

王 贵,李 惠,周红龙,等. 红掌种质细菌性枯萎病抗性鉴定分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(9):138-140.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.09.039

红掌种质细菌性枯萎病抗性鉴定分析

王 贵,李 惠,周红龙,周堂英
(云南省热带作物科学研究所,云南景洪 666100)

摘要:为了了解红掌种质细菌性枯萎病抗性与气孔的关系,以 19 份红掌种质为研究对象,在前期红掌种质细菌性枯萎病抗性鉴定的基础上,进行再次接种鉴定及相关气孔的观察试验,旨在了解红掌种质细菌性枯萎病的抗性分级与气孔多少的相关性。本研究结果再次验证红掌细菌性枯萎病病害的分级标准,红掌细菌性枯萎病病害的分级标准可以推广应用;通过光学显微镜观察,红掌种质的细菌性枯萎病抗性与红掌种质气孔结构相关,即气孔多,则感病性强;然而在试验中发现,气孔的数量也不能完全反映红掌种质的抗性,抗性还与温湿度及光照等其他环境条件相关,也与红掌植株的生理吐水现象相关;在相应试验中发现,湿度大,温度高,光照好,则红掌种质感病性强。结果显示,气孔的数量确实影响红掌细菌性枯萎病的发生,即气孔多,病害传播快;气孔少,发病慢;并且细菌性枯萎病的发生还与红掌种质本身的抗性密切相关,红掌种质抗性好,发病慢;反之亦然。

关键词:红掌;种质资源;抗性鉴定;气孔;细菌性枯萎病

中图分类号:S436.8⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)09-0138-03

红掌(*Anthurium andraeanum*)是天南星科花烛属多年生附生常绿草本花卉,别称花烛或安祖花,原产于南美洲热带雨林^[1]。细菌性病害地毯草黄单胞菌花叶万年青致病变种(*Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*)是红掌的毁灭性病害,病原菌通过进口的红掌种苗进入中国,2003 年张荣意等首先在海南省发现,随后蒋桂芝等在云南西双版纳也报道了该种病原菌^[2-6]。该病害前期无任何症状,后期发病迅速,

在红掌种植区域可造成 50%~100% 的种植量耗损,损失严重。虽然徐学军等做了相应的防治试验^[7-8],然而尚无有效药物控制。针对该病害,选育与种植抗病品种为目前主要的防治措施,而育种的前提是获得在当地抗性表现稳定的优良亲本。本研究以云南省热带作物科学研究所的红掌材料为基础,对筛选出并且感兴趣的 19 份红掌种质进行抗性遗传鉴定,在抗性鉴定结果稳定后,进行表观遗传观察及气孔观察试验。

1 材料与方法

1.1 材料

供试红掌种质共 19 份(表 1),由云南省热带作物科学研究所(育种室)提供。包括国内外报道的抗地毯草黄单胞菌花叶万年青致病变种种质或优良种质 10 份,杂交组合 8 份,均采用组培苗。以粉冠军为抗病对照,以热情为感病对照。

收稿日期:2015-08-13

基金项目:云南省应用基础研究资助项目(编号:2013ZF170);云南省公共财政专项(编号:RF2014-7);云南省建立农科教相结合新型农业社会化服务体系试点项目(编号:2014NG002-13)。

作者简介:王 贵(1982—),男,云南曲靖人,硕士,研究实习员,从事热带花卉病害防治与抗性育种研究。E-mail: wanggui114@163.com。

[24]龙书生,曹远林,李亚玲,等. 小麦抗条锈病过敏性坏死反应中的活性氧代谢[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2009(11):125-130.

[25]匡传富,罗 宽. 烟草品种对青枯病抗病性及抗性机制的研究[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2002,28(5):395-398.

[26]Simte H C, Dasgupta D R. De novo synthesis of peroxidase isozymes of soybean var. Clark-63 infected with the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*[J]. Indian Journal of Nematology, 1987, 17(2):247-253.

[27]Guo H, Ecker J R. The ethylene signaling pathway: new insights[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2004, 7(1):40-49.

