

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2008)05-0288-03

贵州省六盘水市马铃薯青枯病病原菌的初步研究

李映¹, 卢瑶², 胡秋龄²

(1. 六盘水市科技局, 贵州 六盘水 553001; 六盘水市农业局, 贵州 六盘水 553001)

摘要: 马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是贵州省六盘水市第三大粮食作物, 具有重要的经济地位。由茄科雷尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*) 引起的马铃薯青枯病 (Bacterial wilt) 是一种世界性病害, 是马铃薯生产中继晚疫病之后第二个最主要的限制性病害。本试验通过对贵州省六盘水市的马铃薯青枯病病原菌的生理小种及生化变种进行调查, 为六盘水市马铃薯的抗病育种、引种栽培及青枯病的综合防治提供参考价值。结果表明, 生理小种 3 号 (生化变种 2 号) 为优势小种, 但生理小种 1 号 (生化变种 3 号)、生理小种 3 号 (生化变种 2 号) 在本地区普遍流行, 且两个生理小种分布无明显的地域特征, 在海拔高度上亦无差异。

关键词: 马铃薯; 青枯病; 病原菌

由茄科雷尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*) 引起的马铃薯青枯病在贵州省六盘水市是影响马铃薯生产的限制性病害之一, 其损失仅次于晚疫病。1985 年青枯病就开始在水城木柯和纸厂、六枝堕脚和朗节坝等地发生^[1]。据 2001 年至 2003 年的不完全统计, 六盘水市各地马铃薯均受到青枯病危害, 在马铃薯生长期地块一般发病率 5%~20%, 严重地块达到 30% 以上。在贮藏过程中由于青枯病病原菌的潜伏浸染, 带菌块茎在贮藏期间继续扩大危害, 严重感病的块茎完全腐烂, 既不能食用又不能作为饲料的贮藏损失达到 10% 左右。

目前, 生产上对马铃薯青枯病还没有有效的药剂防治。采用轮作有一定效果, 但受制于耕地数量和作物种植制度等因素, 没有解决根本问题^[2]。

由于马铃薯对青枯菌的抗性受植物、病原和环境互作的影响, 具有高度的小种特异性, 在一定程度上是对环境适应性的表现^[3]。马铃薯品种和种质资源对青枯病不同小种以至于同一小种不同菌系的抗病性是有差异的。因此, 进行青枯菌菌系的研究, 对于六盘水市马铃薯的抗病育种、引种栽培及综合防治就显得十分必要。

收稿日期: 2008-05-07

作者简介: 李映 (1972-), 男, 科长, 主要从事农业技术推广工作。

2 材料与方法

2.1 病原菌的收集

在六盘水市范围内不同区域、不同海拔高度种植马铃薯的区域对病株或染病块茎进行病原菌 (病薯或病株) 的收集, 共收集了 38 个调查点, 每个调查点取 3 个病原菌 (病薯或病株) 样品, 制作菌悬液以备鉴定。

2.2 病原菌的分离

病原菌的分离采用专化培养基 TZC 分离的办法^[4]。

TZC (2, 3, 5-氯化三苯基四唑氮) 母液配制: 溶解 1g TZC 于 100 mL 蒸馏水中, 装于有塞的棕色瓶中, 高压灭菌 8 min, 贮于冰箱中备用。病原菌分离基本培养基配方见表 1。

表 1 青枯菌分离培养基

药品	用量
葡萄糖*	10 g
水解酪蛋白氨基酸	1.0 g
蛋白胨	10 g
琼脂	18 g
蒸馏水	1 000 mL

注: * 对于生化变种 3 号, 减少至 2.5 g 效果更好。

1 L 基本培养基加入 5 mL TZC 母液, 使 TZC 的终浓度达到 0.005%(W/V)。利用直径 90 mm 的培养皿, 每皿倒入 20 mL 培养基, 凝固后倒置存放 1~2 d, 使表面干燥。将感病薯块(茎)洗净, 切碎, 在无菌水中浸泡 20 min, 吸取 200 μ L 悬浮液涂皿, 划线接种。接种后在 30 $^{\circ}$ C 条件下培养 48 h, 即可得到青枯菌单菌落。

2.3 培养与扩繁

挑取典型青枯菌单菌落。采用划线接种方法, 在繁殖培养基上进行扩繁。繁殖培养基为前述分离基本培养基(不含 TZC), 培养条件与病原菌分离相同。

2.4 病原菌鉴定

鉴定培养基配制见表 2。用 40%(W/V)NaOH 溶液调节 pH 值至 7.0~7.1, 加热搅拌以溶解琼脂, 然后按 20 mL 分装, 121 $^{\circ}$ C 灭菌 20 min。生化变种根据病原菌对糖、醇的氧化反应所产生的颜色变化按表 3 确定, 根据何礼远等的方法^[5], 利用生化变种类型可推断其生理小种(表 4)。

