

中国南瓜自交系 112-2 对白粉病的抗性鉴定

周俊国, 扈惠灵, 李新峥, 张慧蓉

(河南科技学院 园艺系, 河南 新乡 453003)

摘要: 试验以“蜜本”南瓜为对照, 以 *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht. ex Fr.) Poll. 白粉病为病原菌, 采用幼苗期接种鉴定、成株期叶片叶盘法接种鉴定和田间调查的方法鉴定中国南瓜“112-2”自交系对白粉病的抗性, 并在扫描电镜下比较了它们的叶片表面结构。结果表明: 苗期接种白粉病 11 d 后, “112-2”自交系的病情指数显著低于“蜜本”南瓜, 病情指数分别是 28.8 和 47.6; 叶盘法接种 4 d 后, “112-2”自交系的病情指数显著低于“蜜本”南瓜, 病情指数分别是 7.5 和 38.6; 田间调查“112-2”自交系和“蜜本”南瓜的病情指数分别为 0 和 21.7; 说明“112-2”自交系是高抗白粉病的材料。在电镜下观察, “112-2”自交系的气孔密度、刚毛密度和刚毛长度显著大于“蜜本”南瓜, 而气孔长度和宽度显著小于“蜜本”南瓜。

关键词: 中国南瓜; 白粉病抗性; 抗性鉴定

中图分类号: S 642.103.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)04-0005-04

中国南瓜(*Cucurbita moschata* Duch.) 是中国广泛栽培的一种蔬菜, 有许多变种, 大多数的中国南瓜品种具有较好的食用品质, 是人们喜爱的一种传统食品^[1]。白粉病是危害瓜类作物的重要病害之一, 在夏季高温高湿的环境下, 中国南瓜栽培生产的中后期易爆发白粉病, 病害发生后能在田间快速传播, 导致植株产量和果实品质下降, 已成为中国南瓜栽培生产的障碍之一^[2-3]。培育抗白粉病的品种是解决这一问题的有效途径, 世界上各国对抗瓜类白粉病育种已成为主要育种目标之一^[4-6]。而获得抗白粉病的育种资源材料是培育抗白粉病中国南瓜品种的关键工作。目前在我国的中国南瓜资源中没有免疫或高抗的资源见诸报道。

第一作者简介: 周俊国(1967-), 男, 河南内乡人, 博士, 副教授, 现主要从事园艺植物种质资源研究与育种的科研工作。E-mail: junguo1020@163.com。

基金项目: 国家“948”科研课题资助项目(2005-Z18); 河南科技学院高层次人才科研资助项目(08011)。

收稿日期: 2010-12-07

在近 10 a 的中国南瓜资源收集过程中发现, 中国南瓜对白粉病的抗性差异较大, 易感和高抗均有。为了筛选抗白粉病资源, 课题组收集了 900 多份中国南瓜农家品种资源, 获得了一些性状优良的自交系。经多年的观察, “112-2”自交系抗病性极强, 在田间未发现感病植株。为了进一步确认它对白粉病的抗性, 便于在以后抗白粉病育种中做为亲本使用, 现采用多种方法鉴定了其对白

质下降, 已成为中国南瓜栽培生产的障碍之一^[2-3]。培育抗白粉病的品种是解决这一问题的有效途径, 世界上各国对抗瓜类白粉病育种已成为主要育种目标之一^[4-6]。而获得抗白粉病的育种资源材料是培育抗白粉病中国南瓜品种的关键工作。目前在我国的中国南瓜资源中没有免疫或高抗的资源见诸报道。

Effect of Water-fertilizer Coupling on Yield of *Lactuca sativa* L. in Greenhouse

XU Yan, YU Hai-ye, ZHANG Lei

(College of Biological and Agricultural Engineering, Key Laboratory of Bionic Engineering, Ministry of Education, Jilin University, Changchun, Jilin 130025)

Abstract: The comprehensive effects of K, P, N fertilizer and water on yield of *Lactuca sativa* L. was studied by means of quadratic general rotational(1/2 practice) combination design in the greenhouse. The water-fertilizer coupling regression models demonstrating the relationships between yield and four factors were established. The results showed that, the effect of four factors on the yield of lettuce increased by degree in the series of $P > N > K > \text{water}$. The interaction among these four factors existed, coupling effect of N and water, and N and P on yield was significant. An optimum management measure of water and fertilizer was suggested for high yield based on computer simulations. The amount of N, P and K were 467.9~586.5 kg/hm², 510.5~622.3 kg/hm² and the amount of K was 156.0~221.5 kg/hm² respectively, and the accumulative amount of water was 543.2~668.4 m³/hm² in growth period of lettuce.

