非适应性白粉病真菌的前线防御^[34], 并且被认为能够提供机械和化学屏障以阻止病原体渗透或延缓白粉

菌的侵染过程, 同时使植物的其他防御变得活跃^[40-42]。本研究发现, ‘太行’和‘黑杰克’有效乳突百分比显著高于‘探险家’ ($P<0.05$), 无效乳突百分比显著低于‘探险家’ ($P<0.05$), 即有效乳突占比与草地早熟禾对白粉病抗性呈正相关关系。Li 等^[43]研究发现, 小麦接种白粉菌后, 抗性小麦品系比易感品系具有更高频率的有效乳突; Sun 等^[44]研究也发现, 细胞壁沉积即有效乳突的形成与黄瓜白粉病抗性密切相关, 二者均与本研究结果一致, 表明有效乳突在抵御病

原菌的侵入过程中起到重要作用。

3.3 不同抗性草地早熟禾品种对白粉菌芽管数量形成的影响

禾布氏白粉菌分生孢子萌发一般被认为仅形成初生芽管和附着胞芽管，偶尔形成多个不带附着胞的次生芽管，但是这些次生芽管不具有侵染特征，被认为是畸形芽管。本研究发现随白粉菌在草地早熟禾叶片上侵染时间的变化，分生孢子上除生有初生芽管和次生芽管外，会陆续生出 3-5 级芽管，有别于其他禾布氏白粉菌形态^[32,45]，且随侵染时间的增加，各芽管数量的分生孢子占比在不同抗性材料中有较大差异。1 d 时，‘探险家’上有 2 支芽管的分生孢子占比显著低于‘太行’和‘黑杰克’($P<0.05$)；2 d 时，‘探险家’上有 5 支芽管的分生孢子占比显著高于‘太行’和‘黑杰克’($P<0.05$)，芽管数量占比可能是白粉菌侵染程度的重要标志。王阿旺等^[46]研究发现，不同抗性品种草莓接种白粉菌后，肉眼观察到菌丛的时间有差异，高抗材料较感病材料更难观察到且较为稀薄；高启帆等^[30]研究发现，白粉菌分生孢子在抗、感黄瓜自交系植株叶片上均能萌发，但只能在感病黄瓜材料上完成整个无性生长周期，产生分生孢子。这与本研究结果一致，禾布氏白粉菌早熟禾专化型在寄主上除初生芽管和附着胞芽管，可以有规律形成多个次生芽管，白粉菌在不同抗性材料上的生长进程存在差异。

综上所述，本研究通过观察不同抗性的 3 个草地早熟禾品种叶片上白粉菌的侵染过程，分析白粉菌在不同抗性草地早熟禾侵染过程中分生孢子萌发、菌丝生长、分生孢子链形成密度、乳突和吸器的形成差异和芽管数量的变化，表明 3 个品种叶片上白粉菌 BGP(TG)侵染过程基本一致；此外‘太行’草地早熟禾病症较其他 2 个品种更轻，且有效乳突形成率显著高于‘探

险家’和‘黑杰克’，分生孢子上各级芽管出现的时间及占比情况在不同抗性品种中也有较大差异。本文揭示了草地早熟禾白粉菌的侵染过程，丰富了禾布氏白粉菌在植物上形成多个芽管的知识以及有效乳突对草地早熟禾抗白粉病的重要性，该结果可为草地早熟禾白粉病的进一步研究提供理论基础和参考。

