

刘晓禄,冶海林,刘 易,等. 新疆奇台县马铃薯疮痂病原的分离鉴定及生物学特性[J]. 江苏农业科学,2023,51(5):139-146.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.05.019

新疆奇台县马铃薯疮痂病原的分离鉴定 及生物学特性

刘晓禄^{1,2}, 冶海林³, 刘 易⁴, 艾尼江·尔斯满², 徐李娟^{2,5}, 郭 瑞^{2,5}, 包晓玮¹, 宋素琴²

(1. 新疆农业大学食品科学与药学院,新疆乌鲁木齐 830052;2. 新疆农业科学院微生物应用研究所/
新疆特殊环境微生物重点实验室,新疆乌鲁木齐 830091; 3. 新疆农业农村厅哈密植物检疫工作站,新疆哈密 839000;
4. 新疆农业科学院综合试验场,新疆乌鲁木齐 830012; 5. 新疆农业大学农学院,新疆乌鲁木齐 830052)

摘要:对新疆奇台县马铃薯疮痂病原菌进行分离、鉴定和生物学特性研究,从该地区采集马铃薯种植区病薯块茎及根际土壤,利用植物组织分离法、稀释涂布分离法分离菌株,并检测致病基因 *txtAB*、*necI*、*tomA*,结合小萝卜幼苗法和小薯片法测定菌株的致病性;通过形态学、生理生化特性及 16S rDNA 序列进行鉴定。结果表明,菌株 5-51 和 B4K3-21 具有 *txtAB* 致病基因;小萝卜幼苗抑制率分别为 73.55%、77.20%,能使小薯片表面变褐,坏死;菌株 K1-4 和 T6 同时具有 *txtAB*、*necI*、*tomA* 等 3 种致病基因,小萝卜幼苗抑制率分别为 80.86%、77.42%,均能使小薯片和萝卜片表面变褐、坏死且具有较强的致病性。生物学测定发现菌株 K1-4、T6、5-51、B4K3-21 能以 D-葡萄糖、 α -乳糖、蔗糖、D-果糖、肌醇、D-甘露醇为单一碳源,以 L-赖氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸为单一氮源,经 16S rDNA 序列分析,菌株 K1-4、T6、5-51 与 *Streptomyces galilaeus* (MK 424308.1) 的亲缘关系最近,相似率为 99.86%,菌株 B4K3-21 与 *Streptomyces europaeiscabiei* (NR116533.1) 的亲缘关系最近,相似率为 99.64%,表明新疆奇台县马铃薯疮痂病的病原菌为 *Streptomyces galilaeus* 和 *Streptomyces europaeiscabiei*,均为新疆首次报道。

关键词:新疆奇台;马铃薯疮痂病原菌;分离鉴定;致病基因;生物学特性

中图分类号:S435.32 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)05-0139-07

马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 为茄科一年生草本植物,是全球第四大重要的粮食作物^[1]。新疆马铃薯种植区面积达到 2.44 万 hm^2 ,约占全国总种植面积的 5%,南疆地区马铃薯种植面积约为 8 000 hm^2 ,而北疆地区为 1.64 万 hm^2 ,主产区为昌吉州地区的奇台县和木垒县。近年来,随着马铃薯种植面积的扩大,马铃薯疮痂病 (*potato scab*) 已成为新疆奇台县马铃薯主要病害之一。

马铃薯疮痂病是由链霉菌 (*Streptomyces* spp.) 引起的土传和种传病害,病薯症状主要表现为在马铃薯表面形成褐色木栓化病斑,严重时呈疮痂状,

这就严重影响了马铃薯外观品质以及市场价值^[2-3]。引起马铃薯疮痂病的病原菌有 *S. acidiscabies*、*S. europaeiscabiei*、*S. scabies*、*S. galilaeus*, 其中 *S. scabies* 和 *S. acidiscabies* 是引起马铃薯疮痂病的主要病原菌^[4-7],自 2000 年以来不同国家报道有 30 多种致病菌种类^[8-10]。致病菌种类通常以链霉菌的形态、生理生化和分子学特征为鉴定依据^[11-13]。其中,引起马铃薯疮痂病的主要因子是 Thaxtomin A 毒素分子,Thaxtomin A 是一种二酮哌嗪类化合物,是一种纤维素合成抑制剂,纳摩尔级别的 Thaxtomin A 就可引起植物根部受到抑制,疮痂链霉菌相关致病基因均聚集在一个致病基因岛 (pathogenicity island,简称 PAI) 上,可水平转移到其他非致病性链霉菌中,从而导致新致病菌的出现。PAI 中含有致病基因 *txtAB* (Thaxtomin A 合成相关基因) 以及 *necI* 和 *tomA* 等与致病性相关的基因^[14]。目前已有包括 16S rDNA 序列分析、MLSA 多序列位点分析的多种分子生物学技术用于链霉菌的分类鉴定。张萌等对来自我国不同地区的马铃薯疮痂病原菌进行遗传多样性分析和区域分

收稿日期:2022-07-24

基金项目:新疆维吾尔自治区重点研发任务专项(编号:2022B02044-2);新疆农业科学院科技创新重点培育专项(编号:Xjkcpy-202203);农业农村部西北荒漠绿洲作物有害生物综合治理重点实验室开放基金(编号:KFJJ202006)。

作者简介:刘晓禄(1997—),男,新疆奇台人,硕士研究生,主要从事微生物活性产物研究。E-mail:1738634315@qq.com。

通信作者:包晓玮,博士,教授,主要从事食品营养与安全研究,E-mail:408531623@qq.com;宋素琴,硕士,研究员,主要从事微生物活性产物及作物病害研究,E-mail:suqin_song@163.com。

