

马铃薯晚疫病病菌寄生适合度测定方法的研究

袁军海¹, 赵美琦², 姚裕琪³, 梁德霖³

(¹ 张家口农业高等专科学校农学系, 河北宣化 075131; ² 中国农业大学植物病理系, 北京 100094;

³ 内蒙古农科院, 内蒙古呼和浩特 010031)

摘要: 田间试验用 4 种方法测定马铃薯晚疫病病菌的寄生适合度, 结果表明: 病害发展曲线下面积法和百分率 r 值法易于操作且结果合理, 适用于此病原物。从菌种看, C5 和 C19 的致病性普遍高于 C6; 从品种看, 坝薯 10 号和一墩青较抗病, 无花和坝薯 9 号次之, 费乌瑞它最感病。最后对马铃薯晚疫病病菌寄生适合度测定中的有关问题进行了探讨。

关键词: 马铃薯; 晚疫病病菌; 寄生适合度

中图分类号: S532, S432.21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0092 (2001) 01-0009-05

1 前言

我国马铃薯种植面积居世界前列, 由 *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary 引起的晚疫病是马铃薯最重要的病害之一^[1]。与其它大多数植物病害的防治类似, 种植抗病品种是防治马铃薯晚疫病最经济有效的方法。60 年代以前, 国际马铃薯晚疫病的抗病育种主要甚至仅仅是垂抗育种^[2]。我国在 60 年代也曾进行过马铃薯晚疫病病菌生理小种的测定^[3], 而且直到目前我国推广的品种多数仍为 R 基因品种 (即垂抗品种)。此后, 随着垂抗品种致命弱点的暴露, 水平抗性才逐步受到重视。然而现在看来, 单纯应用水平抗性品种也有相当的局限性, 如水平抗性易受环境条件的影响而发生变化, 就马铃薯对晚疫病的抗性而言, 水平抗性与晚熟性有一定关系, 使得现有品种晚熟的多抗病, 早熟的多感病, 既早熟又抗病的品种则很难培育^[4]。此外, 近年来, 新的 R 基因不断增加^[5], A2 交配型也在我国发现^[6], 所以重新提及垂直抗性的合理运用也并非毫无意义, 如新的生理小种的鉴定又在最近几年开始就是一个证明^[7,8]。而寄生适合度的测定是垂抗品种合理运用的理论依据^[9], 但到目前

为止, 我国对马铃薯晚疫病病菌寄生适合度测定的研究仍是空白。

关于寄生适合度的测定, 国内外已有不少研究, 也提出了许多方法^[10], 在这些方法中, 较常用的有相对 r 值法^[9,11~13]、流行病学组分法^[14,15]和一代综合病情指数法^[12,16]等。而从国外资料看, 马铃薯晚疫病病菌寄生适合度测定最常用的方法为复合指数法^[17~20], 其次为病害发展曲线下面积法^[20~22], 而其它方法则应用较少。

本研究的目的在于寻找适合马铃薯晚疫病病菌寄生适合度的测定方法, 并对其具体操作和适用范围进行探讨, 同时检验已有方法的可靠性和应用的普遍性。试验分田间和室内两部分, 本文是田间部分的结果。

2 材料与方法

2.1 试验材料

所用品种为一墩青、坝薯 9 号、坝薯 10 号、无花和费乌瑞它 5 个, 由张家口市坝上农科所提供, 种薯级别为原原种, 其中后 4 个为张家口地区的主栽品种, 一墩青为当地新育成的品种。小种选择 C5 (1.2.3.4.5.10)、C6 (1.3.4.5.10)、C19 (其致病基因型未知) 三个, 由内蒙古农科院提供, 接种前在无花薯片上扩繁。试验在张家口农专校农场进行。

收稿日期: 2000-10-12

2.2 试验设计

种植方块圃: 5 品种×3 小种×3 次重复, 每组合一个小区。小区面积 3 m×3 m, 小区间间隔 0.5 m, 各种一行谷子, 四周保护行 0.5 m, 各种两行谷子。每小区内同一品种种 7 行, 行距 0.5 m, 株距 0.4 m。同一重复内不同品种×小种组合随机排列。为使马铃薯不同品种开花期相遇, 将各品种播期进行调整, 即晚熟品种早种, 早熟品种晚种。

