

中图分类号：S532 文献标识码：B 文章编号：1672-3635(2013)02-0168-02

哈尔滨市马铃薯晚疫病菌生理小种的类型

高云飞，郭梅*，王晓丹，闵凡祥，杨帅，吕典秋，张必弦，陈磊

(黑龙江省农业科学院脱毒苗木研究所，黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要：马铃薯晚疫病是由致病疫霉菌[*Phytophthora infestans*(Mont.) de Bary]引起的毁灭性病害，近年来，该病害在哈尔滨市连年发生，危害日趋严重。本研究对2010年从哈尔滨市采集62个马铃薯晚疫病菌分离物进行了生理小种鉴定。结果表明，在62个分离物中，共有14个小种类型，以1.3.4.7.8.10.11小种为主，出现频率为33.87%，其次是小种1.3.4.7.8和1.3.4.7，出现频率分别为14.52%和12.90%，没有鉴定出单基因小种。这充分说明，哈尔滨市致病疫霉菌毒力结构呈多样性，具有高度的复合性。

关键词：马铃薯；晚疫病；致病疫霉菌；生理小种

Physiological Race of *Phytophthora infestans* on Potato in Harbin

GAO Yunfei, GUO Mei*, WANG Xiaodan, MIN Fanxiang, YANG Shuai, LU Dianqiu, ZHANG Bixian, CHEN Lei

(Virus-free Seedling Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086, China)

Abstract: Potato late blight, caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, is a catastrophic disease. In recent years, it occurs year after year, and tends to be more and more serious. In this research, 62 isolates, which were collected from Harbin City in 2010, were identified *in vitro* assay for physiological race of *Phytophthora infestans*. The results showed that physiological races of *Phytophthora infestans* in Harbin City were composed of 14 types, with 1.3.4.7.8.10.11 being dominant (33.87%) followed by 1.3.4.7.8 (14.52%) and 1.3.4.7 (12.90%), and the race with one virulent gene was not detected. These data suggest that the characteristics of *Phytophthora infestans* populations on potato in Harbin City be diverse and complicated.

Key Words: potato; late blight; *Phytophthora infestans*; physiological race

收稿日期：2013-03-21

基金项目：科技部国际科技合作计划项目(2010DFA32810)；科技部“十二五”农村领域国家科技计划研究课题(2012BAD06B02)；哈尔滨市科技攻关计划项目(2010AA6CN071)。

作者简介：高云飞(1984-)，男，学士，研究实习员，主要从事马铃薯真菌病害研究。

*通信作者(Corresponding author)：郭梅，研究员，主要从事马铃薯真菌病害研究，E-mail：guo_plum@yahoo.com。



果，防效在80%以上，可以在大面积生产上应用。80%代森锰锌可湿性粉剂、72%霜脲·锰锌可湿性粉剂、68.75%噁酮·锰锌水分散粒剂防治效果不理想，可能是因为试验区域常年使用代森锰锌类药物产生了抗药性^[3]。马铃薯早疫病病原菌可进行多次侵染，遇连续阴雨或相对湿度高于70%时，病害蔓延扩大，易发生流行^[4]。药剂防治早疫病建议在发病前期或初期进行，每7d施药1次，连喷2~3次，同时注意不同药剂交替轮换使用，以避免

产生抗药性。

[参 考 文 献]

- [1] 张建平. 马铃薯早疫病菌分生孢子传播和病害发生的规律与降雨的关系[J]. 马铃薯杂志, 1991, 5(4): 209-213.
- [2] 王晓军, 王熹, 王金友, 等. 农药田间药效试验准则(一)[M]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
- [3] 丁世成, 李建军, 刘世海, 等. 马铃薯早疫病田间防治药剂筛选与评价[J]. 甘肃农业科技, 2010(12): 14-16.
- [4] 吕佩珂, 明远, 吴钜文, 等. 中国蔬菜病虫原色图谱[M]. 北京: 农业出版社, 1992.

