

2009 年黑龙江和吉林省马铃薯晚疫病 菌表型结构研究

王 鹤, 朱杰华, 杨志辉*, 韩彦卿, 王 宇, 徐小虎

(河北农业大学植物保护学院, 保定 071000)

摘要 为明确 2009 年黑龙江和吉林两省马铃薯主产区晚疫病菌的表型特征, 本研究对所采晚疫病菌的交配型、甲霜灵抗性及生理小种分别进行了测定。结果表明: 被测黑龙江(46 株)和吉林(48 株)两省的菌株均为 A1 交配型。黑龙江省被测菌株甲霜灵高抗、敏感菌株各占 50%; 吉林省被测菌株中高抗、敏感菌株分别占 70.8%、29.2%; 两省均未发现中抗菌株。其中采自吉林敦化菌株均为高抗菌株, 采自吉林榆树的菌株均为敏感菌株, 甲霜灵抗/感比例地区间差异明显。在被测 33 个黑龙江菌株中发现 24 个生理小种, 而吉林 49 个菌株中发现 19 个生理小种, 其中 9 个生理小种两省共有。另外, 两省被测菌株中还发现了 18 株“超级毒力小种”。因此, 建议加强种薯监测, 防止 A2 交配型传入; 在生产上使用甲霜灵类药剂防治马铃薯晚疫病应该以菌株的抗性监测数据为依据; 进一步加强生理小种监测, 合理布局抗病品种。

关键词 致病疫霉; 交配型; 甲霜灵抗性; 生理小种

中图分类号: S 435.32 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2012.01.032

Phenotypic studies on *Phytophthora infestans* in Heilongjiang and Jilin in China in 2009

Wang He, Zhu Jiehua, Yang Zhihui, Han Yanqing, Wang Yu, Xu Xiaohu

(College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China)

Abstract The isolates of *Phytophthora infestans* from Heilongjiang and Jilin were tested in 2009. Mating type, metalaxyl-resistance and physiological race were assayed. The results showed that all of the *P. infestans* isolates collected from Heilongjiang and Jilin were mating type A1. The test for metalaxyl-resistance indicated that the ratio of resistant and sensitive isolates was 1:1 in Heilongjiang and the ratio of resistant and sensitive isolates in Jilin was 70.8:29.8. Intermediate isolates were not found in the two provinces. But all of the isolates from Dunhua were resistant and the isolates from Yushu were sensitive. The proportion of resistant and sensitive isolates was markedly different in different areas. Twenty-four races were identified in Heilongjiang (33) and 19 races were identified in Jilin (49), and there were 9 races co-existing in the two provinces. Eighteen isolates were “super virulence race”. Therefore, in order to prevent the introduction of A2 mating type, we should strengthen the monitoring of seed potato, and the determination of *P. infestans* races for appropriate distribution of resistant varieties. The use of metalaxyl in the potato production should be based on the resistance monitoring data.

Key words *Phytophthora infestans*; mating type; metalaxyl-resistance; physiological race

从 1845 年马铃薯晚疫病在爱尔兰暴发至今, 晚疫病一直受到世界植物病理学家的瞩目, 尽管世界各国均投入了无以计数的人力和财力进行研究, 但至今为止马铃薯晚疫病 (potato late blight) 仍然是马铃薯生产上最具毁灭性的病害。究其原因, 应该

说致病疫霉菌群体结构的变化是导致晚疫病防不胜防的主要原因之一。

致病疫霉菌群体结构的变化可以通过测定表现型 (交配型、甲霜灵抗性和生理小种) 和基因型结构来分析和衡量。20 世纪 80 年代以后, 随着致病疫霉

收稿日期: 2011-01-31 修订日期: 2011-03-08

基金项目: 国家现代马铃薯产业技术体系 (nycyt-x-15)

