

中图分类号：S532 文献标识码：B 文章编号：1672-3635(2012)01-0049-03

马铃薯黑痣病的研究进展

陈万利*

(黑龙江省生物防治实验站, 黑龙江 哈尔滨 150090)

摘要：目前马铃薯在我国的种植面积越来越大，但其产量和品质受病害影响严重。其中黑痣病对马铃薯的危害很大，黑痣病的病原菌为立枯丝核菌，作为一种土传病害，它一旦在土壤中固定繁殖就会变的很难根除，严重影响着马铃薯的生长及块茎产量和质量。对于黑痣病的防治目前人们还是主要采取适宜田间农艺措施、化学药剂以及生物防菌剂等方法，而通过基因工程改良马铃薯对立枯丝核菌的抗性的研究也越来越多，并且已经有研究者证实了转几丁质酶基因马铃薯植株对立枯丝核菌具有一定抗性，所以基因工程技术在增强马铃薯抗立枯丝核菌核病方面的应用被认为是可行的。

关键词：马铃薯；黑痣病；防治；基因工程

Research Progress of Black Scurf in Potatoes

CHEN Wanli*

(Heilongjiang Biological Control Experimental Station, Harbin, Heilongjiang 150090, China)

Abstract: The planting area of potatoes is increasing, but the yield and quality are limited by potato diseases in China. Black scurf, caused by *Rhizoctonia solani* Kühn, is soil borne disease. Once it establishes in soil, it is hard to eradicate it, effecting the potato growth, yield and quality badly. So far, the dominant methods to control the disease are still by using agronomic measures, chemicals and biological agents. However, now more and more methods are involved using the genetic engineering techniques to improve the potato crop for its resistance to *R. solani*. Some researchers have proved that the potato plants transferred with chitinase gene has some resistance to *R. solani*. So genetic engineering technique may be a useful tool for increasing the resistance of potato plants to *R. solani*.

Key Words: potato; *Rhizoctonia solani*; control; genetic engineering

马铃薯黑痣病，又称立枯丝核菌病、茎基腐病、丝核菌溃疡病、黑色粗皮病，是一种土传性病害。通过寄生在块茎和土壤中越冬，在土壤中它可以存活 2~3 年^[1]，翌年春季，在适宜的温度、湿度环境条件下，侵入马铃薯植株体内危害其生长发育。该病已经在我国各地区出现了不同程度的发生，尤其是在北方地区，黑龙江、吉林、辽宁以及内蒙古西部等地区，病害发生严重，重症田块植株发病率达到 70%~80%^[2]。所以对于马铃薯黑痣病病原菌、传播途径和防治方法的研究变得尤为重要。

1 黑痣病的简介

黑痣病的病原菌为立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kühn)，属于真菌界半知菌亚门丝核菌属。其初生菌丝是无色的，直径在 4.98~8.71 μm 之间，分枝呈直角或近直角，分枝处大多有缢缩，并在附近生有一隔膜。新分枝菌丝逐渐变为褐色，变粗短后纠结成菌核。菌核初白色，后变为淡褐色或深褐色，大小 0.5~5.0 mm，多数为 0.5~2.0 mm。菌丝生长温度最低为 4℃，最适为 23℃，最高为 32℃~33℃，34℃时停止生长。菌核形成的最适温度 23℃~28℃^[3]。

收稿日期：2011-11-10

作者简介：陈万利(1978-)，男，农艺师，主要从事植物病害防治工作。

*通信作者(Corresponding author)：E-mail: chenwanli2008@163.com。

立枯丝核菌是根据其分离物与已确立的融合群(Anastomosis groups, AGs)测验菌株之两性菌丝融合能力来分类, 根据分离之间是否发生菌丝融合这一受遗传基因控制的性状为依据进行分群。迄今为止, 立枯丝核菌的融合群已增至 12 个, 而融合亚群至少已有 18 个^[4]。

有数据表明, AG-3 能引起马铃薯的黑胫病、茎或匍匐茎的溃烂; AG-4 能引起马铃薯植株枯萎和茎的溃烂; AG-5 能引起马铃薯黑痣病; 而 AG-9 对于马铃薯也是一种弱致病菌^[5]。

Scholte 等^[6]就认为, *R. solani*(AG-3)是一种土壤生细菌, 能够引起马铃薯茎和匍匐茎腐烂以及黑痣病的发生, 其寄主范围很小, 但是它可以从中通过马铃薯的生长动态转移至植株体内寄生。Virgen 等^[7]人报道, 来自墨西哥 15 个地点的取样调查得出, AG-3 和 AG-4 的发生率分别为 73.5%和 26.5%, 且 AG-4 只在马铃薯植株生长的花期被发现, 而 AG-3 却存在于其生长的各个时期。田晓燕等^[8]在所用试验菌株中通过载玻片定位融合法判别与判定, 认为马铃薯黑痣病原菌立枯丝核菌菌丝融合群有 AG-3 和 AG-1- B。

