

种子接种果斑病菌对不同甜瓜 幼苗生长的影响

李俊阁¹, 王惠林^{1,2}, 张亮¹, 郑健²

(1. 新疆农业大学 林学与园艺学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 国家瓜类工程研究技术中心, 新疆 昌吉 831100)

摘要:细菌性果斑病是由果斑病菌(*Acidovorax citrulli*)引起的病害, 该病害是种传病害, 对瓜类产业构成了巨大的威胁。以 130 份甜瓜种质资源为试验材料, 采用种子浸种接种果斑病菌的方法鉴定幼苗的抗病性, 研究甜瓜种子带菌对幼苗生长的影响。结果表明: 供试材料中没有表现免疫的材料; 表现为高抗的材料有 2 份, 为 NM90-1、M867, 相对抗病指数分别为 0.967、0.899, 可以作为抗病育种的种质资源。中抗材料为 32 份, 中感材料为 54 份, 感病材料 42 份。

关键词:细菌性果斑病; 种子; 浸种; 抗性鉴定

中图分类号:S 652 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)12-0103-04

瓜类细菌性果斑病是由燕麦噬酸菌西瓜亚种(*Acidovorax citrulli*)引起的病害, 该病害在田间可为害果实、叶片和嫩茎, 引起叶片萎蔫和果实腐烂, 同时导致种子带菌, 成为下一年重要的初侵染源。从病果上收集的种子, 其幼苗的发病率为 7%~100%^[1], 甚至可造成幼苗死亡, 损失达 80%以上^[2]。2010—2011 年, 新疆北疆部分瓜区果斑病在西、甜瓜上的发病率达到 60%以上, 有的地块甚至毁田绝收^[3]。瓜类细菌性果斑病具有发病迅速、传播速度快、暴发性强等特点, 是国家规定的检疫性植物病害之一, 是瓜类生产中的毁灭性病害, 如果防治措施不当, 会带来巨大的损失。而现在使用的大部分防治果斑病的农药, 防治效果不是很理想, 同时对瓜类的品质和环境产生影响, 导致病原菌产生抗药性。目前国内甜瓜栽培品种绝大多数均不抗病, 因此, 培育抗病品种和筛选抗病甜瓜育种材料是解决果斑病最经济有效的措施。该试验通过对 130 份甜瓜种质材料采用浸种的接种方法对幼苗进行抗病性鉴定, 旨在筛选抗病甜瓜种质资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

该试验于 2014 年 6—7 月在新疆西域种业股份有限公司的试验地进行, 试验所用的甜瓜材料由新疆农业大

学林学与园艺学院和国家瓜类工程技术研究中心提供, 甜瓜材料引自国内外不同甜瓜自交系和杂交一代, 其中自交系甜瓜 101 份, 杂交一代 29 份。供试细菌性果斑病菌的菌株由南京农业大学植物检疫研究室提供, 菌株代号为 xjl12。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌的培养 细菌性果斑病菌(*Acidovorax citrulli*)在 KMB (20 g 胰蛋白胨, 1.5 g K_2HPO_4 , 1.5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 10 g 甘油, 10 g 琼脂粉, 定容到 1 kg)固体平板上进行活化, 28℃ 培养 24 h, 挑取单菌落接种于 NB 液体培养中, 28℃、220 r/min 培养 16~18 h。用分光光度计测定菌悬液的 OD 值, 并用灭菌水将菌悬液浓度调到 OD₆₀₀ 为 0.5 备用。

1.2.2 试验准备 试验所用的种子先在 30℃ 的条件下干燥 12 h, 再在 65℃ 的干热条件(电热恒温箱)下处理 48 h 进行干热灭菌^[4], 育苗基质采用杨树锯末和蛭石, 并以 5:1 的比例混合配制, 并将基质用 100℃ 的水高温灭菌, 然后将基质装入规格为 5×10 个穴的育苗盘中。播种前将基质浇透水, 每个穴播 2 粒种子, 每个材料播 5 个穴, 3 次重复。播种后育苗盘上盖塑料薄膜保持充分的温度, 每天浇水保持基质的适度湿度。在苗期喷施营养液以供幼苗生长。试验所用的器材均用 5% 的 NaClO 溶液浸泡 30 min(对其表面进行消毒), 并用清水冲洗。

1.2.3 种子处理方法 将种子于 28℃ 条件下在菌液中浸泡 12 h, 以无菌水浸泡 12 h 设为对照。浸种完成后, 用拧干的毛巾包起来保湿, 采用夜间降温至 15~18℃、白天 25~30℃ 的变温处理催芽, 待芽长出一定长度(露

第一作者简介:李俊阁(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为西瓜甜瓜遗传育种。E-mail:449748334@qq.com.