* 通信作者 Tel: 0312-7528587; E-mail: bdyzh2002@yahoo.com.cn

“新”群体在世界范围内的扩散,致使致病疫霉群体结构的组成与变化日趋复杂^[1]。自 1996 年 Zhang 等^[2]首次报道我国发现 A2 交配型以来,伴随致病疫霉甲霜灵抗性群体的发生,由于 A2 交配型菌株与已有的 A1 交配型菌株可进行有性生殖,导致寄生适合度更高的后代菌株产生,从而愈发加快了我国致病疫霉群体表型的变异^[3]。刘晓鹏等^[4]、姚裕琪等^[5]、杨艳丽等^[6]在 20 世纪 90 年代中期对我国致病疫霉生理小种测定结果显示,小种组成相对简单,包含毒力基因数目较少。之后,朱杰华等^[7]、杨艳丽等^[8]对我国各地分离的致病疫霉生理小种测定结果显示小种组成明显复杂。近几年,赵志坚等^[9]、韩彦卿等^[10]均报道了致病疫霉“超级生理小种”(能克服所有已知的 *R1*~*R11* 等 11 个抗病基因)的发现。加之高比例的甲霜灵高抗群体在我国各地陆续报道^[11-12],以上表明我国致病疫霉群体组成愈加复杂,给我国的晚疫病防治带来了严峻的挑战,因此针对不同地区致病疫霉的群体表型的变化,及时的跟踪报道就显得至关重要。

2009 年黑龙江和吉林省马铃薯晚疫病再次暴发^[13],该病的严重发生是否与病菌群体建构新特征有直接关系值得探讨和关注,因此本研究对 2009 年采自我国黑龙江和吉林两省部分马铃薯主产区的马铃薯晚疫病菌进行交配型、甲霜灵敏感性及生理小种测定,从交配型、甲霜灵敏感性和生理小种毒力基因的组成与变化等方面来分析晚疫病菌的群体结构特征,从而进一步分析 2009 年黑龙江和吉林马铃薯晚疫病的发生与流行规律,为全面指导我国各马铃薯主产区的晚疫病防治奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 供试菌株

供试马铃薯致病疫霉菌株 110 株,其中 108 株于 2009 年 8 月采自我国黑龙江(50 株)和吉林(58 株);交配型测定标准菌株 28(A2 交配型)和 96(A1 交配型),由瑞士 Biological Research Center, Syn-genta 公司惠赠。

1.2 供试培养基及药剂

黑麦培养基:黑麦 60 g,琼脂粉 12 g,蔗糖 20 g,补充蒸馏水定容至 1 000 mL。96.5% 甲霜灵原药由先正达中国投资有限公司提供。

1.3 鉴别寄主

供试鉴别寄主由 CIP 驻京办通过国际马铃薯中心引进,由 11 个含有 *R1*~*R11* 主效抗病基因的抗病品种和 1 个不含抗病基因的感病品种(*r*)组成。鉴别寄主培育参照朱杰华等^[14]的方法。

1.4 交配型测定

交配型测定采用对峙培养法将被测菌株的菌盘(5 mm×5 mm)放在培养皿中,分别与已知的 A1(96)标准菌株和 A2(28)标准菌株的菌盘(5 mm×5 mm)间隔 2 cm 培养。在 18℃ 生化培养箱内黑暗培养 10~15 d。用显微镜检查两菌落交界处是否有卵孢子出现。当检查发现与 A2 菌株配对的待测菌株之间有卵孢子产生时,待检测菌株即为 A1 型,相反,如果待测菌株与 A1 配对产生了卵孢子,则待测菌株为 A2 型。如果与两个标准菌株均有卵孢子产生,且自身也能产生卵孢子为自育型。

1.5 甲霜灵敏感性测定

甲霜灵抗性测定采用菌落直径法进行,抗性标准划分参照 Daggett 等^[15]的方法,根据含药平板菌落直径与空白对照平板菌株直径的比值对待测菌株的甲霜灵敏感性标准进行划分。具体划分标准如下: d_{ck} 为 CK 菌落直径; d_5 为含药 5 mg/L 培养基中培养菌的菌落直径; d_{100} 为含药 100 mg/L 培养基中培养菌的菌落直径。敏感: $d_5/d_{ck} \leq 0.4$;中抗: $d_{100}/d_{ck} \leq 0.4 < d_5/d_{ck}$;高抗: $d_{100}/d_{ck} > 0.4$ 。

1.6 生理小种测定

晚疫病菌生理小种测定参照朱杰华等^[14]的方法,在室内采用离体叶片法进行测定。按 Black 等^[16]确定的马铃薯晚疫病菌生理小种统一国际命名系统对被测菌株的小种进行命名。