2 马铃薯黑痣病的防治

在我国, 黑痣病最早是 1922 年和 1932 年分别于台湾省和广东省发现, 目前它的分布已经相当普遍^[9]。近年来马铃薯的产业发展迅速, 随之而来其种植面积也逐年上升, 所以导致重茬问题严重, 黑痣病发生变得普遍, 一般年份即可造成马铃薯减产 15%左右, 个别年份可达到毁灭全田, 严重影响着马铃薯的产量与品质, 阻碍了马铃薯产业的发展^[10]。

对于马铃薯黑痣病的防治, 国内外尝试并运用了很多方法。目前还是主要通过科学的田间农艺措施以严格控制侵染源和阻断侵染循环, 使用化学药剂和生物防菌剂的方法进行生长期预防和控制, 或者通过生物因子或非生物因子诱导马铃薯块茎对立枯丝核菌的抗性等。

Lootsma 等^[11]对通过土壤消毒与收获方式对翌年马铃薯黑痣病发生情况的研究发现, 土壤用戊菌隆消毒能够减轻立枯丝核菌的侵染, 而收获方式的效果则主要取决于未成熟马铃薯收获期的土壤污染程度, 相对而言采用未成熟收获方式可降

低第 2 年病害指数, 尤其当植株碎屑混入土壤时更为明显。

1984 和 1987 两年, 李乾坤等^[12]在甘肃农业大学校内试验地进行了药剂防治试验, 结果表明多菌灵、福美双、福尔马林药液浸种均有较好的防病效果, 防效分别达到 75.45%、77.35%、83.01%。刘宝玉等^[13]用 5 种杀菌剂对马铃薯黑痣病的病菌毒力及田间防效进行测定, 发现啞菌酯、噻氟菌胺、百菌清、抑霉唑沟施和拌种对地中茎防病效果均在 83%以上。沟施抑霉唑、沟施和拌种啞菌酯、沟施百菌清对预防因病造成植株死亡效果均较好, 防效分别为 71.6%、69.3%、67.4%、67.3%; 而啞菌酯预防薯块带菌效果最好, 沟施和拌种防病效果分别达到 90.7%和 86%。

高苇等^[14]考察了从平菇栽培料上分离到的污染木霉(*Trichoderma* spp.)对黄瓜立枯丝核菌的拮抗作用, 并从中筛选出绿色木霉 TH4 具有较强的抑制作用。通过显微镜观察证明 TH4 可以侵入到病原菌的菌丝内, 使病原菌的细胞壁变薄、消解, 最终导致菌丝断裂。

蒋继志等^[15]对一些非生物因子诱导马铃薯块茎抗立枯丝核菌病的效果研究发现, 经过温度 35℃保持 4 h; 紫外线($\lambda=230\sim 265\text{ nm}$)垂直高度为 30 cm 时, 照射 15 min; pH = 5 缓冲溶液 20 min; 质量分数为 0.01% 氯化钾 120 min; 48 h 连续黑暗等非生物因子单独处理后, 均可显著增强马铃薯块茎对立枯丝核菌侵染的抵抗能力。

对于马铃薯黑痣病的防治, 目前研究均表明单一方法是不可能彻底有效的, 我们不仅需要采取多种方法、多方面防治措施综合运用, 还要对病原菌本身加以充分了解, 掌握其病害生物学原理和发生规律, 以便于对症下药, 达到有效的预防和控制目的。

3 黑痣病基因工程研究

目前国内外专家对通过基因工程改良马铃薯对立枯丝核菌的抗性的研究越来越多。肖勇等^[16]根据 *Thanatephorus cucumeris* G 蛋白 β 亚基序列设计引物, 对水稻立枯丝核菌 AG-1 IA 的 G 蛋白 β 亚基基因进行了克隆。马炳田等^[17]根据同源物种 G 蛋白 β 亚基相关序列设计引物, 利用 PCR 和 RT-PCR 技术克隆了大豆立枯丝核菌 G 蛋白 β 亚基的

基因序列和开放阅读框。这些基因片段的克隆和特性研究为了解植物立枯丝核菌的致病机理和有效防治奠定了基础。

Massimo 等^[18]将来自玉米中的核糖体失活蛋白(Ribosome inactivating proteins, RIPs) *b32.66* cDNA 克隆在马铃薯 *wun1* 基因启动子的控制下转入烟草中, 结果表明转化植株表达出对 *R. solani* Kühn AG4 融合群侵染的耐病性增强。Brien 等^[19]将克隆自大麦的几丁质酶、核糖体失活蛋白和葡聚糖酶基因串联后转化烟草, 研究发现转基因烟草对 AG4 和 AG8 均具有抗性。Kim 等^[20]将源自大麦的 β -1, 3-葡聚糖基因(*RCH10*)和经过修饰的玉米核糖体失活蛋白基因(*MOD1*)转入水稻中, 转化株系对 *R. solani*(AG1-1A)引起的水稻纹枯病的抗性增强。Pinger 等^[21]和Huang 等^[22]的研究均发现转 RIPs 基因烟草对 *R. solani* 具有一定抗性。Lorito 等^[23]将几丁质酶基因导入马铃薯, 转基因植株不同组织中均呈现高水平的几丁质酶表达, 表明其对立枯丝核菌也具有一定抗性。

