



新疆马铃薯镰刀菌根腐病发生危害调查及病原菌鉴定

杨波¹, 郭成瑾², 王喜刚², 沈瑞清^{1,2}

(1. 宁夏大学 农学院, 银川 750021; 2. 宁夏农林科学院 植物保护研究所, 银川 750002)

摘要 为明确新疆马铃薯镰刀菌根腐病的发生危害及病原菌的种类, 通过对新疆地区马铃薯镰刀菌根腐病害进行调查, 对病原菌进行形态学和分子生物学鉴定, 然后依据柯赫氏法则进行病原菌确认。结果表明, 不同马铃薯种植地区病害发生率及严重程度存在一定差异, 其中病害发生最高的地区是伊宁县, 病害发生率达80%。经鉴定, 引起新疆地区马铃薯镰刀菌根腐病的病原菌有尖孢镰刀菌、木贼镰刀菌、芬芳镰刀菌、茄病镰刀菌和锐顶镰刀菌。通过致病性测定发现, 鉴定出的5种镰刀菌均具致病性, 其中茄病镰刀菌为新疆马铃薯镰刀菌根腐病的优势致病菌, 致病率达88.9%; 其次是芬芳镰刀菌, 致病率为66.7%。

关键词 马铃薯; 镰刀菌; 形态学鉴定; 分子生物学鉴定

中图分类号 S435.32

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2019)12-2069-09

马铃薯是继水稻、小麦和玉米之后的第四大粮食作物^[1], 粮蔬饲兼用, 具有很高的营养、药用和经济价值^[2-3]。新疆是中国马铃薯产区之一, 因马铃薯性喜冷凉、耐旱、耐贫瘠、高产、适应性强等特点, 近年来, 新疆马铃薯的种植面积大幅增加^[4]。据报道, 马铃薯各种病害的发生及危害也逐年加重, 其中真菌性病害发生最重^[5-7], 镰刀菌引起的根腐病作为真菌性病害中的一种, 在马铃薯的生长期及储藏期均有发生, 不仅制约马铃薯的产量, 而且影响马铃薯储藏期的品质, 是限制新疆马铃薯产业发展的重要因素。

镰刀菌(*Fusarium* ssp.)是世界范围内分布的一类真菌, 寄主范围广, 侵染能力强, 可侵染植物的根、茎、穗和果实, 引起植物的根腐、茎腐等多种病害^[8-9]。本研究中山铃薯镰刀菌根腐病是由镰刀菌引起的马铃薯根、茎及薯块发病的病害总称, 其中由镰刀菌引起的马铃薯储藏期病害称为干腐病, 镰刀菌干腐病是马铃薯储藏期危害最严重的病害之一^[10], 可使储藏期的马铃薯平均减产6%~25%^[11], 产量损失最高可达60%^[12]。镰刀菌侵染马铃薯块茎, 通常表现为薯块颜色发暗、褐变、内部常呈空心^[13], 从具有典型发病症状的块茎上分离最多的镰刀菌为茄病镰刀菌(*F. solani*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)、燕麦镰刀菌(*F. avenaceum*)、黄色镰刀菌(*F. culmorum*)、接骨木镰刀菌(*F. sambucinum*)、半裸镰刀菌(*F. semitectum*)^[14-15]。不同地区引起马铃薯镰刀菌干腐病的种类有一定差异, 据报道, 在北美和部分欧洲国家, 接骨木镰刀菌和蓝色镰刀菌(*F. coeruleum*)被认为是引起马铃薯干腐病最主要的病原菌^[16-17]; 而由茄病镰刀菌引起的马铃薯干腐病在伊朗和南非发生严重^[18]; 在中国河北和内蒙古共分离到4种致病镰刀菌, 其中锐顶镰刀菌(*F. acuminatum*)是优势分离菌^[19-20]; 李金花等^[21]在对甘肃马铃薯镰刀菌干腐病的优势病原菌研究中发现, 接骨木镰刀菌和茄病镰刀菌是优势分离种; 引起黑龙江省马铃薯干腐病的镰刀菌有6种, 闵凡祥等^[22]在对鉴定出的镰刀菌进行致病性测试中发现, 接骨木镰刀菌、燕麦镰刀菌和拟丝孢镰刀菌(*F. trichothecioides*)的致病力最强, 拟枝孢镰刀菌(*F. sporotrichioides*)最弱。

本试验对新疆马铃薯镰刀菌根腐病进行调查和取样, 将病样进行病原菌的分离纯化, 通过形态学和分子生物学对其进行种类鉴定, 并对鉴定出的镰刀菌进行致病性测定, 确定引起新疆地区马铃薯镰刀菌根腐病的主要致病菌, 为防治马铃薯

收稿日期:2019-03-27 修回日期:2019-05-17

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项(201503112+7);宁夏农林科学院全产业链创新示范项目(NKYZ16-0104)。

第一作者:杨波,男,硕士研究生,从事马铃薯镰刀菌根腐类病害研究。E-mail:752536645@qq.com

通信作者:沈瑞清,男,博士,研究员,主要从事植物病原真菌研究。E-mail:srqzh@sina.com

根腐病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(Potato dextrose agar, PDA)培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 12 g、蒸馏水 1 000 mL;Joff 修改的 Bilai's 培养基:磷酸二氢钾 1 g、硝酸钾 1 g、氯化钾 0.5 g、七水硫酸镁 0.5 g、淀粉 0.2 g、葡萄糖 0.2 g、琼脂 12 g、蒸馏水 1 000 mL;麦麸培养基:麦麸 500 g、蒸馏水 20 mL。

