

中图分类号：S532 文献标识码：B 文章编号：1672-3635(2012)04-0238-08

马铃薯晚疫病发病程度田间观察记录标准的探讨

李文娟，FORBES Gregory A.，谢开云*

(国际马铃薯中心，北京 100081)

摘要：目前用于马铃薯晚疫病发病严重程度的描述方法主要分为两类，一是直接计数法，即感病百分数法；二是分级计数法，包括病情指数法及 CIP 9 级分级法。基于以上描述方法，还可计算出病情发展曲线下的面积 (AUDPC)，对遗传材料的抗性进行评价。无论何种方法，准确估计和记录晚疫病病斑侵染面积占植株总面积的比例是非常重要的，即使是长期从事晚疫病研究的专业人员有时也会产生较大的偏差。利用标准图谱作为参照，可以有效降低科研人员的判断误差。所以，有必要建立一套标准的彩色图谱，供从事病害调查的技术人员参考，有效地提高对晚疫病发病程度的评估准确性。

关键词：马铃薯；晚疫病；发病程度；病情发展曲线下的面积(AUDPC)；彩色图谱

Observations on the Standardization of Field Assessment of Potato Late Blight Severity

LI Wenjuan, FORBES Gregory A., XIE Kaiyun*

(International Potato Center, Beijing 100081, China)

Abstract: There are several methods to visually estimate the severity of potato late blight. One is direct estimate method, which involves simple visual estimation of percent infection. Another one is indirect estimation method, including a disease index method and 'old' CIP scale. Based on those methods, the area under disease progress curve (AUDPC) can be calculated to evaluate the resistance of potato genotypes. Whichever method is used, it is important to evaluate and record as accurately as possible, the proportion of total leaf area that is infected. Even professionals engaged in late blight research have some error when they assess late blight severity. Therefore, it is helpful to establish a standard severity diagram which can provide a reference for technicians engaged in disease investigation, in order to help reduce the observational bias and improve accuracy of late blight severity assessment.

Key Words: potato; late blight; disease severity; area under disease progress curve (AUDPC); color diagram

1 引言

马铃薯晚疫病 [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] 是马铃薯的毁灭性病害，严重影响马铃薯产量，制约马铃薯产业的发展^[1]。由于 A1 和 A2 交配型的出现，晚疫病菌的生理小种变化很快，使许多抗性品种的抗性很快丧失，给马铃薯生产带来巨大的损失^[2]。更增加了抗病育种的难度，有许多推广品种在

生产中应用几年后，甚至有的在推广当年便失去抗性，同时生产中广泛使用的多种杀菌剂也出现了不同程度的对晚疫病菌株的抗药性^[3]。虽然防治晚疫病的任务异常艰巨，但科研工作者们为了有效减少晚疫病带来的损失，仍在病害流行病学研究、抗病育种、药剂防治和预报预测等方面做着不懈的努力^[4-6]。准确描述晚疫病的感病程度对于遗传资源评价、抗病亲本的选择、病原致病力的判断和进行预测预报均

收稿日期：2012-04-10

基金项目：国际马铃薯中心项目(420103)，马铃薯晚疫病预测模型、风险评估及管理研究。

作者简介：李文娟(1982-)，女，博士，国际马铃薯中心北京联络处研究助理。

* 通信作者(Corresponding author)：谢开云，研究员，博士，国际马铃薯中心北京联络处主任，E-mail: k.xie@cgiar.org。

具有重要的基础性意义。目前,对感病程度的评估仍基于经验观察,没有统一的评判标准,导致各研究间的可比性不强,结果难于统一分析。所以建立一套标准的晚疫病病害判别图谱,对于我国晚疫病研究有着重要的现实意义。

2 马铃薯晚疫病发病程度的描述方法

2.1 直接计数法

直接用感病百分数来描述植株(叶片)的感病状况,就是计算发病田块、植株或器官数目,从调查总数,求得发病的百分率。此方法简单直观,省去了复杂的计算过程。运用较为普遍。

2.2 分级计数法

病害发生的轻重,对植物的影响不同。例如叶片上发生少数病斑的与发生很多病斑以致引起叶片枯死的,对产量的影响显然不同。因此,直接计数就不能反应发病程度的差异,通常采用分级以后再计数的方法更为准确。

