



杨梦平. 黑龙江省马铃薯疮痂病致病菌生物学特性研究[J]. 黑龙江农业科学, 2022(5):45-49.

黑龙江省马铃薯疮痂病致病菌生物学特性研究

杨梦平

(黑龙江省农业科学院 克山分院, 黑龙江 齐齐哈尔 161600)

摘要:为研究黑龙江省马铃薯疮痂病菌的生物学特性,对黑龙江省3种马铃薯疮痂病致病菌 *Streptomyces scabies*、*Streptomyces turgidiscabies*、*Streptomyces acidiscabies* 进行温度、pH、盐耐受性、碳氮源利用以及抗生素敏感性试验。结果表明:供试菌株最适生长温度均为 29 ℃,生长所需 pH 范围及生长最适 pH 存在较大差异,*S. scabies* 可生长 pH 范围为 5.0~10.0,最适生长 pH 为 8.0;*S. turgidiscabies* 可生长 pH 范围为 6.0~10.0,最适 pH 为 9.0;*S. acidiscabies* 可生长 pH 范围为 4.0~8.0,最适 pH 为 6.0;盐耐受浓度无差异,均低于 4%;生长可利用碳源无差异,均能以葡萄糖、蔗糖、果糖、木糖、甘露醇、肌醇、乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖作为单一碳源;可利用氮源差异较大,*S. scabies* 可以酪氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、甘氨酸、丙氨酸为单一氮源;*S. turgidiscabies* 可以酪氨酸、脯氨酸、半胱氨酸、甘氨酸、丙氨酸为单一氮源;*S. acidiscabies* 可以酪氨酸和丙氨酸为单一氮源;对不同种抗生素的敏感性也存在差异,*S. scabies* 对青霉素 G、赤霉素、卡那霉素敏感;*S. turgidiscabies* 对青霉素 G、多粘菌素 B、赤霉素、卡那霉素、硫酸盐链霉素、硫酸盐庆大霉素、氯霉素敏感;*S. acidiscabies* 对青霉素 G、赤霉素、硫酸盐链霉素、氯霉素敏感。综上所述,黑龙江地区马铃薯疮痂病致病菌的生物学特性存在较大的种间差距。

关键词:马铃薯疮痂病;致病菌;生物学特性

马铃薯被称为世界上第四大粮食作物,仅次于小麦、水稻、玉米三大粮食作物,在保障粮食安全方面起着举足轻重的作用。我国为世界马铃薯产业发展提供主要生产力,在世界马铃薯加工方面也占据主导地位^[1]。黑龙江省是我国农业大省,也是我国重要的商品薯、种薯及加工原料薯生产基地,每年都有大量的种薯和商品薯由黑龙江销往其他省市,马铃薯生产在黑龙江经济中占有重要地位^[2]。

马铃薯疮痂病(Potato scab)是由疮痂病菌,即链霉菌引起的一种病害,是一种难以预防的世界性病害^[3],在我国各马铃薯主产区均有不同程度的发生。疮痂病传播速度快、传播面积广,在马铃薯种植区一旦发现感染疮痂病,该马铃薯产区极有可能大面积爆发疮痂病,大多数块茎在收获时会有不同程度的发病,染病严重的块茎整个表皮均被疮痂病斑覆盖。虽然该病对马铃薯产量影

响不大,但是由于会在表皮形成病斑,严重降低了马铃薯的外观品质,影响了马铃薯原有的商品价值,降低其市场竞争力,从而造成经济损失。随着黑龙江地区马铃薯产业的迅速发展,经济效益的不断提高,对马铃薯的外观和品质也提出了更高的要求。近年来马铃薯种植面积的不断扩大以及重茬种植,致使黑龙江省各马铃薯种植区的疮痂病逐渐加重,且发病严重程度也呈逐年上升态势。

