

# 西瓜对白粉病的抗性鉴定及遗传分析

徐向丽<sup>1</sup>, 宫国义<sup>2</sup>, 郭绍贵<sup>2</sup>, 许勇<sup>2</sup>, 卢向阳<sup>1</sup>, 彭振兴<sup>1</sup>, 张海英<sup>2</sup>

(1. 湖南农业大学 生物科技学院, 湖南 长沙 410128; 2. 国家蔬菜工程技术研究中心, 北京 100097)

**摘要:**以西瓜抗白粉病种质 PI482246 和感白粉病品种中信 1 号为亲本, 建立了 F<sub>2</sub>、BC<sub>1.1</sub> 和 BC<sub>1.2</sub> 分离群体。从白粉病菌收集物中分离鉴定得到 Px 生理小种 2 France, 采用孢子悬浮喷雾法对各世代进行白粉病抗性苗期接种鉴定, 并进行抗性遗传分析。试验结果表明, PI482246 对 Px 生理小种 2 France 的抗性由一对不完全隐性单基因控制。

**关键词:**西瓜; 白粉病; 生理小种鉴定; 抗性遗传

中图分类号: S651.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2008)04-0037-04

## Identification and Inheritance of Resistance to Powdery Mildew in Watermelon

XU Xiang-li<sup>1</sup>, GONG Guo-yi<sup>2</sup>, GUO Shao-gui<sup>2</sup>, XU Yong<sup>2</sup>,  
LU Xiang-yang<sup>1</sup>, PENG Zhen-xing<sup>1</sup>, ZHANG Hai-ying<sup>2</sup>,

(1. College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. National Engineering Research Center for Vegetables, Beijing 100097, China)

**Abstract:** The cross of watermelon PI482246, which is resistant to powdery mildew disease, and Zhongxin 1, which is susceptible to powdery mildew disease, were used to construct F<sub>2</sub>, BC<sub>1.1</sub> and BC<sub>1.2</sub> progeny populations. The inheritance of resistance was analyzed with *Podospaera xanthii* race 2 France purified and identified from a collection of powdery mildew using spore spraying method in greenhouse. The results of cross tests indicated that the resistance carried by PI482246 to powdery mildew race 2 France was controlled by a single recessive gene and the resistance was incomplete recessive.

**Key words:** Watermelon; Powdery mildew; Physiological race identification; Resistance inheritance

白粉病是危害葫芦科瓜类作物的重要病害之一。近年来, 随着保护地西瓜生产的面积迅速扩大, 在高温高湿的环境下, 西瓜白粉病的发生变得越来越严重, 白粉病已经成为西瓜绿色无公害生产的主要障碍。尽管白粉病可采用化学防治, 但由于危害瓜类白粉病的生理小种较多, 分化快, 化学药剂很难十分有效地保证瓜类作物的无公害生产。培育抗白粉病瓜类作物品种是解决这一问题的有效途径之一。为了有目的地设计育种方案, 必须充分了解育种材料对病害的抗性遗传规律。目前可引起瓜类白粉病发生的真菌有 6 种, *Golovinomyces cichoracearum* (GC) (DC.) V. P. Gelyuta, *E. communi* (Wallr.) Link, *E. polygoni* DC., *Podospaera xanthii* (Px) (Costag.) U. Braun and N. Shish., *Leveillula taurica* (Lév.) Amaud 和 *Oidium* sp, 其中 Px 和 GC 是主要病原菌<sup>[1-3]</sup>。准确预测瓜类蔬菜

白粉病菌的种类, 并及时监测其小种分化, 是开展瓜类蔬菜白粉病防治、引进抗原材料和选育抗病品种的基础。目前, 我国除了部分地区外, 大部分地区均未开展白粉病菌的生理小种鉴定工作。本研究首次利用西瓜抗病种质 PI482246 和感病品种中信 1 号为亲本, 杂交获得 F<sub>1</sub>, 并建立了 F<sub>2</sub>、BC<sub>1.1</sub>、BC<sub>1.2</sub> 世代, 从白粉病菌收集物中分离鉴定得到 Px 生理小种 2 France, 并对上述西瓜材料进行抗性鉴定及遗传特性分析, 为西瓜抗白粉病育种提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

