

密本南瓜白粉病抗性遗传规律分析

刘文君^{1,2}, 王日升¹, 黄凤婵¹, 张 曼¹, 范爱丽¹, 周建辉¹

(1. 广西壮族自治区农业科学院 蔬菜研究所, 广西 南宁 530007; 2. 广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 广西 南宁 530007)

摘 要:于2012年10月在广西农业科学院蔬菜研究所中试基地,以经田间自然发病和苗期接种鉴定而来的抗病自交系“806”和感病自交系“810”为材料,配组杂交和F₁代自交,获得正反交F₁和F₂种子,然后采用苗期接种鉴定法同时调查亲本、正反交F₁、F₂的发病情况,最后利用 χ^2 适合性检验分析抗性遗传规律,以选育抗白粉病密本南瓜新品种,解决生产中南瓜白粉病危害问题。结果表明:正反交F₁代的病情指数均接近感病亲本“810”,而明显高于抗病亲本“806”;正反交F₂代的抗感比例分别为1:2.73和1:2.72, χ^2 检验均达显著水平,据此推定密本南瓜白粉病抗性符合单基因控制的隐性遗传规律。

关键词:密本南瓜;白粉病;抗性遗传规律

中图分类号:S 641.2;S 436.429 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)14-0031-03

密本南瓜(*Cucurbita moschata* Duch.)属葫芦科(Cucurbitaceae)南瓜属(*Cucurbita*)中叶片具白斑、果柄五棱形的栽培种,是中国南瓜(*C. moschata* D.)的一种,在我国南瓜种植面积中最大,约13.33万hm²以上^[1]。

白粉病(Powdery mildew)是南瓜的一种主要病害,从苗期到成株期均可发病,以生长中后期为害较重,主要侵染叶片,通常从下部老叶开始发病,导致被害叶片表面多被白粉状物覆盖,影响叶片的光合作用,最终影响果实的品质和产量^[2-3]。我国瓜类白粉病的病原菌主要属于单丝壳白粉菌(*Podosphaera xanthii*, 原名为*Sphaerotheca fuliginea*)和二孢白粉菌(*Erysiphe cichoracearum* DC.)^[4]。因为病原菌易对抑制病原菌的不同有效因子产生抵抗力^[5],所以白粉病的化学防治措施效果不明显,选育抗病品种是最经济有效的途径。

目前,国内外瓜类蔬菜白粉病抗性遗传规律主要集中在甜瓜、黄瓜和苦瓜上,南瓜白粉病抗性遗传规律的研究报道较少。栗建文等^[6]研究表明,苦瓜白粉病抗性基因为不完全隐性,以加性效应为主。黄瓜白粉病抗性基因主要受1个隐性单基因控制^[7];甜瓜白粉病抗性由1对不完全显性基因控制^[8]。该研究以经田间自然鉴定和人工接种鉴定的抗病自交系“806”和感病自交系“810”为

试材,通过调查亲本、正反交F₁、F₂的发病情况,分析密本南瓜白粉病抗性基因的遗传规律,以期为分子辅助育种抗白粉病密本南瓜新品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

基于田间自然发病鉴定和苗期人工接种鉴定结果,筛选出抗白粉病材料“806”(DI≤35)和感白粉病材料“810”(DI>55)。“806”老熟瓜墨绿色,果实棒锤形,单瓜重3.48~4.93 kg;“810”是美国奶油南瓜的多代自交系,早熟,老熟瓜黄褐色,瓜面无斑纹,单瓜重1.28~1.56 kg。2011年将上述材料配组杂交和自交,获得正反交F₁和F₂种子。

1.2 试验方法

1.2.1 白粉病病菌采集和接种液制备 采集田间发病的早期病叶,弹掉叶面上的老孢子,置于底部铺有湿滤纸的白瓷盘内,28℃培养箱内培养20 h,将叶上新鲜孢子刷入盛有无菌水的烧杯内,每100 mL加1滴Tween-20,搅拌均匀即得孢子悬浮液,用血球计数板计数分生孢子数,接种浓度为10⁵个孢子/mL^[9]。图1为使用血球计数板时拍摄的白粉病菌分生孢子。

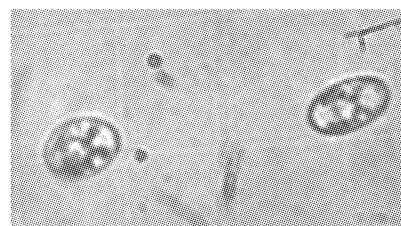


图1 白粉病菌无性世代孢子

Fig. 1 Asexual generation spore of powdery mildew

第一作者简介:刘文君(1980-),男,硕士,助理研究员,现主要从事南瓜育种和生理研究工作。E-mail:liuwenjun@gxaas.net.