表 2 青枯菌生化变种鉴定培养基

药品	用量
NH ₄ H ₂ PO ₄	1.0 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2 g
KCl	0.2 g
溴麝香草酚蓝	0.03 g
蛋白胨	1.0 g
琼脂	3.0 g
蒸馏水	1 000 mL

表 3 青枯菌生化变种鉴定

生理学鉴定	生化变种				
	1	2	3	4	5
乳糖	-	+	+	-	+
麦芽糖	-	+	+	-	+
甘露醇	-	-	+	+	+
山梨醇	-	-	+	+	-

表 4 青枯菌生理小种推断

生理小种	寄主范围	生化变种
1	许多茄科作物, 二倍体香蕉	1、3 或 4
2	三倍体香蕉, 某些海里康(heliconia)	1 或 3
3	马铃薯, 番茄, 很少其它寄主	2
4	桑树	5

准备 10% 的 2 种二碳糖和 2 种乙醇溶液, 过滤灭菌, 当基本培养基冷却至 60 $^{\circ}$ C 时分别加入。每处理(即不同糖、醇溶液)装 3 管, 另一管对照加入无菌水。

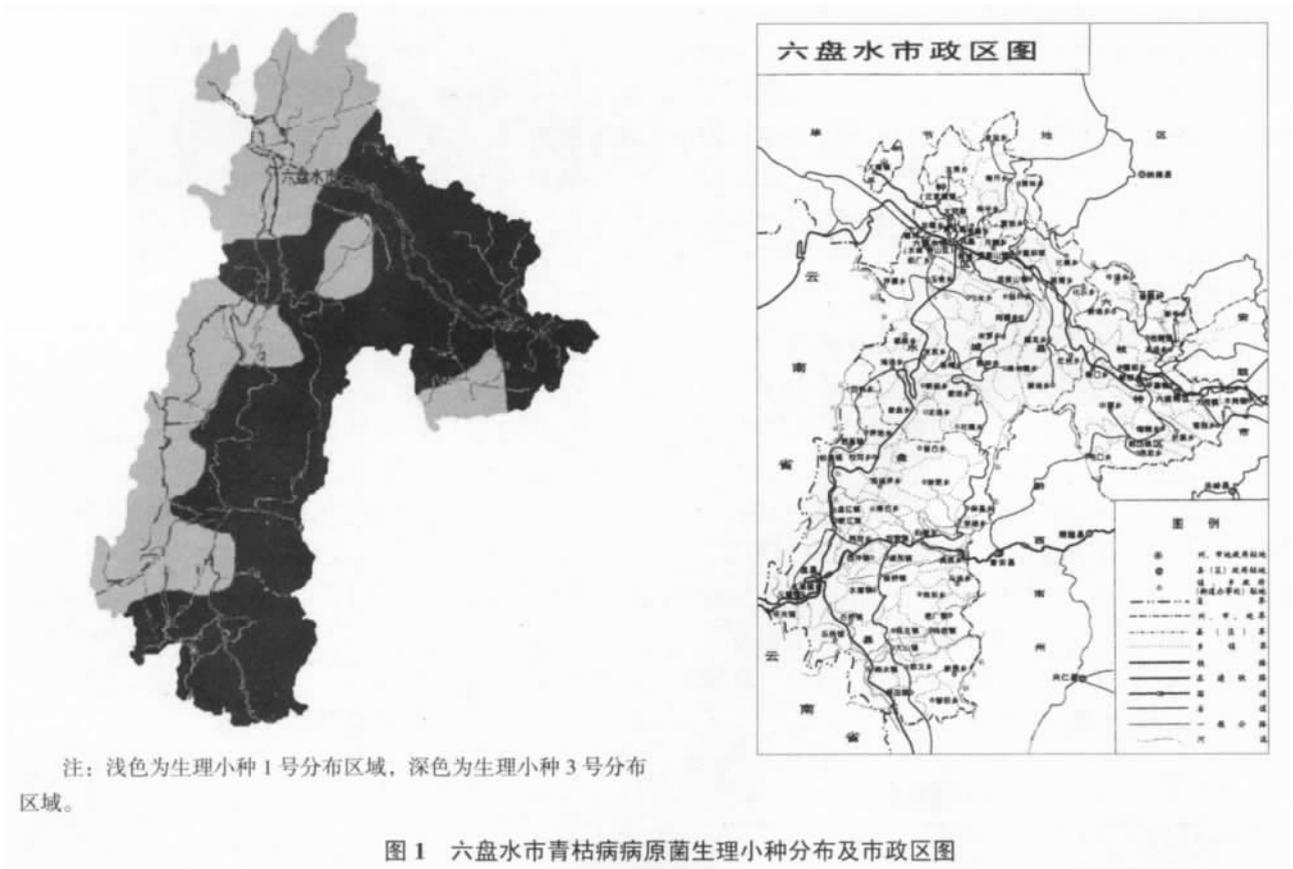
准备 4 mL 接种悬浮液(OD=0.1)。菌源培养 2 d 后出现菌落, 在每试管中加入 0.1 mL 菌液后, 置于 30 $^{\circ}$ C 培养箱中培养, 在第 3 d、7 d、14 d 检测 pH 值变化并进行生化变种及生理小种的鉴定。