布特性研究,表明 *S. bobili* 和 *S. galilaeus* 主要分布于内蒙古自治区、河北、山西等地,*S. europaeiscabiei* 和 *S. scabies* 主要分布于河北、黑龙江、新疆维吾尔自治区等地。新疆奇台县紧邻天山,适宜马铃薯常年种植,近年来随着新疆马铃薯病原种的调入,疮痂病发生日益严重,逐年呈现恶化趋势^[15-17]。2010 年仅在伊犁地区报道的病原菌为 *S. scabies* 和 *S. acidiscabies* 等 2 种^[18],由于地域条件和环境的差异,不同区域或同一地区往往在不同季节盛行不同的疮痂病原链霉菌^[19-20]。新疆奇台地区马铃薯疮痂病的研究还未见报道,本研究旨在对奇台地区马铃薯疮痂病病原进行分离鉴定及生物学特性分析,为系统研究新疆马铃薯疮痂病病原的种类及该病害防治提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试马铃薯疮痂病病薯块茎和根际土壤于 2021 年 8 月采自新疆奇台县半截沟镇。对照菌株: *Streptomyces scabies* YN 由云南农业大学提供。

分离培养基为燕麦麸皮培养基(OMA):20 g 燕

麦麸皮、15 g 琼脂和 1 L 去离子水;高氏一号固体培养基(G1):20.0 g 可溶性淀粉,0.5 g 磷酸氢二钾,1.0 g 硝酸钾,0.5 g 氯化钠,0.01 g 七水硫酸亚铁,0.5 g 七水硫酸镁,20.0 g 琼脂粉,1 L 去离子水。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌的分离纯化 将采集自不同地段的患病马铃薯及根际土拍照保存记录(图 1)。病薯块茎用水反复冲洗,之后用灭菌水冲洗,用灭菌过的解剖刀切取块茎病健交界处 5 mm² 左右的组织块,用 0.3% 次氯酸钠溶液浸泡组织块 30 s,灭菌水冲洗 3 遍,用无菌滤纸吸取残余水分,切成厚度为 1.2 mm 的小片,置于 OMA 培养基上 28 ℃ 培养 7 d;挑取单菌落在 OMA 培养基上划线纯化 3 次,得到纯化后的菌株^[21]。

将采集的马铃薯疮痂病发病地块土壤于自然条件下风干 1 d,用无菌研钵研细,利用稀释涂布法,称取 1 g 根际土壤,加 9 mL 无菌水,涡旋混匀,静置 30 min 后进行 10¹、10²、10³ 倍梯度稀释。取 50 μL 混悬液分别涂布于 OMA 培养基上,28 ℃ 培养 7 d。挑取单菌落在 OMA 培养基上纯化并编号,纯化菌株转接斜面置于 4 ℃ 冰箱保存。



图1 田间感病马铃薯块茎的症状

1.2.2 病原菌的致病基因测定 根据报道,产生链霉菌致病性的基因,包括参与 thaxtomins 类生物合成的致病基因(*txtAB*)、坏死基因(*necI*)和番茄红素酶基因(*tomA*)通常聚集在一个致病岛(PAI)中,是参与菌株致病全过程的毒性因子,将病原菌是否含有 *txtAB* 基因作为该菌是否具有致病性的检测指标^[22]。通过 PCR 扩增的方法,检测链霉菌中是否含有致病基因。以对照菌株 *S. scabies* YN 为阳性对照,对 *txtAB*、*necI*、*tomA* 基因进行检测。致病基因检测 PCR 反应体系见表 1,引物序列如表 2 所示,扩增条件如表 3 所示,PCR 扩增产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测。

1.2.3 病原菌的致病性测定 利用小薯片法、萝卜苗法测定含有致病基因的链霉菌菌株的致病性^[26-27]。

表 1 PCR 反应体系

| 体系成分 | μL | | |
|-----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| | <i>txtAB</i> 反应体系 | <i>necI</i> 反应体系 | <i>tomA</i> 反应体系 |
| 2 × Es Taq Master Mix | 20 | 20 | 20 |
| 上游引物 | 0.6 | 0.4 | 0.4 |
| 下游引物 | 0.6 | 0.4 | 0.4 |
| ddH ₂ O | 12.8 | 12.8 | 12.8 |
| DNA 模板 | 1 | 1 | 1 |

1.2.4 病原菌的形态学及生物学特性 病原菌形态特征观察:挑取 OMA 平板上生长 5 d 的链霉菌单菌落置于载玻片上,40 × 光学显微镜下观察链霉菌孢子形态特征。根据国际链霉菌计划(ISP)方法,进行生理生化鉴定。

1.2.5 16SrDNA 序列分析 菌株基因组 DNA 的

表 2 菌株鉴定及相关引物序列

| 扩增基因 | 引物序列 | 片段大小 (bp) | 参考文献 |
|--------------|--|--------------|------|
| 16S rDNA | 27F:5′ - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG - 3′;1492R:5′ - GGTACCTTGTTACGACTT - 3′ | 1 465 | [23] |
| <i>txtAB</i> | Txt AB1:5′ - CCACCAGGACCTGCTCTTC - 3′;Txt AB2:5′ - TCGAGTGGACCTCACAGATG - 3′ | 385 | [24] |
| <i>necI</i> | Nf:5′ - ATGAGCGCGAACGGAAGCCCCGGA - 3′;Nr:5′ - GCAGGTCGTCACGAAGGATCG - 3′ | 700 | [25] |
| <i>tomA</i> | Tom3:5′ - GAGGCGTTGGTGGAGTTCTA - 3′;Tom4:5′ - TTGGGGTTGTACTCCTCGTC - 3′ | 392 | [24] |