PI482246 是国家蔬菜工程中心西瓜课题组从美国种质资源库中引进 2 000 多份种质资源中筛选获得的, 对白粉病菌 Px 生理小种 2 France 表现为高

收稿日期: 2007-11-29

基金项目: 国家“863”项目(2006AA10Z1A8)

作者简介: 徐向丽(1972-), 女, 江苏徐州人, 在读博士, 主要从事生物化学与分子生物学研究。

通讯作者: 许勇(1965-), 男, 湖北武汉人, 研究员, 博士, 主要从事蔬菜育种与分子生物学研究。

抗; 中信 1 号是由广西贺州市信都红籽瓜研究发展中心提供的常规品种, 对白粉病 Px 生理小种 2 France 表现为高度感病。以抗病材料 PI482246 为父本, 中信 1 号为母本配制杂交组合得到 F<sub>1</sub>, 又通过自交及与父母本回交获得 F<sub>2</sub>、BC<sub>1.1</sub> 和 BC<sub>1.2</sub>, 共构建了 6 世代群体。

研究采用国际通用甜瓜白粉病生理小种鉴别寄主, 其中 PI124112、PMR 45、PMR 6、PI124111、Topmark、Vedrantais 和 WMR 29 由 James D. McCreight 博士(美国农业部农业研究中心 USDA-ARS) 赠送; Nantais Oblong、Edisto 47、PI 414723、PMR 5、Iran H 和 MR 1 由 Michel Pitrat(法国农业科学研究院 INRA) 赠送。

1.2 方法

1.2.1 白粉病菌的收集、鉴定、纯化及培养 收集: 2007 年春季从国家蔬菜工程研究技术中心实验基地采集充分发病的南瓜叶, 用灭菌后的毛笔刷白粉病菌于有蒸馏水的培养皿中, 所有孢子悬浮液最后收集到三角瓶, 加 1~2 滴吐温 20, 充分振荡打散孢子团, 在 10×40 倍的显微镜下观测孢子, 并稀释至浓度为每视野平均有 10 个孢子。

鉴定: 将白粉病病原菌孢子接种到国际通用白粉病生理小种鉴别寄主上进行分析, 参照王娟等<sup>[4]</sup>的方法进行。

纯化: 根据白粉病寄主鉴定结果选择主要生理小种, 经单孢分离获得纯化的白粉病菌系, 在西葫芦上接种扩繁病菌并进行重复鉴定验证。

培养: 将西葫芦发病病叶收集在铺有湿滤纸的无菌培养盒中, 盖膜保湿培养 24 h 作为接种菌。保持温度 28℃/20℃(D/N), 相对湿度约 70%。

1.2.2 西瓜白粉病抗性鉴定 分别准备 6 个世代的种子: 双亲及 F<sub>1</sub> 各 30 粒, F<sub>2</sub> 群体 150 粒, BC<sub>1.1</sub> 和 BC<sub>1.2</sub> 各 100 粒, 浸种催芽后播种于营养钵, 随机组合排列, 保持温度 28/20℃(D/N) 培育壮苗。至 2~3

叶期, 采用喷雾法进行接种, 严格控制温度和湿度。接种后 12~14 d 感病亲本充分发病时, 参照王娟等<sup>[4]</sup>确定的甜瓜病情分级指数和标准, 结合本试验西瓜材料的抗感表现, 制定抗病鉴定标准: 0 级, 整株无病斑; 1 级, 仅子叶有少量病斑或茎上有少量病斑占整株的比例 3%~5%; 3 级, 茎和子叶都有少量病斑, 占整株的比例 5%~10%; 5 级茎和子叶有较多病斑, 占整株的比例 20%~50%; 7 级, 茎和子叶布满病斑, 真叶有病斑, 占整株的比例 50%~80%; 9 级, 植株因感病而死。