2.3 播种与管理

1998 年 4 月 21 日种一墩青和坝薯 10 号, 28 日种坝薯 9 号和无花, 5 月 5 日种费乌瑞它, 管理同马铃薯原种生产。

2.4 接种

1998 年 7 月上中旬马铃薯花期接种。先制备游动孢子悬浮液, 方法见文献 [20], 最后将悬浮液游动孢子浓度调至 35000 个·ml⁻¹。各小区接种中心株, 接种后套塑料袋保湿 12 h。

2.5 病害调查与寄生适合度的测定

2.5.1 病害发展曲线下面积 (area under the disease progress curve, 简称 AUDPC) 法

接种后第 5 d 开始调查各组合的病害百分率, 以后每隔 4~5 d 调查一次, 直到最感病组合发病达方块圃边缘为止。接种日病害百分率以 0.00001 计。然后按下式计算各品种×小种组合的病害发展曲线下面积:

$$AUDPC = \sum ((X_{i+1} + X_i) / 2) (t_{i+1} - t_i)$$

式中: X_i 表示第 i 次调查时的病害百分率, t_i 表示第 i 次调查时的时间 (以距接种后天数表示)。

以 AUDPC 值作为各品种×小种组合的寄生度值, 以寄生适合度值最大组合为准计算出各组合的相对寄生适合度值。

2.5.2 种群增长曲线下面积 (area under the population growth curve, 简称 AUPGC) 法

这种方法的调查和计算与 AUDPC 法类似, 不同之处是此法需调查病原物的种群数量而不是病害百分率。种群数量以病斑面积表示。最后求出各组合的相对寄生适合度值。

2.5.3 表观侵染速率法

即 r 值法, 计算公式如下:

$$r = \frac{\ln(\frac{X_2}{1-X_2}) - \ln(\frac{X_1}{1-X_1})}{(t_2 - t_1)}$$

本试验用两种方法计算 r 值。

1) 百分率 r 值法 (简称 BFLr 法) 用病害百分率计算 r 值, 其调查同 AUDPC 法。这时 X_1 和 X_2 分别表示两次调查时的病害百分率, t_1 和 t_2 分别表示两次调查时的时间 (以距接种后天数表示)。

2) 病指 r 值法 (简称 BZ Hr 法) 用病情指数计算 r 值, 这时 X_1 和 X_2 分别表示两次调查时的病情指数, t_1 和 t_2 分别表示两次调查时的时间 (以距接种后天数表示)。病情指数计算公式如下:

$$\text{病情指数} = \frac{\sum (\text{各级严重度} \times \text{普通率})}{(\text{最高严重度} \times \text{调查总单元数})}$$

3 结果与分析

对 4 种方法测得的 5 品种×3 小种组合的相对寄生适合度值分别进行方差分析, 结果表明, 相对寄生适合度值在品种间、小种间及品种×小种组合间差异均达极显著水平, 据此可作进一步分析。