马铃薯疮痂病病原菌为放线菌类细菌,属于高等细菌,除细菌特性外,还具备部分真菌特性。由于病原菌组成多样,近年来不断有其他多种链霉菌引起疮痂病的报道。目前国内外已报道十多种链霉菌能引起马铃薯疮痂病^[4]。我国马铃薯疮痂病病原菌的分布存在地域差异,各省之间已发现的疮痂病菌均有所不同,存在明显的遗传多样性^[5]。甘肃马铃薯疮痂病病原有 *Streptomyces griseus* 和 *S. scabies*^[6];山西省病原菌为 *S. bobili* 和 *S. galilaeus*^[7];内蒙古自治区目前发现的病原菌主要有 *S. scabies*、*S. turgidiscabies*、*S. europaeiscabies*、*S. diastarochromogenes*、*S. galilaeus* 和 *S. bobili*^[8];山东省主要病原菌为 *S. scabies*、*S. acidiscabies*、*S. setonii* 和 *S. diastatochromogenes*^[9]。云南省目前已报道的病原菌有 10 种,

收稿日期:2022-01-14

基金项目:科技部、财政部、国家科技资源共享服务平台项目“国家作物种质资源库马铃薯分库运行服务”(NCGRC-2021-44);农业农村部物种保护项目“马铃薯种质资源的收集、鉴定、编目、繁种与入库(圃)保存”(19210136)。

作者简介:杨梦平(1991—),女,硕士,研究实习员,从事马铃薯种质资源保存与利用研究。E-mail:396162469@qq.com。

分别为 *S. turgidiscabies*、*S. scabies*、*S. enissocaesilis*、*S. luridiscabiei*、*S. caviscabies*、*S. anulatus*、*S. aureofaciens*、*S. acidiscabies*、*S. europaeiscabiei* 和 *S. griseus*^[10]；黑龙江省发现的 3 种疮痂病原菌为 *S. scabies*、*S. turgidiscabies* 和 *S. acidiscabies*^[11]。

现代分类方法是人类对认知生物起源和物种多样性的重要手段之一，其研究结果极大地丰富了分类学内容，同时定量化的测量使其研究结果更加客观。但人们依旧需要通过传统分类中的形态特征、培养特征及生理生化特性等表现型分类学信息，来认识辨别菌种的基本特征，这些传统分类不能被化学分类与分子分类所替代，是多相分类研究的重要组成部分。

链霉菌的分布复杂且存在多样性，不同种类之间生长特性存在一定差异。目前关于链霉菌的生物学特性报道较少。因此，本文对黑龙江省已发现的 3 种马铃薯疮痂病菌的生物学特性进行研究，旨在为该病菌的进一步研究奠定基础，为马铃薯疮痂病在黑龙江地区的发生、流行研究及防治提供理论依据，对马铃薯疮痂病的综合防控具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 选取来自黑龙江省齐齐哈尔、牡丹江、鸡西及大兴安岭等多个种植区的病薯，挑取自病健交界处的菌落 75% 浓度酒精消毒 20 s 后，置于水琼脂培养基，28 ℃ 暗培养 4 d 后，选取链霉菌单菌落于 OMA 培养基上画线纯化。最终得到黑龙江省马铃薯疮痂病主要致病菌 3 种，经鉴定分别为 *Streptomyces scabies*、*Streptomyces turgidiscabies* 和 *Streptomyces acidiscabies*。

1.1.2 供试培养基 燕麦琼脂固体培养基 (OMA)：燕麦 40 g，加水 2 L，煮沸后过滤残渣，继续加入琼脂粉 35 g，直至全部溶解。121 ℃ 灭菌 0.5 h，超净台内分装待用。

Bennett 液体培养基：葡萄糖 10 g，酵母浸膏 1 g，牛肉浸膏 1 g，酶水解酪素 2 g，琼脂粉 15 g，蒸馏水 1 000 mL。

碳源利用基础培养基：(NH₄)₂SO₄ 2.64 g，KH₂PO₄ 2.38 g，K₂HPO₄ 5.65 g，MgSO₄·7H₂O

1.0 g，CuSO₄·5H₂O 0.006 4 g，FeSO₄·7H₂O 0.001 1 g，MnCl₂·4H₂O 0.007 9 g，ZnSO₄·7H₂O 0.001 5 g，蒸馏水 1 000 mL，pH7.2~7.4。