Key words: *Lactuca sativa* L.; water-fertilizer coupling; yield; greenhouse

粉病的抗性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

中国南瓜“112-2”自交系是河南科技学院南瓜课题组从中国信阳市郊区收集到的农家品种经人工控制自交8代后而得到的自交系。其特性为蔓生,生长势强,长颈圆筒瓜形,晚熟,果肉品质中上。“蜜本”南瓜(CK)为我国广泛使用的中国南瓜商业杂交品种,由广东省农科院提供。

1.2 试验方法

1.2.1 田间自然感病状况调查 试验在河南科技学院南瓜试验田进行。2008年4月10日在日光温室中育苗,种子播种在8 cm×10 cm含有蛭石的营养钵中,5月5日,待幼苗第3片真叶展开后移栽到试验田。土壤为砂壤土,pH 7.3;栽培方式为单主蔓搭架栽培,畦宽1.5 m,长12 m,畦沟宽0.5 m,畦上株行距0.5 m×0.5 m,架式用直径3 cm的竹竿搭制的“人”字架,架高2 m。水肥管理采用常规管理的方法,期间没有使用任何杀菌剂。6月22日,在“蜜本”南瓜的叶片上表面首先发现自然感病的白粉病菌丝,到7月12日,大多数的果实将要成熟时,“蜜本”南瓜的植株白粉病发病较为严重,此时,调查2种试验材料的白粉病发病株数,分别统计白粉病病情指数。试验中试验小区为随机区组设计,3次重复,每个试验材料分别调查了3个小区共150株。

1.2.2 人工接种鉴定 人工接种鉴定采用了幼苗人工接种和成株期叶盘人工接种2种方法。接种病原菌的准备:白粉病病原菌取自河南科技学院南瓜试验田成株期的中国南瓜叶片,经鉴定为 *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht. Ex Fr.) Poll.。2008年6月12日从田间“轿顶”南瓜(一种中国南瓜农家品种,特别易感白粉病)植株上采取感病的叶片,采用 Zijlstra 和 Groot(1992)^[7] 的方法将分布白粉病菌的“轿顶”南瓜叶盘维持培养在含有糖水的培养皿中。白粉病病原菌叶盘法培养3代后待用。接种前1 h配制白粉病孢子悬浮液,从白粉病病原菌培养皿中挑取菌丝放入无菌水中,加入吐温-80做为分散剂,经检测使悬浮液孢子浓度为 3×10^4 个/mL。幼苗期人工接种鉴定:2008年7月10日,2种试验材料各选饱满的种子300粒进行温烫浸种催芽,待芽长到1 cm左右时播种。将发芽种子播于带有蛭石的营养钵(8 cm×10 cm)中,在日光温室内进行育苗。幼苗生长期间用防虫网对幼苗进行隔离保护,防止病虫危害和传播病害。当幼苗具有1片真叶时接种白粉病病原菌。接种时用滴管将1 mL的白粉病孢子悬浮液均匀涂布在幼苗第1片真叶上^[8]。3次重复,每个重复100株幼苗,在温室做随机区组设计。接种后用遮阳网连续遮荫,湿度

80%~90%,白天温度维持在25~28℃,夜间维持在20~22℃。接种后第7天有幼苗开始感病,第11天时部分幼苗感病较为严重,调查感病幼苗的株数,计算病情指数。成株期叶盘人工接种鉴定:2008年7月20日,从田间2种试验材料的成株上采集健康的幼龄功能叶片,用于叶盘人工接种。先将叶片用自来水冲洗10 min,在超净工作台上用70%酒精消毒10~30 s,用0.1%升汞浸泡7~8 min,用无菌水冲洗3~4次,然后用直径1.2 cm的打孔器从叶片的中央取得叶盘,将同种试验材料的叶盘正面向上放于直径10 cm、内盛25 mL的MS培养基的培养皿中。接种时用移液枪吸取白粉病孢子悬浮液10 μL,均匀涂于叶片表面。1个培养皿为1次重复,3次重复,随机区组设计放置在培养架上。培养温度为25℃,光照强度 $60 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,每天光照12 h。接种后第5天部分叶盘严重感病,菌丝布满叶盘,统计感病叶盘数,按照上面的公式计算病情指数。