责任作者:张曼(1970-),女,本科,副研究员,现主要从事甜瓜及南瓜育种与栽培工作。E-mail:zm112@126.com.

基金项目:广西科学研究与技术开发计划资助项目(桂科攻1222009-3E);广西农业科学院基本业务费重点资助项目(201006Z基);广西农科院科技发展基金资助项目(201013)。

收稿日期:2013-03-06

1.2.2 接种和接种后的苗期管理 2012年10月4日将出芽的种子播于10 cm×10 cm的塑料育苗杯,12日下午幼苗第1片真叶展平时,用小型喷雾器将接种液均匀喷雾于叶片,13~14日用60%的遮阳网遮阳,15日揭去遮阳网,接种后雨天搭小拱棚避雨,19日初现白粉病立即逐株调查第1片真叶的发病情况,连续记录5 d。试验期间(10月4~23日),日最低温和最高温为19和32℃,适于白粉病的侵染和发病。

1.2.3 发病情况调查和分类 参照李锡香等^[9]的方法进行单株病情分级、群体种质病情指数计算和群体抗感分级。病情分级:0级:无症状;1级:病斑面积占叶面积的1/3以下,白粉模糊不清;2级:病斑面积占叶面积的1/3~2/3,白粉较为明显;3级:病斑面积占叶面积的2/3以上,白粉较明显;4级:病斑占满全叶,白粉层厚。病情指数(DI)计算公式: $DI = \sum[(\text{发病级别的代表值} \times \text{相应病级级别的株数}) / (\text{最高病级的代表值} \times \text{调查总株数})] \times 100$ 。依据病情指数将群体种质对白粉病的抗性分为

5级:高抗($0 < DI \leq 15$);抗病($15 < DI \leq 35$);中抗($35 < DI \leq 55$);感病($55 < DI \leq 75$);高感($DI > 75$)。

1.3 数据分析

在分析白粉病抗性基因遗传规律时,将病情分级为0和1的单株统计为抗病株,病情分级2以上(包含2)统计为感病株^[7],利用SPSS 13.0软件进行 χ^2 适合性检验。

2 结果与分析

2.1 接种后病情调查时间的确定 由双亲接种白粉病菌后5 d的病情调查结果(表1)可知,双亲的病情指数随时间推移而逐日递增。19、20日双亲发病最轻,感病亲本“810”处于抗病等级;21日双亲病情指数差值大,可分辨出抗性强弱;22日和23日双亲发病严重,抗病亲本中病情级别 ≥ 2 的单株超过60%,感病的90%的单株病情 ≥ 2 。因此,以接种后第9天(21日)的调查结果用于抗性遗传规律分析。

表1 接种后亲本的白粉病抗性调查

Table 1 Investigation of powdery mildew symptoms of double parents after inoculating

日期 Date /日-月	材料 Materials	统计株数 Total plants	0级 0 degree	1级 1 degree	2级 2 degree	3级 3 degree	4级 4 degree	病情指数 Disease index	抗感级别 Disease-resistance degree
19-10	“810”	100	13	81	6	0	0	23.3	抗病
	“806”	85	79	6	0	0	0	1.8	高抗
20-10	“810”	100	1	37	43	19	0	45.0	中抗
	“806”	81	31	48	2	0	0	16.0	抗病
21-10	“810”	99	0	14	18	66	1	63.6	感病
	“806”	80	24	34	17	5	0	25.9	抗病
22-10	“810”	98	0	6	10	60	22	75.0	感病
	“806”	78	12	19	25	22	0	42.0	中抗
23-10	“810”	98	0	2	6	62	28	79.6	高感
	“806”	78	6	9	24	37	2	53.2	感病