马铃薯晚疫病是由致病疫霉菌 [*Phytophthora infestans* (Mont.) deBary]引起的毁灭性病害^[1]。马铃薯晚疫病病菌是寄生性很强的卵菌, 具有明显的生理分化现象。目前, 世界各国对晚疫病病菌的生理分化, 也就是生理小种的划分方法, 是采用一套鉴别寄主 R1-R11 以及一个无毒基因 r, 进行活体鉴定, 根据不同菌株在鉴别寄主上的反应确定小种类型。世界各地的研究结果证明, 马铃薯晚疫病病菌的生理小种类型在不断地复杂化。

哈尔滨市马铃薯种植区每年都不同程度的发生, 一般是减产 20%, 严重时 50%左右, 甚至绝产^[2]。

目前, 在防治晚疫病方面主要是采用抗病育种、化学防治并结合相应的栽培技术。监测马铃薯晚疫病病菌的群体结构变化, 确定优势小种和强毒力小种的类型, 有针对性的进行品种选育以及抗病品种的合理布局具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 鉴别寄主

本试验所用鉴别寄主共 12 份。由国际马铃薯中心(CIP)引进一整套含有主效抗病单基因和不含抗病

表 1 2010 年哈尔滨马铃薯晚疫病病菌生理小种的鉴定

Table 1 Identification of physiological races of *P. infestans* isolates collected from Harbin City in 2010

菌株代号 Number of isolate	采集地点 Site	生理小种类型 Physiological race	菌株代号 Number of isolate	采集地点 Site	生理小种类型 Physiological race
2010-46	哈尔滨	1.3.4.7.8.11	2010-77	哈尔滨	1.3.4.7.11
2010-47	哈尔滨	1.2.3.4.7.8.10.11	2010-78	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-48	哈尔滨	1.3.4.7.8	2010-79	哈尔滨	1.3.4.7.10.11
2010-49	哈尔滨	3.4.7.10.11	2010-81	哈尔滨	1.3.4.7.11
2010-50	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11	2010-82	哈尔滨	3.4.7
2010-51	哈尔滨	1.3.4.7.8	2010-83	哈尔滨	1.2.3.4.7.8.10.11
2010-52	哈尔滨	1.3.4.7.8	2010-84	哈尔滨	1.3.4.7
2010-53	哈尔滨	3.4.7.10	2010-85	哈尔滨	1.3.4.7
2010-54	哈尔滨	1.3.4.7.8	2010-86	哈尔滨	1.3.4.7.11
2010-55	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11	2010-87	哈尔滨	1.3.4.7.10.11
2010-56	哈尔滨	1.3.4.7.8	2010-88	哈尔滨	1.3.4.7.10.11
2010-57	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11	2010-89	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-58	哈尔滨	1.3.4.7.11	2010-90	哈尔滨	1.3.4.7.11
2010-59	哈尔滨	1.3.4.7.8	2010-91	哈尔滨	1.3.4.7.8.10
2010-60	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11	2010-92	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-61	哈尔滨	1.2.3.4.6.7.8.10.11	2010-93	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-62	哈尔滨	1.3.4.7	2010-94	哈尔滨	1.3.4.7.8.10
2010-63	哈尔滨	1.3.4.7.8	2010-95	哈尔滨	1.3.4.7.10.11
2010-64	哈尔滨	1.3.4.7	2010-96	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-65	哈尔滨	1.3.4.7.8.11	2010-97	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-66	哈尔滨	1.3.4.7	2010-98	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-67	哈尔滨	1.3.4.7.8	2010-99	哈尔滨	1.2.3.4.7.8.10.11
2010-68	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11	2010-100	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-69	哈尔滨	1.3.4.7.10.11	2010-102	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-70	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11	2010-103	哈尔滨	1.3.4.7
2010-71	哈尔滨	1.3.4.6.7.8.10.11	2010-105	哈尔滨	1.3.4.7.8
2010-72	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11	2010-106	哈尔滨	1.3.4.7.8.11
2010-73	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11	2010-107	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-74	哈尔滨	1.3.4.6.7.10.11	2010-108	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11
2010-75	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11	2010-109	哈尔滨	1.3.4.7
2010-76	哈尔滨	1.3.4.7	2010-110	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11

基因的感病材料, 分别是 R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10, R11, r, 均为试管苗。

1.1.2 供试菌株

供试菌株 62 个, 采自哈尔滨市呼兰区。

1.2 试验方法

1.2.1 分离纯化方法

采用夹心法, 将发病叶片放入灭菌的培养皿内, 用无病薯片(约 5 mm 厚)覆盖, 保湿培养 3~4 d 后, 待薯片上部长出菌丝体, 挑取菌丝体, 转接到黑麦培养基上进行分离纯化并保存, 待用。