[28]Curvers K, Seifi H, Mouille G, et al. Abscisic acid deficiency causes changes in cuticle permeability and pectin composition that influence tomato resistance to *Botrytis cinerea*[J]. Plant Physiology, 2010, 154(2):847-860.

[29]Vlot A C, Dempsey D M A, Klessig D F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease[J]. Annual Review of Phytopathology,

2009, 47:177-206.

[30]Lamb C, Dixon R A. The oxidative burst in plant disease resistance[J]. Annual Review of Plant Biology, 1997, 48(1):251-275.

[31]Jabs T. Reactive oxygen intermediates as mediators of programmed cell death in plants and animals[J]. Biochemical Pharmacology, 1999, 57(3):231-245.

[32]Tiware B S, Belenghi B, Levine A. Oxidative stress increased respiration and generation of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition, and programmed cell death[J]. Plant Physiology, 2002, 128(4):1271-1281.

[33]王全华,王秀峰,林忠平. 外源 GO 基因导入番茄后对叶霉病的抗性机制[J]. 中国农业科学, 2006, 39(7):1365-1370.

[34]Bari R, Jones J D G. Role of plant hormones in plant defence responses[J]. Plant Molecular Biology, 2009, 69(4):473-488.

[35]蔡新忠,徐幼平. 水杨酸和乙烯对依赖于 Cf 基因的过敏坏死的调控作用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2003, 29(1):11-14.

以云南省热带作物科学研究所红掌基地活体植株携带鉴定的病菌为试验菌株。接种前约 30 d, 在红掌成熟叶片及成熟植株上接种繁殖备用。待用肉眼观察检测该病菌繁殖成功及菌种量适中时, 进行接种鉴定试验。2013—2015 年在云南省热带作物科学研究所试验基地的遮阳网下进行露天人工接种抗性鉴定, 且部分种质经多次鉴定。

表 1 供试红掌种质来源和抗性

| 种质名称 | 来源 | 抗性 | 鉴定数(株) |
|---------|------|----------|--------|
| 粉冠军 | 荷兰 | 中抗, 抗病对照 | 10 |
| 绿箭 | 荷兰 | 高抗 | 10 |
| 水晶花烛 | 荷兰 | 抗病, 优良品种 | 10 |
| 热情 | 荷兰 | 中感, 感病对照 | 10 |
| 084-5 | 中国云南 | 高抗 | 6 |
| 0834-33 | 中国云南 | 高抗 | 6 |
| 0835-31 | 中国云南 | 高抗 | 6 |
| 0820-5 | 中国云南 | 中抗 | 6 |
| 0945-19 | 中国云南 | 中抗 | 6 |
| 165 | 中国云南 | 中抗 | 6 |
| 272 | 中国云南 | 抗病 | 6 |
| 105 | 中国云南 | 抗病, 优良品种 | 6 |
| 0832-24 | 中国云南 | 易感, 优良品种 | 6 |
| 17912 | 中国云南 | 中感 | 6 |
| 小 a | 中国云南 | 中抗, 优良品种 | 6 |
| 325 | 中国云南 | 易感 | 6 |
| 086-6 | 中国云南 | 易感 | 6 |
| 0916-6 | 中国云南 | 易感 | 6 |
| 0902-41 | 中国云南 | 中感 | 6 |

1.2 试验方法

人工接种鉴定成熟红掌植株, 接种时期选择在 4—11 月, 用直径 120 cm 的塑料花盆移栽。红掌植株移栽成活, 生长健壮后, 采集经肉眼观察检测为地毯草黄单胞菌花叶万年青致病变种的新鲜病叶。在无菌豆浆机中, 用地毯草黄单胞菌花叶万年青致病变种接种缓冲液打碎过滤, 调整接种液的浓度为 10 mg/mL (重量体积比)。采用注射器针头刺孔喷壶喷洒接种。喷头距接种植株 3 cm, 每株喷射接种时间约为 3 s。每株喷射 3 次后立即用喷壶喷少量自来水, 以提高接种效率。根据该病菌的侵入、潜育时间, 每 7 d 调查 1 次, 记录调查结果。同时, 对红掌种质吐水现象进行详细观察, 并且进行相应的病害调查。