表 3 马铃薯疮痂病致病基因 PCR 扩增条件

| 条件 | <i>txtAB</i> | <i>necI</i> | <i>tomA</i> |
|-----|--------------|-------------|-------------|
| 预变性 | 95 ℃ 3 min | 95 ℃ 3 min | 95 ℃ 3 min |
| 变性 | 95 ℃ 30 s | 95 ℃ 30 s | 95 ℃ 30 s |
| 退火 | 52 ℃ 30 s | 62 ℃ 30 s | 56 ℃ 30 s |
| 延伸 | 72 ℃ 30 s | 72 ℃ 30 s | 72 ℃ 30 s |
| 再延伸 | 72 ℃ 10 min | 72 ℃ 10min | 72 ℃ 10 min |
| 循环 | 30 次 | 30 次 | 30 次 |

提取参照文献[28]中的方法进行。采用 16S rDNA 通用引物,通用引物为 27F、1492R,PCR 反应体系为 30 μL:15 μL Mix,2 μL 模板,ddH₂O 11 μL,上下游引物各 1 μL,利用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。由生工生物工程(上海)股份有限公司进行测定。测序结果在 NCBI 网站上比对,利用 Mega7.0

构建发育树。

2 结果与分析

2.1 马铃薯疮痂病病原菌的分离

马铃薯块茎病健交界处组织和马铃薯根际土壤中共分离纯化得到 97 株放线菌,其中链霉菌 32 株,对分离得到的菌株进行初步归类并编号。

2.2 马铃薯疮痂病病原的致病性测定

2.2.1 病原菌的致病基因 PCR 检测 根据致病基因测定方法,对筛选得到的链霉菌进行致病基因检测,结果表明,4 株链霉菌具有致病基因,其中 2 株具有 *txtAB* 基因,K1 - 4 和 T6 同时具有 *txtAB*、*necI*、*tomA* 等 3 种致病基因(图 2)所示。

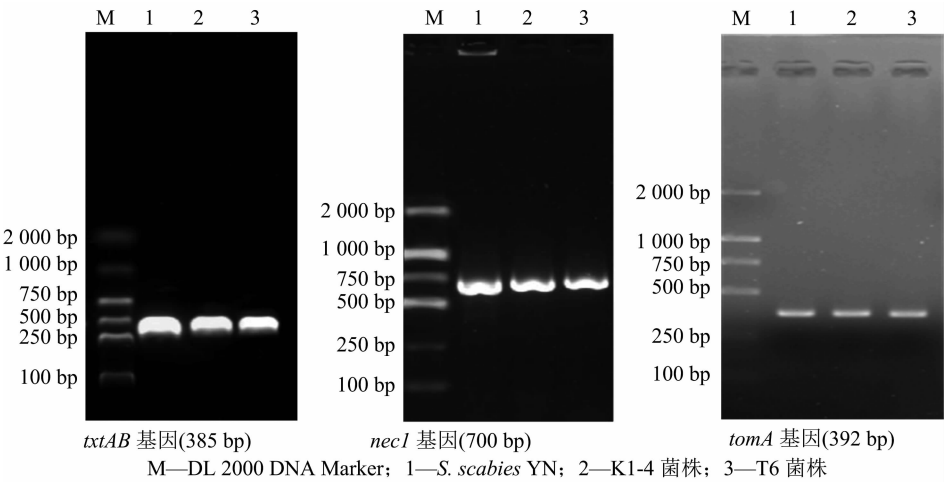


图2 致病基因检测

萝卜幼苗法表明,致病链霉菌菌株均能抑制萝卜幼苗的生长,其中 K1 - 4 菌株抑制率达到 80.86%,仅次于阳性对照菌株(表 4)。与空白对照组相比致病菌株菌悬液处理组小萝卜幼苗的根部和苗明显受到抑制且部分有坏死现象(图 3)。因此,4 株致病性链霉菌菌株均具有较强的致病性。

利用小薯片法和萝卜片法对具有致病基因的 4

株菌株进行致病性测定,7 d 后可观察到萝卜片中央有坏死现象,薯片表面变褐有凹陷,而对照的小薯片和萝卜片无变化(图 4)。

2.3 病原菌的形态学鉴定

2.3.1 形态学描述 菌株 T6、K1 - 4、5 - 51、B4K3 - 21 等 4 种菌株在 OMA 平板上形态特征见图 5。T6、K1 - 4、5 - 51 菌落呈灰白色,边缘稍有褶

