

草莓抗白粉病的离体鉴定及农药的筛选

张志宏 刘 艳* 高秀岩 杜国栋 代红艳

(沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161)

摘 要: 将草莓白粉菌孢子抖落或喷雾接种在直径 1 cm 草莓叶盘上, 放到铺有湿滤纸的培养皿中密封后在 20℃、光照 3000 lx (16 h/d) 的条件下培养 7 d 后进行鉴定。‘丰香’、‘章姬’、‘全明星’等草莓品种的离体鉴定结果与这些品种田间对白粉病抗性表现一致。离体筛选杀菌剂的结果表明, 氟硅唑和腈菌唑防治草莓白粉病的效果较好。

关键词: 草莓; 白粉病; 抗性; 鉴定; 叶盘

中图分类号: S 668.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2004) 04-0505-03

Leaf Disc Assay for Identification of Resistance of Strawberry to Powdery Mildew and Screening of Fungicides

Zhang Zhihong, Liu Yan, Gao Xiuyan, Du Guodong, and Dai Hongyan

(College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: The strawberry leaf discs, diameter 1 cm, were inoculated with the conidia of strawberry powdery mildew (*Sphaerotheca macularis*) by spraying or shaking off, and then were transferred to Petri plates containing wet filter paper. The leaf discs were cultured at 20℃ with a 16 h photoperiod at a light intensity of 3000 lx. The colonies on the inoculated leaf discs were observed clearly 7 days after inoculation. The resistance of detached leaf discs of strawberry cultivars ‘Toyonoka’, ‘Akihime’ and ‘Allstar’ to powdery mildew was consistent with the behavior of these cultivars in field. The result of screening of fungicides by leaf disc assay showed that flusilazol and myclobutanil were effective fungicides for control of powdery mildew on strawberry.

Key words: Strawberry; Powdery mildew; Resistance; Identification; Leaf disc

1 目的、材料与方法

白粉病现已成为我国温室草莓生产中的主要病害。由于白粉菌 (*Sphaerotheca macularis*) 属于专性寄生菌, 目前尚不能在人工培养基上培养, 对其抗性主要是靠田间自然鉴定。利用离体叶盘接种白粉菌孢子来鉴定植物对白粉病的抗性, 具有防止菌种混杂, 节省时间和设备等优点, 已经在黄瓜^[1]和甜瓜^[2]上得以成功应用, 但在草莓^[3]上的初步尝试表明, 极易感白粉病的‘丰香’品种叶盘的感染率仅为 30%。本文旨在探索影响草莓离体叶盘感染白粉病的影响因子, 建立其离体叶盘鉴定方法。

2002 年夏季在田间摘取严重感染白粉病的草莓病叶, 放在充满空气的塑料袋中然后带回实验室。将病叶上的白粉菌孢子抖落在草莓营养钵苗上 (品种为极易感白粉病的‘丰香’和‘幸香’), 放在人工气候箱中培养, 温度 20℃, 光强 10000 lx, 光照时间 16 h/d, RH 70% ~ 90%。待草莓植株上长满白粉菌以后收集病叶作为离体接种的菌源。将健康的‘丰香’草莓嫩叶洗净, 吸干表面水分, 经镜检确定无白粉病菌孢子后用打孔器打成直径 1 cm 的叶盘。采用抖落、喷雾、摩擦或按压的方法将白粉菌孢子接种在叶盘背面, 然后叶背朝上放在培养皿中。培养介质为少许的无菌水、不含糖的 MS

收稿日期: 2003-09-09; 修回日期: 2003-12-29

* 现工作单位: 辽宁农业职业技术学院

液体培养基和不含糖的 MS 固体培养基, 对于前两种情况, 在叶盘下面放一张滤纸以防止叶盘漂动, 用石蜡封口膜封严培养皿, 在 20℃、3000 lx (16 h/d) 的条件下培养。7 d 后调查感染率 (感染白粉病叶盘数/接种叶盘数 × 100%)。培养介质筛选试验和农药离体筛选试验采用抖落法接种, 草莓品种对白粉病敏感性鉴定试验和转基因植株对白粉病抗性鉴定试验采用喷雾法接种。喷雾接种法所需要的孢子悬浮液的配制方法如下: 将蒸馏水喷洒在长满白粉菌的草莓病叶上, 收集菌液, 调成孢子数为 10^5 个/mL 的白粉菌孢子悬浮液。抖落接种时用高 40 cm 的接种筒将培养皿罩住, 然后在接种筒上抖动长满白粉菌孢子的草莓叶片。每个处理接种 10~20 个叶盘, 试验重复 2 次以上。