1.2 方法

1.2.1 菌株最适生长温度测定 设 20, 23, 26, 29, 32 和 35 ℃ 6 个温度梯度处理，4 次重复。用移液枪吸取 20 μL 病原菌孢子悬浮液滴定于 OMA 培养基中心处，用平板涂布法将病原菌混匀后均匀涂布于培养基表面，将其放置于不同温度的培养箱中，培养 10 d 后测量单菌落直径。

1.2.2 菌株正常生长 pH 范围测定 用 NaOH 溶液和 HCl 溶液调节配置 pH2.0~12.0 的 OMA 培养基，用平板涂布法将病原菌混匀密布于生长培养基平板，4 次重复，置于恒温培养箱中 10 d 后测量单菌落直径，以确定能够保证菌株正常生长的 pH 范围和最适 pH。

1.2.3 菌株 NaCl 耐受性测定 采用 Bennett 液体培养基作为基础培养基，在摇床中 28 ℃，120 r·h⁻¹ 的条件下培养 4 d 记录。观测供试菌株在含 4%、7%、10%、12% NaCl 的培养液上能否生长及生长情况，确定菌株能够耐受 NaCl 的上、下限浓度及最适浓度。

1.2.4 菌株碳源利用情况测定 选取的碳源分别为葡萄糖、蔗糖、果糖、木糖、甘露醇、肌醇、乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖。将不同碳源经乙醚消毒后，分别按 1% 的浓度加入普戈二氏推荐的无碳源基础培养基。设阴性对照，培养 7 d 后，对加每种碳源与不加碳源的基础培养基的生长情况进行比较。

1.2.5 菌株氮源利用情况测定 选用的氮源分别为酪氨酸、脯氨酸、组氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、甘氨酸、丙氨酸。将不同氮源经乙醚消毒后，按 0.5% 的浓度加入基础培养基，设阴性对照，培养 7 d 后，对加每种氮源与不加氮源的基础培养基的生长情况进行比较。

1.2.6 菌株抗生素敏感性测定 采用纸片法测定抗生素敏感性，用平板涂布法将病原菌混匀密布于生长培养基平板，同时用无菌镊子取含抗生素的纸片于平板中央，置 28 ℃ 培养 7 d 后，取出观察，出现抑菌圈说明对抗生素敏感。本试验所采用的抗生素及使用浓度详见表 1。

表 1 抗生素及使用浓度

抗生素	浓度
环丙沙星	10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
氯霉素	30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
红霉素	15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
硫酸盐庆大霉素	10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
卡那霉素	15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
青霉素 G	10 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$
多粘菌素 B	10 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$
硫酸盐链霉素	10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
四环素	30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
赤霉素	30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

1.2.7 数据分析 试验数据采用 Excel 2003 进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 菌株最适生长温度

如图 1 所示,在 20~29 ℃ 中菌落直径随温度升高而增大,29~35 ℃ 中菌落直径随温度升高而

减小。3 种病原菌 *S. scabies*、*S. turgidiscabies* 和 *S. acidiscabies* 菌落直径均在 29 ℃ 时达到最大,分别为 17.20,13.50 和 14.70 mm。

2.2 菌株生长最适 pH

如图 2 所示,*S. scabies*、*S. turgidiscabies* 和 *S. acidiscabies* 满足生长的 pH 范围差异较大,*S. scabies*在 pH5.0~10.0 范围内的培养基内能够生长,其最适生长 pH 为 8.0,单菌落生长直径为 16.20 mm;*S. turgidiscabies* 在 pH6.0~10.0 范围内的培养基内能够生长,最适生长 pH 为 9.0,单菌落生长直径为 15.40 mm;*S. acidiscabies* 的可生长 pH 范围则为 4.0~8.0,最适生长 pH 为 6.0,单菌落直径 14.70 mm。

2.3 菌株 NaCl 耐受性

如表 2 所示,3 种供试菌株均能在 4% 的盐浓度的条件下生长,当盐浓度达到或高于 7% 时均不能够生长。表明 *S. scabies*、*S. turgidiscabies*、*S. acidiscabies* 的盐耐受范围均低于 4%。