主要试剂及仪器:DNA 提取试剂盒(杭州博日科技有限公司)、2×EasyTaq PCR SuperMix、Trans 2K DNA Marker、Gelstain、ddH₂O(北京全式金生物技术有限公司)、50×TAE 电泳缓冲液(北京索莱宝科技有限公司)等。SPX-250 生化培养箱(上海跃进医疗器械有限公司)、T100™ ThermalCycler PCR 仪(时代联想生物技术有限公司)、DYY-6C 型电泳仪(北京六一生物技术有限公司)、Azure Biosystems C200 凝胶成像系统(北京深蓝云生物技术有限公司)、高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂)、LE204E/02 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)、TOMY SX-500 高压灭菌器(上海麦森医疗科技有限公司)等。

1.2 马铃薯镰刀菌根腐病田间发病情况调查

2016—2017 年在新疆马铃薯种植区,采用随机取样的方法对镰刀菌根腐病进行调查,本试验主要研究由镰刀菌引起的田间马铃薯块茎、根茎腐类病害,因此在调查取样中只侧重于表现为该病害症状的病样,在每个马铃薯种植区调查 20 株,通过观察茎基部、根及块茎上是否有病斑及病斑的大小,确定镰刀菌根腐病发生的严重度,并计算病害发生率,将具有典型症状的根茎等带回实验室,保存于 4℃ 冰箱中,用于病原菌的分离。

病害发生率 = (发病株数/调查株数) × 100%。

1.3 病原菌的分离、鉴定

1.3.1 病原菌分离纯化 用常规组织分离法对采集的病害样本进行分离^[23],利用单孢分离法对分离到的菌株进行纯化。单孢分离采用稀释平板法,刮取少许菌丝于盛有无菌水的 1.5 mL 离心管中混匀制成孢子悬浮液,取一滴在显微镜下进行观察,如若一个镜头下只有 0~1 个孢子,则取一滴该浓度下的孢子悬浮液滴于 PDA 培养基

上,用涂布玻璃棒将其均匀涂开,待单孢长出菌丝,挑取菌丝转至新的 PDA 培养基上 25℃ 恒温培养。

1.3.2 病原菌形态特征观察 将单孢菌株纯化后转接于 PDA 培养基和 Bilai's 培养基上,观察菌落颜色、形状及菌丝的疏密情况,测定菌落生长 4 d 时的菌落直径。产孢后,在显微镜下观察分生孢子的大小、形状、数量,及产孢细胞的形状,厚垣孢子的有无及形状。根据病原菌的形态特征,依据 Booth 分类系统^[24],同时参考《山西镰刀菌》^[25]等相关资料进行形态学鉴定。

1.3.3 基因组 DNA 提取 病原菌 DNA 采用 Biospin 真菌基因组 DNA 提取试剂盒提取。首先将培养好的镰刀菌菌丝于研钵中液氮冷冻后研磨,根据试剂盒提供的方法步骤进行操作。取 5 μL DNA 溶液在 15 g/L 琼脂糖凝胶上电泳, DNA 于 -20℃ 保存,备用。

1.3.4 病原菌基因序列扩增及测序 采用镰刀菌属特异性引物 EF-1H/EF-2T 对分离到的镰刀菌进行分子鉴定。EF-1H: 5'-ATGGGTAAG-GAAGACAAGAC-3', EF-2T: 5'-GGAAGTAC-CAGTGATCATGTT-3'^[26]。

对所提 DNA 进行 PCR 扩增,每个反应体系总体积为 25 μL,其中模板 DNA 1 μL (56 ng/μL),上下游引物各 1 μL (1 μmol/L), 2× Easy Taq PCR Super Mix 12.5 μL, ddH₂O 9.5 μL。

PCR 扩增程序:95℃ 预变性 5 min;95℃ 变性 30 s, 58℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 35 个循环;72℃ 延伸 5 min。将 PCR 产物送往上海生工生物工程有限公司进行测序。

1.3.5 序列数据处理及系统发育树构建 对测序结果在 NCBI 网站进行 BLAST 比对,根据比对结果从 GenBank 数据库获得最相似的序列,进行同源性比较,利用 MEGA 5.20 分析软件采用 NJ 法构建基于 EF-1α 基因序列的系统发育树,分析所分离菌株与其他菌株间的亲缘关系,确定分类地位。

1.4 病原菌致病性测定

根据柯赫氏法则对病原菌致病性进行验证^[23]。分别取编号为 X9-1-1、X29-1-1、X16-2-2、X16-1-3 和 X8-2-1 的菌株进行致病性测定,将 5 株镰刀菌接入 PDA 平板培养基上培养 7~10 d 后,用直径 10 mm 的打孔器取菌饼 10 片,接于装

有麦麸培养基的三角瓶中,25℃下培养9~15 d,待菌丝长满培养基后,以1:100(质量比)比例与灭菌土混匀分别制成菌土^[27]。播种马铃薯(品种‘青薯9号’)于装有菌土的花盆中,以装有无菌土的花盆为对照,每种处理3次重复,每个重复播种3株,置于温室中培养。待植株发病后观察发病情况并统计发病率,同时,采用组织分离法对病原菌进行再分离,将分离物的菌落形态、孢子形态等与接种菌株进行比较。

