

任春梅,郭思思,程兆榜,等. 玉米南方锈病病菌 PCR 检测方法的建立及应用[J]. 江苏农业科学,2025,53(22):143-148.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.22.019

玉米南方锈病病菌 PCR 检测方法的建立及应用

任春梅¹, 郭思思^{1,2}, 程兆榜¹, 陆芳¹, 王海涛¹, 李硕¹, 季英华¹

(1. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏南京 210014; 2. 福建农林大学植物保护学院, 福建福州 350002)

摘要:玉米南方锈病是典型的气候型真菌病害,由于近年来极端天气频发造成病害大流行,该病已成为国家一类农作物病虫害。检测鉴定是做好病害预测预报、减少流行风险必不可少的工作环节,因此通过对比分析 GenBank 中引用的多堆柄锈菌和高粱柄锈菌 ITS 序列,根据序列变异区段设计出特异性检测多堆柄锈菌的引物,建立多堆柄锈菌的 PCR 检测方法,测定 PCR 方法的特异性、灵敏度并对实际检测效果进行评价及应用。结果表明,建立的 PCR 方法可扩增出玉米南方锈病病菌的特异性片段,大小约为 380 bp,测序结果表明与多堆柄锈菌的同源性达 99%;灵敏度上可测定到 DNA 最低浓度为 10 pg/ μ L,基本可以满足南方锈病潜育期病菌的检测;田间样品的检测进一步验证了该方法的可靠性。综上所述,建立的 PCR 方法可有效判定玉米南方锈病病菌,可结合当地的种植状况和气候条件提早预判,掌握病害防治的主动权,科学实施绿色防控,从而减少产量损失。

关键词:玉米南方锈病;多堆柄锈菌;PCR;特异性;灵敏度

中图分类号:S435.131.4⁺9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)22-0143-05

多堆柄锈菌(*Puccinia polysora* Underw)引起的玉米南方锈病是玉米上的重要病害之一,属于典型的气候型真菌病害,目前已在非洲、美洲、大洋洲、亚洲等地区多个国家出现,成为世界玉米主产区主要病害^[1-4]。20世纪90年代前,该病害主要在我国南方玉米种植区发生,近年来由于全球气候多变和感病品种的大面积种植,逐步向我国北方扩展^[5-6]。据报道,目前该病已在我国20多个省市玉米种植区发生,全国常年发生面积在667万 hm^2 左右,给玉米造成了严重的产量和经济损失,因此加强玉米南方锈病监测与防控,严防流行危害尤为重要^[7-8]。

玉米南方锈病的病原为多堆柄锈菌(*Puccinia polysora* Underw),该病菌的检测包括生物学、形态学和分子生物学方法。生物学上可通过夏孢子表皮破裂呈锈粉状进行识别,但由于另一种玉米普通锈病[高粱柄锈菌(*Puccinia sorghi* Schw)]与之症状极为相似,从而难以从症状上有效区分2种病害;后

来黄莉群等研究出一定浓度比例的盐酸或硫酸处理2种病害的夏孢子原生质体,发现两者差别很大,能够区分^[9];但由于该病菌在玉米全生育期均可进行侵染,病菌侵入植株后在体内的潜育期有的会长达30d^[10],所以对于潜育期内病害的检测仍需通过分子手段才能实现,因此国内外学者于凯等建立了能够特异检测南方锈病菌的常规PCR、荧光定量PCR及巢式PCR等方法,研究表明荧光定量PCR的检测灵敏度能达到1pg/ μ L,但是其检测成本高且对检测人员的技术要求高,不适合在基层检测中的推广应用^[11-15]。

因此亟待开发出一种灵敏度较高,比较适合大批量样本检测的玉米南方锈病病菌检测与诊断的方法。本研究在前人研究的基础上,对比分析了多堆柄锈菌和高粱柄锈菌的ITS区序列,在变异区段设计出特异性检测南方锈病病菌的引物,建立了该病菌的PCR检测方法。该方法不仅能检测出低浓度的潜育期病菌,还能有效区分南方锈病病菌和普通锈病病菌,并且在多个地区的样品中进行了实际检测,结果可行,应用前景广阔。

