

黄瓜抗枯萎病研究进展

李亚莉, 侯 栋, 岳宏忠, 张东琴

(甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 对黄瓜枯萎病病原、黄瓜枯萎病抗性机理、黄瓜枯萎病抗性鉴定、黄瓜枯萎病遗传规律、黄瓜枯萎病分子标记等方面的研究进展进行了综述。

关键词: 黄瓜枯萎病; 抗性鉴定; 抗性机理; 遗传规律; 分子标记

中图分类号: S436.421.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2018)05-0077-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.05.023

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)又叫胡瓜,是葫芦科一年蔓生或攀援草本植物,原产于热带森林湿润地区,现在广泛种植于温带和热带地区^[1]。目前,我国黄瓜是栽培面积较大、产量较高、经济效益较好的蔬菜之一^[2]。因其口感清香爽脆,成为人们喜食的主要蔬菜之一^[3]。黄瓜枯萎病,又名萎蔫病、死秧病、蔓割病。该病是从根或根颈部侵入,在维管束内寄生的系统性病害。主要致病菌为尖孢镰刀菌黄瓜专化型 [*Fusarium oxysporum* (Schl.) f. sp. *cucumerinum* Owen.],该菌在土壤、病残体及未腐熟的农家肥及种子上越冬,成为翌年的初侵染源,可借土壤、种子、雨水、灌溉水、农业器具等进行传播。黄瓜枯萎病在露地和保护地均可发生,发病率一般在10%~30%,重茬地在80%~90%,给蔬菜生产者带来严重甚至毁灭性的经济损失^[4]。目前,市场上防治黄瓜枯萎病的农药较多,但效果不佳。轮作倒茬可有效减轻黄瓜枯萎病的发生,这使蔬菜生产者需求的作物和需要轮作的作物之间产生矛盾。嫁接防治是近年来普遍使用的防治方法,但费工费时且成本较高。选育抗病品种是防治黄瓜枯萎病最高效、安全、经济的方法^[5-6]。我们系统归纳了黄瓜枯萎病病原、抗性鉴定方法、抗性机理、遗传规律、分子标记的研究进展,以期为国内外筛选抗枯萎病的黄瓜新种质,利用分子标记和传统育种相结合的方法选育抗枯萎病的黄瓜新品种提供理论依据。

1 黄瓜枯萎病病原

枯萎病是世界各国黄瓜生产中的主要病害之一,其病原菌为半知菌亚门镰孢菌属尖孢镰刀菌黄瓜专化型 [*Fusarium oxysporum* (Schl.) f. sp. *cucumerinum* Owen.].病原菌有大小两种分生孢子,大型分生孢子镰刀形或纺锤形,无色透明,顶细胞圆锥形,有的微呈钩状,基部倒圆锥形,隔膜1~3个;小型分生孢子多气生于菌丝中,无色透明,椭圆形或腊肠形,无隔膜。厚垣孢子表面光滑,黄褐色。目前,从黄瓜枯萎病株中分离的病原菌主要有尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、串珠镰刀菌(*F. moniliforme*)、茄病镰刀菌(*F. solani*)、木贼镰刀菌(*F. equiseti*)、半裸镰刀菌(*F. semitectum*)、砖红镰刀菌(*F. lateritium*)、锐顶镰刀菌(*F. acuminatum*)、腐皮镰刀菌(*F. solani*)、轮枝镰刀菌(*F. verticillioides*)、层出镰刀菌(*F. proliferatum*),但前人都认为尖孢镰刀菌是最主要的致病菌^[7-9],其它菌株为非致病菌或弱毒株。尖孢镰刀菌黄瓜专化型存在生理分化现象,目前发现有4个生理小种,即生理小种1、2、3、4号。前人采用3个黄瓜品种Msu441034、Msu5819、P1390265分别鉴定了美国、以色列和日本的枯萎病菌株,3个国家的菌株分别被命名为1、2、3号生理小种。我国学者研究发现,我国各地黄瓜枯萎病致病菌株的致病反应一致,且与上述3个生理小种不同,所以将我国黄瓜枯萎病的致病菌命名为4号生理小种^[7]。

收稿日期: 2017-12-21; 修订日期: 2018-04-06

基金项目: 甘肃省农业科学院中青年基金(2016GAAS45); 国家大宗蔬菜产业技术体系兰州综合试验站(CARS-23-G-19); 农业部西北地区蔬菜科学观测实验站资助项目(2015-A2621-620321-G1203-066)。