2.2.1 病情指数法

病情指数是根据一定数目的植株或植株器官各病级,计算其发病株或器官数所得平均发病程度的数值。是我国用于描述感病程度的主要方法之一。病情指数越高,则表明发病程度越高,植株抗性越低。

中华人民共和国国家标准 GB / T 17980-34-2000^[7]中明确指出,马铃薯晚疫病病情指数的计算方法,即根据调查的总叶片数(总株数)和各个相应的病级数(表 1)进行病情指数计算。

通常在每小区对角线五点取样,每点取 2~3 株,调查全部叶片,按下列分级方法记录。

病情指数 = $\Sigma(\text{各级病叶数} \times \text{相对病级数值}) / (\text{调查总叶数} \times 9) \times 100$

表 1 马铃薯晚疫病分级标准

Table 1 Grading standard of potato late blight

病级 Scale	病情 Severity (%)
0 级	无病斑
1 级	病斑面积占整个叶面积 5%以下
3 级	病斑面积占整个叶面积 6%~10%
5 级	病斑面积占整个叶面积 11%~20%
7 级	病斑面积占整个叶面积 21%~50%
9 级	病斑面积占整个叶面积 50%以上

2.2.2 CIP 9 级分级法

传统的 CIP 分级方法是将晚疫病的感病程度分为九级,如表 2。

CIP 9 级分级法属于一种 Horsfall 和 Barratt^[8]描述方法。但是,单从病级上,很难判断出植株确切的感病百分数。因为每个病级对应的感病百分数均存在一个范围,且跨度并不是均等的。所以,通常利用病级判断其感病百分数时,我们取感病百分数范围的中间值。

表 2 CIP 马铃薯晚疫病分级标准

Table 2 Severity values and midpoints of scale levels of the "old" CIP scale

病级 Scale	病情 Severity (%)	中间值 Midpoint
1	0	0
2	> 0~2.5	1.25
3	> 2.5~10	6.25
4	> 10~25	17.50
5	> 25~50	37.50
6	> 50~75	62.50
7	> 75~90	82.50
8	> 90~97.5	93.75
9	> 97.5~100	98.75

2.3 评价感染率时的误差来源

在评价晚疫病感染程度时的误差来源不外乎以下几种:

(1)评价时只根据植株的可见症状进行评价,从而导致低估了病害。被感染的叶片最后会脱落,并且衰老时间因所种植的品种而异。染病的植物组织可能是绿色、无症状的,因此在评价中被忽视。被感染的绿色组织中也可以产生孢子,但如果不是近距离观察叶片,就很难被看到。在对栽培种进行评价时一般不采用这种详细水平的观察。

(2)评价感染比例差异时,会出现人为误差。研究表明,人们往往对病害的严重性评价过高或过低,而不是在一个中间的水平(见下文)。

通常,最好的办法是运用统一的评价标准图,且由同一位评价人员来完成所有读数。

3 专业人员对植株发病程度的判断差异

3.1 晚疫病感病百分比的标准图谱

图 1 中分别展示了感病 1%、10%、25%和 50%

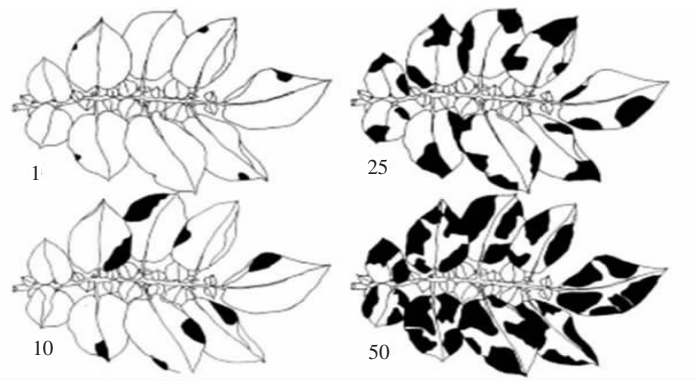


图 1 评估马铃薯叶片感染晚疫病百分比的标准图谱^[9]

Figure 1 Standard area diagram used to facilitate evaluation of percent infection of late blight on potato leaves^[9]