1.2.3 叶片表面结构的电镜观察 2008年7月14日,从田间2种试验材料的成株上采集健康的幼龄功能叶片,超声波清洗,再用蒸馏水反复冲洗3次,滤纸吸干表面水分,于靠近叶片中脉处切取2 mm×2 mm大小的样品,直接粘于导电胶上,在PHILIPS-FEI公司制造的Quanta 200型环境扫描电镜下(加速电压15 kv,气体压力60 Pa)观察并拍照。在200倍镜下变换3个视野观察和测量叶片的刚毛长度和密度,800倍镜下变换3个视野观察和测量叶片上表皮气孔器的大小和密度^[9]。

1.3 数据分析

数据分析采用SAS 8.0分析软件,对样本平均数进行t检验($P=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 田间白粉病自然发病状况

由表1可看出,在田间自然发病的情况下,2种试验材料的成龄植株白粉病病情指数差异显著,中国南瓜“112-2”自交系没有发现感病的植株,病情指数为0。中国南瓜“蜜本”品种对白粉病表现感病,病情指数为21.7%。“112-2”自交系对白粉病有很高的抗性。

表1 “112-2”自交系和“蜜本”南瓜植株田间白粉病自然发病的病情指数

Table 1 The disease index of 'Inbred 112-2' and 'Miben' naturally infection to powdery mildew in the open field.

试验材料 Materials	病情指数 Disease index/%
“112-2”自交系 Inbred “112-2”	0.00
“蜜本” Miben	21.7±4.16*

注: *表示同列平均数(n=3)在5%水平上经t检验差异显著。下表同。

Note: * significant differences at 5% level of mean values, according to paired t-test (means±SD, n=3). The same as below.

2.2 幼苗期人工接种和成株期叶盘人工接种白粉病菌

后的抗性差异

由表 2 可看出,2 种试验材料在幼苗期人工接种白粉病菌后 11 d 和成株期叶盘人工接种白粉病菌 5 d 后,二者的幼苗叶片和部分叶盘受到白粉病菌侵染,但二者的病情指数差异显著。2 种鉴定方法中,“112-2”自交系的病情指数均显著低于“蜜本”南瓜,尤其成株期的叶盘人工接种后病情指数最低,仅为 7.5%,表明二者对白粉病的抗性有显著差异,“112-2”自交系对白粉病具有较高的抗性。

2.3 成株期叶片表面结构的电镜观察

通过对 2 种试验材料的成株期健康叶片的上表面进行电镜观察和测量,发现“112-2”自交系叶片上表面的刚毛密而长,刚毛密度和长度显著大于“蜜本”南瓜;在

气孔器大小方面,“112-2”自交系叶片上表面的气孔器较小而密集,气孔器密度显著大于“蜜本”南瓜,而气孔器的长度和宽度均显著小于“蜜本”南瓜(见表 3 和图 1)。

表 2 “112-2”自交系和“蜜本”南瓜人工接种白粉病菌后的病情指数

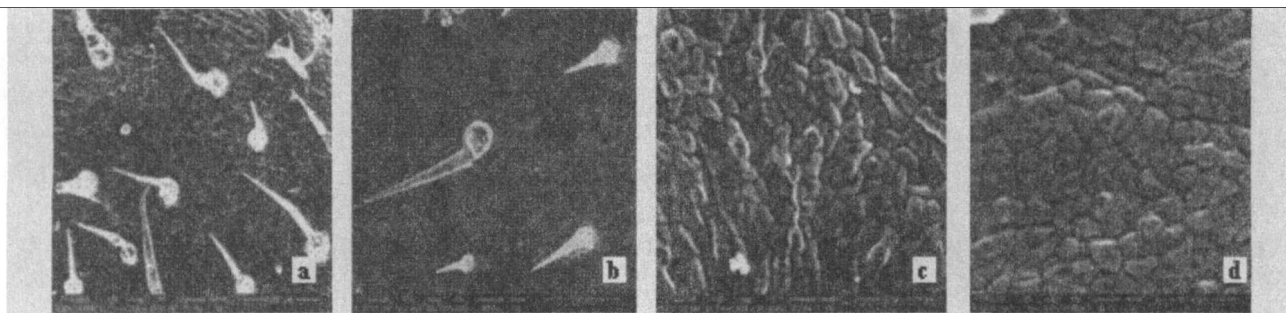
Table 2 The disease index of ‘Inbred 112-2’ and ‘Miben’ infection to powdery mildew after artificial inoculations powdery mildew fungus to seedlings(11 days) and adult - plant leaf disks(5 days) .

