

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2006)04-0212-03

黑龙江省马铃薯晚疫病菌 A₂ 交配型的测定

金光辉¹, 白雅梅², 孙秀梅¹, 袁善奎³, 吕文河^{2*}

(1. 黑龙江省农业科学院马铃薯研究所, 黑龙江 克山 161606;
2. 东北农业大学, 黑龙江 哈尔滨 150030; 3. 农业部农药检定所生物技术测试中心, 北京 100026)

摘要: 黑龙江省地处高纬地区, 气候冷凉, 是中国著名的马铃薯产区, 但同时也是晚疫病常年发生区, 明确是否存在晚疫病菌 A₂ 交配型对当地的晚疫病防治方法和策略具有重要影响。本文利用晚疫病菌 A₁ 和 A₂ 标准菌株, 采用对峙培养法, 对来自黑龙江省的马铃薯晚疫病菌进行了 2 年的交配型测定, 结果表明, 所测定的来自全省 8 个县市的 109 个菌株均为 A₁ 交配型, 未见 A₂ 交配型。

关键词: 黑龙江省; 马铃薯; 晚疫病菌; 交配型

由致病疫霉 *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary 引起的马铃薯晚疫病是目前危害马铃薯生产最严重的病害之一。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, 同时也是晚疫病发生的重灾区。

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 1956 年在墨西哥被发现^[1]。Hohl 和 Iselin^[2]报道在瑞士发现了 A₂ 交配型后, 世界各国如加拿大、荷兰、芬兰、波兰、挪威和瑞典等国也陆续报道了发现 A₂ 交配型^[3-5]。张志铭^[6]首次报道了在我国山西省发现了 A₂ 交配型。目前 A₂ 交配型已在世界上广泛存在, 据美国康乃尔大学 Fry 等调查, A₁ 和 A₂ 两种交配型的晚疫病菌已传播到了南极洲以外的世界各大洲^[7]。

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。主要表现在以下几方面: (1) 容易形成致病力更强的生理小种, 使现有品种很快失去抗性; (2) 容易形成抗药性强的菌株, 减低药剂的防治效果; (3) A₂ 与 A₁ 两种交配型同时存在时可以进行有性生殖形成卵孢子, 卵孢子能够在土壤中生存和越冬, 增加了晚疫病菌初侵染源的产生渠道, 使病害的发病期提前; (4) 卵孢子能够度过

不良的环境条件, 如干旱等, 使晚疫病菌更易存活, 条件适宜时, 病菌的繁殖和传播速度加快。

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的研究水平, 尤其是对晚疫病防治策略和方法有很重要的指导意义。本研究对来自黑龙江省的马铃薯晚疫病菌进行了 2 年的交配型测定。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 培养基

采用黑麦培养基 (Rye agar, RA) 进行马铃薯晚疫病菌的分离培养、保存和交配型的鉴定, 其制备过程参考 Caten 和 Jinks^[8]的方法, 稍加改变。

1.1.2 交配型标准菌株

交配型标准菌株 A₁ 和 A₂ 均由美国加州大学河边分校 Coffey 教授提供。

1.2 方法

1.2.1 病害标本的采集

2004 和 2005 年从全省马铃薯产区自北向南进行了病样采集。主产区: 加格达奇市、讷河市、克山县、海伦市、绥化市、哈尔滨市; 非主产区: 龙门农场和鹤岗市。

1.2.2 病原菌的分离纯化

将夹有病叶的薯块在 19 下黑暗培养, 待薯块切口周围被感染长出白色菌丝后, 在无菌条件

收稿日期: 2006-06-10

基金项目: 黑龙江省农业科学院青年科学基金课题资助 (2004)

