



# 马铃薯

MALINGSHU

## 早疫病和黑痣病研究

ZAOYIBING HE HEIZHIBING YANJIU

台莲梅 孙冬梅 著

HEUR 哈尔滨工程大学出版社

# 马铃薯早疫病和黑痣病研究

台莲梅 孙冬梅 著

 哈尔滨工程大学出版社

## 内 容 简 介

马铃薯早疫病和黑痣病是马铃薯生产中的主要病害,发病重的年份对马铃薯产量影响较大,因此,本书对马铃薯早疫病和黑痣病研究进行了较系统的阐述。本书内容分两篇,共 12 章,包括马铃薯早疫病研究现状,马铃薯早疫病菌生物学特性,马铃薯早疫病菌遗传多样性,马铃薯早疫病菌致病力分化,马铃薯早疫病菌致病的生理生化机理,马铃薯抗早疫病生理生化机制,马铃薯早疫病的防治;马铃薯黑痣病的研究现状,马铃薯黑痣病菌遗传及生物学特性,立枯丝核菌对马铃薯的侵染与致病,马铃薯黑痣病菌拮抗微生物的分离与研究,马铃薯黑痣病的生物防治效果。

本书可供农科领域的科技人员、研究生、农业生产技术人员参考使用。

## 图书在版编目(CIP)数据

马铃薯早疫病和黑痣病研究/台莲梅,孙冬梅著  
—哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社,2017.5  
ISBN 978-7-5661-1520-1

I. ①马… II. ①台… ②孙… III. ①马铃薯—早疫病—防治 ②马铃薯—植物真菌病—防治 IV. ①S435.32

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 115408 号

选题策划:刘凯元  
责任编辑:张忠远 付梦婷  
封面设计:博鑫设计

---

出版发行 哈尔滨工程大学出版社  
社 址 哈尔滨市南岗区东大直街 124 号  
邮政编码 150001  
发行电话 0451-82519328  
传 真 0451-82519699  
经 销 新华书店  
印 刷 北京中石油印刷有限责任公司  
开 本 787 mm × 1 092 mm 1/16  
印 张 11.25  
字 数 278 千字  
版 次 2017 年 5 月第 1 版  
印 次 2017 年 5 月第 1 次印刷  
定 价 35.80 元

<http://www.hrbeupress.com>

E-mail: [heupress@hrbeu.edu.cn](mailto:heupress@hrbeu.edu.cn)

---

# 前 言

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是世界上仅次于小麦、水稻和玉米的第四大粮食作物,马铃薯因其分布广泛、适应性强、产量高、营养丰富而宜粮、宜菜、宜饲、宜做工业原料,具有多种用途。随着全球经济的发展,马铃薯在各国经济中所占的地位也越来越重要。全世界有三分之二以上的国家在种植马铃薯。我国马铃薯种植主要分布在黑龙江、内蒙古、山西、重庆、湖北、河北、云南、贵州和四川等省市,已成为世界上马铃薯生产第一大国。马铃薯早疫病与黑痣病是马铃薯生产中的常见病害,在世界各马铃薯种植区均普遍发生。近年来,随着我国马铃薯种植面积扩大和一些主产区多年连续种植,马铃薯早疫病与黑痣病常年发生。马铃薯早疫病病害主要危害马铃薯的叶片,也可危害茎和薯块,发病严重地块发病率高于80%,减产可达30%以上;马铃薯黑痣病主要危害马铃薯的幼芽、茎基部和块茎,发病率从13%~90%不等,一般可造成马铃薯减产15%左右,严重时则全田毁种。

尽管国内外学者对马铃薯早疫病和黑痣病的研究已有一些报道,有关马铃薯早疫病的报道主要集中在病菌鉴定、毒力测定及田间防治等方面,但有关马铃薯早疫病菌生物学特性、致病力分化、病菌致病作用及寄主抗性机理尚缺乏系统研究;有关黑痣病的研究也主要集中在病菌鉴定、毒力测定及化学防治与生物防治等,但鉴于丝核菌的遗传多样性,不同地区黑痣病菌的研究还缺乏系统性。本书内容旨在为马铃薯抗早疫病与黑痣病育种及病害防治提供理论依据,对促进我国马铃薯产业化发展具有重要的现实意义。

本书由黑龙江八一农垦大学台莲梅、孙冬梅合著。专著分两篇,共12章,其中,第1篇中的第2章至第6章由台莲梅撰写,第1篇中的第1章、第7章,第2篇中的第8章至第12章及参考文献由孙冬梅撰写。

本书是在黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12541587)、黑龙江八一农垦大学博士启动基金项目(XDB2012-01)、黑龙江省农垦总局重点攻关项目(HNK135-02-08-04, HNK125B-03-02)、黑龙江省农垦总局攻关项目(HNK11A-05-06)的资助下完成的。

著者将马铃薯早疫病与黑痣病多年的研究进行了总结,以期和国内同行进行交流,使马铃薯早疫病与黑痣病的研究更加深入,为更好地防治病害奠定坚实的基础。

著者对在研究过程中提供过帮助的人员表示诚挚的谢意!