作者简介: 李亚莉(1977—),女,甘肃天水人,副研究员,硕士,主要从事蔬菜抗病育种工作。联系电话:(0931)7614671。E-mail: liyali@gasagr.ac.cn。

2 黄瓜抗枯萎病机理

当植物受到冷、热、旱、涝、病虫害等胁迫后,有些植物被致死,有些植物的生理活动虽然受到影响,但可以存活。植物长期在这种环境胁迫下,有些性状被保留并加强,有些性状被淘汰。植物通过长期的进化和适应,就会形成对环境的适应能力,即可抵御环境的胁迫。植物在进化过程中对病原菌也会产生抗病防御机制,这些防御机制可有效抵制病原菌的侵染。黄瓜对枯萎病的抗性机理包括形态学抗性和生理生化抗性。前人研究发现,抗病品种较感病品种在组织结构上更有利于阻止病原菌的侵染。如陈珉等^[7]发现,病菌从伤口侵入导管后菌丝向上扩展的速度在抗病品种中较感病品种中慢,抗病品种的皮层薄壁细胞间隙未观察到菌丝,但可观察到木质部导管中出现侵填体、壁的覆盖物、褐色物质及皮层薄壁细胞木栓化,这些现象在抗病品种中出现较快。苗琛等^[10]研究表明,黄瓜枯萎病菌大部分从根部或根茎的受伤部位侵入,木质部导管产生灰褐色的物质和侵填体,管壁加厚,筛板产生加厚现象并形成胼胝体,这种现象在抗病品种中出现更快、频率更高。马艳玲等的研究表明,病原菌侵染寄主后,抗病材料和感病材料的组织结构明显不同,抗病材料有角质层,导管类型分为环纹和网纹两种,但感病材料无角质层,仅有环纹一种导管。病原菌侵入后,抗病材料细胞壁的增厚现象出现较快,并出现褐色物、侵填体等,感病材料仅生成胼胝体^[7]。病原菌侵染能使植株细胞的生理生化发生改变。有些酶能抵御活性氧及氧自由基对细胞膜的损伤,使植物对病原菌的抵御能力加强,但对抗病反应机制中的变化规律说法不一。如徐建华等^[11]、李新等^[12]认为,黄瓜抗病材料中的多酚氧化酶、过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶的活性均高于感病品种。但许启新等^[13]研究认为,黄瓜枯萎病的抗性与过氧化物酶活性呈负相关。关于黄瓜被枯萎病侵染的生理生化变化,国内外还有一些报道。如马艳玲等研究表明,黄瓜枯萎病的抗性与苯丙氨酸解氨酶的活性呈正相关关系^[7]。余文英等^[14]研究表明,枯萎病菌侵染黄瓜后,根际脲酶、过氧化物酶、纤维素酶、碱性磷酸酶活性降低且与对照差异显著,前期纤维素酶、过氧化物酶活性在抗病品种较感病品种中上升幅度快,后期碱性磷酸酶、脲酶活

性在感病品种中较抗病品种的上升幅度快,抗感品种的过氧化物酶活性差异达显著水平。史娟等^[15]研究发现,几丁质酶在高抗黄瓜品种津杂4号中的增加幅度远大于感病品种津研四号。巨灵君等^[16]研究表明,植株的抗病性与绿原酸、阿魏酸含量呈显著正相关,与游离氨基酸含量无显著差异。

3 黄瓜枯萎病抗性鉴定

抗病性鉴定是选育抗病品种的基础,抗病性鉴定方法主要有苗期抗性鉴定、成株期抗性鉴定和分子标记鉴定。成株期抗性鉴定一般采用田间自然感染病原的方法进行接种,接种不能量化,且不均一,鉴定时间需要2a以上,试验群体较大,费工费时。目前报道的分子标记鉴定的引物较多,但能实际应用的较少。黄瓜枯萎病的抗性鉴定一般采用室内苗期接种的方法,目前国内外黄瓜枯萎病苗期抗性鉴定主要利用胚根接种法、灌根法、菌土法、浸根法和病原菌毒素滤液浸苗法等5种方法。国外报道的黄瓜枯萎病接种方法主要有灌根法、菌土法和沾根法3种,并以灌根法和菌土法为主^[17-18];国内采用较多的是胚根接种法、灌根接种法和浸根接种法。由于胚根接种法较为简便,所以翁祖信等^[19-20]的胚根接种法被我国许多学者采用。另外还有人利用病原菌毒素滤液浸苗法接种黄瓜枯萎病菌^[21]。近年来,我国学者周红梅等^[22]和陈凤春^[23]均对培根接种法、浸根接种法、灌根接种法进行了试验,均认为浸根接种法效果最好。目前,国内外黄瓜枯萎病的接种方法没有统一的标准。

