

# 马铃薯晚疫病菌毒素与寄主品种抗性关系研究

杨艳丽<sup>1,2</sup>, 肖浪涛<sup>1</sup>, 胡先奇<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>湖南农业大学湖南省植物激素与生长发育重点实验室, 长沙 410128; <sup>2</sup>云南农业大学云南省植物病理重点实验室, 昆明 650201)

**摘要:** 【目的】明确晚疫病菌毒素对马铃薯的毒害作用, 及不同生理小种产生的毒素对不同抗病品种的毒性差异。【方法】将马铃薯晚疫病菌培养在液体培养基(每升用黑麦粒 60 g, 含 10% 番茄汁)中, 置于 17℃ 培养箱中黑暗培养 1 个月, 4 层纱布过滤, 滤液用 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 盐析, 透析后的液体为毒素液。将该毒素液作为介体来测定马铃薯 3 个品种(叶片和薯块)的抗性。【结果】接种该毒素的马铃薯的叶片和薯块产生的症状与接种马铃薯晚疫病菌孢子囊产生的症状相似。马铃薯品种不同对不同浓度的毒素稀释液和源于不同马铃薯晚疫病菌菌株的毒素的反应不同。推测毒素介导下马铃薯和晚疫病菌间的特异性是存在的。马铃薯的叶片和薯块对毒素的反应是不同的, 甚至是相反的。【结论】毒素介导下可能存在马铃薯和晚疫病菌间的特异性反应。

**关键词:** 马铃薯晚疫病菌; 毒素; 品种抗性

## Study on the Relationship Between the Toxin of *Phytophthora Infestans* and Resistance of Potato

YANG Yan-li<sup>1,2</sup>, XIAO Lang-tao<sup>1</sup>, HU Xian-qi<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Hunan Agricultural University, Hunan Provincial Key Lab of Phytohormones and Development, Changsha 410128;

<sup>2</sup>Yunnan Agricultural University, Key Lab of Plant Pathology in Yunnan Province, Kunming 650201)

**Abstract:** 【Objective】 This study is to make clear the poisoning effect of *phytophthora infestans* toxins for potato, and to discover the toxicity different from physiological race to potato varieties. 【Method】 Putative *P. infestans* toxins were prepared by culturing in liquid medium (60 g rye and 10% tomato juice per litre) for 1 month at 17°C, filtering through 4 layers of cheesecloth, and being precipitated by ammonium sulfate. The resulted putative toxin solutions were used to examine the reactions of 3 potato varieties (both leaf and tuber tissues) to the putative toxins. 【Result】 The results show that potato leaves and tubers exhibit symptoms similar to the late blight resulted from *P. infestans* infection. Potato varieties reacted differentially to both the toxin dilutions and toxins produced by different *P. infestans* isolates, suggesting the presence of toxin-mediated specificities between potato and *P. infestans*. Potato leaf and tuber tissues have different and contrary reactions to the toxin. 【Conclusion】 Toxin-mediated specificities are likely present between potato and *P. infestans*.

**Key words:** *P. infestans*; toxin; potato variety resistance

## 0 引言

【研究意义】植物病原毒素是植物病原菌产生的对寄主植物有毒性的代谢产物, 常以微量就能迅速引致损害, 能使寄主产生特定病症反应, 在植物病害的发生、发展过程中具有明显的作用, 是导致植物病害发生的主要因素之一。研究病菌毒素能深入了解病原

菌致病机理; 利用毒素作为选择压力进行品种抗病性测定, 能加速杂交组合后代和抗性突变体的筛选, 进而培育抗病品种, 加速培育抗病品种的进程。为更好地有效防治病害提供理论依据和基础研究, 为马铃薯抗病品种的选育提供新途径。【前人研究进展】马铃薯是世界第四大粮食作物, 仅次于水稻、小麦和玉米。由致病疫霉菌 (*Phytophthora infestans* de Bary) 侵染

收稿日期: 2008-10-06; 接受日期: 2009-01-07

基金项目: 科技部农业成果转化基金 (02EFN215300561)、云南省科技攻关项目 (2002NG09)

作者简介: 杨艳丽 (1965—), 女, 云南大理人, 博士研究生, 研究方向为马铃薯病害。Tel: 0871-5228404; E-mail: zqccn@yahoo.com.cn。通信作者胡先奇 (1965—), 男, 云南盐津人, 教授, 博士, 研究方向为植物病理学。Tel: 0871-5227700; E-mail: xqhoo@126.com