就目前世界各国对于基因工程技术的重视程度来看, 通过转基因技术手段解决越来越严重的马铃薯黑痣病问题, 变得切实可行, 但是国内外相关研究报道很少, 国内对于利用转基因改良马铃薯抗 *R. solani* 的研究还未见成熟报道, 公共交流上尚属于空白阶段。

[参 考 文 献]

- [1] 霍茂林. 要注意防治马铃薯丝核菌病[J]. 现代农业, 1988(4): 26.
- [2] 曹春梅, 张建平, 张庆平, 等. 马铃薯黑痣病药剂防治试验[M] // 陈伊里, 屈冬玉. 马铃薯产业与粮食安全, 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2009: 354-358.
- [3] 马铃薯立枯丝核菌病. 中国农业有害生物信息系统 [B/OL]. [2011-12-25]. http://www.agripests.cn/show2_1.asp?DB=1&id=134#.
- [4] 曹春梅, 李文刚, 张建平, 等. 马铃薯黑痣病的研究现状[J]. 中国马铃薯, 2009, 23(3): 171-173.
- [5] Host range of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia* diseases arranged by anastomosis groups [M/OL]. [2011-12-25]. <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Rhizoctonia/Hostrange.html>.
- [6] Scholte K, Lootsma M. Effects of farmyard manure and green manure crops on populations of mycophagous soil fauna and *Rhizoctonia* stem canker of potato [J]. *Pedobiologia*, 1996, 39(1): 15-22.
- [7] Virgen C G, Olalde-Portugal V, Carling D E. Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* on potato in central México and potential for biological and chemical control [J]. *American Journal of Potato Research*, 2000, 77(4): 219-224.
- [8] 田晓燕, 蒙美莲, 张笑宇, 等. 马铃薯黑痣病菌菌丝融合群的鉴定[J]. 中国马铃薯, 2011, 25(5): 298-301.
- [9] 黑龙江省农业科学院马铃薯研究所. 中国马铃薯栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 1-5.
- [10] 邱广伟. 马铃薯黑痣病的发生与防治[J]. *粮食作物*, 2009(6): 133-134.
- [11] Lootsma M, Scholte K. 土壤消毒与收获方式对翌年马铃薯 *Rhizoctonia solani* 病害发生的影响[J]. *国外农学-杂粮作物*, 1997(2): 44-46.
- [12] 李乾坤, 孙顺娣, 李敏权. 马铃薯立枯丝核菌核病的研究[J]. *马铃薯杂志*, 1988, 2(2): 79-84.
- [13] 刘宝玉, 蒙美莲, 胡俊, 等. 5 种杀菌剂对马铃薯黑痣病的病菌毒力及田间防效[J]. *中国马铃薯*, 2010, 24(5): 306-310.
- [14] 高苇, 李宝聚, 孙军德, 等. 绿色木霉对黄瓜立枯丝核菌和尖孢镰刀菌的拮抗作用[J]. *中国蔬菜*, 2008(6): 9-12.
- [15] 蒋继志, 吴素玉, 赵丽坤. 非生物因子诱导马铃薯块茎对立枯丝核菌的抗性[J]. *河北大学学报(自然科学版)*, 2005, 25(2): 167-171.
- [16] 肖勇, 李双成, 初明光, 等. 水稻立枯丝核菌 G 蛋白 β 亚基基因的克隆、表达及序列分析[J]. *中国水稻科学*, 2008(5): 541-544.
- [17] 马炳田, 曲广林, 黄文娟, 等. 大豆立枯丝核菌 G 蛋白 β 亚基基因的克隆与分析[J]. *作物学报*, 2009(2): 370-374.
- [18] Massimo M, Fabio F, Virgilio B, et al. Tolerance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* AG4 of transgenic tobacco expressing the maize ribosome-inactivating protein b-32[J]. *Transgenic Research*, 1997(6): 393-402.
- [19] Brien P A O, MacNish G C, Milton N M K. Transgenic tobacco plants show different resistance to *Rhizoctonia solani* AG 4 and AG 8 [J]. *Australasian Plant Pathology*, 2001, 30: 221-225.
- [20] Kim J K, Jang I C, Wu R, et al. Co-expression of a modified maize ribosome-inactivating protein and a rice basic chitinase gene in transgenic rice plants confers enhanced resistance to sheath blight [J]. *Transgenic Research*, 2003(12): 475-484.
- [21] Pinger W, Oleg Z, Nilgun E T. Reduced toxicity and broad spectrum resistance to viral and fungal infection in transgenic plants expressing pokeweed antiviral protein II [J]. *Plant Molecular Biology*, 1998, 38: 957-964.
- [22] Huang M, Hou P, Wei Q, et al. A ribosome-inactivating protein (curcin 2) induced from *Jatropha curcas* can reduce viral and fungal infection in transgenic tobacco [J]. *Plant Growth Regulation*, 2008, 54(2): 115-123.
- [23] Lorito M, Woo S L, Fernandez I G. Genes from mycoparasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens [J]. *USA: Proc Natl Acad Sci*, 1998, 95: 7860-7865.