3 结果与分析

经过对贵州省六盘水市青枯病病原菌进行收集、调查和分析, 有 17 个调查点的青枯菌都能使乳糖、麦芽糖和甘露醇、山梨醇氧化产酸, 属于生化变种 3 号, 推断其为生理小种 1 号; 有 21 个调查点的青枯菌只能使乳糖、麦芽糖氧化产酸, 不能使甘露醇、山梨醇氧化产酸, 属于生化变种 2 号, 推断其为生理小种 3 号。在含 TZC 的培养基上, 普遍同时具有野生型和变异型菌落。结果表明, 生理小种 1 号(生化变种 3 号)、生理小种 3 号(生化变种 2 号)在本地区普遍流行。已调查的 38 个点中, 有 17 个调查点为生理小种 1 号, 占调查点总数的 44.7%, 21 个点为生理小种 3 号, 占调查点总数的 55.3%, 生理小种 3 号为优势小种, 但两个生理小种分布无明显的地域特征, 在海拔高度上亦无差异, 给本地区的马铃薯生产及贮藏均造成严重损失。这与贵州省农科院 1995 年在六盘水市六枝、水城收集青枯菌菌系, 调查结果生化变种 2 号、生理小种 3 号的结果具有较大差异^[6]。估计青枯菌生理小种 1 号是近年来才传入六盘水市。

生理小种分布见图 1。从分布上看: 生理 1 号多分布于六盘水与云南曲靖和宣威、贵州威宁和赫章接壤的区域。近年来, 六盘水所需大量种薯都从云南曲靖和宣威调种, 没有经过检疫。可以认为生理 1 号在上述地区有所分布, 随着马铃薯种薯的调运进入六盘水市。六枝平寨、酒志、毛口, 水城县玉舍、阿戛、米萝、盐井等地有生理 1 号分布, 而据调查, 这些地方都由农业部门从宣威、曲靖地区调种, 而农户自行从外地调种一般从威宁调入。

生理小种 3 号分布于内地及与纳雍、安顺、晴隆接壤地区, 农户没有从上述地区调种的习惯, 而多数从云南宣威和曲靖、贵州威宁等地调种, 不排除这些地区有存在生理 1 号潜伏浸染的可能。



4 讨论

根据调查, 认为六盘水市马铃薯青枯病以前主要是适于高地、山区和相对低温型的生理小种 3 号危害比较严重, 自马铃薯引进种植以来就已经存在和逐步发展的, 带病种薯是最重要浸染来源。而近年来, 由于农业部门外调种薯频繁, 缺乏检疫措施, 导致一般在高温地区发生的生理小种 1 号在六盘水市马铃薯生产中的危害逐年加重, 带病种薯及其它感病植物和杂草在青枯病的传播中起了重要作用。

据分析, 马铃薯上的生理小种 1 号可能是来源于其他寄主, 如花生、茄子、番茄等。因为这些植物早在 19 世纪 40 年代就有青枯病的记载, 而且分离自这些植物的青枯菌菌株都可浸染马铃薯。生理小种 3 号则可能是与马铃薯共进化发生的, 因为它只对马铃薯有强致病力, 对番茄有中等到强的致病力, 而对其它栽培植物致病力弱或无致病力, 目前尚不清楚这一菌系是否是由国外传入或者是在我国本地自发产生的。

综上所述, 鉴于六盘水市青枯菌生理小种 1 号

近年来的迅速蔓延, 其分布的区域有可能逐年扩大, 有成为优势小种的可能, 有必要引起有关部门给予相当程度的重视并采取适当的措施。

[参 考 文 献]

[1] 卢瑶. 六盘水市马铃薯生产概况及其对青枯病发生分析[C]. 马铃薯研讨会论文集. 国际马铃薯中心中国办事处, 1998: 39-39.

[2] 李万先, 刘卫华. 马铃薯青枯病的综合防治[J]. 马铃薯杂志, 1990, 4(2): 113-114.

[3] 孙慧生. 马铃薯育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 11.

[4] French E R, Gutarra L, Aley P Elphinstone. Culture medium for *Pseudomonas solanacearum* isolation, identification and maintenance[G]. Bacterial Wilt Training Manual, CIP, 1996.

[5] He L Y, Sequeira L, Kelman A. Characterization of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China[J]. Plant Disease, 1983, 67: 1357-1361.

[6] 刘世怡, 张佩. 贵州西部马铃薯青枯菌菌系的初步研究[J]. 贵州农业科学, 1995, 2, 27-28.