REFERENCES

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] TURGEON AJ. Turfgrass Management[M]. Upper Saddle River: Prentice Hall Inc, 1991.
- [4] SORENG RJ. Chloroplast-dna phylogenetics and biogeography in a reticulating group: study in *Poa* (Poaceae)[J]. American Journal of Botany, 1990, 77(11): 1383-1400.
- [5] YILMAZ A, NISHIYAMA MY Jr, FUENTES BG, SOUZA GM, JANIES D, GRAY J, GROTEWOLD E. GRASSIUS: a platform for comparative regulatory genomics across the grasses[J]. Plant Physiology, 2009, 149(1): 171-180.
- [6] SHARIATIPOUR N, HEIDARI B, SHAMS Z, RICHARDS C. Assessing the potential of native ecotypes of *Poa pratensis* L. for forage yield and phytochemical compositions under water deficit conditions[J]. Scientific Reports, 2022, 12: 1121.
- [7] 古丽君, 徐秉良, 李彬, 梁巧兰. 草坪禾草根腐病原菌生物学特性研究[J]. 草业学报, 2012, 21(3): 93-98.
- [8] 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).
- [9] 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).
- [9] SUN XY, XIE FC, CHEN YJ, GUO ZX, DONG LL, QIN LG, SHI ZJ, XIONG LB, YUAN RL, DENG WJ, JIANG YW. Glutamine synthetase gene *PpGSI.1* negatively regulates the powdery mildew resistance in Kentucky bluegrass[J]. Horticulture Research, 2022, 9: uhac196.
- [10] UMESHA S, RICHARDSON PA, KONG P, HONG CX. A novel indicator plant to test the hypersensitivity of phytopathogenic bacteria[J]. Journal of Microbiological Methods, 2008, 72(1): 95-97.
- [11] 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* D)[D]. Lanzhou: Doctoral Dissertation of Gansu Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [12] 韩冬. 抗锈病红小豆品种筛选及抗病机理研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学硕士学位论文, 2017.
HAN D. Screening cultivars of resistant to rust and the resistant mechanism to rust of adzuki bean[D]. Daqing: Master's Thesis of Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [13] 丁卓. 甜瓜抗感材料响应单囊壳白粉病菌侵染的生理生化差异分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2021.
DING Z. Physiological and biochemical differences analysis of resistance and susceptible Melon lines in response to *Podosphaera xanthii* infection[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2021 (in Chinese).
- [14] 谢联辉. 普通植物病理学[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2013.
XIE LH. General Plant Pathology[M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2013 (in Chinese).
- [15] SOOD M, KAPOOR D, KUMAR V, KALIA N, BHARDWAJ R, SIDHU GPS, SHARMA A. Mechanisms of plant defense under pathogen stress: a review[J]. Current Protein & Peptide Science, 2021, 22(5): 376-395.
- [16] 兰世超, 姜山. 病原体胁迫下植物细胞壁的变化[J]. 贵州科学, 2013, 31(3): 17-24, 29.
LAN SC, JIANG S. Change in the cell walls of plants on pathogen stress[J]. Guizhou Science, 2013, 31(3): 17-24, 29 (in Chinese).
- [17] ZEYEN RJ, CARVER TLW, LYNGKJAER MF. Epidermal cell papillae[J]. Powdery Mildews A Comprehensive Treatise, 2002: 107-125.
- [18] THORDAL-CHRISTENSEN H, GREGERSEN PL, COLLINGE DB. The barley/*Blumeria* (syn. *Erysiphe*) *graminis* interaction[M]//Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. Dordrecht: Springer Netherlands, 2000: 77-100.
- [19] SUZUKI T, SHINOGI T, NARUSAKA Y, PARK P. Infection behavior of *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype and localization of 1,3- β -D-glucan in compatible and incompatible interactions between the pathogen and host plants[J]. Journal of General Plant Pathology, 2003, 69(2): 91-100.
- [20] 魏晓羽, 王跃进. 中国野生葡萄果皮解剖结构与白粉病抗性的相关性研究[J]. 园艺学报, 2022, 49(6): 1200-1212.
WEI XY, WANG YJ. Correlation between anatomical structure and resistance to powdery mildew in Chinese wild *Vitis* species[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(6): 1200-1212 (in Chinese).
- [21] 李伟东. 四个小麦品种上白粉菌的侵染过程观察及基因差异表达分析[D]. 成都: 四川农业大学硕士学位论文, 2015.
LI WD. Differential display of wheat powdery mildew on four wheat cultivars by means of reverse transcription-polymerase chain reaction[D]. Chengdu: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [22] 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).
- [23] CHOWDHURY J, HENDERSON M, SCHWEIZER P, BURTON RA, FINCHER GB, LITTLE A. Differential accumulation of callose, Arabinoxylan and cellulose in nonpenetrated versus penetrated papillae on leaves of barley infected with *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*[J]. New Phytologist, 2014, 204(3): 650-660.
- [24] 梁银萍. 携带 *Pm40* 小麦抗白粉病的细胞学和蛋白质组学研究[D]. 成都: 四川农业大学博士学位论文, 2020.
LIANG YP. The cytology and proteome studies on the