3.1 小种致病性比较

对 5 品种分别与 3 小种间相对寄生适合度值进行方差分析, 据此进行差异显著性比较, 4 种方法均如此, 结果见表 1。

表 1 4 种方法测得的小种致病性比较

品 种	小 种	相对寄生适合度值			
		AUDPC 法	AUPGC 法	BFLr 法	BZ Hr 法
一墩青	C5	0.1107 ^A	0.2794 ^A	0.5870 ^A	0.2732 ^B
	C19	0.0784 ^B	0.2001 ^B	0.6174 ^A	0.3461 ^A
	C6	0.0736 ^B	0.1871 ^B	0.4908 ^B	0.2083 ^C
坝薯 10 号	C6	0.0949 ^A	0.1899 ^A	0.6019 ^a	0.2279 ^A
	C19	0.0642 ^B	0.1287 ^B	0.5931 ^{ab}	0.1579 ^B
	C5	0.0639 ^B	0.1282 ^B	0.5511 ^b	0.1027 ^C
无 花	C5	0.3775 ^A	0.5461 ^A	0.7338 ^A	0.3082 ^B
	C19	0.3461 ^A	0.5267 ^A	0.7558 ^A	0.4536 ^A
	C6	0.2402 ^B	0.3519 ^B	0.7165 ^A	0.2328 ^C
坝薯 9 号	C6	0.2806 ^A	0.3725 ^A	0.6641 ^A	0.4669 ^A
	C5	0.2715 ^A	0.3604 ^A	0.6719 ^A	0.5136 ^A
	C19	0.2219 ^A	0.2945 ^A	0.6282 ^B	0.3100 ^B
费乌瑞它	C19	1.0000 ^A	1.0000 ^A	1.0000 ^A	1.0000 ^a
	C5	0.9366 ^A	0.9444 ^A	0.8242 ^B	0.8367 ^b
	C6	0.4867 ^B	0.4877 ^B	0.7931 ^C	0.9242 ^{ab}

注: 表中数据均为 3 次重复平均值; 大写字母示 0.01 水平, 小写字母示 0.05 水平, 下同。

由于寄生适合度是品种抗病性与小种致病性相

互作用的结果, 所以当品种相同时, 寄生适合度的差别反映的是小种致病性的差异。由此可见, 表 1 中数据实际表示不同方法测得的不同小种对同一品种致病性的差异, 数值越高致病性越高。

由表 1 可见, 在 AUDPC 法、AUPGC 法和 BFLr 法中, 除少数组合外, C5 和 C19 与各品种间相对寄生适合度值差异不大, 而二者与 C6 与各品种间相对寄生适合度值则差异较大, 说明小种 C5 和 C19 对同一品种的致病性接近, 而与 C6 的致病性差异较大, 多数组合 (如与一墩青、无花、费乌瑞它等) C5 和 C19 的致病性大于 C6, 少数 (如与坝薯 10 号、坝薯 9 号等) 相反。而通过 BZHr 法

测得的 3 小种对同一品种致病性的差异均较大, 多数达极显著水平, 似乎拉大了小种致病性的差异, 所以这种方法可能不太适合马铃薯晚疫病病菌寄生适合度的测定。值得注意的是, 通过 AUDPC 法和 AUPGC 法测得的 3 小种对坝薯 9 号的致病性差异均不明显, 通过 BFLr 法测得的 3 小种对无花的致病性也差异均不明显, 这可能与坝薯 9 号和无花有一定水平抗性有关。

3.2 品种抗病性比较

对不同品种与同一小种间相对寄生适合度值进行方差分析, 据此进行差异显著性比较, 4 种方法均如此, 结果见表 2。

表 2 4 种方法测得的品种抗病性比较

小种	品 种	AUDPC 法		AUPGC 法		BFLr 法		BZHr 法	
		F 值	差异显著性	F 值	差异显著性	F 值	差异显著性	F 值	差异显著性
C5	费乌瑞它	0.9366	a A	0.9444	a A	0.8424	a A	0.8367	a A
	无 花	0.3775	b B	0.5461	b B	0.7338	b B	0.3082	c C
	坝薯 9 号	0.2715	c B	0.3604	c C	0.6719	c C	0.5137	b B
	一墩青	0.1197	d C	0.2794	d C	0.5869	d D	0.2730	c C
	坝薯 10 号	0.0639	d C	0.1282	e D	0.5511	e D	0.1027	d D
C6	费乌瑞它	0.4867	a A	0.4877	a A	0.7931	a A	0.9242	a A
	坝薯 9 号	0.2806	b B	0.3725	b B	0.6641	c B	0.4669	b B
	无 花	0.2402	b B	0.3519	b B	0.7165	b B	0.2328	c C
	坝薯 10 号	0.0949	c C	0.1899	c C	0.6019	d C	0.2280	c C
	一墩青	0.0736	c C	0.1871	c C	0.4908	e D	0.2083	c C
C19	费乌瑞它	1.0000	a A	1.0000	a A	1.0000	a A	1.0000	a A
	无 花	0.3641	b B	0.5267	b B	0.7558	b B	0.4536	b B
	坝薯 9 号	0.2219	c C	0.2954	c C	0.6282	c C	0.3100	c C
	一墩青	0.0784	d D	0.2001	d CD	0.6174	cd C	0.3461	c BC
	坝薯 10 号	0.0642	d D	0.1287	d D	0.5931	d C	0.1579	d D