由于专业水平有限,书中难免有疏漏和不足之处,真诚希望同行提出宝贵意见。

著 者

2016年11月

# 目 录

## 第 1 篇 马铃薯早疫病

第 1 章 马铃薯早疫病研究现状 .....	3
1.1 分布与危害 .....	3
1.2 症状 .....	3
1.3 病原菌 .....	3
1.4 病害循环 .....	5
1.5 发病条件 .....	6
1.6 预测预报 .....	6
1.7 诱导抗性 .....	7
1.8 防治 .....	7
第 2 章 马铃薯早疫病菌生物学特性 .....	9
2.1 马铃薯早疫病调查及病菌分离鉴定 .....	9
2.2 马铃薯早疫病菌菌丝生长条件 .....	14
2.3 马铃薯早疫病菌产孢条件 .....	24
2.4 马铃薯早疫病菌分生孢子萌发条件 .....	29
第 3 章 马铃薯早疫病菌遗传多样性 .....	35
3.1 马铃薯早疫病菌 RAPD 反应体系优化 .....	35
3.2 马铃薯早疫病菌 ISSR 反应体系优化 .....	40
3.3 马铃薯早疫病菌遗传多样性分析 .....	44
第 4 章 马铃薯早疫病菌致病力分化 .....	52
4.1 马铃薯早疫病品种抗性鉴定 .....	52
4.2 离体叶片接种发病条件研究 .....	54
4.3 马铃薯早疫病菌菌株致病力比较 .....	56
第 5 章 马铃薯早疫病菌致病的生理生化机理 .....	63
5.1 马铃薯早疫病菌产毒培养条件筛选 .....	63

5.2	早疫病菌毒素对马铃薯叶片的致病作用	68
5.3	马铃薯早疫病菌细胞壁降解酶产生的条件筛选	73
5.4	病菌在寄主体内产生细胞壁降解酶活性分析	79
<b>第6章</b>	<b>马铃薯抗早疫病生理生化机制</b>	<b>87</b>
6.1	马铃薯感染早疫病菌后防御酶活性变化	87
6.2	马铃薯抗早疫病相关生理物质含量变化	92
<b>第7章</b>	<b>马铃薯早疫病的防治</b>	<b>96</b>
7.1	杀菌剂对马铃薯早疫病菌毒力测定	96
7.2	杀菌剂混配对马铃薯早疫病菌增效毒力测定	99
7.3	马铃薯早疫病的田间防治效果	104

## 第2篇 马铃薯黑痣病

<b>第8章</b>	<b>马铃薯黑痣病的研究现状</b>	<b>115</b>
8.1	分布与危害	115
8.2	症状	115
8.3	病原菌	115
8.4	病害的发生与致病机制	117
8.5	马铃薯黑痣病研究的防治	118
<b>第9章</b>	<b>马铃薯黑痣病菌遗传及生物学特性</b>	<b>120</b>
9.1	黑痣病菌的分离及遗传多样性	120
9.2	马铃薯黑痣病菌生物学特性研究	127
<b>第10章</b>	<b>立枯丝核菌对马铃薯的侵染与致病</b>	<b>133</b>
10.1	马铃薯丝核菌的侵染与发病	133
10.2	不同来源立枯丝核菌对马铃薯的致病能力	135
<b>第11章</b>	<b>马铃薯黑痣病菌拮抗微生物的分离与研究</b>	<b>142</b>
11.1	拮抗细菌的分离与研究	142
11.2	拮抗放线菌的分离与研究	148
<b>第12章</b>	<b>马铃薯黑痣病的生物防治效果</b>	<b>157</b>
12.1	不同拮抗菌对马铃薯黑痣病生物防治效果	157
12.2	马铃薯拌种剂对马铃薯黑痣病的影响	160
<b>参考文献</b>		<b>167</b>

# 第 1 篇 马铃薯早疫病





# 第1章 马铃薯早疫病研究现状

## 1.1 分布与危害

马铃薯早疫病(简称早疫病)是马铃薯常见的一种世界性病害,在世界各马铃薯产区分布都较为普遍。马铃薯早疫病的病原菌除侵染马铃薯外,还可侵染番茄、茄子、龙葵、烟草等多种作物。早疫病多发生在马铃薯生长后期,在开花期发病,使叶片提前干枯,降低马铃薯产量;严重时个别地块全田无收。近年来,早疫病在许多马铃薯产区频繁发生并有上升趋势。它在一般年份可造成马铃薯减产5%~10%,病害严重年份产量减产甚至达到30%或更多。此外,由茄链格孢菌引起的贮藏期马铃薯块茎腐烂也是马铃薯产业的一个严重的问题,在一些地区,贮藏中的块茎损失甚至能达到30%。Haware 进行马铃薯早疫病产量损失试验结果表明,马铃薯早疫病的病情越严重,产量损失越严重,病害严重度为25%时,产量损失6%;病害严重为50%时,产量损失20%;病害严重为100%时,产量损失为40%。