1.5 数据处理与分析

用Excel 2003 软件进行数据整理及作图,用MEGA 5.20 分析软件对基因序列进行系统发育树的构建。

2 结果与分析

2.1 马铃薯镰刀菌根腐病田间发病情况

2.1.1 田间症状 调查发现,新疆地区马铃薯镰刀菌根腐病的危害期主要为出苗期和结薯期。该病害主要危害马铃薯的根茎部位,在马铃薯储藏期也会危害薯块,称为马铃薯干腐病,均是由镰刀菌属真菌引起的病害。危害症状主要表现为根部腐烂,根基部常常缢缩,维管束褐变,茎基部出现黑褐色不规则斑块,湿度大时往往会产生白色的霉层。地上部分主要表现为植株瘦弱矮小,叶片开始枯黄萎蔫。

2.1.2 田间发生情况 对新疆15个马铃薯种植区进行病害调查发现,不同地区病害发生严重度和发生率不同。从病害发生严重度上看,十二师西山农场和尼勒克的镰刀菌根腐病发生最严重,而乌鲁木齐县板房沟乡等4个地区发生最轻。从病害发生率上看,伊宁县病害发生率高达80%,是所有调查地区中病害发生最高的,其次发生率较高的是乌鲁木齐县永丰乡和尼勒克,发生率为40%,病害发生率最低的是乌鲁木齐县板房沟乡和呼图壁县呼图壁镇两个地区,发生率为5%(表1)。

2.2 病原菌分离及形态学鉴定

2016—2017年,在新疆15个马铃薯产区采集具有典型镰刀菌根腐病症状的病株/薯198份,组织分离获得镰刀菌菌株,采用单孢法纯化分离到的菌株,共获得纯培养菌株322株。

通过对供试菌株在PDA及Bilal's培养基上培养性状的观察及分生孢子的显微观察,对菌株进行初步的形态学鉴定,将其鉴定为5种镰刀菌。形态学鉴定虽然可以将大部分菌株区分开来,但

有些菌株变异较大,仅仅依靠形态学鉴定很难将其鉴定到种的水平,因此还要依靠分子生物学鉴定。镰刀菌的形态学特征如下。

2.2.1 尖孢镰刀菌 培养4 d的菌落直径3.10 cm,菌丝白色,棉絮状、多。小型分生孢子卵形,棍棒形或椭圆形,0~1分隔;大型分生孢子较直,中间略弯曲,顶胞尖,基胞足跟明显,2~5分隔。单瓶梗产孢,产孢梗短,厚垣孢子椭圆形或球形,单个间生。

2.2.2 木贼镰刀菌 培养4 d的菌落直径5.00 cm,菌丝白色、黄褐色,棉絮状,茂盛。小型分生孢子长椭圆形、肾形及棍棒形,0~1分隔,多数无隔;大型分生孢子镰刀形,腹背稍弯曲,顶细胞渐尖,基胞足跟明显。3~7分隔,多数5分隔。单瓶梗产孢,产孢梗较短,厚垣孢子球形,单个,间生或顶生。

2.2.3 芬芳镰刀菌 培养4 d的菌落直径4.40 cm,菌丝白色,羊毛状或毡状。小型分生孢子卵圆形,0~1分隔;大型分生孢子较直,顶细胞钝,基胞足跟不明显,2~5分隔。单瓶梗产孢,产孢梗较长,厚垣孢子未见。

2.2.4 茄病镰刀菌 培养4 d的菌落直径2.50 cm,菌丝少,白色,绒状。小型分生孢子多,以椭圆形、肾形及卵形为主,0~1隔,多数1隔;大型分生孢子马特形,两端钝,略弯曲,2~5分隔,多数3隔。单瓶梗产孢,产孢梗长,厚垣孢子球形,单生或串生于菌丝中间。

2.2.5 锐顶镰刀菌 培养4 d的菌落直径4.45 cm,菌丝淡黄色,羊毛状,茂盛。小型分生孢子椭圆形、纺锤形及肾形,0~1分隔;大型分生孢子顶细胞延长,基胞足跟明显,2~5分隔,多数3分隔。单瓶梗产孢,厚垣孢子球形,单个顶生或间生。

2.3 分子生物学鉴定

通过EF-1H/EF-2T引物对分离到的菌株进行序列测定,获得长度为711~748 bp的序列片段。将获得的DNA序列与GenBank中已登录镰刀菌的序列进行同源性比较,并用MEGA 5.20分析软件采用NJ法构建系统发育树(图1)。结果表明,编号为X8-2-1和X9-1-1的菌株与GenBank中登录号为KX094920.1的锐顶镰刀菌聚在一个分枝上,说明其亲缘关系最近,且同源性达98%,菌株X8-2-1和X9-1-1的形态学鉴定均为锐顶镰刀菌,与分子学鉴定结果一致。菌株

表 1 新疆各地区马铃薯镰刀菌根腐病调查结果
Table 1 Investigation of potato *Fusarium* root rot disease in Xinjiang

