

中图分类号: S532; S435.3 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2010)01-0047-03

黑龙江省马铃薯晚疫病病菌交配型的研究

闵凡祥, 王晓丹, 胡林双, 魏 琪, 董学志, 刘伟婷, 郭 梅*

(黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要: 由致病疫霉 *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary 引起的晚疫病是目前危害马铃薯生产最严重的病害之一, 明确 A2 交配型在黑龙江省的存在与否, 对晚疫病防治策略的制订具有重要的指导意义。本研究将采自黑龙江省大兴安岭、嫩江、讷河、克山、海伦、绥棱、绥化、巴彦、呼兰、哈尔滨、双城、林口、望奎的马铃薯晚疫病样品进行分离纯化得到 124 个菌株, 通过对峙培养鉴定方法进行交配型测定, 结果显示: 124 个菌株中未发现 A2 交配型菌株, 表明黑龙江省未出现马铃薯晚疫病 A2 交配型。

关键词: 马铃薯; 晚疫病; A2 交配型

Study on Mating Type of *Phytophthora infestans* on Potato in Heilongjiang Province

MIN Fanxiang, WANG Xiaodan, HU Linshuang, WEI Qi, DONG Xuezhi, LIU Weiting, GUO Mei

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

Abstract: Late blight, caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, is one of the most devastating diseases in potato production at present. Understanding whether or not there is A2 mating type of *P. infestans* in Heilongjiang is helpful for drafting a strategy for late blight control. Samples of potato late blight were collected from the various areas of Daxinganling, Nenjiang, Nehe, Keshan, Hailun, Suiling, Suihua, Bayan, Hulan, Harbin, Shuangcheng, Linkou, and Wangkui for isolation and purification in this research. Totally, 124 *P. infestans* isolates were obtained and then tested for their mating type using standard strains and dual culture method. The results indicated that all of 124 isolates were of A1 mating type, and no A2 mating type was detected in Heilongjiang province.

Key Words: potato; late blight; A2 mating type

由致病疫霉 *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary 引起的晚疫病是目前危害马铃薯生产最严重的病害之一^[1]。每年因此病的发生导致全世界损失约 170 亿美元, 我国损失约 10 亿美元^[2]。马铃薯晚疫病病菌具有 A1 和 A2 两种交配型, 一旦两种交配型同时存在, 通过异宗配合进行有性生殖, 从遗传学角度分析, 意味着马铃薯晚疫病病菌适应性和变异性将更强, 并且, 有性生殖产生卵孢子, 卵孢子能够在土壤中越冬, 成为次年主要的初侵染源。而且, 卵孢子多

集中在较低部位叶片, 从而避开杀菌剂, 且对杀菌剂也不敏感, 使得化学防治更加困难。因此, A2 交配型的出现对抗病育种和晚疫病药剂防治提出了新的挑战。黑龙江省是我国重要的马铃薯种薯、商品薯及加工原料薯的生产基地之一, 马铃薯晚疫病每年均有发生, 并造成巨大损失, 严重制约我省马铃薯产业的发展。黑龙江省一旦存在 A2 交配型, 那么对晚疫病抗病育种和晚疫病药剂防治工作将更加艰难, 其传统防治策略和方法均要作出相应的调整。

收稿日期: 2009-12-14

基金项目: 国家马铃薯产业创新体系(NCYTX-15); 黑龙江省科技攻关资助项目(GA088102)。

作者简介: 闵凡祥 (1980-), 男, 硕士, 研实, 主要从事马铃薯真菌病害研究。

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

因此,开展马铃薯晚疫病病菌 A2 交配型的研究,明确 A2 交配型在黑龙江省的存在与否,对提高黑龙江省马铃薯晚疫病抗病育种,促进马铃薯生产发展,尤其是对晚疫病防治策略和方法均具有指导意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 培养基

黑麦培养基用于马铃薯晚疫病病菌的分离培养、保存和鉴定交配型,其制备方法参考 Caten 等^[3]。

1.1.2 交配型标准菌株

A1 交配型标准菌株来自北京、A2 交配型标准菌株来自荷兰,均由中国农业科学院提供。

1.2 试验方法

1.2.1 病害标本的采集

2004~2009 年在黑龙江省各马铃薯产区,为大兴安岭、嫩江、讷河、克山、海伦、绥棱、绥化、巴彦、呼兰、哈尔滨等地的马铃薯田块采集晚疫病病叶。用消毒小刀在健康薯块上切一小口,然后在田间将病叶的单个病斑剪下并夹入薯块中,最后用吸水纸和线绳包扎好后放入纸袋中带回实验室。