## 1.2 症状

早疫病主要危害叶片,也可危害茎、叶柄和薯块。发病时下部老叶先发病,产生褐色、凹陷的小斑点,与健康部分分界明显,周围有细窄的黄色圈,后扩大成椭圆形病斑,大小3~4 mm,有清晰的同心轮纹。湿度大时,病斑上生出黑褐色霉层(分生孢子梗和分生孢子)。严重时,各个病斑相互连接,但受叶脉限制成三角形或不规则形,叶片变黄、干枯,最后脱落。新病斑的出现和老病斑的扩展导致叶片褪绿,坏死。这样病害对叶片的危害大大超过病斑实际上对组织的破坏。

块茎受害时产生暗褐色,稍凹陷,圆形或近圆形病斑,边缘明显,皮下呈浅褐色海绵状干腐。贮藏后常为其他微生物侵染而腐烂。

## 1.3 病原菌

### 1.3.1 病原菌生物学特性

病原菌为茄链格孢菌(*Alternaria solani*(Ell. et Mart.) [Jones et Grout]),属无性菌类,丝孢纲,丛梗孢目,暗色孢科,链格孢属真菌。肖娉玉等研究表明,茄链格孢菌生长温度范围为5~35℃,最适温度为26~29℃;在全光照条件下,菌丝生长最快;黑暗中菌丝生长最慢。同时,也测定了不同碳源和氮源物质对菌丝生长的影响,其结果为半乳糖和硝酸钾对菌丝生长最有利;在pH值范围为3.7~8.7,该菌均可以生长,最适生长的pH值为5.9~7.9。

想要研究植物病害和抗病育种,首先要研究病原菌孢子萌发。Stevenson 等研究,茄链格孢菌的分生孢子在相对湿度大于等于96%、温度为25℃时萌发较好。光照对孢子萌发有抑制作用,随着光照强度和光照时间的增加,对孢子萌发的抑制作用越强,孢子的萌发对

日光的波长也有选择性。

茄链格孢菌在一般人工培养基上不易产生孢子。但在温室内进行马铃薯品种抗性筛选、室内药剂筛选及研究早疫病菌时,需要一定数量的孢子。因此,国内外一些学者对如何诱导早疫病菌产生大量的孢子进行了研究,如以切割菌丝、培养基脱水、各种光照射以及化学处理等技术来提高产孢量。

Douglas 等将 2 mm × 2 mm 的菌丝块移接到改良的 PDA 培养基(简称 PDA)上,在 20 ~ 26 °C 条件下置于日光灯下照射 10 ~ 12 d,再取出一定数量的菌丝块转入装有无菌水的三角瓶中,振荡 1 min 后,取 1.5 mL 菌液放在新鲜的土豆泥培养基中,置于 20 °C 条件下,光照培养 6 ~ 8 d,便可形成大量的分生孢子。Shahin 等用切割菌丝法将在 PDA 上培养的菌丝块转接到新的 PDA 上,在 25 °C 黑暗条件下培养 48 ~ 72 h 后,将边缘的菌块转到 S - medium 上(每 1 L 水 20.0 g 蔗糖,30.0 g CaCO<sub>3</sub>,20.0 g 琼脂,pH = 7.4),18 °C 黑暗培养,1 d 即可形成大量孢子。或菌丝块转入产孢培养基内,并加入 2 mL 无菌水,放在 18 °C 黑暗培养 1 ~ 3 d,便可产生大量分生孢子。Shahin 指出,低温 18 °C 时,菌丝体受到损伤,黑暗培养后,在培养基表面添加 2 mL 无菌水是孢子萌发的重要条件。朱宗源等在研究诱导茄链格孢菌分生孢子形成时,将在 PDA 上生长 2 d 的菌丝块,转接到不同培养基上,培养皿置于日光灯(1 556 Lux)下接受光照(距离为 15 ~ 18 cm),照射时间分别为 4 h,6 h,10 h,12 h,14 h,16 h,以黑暗作对照,温度控制在 25 ~ 28 °C;然后将培养皿放入不同温度下,培养 10 ~ 12 h。其试验结果表明,一定的光照时间可促进分生孢子梗的形成,经过一定时间的光照,然后放在 18 °C 黑暗条件下培养,12 h 就可产生大量的分生孢子,光照 8 h,10 h,12 h 处理产生孢子的数量较多。Liu 等在研究提高茄链格孢菌产孢的方法中发现,在低温条件下,当 V8 汁液琼脂培养基上菌丝体受到损伤,可增加分生孢子形成的数量,并且 pH 值为 7 的培养基产孢量最多。Demirci 研究了影响茄链格孢菌产孢的因素,认为最适宜病菌产孢的培养基马铃薯叶片汁液琼脂培养基,变温处理可促进孢子的产生。