根据单株的病情级别计算整个株系的病情指数(DI), 抗病 0<DI≤40; 中间型 40<DI<60; 感病 DI≥60。

DI= (Σ(病级株数×病级) / 总株数×最高病级) × 100。

1.2.3 抗性遗传分析 利用 x<sup>2</sup> 测验分析分离群体与回交群体的抗感分离比例。

2 结果与分析

2.1 白粉病菌分离鉴定

对采集的白粉病病原菌进行多次纯化和鉴定后得到单一菌系, 通过镜检观察到成串的分生孢子, 分生孢子上均有纤维状体(Fibrosin body), 根据纯化后的白粉病菌在国际通用甜瓜白粉病生理小种鉴别寄主上的抗感反应类型<sup>[4~7]</sup>, 确定得到的白粉病菌菌株是 Px 生理小种 2 France(表 1)。本试验将纯化后的白粉病菌接种在西葫芦上, 取其病叶放入培养盒中培养 24 h 后发现, 此时扩繁出大量病菌分生孢子且其致病力强, 这与 Bertrand<sup>[8]</sup>的报道一致。

2.2 抗病基因的抗性遗传规律分析

对构建的 6 世代群体进行 Px 生理小种 2France 人工接种鉴定, 调查其抗性反应, 分析了西瓜种质资源 PI482246 对白粉病的抗性遗传规律(表 2)。

表 1 甜瓜鉴定寄主对白粉病 Px 生理小种 2 France 的抗性反应

Tab. 1 Response of differentials to physiological race 2 France of Px in melon

编号 Number	鉴别寄主 Host	病情指数 Scale defined	抗感反应 Response	编号 Number	鉴别寄主 Host	病情指数 Scale defined	抗感反应 Response
D1	PI 124112	0	R	D8	PMR 5	0	R
D2	PMR 45	92	S	D9	Vedrantais	100	S
D3	Nantais Oblong	96	S	D10	WMR 29	0	R
D4	PI 124111	0	R	D11	Iran H	100	S
D5	Topmark	89	S	D12	MR 1	0	R
D6	Edisto 47	0	R	D13	PMR 6	0	R
D7	PI414723	12	R				

表 2 PI482246 和中信 1 号的 6 世代 Px 生理小种 2 France 抗性鉴定结果

Tab 2 Inheritance of resistance to Px race 2 France in six generations of the cross between PI482246 and Zhongxin 1

世代 Generations	抗病 Resistant		中抗 Middle		感病 Sueceptible		理论比值 Expected ratio	$\chi^2_{0.05, 2} = 5.99$	$\chi^2_{0.05, 1} = 3.84$
	0	1	3	5	7	9			
PI482246(P <sub>1</sub> )	0	30	0	0	0	0			
中信 1 号(P <sub>2</sub> )	0	0	0	0	22	8			
F <sub>1</sub>	0	0	0	6	22	2			
F <sub>2</sub>	0	31	33	52	25	9	1:2:1	2.787	
BC <sub>1,1</sub> (F <sub>1</sub> × P <sub>1</sub> )	0	46	18	33	3	0	1:1		0.64
BC <sub>1,2</sub> (F <sub>1</sub> × P <sub>2</sub> )	0	0	22	26	49	3	1:1		0.16

在苗期鉴定试验中, 严格按照白粉病病情分级标准调查每个株系的发病情况, 计算病情指数。PI482246 在子叶期有较轻程度的病害发作, 但随着幼苗的成长病情减弱, 表现正常的抗性; 中信 1 号全部高感; F<sub>1</sub> 全部表现为感病, 但发病程度较中信 1 号轻, 处于双亲中间类型; F<sub>2</sub> 群体中发生性状分离, 抗病、中抗与感病植株的比例基本接近 1:2:1, 表明 PI482246 对 Px 生理小种 2 France 的抗性是由隐性单基因控制。

