

武汉地区西瓜枯萎病菌生理小种分化研究

孙玉宏, 曾红霞, 李煜华, 杜念华, 张利红, 陈伟, 丁鸣
(武汉市农业科学研究所, 湖北 武汉 430051)

摘要: 用浸根接种法对来自武汉市郊西瓜主产区, 经单孢分离得到的 12 个西瓜枯萎病菌株进行了生理小种分化鉴定。根据这 12 个菌株在 3 个鉴别寄主上的反应, 初步将它们划分为 2 类: 一类为 1 号生理小种, 另一类为 0 号生理小种。
关键词: 西瓜枯萎病菌; 生理小种; 分化
中图分类号: S436.42 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2008)11-0090-02

西瓜枯萎病是由尖孢镰刀菌西瓜专化型(*Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. niveum (Smith) Snyder and Hans)引起的土传真菌病害, 是限制西瓜产量和品质提高的主要因素。推广和使用抗病品种是防治该病的最经济有效的途径。不同生理小种对西瓜的致病性不同, 摸清西瓜枯萎病菌生理小种的分布, 对加速西瓜抗病育种进程及品种合理布局具有十分重要的意义。在我国, 许多西瓜种植区已有关于西瓜枯萎病菌生理小种的报道, 但对武汉地区西瓜主产区的枯萎病菌生理小种的分化情况缺乏研究。本研究的目的是采用国际通用鉴别寄主及鉴别标准^[1], 检测武汉地区西瓜枯萎病菌的生理小种分化及流行的生理小种。

1 材料和方法

1.1 供试菌株及鉴别寄主

供试的 12 个西瓜枯萎病菌株分离自表现枯萎症状的西瓜病株, 所采用的分离方法是单孢分离法。12 个西瓜枯萎病菌株来源信息见表 1。

供试鉴别寄主包括 Sugar Baby, Charleston Gray 和 Calhoun Gray。所有这些品种的种子均由

武汉市农科所提供。

1.2 鉴定方法

供试西瓜种子用 1‰HgCl₂ 溶液浸泡消毒 10 min 后, 用清水冲洗干净, 浸种 8h 后催芽, 待出芽后将其播种于装有洗净沙子的育苗盘中, 覆以 2~3 cm 厚的灭菌土, 按常规育苗法管理, 当幼苗子叶平展、真叶刚露时, 即可准备接种。

菌种经单孢分离后保存于 4℃冰箱中, 经马铃薯蔗糖琼脂培养基(PSA)活化培养后, 用无菌水冲

表 1 12 个西瓜枯萎病菌株来源信息

菌株编号	取样地点	西瓜品种	土质
1	蔡甸薛山二组	花仙子	山地水田
2	江夏群力	万福来	湖地
3	江夏土地堂	黄宝石	水田
4	蔡甸薛山二组	花仙子	山地水田
5	蔡甸薛山二组	花仙子	山地水田
6	江夏土地堂	黄宝石	水田
7	蔡甸薛山二组	万福来	山地水田
8	江夏土地堂	黄宝石	旱地
9	蔡甸薛山二组	万福来	山地水田
10	江夏群力	万福来	湖地
11	蔡甸薛山二组	万福来	山地水田
12	江夏土地堂	黄宝石	旱地

收稿日期: 2008-05-23
基金项目: 武汉市科技攻关计划项目资助(2003203034)
作者简介: 孙玉宏(1968-), 女, 湖北公安人, 高级农艺师, 硕士, 主要从事西甜瓜栽培、育种研究。

[12] Aquila R T D; Bechtel L J, Videler J A, et al. Maximizing sensitivity and specificity of PCR by pre-amplification heating[J] . Nucleic Acids Res 1991, 19(13): 3749.

[13] Vestheim H, Edvardsen B, Kaartvedt S. Assessing feeding of a carnivorous copepod using species-specific PCR[J] . Marine Biology, 2005, 47(2): 381—385.

[14] Zhang Z, Martineau D. Single-tube heminested PCR coupled with 'touchdown' PCR for the analysis of the walleye dermal sarcoma virus env gene[J] . J Virol Methods 1996 60(1): 29—37.