引起的马铃薯晚疫病是马铃薯生产中最严重的病害, 据 CIP 估计, 1996 年全球每年因马铃薯晚疫病的发生和流行给世界粮食生产造成的直接经济损失达到 170 亿美元, 晚疫病造成的危害性、防治难度及对社会影响已超过了水稻稻瘟病和小麦锈病, 被视为国际第一大作物病害<sup>[1-5]</sup>。中国是一个马铃薯生产大国, 其产量和面积均占世界第一位, 每年因马铃薯晚疫病造成的经济损失约 80 亿元人民币<sup>[6]</sup>。马铃薯晚疫病已经成为限制中国马铃薯生产和实现产业化的第一大障碍。自 20 世纪 40 年代发现 *Helminthosporium victoriae* 毒素以来, 有许多病原真菌毒素被发现。依据植物病原真菌毒素对寄主的毒害作用, 将其分为寄主专化性毒素 (host-specific toxin, HST) 和非寄主专化性毒素 (non-host-specific toxin, NHST)。到目前至少对 18 种寄主专化性毒素进行了深入研究, 对致病机理、分子结构等有了基本了解。Ciuffeet 等<sup>[7]</sup>研究了单基因编码的毒素对小麦黄斑病形成的作用, Takeshi 等<sup>[8]</sup>研究了 AK-toxin1 毒素的编码基因, 并能形成选择性毒素, Haring 等<sup>[9]</sup>从 *Verticillium albo-atrum* 和 *V. dahliae* 分离提取到蛋白质多糖复合物, 并确定其是马铃薯的非专化性毒素。卵菌中产生毒素的主要是真菌, 真菌中报道了非专性寄生的疫霉 (*Phytophthora* sp.) 和腐霉 (*Pythium* sp.) 毒素, 有 *P. nicotianae*、*P. capsici*、*P. citrophthra* 和 *P. drechsleri* f. sp. *cajani* 毒素<sup>[10]</sup>。Giuseppe 等<sup>[11]</sup>获得 *Phytophthora cactorum* 毒素 PcF, 并进行 cDNA 序列测定。近年来国内对 NHST 的报道多见于毒素培养条件及规模化生产条件的研究。谢丙炎等<sup>[12-13]</sup>、李海燕等<sup>[14]</sup>、肖淑芹等<sup>[15]</sup>、赵伟全等<sup>[16]</sup>、张瑞萍等<sup>[17]</sup>对辣椒疫霉 (*P. capsici*) 产生毒素的条件、提取方法、毒素性质测定等做了系统研究, 明确了辣椒疫霉毒素的分子量大小、含糖量和等电点等<sup>[13]</sup>。张淑珍等<sup>[18-19]</sup>对大豆疫霉 (*P. sojae megasperma*) 的产毒条件及生物测定进行了研究。黄丽华等<sup>[20]</sup>对烟草疫霉 (*P. parasitica* var. *nicotianae*) 的产毒条件进行了筛选。*P. infestans* 是卵菌纲中的专性寄生菌, 到目前发现其能产生对寄主植物有毒害作用的代谢产物, Cerato 等<sup>[21]</sup>用 *P. infestans* 高浓度培养液诱导体细胞无性系, 获得部分抗性诱导因子; Stolle 等<sup>[22-23]</sup>在接种 *P. infestans* 后的薯块中提取到用丙酮沉淀的热稳定的大分子, 并能使马铃薯的叶子及块茎发生晚疫病。程智慧等<sup>[24-25]</sup>报道了培养条件对马铃薯晚疫病菌毒素产生的影响, 并用粗毒素进行无性系筛选。【本研究切入点】为了明确马铃薯晚疫病菌毒素对马铃薯的毒害

作用, 以及不同品种对毒素的抗性, 本文以马铃薯 3 个品种为材料, 开展马铃薯晚疫病菌不同浓度粗毒素和精毒素对马铃薯的毒害作用研究。【拟解决的关键问题】晚疫病菌毒素毒害作用对马铃薯品种抗病性的影响, 晚疫病菌不同生理小种产生的毒素的毒性差异。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料<sup>[26]</sup>

供试菌株: 马铃薯晚疫病菌株 ZY15 (生理小种: 0 号)、LSX18 (生理小种: 8.10 号)、XH05-5-4 (生理小种: 2.4.8.9.10 号)。

供试马铃薯品种: 米拉 (Mira, 感病品种)、合作 88 (S88, 高抗品种)、滇薯 6 号 (PB06, 水平抗性品种)。

培养基: 黑麦培养基。

### 1.2 液体培养基的制备<sup>[27]</sup>

配制液体黑麦培养基, 黑麦粒 60 g、番茄汁 100 ml、CaCO<sub>3</sub> 1.2 g、pH 7.0、水 1 000 ml。分装于 500 ml 三角瓶中, 每瓶 200 ml。

### 1.3 粗毒素的提取

将各供试菌株扩繁, 待长满培养皿后, 打取直径为 0.6 cm 菌饼 3 块, 分别接种于培养基中, 每处理 5 次重复, 置于 17℃ 培养箱中黑暗培养 1 个月。无菌条件下, 用 4 层纱布过滤去掉菌丝体, 然后用定性滤纸 (中速) 过滤, 得到粗毒素备用。