根据鉴定结果, 选取绿箭、水晶花烛、272、105 等材料, 在光学显微镜下, 采用 10、40 倍的物镜来观察红掌表皮气孔, 根据具体的病害鉴定结果, 通过气孔观察来推断气孔与抗性的关系。

1.3 病情调查

红掌接种细菌性枯萎病病菌后, 参考其他经济作物细菌性病害的分级标准, 又根据红掌细菌性枯萎病的病害调查情况, 对红掌细菌性枯萎病的病害进行分级 (表 2): 0 级为全抗, 1 级高抗, 3 级中抗, 5 级感病, 7 级中感, 9 级易感^[9-11]。每隔 7 d 调查发病情况, 连续调查 10~18 次, 或调查至感病对照病情指数达到 80 左右为止, 详细记录发病情况。

在气孔观察试验中, 选取绿箭、水晶花烛、272、105 等材料在光学显微镜下, 用镊子撕取红掌表皮, 撕取表皮 1 cm³, 用清水在载玻片上展平, 分别在 10、40 倍物镜下观察, 注意标尺, 保存好图片。验证红掌细菌性枯萎病的传播途径及病害程度是

表 2 红掌细菌性枯萎病的病害分级标准

| 病害程度 | 发病率 (%) | 病情指数 |
|------|-----------|------------------|
| 0 | 0.0 | 全株无病 |
| 1 | 1.0~25.0 | 1/4 以下的叶片有病斑 |
| 3 | 25.1~50.0 | 1/4~1/2 的叶片有病斑 |
| 5 | 50.1~75.0 | 1/2~3/4 的叶片发病 |
| 7 | 75.0~99.9 | 3/4 以上的叶片发病至全株枯黄 |
| 9 | 100.0 | 叶片全部枯死, 茎部亦枯死 |

否与气孔相关、相关度有多大以及与光照、温湿度的关系。

2 结果与分析

2.1 种质资源的抗性鉴定

对筛选出的 19 份红掌种质进行细菌性枯萎病抗性鉴定分析, 结果显示, 084-5、绿箭表现为高抗; 272、105 及水晶花烛表现为抗病; 粉冠军和小 a 表现为中抗; 热情和 17912 表现为中感; 325 和 086-6 表现为感病; 0832-24 表现为高感。由接种调查结果推测, 272 和 084-5 抗源可能为隐性遗传或基因片段缺失造成的抗性, 接种病害调查结果见图 1, 鉴定结果见表 1。

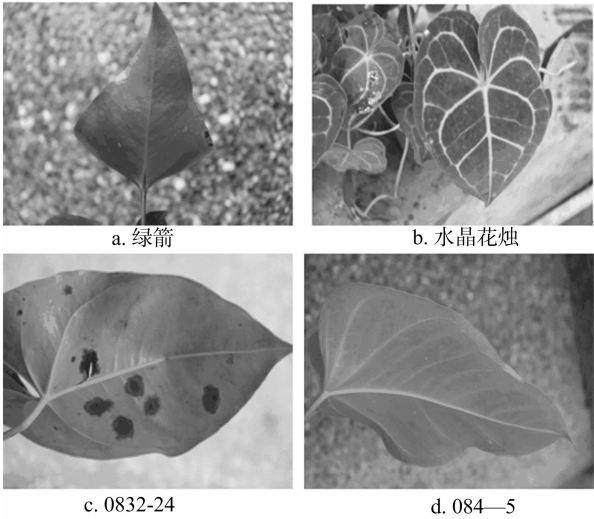


图 1 病害调查实物

2.2 相应种质的气孔生理试验

通过前期的病害调查试验及相关文献的查阅, 以及红掌种质气孔的观察试验发现, 红掌种质的细菌性枯萎病抗性确实与气孔数量有关, 但实际调查中气孔的数量与病害没有必然的联系, 而是与红掌种质早晨的吐水现象相关性更强, 表现为红掌种质早晨吐水越多, 感病就越强。同时在试验中也发现, 气孔的数量也不能完全反映红掌种质的抗性, 还与温度、湿度、光照等环境条件相关。在其他条件不变时, 光照条件差, 光照不足, 发病慢; 温度低, 湿度大, 发病慢; 温度高, 湿度小, 发病慢。相应的试验结果见 (图 2、图 3、表 3)^[9-11]。