责任作者:王惠林(1968-), 男, 硕士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为西瓜甜瓜抗病育种。E-mail:wanghuilin@qq.com.

收稿日期:2015-01-22

白至 0.5~1.0 cm) 进行播种。将处理好的种子种植到灭过菌的穴盘中,置于温室中,将温度控制在白天 25~30℃,夜晚 25℃的环境中,相对湿度为 80%。温室外覆盖遮阳网,有利于降低棚内温度。

1.2.4 出苗率的测定 在出苗后第 5 天(子叶已完全展开,且无真叶长出)调查植株的发芽率(接种处理和对照分别统计)和死苗率,统计出苗率、计算相对出苗率。并统计病情指数,鉴定指标是整个植株的发病情况。相对出苗率(%)=处理出芽率/对照出苗率×100%。

1.2.5 抗病性鉴定标准 病情级数调查参考 Hopkins 等^[5]分级标准,且略有改动,分级标准如下,0 级:无病斑;1 级:叶片病斑较少,病斑面积占子叶面积的 10%以下;2 级:病斑较多,病斑面积占子叶面积的 11%~30%;3 级:病斑较多,病斑面积占子叶面积的 31%~50%;4 级:病斑很多或融合成大斑,病斑面积占子叶面积的 51%~70%;5 级:病斑很多或融合成大斑,胚轴或茎部有病斑,病斑面积占整子叶面积的 71%以上;6 级:植株未出苗或死亡。病情指数的计算方法如下:DI=(∑发病级数×发病株数)/(最高病级×总株数)×100。采用相对抗病性方法^[6]评价其抗病程度,相对抗病程度分为免疫 I(1.00)、高抗 HR(0.80~0.99)、中抗 MR(0.40~0.79)、中感 MS(0.20~0.39)、感病 S(0.20 以下)。相对抗病指数=1-相对病情指数;相对病情指数=鉴定品种平均

病情指数/对照品种平均病情指数(病情指数最高者为对照品种)。

2 结果与分析

由表 1 可知,在 130 份甜瓜材料中,材料代码为 M808 全部没有出苗,没有表现免疫的材料;表现为高抗的材料有 2 份,为 NM90-1、M867,占甜瓜鉴定材料的 1.5%,相对抗病指数分别为 0.967、0.899;中抗材料为 32 份,占鉴定材料 24.6%;中感材料为 54 份,占鉴定材料的 41.5%;感病材料 42 份,占鉴定材料 32.3%。其中高抗材料 NM90-1、M867 的相对出苗率为 100%,且在子叶未展开之前,没有植株死亡;中抗材料的相对出苗率均在 60%以上,且死苗率都在 50%以下,而在高感材料中,除了 Vm10-84 的死苗率为 30%外,其它材料的 50%以上植株都已死亡。

细菌性果斑病在高温高湿的环境条件下发展迅速。该病害发生初期子叶有轻微水渍状病斑,严重时叶片上会出现乳白色菌脓,病斑沿叶脉发展,被浸染部位后期失绿,病斑周围出现黄色晕圈,或为黑色坏死病斑。随着幼苗的生长,细菌性果斑病开始由发病子叶逐渐向叶基部进行扩展,并侵染幼苗下胚轴和茎,并使下胚轴和茎发病,后期导致该部位出现失水状态,茎部或子叶下胚轴缢缩成线状,最后植株死亡。

表 1 甜瓜种子接种细菌性果斑病菌对幼苗生长的影响结果

Table 1 The results of affecting muskmelon seedling growth by seed inoculated *Acidovorax citrulli*