2 结果与分析

2.1 被测菌株的交配型及其对甲霜灵的敏感性

通过测定发现,2009 年采自黑龙江、吉林的 94 株晚疫病菌均为 A1 交配型菌株,未发现 A2 交配型菌株及自育菌株。甲霜灵敏感性测定结果表明,被测的 46 株黑龙江省致病疫霉菌株中,23 株为抗性菌株,23 株为敏感菌株,甲霜灵抗性和敏感菌株各占被测菌株的 50%;采自吉林的 48 个致病疫霉菌株中,甲霜灵抗性、敏感菌株分别为 34 株、14 株,分别占被测菌株的 70.8%、29.2%。黑龙江和吉林均未发现中抗菌株。两省马铃薯晚疫病菌甲霜灵抗性详细对比见表 1。

表 1 2009 年黑龙江和吉林省马铃薯晚疫病菌甲霜灵抗性差异

省份	采集地点	抗性水平	菌株数/株	百分率/%
黑龙江	克山	高抗	19	59.4
		中抗	0	0
		敏感	13	40.6
	五大连池	高抗	1	20.0
		中抗	0	0
		敏感	4	80.0
	加格达奇	高抗	2	40.0
		中抗	0	0
		敏感	3	60.0
	二龙山	高抗	1	50.0
		中抗	0	0
		敏感	1	50.0
	漠河	高抗	0	0
		中抗	0	0
		敏感	1	100
	海伦	高抗	0	0
		中抗	0	0
		敏感	1	100
吉林	敦化	高抗	31	100
		中抗	0	0
		敏感	0	0
	榆树	高抗	0	0
		中抗	0	0
		敏感	9	100
	梅河口	高抗	3	37.5
		中抗	0	0
		敏感	5	62.5

2.2 生理小种测定

对黑龙江(33 株)和吉林(49 株)致病疫霉菌株进行了生理小种测定,其中在黑龙江发现 24 个生理小种,在吉林发现 19 个生理小种,共鉴定出 34 个生

理小种(表 2),其中 9 个生理小种两省普遍存在,此外在被测菌株中还发现了 18 个菌株,含有能克服所有已知的 $R1 \sim R11$ 11 个抗病基因的“超级毒力小种”,占有被测菌株的 22%。本研究未发现 0 号小种,其中含有 5 个以上毒力因子的菌株有 77 株,约占被测菌株的 93.9%,平均每个菌株含有 8.42 个毒力因子(黑龙江 7.48,吉林 9.06)。在被测致病疫霉菌株群体中发现了所有与已知 11 个主效抗病基因相对应的 $vir1 \sim vir11$ 11 个毒力基因,但所测菌株的毒力基因出现频率存在差异(图 1),在黑龙江 $vir1$ 出现频率为 18.2%, $vir2$ 和 $vir8$ 的出现频率约为 30%;在吉林 $vir8$ 出现频率最低,为 44.9%,其余毒力基因频率均大于 50%,毒力基因出现频率普遍较高,但在榆树 $vir1$ 的频率为 33.3%。

表 2 2009 年黑龙江和吉林晚疫病菌生理小种测定结果

生理小种	黑龙江	吉林	生理小种	黑龙江	吉林
9,10	1	0	3,4,5,7,9,10,11	3	0
3,4,11	0	1	1,2,5,7,8,9,10,11	0	1
7,9,11	0	1	1,3,4,5,6,9,10,11	0	2
4,6,7,10	1	0	2,3,5,7,8,9,10,11	0	1
4,9,10,11	1	0	3,4,5,6,7,9,10,11	2	9
3,4,5,6,9	1	0	3,5,6,7,8,9,10,11	0	1
3,4,6,9,11	1	1	2,3,4,5,6,8,9,10,11	1	0
4,5,9,10,11	1	0	2,3,4,5,6,7,9,10,11	2	3
3,5,6,7,9,10	1	0	3,4,5,6,7,8,9,10,11	4	1
3,5,6,8,9,11	1	0	1,3,4,5,6,7,9,10,11	1	2
3,4,5,6,9,11	1	1	1,2,3,4,5,6,7,8,9,11	1	0
3,4,5,7,9,10	0	1	2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	1	3
4,5,6,9,10,11	1	0	1,3,4,5,6,7,8,9,10,11	0	1
4,5,7,9,10,11	1	0	1,2,3,4,5,6,8,9,10,11	0	1
5,6,7,9,10,11	1	0	1,2,3,4,6,7,8,9,10,11	0	1
2,3,6,7,9,10,11	1	0	1,2,3,4,5,6,7,9,10,11	1	3
3,4,6,7,9,10,11	1	0	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11	3	15