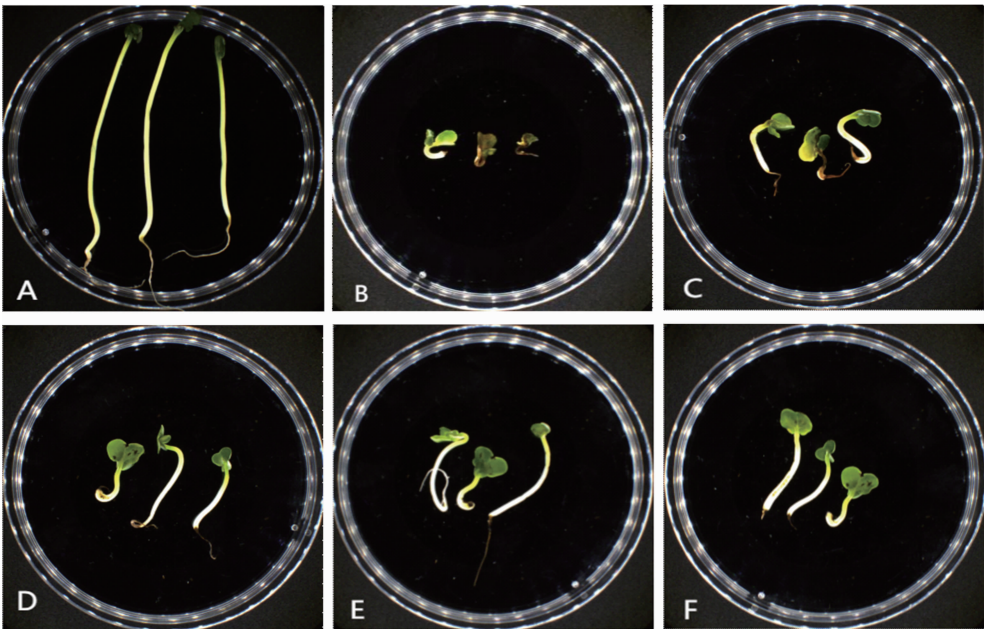
表 4 马铃薯疮痂病原菌分离菌株致病性统计

| 供试菌株 | 萝卜苗平均长度 (cm) | 萝卜苗抑制率 (%) | 小薯片法 | 萝卜片 |
|----------|-----------------|---------------|------|-----|
| YN(阳性对照) | 1.60 | 89.68 | + | + |
| T6 | 3.50 | 77.42 | + | + |
| K1-4 | 2.97 | 80.86 | + | + |
| 5-51 | 4.10 | 73.55 | + | + |
| B4K3-21 | 3.53 | 77.20 | + | + |

注：“+”表示阳性反应；“-”表示阴性反应，下表同。

皱突起,呈同心圆状,革兰氏染色呈阳性,孢子呈灰色,孢子链呈直柔曲状(图 5)。B4K3-21 菌落呈白色,革兰氏染色呈阳性,孢子呈白色。

2.3.2 病原菌生物学特性的测定 各菌株生物学测定结果见表 5。菌株 K1-4、T6、5-51、B4K3-21 均能以 D-葡萄糖、 α -乳糖、蔗糖、D-果糖、肌醇、D-甘露醇为单一碳源,以 L-赖氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸为单一氮源,对结晶紫和苯酚敏感,在含 10%



A: 萝卜幼苗空白对照; B: 接种 YN 菌株发酵液; C: 接种 K1-4 菌株; D: 接种 T6 菌株; E: 接种 5-51 菌株; F: 接种 B4K3-21 菌株