### 1.4 精毒素的提取

采用 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 沉淀法<sup>[28]</sup>, 将盛有无菌培养滤液的烧杯放在一装有冰水混合液的大烧杯内, 置于磁力搅拌器上缓慢搅拌, 边搅拌边徐徐加入硫酸铵固体 (每 100 ml 培养滤液加入硫酸铵 55.9 g) 至 85% 饱和度, 继续搅拌 10 min, 使溶液充分混合, 4℃ 过夜。将处理的样品用高速低温离心机离心 15 min, (4℃, 10 000×g), 弃去上清液, 将沉淀用少量无菌双蒸水复溶, 离心除去变性蛋白。将蛋白样品装入透析袋中于 4℃ 下无菌双蒸水透析 24 h, 其间每隔 6 h 换透析液 1 次, 此提取样便为精毒素。

### 1.5 染色试验

选取 LSX18 菌株的粗毒素液 20 ml, 放于 9 cm 的培养皿中, 分别接种 Mira、S88、PB06 3 个品种的复叶 3 片, 待复叶出现症状后, 与健康叶片一起插入 1% 品红溶液中染色 10 min<sup>[29]</sup>。

### 1.6 生物测定

将粗毒素与精毒素母液用无菌水稀释 10、50、

100、150 和 200 倍，加原液共 6 个浓度梯度，用来接种 Mira、S88、PB06 3 个品种。采用叶片和薯块接种的方法对毒素进行生物测定。

**1.6.1 复叶接种法** 在每个品种的叶片上做标记，量取毒素液每个处理各 10 ml 于直径为 6 cm 的培养皿中，然后把做好标记的复叶柄插入毒素中，每个处理设 3 个重复。放入光照培养箱中，17℃，经常观察，如有水分蒸发，补充相应的去离子水，连续观察 8 d，2 d 纪录 1 次发病情况。

**1.6.2 薯块接种法** 将新鲜马铃薯块茎洗净，用 75% 酒精做表面消毒，酒精挥发后，将薯块切成厚度一致的薯片（0.3 cm 左右）放到 9 cm 的培养皿里，在薯片中央滴入毒素 20 μl，以接种孢子悬浮液（孢子囊数目 2 000~4 000 个/ml，接种量 20 μl）为对照，放入黑暗的培养箱，17℃培养 5 d，记录试验结果。

### 1.7 毒素对马铃薯的毒害作用

**1.7.1 叶片接种毒素效应** 试验重复进行 3 次，自己制定病级指标（与大田判定指标相吻合，采用病害级别）。调查叶片萎蔫坏死状况，把每片复叶的单叶总数做分母，出现病斑的单叶数做分子，将这个分数转换为百分数，作为严重度。根据严重度，把病级分为 10 级。分别为：0 级：无病斑；1 级：1%~14%；2 级：15%~24%；3 级：25%~34%；4 级：35%~44%；5 级：45%~54%；6 级：55%~64%；7 级：65%~74%；8 级：75%~84%；9 级：85%~100%。

**1.7.2 薯块接种毒素效应** 试验重复进行 3 次，自制定病级指标，调查薯块的发病状况，病级分为 6 级：1 级：无坏死；2 级：有坏死，坏死面积低于 20%；3 级：坏死面积低于 30%；4 级：坏死面积低于 50%；5 级：坏死面积低于 70%；6 级：坏死面积大于 70%。

## 2 结果与分析

### 2.1 染色结果

染色结束后切片观察，正常叶片染色后，在显微镜下可以看到维管束已被染为红色；而发病叶片的维管束上没有红色，只能看到坏死的维管束细胞。表明，被毒素毒害的叶片，维管束已经被毒素破坏，丧失了疏导功能，不能再输送品红，因此没有被染为红色（图 1）。

### 2.2 毒素对马铃薯叶片和薯块的毒害作用

毒素接种马铃薯叶片后，叶片上可产生类似于 *P. infestans* 侵染后产生的病斑。开始发病时，叶缘出现

水渍状病斑，之后逐渐向叶脉扩散形成大病斑。毒素接种薯块后，出现的症状和接种孢子后出现的症状相似，都是在接种点周围出现坏死，呈黑色晕圈，严重时薯片中心变成泡沫状。表明所提毒素对细胞有杀伤作用，据此可以推测在病菌感染马铃薯后，病斑的形成与毒素有关（图 2）。