2 结果与分析

2.1 接种方法和介质对草莓离体叶片感染白粉病的影响

对‘丰香’草莓离体叶盘采用喷雾法接种, 白粉菌生长得很好, 菌丝分布均匀 (图版, 1); 采用抖落法接种, 叶盘上的白粉菌生长的也很好, 但叶盘上的菌丝分布不如喷雾法均匀 (图版, 2); 而采用摩擦法或按压法接种, 叶盘上白粉菌长得非常慢, 而且十分不均匀, 这说明真菌的分生孢子对最轻微的损伤极为敏感。

试验结果表明, 以蒸馏水作介质最利于草莓白粉菌的生长, 3 次试验的感染率均为 100%; 以无糖 MS 固体培养基为介质, 白粉菌生长较慢, 感染率很低, 3 次试验均在 50% 以下, 而且试验结果不稳定; 以无糖的 MS 液体培养基为介质, 虽然白粉菌的生长比以固体培养基为介质的要快, 但感染率也只有以蒸馏水为介质的一半左右, 而且试验结果也不稳定。另外还发现, 尽管采用的 MS 培养基是无糖的, 但还是容易长杂菌。

2.2 草莓主栽品种白粉病敏感性的离体鉴定

参照国际植物遗传资源研究所编制的草莓描述符^[4], 根据离体叶盘接种后的感染率, 本研究将草莓叶片对白粉病的敏感性分为以下 5 个等级, 分别是: 极不敏感, 感染率 ≤ 5.0%; 敏感度低, 感染率为 5.1% ~ 35.0%; 中等敏感, 感染率为 35.1% ~ 65.0%; 高度敏感, 感染率为 65.1% ~ 95.0%; 极敏感, 感染率 ≥ 95.1%。对目前我国草莓主栽品种白粉病抗性的离体鉴定结果 (见表 1) 表明, ‘弗杰尼亚’的抗病性最强, 属于对白粉病极不敏感的品种; ‘全明星’属于中等敏感的品种; ‘幸香’和‘丰香’属于极敏感品种。所试验的日本品种对白粉病的敏感性明显高于欧美品种 (图版, 3)。本研究对这些品种的离体鉴定结果与其在田间的表现完全一致。

表 1 草莓品种离体叶盘对白粉病的敏感性

Table 1 The susceptibility of detached leaf discs of strawberry cultivars to powdery mildew

品种 Variety	育成国家 Country by origin	感染率 Leaf discs diseased (%)	品种 Variety	育成国家 Country by origin	感染率 Leaf discs diseased (%)
丰香 Toyonoka	日本 Japan	100.0	全明星 Allstar	美国 USA	47.8
幸香 Sachinoka	日本 Japan	97.5	图得拉 Tudla	西班牙 Spain	32.0
章姬 Akihime	日本 Japan	72.3	卡姆罗莎 Camarosa	美国 USA	9.6
栃乙女 Tochiotome	日本 Japan	64.0	弗杰尼亚 Fujieniya	不详 Unknown	4.3

2.3 草莓转基因植株白粉病抗性的离体鉴定

对 2000 年获得的‘丰香’草莓转烟草丁质酶基因和 β-1, 3-葡聚糖酶基因的 10 个转基因植株进行白粉病抗性的离体鉴定, 结果表明, 4 个植株感染率在 95% ~ 100% 之间, 抗白粉病能力未得到提高; 1 个植株感染率为 82.5%, 与未转化对照相比, 抗性略有提高; 5 个植株感染率在 50% ~ 60% 之间, 与未转化对照相比抗性有所提高 (图版, 4)。

