

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2011)05-0298-04

病虫害防治

马铃薯黑痣病菌菌丝融合群的鉴定

田晓燕, 蒙美莲, 张笑宇, 董瑞利, 胡俊*

(内蒙古农业大学农学院, 内蒙古 呼和浩特 010019)

摘要: 从马铃薯种植区的部分县市分离纯化得到 44 个马铃薯黑痣病原菌立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kühn) 菌株, 经核相测定均为多核菌株。通过与标准菌株 AG-1- A、AG-1- B、AG-2-1、AG-2- B 和 AG-3 的菌丝融合试验, 最终将 44 个菌株分为 3 个菌丝融合群, 即 AG-3、AG-1- B 和非融合类, AG-3 和 AG-1- B 分别占测定菌株的 86.36% 和 2.27%, 非融合类占测定菌株的 11.36%。说明马铃薯黑痣病菌的优势菌群是 AG-3 融合群。通过对峙培养, 又将 AG-3 融合群的所有菌株划分为 16 个不同的营养亲和群。AG-3-5 所占测定菌株的比例最高, 为 15.79%; AG-3-1、AG-3-2 和 AG-3-8 各占测定菌株的 13.16%; AG-3-3、AG-3-4、AG-3-6、AG-3-7 和 AG-3-9 占测定菌株的 5.26%; AG-3-10、AG-3-11、AG-3-12、AG-3-13、AG-3-14、AG-3-15 和 AG-3-16 仅占测定菌株的 2.63%。

关键词: 马铃薯; 立枯丝核菌; 菌丝融合群; 营养亲和群

Identification of Anastomosis Groups of *Rhizoctonia solani* on Potato Plant

TIAN Xiaoyan, MENG Meilian, ZHANG Xiaoyu, DONG Ruili, HU Jun*

(College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, Inner Mongolia 010019, China)

Abstract: Forty-four strains of *Rhizoctonia solani* were isolated from the potato planting area of the main potato production counties and cities of different provinces. They were all the polynuclear strains. They were divided into three anastomosis groups through hypha mating with standard strains, AG-1- A, AG-1- B, AG-2-1, AG-2- B and AG-3. The frequency of AG-3 was 86.36% of all the tested strains, which indicated that AG-3 was the major anastomosis group of *R. solani* on the potato. The frequency of AG-1- B was 2.27%, and the non-fusion strains were accounting for 11.36% in frequency. Sixteen vegetative compatible groups of AG-3 strains were determined by their behaviors on PSA medium. Of these, AG-3-5 was the major vegetative compatible group (15.79% of total AG-3 anastomosis group), followed by AG-3-1, AG-3-2 and AG-3-8 (13.16%), AG-3-3, AG-3-4, AG-3-6, AG-3-7 and AG-3-9 (5.26%), and then AG-3-10, AG-3-11, AG-3-12, AG-3-13, AG-3-14, AG-3-15 and AG-3-16 (2.63%).

Key Words: potato; *Rhizoctonia solani* Kühn; anastomosis group; vegetative compatible group

马铃薯是世界第四大粮食作物, 仅次于水稻、小麦和玉米^[1]。中国是一个马铃薯生产大国, 其总产量和面积均占世界第一位。马铃薯的营养价值很高, 除含有大量淀粉、蛋白质, 还含有丰富的维生素 A 和 C 以及矿物质^[2]。近年来, 随着马铃薯产业的迅猛发展, 马铃薯种植面积逐渐扩大, 种薯调用频繁,

重迎茬问题比较普遍, 在马铃薯种植区黑痣病日趋加重, 且发病较为普遍, 一般可造成马铃薯减产 15% 左右, 个别年份可达全田毁灭^[3]。2009 年调查了内蒙古乌兰察布市马铃薯种植区, 严重的地块马铃薯黑痣病发病率高达 90%, 该病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。