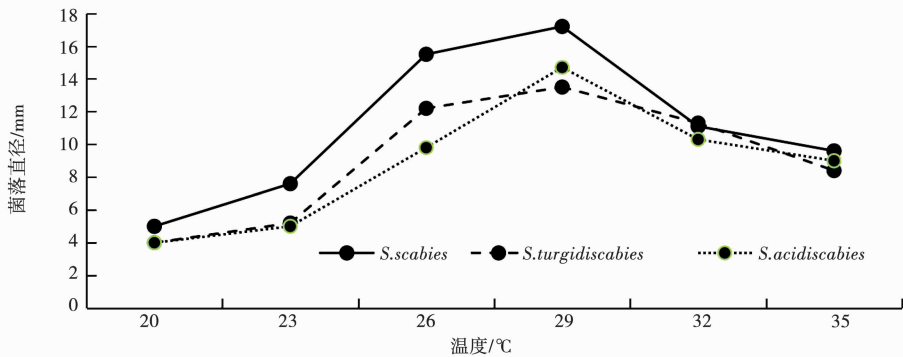


图 1 菌株最适生长温度测定

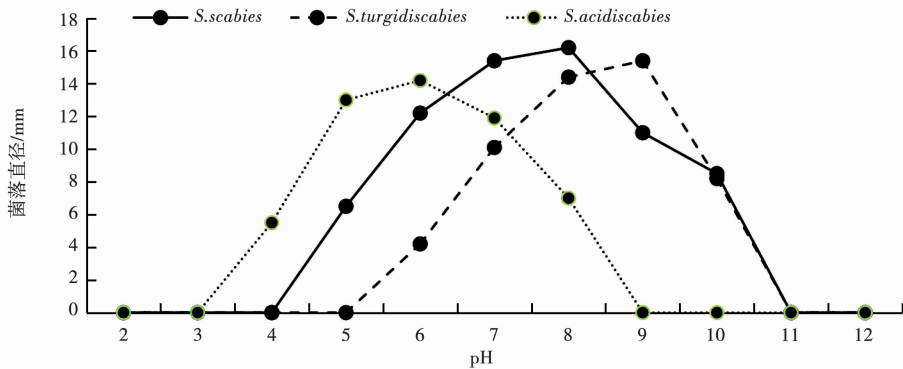


图 2 菌株生长 pH 范围测定

表 2 致病菌在不同 NaCl 浓度下的生长情况

菌株	4 %	7 %	10 %	12 %
<i>S. scabies</i>	+	-	-	-
<i>S. turgidiscabies</i>	+	-	-	-
<i>S. acidiscabies</i>	+	-	-	-

注：“+”代表病原菌可以生长，“-”代表病原菌不能生长。下同。

2.4 菌株碳源利用情况

如表 3 所示,所有供试菌株均能在以葡萄糖、蔗糖、果糖、木糖、甘露醇、肌醇、乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖为单一碳源的培养基中生长,且长势良好,其中以葡萄糖为单一碳源时 3 种供试菌株长势最旺盛。这一结果表明,黑龙江地区马铃薯疮痂病菌其可利用碳源是相同的,均能以葡萄糖、蔗糖、果糖、木糖、甘露醇、肌醇、乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖作为单一碳源。

表 3 致病菌在不同单一碳源培养下的生长情况

菌株	葡萄糖	蔗糖	果糖	木糖	甘露醇	肌醇	乳糖	鼠李糖	阿拉伯糖
<i>S. scabies</i>	v	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. turgidiscabies</i>	v	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. acidiscabies</i>	v	+	+	+	+	+	+	+	+

注:“v”代表病原菌在该碳源培养下生长最旺盛。

表 4 致病菌在不同单一氮源培养下的生长情况

菌株	酪氨酸	脯氨酸	组氨酸	半胱氨酸	甲硫氨酸	甘氨酸	丙氨酸
<i>S. scabies</i>	+	-	-	+	+	+	+
<i>S. turgidiscabies</i>	+	+	-	+	-	+	+
<i>S. acidiscabies</i>	+	-	-	-	-	-	+