2.3 相应红掌种质吐水抗性试验

针对优异的 10 份红掌种质进行气孔观察、抗性鉴定、病害分级及病情指数统计, 结果显示, 吐水量相同时, 气孔数相同且接近, 分级不同, 病情指数不同; 气孔数不同, 分级相同, 病情指数接近。然而, 对于红掌种质, 吐水量多, 则红掌种质

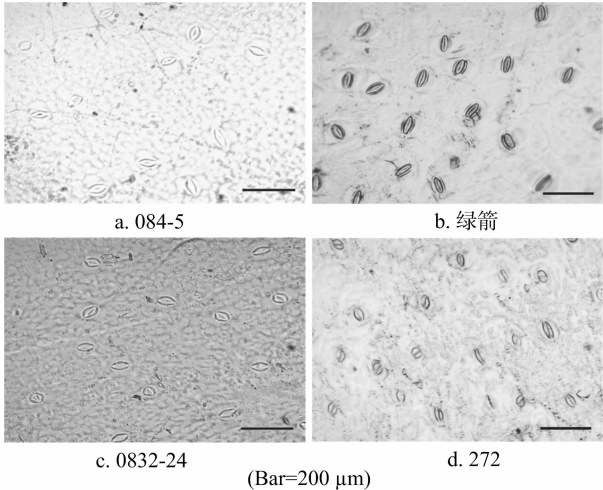


图2 10倍物镜下红掌气孔图示

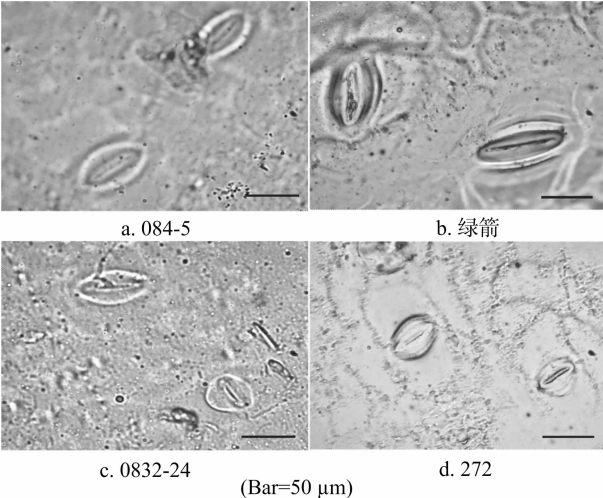


图3 40 倍物镜下红掌气孔图示

表 3 10 倍物镜下红掌种质气孔对照

| 种质 | 气孔数(个) | 种质 | 气孔数(个) |
|---------|--------|------|--------|
| 084-5 | 11 | 绿箭 | 19 |
| 272 | 19 | 水晶花烛 | 2 |
| 0832-24 | 14 | 热情 | 16 |
| 105 | 15 | 粉冠军 | 14 |
| 17912 | 12 | 小 a | 18 |

病害严重,病情指数大^[9-11],相应结果见表 4。

表 4 红掌种质吐水与抗性统计结果

| 种质 | 气孔数(个) | 病害程度 | 病情指数 |
|---------|--------|------|------|
| 水晶花烛 | 2 | 1 | 10.0 |
| 084-5 | 11 | 1 | 5.0 |
| 17912 | 12 | 3 | 30.0 |
| 0832-24 | 14 | 7 | 80.5 |
| 粉冠军 | 14 | 5 | 62.0 |
| 105 | 15 | 5 | 55.0 |
| 热情 | 16 | 7 | 78.0 |
| 小 a | 18 | 7 | 76.0 |
| 272 | 19 | 3 | 28.0 |
| 绿箭 | 19 | 3 | 29.0 |

