

# 不同甜瓜材料苗期细菌性果斑病抗性鉴定

张亮<sup>1</sup>, 王惠林<sup>1,2</sup>, 万秀琴<sup>1</sup>, 郑健<sup>2</sup>

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

**摘要:**以 25 份不同甜瓜材料为试材, 采用苗期喷雾接种法, 分析研究了不同甜瓜材料对果斑病的抗性, 为甜瓜抗病性育种提供参考。结果表明: 筛选出 T1、T4、T11 等中抗材料 8 份, 中感材料 8 份, T6、T12、T13 等感病材料 9 份, 没有免疫和高抗材料; 另外, 田间植株表现病害的 T12、T13、T20 等材料均属于中感或感病级别。T1、T4 等抗性较高材料与 T6、T12 等感病材料抗病指数有明显的差异。

**关键词:**甜瓜; 细菌性果斑病; 抗病性鉴定

**中图分类号:**S 652.603.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)09-0117-04

细菌性果斑病菌可侵染甜瓜生长的整个时期, 导致甜瓜叶片枯萎和果实腐烂。一旦发病, 用药防治基本没有效果, 同时导致种子带菌, 成为下一年重要的初侵染源<sup>[1]</sup>。该病害已成为我国瓜类生产的重要病害之一。目前, 由于细菌性果斑病导致瓜类商品的经济效益严重下降, 对瓜类产业造成了威胁, 因此, 必须采取有效的措

施防治该病害的发生, 生产实践和研究结果表明, 利用抗性强的品种是最经济、最有效的控制该病的措施<sup>[2]</sup>。现通过室内苗期喷雾接种法, 对 25 份甜瓜材料进行抗性鉴定, 以期对甜瓜抗病性育种提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

25 份供试甜瓜材料编号为 T1~T25, 其中自交系材料 20 份(T1~T20), 杂交一代材料 5 份(T21~T25), 由国家瓜类工程技术研究中心提供, 详见表 1。供试的细菌性果斑病菌株由南京农业大学提供, 菌株代号为 M2。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 病原菌悬浮液的制备 果斑病菌的扩繁活化采

**第一作者简介:**张亮(1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向为甜瓜遗传育种。E-mail:514086991@qq.com.

**责任作者:**王惠林(1968-), 男, 硕士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为瓜类育种。E-mail:wanghuilin@qq.com.

**基金项目:**国家科技支撑计划资助项目(2014BAD01B0805)。

**收稿日期:**2015-12-16

[9] 谢志兵, 鲁旭东. 猕猴桃组织培养中适宜激素组合的筛选[J]. 北方果树, 2003(3): 7-8.

[10] 樊军锋, 李玲, 韩一凡, 等. 秦美猕猴桃叶片再生最佳系统的建立[J].

西北植物学报, 2002, 22(4): 907-912.

[11] 陈洪国, 熊月明. 不同外植体和生长调节剂对猕猴桃愈伤组织形成与再分化的影响[J]. 福建果树, 2001(4): 3-4.

## Tissue Culture System Screening of *Actinidia chinensis* cv. Hongyang 'Sanxia Horg'

GAN Liping, RUAN Shenqing, ZENG Xiaolin

(College of Life Science and Engineering, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404100)

**Abstract:** Taking the leaf, stems, buds of Hongyang kiwi fruit as explants, MS as basic medium, the effect of different disinfection methods, callus and bud induction ability of hormone formulations was studied. The results showed that the disinfectant method of 75% alcohol treatment explants 30 s, then 1% NaClO disinfection 10 min was the best with sterilizing effect reached 75.0%; callus optimum medium was MS+1.0 mg/L ZT+0.1 mg/L NAA while optimum medium for inducing adventitious buds was MS+1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA. The stems was the best explants for callus formation.