注: F 表示相对寄生适合度。

表 1 中数值表示不同小种对同一品种致病性的差异, 同理, 表 2 中数值表示不同品种对同一小种抗病性的差异; 数值越高抗病性越低。

由表 2 可见, 在 0.05 水平上, 5 品种对同一小种的抗性等级划分仍分为 3 种方式, 3 个组合 (这里指 5 品种 × 1 小种) 划分为 3 个等级, 即一墩青和坝薯 10 号的抗病性高于坝薯 9 号和无花, 而后两者又高于费乌瑞它; 6 个组合划分为 4 个等级, 大致为一墩青和坝薯 10 号、坝薯 9 号、无花、费乌瑞它; 3 个组合划分为 5 个等级, 即每个品种

一个等级。在 0.01 水平上, 5 品种抗性等级的划分有 2 种方式, 5 个组合划分为 3 个等级, 即一墩青和坝薯 10 号、无花和坝薯 9 号、费乌瑞它, 或一墩青与坝薯 10 号和坝薯 9 号、无花、费乌瑞它; 7 个组合划分为 4 个等级, 大致为一墩青和坝薯 10 号、坝薯 9 号、无花、费乌瑞它。总体看来, 划分为 3 个或 4 个等级更合理。在 5 个品种中, 费乌瑞它对晚疫病的抗性最低, 所有方法的所有组合均如此; 无花和坝薯 9 号的抗病性略高于费乌瑞它, 除少数组合坝薯 9 号的抗病性略高于无花外, 大多数

情况下两者基本一致, 属中等抗性; 一墩青和坝薯 10 号基本一致, 且均高于无花和坝薯 9 号, 属高度抗性。这些与大田发病情况基本一致, 说明结果是可信的。

4 结论与讨论

本试验用 AUDPC 法、AUPGC 法两种 r 值法测定马铃薯晚疫病菌的寄生适合度, 4 种方法结果基本一致。从菌种看, C5 和 C19 的致病性普遍高于 C6; 从品种看, 坝薯 10 号和一墩青较抗病, 无花和坝薯 9 号次之, 费乌瑞它最感病。

通过 AUDPC 法和 AUPGC 法所测结果非常接近, 这主要是因为两种方法的计算公式完全一致, 计算内容基本相同。在实际操作中, AUPGC 法需测定小区或病斑面积, 如果没有专门仪器则相当繁琐, 而 AUDPC 法测定病害百分率, 如果有一定经验, 可目测, 这远比 AUPGC 法简便, 这也许正是 AUDPC 法应用较多的原因之一。

在两种 r 值法中, BZHR 法需调查病情指数, 较繁琐, 尤其后期病情严重时; 此外, 马铃薯不同植株间往往交叉较多, 入地调查会无意中加入较多人为因素, 故所测结果可信度不高。与之相比, BFLr 法易于操作 (原因同 AUDPC 法), 人为干扰小, 所以可信度较高。

与小麦、水稻等二倍体作物相比, 马铃薯是四倍体作物, 不同品种间及同一品种的不同个体间在株高、产量、生育期和叶片大小等栽培性状上有较大差异, 这肯定影响寄生适合度测定的准确性。与本试验有关的主要是生育期。由于水平抗性和晚熟性高度连锁, 使得现有品种晚熟的多抗病, 早熟的多感病, 中熟的中抗, 要想选择生育期相近而抗病性有较大差异的几个品种几乎不可能, 只能选择抗病性有较大差异而生育期也有较大差异的品种。然而, 虽然马铃薯对晚疫病的垂直抗性在各生育期一致, 但从田间表现看, 开花期易发病, 说明水平抗性可能在开花期较低。所以需要针对不同品种的播期进行调整, 使其开花期一致, 以消除生育期的干扰。调整方法为早熟品种晚种, 晚熟品种早种。本试验晚熟品种 (如一墩青) 比早熟品种 (如费乌瑞它) 早播 15 d, 效果不明显。

