

# 耐高温瓜枝孢非亲和菌株筛选及其诱导黄瓜抗黑星病的研究

李宝聚<sup>1\*</sup>, 刘学敏<sup>2</sup>, 彭霞薇<sup>1</sup>, 石延霞<sup>1</sup>, 彭 仁<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; <sup>2</sup>东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 高温处理瓜枝孢菌 (*Cladosporium cucumerium*) 分生孢子获得了耐热、低致病力的非亲和菌株, 试验证明菌株的非亲和性长期保持稳定。耐高温瓜枝孢非亲和菌株可显著激发黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 对黑星病的抗性, 其诱导抗病的能力稳定遗传, 但诱导抗病性表达有一迟滞期。诱导接种浓度越高, 诱导抗病效果越显著, 挑战接种浓度高, 诱导的抗病效果差。

**关键词:** 黄瓜; 黄瓜黑星病; 瓜枝孢菌; 抗热性; 热处理; 致病力; 诱导抗病性

**中图分类号:** S 642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2008) 03-0363-08

## Screening of Incompatible Isolate of *Cladosporium cucumerium* with Heat-resistance and Its Inducing Disease-resistance in Cucumber

LI Bao-ju<sup>1\*</sup>, LIU Xue-min<sup>2</sup>, PENG Xia-wei<sup>1</sup>, SHI Yan-xia<sup>1</sup>, and PENG Ren<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; <sup>2</sup> College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** The incompatible isolates of *Cladosporium cucumerium* with heat-resisting and low pathogenicity was obtained by high temperature treatments. It was showed that the low pathogenicity of *C. cucumerium* is stability. The heat-resistance isolates of *C. cucumerium* could induce cucumber scab resistance, and the induced resistance ability could inheritance, however there was a lag stage in the induced resistance expression. The induced resistance effect increased with the increase of induced inoculum concentration, and challenge inoculum concentration increased, induced effect reduced.

**Key words:** cucumber; cucumber scab; *Cladosporium cucumerium*; heat-resistance; heat treatment; pathogenicity; induction disease-resistance

在植物病毒病的研究中人们广泛认识了“交叉保护现象”, 并利用植物病原物非亲和小种诱导出了寄主对相应亲和小种的抗性 (Boshan & Cohen, 1983; 田波, 1985)。20世纪 50年代后, 在麦类 (朱建祥, 1998; 肖悦岩等, 2003; 郭桢等, 2005)、水稻 (王国平和罗宽, 1994)、瓜类 (吴营昌和王守正, 1991; Cherif et al, 1992; Fought & Kút, 1996)、棉花 (吴洵耻和刘波, 1987; 张大业和张家清, 1996) 和烟草 (董汉松和于建立, 1993) 等作物真菌病害研究中也观察到由不同种病原物或由同种病原物不同生理小种诱导的抗病性, 其中仅有表现在诱导接种部位的局部诱导抗病性, 也有能够在同一株植物未进行接种的部位或器官上表现的系统诱导抗病性 (葛银林和李德葆, 1995; Durrant & Dong, 2004)。经过长期观察人们已经认识到利用诱导植物抗病性控制病害危害是一个有价值的研究方向 (王海华和康健, 2003; 杜俊卿和云兴福, 2006; 刘双清等, 2006)。

收稿日期: 2007 - 09 - 18; 修回日期: 2007 - 11 - 30

基金项目: 国家“十一五”科技支撑项目 (2006BAD17B07; 2006BAD07B02); 国家自然科学基金项目 (30370983); 科技部科研院所社会公益研究专项项目 (2004D B4J153); 农业部蔬菜遗传与生理重点开放实验室项目

\* E-mail: libaoju62197975@126.com

近年来我国东北地区黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 黑星病是黄瓜生产上的重要病害, 利用诱导抗病性控制黑星病危害是一个有利手段, 然而这方面的报道较少。观察发现, 引起黄瓜黑星病的瓜枝孢菌 (*Cladosporium cucumerium*) 在自然条件下可大量产生孢子, 且致病力的自然变异不大 (李宝聚 等, 1997), 直接从田间采集筛选低致病力菌株十分困难。利用高温处理获得耐高温瓜枝孢非亲和菌株诱导黄瓜对亲和菌株的抗性在我们先前的试验中已经得到证实 (关爱民 等, 2006), 本文作者在前面工作基础上对耐高温非亲和菌株的筛选方法、诱导抗病效果以及耐高温非亲和菌株的诱导抗病效果和致病稳定性等方面进行了更为详尽的试验分析, 旨在为诱导黄瓜抗黑星病的方法寻找新的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

将黄瓜感病品种‘长春密刺’种子经 0.1% 的升汞表面消毒, 25℃ 恒温箱中催芽 24 h 后播种于垫有两层纱布的培养皿中, 20℃ 恒温箱中黑暗培养 5 d, 种壳脱落后备用。