收稿日期: 2011-03-29

基金项目: 国家现代马铃薯产业技术体系建设岗位专家专项(nycytx-15, gwzj-20)。

作者简介: 田晓燕(1984-), 女, 硕士, 主要从事植物病害研究。

* 通信作者(Corresponding author): 胡俊, 教授, 主要从事植物病害综合治理, E-mail: hujun6202@126.com。

马铃薯黑痣病又称“黑色粗皮病、茎溃疡病”，是一种重要的土传真菌性病害，其病原菌为立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kühn)^[4]。国际上运用菌丝融合技术将立枯丝核菌分成不同的群系/融合群(Anastomosis group 简称 AG)，许多植物病理学家又分别予以生理、生化、病理遗传等方面的研究。为了研究马铃薯黑痣病菌菌丝融合群组成、分布和亲和群的组成情况，本试验对采自不同地区的马铃薯黑痣病菌进行了菌丝融合群鉴定。

1 材料与方法

1.1 供试菌株的分离

从内蒙古自治区呼和浩特市和乌兰察布市、山西省大同市、陕西省榆林市、黑龙江省等地的马铃薯上采集具有黑痣病典型症状的新鲜病害标本，采用组织分离法，将病组织在 PDA 平板上于 25℃ 下恒温培养 48 h 后，挑取病组织周围长出的尖端菌丝，移入 PDA 平板纯化培养。将认为是立枯丝核菌的菌株通过镜检、形态学鉴定和致病性测定，确认为病原菌后保存备用。

1.2 标准菌株来源

由华南农业大学周而勋教授惠赠的 AG-1- A、AG-1- B、AG-2-1、AG-2- B、AG-3 共 5 个菌株为标准菌株。

1.3 核相测定

参照张天晓^[5]的方法，采用番红染色。将活化后的菌株接入培养皿内，在菌饼周围培养基上斜插入 4 个盖玻片。25℃ 恒温培养，待菌丝生长至盖玻片的 1/2 处时取出，经番红 O-KOH 染色 1~2 min 后，在光学显微镜下观察其细胞核数目。每个菌株重复 3 皿。

1.4 菌丝融合群测定

参照陈延熙等^[6]的玻璃片对峙法，将待测菌株与标准菌株同时置于 25℃ 恒温条件下培养 48 h 后，用打孔器在菌落边缘切取直径 5 mm 的菌饼。在无菌载玻片上涂一薄层水琼脂(WA)培养基，挑取标准菌株菌饼置于玻片中央，同一待测菌株菌饼分放两侧，与标准菌株间隔 1.2~1.5 cm。将载玻片放在注有少量无菌水的无菌培养皿内，25℃ 恒温条件下培养 24 h，当两菌落前缘生长相遇并交叠 5 mm 时，镜检二者菌丝融合情况。每菌株重复 3 次。

菌丝融合群的鉴定标准如下：

- A 完全融合：接触细胞间细胞壁溶解，原生质融合，互有引诱现象；
- B 不完全融合：菌丝接触，细胞壁溶解后细胞死亡；
- C 完全不融合：细胞壁不溶解，两菌互不干扰对方，交叉而过。

1.5 营养亲和群的鉴定

将同一融合群的所有菌株，按 3 个一组，成正三角形排列接种于 PSA 培养基上。25℃ 下对峙培养 2~4 d，观察其生长情况，每组重复 3 次。根据两菌株间菌丝交会处分离带的有无判断两菌株是否亲和，无分离带的视为同一亲和群，有分离带的视为不同亲和群。通过合理组合，使同一菌株与其他各菌株间均得到对峙比较，以此对所有菌株进行亲和群判别。

2 结果与分析

2.1 供试菌株分离鉴定结果

从各地区采集的马铃薯黑痣病标样中分离出 44 个分离物，经鉴定和致病性测定，均为马铃薯黑痣病菌(表 1)。

表 1 马铃薯黑痣病菌菌株编号及其采集地点
Table 1 *R. solani* strains isolated from potatoes in different areas