### 2.3 粗毒素和精毒素对马铃薯叶片的毒害作用

用 *P. infestans* 的粗毒素和精毒素原样接种马铃薯叶片后，叶片出现的症状与晚疫病菌接种后产生的症状一致，且粗毒素和精毒素引发的症状也一致，精毒素的毒性强于粗毒素。但毒性强弱因寄主品种和菌株不同而有差异。3 个供试菌株的毒素都能毒害马铃薯品种 Mira、S88、PB06。其中 LSX18 菌株的毒性最强，XH05-5-4 次之，ZY15 最弱。Mira 受害最为严重，S88 次之、PB06 最轻。说明毒素的毒性由菌株所属生理小种决定，不同小种产生的毒素其毒力不同。同时，毒素毒力受品种抗性的影响，不同抗性的品种对毒素毒害的反应不同，感病品种 Mira 在接种 48 h 后不能抵抗源自强致病菌株 LSX18 的粗毒素和精毒素，96 h 后不能抵抗源自 LSX18、ZY15 和 XH05-5-4 的粗毒素和精毒素；水平抗性品种 PB06 能抵抗源自 ZY15 和 XH05-5-4 的粗毒素和精毒素，但对 LSX18 的精毒素抵抗力减弱，在接种 96 h 后病级达到 8 级，无抵抗能力；高抗品种 S88 在接种 192 h 前对源自 3 个菌株的毒素均表现抗性（图 3）。

### 2.4 毒素不同浓度对马铃薯叶片的毒害作用

用不同浓度的毒素接种 3 个供试马铃薯品种，随毒素原样稀释倍数的增加，马铃薯叶片发病率和病级明显降低。不同浓度毒素对马铃薯不同品种的毒性存在着差异，Mira 的平均发病率为 66%，平均病级达 4 级；PB06 和 S88 分别为 50.7% 和 52.7%，平均病级均为 2 级，水平抗性品种 PB06 和高抗品种 S88 的发病率明显低于感病品种 Mira。说明马铃薯晚疫病菌毒素对马铃薯的毒性与品种本身的抗病性强弱密切相关（表 1）。因此，毒素提取液可以作为品种抗性评价的选择压力。

毒素原样、稀释 10 倍、50 倍处理抗、感品种不论是抗病品种还是感病品种，叶片基部均出现维管束变褐，叶片边缘出现水渍状病斑，但叶片还保持绿色具有一定的生命力；处理 96 h，叶片均出现萎蔫；处理 192 h 后，部分叶片已经腐烂。稀释 100 倍的毒素液处理抗、感品种，抗、感品种之间的变化有一定的差异，感病品种的叶片轻度萎蔫，叶柄维管束开始变



a 和 c: 健康组织染色; b 和 d: 病组织染色; a 和 c: Control ; b and d: Toxicity by *P. infestans*

图 1 马铃薯叶片染色结果

Fig. 1 The dying results of potato leaves with fuchsin



a 和 c: 大田症状; b, d~f: 接种症状 a and c: Symptoms in field. b,d,e and f: Symptoms of inoculation by *P. infestans*

图 2 马铃薯晚疫病症状

Fig. 2 Symptoms of potato late blight

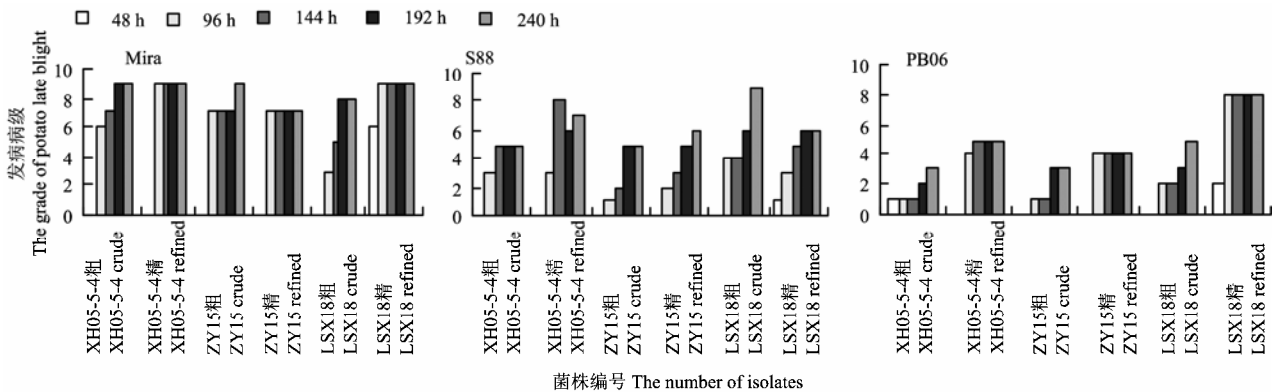


图 3 不同菌株毒素的毒力差异

Fig. 3 The difference of toxicity of toxin from different isolates

表 1 不同浓度的马铃薯晚疫病病菌粗毒素对不同抗性品种叶片的毒害作用

Table 1 The toxic action function of crude and precision toxin original sample of *P. infestans* on potato leaves