材料 代码 Material code	死苗率 Dead seedling rate/%	相对出苗率 Relative germination rate/%	平均病情指数 Average disease index	相对抗病指数 Relative resistance index	抗性 评价 Evaluation resistance	材料 代码 Material code	死苗率 Dead seedling rate/%	相对出苗率 Relative germination rate/%	平均病情指数 Average disease index	相对抗病指数 Relative resistance index	抗性 评价 Evaluation resistance
NM90-1	0	100	3.323	0.967	HR	M802	63	43	71.111	0.289	MS
M867	0	100	10.000	0.899	HR	NM92-2	47	70	71.112	0.289	MS
PI124111	23	85	28.889	0.711	MR	Vm8-27	63	92	71.647	0.284	MS
PMR5	30	70	30.546	0.695	MR	M596	43	60	71.664	0.283	MS
M822A	10	93	31.121	0.689	MR	M678	50	77	72.780	0.272	MS
Nantais oblong	10	100	31.657	0.683	MR	M800	67	51	73.000	0.270	MS
NM83	3	100	33.869	0.661	MR	M711	40	87	73.333	0.267	MS
PMR6	33	67	35.000	0.650	MR	Vm12-50	63	49	73.869	0.261	MS
Vedrantais	23	100	36.121	0.639	MR	Vm10-67	60	55	73.882	0.261	MS
M809	27	77	38.334	0.617	MR	M716	67	52	73.889	0.261	MS
NM93-2	17	93	40.000	0.600	MR	M672	53	53	74.453	0.255	MS
M843B	33	67	42.778	0.572	MR	NM95A-1	67	67	75.000	0.250	MS
Topmark	23	100	43.889	0.561	MR	Vm10-50	53	73	75.536	0.245	MS
M628	20	93	44.438	0.556	MR	M852	67	53	76.670	0.233	MS
M790	10	97	46.121	0.539	MR	M718	53	81	77.222	0.228	MS
NM53	27	80	47.778	0.522	MR	PI414723	77	23	77.768	0.222	MS
Vm12-60	17	100	48.323	0.517	MR	M825	67	33	77.778	0.222	MS
PI124112	13	87	48.343	0.517	MR	NM78	60	88	78.313	0.217	MS
Vm12-59	40	89	48.889	0.511	MR	m861	73	33	78.329	0.217	MS