表 5 致病菌对不同抗生素的敏感情况

菌株	环丙沙星	万古霉素	青霉素 G	多粘菌素 B	赤霉素	红霉素	卡那霉素	硫酸盐链霉素	硫酸盐庆大霉素	四环素	氯霉素
<i>S. scabies</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
<i>S. turgidiscabies</i>	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-
<i>S. acidiscabies</i>	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-

注:“+”代表病原菌在该抗生素下可以生长,即表现为不敏感,“-”代表病原菌在该抗生素下不可以生长,即表现为敏感。

3 讨论

陈志垚等^[12]研究表明 *S. scabies* 最适生长温度为 30 ℃,最适 pH 为 6.0,与本研究中的最适生长温度基本一致,最适 pH 差异较大。日本北海道分离得到的马铃薯疮痂病菌 *S. turgidiscabies*,能以葡萄糖、蔗糖、肌醇、果糖、甘露醇、阿拉伯糖、木糖、棉子糖和鼠李糖为单一利用碳源,对链霉素

2.5 菌株氮源利用情况

如表 4 所示,3 种供试菌株对单一氮源利用情况差异较大,其中 *S. scabies* 可利用生长的单一氮源最多,能以酪氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、甘氨酸、丙氨酸为单一氮源;*S. turgidiscabies* 能以酪氨酸、脯氨酸、半胱氨酸、甘氨酸、丙氨酸为单一氮源;*S. acidiscabies* 可利用生长的单一氮源最少,仅能以酪氨酸和丙氨酸为单一氮源,其余氮源皆不可被利用。

2.6 菌株抗生素敏感性

如表 5 所示,供试菌株对抗生素敏感性存在差异,其中 *S. scabies* 对青霉素 G、赤霉素、卡那霉素敏感,对其余抗生素不敏感;*S. turgidiscabies* 对青霉素 G、多粘菌素 B、赤霉素、卡那霉素、硫酸盐链霉素、硫酸盐庆大霉素、氯霉素敏感,对其余抗生素不敏感;*S. acidiscabies* 则对青霉素 G、赤霉素、硫酸盐链霉素、氯霉素敏感,对其余抗生素不敏感。

表现敏感,能在 pH4.5 的培养基上生长^[13],本研究与其碳源利用情况一致,生长 pH 存在差异。本研究 *S. acidiscabies* 生物学特性与美国缅因州分离得到的病株生物学特性一致^[14]。

本研究与他人研究存在差异的原因可能是地理环境造成的,不同的环境使病原菌为适应生存环境而产生部分变异,并且同种病原菌不同菌株间也存在种内差异。

本研究所选用的碳源、氮源及抗生素种类有限,说明,黑龙江地区马铃薯疮痂病致病菌生物学特性还可以进一步丰富完善。

4 结论

供试菌株 *S. scabies*、*S. turgidiscabies* 和 *S. acidiscabies* 的生长最适温度无差异,均在温度为 29 ℃ 左右时长势最好;正常生长 pH 范围及最适 pH 差异较大,其中 *S. scabies* 在 pH5.0~10.0 可生长,最适 pH 为 8.0; *S. turgidiscabies* 在 pH 6.0~10.0 可生长,最适 pH 为 9.0; *S. acidiscabies* 在 pH4.0~8.0 可生长,最适 pH 为 6.0;盐耐受性无差异,均低于 4%;生长可利用碳源无差异,供试碳源均可以作为唯一利用碳源;生长可利用氮源差异较大,其中对脯氨酸、组氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、甘氨酸的利用情况均不相同;抗生素敏感性差异较大,对多粘菌素 B、卡那霉素、硫酸盐链霉素、硫酸盐庆大霉素及氯霉素的敏感性不同。

参考文献:

[1] 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.

[2] 孙静,金光辉,刘喜才. 不同药剂施用方式对马铃薯疮痂病的防效[J]. 中国马铃薯, 2015(2):107-111.