稀释浓度 Dilution concentration	品种 Varieties	处理时间及发病情况 Time and disease									
		48 h		96 h		144 h		192 h		240 h	
		发病率(%) Incidence rate	病级 Grade of disease	发病率(%) Incidence rate	病级 Grade of disease	发病率(%) Incidence rate	病级 Grade of disease	发病率(%) Incidence rate	病级 Grade of disease	发病率(%) Incidence rate	病级 Grade of disease
原样 Original concentration	Mira	0	0	100	3	100	5	100	8	100	8
10×		0	0	100	2	100	4	100	8	100	8
50×		0	0	0	0	100	4	100	8	100	8
100×		0	0	0	0	100	2	100	2	100	4
150×		0	0	100	4	100	4	100	6	100	7
200×		0	0	0	0	0	0	0	0	100	1
原样 Original concentration	PB06	0	0	67	2	67	2	100	3	100	5
10×		0	0	67	2	67	3	67	4	67	4
50×		0	0	67	1	100	3	100	3	100	4
100×		0	0	0	0	0	0	0	0	33	1
150×		0	0	0	0	100	2	100	2	100	5
200×		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
原样 Original concentration	S88	0	0	100	4	100	4	100	6	100	9
10×		0	0	100	3	100	3	100	6	100	6
50×		0	0	50	1	100	2	100	2	100	2
100×		0	0	0	0	50	1	50	1	50	1
150×		0	0	100	2	100	2	100	2	100	2
200×		0	0	0	0	50	2	100	3	100	4

褐; 抗病品种的叶片、叶柄维管束没有发现变化; 处理 96 h, 感病品种的叶片已经出现病斑, 抗病品种的叶片虽有病斑, 但是数量很少; 感病品种的叶片几乎都有病斑, 且病斑面积增大, 叶片深度萎蔫, 抗病品种的叶片仅在叶缘出现小面积的病斑, 且数量少叶片仍然保持绿色; 处理 192 h 后, 感病品种的病情进一步加深, 抗病品种也有所增加, 但发展的速度缓慢。在毒素稀释 150 倍、200 倍时, 感抗品种间没有明显差别, 处理 144 h 内都没有明显的症状, 之后才缓慢发病。可见, 毒素浓度的大小直接影响到毒害的效果。在 6 种浓度处理下, 原样、稀释 10 倍、50 倍的毒素由于毒素含量相对较高, 抗、感品种均发病而不能区分出抗、感品种在抵御病害时的差别。稀释 150 倍、200 倍的毒素由于毒素含量相对较低, 抗、感均未出现明显症状, 亦无法鉴别抗、感品种的差别。在稀释 100 倍毒素处理时, 抗、感品种的反应表现了较大的差别。由此可见, 稀释 100 倍的毒素液可能是进行抗性评价的最佳浓度。

## 2.5 马铃薯晚疫病菌毒素对薯块的毒害作用

用 *P. infestans* 的粗毒素和精毒素原样接种马铃薯块茎, 接种后块茎出现的症状与晚疫病菌接种后产生的症状一致 (图 2), 而且粗毒素和精毒素引发的症状也是一致的。精毒素的毒性强于粗毒素, 精毒素接种的薯块, 坏死面积相对集中且较重, 粗毒素接种的薯块坏死面积比较分散, 沿维管束分布, 坏死程度比精毒素轻。但毒害的程度因寄主品种和菌株不同而有差异。其中, 3 个供试菌株的毒素能毒害马铃薯品种 Mira、S88 和 PB06 的块茎, PB06 受害最严重, S88 次之, Mira 最轻, 所得结果与叶片结果完全相反, 表明马铃薯对晚疫病的抗性地上部分植株和地下部分的块茎是不同的 (表 2), 即地上部与其块茎的抗性表现不一定一致, 地上部分表现较好抗性的品种, 其块茎的抗性未必好。

## 3 讨论

3.1 本试验所制备的粗毒素和精毒素对马铃薯的叶片和薯块都有明显的毒害作用, 产生和大田同样的症状, 表明病原菌产生的毒素是马铃薯晚疫病发病的重

表 2 不同浓度的马铃薯晚疫病菌毒素对不同抗性品种薯块的毒害作用

Table 2 Effects of different concentrations of crude and precision toxin of *P. infestans* on potato tuber of different resistant varieties

处理		稀释倍数 Dilution concentration					
Treatment		原样 Original concentration	10×	50×	100×	150×	200×
Mira	X 粗 Crude	4	1	3	2	1	2
	X 精 Refined	5	5	5	2	2	5
	L 粗 Crude	5	2	2	1	2	2
	L 精 Refined	5	4	5	4	4	3
	Z 粗 Crude	5	5	—	2	2	2
	Z 精 Refined	6	5	2	2	2	3
S88	X 粗 Crude	5	4	3	2	3	2
	X 精 Refined	4	3	3	2	2	2
	L 粗 Crude	5	3	4	3	4	2
	L 精 Refined	6	3	3	2	2	2
	Z 粗 Crude	5	3	3	2	6	5
	Z 精 Refined	4	2	2	2	2	3
PB06	X 粗 Crude	3	4	3	5	2	6
	X 精 Refined	2	4	4	2	3	5
	L 粗 Crude	3	3	4	3	4	4
	L 精 Refined	3	4	5	4	3	4
	Z 粗 Crude	5	5	5	4	4	4
	Z 精 Refined	4	4	3	2	4	4