作者简介: 金光辉 (1973-), 男, 博士研究生, 主要从事马铃薯抗病育种及晚疫病综合防治方面的研究。

* 通讯作者: E-mail: whlu@mail.neau.edu.cn

下用接种针将菌丝转移, 接种在新的健康薯块上, 然后继续保湿培养, 最后用灭菌水洗下新发病部位的孢子囊。将孢子囊悬浮液在 4 ℃ 下黑暗处理 10 min, 促进游动孢子产生。调节游动孢子浓度至每毫升含 10³ 个孢子囊, 用微量移液器吸取 200 μL 游动孢子囊悬浮液均匀涂布在黑麦培养基平板 (D=9 cm) 上, 19 ℃ 下黑暗培养 12 h, 待游动孢子萌发长出芽管后在 10 × 10 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 A₂、A₁ 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; 反之, 则为 A₁ 交配型。

2 结果与分析

2.1 病原菌的分离纯化

两年间从不同地点、不同品种上共分离纯化出晚疫病菌株 109 个。其中 2004 年分离纯化了 69 个, 分别来自黑龙江省各马铃薯产区, 其中来自克山县 31 个, 海伦市 14 个, 讷河市 7 个, 龙门农场 5 个, 加格达奇市 8 个, 哈尔滨市 4 个。2005 年分离纯化了 40 个菌株, 分别来自哈尔滨市 19 个, 海伦市 1 个, 绥化市 4 个, 克山县 15 个, 鹤岗市 1 个。克山县分离纯化出的菌株最多, 为 46 株; 其次为哈尔滨市的菌株, 为 23 株; 而马铃薯非主产区鹤岗市分离纯化的菌株最少, 只分离出 1 株 (表 1)。

2.2 马铃薯晚疫病菌交配型的鉴定

2004 年和 2005 年冬季分别对当年采集并分离纯化的晚疫病菌株进行了交配型的测定。研究结果表明, 所测试的 109 个菌株单独培养均未观察到产生卵孢子, 说明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卵孢子 (图 1), 说明在

测试的 109 个菌株中, 均为 A₁ 交配型 (见表 2)。表明目前在黑龙江省不论是马铃薯主产区还是非主产区, 均没有出现马铃薯晚疫病菌 A₂ 交配型。

表 1 2004 和 2005 年黑龙江省马铃薯晚疫病菌的分离纯化结果

采集地点	加格达奇	龙门农场	讷河	克山	海伦	绥化	鹤岗	哈尔滨
品种	早大白, 东农 303	大西洋	克新 13 号, 鲁引 1 号	大西洋, 克新 13 号	克新 13 号	克新 1 号, 夏波蒂	鲁引 1 号	黄麻子, 夏波蒂
纯化数量 (株) (2004)	8	5	7	31	14	0	0	4
纯化数量 (株) (2005)	0	0	0	15	1	4	1	19
总数量 (株)	8	5	7	46	15	4	1	23

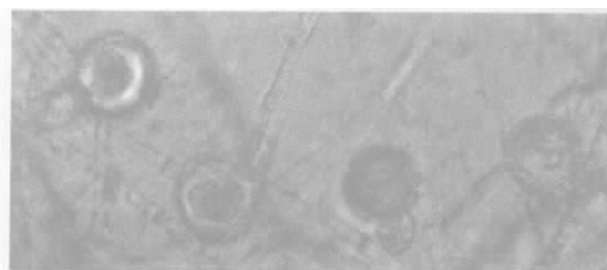


图 1 晚疫病菌 A₁ 和 A₂ 标准菌株对峙培养后产生的卵孢子 (400 倍)

表 2 2004 和 2005 年黑龙江省马铃薯晚疫病菌交配型的鉴定结果

采集年代	采集地点	分离纯化菌数	交配型	
			A ₁	A ₂
2004	加格达奇	8	8	0
	龙门农场	5	5	0
	讷河	7	7	0
	克山	31	31	0
	海伦	14	14	0
2005	哈尔滨市	4	4	0
	克山	15	15	0
	鹤岗	1	1	0
	海伦	1	1	0
	绥化	4	4	0
	哈尔滨市	19	19	0

