

应用尖孢镰刀菌培养滤液 室内鉴定百合品种抗病性研究

彭绿春¹, 杨秀梅¹, 苏艳¹, 瞿素萍^{1*}, 崔光芬¹, 陆琳²

(1. 云南省农业科学院 花卉研究所/农业部花卉产品质量监督检验测试中心, 云南 昆明 650205; 2. 云南省农业科学院 质量标准与检测技术研究所, 云南 昆明 650223)

摘要: 采用百合尖孢镰刀菌培养滤液, 首次在瓶内对百合组培苗 8 个品种进行镰刀菌枯萎病抗性鉴定, 结果鉴定出高抗品种 3 个, 中抗品种 3 个, 中感品种 2 个, 初步建立起百合品种镰刀菌枯萎病抗性室内鉴定的方法。

关键词: 尖孢镰刀菌; 百合品种; 室内抗性鉴定

中图分类号: S682.2⁺9 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2011)02-0275-03

A Study on Aseptic Identification of the Resistance of Lily Varieties to Toxin Filtrate From *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lilii*

PENG Lv-chun¹, YANG Xiu-mei¹, SU Yan¹,
QU Su-ping^{1*}, CUI Guang-fen¹, LU Lin²

(1. Flower Research Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Supervision and Testing Centre for Flowers of Ministry of Agriculture, Kunming 650205; 2. Quality Standard and Testing Technology Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China)

Abstract: The resistance of eight lily varieties to toxin filtrate from *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lilii* was determined with aseptic seedlings for the first time. The result showed there were three highly resistant varieties, three moderately resistant varieties, and two moderately susceptible varieties. More importantly, a method to identify indoors the resistance of lily varieties to toxin filtrate from *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lilii*.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lilii*; lily varieties; indoor resistance identification

百合是世界四大鲜切花之一,也是云南省主栽花卉之一,深受人们喜爱,并且在生产和贸易中表现出了较大的经济效益。但由于近年来种植面积不断扩大和连年种植,其病害变得日益严重,由百合尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *Lilii*)引起的枯萎病,又称茎腐病,是百合重要病害之一。该病导致百合种球和鳞片腐烂,严重威胁百合种球和切花生产产量和质量。镰刀菌可随土壤、种球传播,百合种球贮运、贸易以及二代种球的种植加速了该病在全世界百合种植区的蔓延和流行^[1-2]。由于真菌对杀菌剂抗性的不断增强和环境因子的影响,使用化学防治对该病收效甚微,因此应用抗病品种和选育抗病品种是控制百合镰刀菌枯萎病的首选措施。但常规的抗性鉴定费时费工,且易受环境条件影响。而 Curir

收稿日期: 2010-10-29 修回日期: 2011-02-04

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAD45B04)

作者简介: 彭绿春(1981—),女,硕士,主要从事花卉质量控制与植物繁育技术研究, E-mail: green315@126.com; *
通讯作者: 瞿素萍,副研究员, E-mail: qusuping2002@sina.com。

等^[3]研究证实镰刀菌毒素会导致无菌培养的两个百合品种鳞片出现中毒现象。故在前人研究尖孢镰刀菌产毒条件的基础上^[4-6],首次应用尖孢镰刀菌培养滤液,对8个品种百合组培苗进行瓶内抗病性鉴定,旨在探索出一套快速、简便鉴定抗性的方法,以缩短选育抗病品种周期。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的8个百合品种来自云南省农科院花卉所质检中心组培室,为生长正常、长势一致、无污染的组培瓶苗。病原菌为百合枯萎病株上分离得到的尖孢镰刀菌致病菌株,于马铃薯(PSA)培养基上保存待用。

1.2 试验方法

1.2.1 毒素滤液制备 菌株移接在PSA平板培养基上,于25℃下培养1周,沿菌落边缘打出直径为8mm菌饼,接入装有200mL查氏培养液的500mL三角瓶内,每瓶接8片,置于摇床上,光照、振荡、室温培养约26~29d^[4-5]。培养滤液经过滤(先用四层纱布,再用两层滤纸),滤液离心30min(3000r/min),弃去沉淀,上清液煮沸15min后,作为毒素原液保存于4℃冰箱待用^[7]。