续表 1

Table 1 continued

材料 代码 Material code	死苗率 Dead seedling rate/%	相对出苗率 Relative germination rate/%	平均病情指数 Average disease index	相对抗病指数 Relative resistance index	抗性 评价 Evaluation resistance	材料 代码 Material code	死苗率 Dead seedling rate/%	相对出苗率 Relative germination rate/%	平均病情指数 Average disease index	相对抗病指数 Relative resistance index	抗性 评价 Evaluation resistance
NM107	27	90	50.000	0.500	MR	NM96B-2	73	49	78.889	0.211	MS
NM84	20	88	50.536	0.495	MR	NM94-3	73	40	80.000	0.200	MS
Vm12-22	33	80	50.556	0.494	MR	M634	77	33	80.000	0.200	MS
M795	0	100	50.676	0.493	MR	M854	70	35	80.000	0.200	MS
NM72	27	73	53.323	0.467	MR	M886	80	31	80.556	0.194	S
M842	27	83	53.334	0.467	MR	M625	67	33	81.119	0.189	S
M633	37	77	54.437	0.456	MR	M846	67	43	81.667	0.183	S
M835	40	67	54.439	0.456	MR	PMR45	67	33	82.232	0.178	S
NM73	33	93	55.000	0.450	MR	Vm10-58	73	57	82.232	0.178	S
M722	33	81	55.556	0.444	MR	Vm12-27	70	63	83.343	0.167	S
M785	23	90	55.556	0.444	MR	Vm10-57	60	74	83.869	0.161	S
Vm10-83	47	67	56.657	0.433	MR	NM89	53	67	83.869	0.161	S
NM91-1	23	84	57.768	0.422	MR	M844	73	33	84.438	0.156	S
Vm12-63	37	70	57.778	0.422	MR	M540	80	57	84.441	0.156	S
M847	43	98	60.000	0.400	MR	NM80	73	42	84.464	0.155	S
M677	50	53	60.556	0.394	MS	NMT2	70	48	85.000	0.150	S
M724	37	80	60.556	0.394	MS	M531	70	51	85.546	0.145	S
M853	50	60	60.556	0.394	MS	NM112	80	33	86.131	0.139	S
NM71	43	93	61.637	0.384	MS	Edisto 47	83	17	86.141	0.139	S
Vm12-33	53	63	61.647	0.384	MS	M688	83	47	86.657	0.133	S
WMR29	43	67	61.667	0.383	MS	M607	83	22	87.213	0.128	S
M792	40	63	61.667	0.383	MS	Iran H	83	47	87.768	0.122	S
NM115	40	89	62.234	0.378	MS	Vm10-79	73	67	88.335	0.117	S
NM88A	53	57	63.323	0.367	MS	Vm12-5	83	53	88.879	0.111	S
M945	47	95	63.326	0.367	MS	M700	83	42	88.879	0.111	S
Vm12-56	40	93	63.879	0.361	MS	M600	83	40	89.425	0.106	S
M734	40	80	64.444	0.356	MS	NM82	67	56	89.434	0.106	S
NM50	43	75	65.000	0.350	MS	M879	87	43	89.437	0.106	S
M345	53	50	65.000	0.350	MS	Vm10-46	73	37	90.000	0.100	S
M838B	43	77	65.000	0.350	MS	Vm12-39	83	26	90.556	0.094	S
M702	27	91	66.108	0.339	MS	M778	87	67	91.111	0.089	S
M805	37	67	66.110	0.339	MS	Vm11-35	83	20	92.778	0.072	S
Vm12-54	37	80	66.131	0.339	MS	Vm10-84	30	70	93.000	0.070	S
M581	50	50	66.657	0.333	MS	Vm12-49	83	47	93.353	0.066	S
M872	53	67	67.217	0.328	MS	NM68	70	50	93.879	0.061	S
M862	40	83	67.218	0.328	MS	NM76	90	83	93.879	0.061	S
Vm10-5	43	80	67.768	0.322	MS	Vm12-52	87	23	94.434	0.056	S
M866	63	37	68.328	0.317	MS	M612	93	17	95.000	0.050	S
MR-1	60	47	68.869	0.311	MS	M653A	87	15	95.000	0.050	S
Vm11-59	57	53	69.424	0.306	MS	M833	93	97	97.218	0.028	S
NM108-2	60	40	69.448	0.306	MS	NM77	93	91	97.242	0.028	S
M652	60	47	69.451	0.305	MS	NM111	93	20	97.768	0.022	S
Vm12-25	60	84	69.464	0.305	MS	Vm10-59	93	73	97.775	0.022	S
Vm11-49	53	80	70.000	0.300	MS	NM67	97	7	98.363	0.016	S
M880	63	47	70.000	0.300	MS	Vm12-1	97	22	99.444	0.006	S
Vm11-8	57	63	70.536	0.295	MS	M808	100	0	100.000	0.000	S

注:Vm表示甜瓜杂交一代材料;Nm表示甜瓜自交系材料;M表示甜瓜高代自交纯系材料。

Note:Vm is hybrid materials of muskmelon;Nm is the inbred lines of muskmelon;M is the high generation inbred pure line material of muskmelon.

3 讨论与结论

试验结果表明,甜瓜种子接种细菌性果斑病菌对出苗及幼苗的生长有一定的影响,且死苗率严重。接种细菌性果斑病菌的种子从播种到出苗期间,病菌从种子表面侵入子叶,引起幼苗发病。同时细菌性果斑病菌对不同甜瓜材料侵染的严重程度与其材料的遗传特性有关,而不同甜瓜材料之间存在差异,因此,不同甜瓜材料表现的抗病性不同。该试验中表现为高抗的甜瓜材料为NM90-1、M867,相对出苗率为100%,且均无死苗;表现为中抗的甜瓜材料,相对出苗率均在60%以上,死苗率均在50%以下;而表现感病的甜瓜材料的死苗率普遍偏高。

该试验中子叶在未展开前,就已出现了明显的水浸状,随着时间的推移,该病害的发生越来越严重,同时对试验中有些材料未出苗的现象观察发现,子叶在未出壳前就发生了腐烂,直接影响了种子的出苗率。在甜瓜材料出苗后的第3天,少部分材料出现死亡,在出苗后第10天,除了高抗材料和部分中抗材料生长正常,其它材料的幼苗均表现枯死,其中NM90-1、M867表现为高抗材料,在出苗后均没有出现明显的病斑,相对出苗率都为100%,且均无死苗,Dropkin等^[7]认为耐病的寄主是那些尽管有大量寄生物存在而仍然生长良好的植株,也可说明这2个材料的耐病性强。从种质来源来看,NM90-1来源于以色列,M867来源于韩国,其它大部分材料来源于国内地区。该试验仅为子叶期的抗病性鉴定,而田间的发病情况有待进一步研究。