**Keywords:** *Actinidia chinensis* cv. Hongyang; tissue culture; callus

用 KMB(10 g 胰蛋白胨, 0.75 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 5 g 丙三醇, 5 g 琼脂, 定容至 500 mL, pH 7) 固体培养基, 在 28℃ 温度下培养 48 h, 并在无菌条件下挑取单菌落于 NB (1.5 g 牛肉膏, 2.5 g 蛋白胨, 定容到 500 mL, pH 7) 液体培养基中, 在 28℃、220 r/min 条件下震荡培养 24 h。用无菌水将菌悬液浓度调至  $5 \times 10^8$  cfu/mL<sup>[3]</sup> 备用接种。

表 1 供试甜瓜名称与来源

Table 1 The name and source of the experimental muskmelon

材料编号 Material number	材料名称 Material name	材料来源 Source of material
T1	M867	皇后×韩国甜瓜后代自交系
T2	NM90-1	以色列甜瓜自交系
T3	M809	日本甜瓜自交系
T4	M835	欧洲甜瓜×哈密瓜自交系
T5	M843B	日本甜瓜自交系
T6	M888	哈密瓜自交系
T7	M439	日本甜瓜自交系
T8	M600	日本甜瓜自交系
T9	NM89	哈萨克斯坦甜瓜自交系
T10	M916	哈密瓜自交系
T11	M880	日本甜瓜自交系
T12	谢开心	新疆早熟地方品种
T13	伽师瓜	新疆晚熟地方品种
T14	卡拉杂西	新疆中熟地方品种
T15	M581	安农 2 号×伽师瓜后代自交系
T16	M633	皇后×韩国甜瓜后代自交系
T17	M711	哈密瓜自交系
T18	M607	日本甜瓜自交系
T19	M833	哈密瓜自交系
T20	M805	哈密瓜自交系
T21(T1×T8)	M867×M600	F <sub>1</sub>
T22(T1×T9)	M867×NM89	F <sub>1</sub>
T23(T2×T8)	NM90-1×M600	F <sub>1</sub>
T24(T2×T9)	NM90-1×NM89	F <sub>1</sub>
T25(T9×T8)	NM89×M600	F <sub>1</sub>

1.2.2 供试甜瓜苗的培育 供试的种子先在恒温培养箱中 30℃ 条件下处理 12 h, 最后 65℃ 条件下干热灭菌 48 h<sup>[4]</sup>。育苗基质采用混合后的杨树锯末和蛭石, 锯末先用 100℃ 水消毒灭菌。播种前用水将基质浇透, 装入 5 cm×10 cm 经过巴斯消毒液杀菌的穴盘中。每穴播 3 或 4 粒种子, 播 5 穴, 3 次重复, 并设置对照。播种后覆盖塑料膜进行保温保湿, 并定时浇水。出苗后去膜正常管理。苗期喷施(霍格兰氏)营养液以提供幼苗生长所需的营养。

1.2.3 接种 当幼苗生长至 2~4 片真叶(生长 25 d 幼苗)完全展开时, 将调好的菌悬液采用喷雾接种法接种, 并用塑料膜保温保湿 48 h。

### 1.3 项目测定

1.3.1 苗期抗病性鉴定 接种 7 d 后开始调查记录甜

瓜叶片的发病情况, 5 d 后再调查 1 次, 重复 2 次, 调查对象为植株的全部叶片, 计算病情指数 DI。病情级数调查根据 Hopkins 分级标准, 稍有改动。叶片发病分级标准如下, 0 级: 无病斑; 1 级: 叶片病斑面积占整片叶面积 10% 及以下; 2 级: 病斑较多, 病斑面积占整叶面积的 10%~29%; 3 级: 病斑融合成大病斑, 病斑面积占整叶面积的 30%~50%; 4 级: 病斑很多融合成大病斑, 病斑面积占整叶面积 50%~70%, 片斑干枯; 5 级: 病斑面积占整个叶面积的 70% 以上, 几乎整片叶焦枯死亡。  $DI = \frac{\sum(\text{发病级数} \times \text{发病叶片数})}{(\text{最高病级} \times \text{总叶片数})} \times 100$ 。采用相对抗病性方法<sup>[5]</sup>评价其抗病程度, 相对抗病程度分为免疫(immunity)(1.00)、高抗(high resistant)(0.80~0.99)、中抗(middle resistant)(0.40~0.79)、中感(middle susceptible)(0.20~0.39)、感病(susceptible)(0.20 以下)。相对抗病指数(RI)=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)。