1.2.2 孢子悬浮液制备方法

在长满菌丝的黑麦培养基上加 3 mL 冷的无菌水, 用灭菌的毛笔刷取菌落表面, 在 4℃冰箱中培养 2~3 h, 低温刺激游动孢子的释放。用玻璃棒把菌丝捣碎, 并用纱网滤去菌丝碎片, 用血球计数板计数, 稀释成 5×10^4 的孢子囊悬浮液。

1.2.3 病菌生理小种鉴别方法

每个鉴别寄主中至少长有 3 枚 0.5 cm 大小的叶片时, 进行接种, 用微量移液器吸取游动孢子悬浮液 10 μ L 滴于叶背, 每处理 3 次重复, 用无菌水作对照, 将培养皿放于 18℃光照培养箱中进行保湿培养(8 h 黑暗, 16 h 光照), 于第 7~8d 检查结果。

1.2.4 生理小种的鉴定方法

根据马铃薯与致病疫霉的互作关系符合基因对基因学说, 确定供试菌株对鉴别寄主的抗(感)病性后, 根据致病疫霉对 11 个抗性基因的毒性, 按 Black 等^[9]规定的国际命名系统确定致病疫霉的毒力结构。

2 结果与分析

被测的 62 个马铃薯晚疫病病菌菌株中, 共鉴定出 14 个生理小种, 其组成与出现频率见表 1 和表 2。

表 2 哈尔滨马铃薯晚疫病生理小种的出现频率

Table 2 Frequency of different physiological races detected from Harbin City

生理小种类型 Physiological race	数目 Number	频率 Frequency (%)	地点 Site	生理小种类型 Physiological race	数目 Number	频率 Frequency (%)	地点 Site
3.4.7	1	1.61	哈尔滨	1.3.4.7.8.11	3	4.84	哈尔滨
1.3.4.7	8	12.90	哈尔滨	1.3.4.7.10.11	5	8.07	哈尔滨
3.4.7.10	1	1.61	哈尔滨	1.3.4.7.8.10.11	21	33.87	哈尔滨
1.3.4.7.8	9	14.52	哈尔滨	1.3.4.6.7.10.11	1	1.61	哈尔滨
1.3.4.7.11	5	8.07	哈尔滨	1.2.3.4.7.8.10.11	3	4.84	哈尔滨
3.4.7.10.11	1	1.61	哈尔滨	1.3.4.6.7.8.10.11	1	1.61	哈尔滨
1.3.4.7.8.10	2	3.23	哈尔滨	1.2.3.4.6.7.8.10.11	1	1.61	哈尔滨

通过对哈尔滨市的马铃薯晚疫病病菌生理小种的鉴定发现, 发现 14 个生理小种, 分别为 3.4.7, 1.3.4.7, 3.4.7.10, 1.3.4.7.8, 1.3.4.7.11, 3.4.7.10.11, 1.3.4.7.8.10, 1.3.4.7.8.11, 1.3.4.7.10.11, 1.3.4.7.8.10.11, 1.3.4.6.7.10.11, 1.2.3.4.7.8.10.11, 1.3.4.6.7.8.10.11 和 1.2.3.4.6.7.8.10.11。其中分布最为普遍的是小种 1.3.4.7.8.10.11, 出现频率为 33.87%, 其次是小种 1.3.4.7.8、小种 1.3.4.7, 出现频率分别为 14.52% 和 12.9%。从生理小种的种类看, 哈尔滨呼兰庆平村马铃薯主产区的生理小种类型较多, 且组成复杂。

从鉴定结果可以得出, 该地区致病疫霉群体中

毒性基因出现的频率有明显的差异(图 1)。其中 vir3, vir4 和 vir7 的频率最高均为 100%, 其次是 vir1, vir11, vir8, vir10, vir2, vir6 发生频率分别为 95.16%, 66.13%, 64.52%, 58.07%, 6.45%, 4.84%, 没有发现 vir5 和 vir9。可见, 在抗病育种方面, 抗性基因 R1, R3, R4, R7, R8, R10 和 R11 在该地区已失去了可利用的价值, 而抗性基因 R5 和 R9 均有一定的利用性。从哈尔滨市生理小种毒力基因的组成和出现频率来看, 哈尔滨市的生理小种组成变得复杂, 从含 3 个毒力基因到 9 个毒力基因的复合性小种均有出现。