调查地区 Investigated area	调查时间 Investigation time	严重程度 Severity	发生率/% Incidence rate	危害期 Damage time	危害部位 Damaged parts
乌鲁木齐县永丰乡 Yongfeng Town, Urumqi	2016-07-11	++	40	出苗期、结薯期 Seedling growth and potato period	茎基部、根部、薯块 Stem, root and tuber
乌鲁木齐县板房沟乡 Banfanggou Town, Urumqi	2016-07-14	+	5	出苗期、结薯期 Seedling growth and potato period	茎基部、根部、薯块 Stem, root and tuber
十二师西山农场 Twelve Division Xishan Farm Ranch	2016-07-13	+++	20	出苗期、结薯期 Seedling growth and potato period	茎基部、根部、薯块 Stem, root and tuber
呼图壁县呼图壁镇 Hutubi Town, Hutubi County	2016-07-13	+	5	出苗期、结薯期 Seedling growth and potato period	茎基部、根部、薯块 Stem, root and tuber
玛纳斯县兰州湾 Lanzhou Bay, Manas County	2016-07-15	++	10	出苗期、结薯期 Seedling growth and potato period	茎基部、根部、薯块 Stem, root and tuber
玛纳斯县清水河乡 Qingshuihe Township, Manas County	2016-08-21	+	10	出苗期、结薯期 Seedling growth and potato period	茎基部、根部、薯块 Stem, root and tuber
奇台县奇台镇 Qitai Town, Qitai County	2016-08-22	+	10	出苗期、结薯期 Seedling growth and potato period	茎基部、根部、薯块 Stem, root and tuber
奇台县半截沟镇 Banjegou Town, Qitai County	2016-08-22	++	20	出苗期、结薯期 Seedling growth and potato period	茎基部、根部、薯块 Stem, root and tuber
吉木萨尔县泉子街镇 Quanzi Street Town, Jimsar County	2016-08-23	++	10	出苗期、结薯期 Seedling growth and potato period	茎基部、根部、薯块 Stem, root and tuber
吉木萨尔县大有乡 Dayou Township, Jimsar County	2016-08-23	++	10	出苗期、结薯期 Seedling growth and potato period	根部、薯块 Root and tuber
温泉县 88 团三连 88 Group 3 Company, Wenquan County	2017-07-10	++	15	生育期、结薯期 Seedling growth and potato period	根部、薯块 Root and tuber
温泉县 88 团二连 88 Group 2 Company, Wenquan County	2017-07-10	++	15	生育期、结薯期 Seedling growth and potato period	根部、薯块 Root and tuber
尼勒克县 Nilka County	2017-07-11	+++	40	生育期、结薯期 Seedling growth and potato period	根部、薯块 Root and tuber
尼勒克喀拉苏乡 Kelasu Town, Nilka County	2017-07-13	++	10	生育期、结薯期 Seedling growth and potato period	根部、薯块 Root and tuber
伊宁市伊宁县 Yining County, Yining City	2017-07-14	++	80	生育期、结薯期 Seedling growth and potato period	根部、薯块 Root and tuber

注：“+”表示发病的轻重程度，“+”发病轻、“++”发病中、“+++”发病重。

Note: “+” indicates the severity of the disease, “+” is light, “++” is medium, and “+++” is heavy.

X8-1-1 和 X16-2-2 与登录号为 HQ702585.1 的芬芳镰刀菌聚在一起, 同源性高达 99%, 与形态学鉴定结果一致, 确定 X8-1-1 和 X16-2-2 菌株为芬芳镰刀菌。编号为 X19-1-1 的菌株与登录号为 KJ647280.1 和 KU361443.1 的尖孢镰刀菌序列的同源性为 99%, 且与形态学鉴定结果相一致, 说明这两株菌株为尖孢镰刀菌。分离编号为 X16-1-3 的菌株与 GenBank 中登录号为 KX901848.1 的茄病镰刀菌的同源性为 99%, 与菌株 X16-1-3 的形态学鉴定结果一致, 确定其为

茄病镰刀菌。编号为 X29-1-1 的菌株与登录号为 KP400714.1 的木贼镰刀菌的同源性为 99%, 聚在一个分枝上, 且与形态学鉴定结果一致, 确定该菌株为木贼镰刀菌。通过对新疆分离到的镰刀菌菌株进行 *EF-1α* 基因序列分析, 以及形态学鉴定, 确定引起新疆马铃薯镰刀菌根腐病的病原菌依次为尖孢镰刀菌、茄病镰刀菌、锐顶镰刀菌、芬芳镰刀菌和木贼镰刀菌。

2.4 镰刀菌种类及分离频率

对新疆 15 个马铃薯产区病害样本采集及分

离得到的 322 株菌株进行形态学和分子生物学鉴定,结合两种鉴定方法将其鉴定为 5 种镰刀菌(图 2),其中木贼镰刀菌共分离到 18 株,分离频率为 5.59%;茄病镰刀菌共分离到 28 株,分离频率为 8.70%;锐顶镰刀菌分离到 55 株,分离频率为

17.08%;芬芳镰刀菌分离到 55 株,分离频率为 17.08%;尖孢镰刀菌分离到 166 株,分离频率为 51.55%。从镰刀菌分离频率上看,尖孢镰刀菌为新疆地区优势分离菌种,相对于尖孢镰刀菌来说,木贼镰刀菌和茄病镰刀菌的分离频率非常低。