1973 年,Bhawani 等指出,当培养生长成熟的菌丝浸在或喷洒热的或冷的蒸馏水中,然后,一部分菌丝用不同温度的水处理,菌丝分别浸入蒸馏水中或喷洒蒸馏水。浸在冷水(4 °C)4 min 或喷洒冷水(4 °C)或热水(58 °C),然后放在 13 ~ 26 °C 的日光下,60 h 内可产生最大量的孢子。Bhawani 等于 1974 年报道,采用白炽电灯、红外线和日光等不同光源,发现日光能诱导带盖培养皿内的茄链格孢菌产孢。产生孢子能力与菌龄、生长时期有关,光照的时间长短和次数也影响孢子的产生,培养 6 d 生长成熟的茄链格孢菌经 60 min 的日光照 1 次,24 h 后可产生大量孢子。Brij 用可见光照射诱导茄链格孢菌 3 株菌产生分生孢子。菌株对日光灯和荧光灯反应不同,光照强度、光照持续时间、光照期间的温度等对孢子产量和孢子大小有相当大的影响。紫外光可诱导 3 株茄链格孢菌中的 2 株产生丰富的孢子,刮除菌丝比不刮菌丝产孢多。幼嫩的菌丝比老熟的菌丝对紫外线更敏感,所以成熟比不成熟茄链格孢菌更能耐受长时间的照射。木田雄一等认为,诱导马铃薯早疫病菌形成分生孢子的作用光谱波长在 230 nm 和 290 nm 附近最有效。Sudesh 等将培养 5 d 的马铃薯早疫病菌曝露在阳光下 40 min,然后用红外线照射 60 min。连续处理三次,每个培养皿能产生  $1.5 \times 10^5$  个孢子。

### 1.3.2 茄链格孢菌遗传多样性研究

Tiffany 等用 RAPD-PCR 技术分析了来自马铃薯和番茄上的 35 株茄链格孢菌的遗传变异。结果表明,在茄链格孢菌种群之间有非常高的显著的遗传距离,认为种群可能存在专化性。Petrunak 鉴别了来自美国的 96 个群体中 22 个基因型,它们之间的遗传距离是 0.35。Vander 等对来自南非不同马铃薯产区的茄链格孢菌菌株的遗传变异进行了研究,发现大部分菌株的毒性水平不高,19 株菌株通过植物亲和性试验,指出菌株之间有相对高的变异水平,随机扩增微卫星多态性显示 46 个菌株中存在 27% 的遗传多样性。在南非,茄链格孢菌菌群的高度变异,表明病菌具有高的潜在适应品种抗性和杀菌剂的能力。Kumar 等对来自印度番茄早疫病病菌 (*Alternaria solani*) 的 11 个菌株的致病性和分子变异进行了研究,发现不同菌株的毒性是不同的。Rapid 通过对茄链格孢菌的分析,指出来自印度的番茄早疫病病菌菌株是高变异的。Sim'on 等通过 AFLP 对来自番茄和马铃薯共 112 个分离株遗传变异性进行了研究和分析,这些菌株来自古巴、美国、巴西、土耳其、希腊和中国,也包括链格孢菌的其他种,如来自巴西、加拿大和俄罗斯的葱链格孢菌、链格孢菌和一个弯孢霉的种。UPGMA 聚类分析显示,茄链格孢菌和其他所有的种有分化。在茄链格孢菌分离株之间,会形成 2 个不同的簇,根据显著的高度起源,根据各自的茄科寄主可再分。因为来自马铃薯的分离株对番茄的致病性不如来自番茄的分离株,所以研究者们认为茄链格孢菌可能存在寄主专化性。

### 1.3.3 茄链格孢菌的毒素研究

茄链格孢菌可以产生毒素。李树正等分离并提纯了茄链格孢菌的致病毒素,对纯品进行分析,证明茄链格孢菌的毒素是交链孢酸 (*Alternaria acid*)。交链孢酸是茄链格孢菌与寄主相互作用的产物,是一种半醌衍生物。交链孢酸大于等于  $1 \mu\text{g}/\text{mL}$  时可诱导番茄早疫病症状,并随着浓度的增加发病严重。Langsdorf 研究了交链孢酸对番茄细胞亚显微结构的影响,交链孢酸能改变胞间连丝附近原生质膜的形态和生理特性,并且引起原生质膜渗透率的改变,导致电解质渗漏。