3 讨 论

国内有些学者开展过黑龙江省晚疫病菌 A₂ 交配型的测定研究, 但是病样采集的地点很有限, 没有进行全省大范围内的采集, 采样地点不具有代表性, 因此研究结果并不能反映出黑龙江省的全部情况, 具有一定的片面性。通过对黑龙江省 2 年分离纯化出来的 109 个晚疫病菌株的 A₂ 交配型鉴定结果来看, 黑龙江省还未出现马铃薯晚疫病菌 A₂ 交配型, 这与朱小琼等^[9]的报道一致, 而与朱杰华^[10]的报道存在差异。

就目前黑龙江省而言, 当务之急是防止晚疫病菌 A₂ 交配型的侵入。重点要加强植物检疫工作, 严格禁止从已发现 A₂ 交配型的疫区调入种薯, 防止 A₂ 交配型向省内扩散; 继续对全省马铃薯产区进行 A₂ 交配型的监测, 同时开展抗晚疫病育种的研究, 筛选出对晚疫病菌具有持久水平抗性的材料。这样即使出现了 A₂ 交配型, 也不至于因为生理小种的变异而造成抗性的快速丧失。

[参 考 文 献]

[1] Niederhauser J S. The blight, the blighter, and the blighted [J]. Transactions of the New York Academy of Science, 1956, 19:

55- 63.

[2] Hohl H R, Iselin K. Strains of *Phytophthora infestans* with A₂ mating type behaviour [J]. Transactions of the British Mycological Society, 1984, 83: 529- 530.

[3] Dehal K L, Goth R W, Young R, et al. 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.

[4] Frinking H D, Davidse L C, Limburg H. Oospore formation by *Phytophthora infestans* in host tissue after inoculation with isolates of opposite mating type found in the Netherlands [J]. Netherlands Journal of Plant Pathology, 1987, 93: 147- 149.

[5] Ludwik S S, Stephen B, Goodwin S B. Increased genotypic diversity via migration and possible occurrence of sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Poland [J]. Phytopathology, 1994, 84: 201- 207.

[6] Zhang Zhiming, Li Yuqin, Tian Shimin, et al. The occurrence of potato late blight pathogen (*Phytophthora infestans*) A₂ mating type in China [J]. 河北农业大学学报, 1996, 19(4): 65- 69.

[7] Fry W E, Goodwin S B, Dyer A T, et al. Historical and recent migration of *Phytophthora infestans*: chronology, pathway, and implications [J]. Plant Disease, 1993, 77: 653- 661.

[8] Caten C E, Jinks L L. Spontaneous variability of *Phytophthora infestans*. I. Cultural variation [J]. Can J Bot, 1968, 46: 329- 348.

[9] 朱小琼, 车兴璧, 国立耘, 等. 六省市致病疫霉交配型及其对几种杀菌剂的敏感性 [J]. 植物保护. 2004, 30(4): 20- 23.

[10] 朱杰华. 中国马铃薯晚疫病菌群体遗传结构的研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2004.

Testing for A₂ Mating Type of *Phytophthora infestans* in Potatoes of Heilongjiang

Jin Guanghui¹, Bai Yamei², Sun Xiumei¹, Yuan Shankui³, Lu Wenhe²

(1. Potato Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Keshan, Heilongjiang 161606, China; 2. Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China; 3. Center of Agrochemicals for Biological and Environmental Technology, Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture of the People's Republic of China, Beijing 100026, China)

Abstract: Heilongjiang is located in high latitude, and cool in summer. It is well known for its potatoes, however late blight occurs frequently. It is important to know whether A₂ mating type exists in Heilongjiang, and this may help to develop an effective method and strategy for late blight control. In this research, isolates collected from Heilongjiang were tested for A₂ mating type using standard strains and dual culture method. The results indicated that the 109 isolates collected from 8 counties (cities) of Heilongjiang were all A₁ mating type, and no A₂ was detected.

Key Words: Heilongjiang; potato; *Phytophthora infestans*; mating type