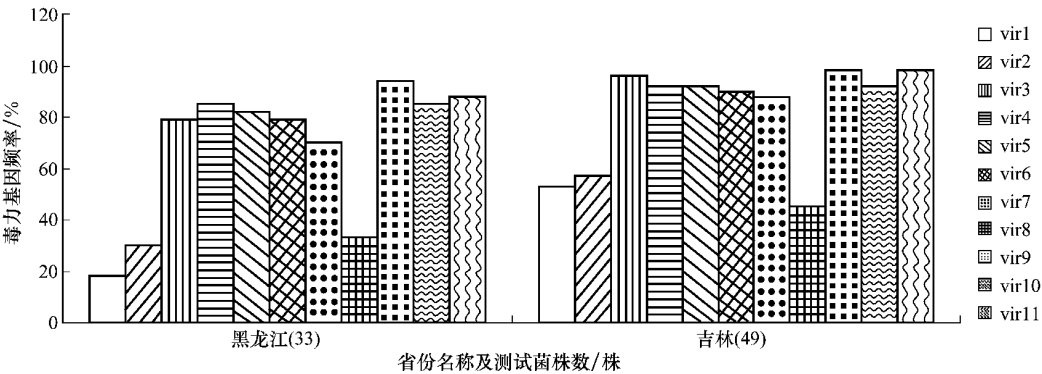


图 1 黑龙江和吉林省致病疫霉的毒力基因发生频率

3 讨论

本研究所发现的我国黑龙江和吉林两省致病疫霉群体交配型结构比较单一,均为 A1 交配型。表明黑龙江省仍然未有 A2 型菌株的入侵,因此要加强检验检疫工作,严把种薯质量关,尤其是来源于

A2 交配型发生区的种薯要加强监测;其次做好预测预报工作,监测马铃薯晚疫病发生动态,及时防治。以防为主,综合治理,严防其传入该地。李本金等^[17]在对 1998 年—2007 年采自我国各地致病疫霉的群体结构研究中,报道过吉林省致病疫霉 A2 交配型的存在,笔者未有发现,这种现象的发生并非偶

然,从1996年A2交配型在我国首次发现,之后我国陆续报道了A2交配型的发生及扩大^[18-19],但随后却出现了A2交配型比例急剧下降甚至消失的情况^[11,20],欧洲多数国家也出现过这样的现象^[21],这种现象发生的原因尚不明确。马铃薯晚疫病病菌甲霜灵高抗菌株在我国东北已普遍存在,致病疫霉抗性群体的比例不断加大,导致晚疫病田间防治愈加困难。但不同地区抗/感比例存在明显差异,如吉林省敦化市致病疫霉均为高抗,而吉林省榆树市则均为敏感。针对致病疫霉对甲霜灵敏感的地区,甲霜灵仍可继续使用,但是一定要轮换用药,以防抗性菌株的产生,延长甲霜灵类药剂的使用年限。2003年金光辉等^[22]报道黑龙江省致病疫霉生理小种组成多为单毒力基因,最多不超过4个毒力基因组合,而本研究结果显示我国东北致病疫霉生理小种的组成日趋复杂,平均毒力因子超过8个,且被测82个菌株中约20%为“超级毒力小种”。究其原因除了与含有主效抗病基因的马铃薯品种的大力推广,对晚疫病病菌造成选择压力,导致突变产生新的毒力基因所致以外,种薯调运将毒力基因复杂的病原菌传入该地,也是导致生理小种日趋复杂的重要原因。

虽然在被测致病疫霉菌株中发现了与马铃薯已知11个主效抗病基因相对应的*vir1*~*vir11*等11个毒力基因,但在黑龙江部分地区含有*R1*、*R2*和*R8*的抗病品种还能起到抗病作用;在吉林榆树致病疫霉菌株中含*vir1*的频率为33.3%,表明含有*R1*的抗病品种在该地区还能起到一定抗病作用。这就为我国抗晚疫病育种策略以及抗病品种在该地合理布局提供了指导,一方面加大力度发掘新的垂直抗病基因,另一方面尽量从现有品种中筛选抗病品种,在该地区生理小种持续监测的基础上,对含有可利用抗病基因的抗病品种进行合理布局,以延长其使用年限。