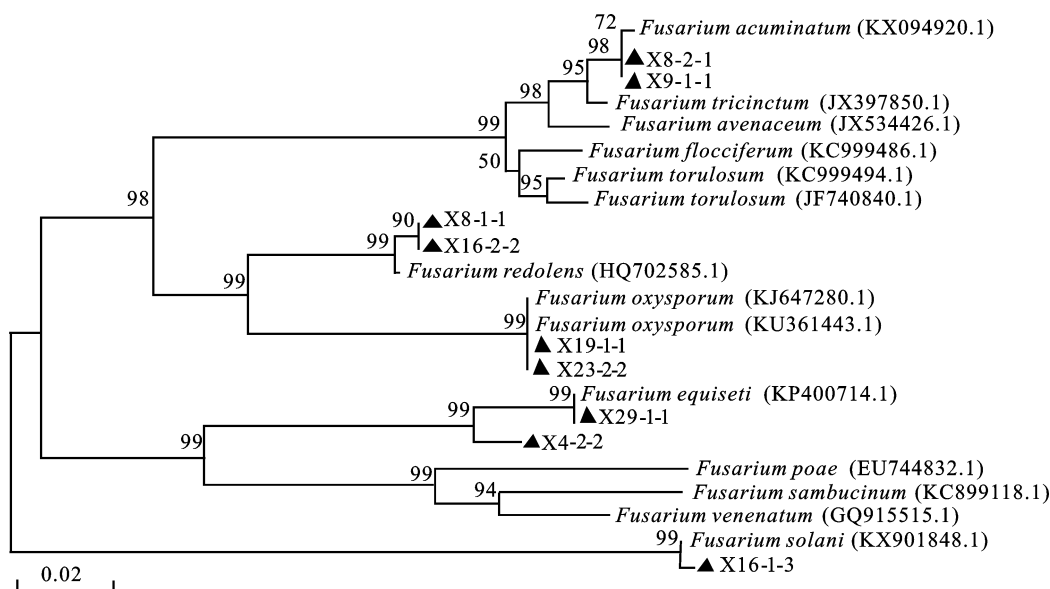


图 1 基于 *EF-1α* 序列构建的马铃薯镰刀菌根腐病菌系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of potato root rot *Fusarium* based on *EF-1α* sequence

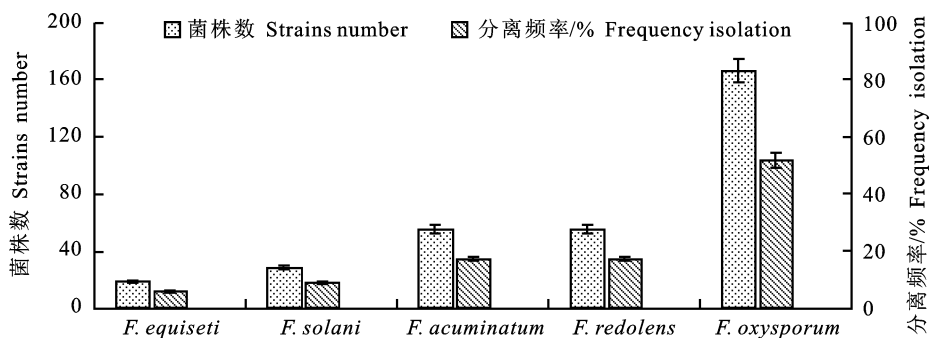


图 2 镰刀菌的种类及分离频率

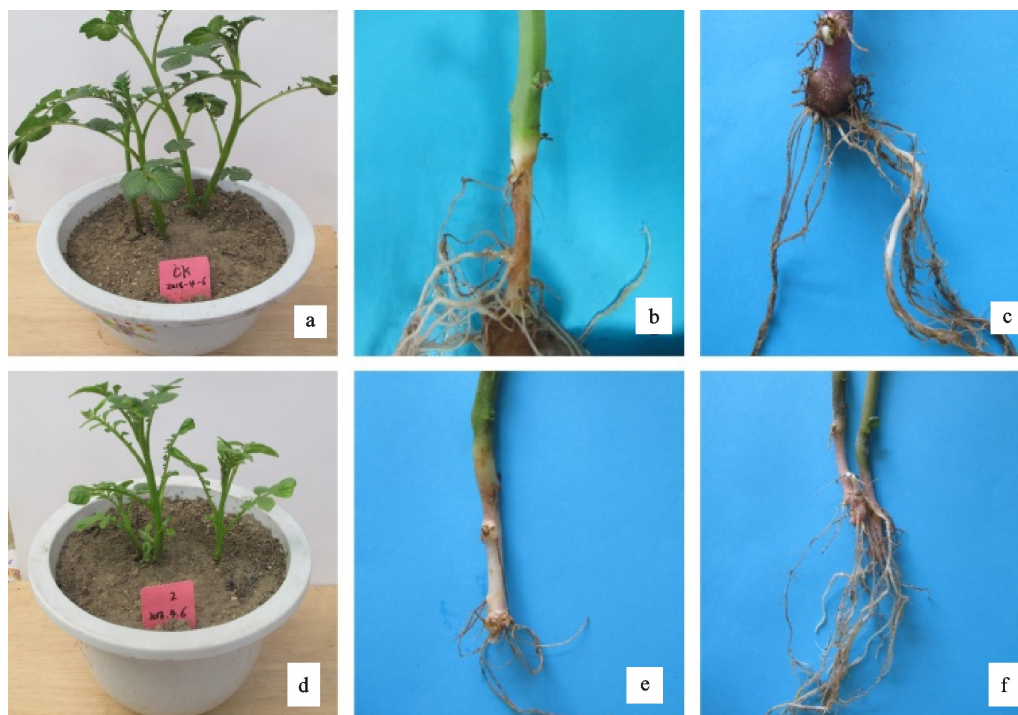
Fig. 2 Species and isolation frequency of *Fusarium*

2.5 病原菌致病性测定

室内接种试验结果表明,对照中马铃薯幼苗(图 3-a)的生长指标明显优于接种的马铃薯幼苗(图 3-d),接种后的薯苗生长受到抑制,植株矮小,叶片开始泛黄;发病植株须根开始从根尖褐变腐烂(图 3-c),须根少(图 3-e),根茎处缢缩变褐(图 3-b),茎基部出现黑褐色病斑,与采样得到的病株症状相似,而对照中马铃薯幼苗均未发病,生长良好,须根多,根茎部健康(图 3-f)。依据柯赫氏法则,从接种发病马铃薯幼苗的病健交界处按照“材料与方法”中病原菌分离鉴定描述的方法重