1.3.2 田间抗病性鉴定 在植株生长到 7~8 片真叶时(30 d)时, 对发病的甜瓜材料进行抗病鉴定, 调查对象为连续 11 株植株 2~4 节位上的真叶, 并计算病情指数, 计算方法同苗期鉴定方法。田间叶片果斑病病害分级标准如下, 0 级: 无病斑; 1 级: 病斑面积占整个叶面积的 5% 及以下; 3 级: 病斑面积占整叶面积的 6%~10%; 5 级: 病斑面积占整叶面积的 11%~20%; 7 级: 病斑面积占整叶面积的 21%~50%; 9 级: 病斑面积占整叶面积的 50% 以上。

### 1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2007 软件进行分析处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 苗期抗病性鉴定结果

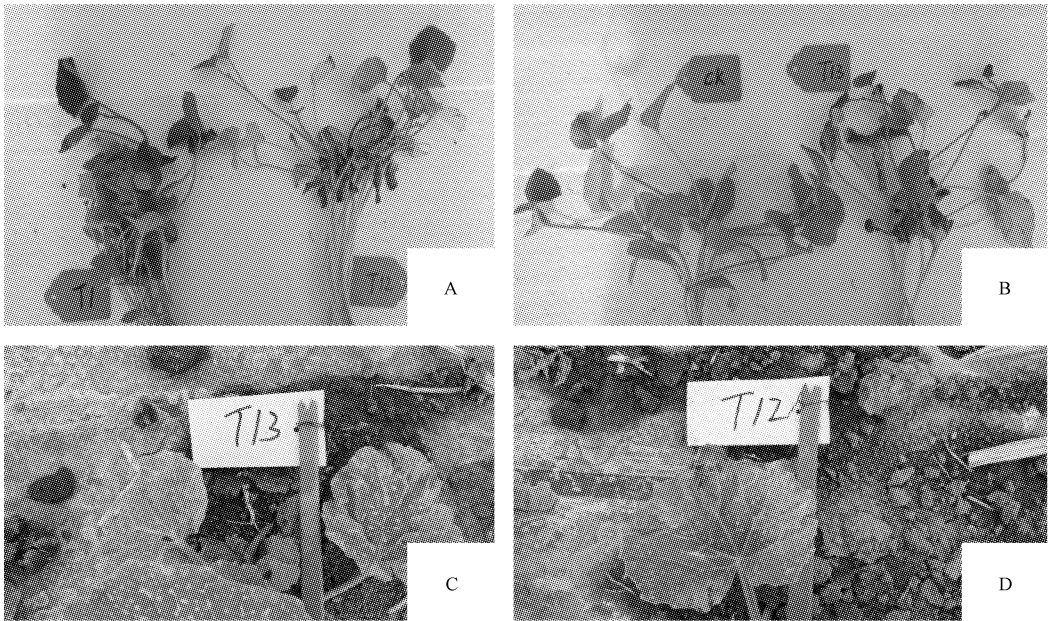
幼苗接种后, 25 份甜瓜植株都出现不同程度的病害, 接种 2 d 后有部分植株子叶已经出现棕褐色病斑, 真叶边缘处呈密集的星点状病斑。5 d 后, 病害发展较迅速, 且病情达到稳定状态。叶片病斑呈不规则多角形, 空气湿度大时病斑呈水浸状。干燥时, 病叶干枯且易脱落。后期时, 多个病斑融合成大病斑, 颜色加深, 呈深褐色。