F<sub>1</sub> 与抗病亲本回交, 获得的回交群体 BC<sub>1,1</sub> 表现为抗病与中抗分离比约为 1:1, F<sub>1</sub> 与感病亲本回交, 回交群体 BC<sub>1,2</sub> 全部表现为中抗与感病, 分离比约为 1:1。BC<sub>1,2</sub> 和 F<sub>2</sub> 群体的抗感分离比经  $\chi^2$  测验均达到了显著水平。理论上, 以不完全隐性方式遗传的一对基因的杂合体(F<sub>1</sub>) 无论与哪一亲本回交, 后代都会出现一半的个体与轮回亲本相似, 另一半个体与 F<sub>1</sub> 相似呈中间类型。实测结果与理论期望相吻合, 说明西瓜对白粉病的抗病性相对感病性为不完全隐性。另外, 试验中发现回交亲本为抗病的 BC<sub>1,1</sub> 的发病程度显著高于 F<sub>1</sub>, 而回交亲本为感病的 BC<sub>1,2</sub> 的发病程度都显著高于 F<sub>1</sub>, 这进一步说明抗病性主要受核基因控制。

3 讨论

瓜单囊壳白粉菌属于专性寄生菌, 只能在活体寄主上存活, 不便于保存, 白粉病的发生因而也受到季节限制。所以对收集的白粉病菌必须经分离、鉴定、纯化后才能准确进行抗性遗传分析。本研究对收集的白粉病菌混合物经单孢分离, 确认所得结果与王娟等<sup>[4]</sup>报道一致, 利用纯化的 Fx 的 2 France 进行西瓜白粉病抗性鉴定。

由于危害瓜类白粉病的生理小种较多, 分化快, 所以准确鉴定白粉病菌菌株的种属及分化的生理小种是开展瓜类白粉病抗性遗传分析和选育抗病品种的前提和基础。目前, 国际上有一套统一的甜瓜白

粉病菌生理小种鉴别寄主和鉴定方法, 且鉴别寄主的遗传背景基本清楚, 大部分的寄主也明确了抗病基因以及病原菌小种的对应关系。McCreight 采用 1~9 级的分级标准<sup>[6]</sup>, 而 Davis<sup>[1]</sup> 采用 3 个分级标准, 即抗病、中间型和感病。由于西瓜感染白粉病菌后所表现的病征与甜瓜感白粉病的症状表现并不完全一致, 而且, 目前西瓜对白粉病菌的抗感反应尚未建立国际统一的鉴定标准, 所以在本研究中参考王娟<sup>[4]</sup>、McCreight 等<sup>[6]</sup> 的方法, 结合西瓜材料的抗感表现, 制定西瓜白粉病抗病鉴定标准进行西瓜抗性遗传规律分析。王娟<sup>[4]</sup>、McCreight 等<sup>[6]</sup> 所采用的鉴定标准均以感病面积占植株总面积的比例来确定分级标准, 理论上这样分级比较可靠, 但在实际中感病面积比例的确定并不容易。此次试验根据植株的整体表现进行综合判断, 确定分级标准, 在实际应用中操作比较方便准确。

植物的抗病反应是寄主和病原物相互识别, 相互作用的过程, 受环境条件影响较大, 而且单个分离世代提供的遗传信息有限。本试验采用多世代联合分析, 可以得到更多的遗传信息, 增加了遗传分析的功效, 使遗传分析更加精确可靠。通过对构建的 6 个世代群体进行抗性遗传分析, 首次报道了西瓜抗病品种 PI482246 对 Px 生理小种 2 France 的抗病性相对于感病为不完全隐性, 抗病性主要受核基因控制。在西瓜白粉病抗性基因中主要由一个隐性基因控制, 可能存在多个微效基因, 所以在进行抗病育种时, 首先利用主效基因, 通过系统选育或与抗病亲本轮回, 逐步增加抗性基因, 使双亲均抗白粉病, 然后配制杂交组合。