3 结论与讨论

本研究在露天遮阳网下通过针刺穿孔接种红掌细菌性枯萎病,鉴定红掌种质对细菌性枯萎病的抗性。抗性结果显示,在露天遮阳网下盆栽接种,可以提高红掌植株接种量的均匀程度,增加红掌种质的适应能力,通过对红掌种质病害调查鉴定,发现大多数红掌种质对细菌性枯萎病抗性较弱,99%红掌种质会感病,只是发病周期、病害表现不同。红掌接种细菌性枯萎病病菌后,参考其他经济作物细菌性病害的分级标准,又根据红掌细菌性枯萎病的病害调查情况,对红掌细菌性枯萎病的病害进行分级(表 2):0 级为全抗,1 级高抗,3 级中抗,5 级感病,7 级中感,9 级易感。从试验结果来看,在没有红掌细菌性病害分级标准时,本研究红掌细菌性枯萎病病害分级可以实际应用推广^[9-11],在试验过程中也发现,在高温、高湿的情况下,健壮植株的抗性更好,光照也影响到该病害的发生。选择以上环境条件,试验结果可靠,推广具普遍性,为下一步开展红掌细菌性枯萎病的温湿度试验及光照试验打下了坚实基础。

通过前期的病害调查鉴定,选取有代表性的几种红掌种质,对气孔进行观察,得出红掌细菌性枯萎病的传播与气孔的数量没有太大关系,而与红掌的吐水情况密切相关,而红掌早晨的吐水现象与病害发生关系密切,为下一步病害传播及红掌吐水生理研究提供经验^[12],为温室栽培和红掌细菌性枯萎病的防治提供指导,为深入红掌细菌性枯萎病的研究指明了方向。

参考文献:

[1] 马广莹,邹清成,刘慧春,等. 红掌 FLOWERINGLOCUST 同源基因的克隆及生物信息学分析[J]. 江苏农业科学,2014,42(2): 31-33.

[2] 蒋桂芝,郭春雷. 西双版纳红掌细菌性叶疫病病原菌初步研究[J]. 热带农业科技,2003,26(3):10-12.

[3] 郭春雷,蒋桂芝,祝伟,等. 热带植物花卉红掌叶腐病病原菌的分离与初步鉴定[J]. 云南大学学报:自然科学版,2003,25(增刊1):32-34.

[4] 姬广海,魏亚东,蒋桂芝,等. 红掌细菌性疫病的病原菌初步鉴定[J]. 植物生理学报,2004,34(2):107-111.

[5] 蒋桂芝. 红掌栽培细菌性病害及其防治方法[J]. 农业与技术,2004,24(6):116-117.

[6] 蒋桂芝,杨雄飞. 红掌细菌性病害的症状及防治研究初报[J]. 中国热带农业,2005,28(3):40-41.

[7] 徐学军,梁玉文,杨道兰,等. 西北地区红掌病虫害防治技术[J]. 农林科技,2007,36(5):156.

[8] 王钊,储丽红,赵凯,等. 利用免疫磁性分离-PCR 检测安祖花细菌性枯萎病病原菌[J]. 园艺学报,2013,40(8):1600-1608.

[9] 中国烟草总公司青州烟草研究所. YC/T 41—1996 烟草品种抗病性鉴定[S]. 北京:中国标准出版社,1996:1-4.

[10] 王丽花,黎其万,和葵,等. 我国花卉质量标准现状及与国外对比分析[J]. 农业质量标准,2008(2):29-32.

[11] 中国烟草总公司青州烟草研究所. GB/T 23222—2008 烟草病虫害分级及调查方法[S]. 北京:中国标准出版社,2009:1-6.

[12] 汤丽莎. 露和植物吐水的区分与鉴别[J]. 广西气象,2005,26(增刊1):4.