2.2 密本南瓜白粉病抗感显隐性分析

由图2可知,正交 F_1 、反交 F_1 与感病亲本“810”的病情指数变化趋势相一致。在10月21日,“810”、正交 F_1 和反交 F_1 的DI分别为63.6、67.0和61.5,抗性等级均为感病;而抗病亲本“806”的DI为25.9,抗性等级为抗病,初步认为密本南瓜白粉病的抗病相对于感病为隐性遗传,且受核基因控制。

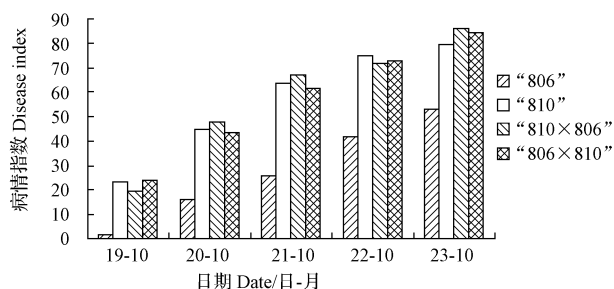


图2 接种白粉病菌后亲本和 F_1 的抗感表现

Fig.2 Investigation of resistance and susceptibility to powdery mildew in the parents and reciprocal F_1

2.3 F_2 代群体抗感分离情况

由表3可知,正交 F_2 代分离群体[(“806”×“810”)]调查株数为494株,其中抗病株为130株,感病株为364株,抗感比例为1:2.72, χ^2 值为0.39,达到显著水平($\chi^2_{0.05}=3.84$);反交 F_2 代[(“810”×“806”)⊗]的调查株数为477株,其中抗病株为128株,感病株为349,抗感比例为1:2.73, χ^2 值为0.76,达到显著水平($\chi^2_{0.05}=3.84$)。可见,正反交 F_2 代白粉病抗感比符合1:3的分离比例,表明白粉病抗性符合隐性单基因控制的质量性状遗传规律。

3 讨论与结论

许多研究表明,引起瓜类白粉病的病菌主要是单囊壳白粉菌(*P. xanthii*)和二孢白粉菌(*E. cichoracearum* DC.),二者的无性阶段形态十分相近,区别在于前者的分子孢子是椭圆形,有发达的纤维状体,而后的分生孢子是细长的圆柱形,没有纤维状体。该试验的白粉菌采自田间自然发病的植株,从植物感染病症和分生孢子形态初步认定病原菌为*P. xanthii*,这与颜惠霞^[3]、梁巧

表 2

正反交 F_2 代中白粉病抗性的分离

Table 2

Segregation for resistance and susceptibility to powdery mildew in the reciprocal F_2

亲本组合	统计株数 Total plants	0 级 0 degree	1 级 1 degree	2 级 2 degree	3 级 3 degree	4 级 4 degree	病情指数 Disease index	抗感级别 Disease-resistance degree	抗感比例 Disease-resistance ratio	期望值 Expected value	χ^2	$\chi_{0.05}^2$
“806”×“810”	494	10	120	170	194	0	52.7	中抗	1 : 2.72	1 : 3	0.39	3.84
“810”×“806”	477	6	122	142	207	0	53.8	中抗	1 : 2.73	1 : 3	0.76	3.84
合计	971	16	242	312	401	0	53.2	中抗	1 : 2.74	1 : 3	1.10	3.84

兰等^[10]、李成伟等^[11]、肖仲久等^[12]的研究结果一致,该结果为广西南瓜白粉病化学防治提供了一定参考。

Cohen 等^[13]认为,高抗白粉病的印度南瓜“True French”抗性是由 1 个不完全显性的基因控制;Contin 等^[14]研究认为,*C. okechobeensis* (small) Bailey(圆形中国南瓜)的抗性由 1 个显性或不完全显性的单基因控制;Adeniji 等^[15]认为,印度南瓜白粉病抗性是由 2 个基因控制。该研究表明,密本南瓜抗性是由 1 个隐性的单基因控制,这与国外的一些研究结果不完全一致。其原因一是引起瓜类白粉病的真菌类型较多,且各病原菌又存在很多生理小种,比如我国引起白粉病的主要病原是 *P. xanthii*,已发现有 11 个生理小种^[16],而且不同的生理小种致病能力存在较大差异^[17];二是研究所用的材料不同,不同种质的遗传差异性很大;三是采用的抗病鉴定方法和分级标准存在差异^[18]。