1 材料与方法

1.1 试验材料

玉米南方锈病样品采自以下各省市(县)(表1),普通锈病样品2023年采自江苏省南京市六合基

收稿日期:2024-10-15

基金项目:江苏省重大品种创制项目(编号:PZCZ201710);常州市农业科技创新和示范推广项目[编号:KCSF(2023)18]。

作者简介:任春梅(1981—),女,江苏盐城人,硕士,副研究员,从事植物病毒及玉米病害研究。E-mail:renjie_rcm@126.com。

通信作者:季英华,博士,研究员,从事作物病害机理及绿色防控研究。E-mail:254761128@qq.com。

地(实验室鉴定保存)。依据南方锈病的症状,发病前期只有斑点症状的采集病叶,发病后期有锈粉的

将锈粉直接刮入 1.5 mL 离心管中,两者都做好标记迅速置于液氮罐,带回实验室置 -70 °C 保存备用。

表 1 玉米南方锈病采样信息

样品编号	采样时间	采样地点	玉米生育期	症状
18RG-1	2018-08	江苏如皋	抽雄期	叶片上有锈孢子粉
19TX-1	2019-09	江苏泰兴	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
19HM-1	2019-09	江苏海门	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
19DF-1	2019-09	江苏大丰	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
19GY-1	2019-09	江苏赣榆	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
19LYG-1	2019-09	江苏连云港	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
19MAS-2	2019-09	安徽马鞍山	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
20RG-1	2020-08	江苏如皋	抽雄期	叶片上有锈孢子粉
20DF-1	2020-08	江苏大丰	抽雄期	叶片上有锈孢子粉
20SQ-1	2020-08	江苏宿迁	抽雄期	叶片上有淡黄色斑点
20DH-1	2020-08	江苏东海	抽雄期	叶片上有锈孢子粉
20XZ-1	2020-08	江苏徐州	抽雄期	叶片上有锈孢子粉
21HG-2	2021-08	湖北黄冈	抽雄期	叶片上有锈孢子粉
21SQ-1	2021-09	江苏宿迁	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
21SN-1	2021-09	江苏睢宁	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
21XZ-1	2021-08	江苏徐州	抽雄期	叶片上有淡黄色斑点
21JZ-2	2021-08	湖北荆州	抽雄期	叶片上有锈孢子粉
21HB-2	2021-08	安徽淮北	抽雄期	叶片上有锈孢子粉
21BB-2	2021-08	安徽蚌埠	抽雄期	叶片上有淡黄色斑点
22LH-1	2022-09	南京六合	乳熟期	叶片上有淡黄色斑点
22HD-2	2022-09	河北邯郸	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
23HZ-2	2023-08	山东菏泽	抽雄期	叶片上有锈孢子粉
23BH-1	2023-09	江苏滨海	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
23XY-1	2023-09	江苏盱眙	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
23TS-1	2023-09	江苏铜山	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
23RD-1	2023-09	江苏如东	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
23ZZ-2	2023-09	河南郑州	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
23ZK-2	2023-09	河南周口	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
23TA-2	2023-09	山东泰安	乳熟期	叶片和叶鞘上有锈孢子粉
24XZ-1	2024-08	江苏徐州	抽雄期	叶片上有淡黄色斑点
24GY-1	2024-08	江苏灌云	抽雄期	叶片上有淡黄色斑点
24DF-1	2024-08	江苏大丰	抽雄期	叶片上有淡黄色斑点
24SQ-1	2024-08	江苏宿迁	抽雄期	叶片上有淡黄色斑点