4 黄瓜抗枯萎病遗传规律

目前,国内外对黄瓜枯萎病的抗性遗传规律存在以下几种观点。有人认为黄瓜枯萎病的抗性受1对显性基因控制;也有人认为黄瓜枯萎病抗性遗传是数量性状遗传,抗性表现为完全显性或部分显性,抗病亲本和感病亲本的杂交F1代的抗性介于双亲平均抗病指数和抗病亲本的抗病指数之间。另外,王亚娟^[24]认为黄瓜枯萎病的抗性由部分隐性基因控制;陈珉^[25]和乐素菊^[26]认为黄瓜枯萎病的抗性受细胞核的控制,也有人认为黄瓜枯萎病的抗性受细胞质的控制^[12]。由于黄瓜对枯萎病的抗性受寄主、病原和环境的共同影响,因此,对黄瓜枯萎病抗性遗传规律的研究存在分歧。

5 黄瓜抗枯萎病分子标记研究进展

目前分子标记应用于作物遗传育种较为普遍, SSR、RFLP、RAPD、AFLP是目前比较常用的分子标记技术^[27-29]。近年来SSR分子标记技术应用较多,它具有简便、稳定、多态性高的特点,优于其它标记。全球葫芦科作物研究者开发了数千对SSR标记,用于构建遗传图谱、分析遗传多样性和研究标记的多态性^[30-33]。任毅^[34]为黄瓜SSR标记奠定了基础,构建出一张高密度黄瓜SSR遗传图谱,该图谱包括7个连锁群,995个SSR标记,覆盖573 cM,平均密度0.6 cM。国内外黄瓜抗枯萎病分子标记辅助育种逐渐开展。王亚娟^[24]采用SSR和AFLP技术,以抗枯萎病黄瓜亲本Q9和感枯萎病亲本Q10的F₂代分离群体为试验材料,研究了与黄瓜抗枯萎病相关基因紧密连锁的分子标记,找到1个与黄瓜抗枯萎病基因连锁的共显性标记(E25M70-170 bp/167 bp),筛选出的标记与黄瓜抗枯萎病基因间的距离为8.12 cM;利用SSR反应体系,筛选出的标记与抗枯萎病基因之间的距离为5.98 cM。张海英等^[32]以“WI2757”和“津研2号”为试材,将黄瓜抗枯萎病基因定位在第10连锁群上。张海霞等^[35]利用RAPD和BSA技术,以WIS2757×津研2号及F₂代作为试验材料,筛选出与黄瓜枯萎病抗性相关基因紧密连锁的RAPD标记。冯建明等^[36]以同样的遗传群体进一步获得两个黄瓜抗枯萎病标记,连锁距离分别为14 cM和7 cM。Zhang S.P.等^[37]开发出黄瓜抗枯萎病的SSR标记,并对抗病基因进行了定位。周红梅等^[38]也以WIS2757×津研2号及F₂分离群体为试验材料,通过SSR分析,得到与黄瓜抗枯萎病基因(Foc-4)紧密连锁的9个SSR标记,将基因Foc-4定位于2号染色体上,连锁距离分别为1.0 cM和0.9 cM。目前黄瓜基因组测序完成,在黄瓜抗病相关基因研究方面,分析目标抗病基因和抗病基因同源序列(RGA)的关系,用比较基因组学的方法更易发现新的抗病基因。沈凤瑞等^[39]利用基因差异显示技术(DDRT-PCR),以抗枯萎病黄瓜材料‘Cu14’为试验材料,研究了黄瓜抗枯萎病相关基因,获得有328个核苷酸的差异基因A178-2,发现该基因中有145个核苷酸同源于拟南芥泛素蛋白,这可能与免疫应答、胁迫反应等有关。另外, Vakalounakis^[40]研究发现,黄瓜抗枯萎病基因与抗黑星病基因紧密连锁。毛爱军等^[41]