下孢子, 再在马铃薯蔗糖液体培养基中培养 10 d, 然后用 4 层无菌纱布过滤得到孢子液, 经显微镜检后, 将孢子液用无菌水稀释至浓度为 1×10^5 个/mL 孢子, 供接种用。

接种时首先选取健壮整齐的苗子, 将其轻轻拔出。洗净根部的沙土, 在吸水纸上吸干根表的水分, 随机取 15 株西瓜苗, 将其根部浸在一个西瓜枯萎病菌菌株的孢子液中, 10 min 后取出西瓜幼苗, 移栽到装有灭菌土的穴盘中, 在 $25 \sim 28^{\circ}\text{C}$ 下培养, 当高感品种发病后开始调查发病率, 以后每隔 2d 调查 1 次直至接种第 17 天。按单株记载发病株, 最后统计病株率。每个菌株在各供试西瓜品种上共设 3 次重复, 每重复 15 株。

抗性分级标准按国际统一标准, 以病株率评价。国际抗性级别划分标准为: 高抗, 病株率 $\leq 20\%$; 中抗, 病株率 $21\% \sim 50\%$; 轻抗, 病株率为 $51\% \sim 80\%$; 感病, 病株率 $> 80\%$ 。生理小种对国际上 3 个鉴别寄主的致病反应见表 2^[3]。

表 2 生理小种对鉴别寄主的致病反应			
生理小种	Sugar Baby	Charleston Gray	Calhoun Gray
0	S	R	R
1	S	S	R
2	S	S	S

注: 表中 S 为感病, R 为抗病

2 结果与分析

供试的 12 个西瓜枯萎病菌株对 3 个鉴别寄主的致病反应见表 3。其中 8 个菌株(编号为 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 11)对 Sugar Baby, Charleston Gray 均表现出较强的致病性(寄主反应为感病), Calhoun Gray 对这 8 个菌株则表现为抗病。4 个菌株(3, 4, 10 和 12)对 Sugar Baby 表现出较强的致病性, 而对 Charleston Gray, Calhoun Gray 均表现出不侵染或轻度侵染。根据致病性测定结果将 8 个菌株(1, 2, 5, 6, 7, 8, 9 和 11)定为 1 号生理小种, 而将其他 4 个菌株(3, 4, 10 和 12)定为 0 号生理小种。由此看出, 武汉地区西瓜枯萎病是以 1 号生理小种占主导(66.7%)。

表 3 武汉地区西瓜枯萎病菌株对鉴别寄主的致病反应
(接种第 17 天)

菌株 编号	Sugar Baby 发病率(%)	Charleston Gray 发病率(%)	Calhoun Gray 发病率(%)	抗性 反应
1	95.6	82.2	13.6	SSR
2	100.0	100.0	10.2	SSR
3	80.3	6.7	4.4	SRR
4	81.2	2.3	1.1	SRR
5	100.0	100.0	3.2	SSR
6	100.0	100.0	4.3	SSR
7	100.0	100.0	2.1	SSR
8	100.0	95.6	4.6	SSR
9	100.0	100.0	11.2	SSR
10	80.1	0.0	6.7	SRR
11	100.0	100.0	11.4	SSR
12	82.2	11.1	7.8	SRR

3 小结

有研究表明, 我国各地区西瓜枯萎病菌以 1 号生理小种占主导^[3~5]。本试验研究的结果也表明, 武汉地区的西瓜枯萎病菌是以 1 号生理小种为主, 因此, 选育适合本地区的抗枯萎病西瓜新品种应以抗 1 号生理小种作为育种目标。建议本地区西瓜生产在品种选择上, 考虑选择中抗以上水平的品种。

致谢: 本文得到华中农业大学李国庆教授指导及其学生的帮助, 在此谨表感谢。

参考文献:

[1] 徐润芳. 美国西瓜枯萎病育种进展[J]. 中国西瓜甜瓜, 1990(2): 25—28.

[2] Martyn R D. An initial survey of the United States for races of *Fusarium oxysporum* f. sp. niveum[J]. Hort Science, 1989, 24(4): 696—698.

[3] 徐作瑾, 李林, 张传模, 等. 山东省西瓜枯萎病生理小种鉴定初报[J]. 山东农业科学, 1993(4): 42—44.

[4] 张兴平, 王鸣. 我国西瓜枯萎病生理小种分化研究初报[J]. 中国西瓜甜瓜, 1991(1): 39—43.

[5] 周凤珍, 康国斌. 北京地区西瓜枯萎病生理小种分化研究[J]. 植物保护, 1996, 22(4): 14—16.