该试验结果表明,密本南瓜白粉病的抗性符合单基因控制的隐性遗传规律。为了完整数据和进一步验证试验结果,下一步将针对所用白粉病菌的类型、BC₁ 的抗性遗传规律和抗白粉病基因的分子标记展开研究。

参考文献

- [1] 罗雪梅. 密本南瓜高产栽培技术[J]. 吉林蔬菜, 2010(2): 14-15.
- [2] 郭书普. 新版蔬菜病虫害防治彩色图鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010.
- [3] 颜惠霞. 南瓜白粉病品种抗病性及抗病机理研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.
- [4] 刘秀波, 崔琦, 崔崇士. 瓜类白粉病抗性育种研究进展[J]. 东北农业

大学学报, 2005, 36(6): 794-798.

- [5] Mc Grath, M T. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: experiences and challenges[J]. Plant Disease, 2001, 85: 236-245.
- [6] 栗建文, 胡新军, 袁祖华, 等. 苦瓜白粉病抗性遗传规律研究[J]. 中国蔬菜, 2007(9): 24-26.
- [7] 聂京涛, 潘俊松, 何欢乐, 等. 黄瓜白粉病抗性遗传分析与连锁标记筛选[J]. 中国蔬菜, 2011(10): 45-49.
- [8] 王建设, 宋曙辉, 唐晓伟, 等. 甜瓜白粉病抗性基因的遗传与分子标记[J]. 华北农学报, 2005, 20(1): 89-92.
- [9] 李锡香, 朱德蔚. 南瓜种质资源描述规范和标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 88-89.
- [10] 梁巧兰, 徐秉良, 颜惠霞, 等. 南瓜白粉病病原菌鉴定及寄主范围测定[J]. 菌物学报, 2010, 29(5): 636-643.
- [11] 李成伟, 姚晓惠, 裴冬丽. 几种白粉病菌的显微形态学分析[J]. 河南农业科学, 2008(8): 68-71.
- [12] 肖仲久, 李小霞, 李斌. 贵州省南瓜白粉病病原菌初步鉴定[J]. 北方园艺, 2012(9): 146-148.
- [13] Cohen R, Hanan A, Paris H S. Single-gene resistance to powdery mildew in zucchini squash (*Cucurbita pepo*) [J]. Euphytica, 2003, 130: 433-441.
- [14] Contin M, Munger H M. Inheritance of powdery mildew resistance in interspecific crosses with *Cucurbita martinii* [J]. Hort Science, 1977, 12: 397.
- [15] Adeniji A A, Coyne D P. Genetics and nature of resistance to powdery mildew in crosses of butternut with calabaza squash and ‘Seminole Pumpkin’ [J]. Amer Soc Hort Sci, 1983, 108: 360-368.
- [16] 马鸿艳. 甜瓜白粉病抗性遗传分析及相关基因 SSR 标记[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011.
- [17] 徐志豪, 寿伟林, 黄凯美, 等. 白粉病菌的生理小种及其对不同基因型甜瓜的致病性[J]. 浙江农业学报, 1999, 11(5): 245-248.
- [18] 藏全宇. 网纹甜瓜白粉病的抗性遗传研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2007.

Inheritance Analysis of Powdery Mildew Resistance in Pumpkin

LIU Wen-jun^{1,2}, WANG Ri-sheng¹, HUANG Feng-chan¹, ZHANG Man¹, FAN Ai-li¹, ZHOU Jian-hui¹

(1. Vegetable Research Institute, Guxangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007; 2. Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Key Lab, Naning, Guangxi 530007)

Abstract: The experiment was implemented in Vegetable Research Institute of Guangxi Academy of Agriculture Sciences in October 2012. Taking the resistant and susceptible parent of inbred line of ‘806’ and ‘810’ as materials, which identified by natural field and artificial inoculation identification, both of parents were crossed and seeds of the filial were produced, then powdery mildew on each plant in reciprocal F_1 and F_2 was investigated finally the data was subjected to Chi-square analysis for heterogeneity. The results showed that the disease index (DI) of reciprocal F_1 was close to DI of ‘810’, but higher than ‘806’; the segregation ration of reciprocal F_2 were 1 : 2.73 and 1 : 2.72 respectively, and both reached significance level. It was presumed that the inheritance of powdery mildew for Mi-ben pumpkin was conferred by a single recessive gene.

Key words: pumpkin; powdery mildew; resistance inheritance