- resistance of wheat carrying *Pm40* against *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*[D]. Chengdu: Doctoral Dissertation of Sichuan Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [25] 陈宇. 小麦白粉病菌侵入阶段的观察[J]. 西南农业大学学报, 1989, 11(4): 336-339.
CHEN Y. Examination of primary infection by wheat powdery mildew[J]. Journal of Southwest Agricultural University, 1989, 11(4): 336-339 (in Chinese).
- [26] 张军科, 罗世杏, 李小伟, 王跃进. 白粉菌在不同抗病性葡萄叶片上的侵染过程比较[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008, 36(3): 161-165, 170.
ZHANG JK, LUO SX, LI XW, WANG YJ. Comparisons on the *Uncinula necator* invasion procedure of resistant and susceptible grapes[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2008, 36(3): 161-165, 170 (in Chinese).
- [27] 李健强. 小麦被白粉菌侵染所致结构、化学变化及其与抗病性的关系[J]. 植物病理学报, 1997, 27(4): 289-292.
LI JQ. Changes of structure and chemistry of wheat infected by powdery mildew and ITS relation to resistance[J]. Plant Pathology, 1997, 27(4): 289-292 (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] LIU RQ, WANG L, ZHU JL, CHEN TT, WANG YJ, XU Y. Histological responses to downy mildew in resistant and susceptible grapevines[J]. Protoplasma, 2015, 252(1): 259-270.
- [30] 高启帆, 孙敬贤, 王刚, 何欢乐, 蔡润, 潘俊松. 黄瓜白粉病菌在不同抗性黄瓜材料上的侵染过程[J]. 植物保护, 2021, 47(2): 28-36.
GAO QF, SUN JX, WANG G, HE HL, CAI R, PAN JS. The infection process of *Sphaerotheca fuliginea* on different resistant cucumber materials[J]. Plant Protection, 2021, 47(2): 28-36 (in Chinese).
- [31] 许志宇. 草地早熟禾种质白粉病抗性评价与机制初探[D]. 晋中: 山西农业大学硕士学位论文, 2023.
XU ZY. Evaluation and mechanism preliminary study of powdery mildew resistance in *Poa pratensis* L. germplasms[D]. Jinzhong: Master's Thesis of Shanxi Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [32] 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.
- [33] 张学博. 小麦 *Pm40* 基因调控的白粉菌早期侵染抑制及表达序列分析[D]. 成都: 四川农业大学硕士学位论文, 2013.
ZHANG XB. Primary infection suppression of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* regulated by wheat *Pm40* gene and ESTS analysis in wheat[D]. Chengdu: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [34] AGHNOUM R, NIKS RE. Specificity and levels of nonhost resistance to nonadapted *Blumeria graminis* forms in barley[J]. New Phytologist, 2010, 185(1): 275-284.
- [35] MEYER D, PAJONK S, MICALI C, O'CONNELL R, SCHULZE-LEFERT P. Extracellular transport and integration of plant secretory proteins into pathogen-induced cell wall compartments[J]. The Plant Journal, 2009, 57(6): 986-999.
- [36] 郭卫丽, 郭言言, 李新峰. 南瓜幼苗期白粉菌的侵染过程与材料抗性间的关系[C]//中国园艺学会南瓜研究分会 2017 年学术年会, 2017.
GUO WL, GUO YY, LI XZ. Relationship between powdery mildew infection process and resistance in Pumpkin seedlings[C]//Chinese Horticultural Society Pumpkin Research Branch 2017 Annual Academic Conference, 2017 (in Chinese).
- [37] BRACKET CE. The ultrastructure of the haustorial apparatus of *Erysiphe graminis* and its relationship to the epidermal cell of barley[J]. Phytopathology, 1968, 58: 12-30.
- [38] 章珍, 刘新红, 翟洪翠, 王华忠. 小麦 *Pm21* 基因调控的白粉菌早期侵染抑制和寄主细胞反应[J]. 作物学报, 2011, 37(1): 67-73.
ZHANG Z, LIU XH, ZHAI HC, WANG HZ. Primary infection suppression of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* and host cell responses regulated by *Pm21* gene in wheat[J]. Acta Agronomica Sinica, 2011, 37(1): 67-73 (in Chinese).
- [39] 周威, 李彩霞, 王飞, 许晓风, 石志琦. 白粉病菌入侵对不同抗性南瓜品种的病理和生理影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(6): 1711-1713, 1755.
ZHOU W, LI CX, WANG F, XU XF, SHI ZQ. Changes of histopathology and isozymes in susceptible and

- resistant Pumpkin cultivars penetrated by *Podosphaera xanthii*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(6): 1711-1713, 1755 (in Chinese).
- [40] HÜCKELHOVEN R. Powdery mildew susceptibility and biotrophic infection strategies[J]. FEMS Microbiology Letters, 2005, 245(1): 9-17.
- [41] HÜCKELHOVEN R. Cell wall-associated mechanisms of disease resistance and susceptibility[J]. Annual Review of Phytopathology, 2007, 45: 101-127.
- [42] ALBERSHEIM P, DATVILL A, ROBERTS K, SEDEROFF R, STAEHELIN A. Cell Walls and Plant-Microbe Interactions[M]. New York: Taylor & Francis, 2011.
- [43] LI AL, WANG ML, ZHOU RH, KONG XY, HUO NX, WANG WS, JIA JZ. Comparative analysis of early H₂O₂ accumulation in compatible and incompatible wheat-powdery mildew interactions[J]. Plant Pathology, 2005, 54(3): 308-316.
- [44] SUN YH, LI XZ, ZHANG QZ, ZHANG XJ, MA ZY, HONG YY, ZHANG LL, CHEN SX. The reverse mutation of *CsMLO8* results in susceptibility to powdery mildew via inhibiting cell wall apposition formation and cell death in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. Scientia Horticulturae, 2023, 313: 111894.
- [45] LIANG YP, XIA Y, CHANG XL, GONG GS, YANG JZ, HU YT, CAHILL M, LUO LY, LI T, HE L, ZHANG M. Comparative proteomic analysis of wheat carrying *Pm40* response to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* using two-dimensional electrophoresis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(4): 933.
- [46] 王阿旺, 傅俊范, 刘博, 周如军. 草莓品种对白粉病菌抗性的组织病理学研究[J]. 植物保护, 2009, 35(6): 52-55.
- WANG AW, FU JF, LIU B, ZHOU RJ. Histopathological study on strawberry cultivar's resistance to *Sphaerotheca aphansis*[J]. Plant Protection, 2009, 35(6): 52-55 (in Chinese).