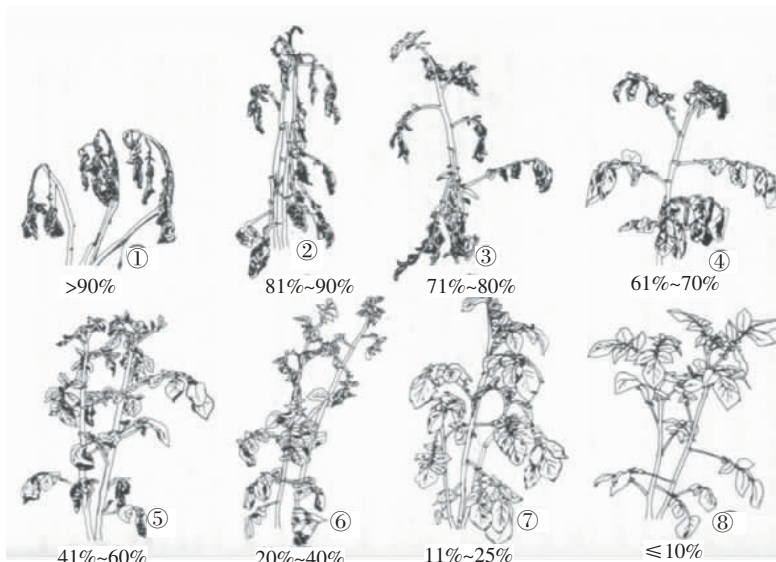


图 2 评估马铃薯植株感染晚疫病百分比的标准图谱^[10]

Figure 2 Standard area diagram to facilitate evaluation of percent infection of late blight on potato plants^[10]

的叶片的示意图。黑色区域代表病斑的区域。而图 2 则展示了感病率不同的植株感病状况。

3.2 有无标准图谱对照对判定晚疫病感病程度的影响

为了分析研究人员对晚疫病感病程度判断的准确性，我们将参加测试的 27 名晚疫病研究人员分为两组，第一组为其提供标准参考图谱(图 3 和图 4)，而第二组则让其凭经验进行判断。我们一共向大家展示了 15 张感病程度不同的马铃薯植株或叶片图片，要求每位参加人员判断图片中晚疫病的发病程度，并记录(表 3，表 4)。统计结果显示，第一组评判的平均结果与准确值相比，最高高出 8.9%，最低低出 6.1%，平均高于标准值 1.3%；而第二组的评判结果与准确值相比，最高高出 8.8%，最低低出 14.4%，平均低于标准值 4.1%。可见，参考标准图

谱可显著提高判断结果的准确性。而单凭经验进行判断往往会低估了发病程度，可见，即使是有经验的晚疫病研究人员，也很难对植株感病情况做出准确的判断。此外，第一组评判结果的平均标准差为 12.4，低于第二组的 16.8，说明，在没有标准参考图的情况下，各研究人员得出的结果差异较大。可见，建立一套统一的标准参考图谱对于提高判定结果的准确性具有重要的意义，而且还有利于不同试验结果间的比较。

3.3 彩色图谱

27 名晚疫病研究人员共同对以下 15 张图片的感病情况进行了讨论式的评判，得出了统一的感病百分比(图 3)，希望能够为晚疫病调查的标准化提供一定的参考。



5%



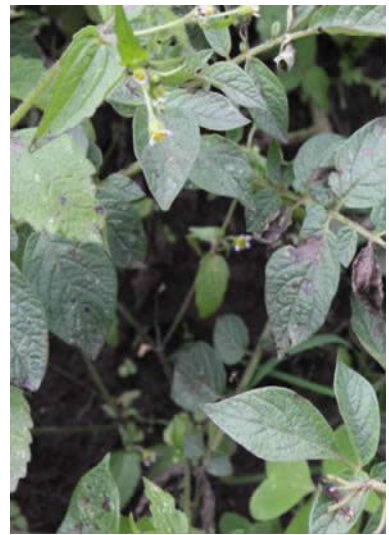
10%



15%



15%



15%



20%



30%



图 3 晚疫病感病彩色标准图
Figure 3 Colorful standard diagram of late blight severity

表 3 有标准参考图谱的专业人员评判结果
Table 3 Results from the group using a standard diagram

图片编号 Code of photo	评判人数 No. of participant	准确值 (%) Accurate value	平均值 (%) Average	标准差 (%) SD	最大值 (%) Max	最小值 (%) Min	最大-最小 (%) Max-Min
1	13	15	19.0	10.6	40	5	35
2	13	70	73.5	24.2	90	20	70
3	13	5	13.9	11.9	50	3	47
4	13	20	20.7	9.6	40	5	35
5	13	95	92.3	6.0	100	80	20
6	13	15	21.6	14.0	50	6	44
7	13	80	79.6	8.3	90	60	30
8	13	95	88.9	8.7	100	70	30
9	13	30	30.5	24.7	85	7	78
10	12	90	88.3	10.9	100	65	35
11	13	50	54.6	14.6	75	20	55
12	13	15	18.9	15.1	50	3	47
13	13	95	94.2	4.5	100	85	15
14	13	75	70.0	13.2	85	50	35
15	13	10	15.1	9.1	40	3	37