西瓜抗白粉病育种在我国刚刚起步, 需要更广泛地发掘西瓜白粉病抗源, 在了解其抗性遗传规律的基础上, 开展抗性转育, 并加强分子标记技术在西瓜白粉病抗性育种工作中的应用, 加快西瓜白粉病抗病育种工作的进程。

## 参考文献:

- [1] Davis A R, Thomas C E, Levi A, *et al.* Watermelon resistance to powdery mildew race 1 [C] // Maynard D N. Cucurbitaceae. Alexandria, VA, USA: ASHS Press, 2002: 192– 198.
- [2] 刘秀波, 崔 奇, 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(6): 794– 798.
- [3] 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(英文) [J]. 浙江农业学报, 1999( 5): 245– 248.
- [4] 王 娟, 宫国义, 郭绍贵, 等. 北京地区瓜类蔬菜白粉病菌生理小种分化的初步鉴定[ J]. 中国蔬菜, 2006( 8): 7– 9.
- [5] Hosoya K, Narisawa K, Pitrat M, *et al.* Race identification in powdery mildew ( *Sphaerotheca fuliginea* ) on melon( *Cucumis melo* ) in Japan[ J]. Plant Breeding, 1999, 118: 259– 262.
- [6] McCreight J D. Reactions of 20 melon cultigens to powdery mildew race2 U. S. [ C] // Maynard D N. Cucurbitaceae. Alexandria, VA, USA: ASHS Press, 2002: 72– 77.
- [7] Vakalounakis D J, Klironomou E, Papadakis A. Species spectrum, host range and distribution of powdery mildews on Cucurbitaceae in Crete[ J]. Plant Pathology, 1994, 43: 813– 818.
- [8] Bertrand F. AR Halé's Best Jumbo, a new differential melon variety for *Sphaerotheca fuliginea* races in leaf disk tests [C] // Maynard D N. Cucurbitaceae. Alexandria, VA, USA: ASHS Press, 2002: 234– 237.

## 2009 年《中国农业科技导报》 征 订 启 事

《中国农业科技导报》是由科学技术部主管, 中国农村技术开发中心主办, 中国农业科学院生物技术研究所承办的全国性、综合性学术刊物。

本刊是中国科技核心期刊, 以发展现代农业为导向, 主要报道农业高科技领域的最新科研进展、创新成果、转化应用、农业产业化发展态势, 以及政策导向和项目指南( 863 计划、支撑计划等) 信息, 是农业高新技术创新成果重要的宣传阵地。设置综述专论、研究论文、研究简报、前沿动态和信息交流等栏目。读者对象为国内外农业科研机构的研究和管理人员; 相关领域的各级管理部门的管理人员; 农业高技术企业的管理和研发人员; 相关专业的大专院校师生。

诚邀业内人士积极投稿、订阅《中国农业科技导报》, 并欢迎咨询洽谈广告业务。

本刊于 1999 年 6 月创刊, 彩色封面, 大 16 开本, 双月刊, 逢双月中旬出版, 国内外公开发行。自 2009 年起将扩版至 144 页, 采用铜版纸 4 色印刷, 每册定价 22.00 元, 全年定价 132.00 元。可通过邮局或与编辑部联系订阅, 免费邮寄。国内统一刊号: CN11– 3900/S; 国际统一刊号: ISSN 1008– 0864。广告经营许可证号: 京西工商广字 0058 号。邮发代号: 82– 245。

地 址: 北京市海淀区中关村南大街 12 号中国农业科学院生物技术研究所  
《中国农业科技导报》编辑部

邮 编: 100081

联系人: 蔡晶晶, 徐妙云, 孙丽萍

电 话: 010– 82106118

E- mail: nykjdb@ 163. com nkdb@ caas. net. cn

网 址: www. nkdb. net