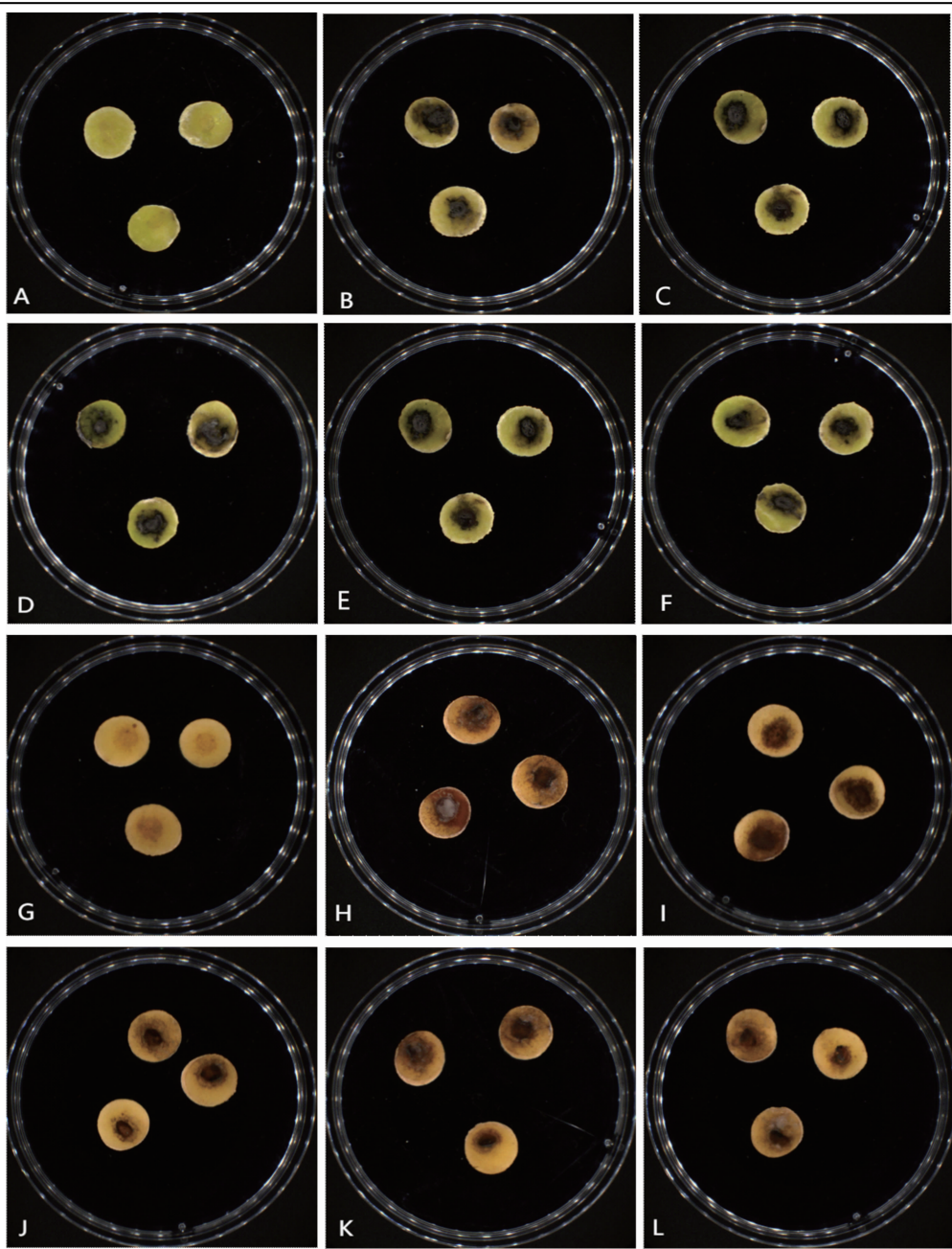
图3 病原菌的萝卜幼苗法致病性测定

的 NaCl 培养基中无法生长,均能产生黑色素、H₂S 和淀粉酶(表 5)。

2.3.3 病原菌的 16S rDNA 序列分析 采用细菌通用引物,对分离到的链霉菌菌株进行扩增,得到长度为 1 500 bp 的 16S rDNA 片段(图 6),本研究选取 K1-4、T6、5-51、B4K3-21 的 16S rDNA 片段送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。通过在 NCBI GenBank 中进行 BLAST 比对,证明以上 4 个菌株均为链霉菌的 16S rDNA 序列。系统发育树结果显示(图 7、图 8),菌株 K1-4、T6、5-51 与 *Streptomyces galilaeus*(MK 424308.1)的亲缘关系最近,相似率为 99.86%。菌株 B4K3-21 与 *Streptomyces europaeiscabiei*(NR116533.1)的亲缘关系最近,相似率为 99.64%,结合形态学特征,将其初步鉴定为 *S. europaeiscabiei*。

3 讨论

马铃薯疮痂病的主要传播方式为种薯和土壤传播,其中带病种薯的区域间调拨是致使不同种疮痂病原菌大范围扩散的主要原因。在鉴定病原菌的过程中,各生物学特性可能存在地域性差异,不同地区间相同种属的不同菌株亦可能存在差异,因此要尽可能选取更多的生物学指标进行系统分析。国内对马铃薯疮痂病原菌的相关研究较晚,截至目前我国已报道的疮痂链霉菌病原共计 18 种,在河北省鉴定出 3 个致病种——*S. diastatochromogenes*、*S. europaeiscabiei* 和疮痂链霉菌^[29];在黑龙江省鉴定出 4 个致病种——普通疮痂链霉菌、酸式疮痂链霉菌、肿痂链霉菌和欧式疮痂链霉菌^[30];新病原菌的不断出现表明我国疮痂链霉菌的病原组成具有多样性。



A: 萝卜片空白对照; B: 接种 YN 菌株; C: 接种 K1-4 菌株; D: 接种 T6 菌株; E: 接种 5-51 菌株;
F: 接种 B4K3-21 菌株; G: 马铃薯片空白对照; H: 接种 YN 菌株; I: 接种 K1-4 菌株;
J: 接种 T6 菌株; K: 接种 5-51 菌株; L: 接种 B4K3-21 菌株

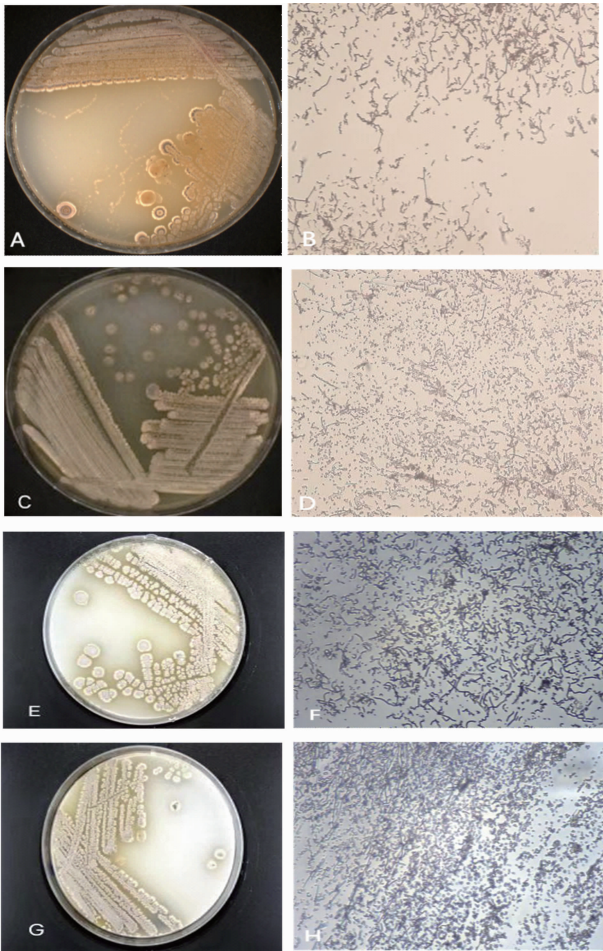
图4 病原菌的小薯片法和萝卜片法致病性测定

由于链霉菌种类受环境和气候影响较大,因此明确当地马铃薯疮痂病病原菌的种类,才能更有效地制定病害防控措施。

本研究对新疆奇台地区分离出的病原菌菌株进行生物学特性和 16S rDNA 序列分析,将造成新疆奇台县马铃薯疮痂病的病原鉴定为 *S. galilaeus* 和 *S. europaeiscabie*,研究发现 *S. galilaeus* 的致病力仅次于 *S. scabies*。在前人研究中,对伊犁地区马铃薯