试验采用两个引致黄瓜黑星病的瓜枝孢菌 (*C. cucumerium*) 强致病菌株 32 号和 43 号, 前者采自辽宁省抚顺地区的染病黄瓜, 经单孢分离获得, 后者自沈阳市东陵区的染病黄瓜上单孢分离。经鉴定, 两菌株均可大量产生分生孢子, 有强致病力。

### 1.2 耐高温非亲和菌株的筛选与致病力测定

将上述菌株在 PDA 上培养 5 d (20℃), 产生大量孢子后用无菌水配成孢子浓度为  $4.0 \times 10^6$  个  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的悬浮液, 稀释接种法接种于 PDA 平板, 待培养基凝固后分别置于 40、45 和 50℃ 的人工气候箱中处理 30、60 和 90 min 后转入 20℃ 恒温箱中继续培养, 逐日观察, 若发现培养皿中长出单个微小菌落, 即挑至 PDA 斜面继续生长, 每一个单菌落定义为一个耐热菌株。

将以上单菌落分离获得的菌株培养 5 d, 配成孢子浓度为  $4.0 \times 10^5$  个  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的悬浮液, 参照李宝聚等 (1997) 的方法鉴定菌株致病力。鉴定时将供试孢子悬浮液喷雾接种 5 d 苗龄的黄化苗, 分别以接种相同浓度的未进行高温处理的原始菌株 (32 号和 43 号) 为对照。接种后 5 d 参照李宝聚等 (1997) 的方法调查发病率和严重度, 计算病情指数百分率 (方中达, 1999), 以不引致发病的菌株为非亲和菌株。

### 1.3 耐高温非亲和菌株诱导黄瓜对黑星病抗病性的测定

自耐高温菌株筛选试验中选取 8 个低致病力菌株: E-43-1 (45℃, 90 min)、E-43-2 (45℃, 90 min)、E-43-3 (45℃, 90 min)、F-43-1 (50℃, 30 min)、F-43-3 (50℃, 30 min)、F-43-4 (50℃, 30 min)、F-32-2 (50℃, 30 min) 和 G-32-3 (50℃, 60 min) 进行诱导抗性试验。将选定的菌株培养 5 d 后用无菌水配成孢子浓度为  $4.0 \times 10^6$  个  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的悬浮液, 喷雾接种在 5 d 苗龄的黄化苗, 24 h 后以孢子浓度  $4.0 \times 10^5$  个  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的强致病力菌株挑战接种, 以只接种强致病菌株的黄化苗为对照。挑战接种后第 4 天和第 6 天各调查 1 次发病情况。每处理 50~60 株, 3 次重复。以 (对照株病情指数 - 诱导株病情指数) / 对照株病情指数的百分率作为诱导效果。

### 1.4 诱导接种浓度对诱导抗病效果试验

选取诱导抗病效果明显的两个菌株 (F-32-2 号和 F-43-1 号), 培养 5 d 后用无菌水分别配成孢子浓度  $4.0 \times 10^4$ 、 $2.0 \times 10^5$ 、 $4.0 \times 10^5$ 、 $2.0 \times 10^6$ 、 $4.0 \times 10^6$ 、 $1.0 \times 10^7$ 、 $2.0 \times 10^7$ 、 $4.0 \times 10^7$  个  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的悬浮液, 喷雾接种苗龄 5 d 的黄化苗, 诱导接种 24 h 后分别以 32 号和 43 号菌株挑战接种, 挑战接种孢子浓度  $4.0 \times 10^5$  个  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>, 以只接种 32 号和 43 号菌株的处理对照, 挑战接种后第 4 天和第 6 天调查发病情况。每处理 50~60 株苗, 3 次重复。计算诱导效果, 建立诱导效果 (IE) 与诱导接种浓度 (IC) 关系模型。

### 1.5 挑战接种浓度对诱导抗病效果试验

将菌株 F-32-2 和 F-43-1 培养 5 d 后用无菌水配成孢子浓度  $4.0 \times 10^6$  个  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的悬浮液, 喷雾接

种在苗龄 5 d 的黄化苗，24 h 后分别以孢子浓度为  $4.0 \times 10^4$ 、 $2.0 \times 10^5$ 、 $4.0 \times 10^5$ 、 $1.0 \times 10^6$ 、 $2.0 \times 10^6$ 、 $1.0 \times 10^7$ 、 $2.0 \times 10^7$ 、 $3.0 \times 10^7$ 、 $4.0 \times 10^7$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  的 32 号和 43 号菌株孢子悬浮液挑战接种，以只接种相应浓度的强致病菌株为对照，挑战接种后第 4 天和第 6 天调查发病情况。每处理 50 ~ 60 株苗，3 次重复。计算诱导效果，建立诱导效果（IE）与挑战接种浓度（CC）关系式。