阴性对照:温室内培育 4~5 叶期的苏玉 29 未接种叶片;阳性对照:通过人工接种有明显症状的苏玉 29 病叶(经检测为只携带多堆柄锈菌);其他试验真菌:高粱柄锈菌(*Puccinia sorghi*)、条形柄锈菌(*Puccinia glumarum*)、小麦隐匿柄锈菌(*Puccinia recondita*)、葱柄锈菌(*Puccinia allii*)、花生柄锈菌(*Puccinia arachidis*)、长蠕孢菌(*Bipolaris maydis*)、大斑病凸脐蠕孢菌(*Exserohilum turcicum*)、新月弯

孢菌(*Curvularia lunata*)和细极链格孢菌(*Alternaria tenuissima*),均由笔者所在实验室收集保存。

试剂及仪器:T5 Direct PCR Kit (Plant)和真菌基因组 DNA 提取试剂盒,购自北京擎科生物科技股份有限公司;Mastercycler Nexus PCR 仪,购自德国 Eppendorf 公司;Bio-Rad 电泳仪,购自伯乐生命科学产品(上海)有限公司;DM2500 光学显微镜,德国莱卡显微系统有限公司。

1.2 PCR 法的建立

1.2.1 引物设计与合成 根据 NCBI 中登录的多堆柄锈菌 (ITS 序列, 登录号: HM452902、HQ154025、HQ154027) 和高粱柄锈菌 (ITS 序列, 登录号: HQ154038), 用 DNAMAN 软件将以上 4 条序列进行比对, 挑选差异较大的序列区段, 用 Primer Premier 5.0 软件设计出检测南方锈病病菌的特异性引物, 上游引物 (JS-ITS-F): 5'-TTGAAATCTGCATTATCCCC-3', 下游引物 (JS-ITS-R): 5'-GCTCCAAGAAGTTCCTCCTC-3', 扩增片段长度约为 380 bp。引物由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。

1.2.2 对照菌株的培养 高粱柄锈菌、条形柄锈菌、小麦隐匿柄锈菌、葱柄锈菌、花生柄锈菌直接收集锈粉, 经鉴定后 -70 °C 保存备用; 长蠕孢菌、大斑病凸脐蠕孢菌、新月弯孢菌和细极链格孢菌单孢分离鉴定后, 直接接种到 PDA 培养基, 置各自适宜温度下培养, 收集菌丝置 -70 °C 保存备用。

1.2.3 DNA 提取 参考任春梅等的方法, 采用 DNA 提取试剂盒, 对收集的锈粉、菌丝及叶片进行液氮研磨, 再采用试剂盒说明书步骤抽提 DNA, -20 °C 保存备用^[16]。

1.2.4 PCR 扩增体系的建立 参照张艳菊等的方法^[17], 应用设计的特异性引物检测多堆柄锈菌。先设计反应体系: 上下游引物 (各 10 μmol/L) 混合物 1 μL, 2 × T5 Direct PCR Mix (Plant) 12.5 μL, cDNA 模板 2 μL, 补充 ddH₂O 至 25 μL, 根据 T5 Direct PCR Kit (Plant) 试剂盒的反应程序进行, 其中设计引物时的推荐退火温度为 50 °C, 可以设置 5 个退火温度: 46、48、50、52、54 °C。扩增完后, 取 3 μL 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 有目的条带的 PCR 产物送南京擎科生物科技有限公司进行测序。序列输入 NCBI 进行 Blast 分析, 鉴别是否为多堆柄锈菌。

1.2.5 PCR 体系特异性测定 以鉴定过的多堆柄锈菌锈粉为阳性对照, 健康玉米叶片为阴性对照, ddH₂O 为空白对照, 按照“1.2.4”节中建立的 PCR 体系检测高粱柄锈菌、条形柄锈菌、小麦隐匿柄锈菌、葱柄锈菌和花生柄锈菌, 以及分离鉴定过的长蠕孢菌、大斑病凸脐蠕孢菌、新月弯孢菌和细极链格孢菌, 电泳检测 PCR 产物测定设计引物的特异性。