由表 2 可知, 接种后的 25 份甜瓜材料均发病, 没有免疫和高抗的甜瓜材料。编号 T1 的材料病情指数最低, 相对抗病指数最高为 0.70, 属于中抗级别。T6 的平均病情指数最低为 61.77, 属于感病级别。供试的材料中分为 3 种类型: 中抗(MR)材料共有 8 份, 相对抗病指数为 0.70~0.41, 中感(MS)材料共有 8 份, 相对抗病指数为 0.39~0.21。感病(S)材料 9 份, 相对抗病指数为 0.00~0.19。中抗材料 T1 与感病材料 T13 症状表现见图 1A, 接种后感病材料 T13 与对照见图 1B。

表 2 不同甜瓜材料苗期对细菌性果斑病的抗性鉴定结果

Table 2 Result of identification of resistance to *Acidovorax avena* subsp. *citrulli* among different melon (*Cucumis* spp.) in the seedling stage

材料编号	平均病情指数	相对抗病指数	抗性评价	材料编号	平均病情指数	相对抗病指数	抗性评价
Material number	Average disease index	Relative resistance index	Evaluation resistance	Material number	Average disease index	Relative resistance index	Evaluation resistance
T1	18.42	0.70	MR	T22	45.85	0.26	MS
T4	21.84	0.65	MR	T21	45.99	0.26	MS
T11	24.71	0.60	MR	T18	49.06	0.21	MS
T25	29.46	0.52	MR	T19	49.90	0.19	S
T2	33.33	0.46	MR	T13	51.54	0.17	S
T8	35.30	0.43	MR	T17	51.58	0.16	S
T7	36.59	0.41	MR	T23	53.61	0.13	S
T10	36.75	0.41	MR	T15	53.95	0.13	S
T5	37.56	0.39	MS	T24	56.00	0.09	S
T20	39.11	0.37	MS	T16	56.17	0.09	S
T9	40.96	0.34	MS	T12	58.13	0.06	S
T14	43.58	0.29	MS	T6	61.77	0.00	S
T3	44.78	0.28	MS				



注:A. 中抗与感病材料;B. 接种后感病材料与对照;C. 感病材料田间表现;D. 感病材料田间表现。

Note: A. The middle resistant and high sensitive varieties; B. Inoculation of infected material and contrast; C. The field performance of high sensitive material; D. The field performance of high sensitive material.

图 1 不同时期甜瓜材料的抗病性表现

Fig. 1 Disease resistance of *Acidovorax citrulli* in different periods

2.2 田间抗病性鉴定

通过调查田间生长 30 d 的甜瓜植株(7~8 片真叶)叶片,25 份材料中,只有 T12、T13、T10、T17、T20 田间表现果斑病症状(表 3),其余均没有发病,发病指数为 0。叶片症状表现为病斑沿叶缘叶脉处呈棕褐色 V 字型或多角形水浸状病斑,病情严重时病斑沿着叶边缘向中部扩展。空气湿度大时,有白色菌脓溢出。空气干燥时,叶片病斑处变薄变脆,易穿孔脱落,并有白色菌丝粘着在叶片上。感病材料 T12、T13 田间叶片病害表现见图 1C、D。

表 3 不同甜瓜材料田间对细菌性果斑病的抗性鉴定结果

Table 3 Result of identification of resistance to *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* among different melon (*Cucumis* spp.) in the field

材料编号	病叶率	各级病叶数							病情指数
Material	Rate of diseased leaves	Number of different diseased leaves							Disease index
number	/ %	0	1	3	5	7	9		
T20	72.73	9	24	0	0	0	0		8.08
T10	81.82	6	19	7	0	1	0		15.82
T13	93.94	2	19	10	2	0	0		19.87
T17	96.97	1	19	10	3	0	0		21.55
T12	96.97	1	13	4	8	5	2		39.73