## 1.4 病害循环

马铃薯早疫病病菌以菌丝和分生孢子在病薯和土壤中的病残体或其他茄科植物上越冬。Rands 经研究证明茄链格孢菌分生孢子能在冰冻的土壤表层和地下 5~20 cm 处存活。第二年,当温度比较适宜时,早疫病病菌将产生大量新的孢子,这就是初侵染源。种薯发芽后,种薯上所带的病菌,首先侵染子叶,然后侵入胚轴,最后到达茎部和叶片上。病菌的分生孢子主要借风、雨等传播。在风雨条件下分生孢子可通过叶表皮直接侵入、气孔或伤口侵入的方式对马铃薯植株进行侵染。病菌侵入寄主,2~3 d 可形成病斑,再过 3~4 d 可产生大量的分生孢子,引起多次重复再侵染。在生长季节早期,初侵染发生在较老的叶片上,然后是幼嫩组织。

雷玉明等就甘肃河西灌区的田间早疫病的发生规律进行了调查。结果表明,5 月 15 日出苗后,早疫病就开始发生;6 月中下旬显蕾期,叶片病斑数量开始增加;8 月中旬终花期,叶片病斑增多,多出现轮纹,并向茎秆扩展,病斑上产生灰黑色霉状物;8 月下旬至 9 月上旬为成熟期,病斑数量不再增加,但病斑同心轮纹明显,霉层清晰可见,随后叶片干枯,植株死亡。

## 1.5 发病条件

### 1.5.1 生育期与发病的关系

马铃薯植株在不同生育期抗病性不同。其在苗期至孕蕾期较抗病,始花期开始抗性减弱,盛花期至生长期抗性最弱;早熟品种抗性弱,晚熟品种抗性强。此外,早熟品种比晚熟品种的症状发展更快,菌丝产生的孢子更多。早疫病常发生在结果初期,结果盛期病害发生严重,而此时植株大量的营养都输送到块茎,使叶的光合产物含量很低,所以叶片容易被早疫病菌侵染。

### 1.5.2 气象条件与发病的关系

气象条件对马铃薯早疫病的发生和流行影响较大,气象条件适合会让早疫病大面积流行。Jones 的研究发现,温暖、潮湿的环境条件有利于马铃薯早疫病的发展。张建平通过马铃薯早疫病菌分生孢子的空气捕捉、病害系统观察及降雨条件的记载,发现茄链格孢菌分生孢子在马铃薯整个生长期内均有传播,其发展呈“波浪”式增长,每次增长均是在雨后 2~3 d 内。马铃薯生长前期(5~6 月份)降雨的数量及频次是决定以后是否会大量发病的重要因素,并且研究表明前期降雨对整个马铃薯早疫病菌分生孢子的传播数量起着决定性作用,如果前期有较多的降雨,而且每次有一定雨量,相对湿度超过 80%,平均气温 15~30℃,早疫病情迅速发展;马铃薯生长后期,雨季来临便马铃薯早疫病有极大可能发生。北半球 7~8 月温度偏高,发病重,这与室内病菌在 20~30℃ 条件下发育快相吻合。天气无论干旱还是潮湿,早疫病均可发生,但在相对湿度超过 60% 时,病斑扩展迅速。阴雨或连续 3~7 d 阴天后,若有 2~3 d 晴天,叶片上就易出现病斑。由此阴雨与晴天交替,有利于病斑形成。

### 1.5.3 耕作栽培与发病的关系

一般连作地发病较重。马铃薯连作时间越长,发病越早,病情越重。经调查,若重茬 2 年,早疫病发病率和病情指数平均为 25.3% 和 16.33;重茬 3 年,发病率和病情指数分别是 47.6% 和 43.5%。

此处,田间浇水多可加重发病。田间湿度过大不利于马铃薯根系及块茎的发育,有利于病害发生。经调查,覆盖地膜且浇水 2 次的种植地,田间发病率为 19.47%,病情指数 13.2;浇水 3 次的发病率则为 31.1%,病情指数 24.2。施肥过多,则会造成植株生长茂盛,田间郁闭,早疫病发生概率大。

## 1.6 预测预报

Shtienberg 等建立了预测马铃薯早疫病模拟模型,并用几套独立的数据验证其有效性。其所用数据来源于美国纽约州中部的田间试验,验证程序包括直观比较病情进展曲线,以及病情进展曲线下预测值和观测值面积比(AUDPC)的回归分析,用于驱动模型的初始参数和输入数据反映美国东北部特有的作物、病害和天气,且各模型的初始参数在所有试验中都是一致的。其植株生长期(从播种至枯死)为 102 d,当出苗率为 50% 时,时间为播种后第 18 d,始病期为每 10 株 1 个病斑,根据每年当季天气分别确定初始病害明显可见的日期。

模型模拟了感病品种每周施药和中抗品种5种不同施药方案的早疫病发生情况。中抗品种的施药间隔期可以从每隔7 d喷一次,延长到每隔17 d喷一次,那么在一个生长期就可减少施药。谢成君等人利用宁南山区18年马铃薯早疫病流行程度和西吉县气象资料,采用多因子综合分析法,对马铃薯早疫病流行程度进行预测,所得的数据总结可知其历史拟合率达95.0%,精确率达97.0%。在病害盛发前做出预报,有利于指导大田的防控工作。