表 4 无标准参考图谱的专业人员评判结果
Table 4 Results from the group not using a standard diagram

图片编号 Code of photo	评判人数 No. of participant	准确值 (%) Accurate value	平均值 (%) Average	标准差 (%) SD	最大值 (%) Max	最小值 (%) Min	最大-最小 (%) Max-Min
1	14	15	14.3	8.1	30	5	25
2	14	70	55.6	20.7	89	5	84
3	14	5	13.9	17.6	70	2	68
4	14	20	27.5	24.6	100	5	95
5	14	95	86.9	11.2	95	50	45
6	14	15	21.9	22.6	90	5	85
7	14	80	67.2	25.9	100	10	90
8	14	95	85.3	22.1	95	9	86
9	13	30	18.0	10.1	40	2	38
10	14	90	79.0	18.8	95	20	75
11	14	50	35.7	15.5	80	20	60
12	14	15	23.4	29.4	100	3	97
13	14	95	94.2	5.4	100	80	20
14	14	75	65.1	13.5	90	50	40
15	14	10	10.0	6.1	21	1	20

4 病情发展曲线下面积(AUDPC)

4.1 描述

由于晚疫病是多循环的病害，在同一生长季晚疫病病菌可以多次繁殖多次侵染植株。可运用病情发展曲线下面积(AUDPC)^[11]来评估植株的感病性。AUDPC 是在病害流行时期，通过估测叶片感染率，来计算抗性的手段^[12]。AUDPC 是一个变量，用于估计出在实际感病曲线下的面积。用一段时间内感染率的百分比值(%)来表示(即，每天感染百分比值的累积)。可直接用来阐释试验，不需要数据转换。AUDPC 越高，材料或品种对晚疫病的敏感性越高。通过绘出评估日期对应的感染的叶面积百分比，计算出 AUDPC，帮助我们更好的了解育种材料或品种在试验中表现(图 4)。

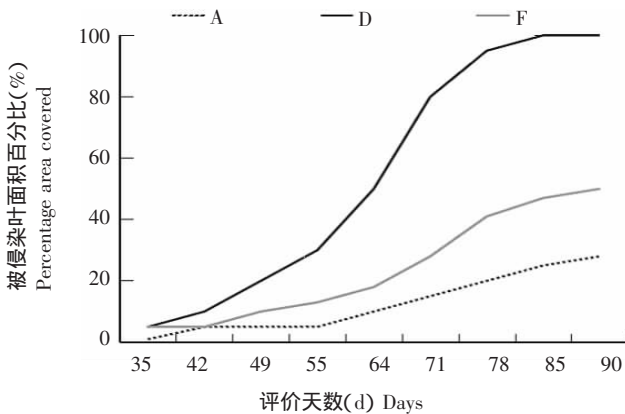


图 4 3 个马铃薯品系的病害严重程度曲线

Figure 4 Disease severity curves of three potato clones

步骤1：按照记录天数，对应输入 5 个材料的评价数据。

	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	X
5	Identification											AUDPC	
6	Days after planting :			42	49	55	64	71	78	85			
7	CLONE1			1	5	10	15	15	20	30			
8	CLONE2			0	5	10	20	30	40	50			
9	CLONE3			3	15	30	40	60	90	90			
10	CLONE4			5	10	25	50	65	85	100			
11	CLONE5			5	20	35	50	70	85	85			

步骤 2：在单元格 N7 中输入下列公式，计算结果对应材料 1 的 AUDPC。

$$\text{Area} = ((G7+F7)/2)*(\$G\$6-\$F\$6)+((H7+G7)/2)*(\$H\$6-\$G\$6)+((I7+H7)/2)*(\$I\$6-\$H\$6)+((J7+I7)/2)*(\$J\$6-\$I\$6)+((K7+J7)/2)*(\$K\$6-\$J\$6)+((L7+K7)/2)*(\$L\$6-\$K\$6)$$