1.2.6 PCR 体系灵敏度分析 用 BioPhotometer

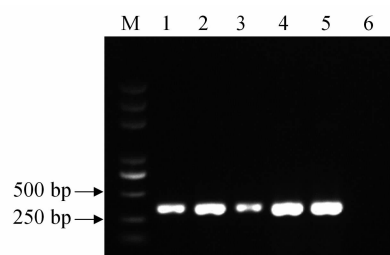
plus 检测仪测定多堆柄锈菌阳性样品的 DNA 浓度, 设定初始浓度为 1 × 10⁴ pg/μL, 用 DEPC 水以 10⁰、10¹、10²、10³、10⁴、10⁵、10⁶ 倍稀释, 取 5 μL 进行 PCR 检测, 检测其灵敏度。

1.2.7 PCR 法的检测应用 用建立的 PCR 方法对各省多个县 (市) 2018—2024 年采集的样品 (表 1) 进行检测, 一方面对该方法进行实际检测应用, 另一方面对全省南方锈病的分布进行调查。

2 结果与分析

2.1 PCR 体系的建立

根据 NCBI 中登录的多堆柄锈菌 (ITS 序列, 登录号: HM452902、HQ154025、HQ154027) 和高粱柄锈菌 (ITS 序列, 登录号: HQ154038), 用 DNAMAN 软件将以上 4 条序列进行比对, 挑选差异较大的序列区段, 用 Primer Premier 5.0 软件设计出检测南方锈病菌的特异性引物。再应用 DNA 提取试剂盒提取多堆柄锈菌阳性样品的 DNA, 用梯度 PCR 法测定最佳退火温度 (图 1), 结果显示退火温度为 52 °C 和 54 °C 时, 条带较为清晰明亮, 大小约为 380 bp, PCR 产物序列测定显示与多堆柄锈菌同源性为 99%。因此, 最优反应体系设定为 12.5 μL 2 × T5 Direct PCR Mix (Plant), 1 μL 上下游引物 (各 10 μmol/L) 混合物, 2 μL cDNA 模板, 最后补充 ddH₂O 至 25 μL; 反应程序设定为 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 50 s, 52 °C 50 s, 72 °C 90 s, 30 个循环; 72 °C 延伸 1 min。



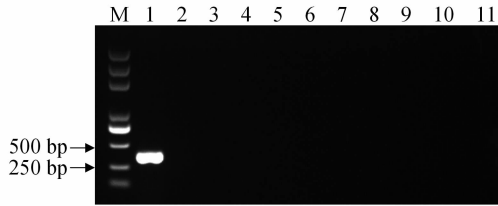
M—DL5000 DNA marker; 1~5—退火温度分别为 46、48、50、52、54 °C; 6—ddH₂O 空白对照

图1 梯度 PCR 检测结果

2.2 PCR 方法的特异性

使用建立的玉米南方锈病病原菌 PCR 检测体系, 对玉米普通锈病病原菌 (高粱柄锈菌)、小麦条锈病病原菌 (条形柄锈菌)、小麦叶锈病病原菌 (小麦隐匿柄锈菌)、大蒜锈病病原菌 (葱柄锈菌)、花生锈病病原菌 (花生柄锈菌)、玉米小斑病病原菌 (长蠕孢菌)、玉米大斑病病原菌 (大斑病凸脐蠕孢菌)、

玉米弯孢叶斑病原菌(新月弯孢菌)和玉米叶枯病病原菌(细极链格孢菌)等 9 种非靶标病原菌进行检测,结果表明,使用建立的 PCR 检测体系仅能从玉米南方锈病病原菌 DNA 中扩增出特异条带,9 种非靶标病原菌 DNA 均无条带扩增出(图 2),说明建立的玉米南方锈病病原菌分子检测体系具有良好的特异性,可应用于玉米南方锈病病原菌的准确检测鉴定。