## 1.7 诱导抗性

近年来,有许多关于利用各种非生物因素和生物诱导植物增强抗病性的研究报道,诱导马铃薯块茎增强抗病性也已有一些报道。高冬婷等利用苯酚、对氨基苯甲酸和苯甲酸等3种芳香族类化合物作为激发子,对马铃薯块茎诱导处理。结果表明,3种化合物均在较低浓度下具有较强的诱导抗病作用,苯酚、苯甲酸和对氨基苯甲酸分别在1 mmol/L、0.01 mmol/L和5 mmol/L时诱导的抗性较高,分别达到43.21%、40.72%和28.75%,与对照差异极显著。诱导处理后,马铃薯块茎过氧化物酶(POD)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性均明显高于对照,这表明这些化合物可能通过增加马铃薯体内POD和PAL的活性,发挥其诱导抗病作用。刘洋等以草酸、KCl、FeSO<sub>4</sub>、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>作为激发子,对马铃薯块茎诱导,研究马铃薯对早疫病的抗性及其机理。结果表明,草酸、KCl、FeSO<sub>4</sub>均可诱导马铃薯块茎产生抗性,但K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>不能诱导马铃薯块茎抗早疫病。浓度为20 mmol/L的草酸,保护率达到49.38%;浓度为80 mmol/L的KCl,保护率达到52.94%;浓度为40 mmol/L的FeSO<sub>4</sub>,保护率达到51.51%。经过草酸、KCl、FeSO<sub>4</sub>诱导处理后,马铃薯块茎中的POD、PAL、PPO的活性明显增高,这说明诱导后可能通过提高这3种酶的活性起到抗病作用。

## 1.8 防治

### 1.8.1 选用抗病品种

在目前推广的品种中,尚未有免疫抗病品种,要根据区域选择不同的抗病品种。雷玉明等经过2年对引进试种的32个品种田间早疫病发生情况调查。调查结果表明:在每年5月中下旬至6月中旬发病,发病率在5%~10%的品种有中农9号、禾木斯、内薯3号、克新4号、克新19号、中农3号、丰自、渭薯1号等;发病率在10%~20%的品种有大西洋、克新17号、克新20号、夏波蒂、中薯10号等;发病率在20%~30%的品种(系)有内1533、铃W88、0034、F1533等。7月中旬,发病率在45%~55%品种有大西洋、内薯3号、内1533、坝薯8号、F1533、夏波蒂等,0034发病率超过60%。开花后期,田间未发病的品种(系)有晋薯14号、晋薯7号、1998-1-1、同薯23号、同薯20号、陇薯6号、陇薯3号。成熟前期供试的32个品种均有不同程度的发病,发病率超过85%的有大西洋、夏波蒂、铃田88等10个品种。

### 1.8.2 农业防治

水分供应好坏和马铃薯植株生长健壮程度直接影响马铃薯早疫病病害流行。通过合理的栽培管理、控制田间湿度、保持田园卫生、合理施肥、合理轮作等,可以有效地降低马铃薯早疫病病害的发生,减轻经济损失。Workman等研究发现,适当晚收,可以确保马铃薯块茎成熟和减少块茎损伤,减少病菌的感染。目前,我国一些地区在生产中采用适当晚播来减轻马铃薯早疫病发生,原因是晚播破坏了由初染源而产生的分生孢子的寄主环境,阻断

早疫病的周期循环,菌源累积数量减少,极大地降低了初侵染,从而减弱了马铃薯生长季节早疫病的发病程度。世界上,许多马铃薯生产大国都主要利用加大株行距、增加培土厚度、割秧等农业栽培措施防治马铃薯早疫病,也取得了一定成效。Barclay 等报道氮肥和磷肥对马铃薯早疫病的发生有一定的影响。Soltanpour 等研究结果表明,当马铃薯植株在获得氮肥和磷肥的基础上,喷洒杀菌剂能更显著地提高产量。喷雾和肥料应用都能降低叶片被早疫病菌感染的百分比,然而,杀菌剂的效果好于肥料的效果。

### 1.8.3 合理贮藏

收获充分成熟的薯块,应尽量减少收获和运输中的损伤,并在适宜的条件下贮藏。Nnodu 等研究贮藏温度对马铃薯块茎感染早疫病的影响,认为贮藏环境的控制可以提供良好的条件,使收获后马铃薯块茎创伤立刻愈合,减少茄链格孢菌侵染块茎。块茎先在 15.6 °C 贮藏 3 周,最后在 10 °C 贮藏,比贮藏在 10 °C 或 4.4 °C 或者以这些温度变化的周期预先贮藏,可以减少损害。马铃薯先在低温(4.4 °C)贮藏 1~3 个月,会导致更多的茄链格孢菌侵染,并认为低温抑制创伤愈合。