菌株编号 Strain No.	采集地 Collection area
1、2、17、18、21、22、23、29、38、40、46	内蒙古乌兰察布市察右中旗
3、4、5、30	内蒙古乌兰察布市商都县
6、7、8、9、10、11、12、15	山西省大同市
16、27、36	内蒙古呼和浩特市武川县
20、25、47、48	内蒙古乌兰察布市察右后旗
24	黑龙江省加格达奇
28、42	内蒙古乌兰察布市四子王旗
31、32、33、34、35	陕西省榆林市
37	内蒙古农业大学教学农场
39	内蒙古乌兰察布市凉城县
41	内蒙古乌兰察布市丰镇县
43、44	内蒙古乌兰察布市卓资县
45	内蒙古乌兰察布市察右前旗

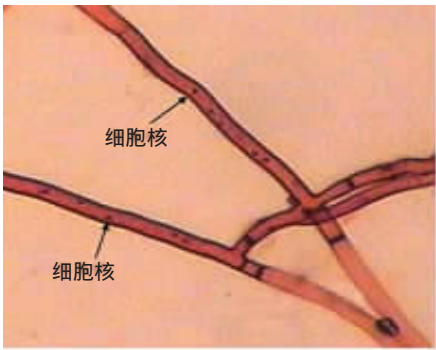


图 1 供试菌株(24 号菌)多核形态图

Figure 1 Morphologic characters of multinucleate *R. solani* strain (24th strain)



注：图中编号为供试菌株号
Note: Numbers in the figure were strain No.

图 2 供试菌株不亲和表现
Figure 2 Strains were not compatible

表 2 各融合群内不同营养亲和群出现频率
Table 2 Frequencies of anastomosis groups (AGs) and their vegetative compatibility groups (VCGs)

菌丝融合群及其营养亲和群 AGs and their VCGs	菌株号 Strain No.	营养亲和群出现频率(%) VCG's frequency	菌丝融合群出现频率(%) AG's frequency
AG-1- B	37		2.27
AG-3 AG-3-1	1、4、5、17、29	13.16	86.36
AG-3-2	7、8、9、10、38	13.16	
AG-3-3	22、30	5.26	
AG-3-4	21、23	5.26	
AG-3-5	28、31、32、33、34、35	15.79	
AG-3-6	24、47	5.26	
AG-3-7	25、36	5.26	
AG-3-8	39、40、41、42、43	13.16	
AG-3-9	44、46	5.26	
AG-3-10	3	2.63	
AG-3-11	6	2.63	
AG-3-12	11	2.63	
AG-3-13	12	2.63	
AG-3-14	15	2.63	
AG-3-15	27	2.63	
AG-3-16	45	2.63	
非融合类 NF-1 Non-fusion	2、16、18、20		11.36
非融合类 NF-2 Non-fusion	48		

2.2 核相测定结果

经细胞核染色核相鉴定结果表明，所有供试菌株均为多核，幼期营养菌丝细胞核数为 3~18 个(图 1)。

2.3 菌丝融合群测定结果

根据菌丝融合群的鉴定标准，44 个供试菌株分为 3 个类群：AG-1- B(1 个，为完全融合)；AG-3(38 个，除了 39，40，41，42，43 号为不完全

融合外，其余均为完全融合)，非融合类(5 个，为完全不融合)。结果表明 AG-3 为马铃薯种植区的优势融合群，所占比例为测定菌株的 86.36%。AG-1- B 融合群所占比例较少，仅为 2.27%(表 2)。

2.4 营养亲和群鉴定结果

经过供试菌株的合理组合、对峙培养(图 2、图 3)，结果显示：44 个菌株可被划分为 19 个不同



注：图中编号为供试菌株号

Note: Numbers in the figure were strain No.