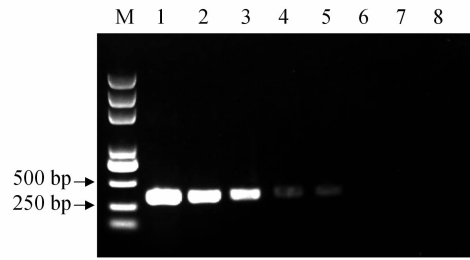


M—DL5000 DNA marker; 1—多堆柄锈菌样本; 2—高粱柄锈菌样本; 3—条形柄锈菌样本; 4—小麦隐匿柄锈菌样本; 5—葱柄锈菌样本; 6—花生柄锈菌样本; 7—长蠕孢菌样本; 8—大斑病凸脐蠕孢菌样本; 9—新月弯孢菌样本; 10—细极链格孢菌样本; 11—ddH₂O 空白对照

图2 南方锈病病原菌 PCR 检测的特异性分析

2.3 PCR 方法的灵敏度

提取多堆柄锈菌阳性样品的 DNA,定量为 1×10^4 pg/ μ L 浓度,以 10 倍梯度稀释,由图 3 可知,当稀释倍数增加时,检测条带亮度逐渐减弱,稀释至 10^3 时条带逐渐消失,所以检测的 DNA 最低浓度为 1×10^4 pg/ μ L/ $10^3 = 10$ pg/ μ L,所以 PCR 法的检测灵敏度为 pg/ μ L 级的,基本可以满足南方锈病潜育期病菌的检测。

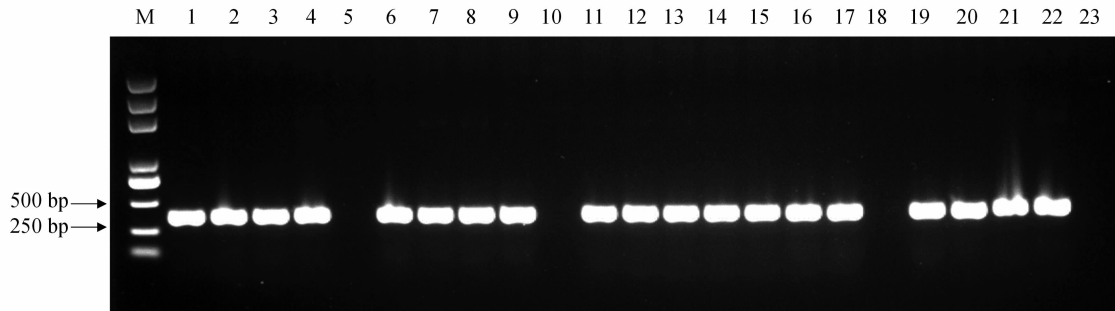


M—DL5000 DNA marker; 1~7—带菌样品抽提 DNA 稀释 10^0 、 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 和 10^6 倍; 8—ddH₂O 空白对照

图3 南方锈病病原菌 PCR 检测的灵敏度分析

2.4 田间样品检测结果

用建立的 PCR 法对 2018—2024 年间收集的 33 份疑似南方锈病的病叶或锈粉(表 1),部分电泳结果如图 4 所示,结果表明,其中 30 份样品扩增出 380 bp 左右的条带,检出率 90% 以上,说明生产上该病害分布较广,同时也验证了该方法的可靠性,可以较为灵敏、准确地检测玉米南方锈病菌,较为适合样本量大的生产应用检测。此结果还说明玉米南方锈病夏孢子适于在高温下萌发,显症则需要较低的温度,台风带来的大范围降雨及温度阶段性偏低,极易导致病害在各地大面积集中显症、迅速加重危害。在江苏地区,一般在梅雨季节过后的 7 月中下旬南方锈病开始显症,此时夏玉米普遍处于大喇叭口期至抽雄期,充足的菌源加之高温高湿气候,使得夏玉米南方锈病呈暴发流行态势,值得关注。