### 1.8.4 化学防治

化学防治是植物保护的主要措施之一。特别是在病害严重发生而其他防治方法又不能立即奏效的情况下,化学药剂防治也是防治马铃薯早疫病最有效的措施之一。

Lutman 经过多年的杀菌剂喷雾试验,发现波尔多液混配剂能有效控制马铃薯早疫病。Goss 发现利用波尔多液混配剂防治马铃薯早疫病是必要的。但后来又发现了古老的铜制剂对作物有危害,波尔多液混配剂能防病,但同时会对作物伤害较大。随后硫代氨基甲酸盐类杀菌剂的问世,增加了杀菌剂对作物的安全性。硫代氨基甲酸盐类杀菌剂如代森锌、代森锰、代森锰锌等对马铃薯早疫病的防治很有效,其作用机理是抑制含巯基酶的活性,对绝大部分植物病害具有较好的防治作用。Monity 等采用百菌清、敌菌丹和代森锰防治马铃薯早疫病,病害发生显著降低,当早疫病被控制时,产量增加 18%~39%。

1909 年, Milward 在威斯康星州建议喷雾应该在 8 月 15 日;而 Rands 在 1917 年推荐杀菌剂第一次应用应该在马铃薯植株生长 20~26 cm 高时,在科罗拉多州建议控制病害应该在植株生长的开花期早期,在爱达荷州病害第一次防治应能够观察到早疫病。Harrison 等在马铃薯生长的各个时期(5 月~8 月)进行喷药,结果表明,适当时间喷药 2~3 次与在整个生育期喷 5~7 次能同样有效地控制早疫病。在整个早疫病控制过程中,早期喷雾不是很重要。有效地喷雾时间是在刚开始发生或接近第二次传播的时候。此试验证明,适时喷雾控制早疫病优于早期开始喷雾和比较晚的喷雾,并能降低成本,所以 Hamison 建议应该通过孢子捕捉技术来判断指导田间防治。Harrison 等进一步研究后发现,用孢子捕捉器是指导杀菌剂初始时间控制早疫病的有效手段。这种技术简单可靠。通过这种方法的使用,少量次数的喷雾就能有效地控制早疫病,而不是用植物生长时期指导杀菌剂的粗糙应用。

Lahman 等研究表明,收获前化学药剂应用能明显地减少茄链格孢菌孢子在土壤表面的活性和能降低田间马铃薯块茎的感染。Harrison 等研究收获后化学处理控制块茎感染早疫病菌,结果表明,收获后克菌丹、次氯酸钠、二氧化氯、毒菌锡、敌菌丹和异菌脲应用,能显著降低块茎感染早疫病菌。

## 第2章 马铃薯早疫病菌生物学特性

马铃薯早疫病(potato early blight)属世界性病害。Zachmann 等报道,一般年份马铃薯减产5%~10%,病害严重年份产量减产可达50%以上。Workman 等报道,茄链格孢菌引起的马铃薯块茎腐烂成为马铃薯产业的一个严重的问题。在一些地区,贮藏中块茎损失达到30%。关于马铃薯早疫病的研究多见于国外的报道,主要在诱导病菌产孢、马铃薯抗性筛选、田间病害防治等方面研究较多,关于该病菌生物学特性的研究较少。近年来,马铃薯早疫病对我国马铃薯生产影响较大,尤其是对我国北方马铃薯生产造成严重损失。随着种植业作物结构的调整,马铃薯种植面积正不断扩大,所以马铃薯早疫病的发生逐渐成为马铃薯产业发展的障碍。马铃薯早疫病菌的生物学特性研究是重要的基础性工作,对深入探讨病原菌的变异以及致病机制,马铃薯早疫病的发生规律和防治措施等具有十分重要的意义。

为此,本章首先对该病菌的培养性状及生物学特性进行研究,为后文生理分化的研究奠定基础。

### 2.1 马铃薯早疫病调查及病菌分离鉴定

#### 2.1.1 材料与方法

##### 1. 病害调查

2007—2008年8月和9月在黑龙江绥化、海伦、讷河、大庆、安达、加格达奇、嫩江农场、鹤山农场以及克山农场共九个点,分别采集不同品种马铃薯早疫病发病叶片,并对其中几个地点进行病害调查,每个地点调查2~3块地,采用5点取样方法,每点调查3株,记录病叶发病程度,计算出发病率、病情指数。

早疫病分级标准:

- 0 无病斑;
- 1 病斑面积占整个叶片面积的5%以下;
- 3 病斑面积占整个叶片面积的6%~10%;
- 5 病斑面积占整个叶片面积的11%~20%;
- 7 病斑面积占整个叶片面积的21%~50%;
- 9 病斑面积占整个叶片面积的50%以上。