1.2.2 接种 (1) 鉴定浓度的筛选。配制毒素体积分数为(毒素原液与培养基体积比)0%,20%,40%,60%的百合繁殖培养基:MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,pH 5.8,高压灭菌15min,以Sorbonna和“发光”为材料,待百合小植株长至1~1.5cm高,在基部切去一小薄片后,接入培养基中,每瓶接15棵,每个体积分数5瓶。(2) 不同品种抗性鉴定。配制适宜毒素体积分数的百合繁殖培养基,按(1)中的方法接种8个百合品种组培苗,每瓶接15棵,每个品种5瓶。

每个品种设一瓶对照,对照培养基里不添加毒素滤液。

1.2.3 病情调查及抗性分级标准 接种后,陆续观察记录发病情况,并于1周后统计。病情分级标准见表1。

病情指数 $1\% = [\sum(\text{病级苗数} \times \text{病级}) / (\text{苗数总和} \times \text{发病最重级})] \times 100$

抗性等级按样本的平均病情指数划分,高抗(HR) ≤ 40.00 ,中抗(MR) 40.01~60.00,中感(MS) 60.01~80.00,高感(HS) ≥ 80.01 。

表1 病情分级标准

Tab.1 Disease grading standars

等级 Rank	发病情况 Morbidity degree
0	不发病(与对照相同)
1	基部切口处变灰黑色
2	基部切口处变灰黑色,外层叶片枯萎,病部长度不超过1/2
3	整个基部腐烂
4	整个基部腐烂,叶片向上部枯萎,病部长度不超过1/2
5	整个基部腐烂,叶片向上部枯萎,病部长度超过1/2

(1)

2 结果与分析

2.1 百合组培苗室内抗性鉴定适宜毒素浓度

接种1周后,两品种不同浓度处理的培养基中,百合苗切口处变灰黑色,并扩散到周围培养基,有的还出现出基盘及叶片枯腐等损伤表现,株高也明显低于对照,并随浓度增加,损伤加重。两品种随浓度增加,损伤变化趋势相同,但“发光”较Sorbonna受损轻,“发光”受损大部分只是切口处灰黑,或基部外层叶片枯腐,少有整个基盘枯腐的。毒素浓度60%培养基中,苗受损率达到100%,其中Sorbonna大部分整个基盘都枯腐;毒素浓度40%时,苗受损率超过80%,其中Sorbonna大部分整个基盘都枯腐;毒素浓度20%时,苗受损率约50%。借鉴辐射诱变育种和抗性筛选中的半致死剂量和浓度的原则^[8-10],可见20%为百合组培苗室内抗性鉴定的适宜浓度。

2.2 不同品种百合组培苗对镰刀菌毒素抗性

接种2~3d后,可见百合组培苗基部切口处变灰黑,并扩散到周围培养基,随培养天数增加,基盘出现不同程度枯腐,并向上蔓延至外层叶片,乃至内层叶片。不同品种表现出不同的受伤程度,接种1周后统计发病情况。抗性鉴定结果(表2)表明,发光、兰州百合、Elite的病情指数分别是30.22、22.50、

18.21, 为高抗品种; Lyon、sorbonna、T₃ 的病情指数分别是 48.62、50.25、56.10, 为中抗品种; Siberia、Marco Polon 的病情指数分别是 62.25、70.30, 为中感品种。所供试的 8 个品种中无高感品种。

3 讨论与结论

试验中同一品种在不同培养滤液浓度的培养基中, 受损程度不同, 随毒素浓度提高, 受损加重; 不同品种在同一浓度培养滤液培养基中受损程度也不同, 鉴定结果与杨秀梅等^[11]以鳞片为材料进行的田间鉴定结果一致, 初步可以说明用镰刀菌培养滤液室内鉴定百合品种枯萎病抗性是可行的。鉴于试验只是初探阶段, 仅从形态学方面对其病情分级, 划分抗性, 以后一方面应增加室内鉴定供试品种, 并结合田间鉴定;