试验材料 Materials	病情指数 Disease index / %	
	幼苗 Seedlings	叶盘 Leaf disks
“112-2”自交系 Inbred “112-2”	28.8±3.21	7.5±1.52
“蜜本” Miben	47.6±6.73 *	38.6±5.78 *

表 3 “112-2”自交系和“蜜本”叶片表面结构的电镜观察

Table 3 Situations of ‘Inbred 112-2’ and ‘Miben’ the abaxial leaf surface morphology by SEM

试验材料 Materials	刚毛密度 Trichome density /个·mm ⁻²	刚毛长度 Trichomelength /μm	气孔密度/个·mm ⁻² Stomatal density /stomatal·mm ⁻²	气孔长度 Stomata length /μm	气孔宽度 Stomata width /μm
“112-2”自交系 Inbred “112-2”	48.62±8.26 *	190.70±35.51 *	166.5±30.08 *	7.03±0.89	7.42±1.01
“蜜本” Miben	28.60±4.65	146.14±31.12	144.7±21.57	7.35±0.94 *	8.64±1.25 *



a:“112-2”自交系的刚毛(200×);b:“蜜本”的刚毛(200×);c:“112-2”自交系的气孔器(800×);d:“蜜本”的气孔器(800×)
(a)Trichom of Inbred 112-2(200×);(b)Trichom of Miben(200×);(c)stomata of Inbred 112-2(800×);(d)stomata of Miben(800×).

图 1 扫描电镜下“112-2”自交系和“蜜本”南瓜成株期叶片上表皮刚毛和气孔器的形态

Fig.1 Trichome and stomata of the abaxial leaf surface of ‘Inbred 112-2’ and ‘Miben’ by SEM

3 结论与讨论

试验中采用了田间自然感病情况调查、幼苗人工接种和成株期叶盘人工接种 3 种方法鉴定中国南瓜“112-2”自交系和“蜜本”南瓜对白粉病的抗性。试验中“112-2”自交系的病情指数均显著低于“蜜本”南瓜,尤其在田间的抗性最好,没有发现感病的植株,表明“112-2”的抗白粉病能力显著高于“蜜本”南瓜,是很好的抗白粉病育种材料,值得在中国南瓜抗白粉病育种中进一步利用的育种资源。

2 种试验材料通过 3 种鉴定方法得到的病情指数各不相同,幼苗人工接种后易感病,病情指数较高;成株期叶盘人工接种后病情指数较低,而植株田间自然感病的病情指数最低,说明中国南瓜植株的感病与植株的形态

发育、白粉病菌的多少和白粉病的适宜发病条件有较大的关系。温室条件下幼苗人工接种,空气湿度较大,紫外线较弱,幼苗的叶片较嫩,适于白粉病病原菌的繁殖,因此有较多的感病幼苗。成龄植株在田间自然生长的条件下,空气湿度较小,紫外线较强,白粉病病原菌相对较少,受白粉病病原菌侵染的机会少,因此白粉病的发病率低,甚至不发病。至于成龄植株叶片人工接种叶盘有较高的病情指数,其原因与叶盘上白粉病菌数较多,培养条件适宜白粉病侵染有关。

对白粉病抗性材料的育种利用,除了要清楚其水平抗病能力,还应深入研究材料对不同种病原菌的抗性及其遗传特性。*S. fuliginea* 和 *E. cichoracearum* 是常见的瓜类白粉病病原菌^[10],在试验田中感病植株经鉴定为

S. fuliginea, 没有发现 *E. cichoracearum*, 所以试验中以 *S. fuliginea* 为病原菌进行鉴定, 至于“112-2”自交系对 *E. cichoracearum* 的抗性如何需做进一步研究。

国内外对瓜类的抗白粉病机制进行了许多研究, Paris(2002)^[11] 从遗传机制方面的研究认为南瓜属的抗白粉病可能是被一个或几个抗性基因的显性或不完全显性控制的, 遗传特性较复杂。植物抗白粉病除了遗传机制外, 还有生物学机制, 叶片的表皮结构对防御白粉病菌的侵袭有一定的作用, Lake 和 Wade(2009)^[12] 发现拟南芥为了适应环境, 抵抗白粉病菌侵染, 新生叶片的气孔密度和绒毛密度有一定的增加。Nonomura 等(2009)^[13] 研究野生番茄叶片的绒毛及分泌物对白粉病的抗性的影响时发现叶片绒毛能阻挡水分直接接触叶片表层, 减少了白粉病菌丝侵染叶片的机会, 从而达到对白粉病有较高的抗性。关于瓜类植物的叶片表面结构对白粉病的生物学防御机制还未报道, 是否与叶片表面的气孔和刚毛的密度、大小有关, 有待进行深入的研究。至于中国南瓜“112-2”自交系具有高抗白粉病的遗传机制和生物学机制如何, 也需做更加深入的研究, 以便于在以后抗白粉病育种中得以使用。