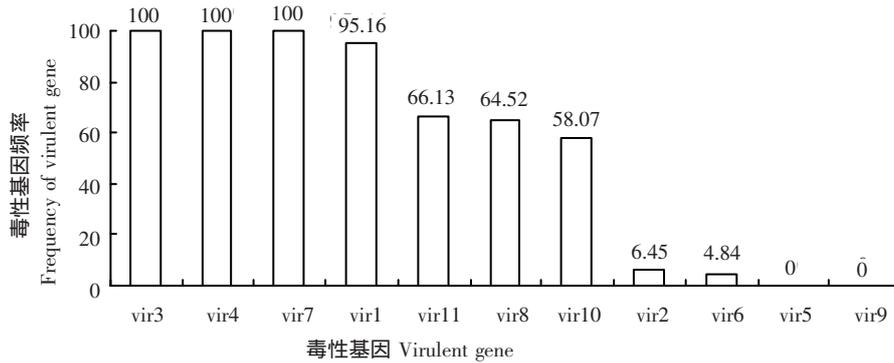


图1 毒性基因频率

Figure 1 Frequency of virulent genes

3 讨论

黄河等^[2]报道, 黑龙江省 1962~1967 年的 20 个马铃薯晚疫病菌株, 鉴定出 4 个生理小种, 在一定程度上, 也代表哈尔滨市生理小种发生情况。金光辉等^[4]报道, 黑龙江省 2000 年鉴定了 17 个菌株, 共鉴定出 14 个生理小种, 其中哈尔滨市呼兰区的生理小种由 4 种组成, 多为单基因生理小种, 即小种 0, 4, 9 和 1.2, 其中优势种是 4 号小种。金光辉等^[5]报道, 黑龙江省 2004 年 51 个菌株, 鉴定出 21 个生理小种类型, 其中哈尔滨出现 3.4.6.7.8.11 生理小种, 可以看出生理小种的组成有着复杂化的趋势。金光辉等^[6]报道, 黑龙江省 2008 年 83 个菌株, 鉴定出 18 个生理小种类型, 其中哈尔滨市 10 个菌株, 鉴定出 5 个生理小种, 为 0, 3.4.7, 3.7.11, 3.4.7.11 和 3.4.6.7.11, 最多仅含有 5 个毒力基因, 其优势小种是 3.4.7.11。

本试验对哈尔滨市 2010 年的 62 个菌株进行了生理小种测定, 生理小种由 14 种组成, 优势小种是 1.3.4.7.8.10.11, 次优势小种是 1.3.4.7.8 和 1.3.4.7。从近年来观察发现, 哈尔滨市的晚疫病病菌生理小种的组成越来越复杂, 由单个毒力基因向多毒力基因发展。从组成生理小种的毒力基因类

型来看, 哈尔滨市没有出现能够克服 R5 和 R9 抗性基因的小种, 因此, 在马铃薯生产中, 哈尔滨各马铃薯产区短期内可以针对性的使用含有 R2, R6, R5 和 R9 抗性基因的马铃薯品种, 合理布局来防止晚疫病的发生, 减少经济损失。同时在抗晚疫病育种方面, 可以考虑培育含 R5 和 R9 抗性基因马铃薯新品种, 对延缓和减少晚疫病的发生, 具有一定的实际意义。

[参 考 文 献]

- [1] 宋伯符, 谢开云. CIP 的全球晚疫病防治倡议与我国的参与[J]. 马铃薯杂志, 1997, 11(1): 51-55.
- [2] 黄河, 程汉清, 徐天宇, 等. 我国北部马铃薯晚疫病病菌生理小种的发生和变化[J]. 植物病理学报, 1981, 11(1): 45-49.
- [3] Black W, Mastenbrock 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.
- [4] 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.
- [5] 金光辉, 袁善奎, 吕文河, 等. 黑龙江省马铃薯晚疫病病菌生理小种类型及交配型研究[J]. 东北农业大学学报, 2006, 37(5): 610-614.
- [6] 金光辉, 吕文河, 白雅梅, 等. 黑龙江省马铃薯晚疫病病菌生理小种的鉴定[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(10): 13-17.