1.2.2 病原菌的分离、纯化

将分离的病原菌在 18℃ 下黑暗培养 5~7 d,用灭菌水洗下孢子囊。将孢子囊悬浮液在 4℃ 下黑暗处理 1 h 促进游动孢子产生,调节游动孢子浓度至每毫升 10^3 个孢子囊,用移液枪吸取 200 μ L 游动孢子囊悬浮液均匀涂布在黑麦培养基平板上,18℃ 下黑暗培养 24 h,待游动孢子萌发出芽管后在 10 × 40 倍显微镜下用消毒解剖刀挑取单个萌发的孢子至黑麦培养基平板上,5~7 d 后即可在平板上形成小菌落,挑取菌落边缘菌丝块转移至黑麦培养基斜面上培养保存待试。

1.2.3 交配型的鉴定

采用对峙培养技术鉴定各菌株的交配型。将标准菌株和待测菌株分别预培养,然后取待测菌株的菌丝块单独培养及分别与 A1 和 A2 标准菌株对峙培养,菌丝块之间距离 1.5 cm。在 18℃ 黑暗条件下培养 2 周后,在显微镜下观察各待测菌株单独培养及与标准菌株的菌落交界处是否产生卵孢子。若待测菌株单独培养能产生卵孢子,说明该菌株自交可育;若单独培养和与 A2 配对不产生卵孢子,与 A1 配对产生卵孢子,说明该菌株为 A2 交配型。

2 结果与分析

2004~2009 年对采集的病菌,进行分离和单孢纯化后,最后获得 124 个菌株,其中:克山 14 个;海伦 11 个;讷河 3 个;大兴安岭 2 个;哈尔滨 35 个;呼兰 7 个;双城 4 个;绥化 13 个;巴彦 13 个;绥棱 8 个;望奎 5 个;林口 5 个;嫩江 4 个。研究表明,所测试的 124 个菌株单独培养均未观察到产生卵孢子,说明在这些菌株中不存在自交可育的菌株。此外,这些菌株与 A1 标准菌株配对也未观察到卵孢子产生,而与 A2 配对在菌落交界处均产生了大量卵孢子,说明在测试的 124 个菌株中没有 A2 交配型,均为 A1 交配型(表 1,图 1、2)。

表 1 2004~2009 年黑龙江省马铃薯晚疫病病菌交配型的鉴定
Table 1 Identification of mating type of *P. infestans* isolates collected from Heilongjiang Province from 2004 to 2009

采集年代 Year	采集地点 Site	菌株数 Isolate number	交配型 Mating type	
			A1	A2
2004	哈尔滨	4	4	0
	克山	4	4	0
2005	哈尔滨	8	8	0
	呼兰	3	3	0
	双城	4	4	0
	绥化	4	4	0
	克山	5	5	0
	大兴安岭	2	2	0
	海伦	2	2	0
2006	哈尔滨	3	3	0
	巴彦	8	8	0
	呼兰	4	4	0
	克山	2	2	0
	望奎	2	2	0
2007	哈尔滨	5	5	0
2008	哈尔滨	10	10	0
	绥化	5	5	0
	绥棱	5	5	0
	林口	5	5	0
	巴彦	5	5	0
	海伦	5	5	0
	克山	3	5	0
2009	哈尔滨	5	5	0
	绥化	4	4	0
	绥棱	3	3	0
	海伦	4	4	0
	望奎	3	3	0
	嫩江	4	4	0
	讷河	3	3	0