1.6 耐高温非亲和菌株诱导黄瓜抗黑星病的表达

将菌株 F-32-2 和 F-43-1 在 PDA 上培养 5 d，无菌水配成孢子浓度  $4.0 \times 10^6$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  的悬浮液，喷雾接种苗龄 5 d 黄化苗，分别于诱导接种后 0、6、12、24、48 和 72 h 挑战接种 32 号和 43 号菌株，挑战接种孢子浓度  $4.0 \times 10^5$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$ ，挑战接种后第 4 天和第 6 天调查发病情况。每处理 50 ~ 60 株苗，3 次重复。计算诱导效果，建立诱导效果（IE）与挑战接种间隔时间（t）关系式。

1.7 耐高温菌株的低致病力及其诱导抗病性的稳定性测定

将菌株 F-32-2 和 F-43-1 世代繁殖，以高温处理后获得的菌株为 0 代，每隔 7 d 转接 1 次为 1 代，连续在 PDA 斜面上培养 15 代，按前述方法鉴定每代菌株的致病力及其诱导的抗病效果。

2 结果与分析

2.1 耐高温瓜枝孢菌株的筛选结果

供试的 32 号和 43 号瓜枝孢经 40、45 和 50 高温分别处理 30、60 和 90 min，记录单菌落数，其中 40 30 min 处理长出的菌落数太多不易单孢挑取，不进行单孢培养；40 60 min、90 min，45 30 min、60 min 长出的单菌落数目也较多，从每皿中各随机挑取 10 个单菌落；45 90 min，50 30 min、60 min 处理长出的单菌落数量很少，全部挑取菌落培养。50 90 min 处理的培养皿中未长出单菌落，说明 50 处理 90 min 已杀死瓜枝孢孢子。

2.2 耐高温菌株的致病力测定结果

接种耐高温菌株后调查致病力，结果表明 32 号和 43 号两个菌株经 40 60 min，45 30 min、60 min 处理后筛选出的耐热菌株的致病力与其母株（32 号和 43 号）相比差别不大，致病力基本不变。40 90 min 处理后获得的耐热菌株致病力降低，但致病力降低幅度都在 40% 以下，而经 45 90 min 和 50 30 min、60 min 处理后获得的耐热菌株致病力明显降低，许多菌株已没有致病力（表 1）。可见，随着处理温度升高，处理时间延长，一方面病菌孢子的致死率提高，另一方面也使得未致死孢子的致病力降低。

表 1 耐高温瓜枝孢对黄瓜致病力（病情指数）的测定

Table 1 Test of pathogenicity (disease index) of heat-resistance isolates of <i>C. cucumerium</i>								
/%								
菌株	未处理	40		45			50	
Isolate	Non-treatment	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min	30 min	60 min
32	58.69							
32-1		48.33	33.57	49.44	55.25	3.44	8.51	0.00
32-2		55.88	33.56	45.66	54.34	0.00	0.00	0.00
32-3		47.03	28.33	52.34	51.33	0.00	0.00	0.00
32-4		45.67	29.03	43.53	56.51	0.00	0.00	0.00
32-5		49.04	45.19	48.17	55.50	9.25	-	-
43	58.98							
43-1		46.97	45.93	50.15	43.93	0.00	0.00	-
43-2		48.85	31.54	48.75	48.64	4.62	0.00	-
43-3		63.93	43.65	43.20	58.08	0.00	3.35	-
43-4		68.07	34.83	46.42	46.54	3.54	0.00	-
43-5		55.38	43.08	48.86	45.66	0.00	-	-

注：3 次重复平均值；-：菌株死亡。  
Note: Means of three times; - : Isolate died

2.3 耐高温菌株诱导的黄瓜抗黑星病效果

调查 8 个耐高温菌株对黄瓜抗病诱导效果 (表 2), 可见供试耐高温菌株都不同程度地诱导出黄瓜对黑星病的抗性, 其中 F-43-1 号和 F-32-2 号菌株诱导的抗病效果最明显, 第 1 次调查这两个菌株的诱导抗病效果分别为 76.06% 和 75.88%, 第 2 次调查也都在 60% 以上。