##### 2. 病原菌的分离与纯化

采用组织分离法,将新鲜病叶在病健交界处剪成0.5 mm×0.5 mm的小块,浸泡在漂白粉和蒸馏水(1:14)的溶液中3 min,取出病叶放入马铃薯葡萄糖培养基平板(内含链霉素40 μg/mL)上,每皿5块,25℃恒温培养箱中黑暗培养。当菌落直径长到1~2 cm时,从菌落的边缘挑取一小块带有菌丝的培养基约为2~3 mm,再移接于马铃薯葡萄糖培养基上。

将分离出来的病菌,在无菌条件下,用直径0.5 cm的打孔器把培养在马铃薯葡萄糖培

培养基上的病菌打成多个菌碟,放入水琼脂培养基平板上,置于 18~20℃ 恒温培养箱黑暗培养 3 d,即可获得马铃薯早疫病菌的分生孢子。将分生孢子用无菌水配成孢子悬浮液,然后取灭菌的载玻片在其上涂抹一小薄层水琼脂,将少量孢子悬浮液滴在载玻片上的琼脂表面,用涂布器将其涂抹均匀,用灭菌刀片将其分割成一定数量的方块,在显微镜下镜检,找到只有一个孢子的琼脂块,用灭菌的无菌刀将琼脂块挑出移接到马铃薯葡萄糖平板培养基上,在 25℃ 培养箱中进行培养。4 d 后,在平板培养基上挑取单孢形成菌落,转入斜面试管培养保存。

然后参考《真菌鉴定手册》和《植物病原真菌学》,根据菌落形态、颜色,分生孢子梗和分生孢子大小及形态等对所分离的病菌进行鉴定。使用 OLYMPUS BX-51 型系统显微镜进行显微摄影。

## 2.1.2 结果与分析

### 1. 马铃薯早疫病发生调查

2008 年 8 月对几个地点的早疫病调查调查结果见表 2-1。马铃薯晚疫病从调查结果看,调查地点的早疫病发病率和病情指数均较高,只有嫩江农场喷代森锰锌、阿米西达、金雷共 4 次,发病率在 67%,病情指数为 11,其他调查点的早疫病发病率为 90%~100%,病情指数为 40~95。绥化调查点的品种尤金和富金发病非常重,叶片基本枯死,只剩顶端的几个叶片。嫩江农场和鹤山农场用药次数为 3~4 次,早疫病的病情指数较低,其他调查点田间喷药一般在 1~2 次或没喷药,且克露和金雷主要用于防晚疫病,对早疫病防效差,因此早疫病的病情指数高。

表 2-1 2008 年马铃薯早疫病调查情况

调查地点	调查品种	用药情况	发病率	病情指数
海伦	海伦 1 号	克露两次	96%	56
绥化	鲁引	多宁和金雷各一次	100%	71
	尤金	未用药	100%	95
	富金	多宁两次	100%	90
嫩江农场	研薯 4 号	代森锰锌两次、阿米西达、金雷各一次	67%	11
鹤山农场	中薯 5 号	代森锰锌、美生、金雷各一次	92%	43
讷河	花 525	代森锰锌、克露各一次	95%	57
克山农场	东农 303	未用药	94%	79

### 2. 病菌的分离与鉴定

从黑龙江省的 9 个地点种植的不同品种上采集早疫病病叶,分离并经单孢纯化得到纯培养,经鉴定,共获得 68 株早疫病菌。菌株编号、采集地点、寄主品种见表 2-2。



表 2-2 菌株编号及采集地点

序号	菌株编号	采集地点	寄主品种
1	SH0801	绥化	鲁引
2	SH0802	绥化	尤金
3	SH0803	绥化	尤金
4	SH0804	绥化	小黄麻子
5	SH0805	绥化	富金
6	SH0806	绥化	富金
7	HL0801	海伦	海伦 202
8	HL0802	海伦	克新 13
9	HL0803	海伦	克新 13
10	HL0804	海伦	鲁引
11	HL0805	海伦	鲁引
12	HL0806	海伦	早大白
13	HL0807	海伦	海伦 1 号
14	HL0808	海伦	海伦 1 号
15	JG0801	加格达奇	202
16	JG0802	加格达奇	202
17	JG0803	加格达奇	202
18	JG0804	加格达奇	202
19	JG0805	加格达奇	大西洋
20	JG0806	加格达奇	未知
21	JG0807	加格达奇	未知
22	JG0808	加格达奇	未知
23	KS0801	克山农场	克新 21
24	KS0802	克山农场	克新 21
25	KS0803	克山农场	克新 21
26	KS0804	克山农场	克新 21
27	KS0805	克山农场	克新 21
28	KS0806	克山农场	克新 13
29	KS0807	克山农场	克新 13
30	KS0808	克山农场	克新 16
31	KS0809	克山农场	克新 4
32	KS0810	克山农场	东农 303