图3 供试菌株亲和表现

Figure 3 Strains were compatible

的营养亲和群。表明了马铃薯黑痣病菌菌丝融合群下具有明显的营养亲和群的分化, 并且各亲和群出现频率差异很大。AG-3-5 出现频率最高(15.79%), AG-3-1、AG-3-2、AG-3-8 出现频率次之(13.16%), AG-3-10、AG-3-11、AG-3-12、AG-3-13、AG-3-14、AG-3-15 和 AG-3-16 出现频率最低(2.63%), 可见不同马铃薯种植区黑痣病菌菌丝融合群的优势亲和群为 AG-3-5(表 2)。

3 讨论

丝核菌是一类在自然界中广泛存在的真菌, 世界各地的耕作土壤中均有分布, 其中有许多种很容易从染病植株及土壤中分离得到。丝核菌的寄主范围极广, 根据报道丝核菌可侵染 43 科 200 余种植物。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^[7]。国内学者对我国部分作物上的立枯丝核菌融合群进行了较多的研究。彭学文等^[8]报道, 在墨西哥引起马铃薯茎基腐的立枯丝核菌的融合群为 AG-3 和 AG-4。AG-3 和 AG-4 各占 73.5%、26.5%。

本试验根据现已得到的标准菌株初步研究了不同地区马铃薯黑痣病菌融合群的鉴定分类。从不同地区马铃薯种植区采集的病样上分离获得的立枯丝核菌 44 株, 在地域、品种和耕作方法上均有一定的代表性, 基本上能反映马铃薯黑痣病发生和分布特点等实际情况。本试验通过载玻片定位融合法判别与判定, 初步确定了不同地区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 两

个, 不同菌丝融合群间在地域分布、出现频率上均有一定差异。其中 AG-3 出现频率最高, 分布最广, 是马铃薯黑痣病的优势融合群。说明马铃薯黑痣病菌在不同地区存在分化现象和优势融合群, 这一结果与彭学文等^[8]报道一致。据陈延熙等^[6]的测定结果, AG-1-B 菌株是分离自那些类似纹枯病症状的鹅观草和狗尾草上的菌株, AG-3 菌株是马铃薯茎基腐病原菌。但本试验 37 号菌是从马铃薯上分离得到, 却归入 AG-1-B 融合群, 这一点却不同于前人的研究。

本试验结果显示, 在供试的立枯丝核菌菌株中, 来源于不同地域的马铃薯黑痣病菌菌株经鉴定属于同一菌丝融合群下的同一亲和群, 如 28 号菌与 31 号、32 号等分别采自内蒙古乌兰察布市四子王旗和陕西省榆林市, 测定同属于 AG-3-5 融合群; 而来源于同一地区的马铃薯黑痣病菌却属于不同的亲和群, 如 43 号和 44 号菌虽然同采于内蒙古乌兰察布市卓资县, 却分属于 AG-3-8 和 AG-3-9 两个亲和群。这表明了引起马铃薯黑痣病的立枯丝核菌类群的复杂性, 可能与地区生态条件差异有一定关系并且在地域上具有一定的类群差异。由于融合群的标准菌株有限, 以至于 5 个菌株未被鉴定出其所在的融合类群, 有待于进一步的深入研究。本试验从总体上反映了丝核菌分布的多样性、丰富性以及融合群间关系的复杂性。

【参考文献】

- [1] 白晓东, 杜珍, 范向斌, 等. 基质对马铃薯疮痂病抑制效果研究初报[J]. 中国马铃薯, 2002, 16(6): 332-334.
- [2] 徐征. 土壤生态调控马铃薯晚疫病发生的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2006.
- [3] 邱广伟. 马铃薯黑痣病的发生与防治[J]. 粮食作物, 2009(6): 133-134.
- [4] 李乾坤, 孙顺娣, 李敏权. 马铃薯立枯丝核菌的研究[J]. 马铃薯杂志, 1998, 2(2): 79-85.
- [5] 张天晓. *Rhizoctonia solani* 菌丝融合群的研究[J]. 湖南师范学院学报, 1984(2): 69-71.
- [6] 陈延熙, 张敦华, 段霞渝, 等. 关于 *Rhizoctonia solani* 菌丝融合分类和有性世代的研究[J]. 植物病理学报, 1985, 15(3): 139-143.
- [7] Ogoshi A. Studies on the taxonomy of the genus *Rhizoctonia* [J]. Ann Phytopath Soc Japan, 1984, 50: 307-309.
- [8] 彭学文, 朱杰华. 河北省马铃薯真菌病害种类及分布[J]. 中国马铃薯, 2008, 22(1): 31-33.