关于细菌性果斑病菌侵染种子方面,前人做了不少研究,Dutta等^[8]曾解剖被细菌性果斑病菌感染的西瓜病果中的种子,发现细菌性果斑病菌在种子的种皮、种壳和胚中均可带菌;Kucharek等^[9]研究发现细菌性果斑病菌从被感染的种子传播到幼苗的概率很高;Hopkins

等^[5]的试验结果表明,黄瓜、南瓜种子传播细菌性果斑病的概率比西瓜和甜瓜低;高天一等^[10]的研究结果发现在相同的育苗环境中,种子内部的细菌性果斑病菌含量越多,葫芦砧木幼苗的发病率和病情指数越高,所造成的危害越严重。

该试验筛选的高抗材料NM90-1、M867,同时也有较高的耐病性,在研究不同甜瓜材料抗病性鉴定的基础上,应充分利用基因工程等生物技术手段,实现优质高抗转基因品系,提高我国西瓜甜瓜的育种水平,同时应加强健康种子的生产,种子公司应选择没有细菌性果斑病菌侵染源的田地种植,同时育苗工厂应将无病菌的幼苗销售市场。

参考文献

- [1] Rane K K, Lation R X. Bacterial fruit blotch of watermelon: Association of the pathogen with seed[J]. Plant Disease, 1992, 76(5): 509-512.
- [2] 韦志扬. 西瓜嫁接苗细菌性果斑病的发生与防治[J]. 广西热带农业, 2007(6): 12-13.
- [3] 周黎, 张炳坤, 冶海林, 等. 新疆瓜类细菌性果腐病的发生与病原鉴定[J]. 蔬菜, 2013(3): 64-11.
- [4] 周贤达, 睢祥琨, 陈路路, 等. 砧木(葫芦)种子干热灭菌消毒处理研究[J]. 中国瓜菜, 2013, 26(2): 38-39.
- [5] Hopkins D L, Thompson C M. Seed transmission of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in Cucurbits[J]. Hort Science, 2002, 37(6): 924-926.
- [6] 贾宋楠, 王惠林, 郑健, 等. 籽用西瓜种质资源对细菌性果斑病的抗性鉴定[J]. 新疆农业科学, 2013, 50(5): 864-869.
- [7] Dropkin V H, Nelson P E. The hispathology of root-knot nematode infections in soybeans[J]. Phytopathology, 1960, 50: 442-447.
- [8] Dutta A U, Hang M G, et al. Localization of *Acidovorax citrulli* in infested watermelon seeds is influenced by the pathway of bacterial invasion[J]. Phytopathology, 2012, 101: 461-468.
- [9] Kucharek T, Perez Y, Hodge C. Ttansmission of watermelon fruit blotch bacterium from infested seed to seedling[J]. Phytopathology, 1993, 83: 466.
- [10] 高天一, 潘宏, 别之龙, 等. 葫芦种子带菌对幼苗细菌性果斑病发生和侵染途径的影响[J]. 华中农业大学学报, 2014(5): 36-39.

Effect of Seed Inoculated *Acidovorax citrulli* on Growth of Muskmelon Seedlings

LI Jun-ge¹, WANG Hui-lin^{1,2}, ZHANG Liang¹, ZHENG Jiang²

(1. College of Forestry and Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumchi, Xinjiang 830052; 2. National Engineering Technology Research Center for Cucurbits, Changji, Xinjiang 831100)

Abstract: Bacterial fruit blotch (BFB) caused by the bacterium *Acidovorax citrulli*, the disease is seed-borne diseases, posing a huge threat to the melon industry. Taking 130 samples of muskmelon germplasm as material, the effect of muskmelon seeds with pathogens on the growth of seedlings was studied by using the method of seed soaking to inoculate *Acidovorax citrulli* to identification of resistance in seedlings. The results showed that no immune materials, and the germplasm resources of muskmelon copy of NM90-1, M867 showed high resistant, relative resistance index were 0.967, 0.899; moderately resistant material were 32 copies, moderately susceptible materials were 54 copies, sensitive materials were 42 copies. NM90-1, M867 showed high resistant to bacterial fruit blotch, they could be used as germplasm resources of resistant breeding.

Keywords: bacterial fruit blotch; seed; seed soaking; identification of resistance