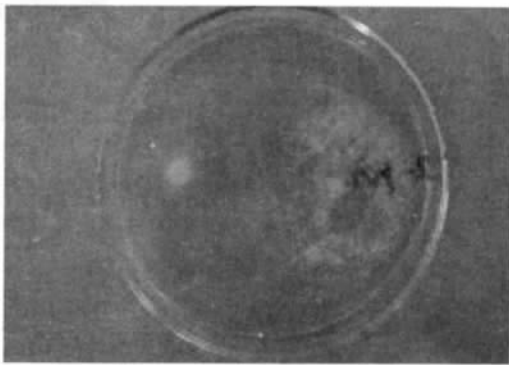


图1 对峙培养
Figure 1 Dual culture

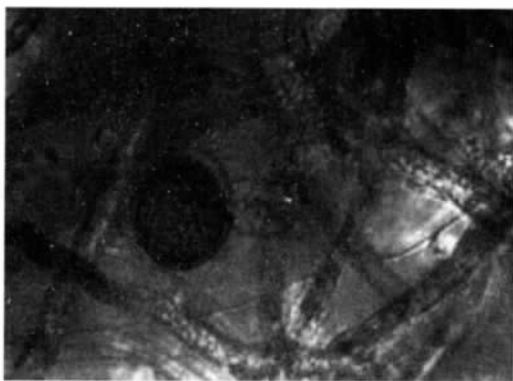


图2 对峙培养产生卵孢子
Figure 2 Oospores formation in dual culture

3 讨 论

晚疫病菌属于异宗配合卵菌, 其交配型有 A1 和 A2 两种, A1 交配型存在历史较久, A2 交配型直到 1956 年才在墨西哥被发现^[4]。1984 年, 晚疫病菌 A2 交配型在瑞士被报道^[5], 这是 A2 首次出现在墨西哥以外的地方。自此不断有国家报告 A2 交配型的出现, 到目前为止, A2 交配型已传播至欧洲、非洲、亚洲等许多国家^[6-7]。中国是否受到 A2 交配型的侵入一直是国内外学术界十分关注的问题, 河北农业大学张志铭教授等^[8]1995 年从内蒙古和山西分离到了 *P. infestans* A2 交配型。1999 年赵志坚等^[9]在云南省发现马铃薯晚疫病菌 A2 交配型。2000 年朱杰华等^[10]报道了我国的河北、内蒙、四川、云南均存在马铃薯晚疫病菌 A2 交配型, 并推断在我国马铃薯主产区可能已普遍存在 A2 交配型。黑龙江省是

否具有 A2 交配型, 金光辉等^[11]对黑龙江省马铃薯晚疫病菌的交配型进行研究, 研究显示黑龙江省还没有发现 A2 交配型, 但据其研究马铃薯晚疫病生理小种结果显示, 黑龙江省马铃薯生理小种由简单到复杂, 因此, 推断很可能存在 A2 交配型。

本研究集中 2004~2009 年采集菌株, 对黑龙江省 A2 交配型进行研究, 研究表明, 至今还未发现马铃薯 A2 交配型。因此防治马铃薯晚疫病重点将是防止晚疫病菌 A2 交配型的侵入, 加强植物检疫工作, 严格禁止从已发现 A2 交配型的疫区调入种薯, 继续对全省马铃薯产区进行 A2 交配型的监测。

[参 考 文 献]

- [1] 宋伯符, 王军, 张志铭, 等. 我国马铃薯晚疫病的研究进展和建议[J]. 马铃薯杂志, 1996, 10(3):138-141.
- [2] Fry W E, Goodwin S B. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways and implications [J]. Plant Disease, 1993, 77:653-661.
- [3] Caten C E, Jinks L L. Spontaneous variability of *Phytophthora infestans*. I. cultural variation [J]. Can J Bot, 1968, 46:329-348.
- [4] Niederhauser J S. The blight, the blighter, and the blighted [J]. Transactions of the New York Academy of Science, 1956, 19: 55-63.
- [5] Zhang Z M, Li Y Q, Tian S M, et al. The occurrence of potato late blight pathogen (*Phytophthora infestans*) A2 mating type in China [J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 1996, 19 (4):62-66.
- [6] Dehal K L, Goth R W, Young R. Occurrence of the A2 mating-type of *Phytophthora infestans* in potato fields in the United States and Canada [J]. American Potato Journal, 1991, 68:717-725.
- [7] Mosa A A, Kato M, Kobayashi N K, et al. Occurrence of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* on potato in Japan [J]. Phytopath Soc Japan, 1989, 55:615-620.
- [8] 张志铭, 李玉琴, 田世民. 中国发现马铃薯晚疫病菌(*Phytophthora infestans*)A2 交配型[J]. 河北农业大学学报, 1996, 16(4): 63-65.
- [9] 赵志坚, 何云昆, 李成云, 等. 云南省发现马铃薯晚疫病菌 (*Phytophthora infestans*)A2 交配型[J]. 西南农业学报, 1999, 12 (3):1-3.
- [10] 朱杰华, 张志铭, 李玉琴. 马铃薯晚疫病菌(*Phytophthora infestans*)A2 交配型的分布[J]. 植物病理学报, 2000, 30(4):375.
- [11] 金光辉, 白雅梅, 孙秀梅, 等. 黑龙江省马铃薯晚疫病菌 A2 交配型的测定[J]. 中国马铃薯, 2006, 20(4):212-214.