新分离、纯化和鉴定,得到的镰刀菌菌株与接种所用菌株形态一致,证明所接菌株为马铃薯镰刀菌根腐病的病原菌。

接种不同镰刀菌的马铃薯植株发病率各不相同,统计分析结果显示,发病率由高到低依次为: X16-1-3 (*F. solani*) 88.9%, X16-2-2 (*F. redolens*) 66.7%, X9-1-1 (*F. oxysporum*)、X29-1-1 (*F. equiseti*)、X8-2-1 (*F. acuminatum*) 均为 33.3%,说明在鉴定出的 5 种镰刀菌中,茄病镰刀菌和芬芳镰刀菌的致病力较强,其余 3 个致病力较弱。



a 和 f. 健康植株(对照) Healthy plant (CK); b、c、d、e. 接种菌株 X16-1-3 引起的病害症状 Inoculated symptoms of disease caused by isolate X16-1-3

图 3 病原镰刀菌致病性测定

Fig. 3 Pathogenicity identification of potato root rot

3 结论与讨论

随着马铃薯主粮化战略的提出^[28],马铃薯产业在农业发展中越来越重要,不仅能够带给农民经济效益,而且在某些地区肩负着脱贫攻坚的重要使命。作为马铃薯种植产区之一的新疆,马铃薯产业也正朝着规模化方向发展,而马铃薯镰刀菌根腐病的发生是制约马铃薯产业发展的关键因素。本研究通过对新疆地区马铃薯根腐病进行调查,结果表明马铃薯根腐病在调查的 15 个地区均有发生,其病害发生严重度和发生率有所不同,在所调查的地区中病害发生率最高的是伊宁县,发生率达 80%;从病害发生的严重度上看,十二师西山农场和尼勒克的发病严重度最高。新疆地处中国最西边,由于日照和热量条件充足,非常适宜马铃薯的种植,随着马铃薯在新疆的种植面积不断加大,病害的发生也越来越严重,通过上述调查发现,新疆地区的伊宁县、奇台县等地的病害发生率和严重度非常高,由于这些地方的种植户在种植马铃薯时,习惯采用种植自留种薯和外调种薯,造成马铃薯的病毒感染,加大了土传病害的发生率,加上天山丰沛的降水,使得马铃薯镰刀菌根

腐病的发生也逐年加重。

镰刀菌是引起植物真菌类病害中最重要的病原菌,能够引起多种植物的根腐病^[29],马铃薯枯萎病和干腐病也是由镰刀菌的许多种引起的^[30-31],本文所指镰刀菌根腐病也包括由镰刀菌引起的马铃薯干腐病。据报道,中国大多数马铃薯种植地区都有镰刀菌根腐病的发生。李金花等^[21]和何苏琴等^[32]对甘肃不同地区引起马铃薯干腐病的病原菌进行分离鉴定,发现不同地区引起该病害的病原菌种类存在差异,优势病原菌也不同。陈彦云^[33]对宁夏西吉地区储藏期的马铃薯进行病害调查,结果发现,引起西吉马铃薯干腐病的病原菌主要是茄病镰刀菌和接骨木镰刀菌。王丽丽等^[7]对新疆乌昌地区窖藏马铃薯病害调查中发现,5 种镰刀菌可以引起马铃薯储藏期镰刀菌病害,分别为锐顶镰刀菌、茄病镰刀菌、黄色镰刀菌、接骨木镰刀菌和半裸镰刀菌,而在本研究中发现引起新疆地区的病原菌主要为茄病镰刀菌、锐顶镰刀菌、芬芳镰刀菌、木贼镰刀菌和尖孢镰刀菌,由于采集地点不同,所以在病原菌种类上存在一定差异,说明新疆地区引起马铃薯镰刀菌根腐病的病原菌在地理位置分布上有明显的地域差

异。而在中国其他地方,对马铃薯镰刀菌根腐病的研究主要集中在黑龙江^[22]、内蒙古^[20]、河北^[19]及山西^[34]等地,不同地方分离到的病原菌不同,而在同一地方由于采集地区不同,病原菌的种类也有所不同。

通过对新疆马铃薯根腐病的调查、病原菌的分离、形态学特征观察、分子生物学鉴定及致病性测定,确定引起该病害的病原菌为尖孢镰刀菌、茄病镰刀菌、锐顶镰刀菌、芬芳镰刀菌和木贼镰刀菌。对由镰刀菌引起的马铃薯根腐病在新疆地区报道较少,通过本试验确定引起新疆马铃薯镰刀菌根腐病的主要病原菌,为以后防治新疆马铃薯根腐病提供一定依据。

参考文献 Reference:

- [1] ASHOUR A M A, SABER M M. Role of some bioagents and inducer resistance chemicals in management of potato dry-rot caused by *Fusarium* species [J]. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 2017, 8(3):222-333.
- [2] 魏延安. 世界马铃薯产业发展现状及特点[J]. 世界农业, 2005(3):29-32.
WEI Y A. Development status and characteristics of the world potato industry[J]. *World Agriculture*, 2005(3):29-32.
- [3] 王丽丽, 日孜旺古丽·苏皮, 李克梅, 等. 乌昌地区马铃薯真菌性病害种类及 5 种新记录[J]. 新疆农业科学, 2011, 48(2):266-270.
WANG L L, RIZIWANGGULI · SUPI, LI K M, *et al.* Kinds and five new records of fungus disease of potato in Urumqi and Changji area in Xinjiang[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2011, 48(2):266-270.
- [4] 古丽米拉·热合木土拉, 杨茹薇, 罗正乾, 等. 新疆马铃薯种植现状、存在问题及发展对策[J]. 新疆农业科技, 2016(5):7-9.
GULIMILA · REHEMUTULA, YANG R W, LUO ZH Q, *et al.* Present situation, problems and countermeasures of potato planting in Xinjiang[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2016(5):7-9.
- [5] 王丽丽, 符桂华, 马金贵, 等. 乌昌地区马铃薯黄萎病菌分离与鉴定[J]. 新疆农业科学, 2014, 51(4):667-672.
WANG L L, FU G H, MA J G, *et al.* Isolation and identification of the pathogens causing *Verticillium* wilt of potato in Urumqi and Changji area, Xinjiang[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2014, 51(4):667-672.
- [6] 杜娟, 任娟, 赵思峰, 等. 新疆马铃薯疮痂病原的鉴定[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2010, 28(4):414-417.
DU J, REN J, ZHAO S F, *et al.* Identification of pathogen on potato scab in Xinjiang[J]. *Journal of Shihezi University* (Natural Science Edition), 2010, 28(4):414-417.
- [7] 王丽丽, 李洪涛, 日孜旺古丽·苏皮, 等. 乌昌地区窖藏马铃薯菌物病害调查及病原鉴定[J]. 新疆农业大学学报, 2014, 37(6):469-473.
WANG L L, LI H T, RIZIWANGGULI · SUPI, *et al.* Investigation and identification of fungus disease and pathogens on storage period potato in Urumqi and Changji areas of Xinjiang[J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2014, 37(6):469-473.
- [8] 邱睿, 白静科, 李成军, 等. 河南烟草镰刀菌的分子鉴定及致病性分析[J]. 中国烟草学报, 2018, 24(2):129-134.
QIU R, BAI J K, LI CH J, *et al.* Molecular identification and pathogenicity analysis of tobacco *Fusarium* spp. in Henan[J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2018, 24(2):129-134.
- [9] BOOTH C. Perfect States (telomorphs) of *Fusarium* Species [M]//NELSON P E, TOUSSOUN T A, COOK R S. *Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy*. University Park: Pennsylvania State University Press, 1981:446-452.
- [10] LEACH S S, WEBB R E. Resistance of selected potato cultivars and clones to *Fusarium* dry rot [J]. *Phytopathology*, 1981, 71:623-629.
- [11] CHELKOWSKI J. Toxigenicity of *Fusarium* Species Causing Dry Rot of Potato Tubers [M]//CHELKOWSKI J. *Fusarium Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity*. New York: Elsevier Science Publishing Co., Inc. 1989:435-450.
- [12] THERON D J, HOLZ G. Prediction of potato dry rot based on the presence of *Fusarium* in soil adhering to tubers at harvest [J]. *Plant Disease*, 1991, 75(2):126-130.
- [13] SECOR GA, SALAS B. *Fusarium* Dry Rot and *Fusarium* Wilt [M]//STEVENSON W R. *Compendium of Potato Diseases*. 2nd edn. St Paul: APS Press, 2001:23-25.
- [14] CARNEGIE S F, RUTHVEN A D, LINDSAY D A, *et al.* Effects of fungicides applied to seed potato tubers at harvest or after grading on fungal storage diseases and plant development [J]. *Annals of Applied Biology*, 1990, 116:61-72.
- [15] VENTER S L, STEYN P J. Correlation between fusaric acid production and virulence of isolates of *Fusarium oxysporum* that causes potato dry rot in South Africa [J]. *Potato Research*, 1998, 41:289-294.
- [16] EMIL S, SYLWESTER S, MARTA B, *et al.* Diversity of *Fusarium* spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2016, 145:871-884.
- [17] PIA H, MAY B B, MONICA S, *et al.* *Fusarium* spp. causing dry rot on potatoes in Norway and development of a Real-Time PCR method for detection of *Fusarium coeruleum* [J]. *Potato Research*, 2016, 59:67-80.
- [18] LESZEK L. Pathogenicity and potential capacity for producing mycotoxins by *Fusarium sambucinum* and *Fusarium solani* isolates derived from potato tubers [J]. *Plant*