关于晚疫病流行与生育期的关系, 初步认为: 马铃薯晚疫病流行的主导因素是气候条件, 尤其是

其中的降雨或湿度, 品种至多是第二位的, 这从许多测报方法仅根据湿度变化就能得出准确结果即可得到证明^[23]。人们之所以认为花期更感病, 更重要的还是因为这时已进入雨季, 湿度较大, 有利于晚疫病的发生和流行。如在河北省宣化县沙岭子镇, 马铃薯开花期为 6 月中旬至 7 月中旬, 在当地已进入雨季, 晚疫病发生和流行也多从这时开始^[24]。在湿度较大的情况下, 即使花期未到或已过, 同样会比较感病。所以, 当气象条件适宜晚疫病发生时, 播期调整意义不大。

马铃薯病毒病也可能影响晚疫病的发生。已有的研究表明, 绝大多数病毒病不利于晚疫病的发生^[3, 25]。所以在做晚疫病试验时应选择脱毒级别较高的种薯, 如原原种或原种, 以消除病毒病的干扰。

马铃薯晚疫病是典型的多循环单年流行病, 条件适宜时发展很快, 这与有时受条件所限小区面积较小是一对矛盾。为适当控制此病的发展以利调查, 本试验用谷子作隔离行并减少浇水次数, 效果较好。隔离行还可防止小区间相互干扰, 此外, 对植株的中下部叶片接种, 使病害主要在中下部发展, 对防止小区间相互干扰也有一定作用。当然, 马铃薯晚疫病是典型的气传病害, 再好的隔离条件也不可能完全杜绝相互干扰, 更好的方法是设置空白对照以消除外界干扰, 本试验由于场地所限, 未能加此对照。

(致谢: 本校农学 95 级实习生李建英、姚月敏、刘华荣等协助栽培管理; 农学 96 级学生杨满霞、种子 97 级学生王涛协助病害调查; 蔬菜 96 级男同学帮助收获, 一并深表感谢!)

参 考 文 献

- [1] 门福义, 刘梦芸. 马铃薯栽培生理 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [2] Vanderplank J E. Disease resistance in plant [M]. New York: Academic Press, 1968.
- [3] 黄河, 程汉清, 徐天宇等. 我国北部马铃薯晚疫病菌生理小种的发生和变化 [J]. 植物病理学报, 1981, 11 (1): 45-49.
- [4] 李汝刚, 伍宇丰, 范运六等. 马铃薯抗晚疫病研究进展 [J]. 马铃薯杂志, 1997, 11 (4): 243-250.
- [5] 宋伯符, 王军, 张志铭等. 我国马铃薯晚疫病研究的进展和建议 [J]. 马铃薯杂志, 1996, 10 (3): 138-143.
- [6] 张志铭, 李玉琴, 田世民等. 中国发生马铃薯晚疫菌 (*Phytophthora infestans*) A2 交配型 (英文) [J]. 河北农业大学学