[3] 崔占,石延霞,傅俊范,等. 马铃薯疮痂病的发生原因与防治方法[J]. 中国蔬菜, 2009(19):21-22.

[4] LORIA R, BUKHALID R A, FRY B A, et al. Plant patho-

genicity in the genus *Streptomyces*[J]. Plant Disease, 2007, 81(8):836-846.

[5] 张建平,刘佳,哈斯,等. 马铃薯疮痂病菌 (*Streptomyces* spp.) 的鉴定[J]. 中国马铃薯, 2018, 32(5):308-314.

[6] 康蓉,王生荣. 甘肃马铃薯疮痂病原初步鉴定[J]. 植物保护, 2013, 39(3):78-82.

[7] 王丹,姚晓东,李新风,等. 山西晋城马铃薯疮痂病原菌鉴定[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2015(5):495-498.

[8] 赵伟靖. 内蒙古地区马铃薯疮痂病原菌的多样性及主要致病类型研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2018.

[9] PARK D H, YU Y M, KIM J S, et al. Characterization of *Streptomyces* causing potato common scab in Korea[J]. Plant Disease, 2007, 87(11):1290-1296.

[10] 杨梦平,王瑞仙,杜魏甫,等. 云南省马铃薯疮痂病致病链霉菌种类组成研究[J]. 植物病理学报, 2018, 48(4):445-454.

[11] 邢莹莹. 黑龙江省部分地区马铃薯疮痂病原鉴定及主栽品种的抗性评价[D]. 大庆:黑龙江八一农垦大学, 2015.

[12] 陈志焱,台莲梅,王天君,等. 马铃薯疮痂链霉菌的生物学特性研究[J]. 黑龙江农业科学, 2020(7):71-74.

[13] MIYAJIMA K, TANAKA F, TAKEUCHI T, et al. *Streptomyces turgidiscabies* sp. nov. [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1998, 2(2):495-502.

[14] BONDE M R, MCINTYRE G A. Isolation and biology of a *Streptomyces* sp. causing potato scab in soils below pH5.0 [J]. American Journal of Potato Research, 1968, 45(8):273-278.

Study on Biological Characteristics of Pathogen Causing Potato Scab in Heilongjiang Province

YANG Meng-ping

(Keshan Branch, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161600, China)

Abstract: To study the biological characteristics of potato scab pathogen in Heilongjiang Province, *Streptomyces scabies*, *Streptomyces turgidiscabies* and *Streptomyces acidiscabies* the three pathogenic bacteria of potato scab in Heilongjiang Province were taken as research materials. We studied the temperature, pH, salt tolerance tests, carbon, nitrogen source utilization tests and antibiotic sensitivity tests. The results showed that the optimum growth temperature of the tested strains was 29 ℃, pH range of *S. scabies* was 5.0-10.0, and the optimum pH was 8.0. *S. turgidiscabies* grew in the range of pH6.0 to 10.0, and the optimal growth pH was 9.0. The growth range of *S. acidiscabies* was pH4.0 to 8.0, and the optimum growth pH was 6.0. There was no difference in salt tolerance concentration, which was lower than 4%. Glucose, sucrose, fructose, xylose, mannitol, inositol, lactose, rhamnose and arabinose could use as a single carbon source for the normal growth of potato scab. The available nitrogen sources of different strains were quite different, And *S. scabies* could use tyrosine, cysteine, methionine, glycine and alanine as a single nitrogen sources. *S. turgidiscabies* can take tyrosine, proline, cysteine, glycine and alanine as a single nitrogen source. *S. acidiscabies* can use tyrosine and alanine as a single nitrogen source. *S. scabies* was sensitive to penicillin G, gibberellin and kanamycin. *S. turgidiscabies* were sensitive to penicillin G, polymyxin B, gibberellin, kanamycin, streptomycin sulfate, and gentamicin sulfate, and chloramphenicol; *S. acidiscabies* were sensitive to penicillin G, gibberellin, streptomycin sulfate and chloramphenicol. In conclusion, there are great interspecific differences in the biological characteristics of potato scab pathogen in Heilongjiang Province.

Keywords: potato scab; pathogen; biological characteristics