另一方面深入从防御酶系酶活性^[12]、组织超微结构^[13]、植株再生能力变化^[14-15]等方面来共同划分抗性, 以优化完善室内鉴定这一技术体系。

国内外前人关于抗病性室内鉴定方面的研究, 大多是先提取镰刀菌粗毒素, 再用固体粗毒素配制一定浓度毒素溶液进行抗性鉴定。鉴于提取粗毒素比较费时, 且产量低, 每次提取需要的培养滤液量大, 本研究对前人方法稍作改进, 省去镰刀菌粗毒素的提

取这一步, 首次直接用培养滤液作为毒素原液进行鉴定。当然, 两种方法各有优势, 粗毒素法虽然比较费时、工作量大, 但固体粗毒素能保存的时间长、稳定、体积小、易保存; 培养滤液法省时、省力、但保存时间短, 具体根据需要来选择不同的方法。

参考文献:

- [1] Straathof Th P, Jansen J, Loffler H J M. Determination of resistance to *Fusarium oxysporum* in *Lilium* [J]. *Phytopathology*, 1993, 83(5): 569-572.
- [2] 潘其云, 朱明德, 邓建玲, 等. 百合镰刀菌枯萎病的发生与防治研究 [J]. *上海农业科技*, 2004(3): 103-104.
- [3] Curir P, Guglieri L, Dolei M, et al. Fusaric acid production by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lilii* and its role in the lily basal rot disease [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2000, 106: 849-856.
- [4] 朱茂山, 杨贺, 关天舒. 百合枯萎病菌生物学特性研究 [J]. *辽宁农业科学*, 2008(3): 9-11.
- [5] 马国斌, 林德佩, 王叶筠, 等. 培养条件对西瓜枯萎病菌镰刀菌酸产生的影响 [J]. *植物病理学报*, 1996, 26(2): 187-191.
- [6] 朱茂山, 杨贺, 关天舒, 等. 百合枯萎病菌生物学特性研究 [J]. *辽宁农业科学*, 2008(3): 9-11.
- [7] 台莲梅, 许艳丽, 高凤昌. 尖孢镰刀菌的初步研究 [J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2004, 16(4): 9-12.
- [8] 徐冠仁. 植物诱变育种学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 94-95.
- [9] 高健, 卢惠萍. 花卉辐射诱变育种研究进展 [J]. *安徽农业大学学报*, 2000, 27(3): 228-230.
- [10] 李大伟, 黄焯, 巩振辉. 辣椒抗枯萎病体细胞变异无性系筛选粗毒素适宜剂量的研究 [J]. *西北农业学报*, 2006, 15(6): 130-134.
- [11] 杨秀梅, 瞿素萍, 吴学尉, 等. 百合种质资源对枯萎病的抗性鉴定 [J]. *西南大学学报: 自然科学版*, 2010, 32(6): 32-34.
- [12] 陈捷, 蔺瑞明, 高增贵, 等. 玉米苞叶斑病菌毒素对寄主防御酶系活性的影响及诱导抗性效应 [J]. *植物病理学报*, 2002, 32(1): 43-48.
- [13] 台莲梅, 许艳丽, 闫凤云. 尖孢镰刀菌毒素对大豆胚根组织影响的超微结构研究 [J]. *植物病理学报*, 2006, 36(6): 512-516.
- [14] 张小红, 陈耀锋, 闵东红, 等. 胚发育时间和禾谷镰刀菌粗毒素对小麦幼胚愈伤组织诱导及幼苗分化的影响 [J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2006, 34(12): 92-95.
- [15] 吴学宏, 卢志军, 陈倩, 等. 西瓜种传尖孢镰刀菌致病性及其粗毒素对种子发芽的影响 [J]. *中国农业大学学报*, 2010, 15(3): 50-56.

表2 百合8个品种对镰刀菌枯萎病抗性鉴定结果

Tab. 2 The identification results of eight lily varieties to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lilii*

品种 Variety	病情指数 Disease index	抗性 Resistance
Elite	18.21	HR
兰州百合	22.50	HR
发光	30.22	HR
Lyon	48.62	MR
Sorbonna	50.25	MR
T ₃	56.10	MR
Siberia	62.25	MS
Marco Polon	70.30	MS