利用WI2757×JY-2为遗传群体,发现抗枯萎病基因和抗黑星病基因连锁,连锁距离为17.5 cM。

6 结束语

目前,我国黄瓜枯萎病的主要致病菌为尖孢镰刀菌黄瓜专化型[*Fusarium oxysporum* (Schl.) f. sp. *Cucumerinum* Owen.]生理小种4号,但由于病原菌存在不断的演变和进化,所以对黄瓜枯萎病原菌的研究与鉴定必须持久不断的深入。黄瓜枯萎病的抗性鉴定方法较多,但还是以苗期抗性鉴定为主。前人对黄瓜枯萎病抗性机理研究较多,但由于试验所用的材料、方法及环境条件的不同,导致黄瓜抗枯萎病机理出现分歧。由于试验所用抗、感枯萎病材料的不同,及抗性鉴定方法和环境的不同,导致对黄瓜枯萎病的抗性遗传规律研究也存在分歧。分子标记的开发利用是分子生物学领域研究的热点,相对于传统育种方法,分子标记辅助育种能大大缩短育种周期。前人对黄瓜分子标记辅助育种报道较多,但这些连锁标记不能与常规育种有效地结合。今后应不断开发与传统育种相结合的新型实用分子标记,使分子标记技术在黄瓜育种中的应用走向更加成熟的阶段。

参考文献:

- [1] 吴克顺,董吉德.平凉市塑料大棚早春茬黄瓜引种试验初报[J].甘肃农业科技,2016(1):9-13.
- [2] 李宗扬,秦智伟,周秀艳,等.黄瓜种质资源果实苦味评价[J].长江蔬菜,2014(10):8-12.
- [3] 侯栋,岳宏忠,张东琴,等.保护地黄瓜新品种甘丰12号选育报告[J].甘肃农业科技,2014(7):3-5.
- [4] 蒲子婧,张艳菊,刘东,等.黄瓜枯萎病生物防治策略研究进展[J].中国蔬菜,2011(6):9-14.
- [5] 黄仲生,杨玉茹.黄瓜枯萎病病原菌鉴定及防治研究[J].华北农学报,1990,5(4):99-104.
- [6] 毛爱军,张峰,张丽蓉,等.不同黄瓜材料对枯萎病的抗性评价[J].华北农学报,2008,23(2):214-216.
- [7] 陈胜萍,付丽军,陈志,等.黄瓜抗枯萎病育种研究进展[J].河北农业科学,2011,15(11):50-53.
- [8] 陈霞,林东,张艳菊,等.黄瓜枯萎病病原菌镰孢菌的分离与鉴定[J].东北农业大学学报,2010,41(7):37-44.
- [9] 杨晓贺,吕国忠,赵志慧,等.东北地区蔬菜大棚内黄瓜枯萎病病原菌镰孢菌的分离和鉴定[J].沈阳农业大学学报,2007,38(3):308-311.
- [10] 苗琛,尚富德,江静,等.西瓜枯萎病抗性的细胞学研究[J].四川大学学报(自然科学版),2004,