疮痂病病原进行分离鉴定到 *S. acidiscabies*、*S. scabies* 等 2 种疮痂链霉菌,其中分离到的 *S. acidiscabies* 致病性较强,对小萝卜幼苗抑制率为 70.6%。

本试验在新疆奇台县分离到 2 种病原菌分别为 *S. galilaeus* 和 *S. europaeiscabie*,其中 *S. galilaeus* K1-4、T6 和 5-51 菌株的萝卜苗抑制率分别为 80.86%、77.42%、73.55%,*S. europaeiscabie* B4K3-21 对小萝卜幼苗抑制率为 77.20%,致病性

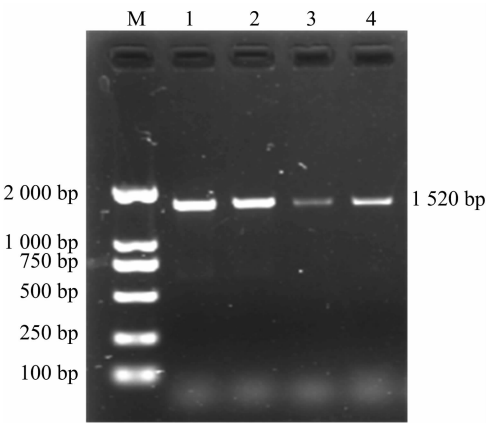


A: T6 菌落形态; B: T6 孢子链形态; C: K1-4 菌落形态; D: K1-4 孢子链形态; E: 5-51 菌落形态; F: 5-51 孢子链形态; G: B4K3-21 菌落形态; H: B4K3-21 孢子链形态

图5 马铃薯疮痂病原菌的形态学特征

表 5 菌株 K1-4、T6、B4K3-21 和 5-51 生理生化特征

| 指标特征 | K1-4 | T6 | B4K3-21 | 5-51 |
|---------------------|------|----|---------|------|
| D-葡萄糖 | + | + | + | + |
| D-甘露醇 | + | + | + | + |
| 蔗糖 | + | + | + | + |
| α-乳糖 | + | + | + | + |
| D-果糖 | + | + | + | + |
| 肌醇 | + | + | + | + |
| L-赖氨酸 | + | + | + | + |
| 甲硫氨酸 | + | + | + | + |
| 酪氨酸 | + | + | + | + |
| 1% NaCl | + | + | + | + |
| 3% NaCl | + | + | + | + |
| 5% NaCl | + | + | + | + |
| 10% NaCl | - | - | - | - |
| H ₂ S 产生 | + | + | + | + |
| 黑色素 | + | + | + | + |
| 结晶紫(0.5 μg/mL) | - | - | - | - |
| 苯酚(0.1%) | - | - | - | - |
| 淀粉水解 | + | + | + | + |



M—DL 2000 DNA Marker; 1—K1-4 菌株; 2—T6 菌株; 3—B4K3-21 菌株; 4—5-51 菌株

图6 4 个菌株 16S rDNA 片段扩增结果

明显高于酸式疮痂链霉菌,且这 2 株菌为新疆首次报道的病原菌,通过对特定地区马铃薯疮痂病原菌的分离和鉴定,可为新疆奇台地区马铃薯疮痂病的防治提供理论依据。

4 结论

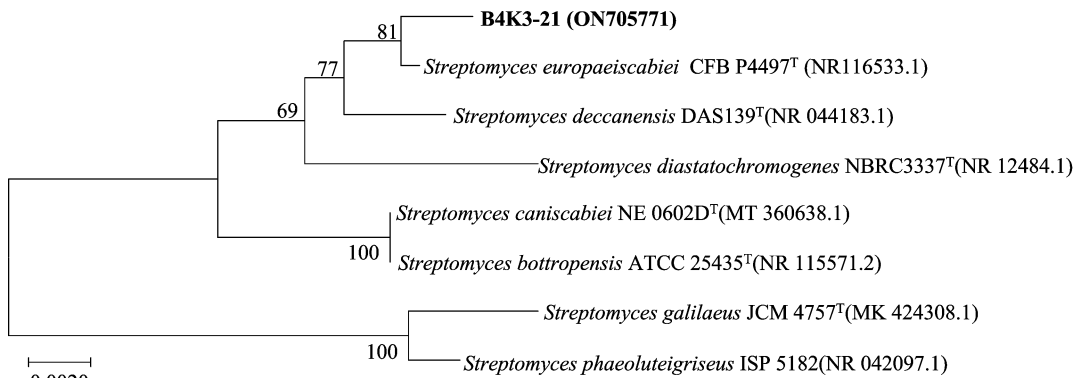
以新疆奇台县马铃薯种植地采集的土壤和病薯块茎为研究对象,经形态学及 16S rDNA 序列同源性分析初步鉴定该菌株与 *S. galilaeus* 和 *S. europaeiscabie* 同源性相近,均为新疆首次报道的马铃薯疮痂病原菌。致病基因 PCR 扩增试验筛选得到 4 株具有致病基因的菌株,其中 K1-4 和 T6 同时含有 3 种致病基因 *txtAB*、*tomA*、*necI*。致病性试验证实,菌株 K1-4、T6、5-51、B4K3-21 均可以抑制萝卜幼苗的生长,使小薯片表面变褐有凹陷,小萝卜片表面坏死,而对照无发病现象。生物学特性显示菌株 K1-4、T6、5-51、B4K3-21 能利用 D-葡萄糖、α-乳糖、蔗糖、D-果糖、肌醇、D-甘露醇 6 种碳源,能利用 L-赖氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸等 3 种氮源,对苯酚和结晶紫敏感,在含 10% NaCl 培养基中不能生长,均能产生黑色素、H₂S 和淀粉酶。

参考文献:

[1]崔凌霄,杨成德,魏立娟,等. 甘肃省定西市马铃薯疮痂新病原 *Streptomyces galilaeus* 的分离、鉴定及生物学特性研究[J]. 植物保护,2018,44(5):206-211.