AUDPC 通常用以下公式计算^[13]

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

t 表示每次读数的时间； y 表示每次读数时被感染叶片的百分比； n 表示读数次数。变量 t 表示种植后或出苗后的天数。

图5 是方程式的图示，可看出AUDPC 是梯形区域的总和。

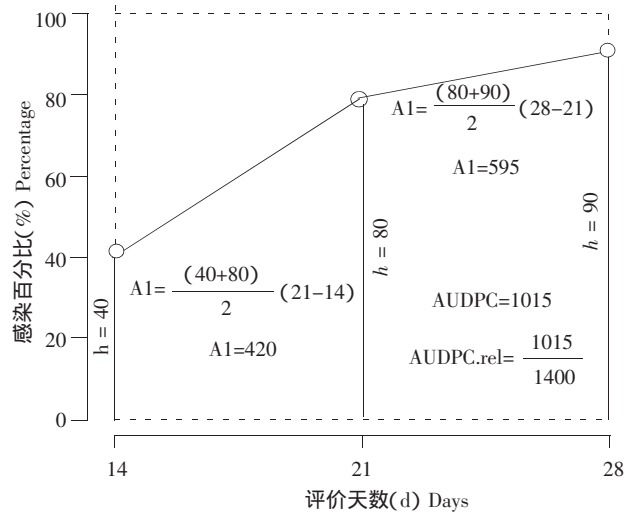


图 5 AUDPC 的图形表示

Figure 5 Graphic representation of the AUDPC

4.2 用 Microsoft Excel 计算 AUDPC

AUDPC 可使用统计分析或者制表软件来计算。

下面是一个用 Excel 计算的实例：

The screenshot shows an Excel spreadsheet with the following data in rows 5-11:

	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	AC
5	Identification											AUDPC	
6	Days after planting :			42	49	55	64	71	78	85			
7	CLONE1			1	5	10	15	15	20	30		581	
8	CLONE2			0	5	10	20	30	40	50			
9	CLONE3			3	15	30	40	60	90	90			
10	CLONE4			5	10	25	50	65	85	100			
11	CLONE5			5	20	35	50	70	85	85			

The formula bar for cell N7 shows: $=((G7+F7)/2)*($G$6-$F$6)+((H7+G7)/2)*($H$6-$G$6)+((I7+H7)/2)*($I$6-$H$6)+((J7+I7)/2)*($J$6-$I$6)+((K7+J7)/2)*($K$6-$J$6)+((L7+K7)/2)*($L$6-$K$6)$

步骤 3：按 Enter 键，单元格 N7 中出现 581。

This screenshot is identical to the previous one, showing the calculation of 581 for Clone 1 in cell N7.

步骤 4：将 N7 中公式填充到 N8 到 N11 单元格中。

The screenshot shows the spreadsheet after the formula has been filled down to rows 8-11. The AUDPC values are now 581, 933, 2018, 2070, and 2193 respectively.

	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	AC
5	Identification											AUDPC	
6	Days after planting :			42	49	55	64	71	78	85			
7	CLONE1			1	5	10	15	15	20	30		581	
8	CLONE2			0	5	10	20	30	40	50		933	
9	CLONE3			3	15	30	40	60	90	90		2018	
10	CLONE4			5	10	25	50	65	85	100		2070	
11	CLONE5			5	20	35	50	70	85	85		2193	

4.3 存在的问题

4.3.1 读数时机

问题：AUDPC 是一种粗略的判断，允许读数间隔有所不同。然而，如果病害发生后间隔太长时间才读数，AUDPC 会出现偏差。在这种情况下，易感材料的部分病害发展曲线将不会被考虑

到AUDPC 内。

同样，如果在易感植株达到高病害水平后很长时间才读数，AUDPC 也是有偏差的。当出现这种情况，抗性材料和易感材料的差别就可能被低估。

解决方法：在病害发生初始就开始读数是重要的。

通常,当易感材料感染非常严重时,最好不要读数。这时有可能会计算出错误的AUDPC,因为,有时虽然包含了所有的材料,但却减少了读数的次数,有时虽然包含了足够的读数次数,但却把最易感的材料排除在外。