- 41(4): 196-199.
- [11] 徐建华, 利容千, 王建波. 黄瓜不同抗病品种感染镰刀菌枯萎病菌后几种酶活性的变化[J]. 植物病理学报, 1995, 25(3): 239-242.
- [12] 李 新, 司龙亭. 黄瓜不同品种苗期感染枯萎病菌后几种酶活性的变化[J]. 华北农学报, 2007, (22) (增刊): 9-11.
- [13] 许启新, 余纪柱, 陆世钧. 黄瓜苗期过氧化物酶活性的变化规律及其与抗枯萎病的关系[J]. 上海农业学报, 1994, 10(3): 58-62.
- [14] 余文英, 詹光良, 张绍升. 枯萎病对温室黄瓜根际细菌生理菌群及酶活性的影响[J]. 福建农业学报, 2011, 26(4): 605-610.
- [15] 史 娟, 邱 艳, 王红玲, 等. 黄瓜几丁酶活性与其对枯萎病抗性的关系[J]. 宁夏农学院学报, 2001, (4): 4-5.
- [16] 巨灵君, 刘永胜, 云兴福. 黄瓜枯萎病菌弱毒菌株诱导后叶片内几种物含量的变化[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2016, 37(2): 10-16.
- [17] OWEN J H. *Fusarium wilt* of cucumber[J]. *Phytopathology*, 1955(45): 435-443.
- [18] OWEN J H. Cucumber wilt, Caused by *Fusarium oxysporum* f. *cucumernum* N F [J]. *Phytopathology*, 1956 (46): 153-157.
- [19] 翁祖信, 蒋兴祥, 肖小文. 黄瓜枯萎病抗病性鉴定方法研究——胚根接种法[J]. 中国蔬菜, 1985(2): 30-33.
- [20] 翁祖信, 蒋兴祥, 冯东昕. 病原及抗病性鉴定[M]//李树德. 中国主要蔬菜抗病育种进展, 北京: 科学出版社, 1995: 378-380.
- [21] 周凯南, 张立修, 吕士恩, 等. 致病镰刀菌毒素滤液浸苗鉴定作物苗期抗病性[J]. 山东农业大学学报, 1987(4): 45-49.
- [22] 周红梅, 毛爱军, 张丽蓉, 等. 黄瓜枯萎病接种方法及抗性遗传的研究[J]. 华北农学报, 2010, 25(4): 186-190.
- [23] 陈凤春. 黄瓜枯萎病接种方法及抗性遗传规律研究[J]. 现代农业技术, 2014(18): 142-146.
- [24] 王亚娟. 黄瓜(*Cucumis sativus* L.)枯萎病抗性相关基因的分子标记研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2005.
- [25] 陈 珉. 黄瓜枯萎病抗性遗传及结构解剖的研究[D]. 广州: 华南农业大学, 1999.
- [26] 乐素菊, 陈 珉, 吴定华, 等. 黄瓜枯萎病抗性遗传规律研究[J]. 安徽农业大学学报, 2014, 41(2): 270-272.
- [27] WELSH J, MCCLELL M. *Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers*[J]. *Nucleic Acids Res.*, 1990, 18: 7213-7218.
- [28] WELSH J, MCCLELL M. Polymorphisms generated by arbitrarily primed PCR in the mouse application to strain identification and genetic mapping[J]. *Nucleic Acids Res.*, 1991, 19(2): 303-306.
- [29] WILLIAMS J G K., KUBELIK A R, LIVAK K J, *et al.* DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. *Nucleic Acids Res.*, 1990, 18(22): 6531-6535.
- [30] DANIN-POIEG Y R, BAUDRACCO-ARNAS S. Simple sequence repeats in *Cucumis mapping* and map merging [J]. *Genome*, 2000, 43: 963-974.
- [31] GONZALOM J, OLIVERM, GARCIA-MAS J, *et al.* Simple-sequence repeat markers used in merging linkage maps of melon (*Cucumis melo* L.) [J]. *Theor. Appl. Genet.*, 2005, 110(5): 802-811.
- [32] KONG Q, XIANG C, YU Z. Development of EST-SSRs in *Cucumis sativus* from sequence database [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2006, 6(4): 1234-1236.
- [33] 张海英. 黄瓜重要抗病基因的分子标记研究及遗传图谱的构建[D]. 北京: 中国农业科学院, 2006.
- [34] 任 毅. 黄瓜高密度 SSR 遗传图谱构建及其应用 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- [35] 张海霞. 黄瓜抗枯萎病基因连锁分子标记的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2006.
- [36] 冯建明, 张海英, 陈年来, 等. 黄瓜重要病害抗性遗传规律及相关分子标记研究进展[J]. 植物保护科学, 2008, 24(8): 368-372.
- [37] ZHANG S P, MIAO H, YANG Y H, *et al.* A major quantitative trait locus conferring resistance to *Fusarium wilt* was detected in cucumber by using recombinant inbred lines[J]. *Molecular Breeding*, 2014(4): 1805-1815.
- [38] 周红梅, 董从娟, 张海英, 等. 黄瓜抗枯萎病基因连锁分析和定位[J]. 分子植物育种, 2015, 13(9): 1980-1986.
- [39] 沈凤瑞, 吴 萍, 毛爱军, 等. 黄瓜抗枯萎病黄瓜基因 Cdna 的分离与鉴定[J]. 华北农学报, 2010, 25 (1): 40-43.
- [40] VAKALOUNAKIS D J. Allelism of the *Fcu-1* and *Foc* genes conferring resistance to *Fusarium wilt* in cucumber[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 1996, 102: 855-858.
- [41] 毛爱军, 张 峰, 张丽蓉, 等. 黄瓜品系 WIS2757 对黄瓜枯萎病生理小种 4 和黑星病的抗性遗传与连锁分析[J]. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3382-3388.

(本文责编: 陈 珩)