[2]Dees M W,Wanner L A. In search of better management of potato common scab[J]. Potato Research,2012,55(3):249-268.

[3]Wanner L A,Kirk W W. *Streptomyces* - from basic microbiology to role as a plant pathogen[J]. American Journal of Potato Research, 2015,92(2):236-242.



T: 模式菌株; 括号中数值代表 GenBank 登录号

图7 链霉菌 B4K3-21 的 16S rDNA 序列构建的系统发育树

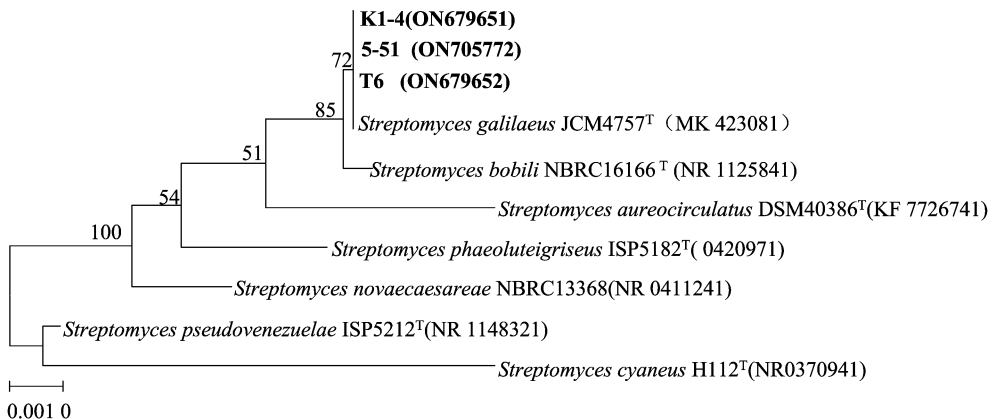


图8 链霉菌 K1-4、5-51、T6 的 16S rDNA 序列构建的系统发育树

- [4] Loria R, Bukhalid R A, Fry B A, et al. Plant pathogenicity in the genus streptomyces[J]. Plant Disease, 1997, 81(8): 836 – 846.
- [5] Park D H, Yu Y M, Kim J S, et al. Characterization of *Streptomyces* causing potato common scab in Korea[J]. Plant Disease, 2003, 87(11): 1290 – 1296.
- [6] Kreuze J F, Suomalainen S, Paulin L, et al. Phylogenetic analysis of 16S rRNA genes and PCR analysis of the *necl* gene from *Streptomyces* spp. causing common scab, pitted scab, and netted scab in Finland[J]. Phytopathology, 1999, 89(6): 462 – 469.
- [7] Doering – Saad C, Kämpfer P, Manulis S, et al. Diversity among *Streptomyces* strains causing potato scab [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992, 58(12): 3932 – 3940.
- [8] Bouček – Mechiche K, Gardan L, Normand P, et al. DNA relatedness among strains of *Streptomyces* pathogenic to potato in France; description of three new species, *S. europaeiscabiei* sp. nov. and *S. stelliscabiei* sp. nov. associated with common scab, and *S. reticuliscabiei* sp. nov. associated with netted scab[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, 50(1): 91 – 99.
- [9] Hao J J, Meng Q X, Yin J F, et al. Characterization of a new *Streptomyces* strain, DS3024, that causes potato common scab[J]. Plant Disease, 2009, 93(12): 1329 – 1334.
- [10] Wanner L A. A new strain of *Streptomyces* causing common scab in potato[J]. Plant Disease, 2007, 91(4): 352 – 359.
- [11] Flores – G R, Velasco I, Montes F. Detection and characterization of *Streptomyces* causing potato common scab in Western Europe[J]. Plant Pathol, 2008, 57(1): 162 – 169.
- [12] Leiminger J, Frank M, Wenk C, et al. Distribution and characterization of *Streptomyces* species causing potato common scab in Germany[J]. Plant Pathology, 2013, 62(3): 611 – 623.
- [13] Wanner L A. A patchwork of *Streptomyces* species isolated from potato common scab lesions in north America[J]. American Journal of Potato Research, 2009, 86(4): 247 – 264.
- [14] Guldener U, Seong K Y, Boddu J, et al. Development of a *Fusarium graminearum* Affymetrix Gene Chip for profiling fungal gene expression *in vitro* and in planta[J]. Fungal Genetics and Biology, 2006, 43(5): 316 – 325.
- [15] 张 萌, 赵伟全, 于秀梅, 等. 中国马铃薯疮痂病原菌 16S rDNA 的遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(2): 499 – 504.
- [16] 张 萌. 中国不同地区马铃薯疮痂病原菌遗传多样性分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2008.
- [17] 张 萌, 刘 伯, 于秀梅, 等. 中国马铃薯疮痂病原菌生物学特性分析[J]. 中国农业科学, 2010, 43(12): 2603 – 2610.
- [18] 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.