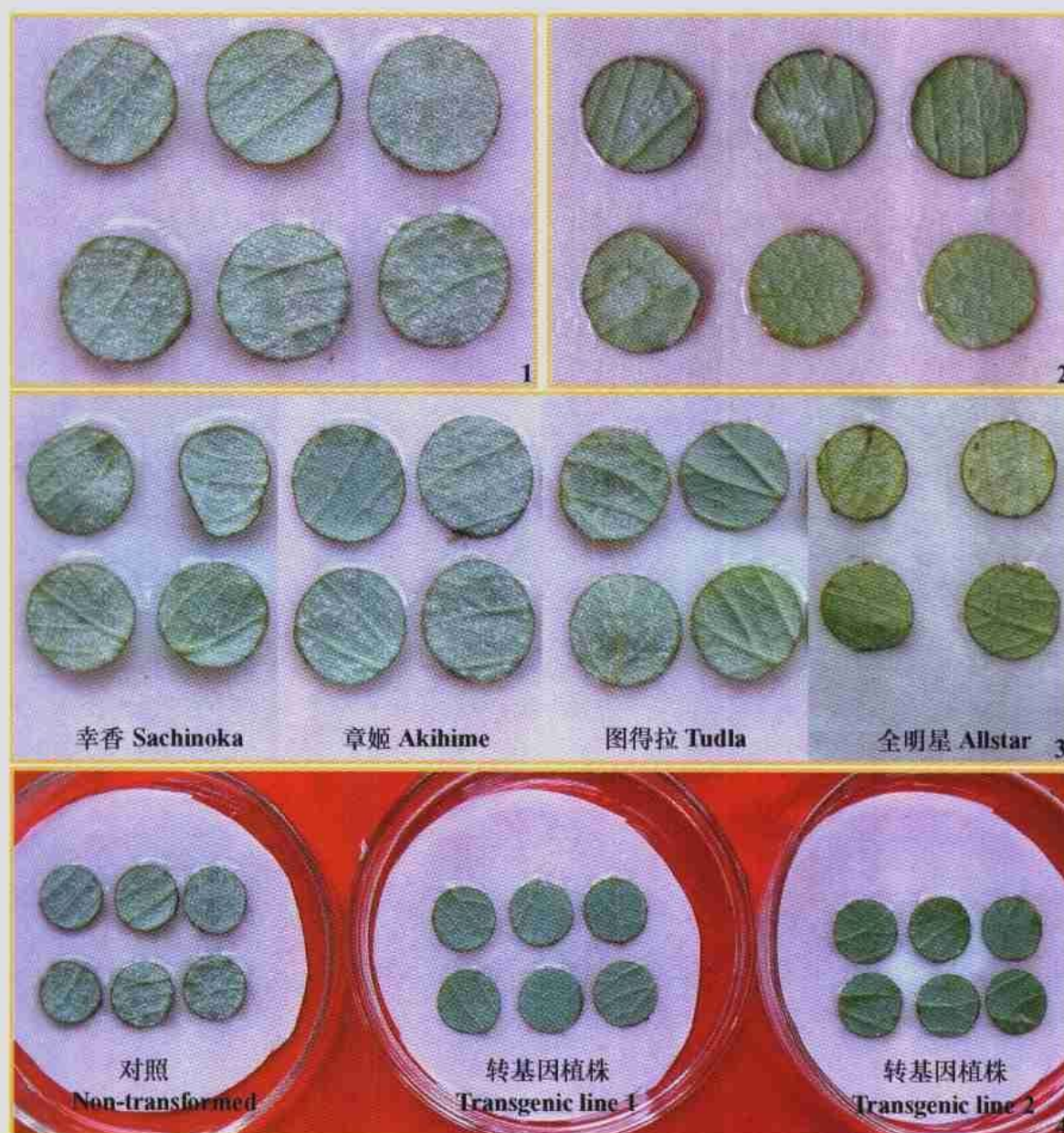
2.4 防治草莓白粉病农药的离体筛选

将离体鉴定体系中的水介质换成不同的农药, 进行防治草莓白粉病农药的离体筛选, 结果表明: 在推荐使用浓度或低于推荐使用浓度的情况下, 40% 氟硅唑乳油 (福星) 10000 倍液、12.5% 腈菌唑

乳油 8000 倍液、30% 氟菌唑可湿性粉剂 (特富灵) 5000 倍液, 能够有效抑制离体草莓叶盘上白粉菌的生长, 接种孢子 7 d 后叶盘上无明显菌落, 并且叶盘没有变黄, 而三唑酮和代森锰锌不能有效抑制离体草莓叶盘上白粉菌的生长。农药田间防治草莓白粉病的试验结果与离体筛选结果基本一致。

参考文献:

1. Fanourakis N E. Screening procedures for powdery mildew resistance in the cucumber. *Acta Horticulturae*, 1990, 287: 147~154
2. Cohen R. A leaf disk assay for detection of resistance of melons to *Sphaerotheca fuliginea* Race 1. *Plant Disease*, 1993, 77 (5): 513~517
3. Okayama K, Nakano T, Matsutani S, et al. A simple and reliable method for evaluating the effectiveness of fungicides for control of powdery mildew (*Sphaerotheca macularis*) on strawberry. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 1995, 61: (6) 536~540
4. 邓明琴主编. 草莓科研文选. 沈阳: 辽宁科技出版社, 1990. 282~283



图版说明: 1. 喷雾法接种后叶盘上白粉菌生长状况; 2. 抖落法接种后叶盘上白粉菌生长情况; 3. 草莓品种对白粉病敏感性的差异; 4. ‘丰香’未转化对照植株与转基因植株对白粉病抗性的比较。

Explanation of plates: 1. The colonies on the inoculated leaf discs after inoculation by spraying the conidial suspension; 2. The colonies on the inoculated leaf discs after inoculation by shaking off the conidial; 3. The difference of susceptibility of leaf discs of strawberry cultivars to powdery mildew; 4. The difference of resistance to powdery mildew between the non-transformed ‘Toyonoka’ and the transgenic plants with chitinase gene and β -1,3-glucanase gene.