M—DL5000 DNA marker; 1~21—田间疑似样品; 22—阳性对照; 23—阴性对照

图4 PCR 检测田间样品的部分结果

3 结论与讨论

玉米南方锈病是典型的气候型真菌病害,具有传播流行速度快、暴发性强、危害损失重的特点,一旦流行将会造成玉米大幅减产,严重田块甚至绝收。检测鉴定是做好病害预测预报、减少流行风险必不可少的工作环节,是做好病害防治的基

础^[18-19]。由于玉米南方锈病与普通锈病的症状极其相似,外部症状易混淆,两者在生产上也经常交替或混合发生,但危害性上两者差别巨大^[20]。将普通锈病当成南方锈病防治会造成不必要的药剂浪费,违背当前绿色生态农业发展的理念;将南方锈病当成普通锈病而忽视又延误防治最佳时机,导致后续防治困难与严重产量损失。因此,亟待建立一

种高特异性和灵敏度的玉米南方锈病病菌检测鉴定方法,根据病害发生规律并结合当地气候发生情况提早预判,必要时实施病害早期预警检测鉴定,掌握病害防治的主动权,在绿色生产的基础上将病害损失降为最低。

目前玉米南方锈病已在全国二十多个省市发生,由于近年来极端天气频发,生产上又缺乏抗性资源,该病在各大玉米主产区发生越来越严重,大发生年份玉米产量损失达到 50% 以上^[21]。据实地调查,该病的防治主要靠病情监测,根据监测结果迅速做出防治反应,但该病害受台风、温度、湿度等气候影响大,传播速度快,而且病害的潜伏期长达 30 d,不准确、不及时的监测势必影响后续的防治策略,因此,针对该病菌精准、灵敏且便捷的检测方法尤为重要。前期笔者所在课题组通过对玉米南方锈病发生规律的研究,发现该病菌监测面临 2 个问题:一是病害早期症状不明显或模糊,容易误认为是其他病害而延误防治;二是与普通锈病症状相似易造成过度防治。Wu 等研究表明,病原菌特异的核酸序列是其存在的指示标志,基于核酸检测能特异、快速、灵敏地进行病害诊断^[22]。其中 ITS 序列是基因组 rDNA 上的非编码区域,其变异区进化速度较快,可提供较丰富的信息位点和变异位点^[23-24]。因此,本研究比对分析了多堆柄锈菌和高粱柄锈菌的 ITS 区序列,在变异区段设计出特异性检测南方锈病病菌的引物,经过体系的优化,特异性和灵敏度的分析,发现该方法能有效区分玉米南方锈病病菌和普通锈病病菌,灵敏度可达到 pg/ μ L 级,基本能检测出潜育期病菌。应用该方法对 33 个省市(县)的疑似样品进行检测,进一步验证了该方法的可行性,发现黄淮海玉米产区的南方锈病分布较为广泛,发生时期从南到北差异较大,病情监测尤为关键,该方法操作简便,易被基层农技人员掌握,因此可适合样本量大的基层推广应用。

近年来玉米南方锈病的发生区域有逐步扩大的趋势,存在着极高的流行风险,本方法的建立将为玉米南方锈病的早期精准预警提供技术支持,指导病害科学防控,降低玉米南方锈病危害损失和病害防控成本(含人工成本),带来显著的经济效益;同时精准预警可避免盲目防治、提升药剂防治效果,显著减少化学农药的用量,实现绿色生产目标,保护生态环境安全;总之,本方法为玉米南方锈病的病害诊断、监测预警、抗病育种以及病害防治提

供了技术支撑,从而有效地控制了该病害在国内的扩散危害,保障了玉米的安全生产。

参考文献:

- [1] Rhind D, Waterston J M, Deighton F C. Occurrence of *Puccinia polysora* underw. in west Africa[J]. Nature, 1952, 169: 631.
- [2] Check J C, Aime M C, Byrne J M, et al. First report of southern rust (*Puccinia polysora*) on corn (*Zea mays*) in Michigan[J]. Plant Disease, 2022, 106(8): 2262.
- [3] Orian G. Occurrence of *Puccinia polysora* underwood in the Indian Ocean area[J]. Nature, 1954, 173(4402): 505.
- [4] Hirayae K, Kawase A, Umeda Y, et al. Genetic variation of southern rust fungus of corn in Japan[J]. Kyushu Plant Protection Research, 1998, 44: 12-14.
- [5] 段定仁, 何宏珍. 海南岛玉米上的多堆柄锈菌[J]. 真菌学报, 1984, 3(2): 125-126.
- [6] 任转滩. 玉米抗锈病种质资源的筛选及应用研究[J]. 玉米科学, 2006, 14(4): 155-157.
- [7] Sun Q Y, Li L F, Guo F F, et al. Southern corn rust caused by *Puccinia polysora* Underw: a review[J]. Phytopathology Research, 2021, 3(1): 25.
- [8] 王晓鸣, 刘 骏, 郭云燕, 等. 中国玉米南方锈病初侵染源的多源性[J]. 玉米科学, 2020, 28(3): 1-14, 30.
- [9] 黄莉群, 张克瑜, 董佳玉, 等. 玉米南方锈病菌和普通锈病菌的快速区分方法[J]. 植物保护学报, 2020, 47(6): 1385-1386.
- [10] 胡务义, 郑明祥, 阮义理, 等. 玉米南方锈病发生规律与防治技术初步研究[J]. 植保技术与推广, 2003, 23(12): 9-12.
- [11] 于 凯. 玉米南方锈病的分子检测与玉米抗病性机制的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- [12] 邢国珍, 魏 馨, 李晶晶, 等. 玉米南方锈病和普通锈病分子检测技术研究[J]. 中国农业大学学报, 2017, 22(3): 6-11.
- [13] Crouch J A, Szabo L J. Real-time PCR detection and discrimination of the southern and common corn rust pathogens *Puccinia polysora* and *Puccinia sorghi*[J]. Plant Disease, 2011, 95(6): 624-632.
- [14] 张克瑜, 李磊福, 谷医林, 等. 多堆柄锈菌潜育期侵染量实时荧光定量 PCR 检测体系的建立[J]. 植物保护学报, 2022, 49(3): 832-839.
- [15] 马红霞, 孙 华, 郭 宁, 等. 基于 PCR 和巢式 PCR 技术的玉米南方锈病早期检测[J]. 中国农业科学, 2023, 56(9): 1686-1695.
- [16] 任春梅, 杨 柳, 缪 倩, 等. 江苏省玉米小斑病菌的分离鉴定及致病力分析[J]. 南方农业学报, 2020, 51(10): 2454-2460.
- [17] 张艳菊, 赵 珊, 杨 森, 等. 黑龙江省玉米弯孢霉叶斑病菌病原鉴定[J]. 东北农业大学学报, 2017, 48(6): 2454-2460.
- [18] 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.
- [19] Liu X F, Xu J Y, Gu Y L, et al. Occurrence of *Puccinia polysora* causing southern corn rust in the northeast Huanghuaihai region of China[J]. Plant Disease, 2018, 102(4): 826.

低温胁迫下枇杷抗寒生理指标变化规律 及关键候选基因的筛选

章加应,安海山,李水根,张学英

(上海市农业科学院林木果树研究所/上海市设施园艺技术重点实验室,上海 201403)