要因素,其中可能含有具生物活性的毒性物质,起到致病力作用,且其对马铃薯的危害超出了病原菌本身对寄主的直接危害。因此,可以用其作为选择压筛选抗病突变体或抗性评价。在抗病育种早期,可以依据寄主植物对毒素的敏感性,用毒素代替病原物对植物品种个体、器官、细胞团和原生质体等进行筛选。无论在理论上还是在应用上都有着重要的意义,这不仅是因为它可以消除生物间互相干扰和污染的复杂情况,而且由于方法简便、精确,极易定量等特点,为研究提供较好的实验平台。Lynch 等<sup>[30]</sup>将 *Alternaria* 培养液用于大田筛选抗马铃薯早疫病试验,并能区分抗性类型。赵海岩等<sup>[31]</sup>、柴守玺等<sup>[32]</sup>成功获得水稻、小麦抗病性强的再生植株及其稳定后代。程智慧等<sup>[24]</sup>用 *P. infestans* 的粗毒素对马铃薯的 3 个品种进行抗病突变株筛选,获得了细胞系和再生植株,抗性再生植株的耐病性高于对照。因此,结合细胞和组织培养技术,利用毒素做为诱变选择剂,筛选抗病突变体是可行的。本研究为应用病原菌毒素为选择压筛选抗病突变体或进行抗性评价提供了又一种方法。

**3.2** 试验表明,马铃薯对晚疫病的抗性地上部分植株和地下部分的块茎是不同的,即地上部分抗性较好的品种其块茎抗性未必好。长期以来对马铃薯抗性的研究主要在于地上部分,而马铃薯是以地下块茎为收获产品的作物,块茎对晚疫病的抗性决定了其在储藏、销售过程的损失程度。因此,建议在马铃薯抗病育种过程中既要考虑地上部分的抗性,以期在大田获得较高的产量,同时考虑块茎的抗性,保证收获入仓的产品能获得最大的经济效益。

**3.3** 毒素的作用机理是一个复杂的问题,只有深入研究毒素的作用机理,探明毒素在病菌致病过程中的作用,才能全面了解病原菌与寄主的相互关系,使得毒素的应用研究更具目标。离体条件下测定马铃薯晚疫病病菌毒素的毒害作用,仅是一个基础的探索。在此基础上进行毒素活体接种的摸索,比较活体和离体条件下马铃薯晚疫病病菌毒素的毒害差异,毒素的作用方式及结合位点等,是下一步工作的重点。以期通过这一系列的工作,为探明马铃薯晚疫病的发病机理奠定基础。

## 4 结 论

植物病原菌毒素是病原菌分泌的,在生理浓度下对寄主有毒害作用的代谢产物,在病害发生过程中加速病害的发生发展,但不是所有的分泌物都具有毒害

作用和具有强的毒性。本试验结果表明:试验所使用的 3 个菌株都对抗感品种产生毒害,低浓度(稀释 200 倍)也能引起症状发生,因此 *P. infestans* 分泌的代谢产物对马铃薯是有毒害作用的,小种不同毒素的毒力不同,毒素的毒力由菌株的生理小种所决定,即小种不同产生的毒素其毒力不同。马铃薯对毒素的抵抗能力因品种抗性不同而不同,具有高抗晚疫病的地上部分植株或块茎对毒素的抵抗能力高于水平抗性品种和感病品种。

## References

- [1] 宋伯符, 谢开云. CIP 的全球晚疫病防治倡议与我国的参与. 马铃薯杂志, 1997, 11(1): 51-55.  
Song B F, Xie K Y. CIP of China's participation in global initiatives and prevention of phytophthora infestans. *Potato Journal*, 1997, 11(1): 51-55. (in Chinese)
- [2] 李先平, 何云昆, 赵志坚, 孙茂林, 隋启君. 马铃薯抗晚疫病育种研究进展. 中国马铃薯, 2001, 15(5): 290-295.  
Li X P, He Y K, Zhao Z J, Shun M L, Sui Q J. Progress of late blight resistance breeding in potato. *Chinese Potato*, 2001, 15(5): 290-295. (in Chinese)
- [3] 金光辉, 文景芝, 丁广洲. 我国马铃薯晚疫病的研究现状和建议. 黑龙江农业科学, 2002, (6): 28-31.  
Jin G H, Wen J Z, Ding G Z. Suggest and historical and current studies of potato late blight in China. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2002, (6): 28-31. (in Chinese)
- [4] Song B F, Zhang Z M, Yang Z H. Intregated control on potato late blight in China. Proceedings of The Fifth World Potato Congress Kunming, China, 2004: 190-191.
- [5] 杨艳丽, 罗文富, Chujoy E, 王 军, 何 卫, 王 毅, 赵庆云, 张修国. 马铃薯无性系对晚疫病的抗病配合力分析. 山东农业大学学报(自然科学版), 2001, 32(增刊): 147-157.  
Yang Y L, Luo W F, Chujoy E, Wang J, He W, Wang Y, Zhao Q Y, Zhang X G. The combining ability analysis of potato clones resistance to potato late blight. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)*, 2001, 32(Suppl.): 147-157. (in Chinese)
- [6] 宋伯符, 军, 张志铭, 王胜武, 王 军, 谢从华, 王仁贵. 我国马铃薯晚疫病的研究进展和建议. 马铃薯杂志, 1996, (3): 138-141.  
Song B F, Wang J, Zhang Z M, Wang S W, Wang J, Xie C H, Wang R G. Progress and suggestions on late blight research in China. *Chinese Potato Journal*, 1996, (3): 138-141. (in Chinese)
- [7] Ciuffeet L M, Tuori R P, Gaventa J M. A single gene encodes a selective toxin causal to the development of tan spot of wheat. *The*