参考文献

- [1] 郑华美. 瓜类蔬菜[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2006: 136-137.
- [2] Hladun K, Adler L. Influence of leaf herbivory, root herbivory, and pollination on plant performance in *Cucurbita moschata*[J]. *Ecol Entomol.*, 2009, 34: 144-152.
- [3] 廖金海. 南瓜白粉病的危害与防治技术[J]. *现代农业科技*, 2005(9): 45-46.
- [4] Contin M, Munger H M. Inheritance of powdery mildew resistance in interspecific crosses with *Cucurbita martinii*[J]. *Hort. Science*, 1977(12): 397.
- [5] Cohen R. A leaf disk assay for detection of resistant melons to *Sphaerotheca fuliginea* race 1[J]. *Plant Dis.*, 1993, 77: 513-517.
- [6] Lebeda A, Kristova E. Genotypic variation in field resistance of *Cucurbita pepo* cultivars to powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum*) [J]. *Genet. Resour Crop Ev.*, 1996, 43: 79-84.
- [7] Zijlstra S, Groot S P C. Search for novel genes for resistance to powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in cucumber (*Cucumis sativus*) [J]. *Euphytica*, 1992, 64: 31-37.
- [8] 刘秀波, 张俊华, 崔崇士. 南瓜白粉病病原菌鉴定及抗性鉴定方法研究[J]. *中国瓜菜*, 2006(1): 10-13.
- [9] Bjorkman C, Ahrné K. Influence of leaf trichome density on the efficiency of two polyphagous insect predators[J]. *The Netherlands Entomological Society Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2005, 115: 179-186.
- [10] 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.
- [11] Paris H S, Cohen R. Powdery mildew-resistant summer squash hybrids having higher yields than their susceptible, commercial counterparts [J]. *Euphytica*, 2002, 124: 121-128.
- [12] Lake J A, Wade R N. Plant - pathogen interactions and elevated CO₂: morphological changes in favour of pathogens[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60: 3123-3131.
- [13] Nonomura T, Xu L, Wada M, et al. Trichome exudates of *Lycopersicon pennellii* form a chemical barrier to suppress leaf-surface germination of *Oidium neolyopersici* conidia[J]. *Plant Science*, 2009, 176: 31-37.

Verification of Powdery Mildew Resistance to a *Cucurbita moschata* Inbred Line ‘112-2’

ZHOU Jun-guo, HU Hui-ling, LI Xin-zheng, ZHANG Hui-rong

(Department of Horticulture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003)

Abstract: ‘Inbred 112-2’, a selected 8-self-generation inbred line, was discovered showing higher resistance to the powdery mildew fungus by many years field observation. To verify the resistance of ‘Inbred 112-2’ to the powdery mildew fungus, ‘Miben’, a widely cultivated pumpkin cultivar in China was used to be control. *Sphaerotheca fuliginea*, a main powdery mildew fungus occurred in *C. moschata*, was inoculated into leaves of 1-leaf seedling and leaf discs of adult plant respectively. The disease index of adult leaves infected naturally in field, inoculated seedling leaves and inoculated leaf discs were investigated respectively. In addition, scanning electron microscopic (SEM) observation to the normal leaves surface morphology of two tested materials were also performed. The results showed that the disease index of ‘Inbred 112-2’ were significantly lower than that of ‘Miben’ using field natural infection, artificial inoculation of seedling and adult plant leaf discs. Their corresponding disease index values of ‘Inbred 112-2’ by three different methods were 0, 28.8 and 7.5 respectively, while those of ‘Miben’ were 21.7, 47.6 and 38.6. So we draw a conclusion that ‘Inbred 112-2’ was a higher resistance inbred to powdery mildew. SEM observation showed that leaves surface morphology of ‘Inbred 112-2’ had higher stomata density, trichome density and smaller stomata size than those of ‘Miben’, but it should be further studied that whether there was inevitable correlation between higher resistance of ‘Inbred 112-2’ than ‘Miben’ and difference of their leaf surface morphology.

Key words: *Cucurbita moschata*; powdery mildew; resistance; verification