- 报, 1996, 19 (4): 62—65.
- [7] 刘晓鹏, 谢从华, 宋伯符. 湖北恩施地区马铃薯晚疫病病菌生理小种的组成和分布 [J]. 马铃薯杂志, 1995, 9 (2): 81—83.
- [8] 姚裕琪, 梁德霖, 梁东超. 内蒙古马铃薯晚疫病病菌生理小种的组成和分布 [J]. 内蒙古农业科技, 1996, (1): 17—18.
- [9] 曾士迈. 植物病原菌寄生适合度测定方法的研究 (以小麦条锈菌为例) [J]. 植物病理学报, 1996, 26 (2): 97—104.
- [10] 袁军海. 寄生适合度及其测定 [J]. 张家口农专学报, 2000, 16 (2): 47—50.
- [11] 曾士迈, 肖悦岩, 张万义. 小麦锈病的电算模拟研究初报——春季流行的一个简要模型 [J]. 北京农业大学学报, 1981, 7 (1): 1—12.
- [12] 曾士迈, 王沛有. 寄生适合度测定方法的初步研究 [J]. 北京农业大学学报, 1990, 16 (增): 163—169.
- [13] 肖悦岩, 曾士迈, 张万义等. SIMYR——小麦条锈菌流行的简要模型 [J]. 植物病理学报, 1983, 13 (1): 1—13.
- [14] 申志新, 王焕如, 朱之育. 小麦叶锈菌相对寄生适合度变异研究 [J]. 植物病理学报, 1990, 20 (2): 141—145.
- [15] 孔平, 岩野正敬. 稻瘟病水平抗性稳定性研究——小种与品种适合度的分析 [J]. 植物保护学报, 1991, 18 (2): 103—107.
- [16] 宋位中, 张忠军. 小麦品种与条锈菌生理小种适合度测定方法的研究 [J]. 北京农业大学学报, 1990, 16 (增): 170—173.
- [17] Tooley P W, Sweigard J A, Fry W E. Fitness and virulence of *Phytophthora infestans* isolates from sexual and asexual populations [J]. *Phytopathology*, 1986, 76: 1209—1212.
- [18] Kadish D, Cohen Y. Fitness of *Phytophthora infestans* isolates from metalaxyl-sensitive and resistant population [J]. *Phytopathology*, 1988, 78: 912—915.
- [19] Kadish D, Grinberger M, Cohen Y. Fitness of *Phytophthora infestans* from metalaxyl-sensitive and resistant population on susceptible and resistant potato cultivars [J]. *Phytopathology*, 1990, 80: 200—205.
- [20] Spielman L J, McMaster B J, Fry W B. Relationships among measurements of fitness and disease in *Phytophthora infestans* [J]. *Plant Pathology*, 1992, 41: 317—324.
- [21] Tooley P W, Fry W E. Field assessment of fitness of isolates of *Phytophthora infestans* [J]. *Phytopathology*, 1985, 75: 982—988.
- [22] Bihman R K. Path-coefficient analyses and genetic parameters of the components of field resistance of potatoes to late blight [J]. *Annual Apply Biology*, 1995, 127: 353—362.
- [23] Harrison J G. Effects of the aerial environment of late blight of potato foliage—a review [J]. *Plant Pathology*, 1992, 41: 384—461.
- [24] 林传光, 黄河, 王高才等. 马铃薯晚疫病的田间动态观察及防治试验 [J]. 植物病理学报, 1995, 1 (1): 31—44.
- [25] 李军. 马铃薯病毒对不同品种抗晚疫病性的影响 [J]. 马铃薯杂志, 1997, 11 (1): 23—25.

THE ESTIMATING METHODS OF PARASITIC FITNESS OF *PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONTAGNE) DE BARY

YUAN Jun-hai¹, ZHAO Mei-qi², YAO Yu-qi³, LIANG De-lin³

¹Department of Agronomy of Zhangjiakou Agricultural College, Hebei Xuanhua 075131;

²Department of Phytopathology of China Agricultural University, Beijing 100094;

³Academy of Agricultural Science of Inner Mongolia, Inner Mongolia Huhhot 010031)

ABSTRACT: In field experiment, four methods were conducted to estimate the parasitic fitness of *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary. The results showed that methods more suitable to this pathogen were area under the disease progress curve and disease population for their operating easily and giving reasonable result. Among isolates, it was found that pathogenicity of C⁵ and C¹⁹ was generally higher than that of C⁶. As to cultivars, the resistance of Bashu No. 10 and Yidunqing to *P. infestans* (Montagne) de Bary was found to be the highest, and that of Wuhua and Bashu No. 9 was lower than that of the former. The resistance of Favorita was the lowest. Also, some related problems in the estimation were discussed.

KEY WORDS: potato, *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary; parasitic fitness