- Plant Cell*, 1997, 9: 135-144.
- [8] Takeshi S, Tomoko S, Yoshihiro N, Pyoyun P. Ultrastructural localization of hydrogen peroxide in host leaves treated with AK-toxin I produced by *Alternaria alternate* Japanese pear pathotype. *Journal General Plant Pathology*, 2002, 68: 38-45.
- [9] Haring R, Scheffer R J, Elgersma D M. Protein-lipopolysaccharide complexes produced by virulent and non-virulent isolates of *Verticillium albo-atrum* and *V. dahliae* are non-specific toxins to tomato and potato. *Journal of Phytopathology*, 1986, 117: 198-215.
- [10] 高比达, 陈捷. 生理植物病理学. 北京: 科学出版社, 2006: 46-68.
- Gao B D, Chen J. *Physiological Plant Pathology*. Beijing: Science Press, 2006: 46-68. (in Chinese)
- [11] Orsomando G, Lorenzi M, Raffaelli N, Rizza M D, Mezzetti B, Ruggieri S. Phytotoxic protein PcF, purification, characterization, and cDNA sequencing of a novel hydroxyproline-containing factor secreted by the strawberry pathogen *Phytophthora cactorum*. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(24): 21578-21584.
- [12] 谢丙炎, 朱国仁. 辣椒疫霉致病毒素. 菌物系统, 1997, 16(4): 274-280.
- Xie B Y, Zhu G R. *Phytophthora Capsici* phytotoxin. *Mycosystema*, 1997, 16(4): 274-280. (in Chinese)
- [13] 谢丙炎, 朱国仁. 辣椒疫霉产毒共分离 RAPD 标记的研究. 菌物系统, 2000, 19(1): 34-38.
- Xie B Y, Zhu G R. Co-segregative rapid marker of toxin-production of *Phytophthora Capsici*. *Mycosystema*, 2000, 19(1): 34-38. (in Chinese)
- [14] 李海燕, 赵伟全, 于秀梅, 刘惕若. 辣椒疫霉菌产毒培养方式和提取方法的研究. 黑龙江八一农垦大学学报, 2004, 16(1): 10-13.
- Li H Y, Zhao W Q, Yu X M, Liu T R. Study on the cultivation and extraction method of *P. capsici* toxin. *Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University*, 2004, 16(1): 10-13. (in Chinese)
- [15] 肖淑芹, 刘惕若, 左豫虎. 辣椒疫霉菌毒素的初步研究. 黑龙江八一农垦大学学报, 2002, 14(3): 29-31.
- Xiao S Q, Liu T R, Zuo Y H. Preliminary study on toxin of *P. capsici*. *Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University*, 2002, 14(3): 29-31. (in Chinese)
- [16] 赵伟全, 于秀梅, 李海燕, 刘惕若. 辣椒疫霉菌致病毒素的纯化及其致病性的研究. 黑龙江八一农垦大学学报, 2005, 17(1): 16-21.
- Zhao W Q, Yu X M, Li H Y, Liu T R. Purification and pathogenicity detection of the toxin produced by *Phytophthora capsici*. *Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University*, 2005, 17(1): 16-21. (in Chinese)
- [17] 张瑞萍, 巩振辉, 黄炜, 李大伟. 辣椒疫霉菌粗毒素对辣椒种子发芽及幼苗生长特性的影响. 华北农学报, 2005, 20(5): 81-84.
- Zhang R P, Gong Z H, Huang W, Li D W. The effect on the germination and growth of pepper that caused by the crude toxin of *Phytophthora capsici*. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2005, 20(5): 81-84. (in Chinese)
- [18] 张淑珍, 吴俊江, 葛秀秀, 孔凡江, 杨庆凯. 大豆疫霉根腐病菌毒素产生条件的研究. 植物病理学报, 2002, 32(1): 89-90.
- Zhang S Z, Wu J J, Ge X X, Kong F J, Yang Q K. Factor affecting toxin production of *Phytophthora sojae*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2002, 32(1): 89-90. (in Chinese)
- [19] 张淑珍, 徐鹏飞, 武小霞, 赵孝武, 张大勇, 姜振峰, 李文滨. 大豆疫霉根腐病菌毒素的提取及生物活性测定. 中国农学通报, 2005, 21(3): 252-315.
- Zhang S Z, Xu P F, Wu X X, Zhao X W, Zhang D Y, Jiang Z F, Li W B. Study on extraction and bioactivity assay of pathotoxin produced by *Phytophthora sojae*. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(3): 252-315.
- [20] 黄丽华, 陈廷俊, 宋军. 烟草黑胫病粗毒素高产培养条件的筛选. 安徽农业科学, 1999, 27(4): 368-370.
- Huang L H, Chen T J, Song J. Selection of cultural conditions for higher toxin from the black shank of tobacco. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 1999, 27(4): 368-370. (in Chinese)
- [21] Cerato C, Manici L M, Borgatti S, Alicchio R, Ghedini R, Ghinelli A. Resistance to late blight (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) of potato plants from *in vitro* selected calli. *Potato Research*, 1993, 36: 341-351.
- [22] Stolle K, Schober B. Wirkung eines toxins von *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary auf Kartoffelknollengewebe. *Potato Research*, 1984, 27: 173-184.
- [23] Stolle K, Schober B. Nachweis eines toxins in Kartoffelknollengewebe nach inoculation mit *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Potato Research*, 1985, 28: 193-201.
- [24] 程智慧, 邢宇俊. 利用马铃薯晚疫病病菌粗毒素离子筛选马铃薯抗晚疫病无性系. 西北植物学报, 2005, 25(12): 2402-2407.
- Cheng Z H, Xing Y J. *In vitro* screening of resistant potato clones to late blight with crude *Phytophthora infestans* toxin. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2005, 25(12): 2402-2407. (in Chinese)
- [25] 邢宇俊, 程智慧. 培养条件对马铃薯晚疫病病菌粗毒素产生的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(3): 89-92.
- Xing Y J, Cheng Z H. Effect of culture condition on Potato Late Blight Pathogen (*Phytophthora infestans*) crude toxin production. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Nature Science Ed)*, 2006, 34(3): 89-92. (in Chinese)