4.3.2 处理病害在田间分布不均一的问题

问题: AUDPC对田间分布不均一的病害反应不敏感。

解决: 通过试验设计来控制这种类型的误差。

问题: 出现了不利的环境条件,遏制了病害的良好发展。

解决: 用于AUDPC计算的读数要经过认真挑选。例如,当干燥的天气使病害的传播突然中止时,第一次读数不用于AUDPC计算。

4.3.3 处理试验之间的不可比性

问题: AUDPC在不同试验间是不可比的。

解决: 为了使AUDPC标准化,研究人员通常使用相对AUDPC。相对AUDPC(AUDPC.reI)是用AUDPC除以最大潜在AUDPC计算出来的。简单来讲,最大潜在AUDPC指品系或品种感染率为100%时的AUDPC值。最大AUDPC指图5中的虚线部分,用第一次和最后一次读数之间间隔的天数乘以100即可计算得出。

5 结 语

本文对马铃薯晚疫病发病程度的3种描述方法,病情指数法、CIP 9级分级法和感病百分数法以及抗性评估法—AUDPC法进行了介绍。通过对专业人员在有无标准图谱参照情况下,对不同马铃薯晚疫病发病图片评估的结果进行分析,表明,利用标准图谱作参照能显著提高专业人员对晚疫病发病程度评判的准确性。在27名研究人员的共同讨论下,得出了一套标准的彩色图谱,以期可以为晚疫病评估工作提供更为直观的参考,提高对晚疫病评估的准确性。增强研究间的可比性,利于不同结果间的比较分析,对我国晚疫病研究有着重要的现实意义。

[致 谢]

感谢国际马铃薯中心亚太中心(CCCAP)举办

的2011年马铃薯晚疫病研讨会,为全国马铃薯晚疫病科研工作者提供了一个相互交流的平台。感谢参与晚疫病发病程度标准评判调查的其他参会人员,他们是:白江平、车兴壁、单卫星、郭梅、何天久、胡艳梅、蒋代清、李灿辉、李周、刘波微、娄树宝、孟然然、闵凡祥、潘哲超、石瑛、宿飞飞、孙峰、田振东、汪晓雯、轩辕国超、杨艳丽、杨志辉、詹家绥、张红志、张雅凤、赵志坚、朱杰华和朱小琼。

[参 考 文 献]

- [1] 郭成瑾,张丽荣,沈瑞清,等. 几种进口杀菌剂对马铃薯晚疫病防治效果的研究[J]. 中国马铃薯, 2009, 23(1): 26-27.
- [2] 李汝刚,宋伯符. 马铃薯抗晚疫病研究[J]. 马铃薯杂志, 1997, 11(4): 243-250.
- [3] 娄树宝. 马铃薯晚疫病菌抗药性研究现状[J]. 黑龙江农业科学, 2010(7): 165-168.
- [4] 孙忠科,牛畅,杨淑慎. 马铃薯晚疫病研究[J]. 生命科学研究, 2006, 10(2): 71-75.
- [5] 曹静,客绍英. 马铃薯晚疫病流行病学及防治方法研究进展[J]. 中国马铃薯, 2006, 19(1): 33-36.
- [6] 先平,何云昆,赵志坚,等. 马铃薯抗晚疫病育种研究进展[J]. 2001, 15(5): 290-295.
- [7] 中华人民共和国国家标准 GB / T 17980-34-2000: 农药—田间药效试验准则(一)—杀菌剂防治马铃薯晚疫病[M]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
- [8] Horsfall F G, Barratt R W. An improved grading system for measuring plant diseases [J]. Phytopathology, 1945, 35: 655.
- [9] James C. A manual of assessment keys for plant diseases [M]. Publication No. 1458. Canada Department of Agriculture, 1971.
- [10] Cruickshank G, Stewart H E, Wastie R L. An illustrated assessment key for foliage blight of potatoes [J]. Potato Research, 1982, 25: 213-214.
- [11] Bonierbale M, Stef de Haan S D, Forbes A. An international cooperators' guide: Procedures for standard evaluation trials of advanced potato clones [M]. International Potato Center (CIP), 2007.
- [12] Fry W E. Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of late blight [J]. Phytopathology, 1978, 68: 1650-1655.
- [13] Campbell C L, Madden L V. Introduction to plant disease epidemiology [M]. New York: John Wiley, 1990.