摘要:为探究枇杷不同品种对低温胁迫的生理响应和分子调控机制,以枇杷耐寒型品种火炬和低温敏感型品种宁海白为试材,选取长势一致的花序在人工模拟的-4℃低温胁迫条件下测定不同处理时间的相关抗寒生理生化指标。同时,结合前期转录组数据筛选到的差异表达基因,分析其在低温胁迫处理不同时间的耐寒型和低温敏感型枇杷品种中的表达模式,筛选与枇杷抗寒性相关的关键候选基因。低温胁迫处理下,低温敏感型枇杷品种宁海白花序先与耐寒型品种火炬表现出褐化,相对电导率、半致死温度(LT₅₀)和冻害率明显高于火炬。火炬花序中相关抗寒生理指标(可溶性糖和脯氨酸)值高于宁海白花序并具有更强的抗氧化酶活性和活性氧清除能力。结合转录组数据筛选的差异表达基因(*EjUCT88*、*EjSTP13*、*EjGT10*、*EjPERK9*、*EjPOD11*、*EjPOD47*)表达模式与相关抗寒生理指标表现出一致的变化趋势,并在火炬花序中的表达水平整体上高于宁海白,表明差异表达基因可能在枇杷响应低温胁迫过程中发挥重要作用,可以作为与枇杷抗寒性相关的关键候选基因。研究结果为枇杷低温胁迫响应中特定基因的鉴定提供了宝贵的资源,并有助于阐明枇杷响应低温胁迫的分子调控机制。

关键词:枇杷;花序;低温胁迫;生理指标;差异表达基因;关键候选基因

中图分类号:S667.301 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)22-0148-09

枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.)隶属于蔷薇科(Rosaceae)枇杷属,作为亚热带常绿乔木,其起源可追溯至我国四川西南部大渡河流域。该树种富含大量营养物质,果实风味独特、色泽鲜艳,因此受到消费者喜爱,目前已成为我国南方地区重要的经济果树之一^[1]。然而,受其“秋萌冬花,春实夏熟”的特殊生长习性影响,枇杷花期和幼果发育期恰好处

于全年温度最低阶段,使其极易遭受低温冻害威胁,这不仅严重影响枇杷的产量与品质,还给枇杷产业带来巨大的经济损失^[2]。近年来,随着全球气候变化的加剧,极端低温天气频繁出现,枇杷种植面临的低温胁迫风险愈发严峻,同时,低温胁迫还会引起枇杷体内一系列生理生化和分子水平的级联反应,严重影响枇杷的生长发育和生存^[3]。

低温胁迫作为极具破坏性的非生物胁迫类型之一,会显著干扰植物的生长发育,从而导致作物产量和品质的急剧下降,甚至对植物的生理分布范围形成限制。在长期进化历程中,植物已逐步演化出一系列适应性机制,用以应对各类非生物胁迫挑战^[4]。在响应和适应低温胁迫的过程中,植物体内会引起各种生理生化的变化来确保其在低温条件下正常生长,主要包括可溶性糖、丙二醛、脯氨酸、

收稿日期:2025-05-12

基金项目:上海市“科技创新行动计划”启明星项目(扬帆专项)(编号:23YF1439600)。

作者简介:章加应(1993—),男,安徽望江人,硕士,助理研究员,主要从事枇杷生理栽培及抗寒机理研究。E-mail:jjayingzsaas@163.com。

通信作者:张学英,博士,研究员,主要从事特色水果栽培技术和遗传育种研究。E-mail:zhangxueying@saas.sh.cn。

[20]田耀加,赵守光,张晶,等. 中国玉米锈病研究进展[J]. 中国农学通报,2014,30(4):226-231.

[21]杨美丽,王帮太,鹿红卫,等. 玉米南方锈病研究进展及抗病育种策略[J]. 玉米科学,2022,30(5):177-184.

[22]Wu X,Li N,Zhao P,et al. Geographic and genetic identification of RppS,a novel locus conferring broad resistance to southern corn rust disease in China[J]. Euphytica,2015,205(1):17-23.

[23]李艳燕,朱立静,沈颂东,等. 石莼目几种绿藻的 ITS 区和 5.8S rDNA 的序列及系统发育分析[J]. 海洋学报,2009,31(5):162-168.

[24]Chavhan R L,Hinge V R,Chinchole M B,et al. Rapid,specific and sensitive molecular detection assay for *Alternaria helianthi* that causes leaf blight disease in sunflower[J]. European Journal of Plant Pathology,2015,143(4):663-675.