参考文献

- [1] Spielman L J, Drenth A, Davidse L C, et al. A second world-wide migration and population displacement of *Phytophthora infestans*? [J]. Plant Pathology, 1991, 40(3):422-430.
- [2] 张志铭,李玉琴,田世民,等. 中国马铃薯晚疫病病菌(*Phytophthora infestans*)A₂交配型[J]. 河北农业大学学报, 1996, 9(4): 62-65.
- [3] Smart C D, Fry W E. Invasions by the late blight pathogen: renewed sex and enhanced fitness[J]. Biological Invasions, 2001, 3(3):235-243.
- [4] 刘晓鹏,宋伯符. 湖北恩施地区马铃薯晚疫病病菌生理小种的组成及分布[J]. 马铃薯杂志, 1995, 9(2):81-82.
- [5] 姚裕琪,梁德霖,梁东超. 内蒙古马铃薯晚疫病病菌生理小种的组成及分布[J]. 内蒙古农业科技, 1996(1):17-18.
- [6] 杨艳丽,国立标. 云南马铃薯晚疫病病菌生理小种的研究[J]. 植物保护, 2001, 27(4):3-5.
- [7] 朱杰华,杨志辉,邵铁梅,等. 中国部分地区马铃薯晚疫病病菌生理小种的组成及分布[J]. 中国农业科学, 2003, 36(2):169-172.
- [8] 杨艳丽,胡先奇,鲁绍凤,等. 云南省马铃薯晚疫病病菌生理小种的组成与分布[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(3):297-301.
- [9] 赵志坚,李灿辉,曹继芬,等. 云南省马铃薯致病疫霉毒性基因组成及毒力结构研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(3):505-511.
- [10] 韩彦卿,秦宇轩,朱杰华,等. 2006—2008年中国部分地区马铃薯晚疫病病菌生理小种的分布[J]. 中国农业科学, 2010, 43(17):3684-3690.
- [11] 李本金,吕新,兰成忠,等. 福建省致病疫霉交配型,甲霜灵敏感性及生理小种组成分析[J]. 植物保护学报, 2008, 35(5): 453-457.
- [12] 陈良华,杨志辉,丁明亚,等. 河北,吉林两省马铃薯晚疫病病菌对3种杀菌剂的敏感性测定[J]. 中国农学通报, 2009, 25(13): 171-174.
- [13] 中国马铃薯晚疫病预测监测系统. <http://www.china-blight.net>
- [14] 朱杰华,杨志辉,邵铁梅,等. 中国部分地区马铃薯晚疫病病菌生理小种的组成及分布[J]. 中国农业科学, 2003, 36(2):169-172.
- [15] Daggett S S, Gotz E, Therrien C D. Phenotypic changes in populations of *Phytophthora infestans* from eastern Germany [J]. Phytopathology, 1993, 83(3):319.
- [16] Black W, Mastenbroek C, Mills W R, et al. A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives[J]. Euphytica, 1953, 2(3):173-179.
- [17] Li B J, Chen Q H, Lv X, et al. Phenotypic and genotypic characterization of *Phytophthora infestans* isolates from China [J]. Journal of Phytopathology, 2009, 157(9):558-567.
- [18] 赵志坚,张志铭. 云南省发现马铃薯晚疫病病菌(*Phytophthora infestans*)A₂交配型[J]. 西南农业学报, 1999, 12(3):1-3.
- [19] 朱杰华,张志铭,李玉琴. 马铃薯晚疫病病菌(*Phytophthora infestans*)A₂交配型的分布[J]. 植物病理学报, 2000, 30(4):375.
- [20] 赵志坚,曹继芬,李灿辉,等. 云南致病疫霉交配型,甲霜灵敏感性,mtDNA单倍型及其群体演替研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(4):727-734.
- [21] Day J P, Wattier R, Shaw D S, et al. Phenotypic and genotypic diversity in *Phytophthora infestans* on potato in Great Britain, 1995-98[J]. Plant Pathology, 2004, 53(3):303-315.
- [22] 金光辉,文景芝,董传民,等. 黑龙江省马铃薯晚疫病生理小种的类型与分布状况研究[J]. 中国马铃薯, 2003, 17(4):213-215.