罗其鑫,杨莹,李思,等. 蓝莓叶斑病病原菌鉴定及生物学特性[J]. 江苏农业科学,2023,51(5):146–154.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2023.05.020

蓝莓叶斑病病原菌鉴定及生物学特性

罗其鑫,杨莹,李思,尚晓静,侯瑞

(贵州大学林学院,贵州贵阳 550025)

摘要:为明确贵州省黔东南苗族侗族自治州麻江县蓝莓叶斑病病原菌种类及其生物学特性,采用组织分离法获得了代表性病原菌株 Y2,科赫氏法则证明 Y2 是引起蓝莓叶斑病的病原菌。形态学和分子生物学综合鉴定菌株 Y2 为链格孢菌(*Alternaria alternata*)。生物学特性研究结果表明,病原菌 Y2 在 PDA 培养条件下,气生菌丝较发达,菌丝呈白色、密集,基质背面呈淡黄色,分生孢子单生,褐色,卵圆形、倒棒形,有纵横隔膜。该菌菌丝生长的最佳培养基为察氏培养基,产孢最适培养基为 WA 培养基;菌丝生长的最适温度为 25 ℃,产孢最适温度为 5 ℃;菌丝对碳源葡萄糖利用效果最好,但麦芽糖能更好地促进 Y2 产孢;菌丝生长最适氮源为蛋白胨,产孢最适氮源为硫酸铵;全光照适宜菌丝生长,但全黑暗促进 Y2 产孢;菌丝生长和产孢最适 pH 值为 7。通过 Y2 菌株生物学特性研究,能够为蓝莓叶斑病防治提供理论依据。

关键词:蓝莓;叶斑病;链格孢菌;生物学特性

中图分类号:S436.639 **文献标志码:**A **文章编号:**1002–1302(2023)05–0146–09

蓝莓学名笃斯越橘(*Vaccinium uliginosum* L.), 属杜鹃花科(Ericaceae)越橘亚科(Vaccination)越橘

属(*Vaccinium*)植物。蓝莓浆果中含有丰富的花青素、鞣花酸等活性物质,可以抗衰老、减少癌症等的发病率^[1–3]。随着我国蓝莓种植规模的逐渐扩大,日趋突出的蓝莓病害导致蓝莓产业发展受阻^[4]。目前已报道的蓝莓常见病害主要有蓝莓叶斑病^[5]、枝枯病^[6]、根癌病^[7]、灰霉病^[8]、间座壳芽枯病^[9]和枝干溃疡病^[10]等。蓝莓叶斑病已成为蓝莓常见病害,西澳大利亚州报道了在蓝莓上由极细链格孢菌(*Alternaria tenuissima*)引起的叶斑病^[11],Norman 等报道了由青枯菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的蓝

收稿日期:2022–04–12

基金项目:贵州省科技计划项目(编号:黔科合支撑[2017]2567、黔科合平台人才[2018]5781);贵州大学 SRT 计划[编号:贵大 SRT (2019)252 号]。

作者简介:罗其鑫(1999—),女,贵州贵阳人,硕士研究生,研究方向为森林病理学。E-mail:452450608@qq.com。

通信作者:侯瑞,博士,副教授,主要从事森林病理学等研究工作。
E-mail:jiayouhourui123@163.com。

[19] Hiltunen L H, Weckman A, Ylhainen A, et al. Responses of potato cultivars to the common scab pathogens, *Streptomyces scabies* and *S. turgidiscabies* [J]. Annals of Applied Biology, 2005, 146(3): 395–403.

[20] Takano Y, Choi W, Mitchell T K, et al. Large scale parallel analysis of gene expression during infection-related morphogenesis of *Magnaporthe grisea* [J]. Molecular Plant Pathology, 2003, 4(5): 337–346.

[21] 聂峰,陈虞超,巩樵,等. 西北地区马铃薯疮痂病原菌鉴定及其生物学特性[J]. 植物保护学报, 2019, 46(3): 611–617.

[22] Kers J A, Cameron K D, Joshi M V, et al. A large, mobile pathogenicity island confers plant pathogenicity on *Streptomyces* species [J]. Molecular Microbiology, 2004, 55(4): 1025–1033.

[23] 申永瑞,向君亮,王佳琦,等. 疮痂链霉菌拮抗菌株 BU396 的分离鉴定与抗菌性质分析[J]. 微生物学通报, 2019, 46(10): 2601–2611.

[24] Wanner L A. A survey of genetic variation in *Streptomyces* isolates causing potato common scab in the United States [J]. Phytopathology, 2006, 96(12): 1363–1371.

[25] Bukhalid R A, Chung S Y, Loria R. *necl*, a gene conferring a necrogenic phenotype, is conserved in plant-pathogenic *Streptomyces* spp. and linked to a transposase pseudogene [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1998, 11(10): 960–967.

[26] 赵伟全,杨文香,李亚宁,等. 中国马铃薯疮痂病菌的鉴定[J]. 中国农业科学, 2006, 39(2): 313–318.

[27] 陈利达,李磊,谢学文,等. 山东高密地区马铃薯疮痂病菌种类及致病性鉴定[J]. 华北农学报, 2020, 35(增刊1): 347–354.

[28] Kieser T, Bibb M, Buttner M J, et al. Practical *Streptomyces* genetics [M]. Norwich: John Innes Foundation, 2000.

[29] 张海颖,郭凤柳,许华民,等. 河北省张北地区马铃薯疮痂病的病菌鉴定[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(10): 131–134.

[30] 邢莹莹,吕典秋,魏琪,等. 黑龙江省部分地区马铃薯疮痂病菌种类及致病性鉴定[J]. 植物保护, 2016, 42(1): 26–32, 50.