- [26] 鲁绍凤. 云南马铃薯晚疫病菌生理小种研究及主栽品种对晚疫病菌的抗性分析[D]. 昆明: 云南农业大学, 2006.
- Lu S F. Research on race of *phytophthora infestans* on potato and resistance analysis of dominant variety to potato late blight in yunnan province[D]. Kunming: Yunnan Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- [27] 杨艳丽, 胡先奇, 鲁绍凤, 罗文富, Ryu K Y, 肖浪涛. 云南马铃薯晚疫病菌生理小种的组成与分布. 华中农业大学学报, 2007, 26(3): 297-301.
- Yang Y L, Hu X Q, Lu S F, Luo W F, Ryu K Y, Xiao L T. Composition and distribution of physiological race of *phytophthora infestans* in Yunnan province. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2007, 26(3): 297-301. (in Chinese)
- [28] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会编. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 2004: 141-149.
- Shanghai Institute of Plant Physiology, Chinese Academy of Sciences. The Shanghai Society for Plant Physiology. *Guideline of Modern Experiments in Plant Physiology*. Beijing: Science Press, 2004: 141-149. (in Chinese)
- [29] 方中达编. 植病研究方法(第三版). 北京: 中国农业出版社, 1999: 106-107.
- Fang Z D. *Pathology Research Method* (3rd edition). Beijing: China Agricultural Press, 1999: 106-107. (in Chinese)
- [30] Lynch D R, Wastie P L, Stewart H E, Mackay G R, Lyon G D, Nachmias A. Screening for resistance to early blight (*Alternaria solani*) in potato (*Solanum tuberosum* L.) using toxic metabolites produced by the fungus. *Potato Research*, 1991, 34: 297-304.
- [31] 赵海岩, 郑文静, 王德兴, 杨立国, 刘庆福, 崔海东. 水稻抗稻瘟病变异体离体筛选及在育种中应用. 辽宁农业科学, 2001, (3): 21-25.
- Zhao H Y, Zheng W J, Wang D X, Yang L G, Liu Q F, Cui H D. *In vitro* selection of rice blast resistance variation and its application on breeding. *Liaoning Agricultural Sciences*, 2001, (3): 21-25. (in Chinese)
- [32] 柴守玺. 麦类作物赤霉病抗性离体筛选的原理与方法. 麦类作物学报, 2001, 21(1): 76-80.
- Chai S X. *In vitro* selection for the resistance to *Fusarium* head blight on cereals. *Journal of Triticeae Crops*, 2001, 21(1): 76-80. (in Chinese)

(责任编辑 毕京翠)