- Breeding and Seed Science*, 2011, 64(1): 23-43.
- [19] 魏巍, 朱杰华, 张宏磊, 等. 河北和内蒙古马铃薯干腐病菌种类鉴定[J]. 植物保护学报, 2013, 40(4): 296-300.
- WEI W, ZHU J H, ZHANG H L, *et al.* Identification of the pathogens causing potato dryrot in Hebei and Inner Mongolia[J]. *Journal of Plant Protection*, 2013, 40(4): 296-300.
- [20] 杜密茹. 马铃薯干腐病原菌鉴定及病害防治的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2008.
- DU M R. Research on identification of pathogen causing potato dry rot and disease management [D]. Huhhot: Inner Mongolia University, 2008.
- [21] 李金花, 王蒂, 柴兆祥, 等. 甘肃省马铃薯镰刀菌干腐病优势病原的分离鉴定[J]. 植物病理学报, 2011, 41(5): 456-463.
- LI J H, WANG D, CHAI ZH X, *et al.* Isolation and identification of the dominant pathogens causing potato *Fusarium* dry rot in Gansu province[J]. *Acta Phytopathological Sinica*, 2011, 41(5): 456-463.
- [22] 闵凡祥, 王晓丹, 胡林双, 等. 黑龙江省马铃薯干腐病菌种类鉴定及致病性[J]. 植物保护, 2010, 36(4): 112-115.
- MIN F X, WANG X D, HU L SH, *et al.* Identification of species and pathogenicity of the *Fusarium* on potato in Heilongjiang province[J]. *Plant Protection*, 2010, 36(4): 112-115.
- [23] 方中达. 植物研究方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1988: 46-50.
- FANG ZH D. Research Methods of Plant Disease[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1988: 46-50.
- [24] BOOTH C. 镰刀菌属[M]. 北京: 农业出版社, 1988: 1-11.
- BOOTH C. *Fusarium* Link ex Fr[M]. Beijing: Agriculture Press, 1988: 1-11.
- [25] 洪坚平, 贺冰, 郭明霞. 山西镰刀菌[M]. 北京: 中国林业出版社, 2015: 36-41.
- HONG J P, HE B, GUO M X. *Fusarium* of Shanxi[M]. Beijing: China Forestry Press, 2015: 36-41.
- [26] O'DONNELL K, KISTLER H C, CIGELNIK E, *et al.* Multiple evolutionary origins of the fungus causing *Panama disease* of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(5): 2044-2049.
- [27] 薛玉凤. 马铃薯枯萎病病原菌初步研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.
- XUE Y F. Preliminary study on the pathogenic fungi of potato *Fusarium* wilt[D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2012.
- [28] 聂涛. 马铃薯主粮化战略分析[J]. 现代农业科技, 2016(6): 302-303.
- NIE T. Strategic analysis of potato staple food[J]. *Modern Agricultural Sciences and Technology*, 2016(6): 302-303.
- [29] 韩凤, 李巧玲, 余中莲, 等. 木香根腐病原菌鉴定及生物学特性研究[J]. 中药材, 2017, 40(5): 1020-1025.
- HAN F, LI Q L, YU ZH L, *et al.* The primary studies on pathogen identification and biological characteristics of *Saussurea lappa*[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2017, 40(5): 1020-1025.
- [30] 陈慧. 马铃薯枯萎病病原菌鉴定及 *Fusarium oxysporum* 遗传多样性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.
- CHEN H. Study on identification of pathogen in potato *Fusarium* wilt and genetic diversity of *Fusarium oxysporum*[D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2015.
- [31] 高云飞. 马铃薯干腐病接骨木镰刀菌检测体系建立的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- GAO Y F. Study on the establishment of detection on potato dry rot caused by *Fusarium sambucinum*[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013.
- [32] 何苏琴, 金秀琳, 魏周全, 等. 甘肃省定西地区马铃薯块茎干腐病原真菌的分离鉴定[J]. 云南农业大学学报, 2004, 19(5): 550-552.
- HE S Q, JIN X L, WEI ZH Q, *et al.* Isolation and identification of pathogens causing dry rot of potato tuber in Dingxi prefecture of Gansu province[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 2004, 19(5): 550-552.
- [33] 陈彦云. 宁夏西吉县马铃薯贮藏期病害调查及药剂防治研究[J]. 耕作与栽培, 2007, 8(3): 15-16.
- CHEN Y Y. Investigation on diseases of potato during storage and control with medicament in Xiji county, Ningxia[J]. *Tillage and Cultivation*, 2007, 8(3): 15-16.
- [34] 石立航, 胡俊, 蒙美莲, 等. 华北地区马铃薯贮藏病害种类调查及病原菌鉴定[J]. 内蒙古农业大学学报, 2010, 31(4): 53-57.
- SHI L H, HU J, MENG M L, *et al.* The investigation of potato disease of North China region of storage and identification of pathogens[J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University*, 2010, 31(4): 53-57.

Investigation and Pathogen Identification of Potato Root Rot Caused by *Fusarium* in Xinjiang

YANG Bo¹, GUO Chengjin², WANG Xigang² and SHEN Ruiqing^{1,2}

(1. School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 2. Institute of Plant Protection, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan 750002, China)

Abstract In order to clarify the occurrence and types of potato root rot caused by *Fusarium* in Xinjiang, the morphological and molecular biological identification of the pathogen was carried out through the investigation of potato root rot by *Fusarium* in Xinjiang, and then the pathogen was confirmed according to Koch's rule. The results showed that there were some differences in the incidence and severity of diseases in different potato planting areas, among of them, the highest incidence, 80%, was detected in Yining county. The causal *Fusarium* pathogens related to potato root rot in Xinjiang were detected, including *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. redolens*, *F. solani* and *F. acuminatum*. These five *Fusarium* strains were all pathogenic, and the dominant pathogen in Xinjiang was *F. solani* with the pathogenicity of 88.9%, followed by *F. redolens* with the pathogenicity of 66.7%.

Key words Potato; *Fusarium*; Morphological identification; Molecular identification

Received 2019-03-27

Returned 2019-05-17

Foundation item The National Public Welfare Industry (Agriculture) Research Projects (No. 201503112+7); the Innovation Demonstration Project of Whole Industry Chain in Ningxia Academy of Agricultural and Forestry Sciences (No. NKYZ16-0104).

First author YANG Bo, male, master student. Research area: root rot diseases of potato *Fusarium*. E-mail: 752536645@qq.com

Corresponding author SHEN Ruiqing, male, Ph. D, research fellow. Research area: plant pathogenic fungi. E-mail: srqzh@sina.com

(责任编辑: 郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)