### 3 讨论

通过室内苗期喷雾接种鉴定,调查植株所有叶片病斑面积大小统计病情指数,以此确定不同甜瓜材料之间的抗病指数,较能准确的反映不同材料之间存在的差异。胡俊等<sup>[6]</sup>通过调查研究,发现不同哈密瓜品种田间自然条件下的抗病性与温室人工接种下的抗病性完全一致,能间接的反应出田间抗性表现。苗期接种试验的抗性鉴定由于接种量的大小、浓度、温度与湿度条件一致,所以能客观的反映出不同材料之间的抗性差异。但是,由于光照营养条件等不可控因素影响植株的长势,对苗期抗病性结果有一定的影响。

田间发病的材料中,除 T20 属于中感级别,其余 4 份均属于感病材料。经过田间观察,病害的发病程度比苗期接种试验的发病等级较轻,与杨小丽等<sup>[7]</sup>的研究结果相一致。田间的病害表现与复杂的环境因素有密切的关系,下雨后,由于空气湿度大,以及叶片通过雨滴之间交叉感染,病害的发病率显著提高,病害迅速蔓延。正常情况下,田间通风透光好,湿度小,不利于病害的感染与传播。并不是甜瓜品种本身不感病,而是品种在田间条件下的避病反应<sup>[8]</sup>。同时,不同甜瓜材料田间生长形态与病害的严重程度可能存在相关性。需要进一步观察研究。

该试验供试的甜瓜材料中,中抗材料除 T10 外,其余均来源于外国甜瓜自交系或外国甜瓜与哈密瓜的杂

交后代自交系,感病材料基本来源于哈密瓜自交系或新疆地方品种。新疆地方品种均属于中感或感病级别。李威等<sup>[8]</sup>研究表明,新疆目前主栽哈密瓜都严重感染细菌性果斑病。因此,引进国外高抗品种对于抗果斑病的育种具有重要的意义。该试验中杂交 F<sub>1</sub> 代的抗性并没有表现出明显的遗传规律,可能是由多基因控制,而不同甜瓜材料不同的杂交组合也表现出不同的抗性表现。目前国内关于抗果斑病的遗传机制研究很少,遗传规律并不清楚,有待进一步探索。

### 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] 胡俊, 黄俊霞, 刘双平, 等. 内蒙古哈密瓜细菌性果斑病的发生特点与防治技术[J]. 中国植保导刊, 2006, 26(12): 19-20.
- [3] 黄俊霞. 内蒙古地区哈密瓜细菌性果斑病发病规律的初步研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2006.
- [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, LI H. First report of *Acidovorax avenae* subsp. *citrullifolii* infecting edible seed watermelon (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*) in China[J]. Plant Disease, 2006(8): 1112.
- [6] 胡俊, 黄俊霞, 刘双平, 等. 不同哈密瓜品种对细菌性果斑病抗病性及发展动态的研究[J]. 华北农学报, 2006, 21(6): 107-110.
- [7] 杨小丽, 马俊义, 胡白石, 等. 不同哈密瓜品种苗期对细菌性果斑病的抗病性鉴定[J]. 新疆农业科学, 2008, 45(3): 452-455.
- [8] 李威, 任毓忠, 丁建军, 等. 新疆瓜类细菌性果斑病品种抗病性鉴定[J]. 北方园艺, 2007(3): 186-188.

## Identification of Resistance to *Acidovorax citrulli* of Different Melons in the Seedling Stage

ZHANG Liang<sup>1</sup>, WANG Huilin<sup>1,2</sup>, WAN Xiuqin<sup>1</sup>, ZHENG Jian<sup>2</sup>

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

**Abstract:** Taking 25 different varieties of melon as materials, using the method of seedling stage spray inoculation, the resistance to *Acidovorax citrulli* of the melons was studied, to provide reference for resistant breeding. The results showed that 8 middle resistant varieties included T1, T4, T11, etc, the 8 middle sensitive varieties and 9 high sensitive varieties included T6, T12, T13, etc. No immune and high resistant materials. In addition, the field of plant disease symptoms T12, T13 and T20 materials all belonged to the level of high or middle sensitive. The materials resistance index of high resistance varieties such as T1, T4 between high sensitive varieties such as T6, T12 material had obvious differences.

**Keywords:** melon; *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*; resistance identification