表 2 耐高温瓜枝孢诱导的黄瓜抗黑星病效果

菌株 Isolate	第 1 次调查 First investigation			第 2 次调查 Second investigation		
	发病率 / %	病情指数 / %	诱导效果 / %	发病率 / %	病情指数 / %	诱导效果 / %
	Incidence	Disease index	Induced effect	Incidence	Disease index	Induced effect
E-43-1	32.00	9.60	44.48 dD	89.13	57.83	32.95 bB
E-43-2	29.17	10.42	39.73 dD	90.00	59.60	30.90 bB
E-43-3	43.75	12.92	25.27 eE	93.18	60.91	29.38 bcBC
F-43-1	13.33	4.14	76.06 aA	54.17	26.67	69.08 aA
F-43-3	35.19	12.59	27.18 eE	92.98	67.72	21.48 cC
F-43-4	21.15	5.38	68.88 bB	85.42	53.33	38.17 bB
F-32-2	12.50	4.17	75.88 aA	56.28	27.31	68.34 aA
G-32-3	26.92	7.31	57.72 cC	84.78	54.35	36.99 bB
32	57.65	17.29	-	100	86.25	-

注: 3 次重复平均值。  
Note: Means of three times

2.4 诱导接种浓度与诱导抗病效果

调查 F-43-1 号和 F-32-2 号两个耐高温非亲和菌株诱导接种浓度与诱导效果关系, 结果见图 1。在试验接种浓度范围内, 诱导接种浓度越高, 诱导效果越显著, 当菌株 F-43-1 号诱导接种孢子浓度为  $4.0 \times 10^4$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  时, 第 1 次调查诱抗效果为 48.18%, 第 2 次调查降低到 28.35%; 当诱导接种孢子浓度为  $4.0 \times 10^7$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  时, 第 2 次调查的诱导效果仍保持在 75% 以上, 两个菌株表现的诱导抗病趋势一致。

分析诱导接种浓度 ( $IC$ ) 与诱导抗病效果 ( $IE$ ) 的关系证明, F-43-1 号诱导的抗病效果第 1 次和第 2 次调查可分别用  $IE_1 = -15.4788 + 5.8938\text{LN}(IC_1)$ ,  $r=0.9828$  和  $IE_2 = -52.1618 + 7.5039\text{LN}(IC_2)$ ,  $r=0.9937$  描述; F-32-2 号诱导的抗病效果可分别用  $IE_1 = -24.8006 + 6.2898\text{LN}(IC_1)$ ,  $r=0.9914$  和  $IE_2 = -54.4191 + 7.5118\text{LN}(IC_2)$ ,  $r=0.9926$  描述。

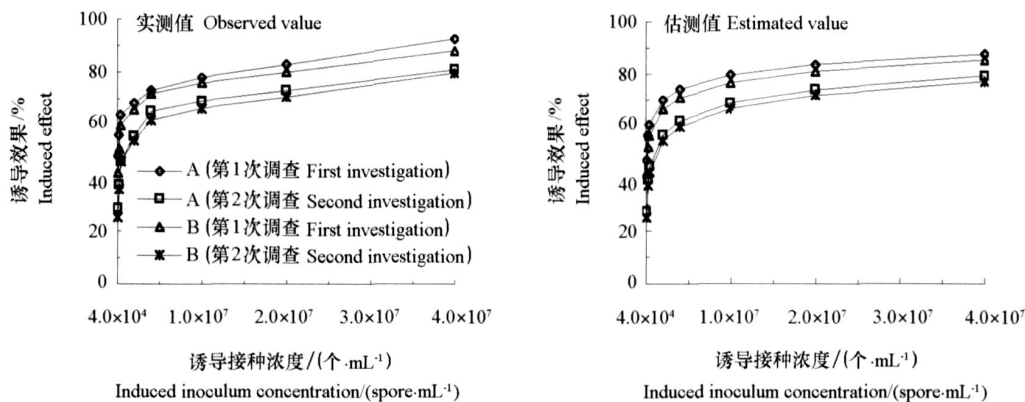


图 1 菌株 F-43-1 (A) 和 F-32-2 (B) 诱导接种浓度与诱导抗病效果的关系

Fig 1 Relationship between induced inoculum concentration of isolates F-43-1 (A), F-32-2 (B) and induced effect

### 2.5 挑战接种孢子浓度与诱导效果

用 F-43-1 号和 F-32-2 号菌株诱导接种黄化苗 24 h 后以不同浓度强致病菌株挑战接种, 结果见图 2。可见诱导抗病性的表达水平受挑战接种孢子浓度影响很大, 在试验浓度范围内, 挑战接种压力增大, 诱导效果降低。挑战接种孢子浓度为  $4.0 \times 10^5$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  时, 两个诱导菌株表现的诱导抗病效果第 1 次调查分别为 79.28% 和 71.37%, 第 2 次调查分别为 61.24% 和 58.32%; 挑战接种孢子浓度为  $4.0 \times 10^6$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  时, 第 1 次调查表现一定程度的诱导抗病效果, 分别为 40.80% 和 36.18%, 第 2 次调查诱导效果仅有 16.35% 和 15.34%; 以浓度  $4.0 \times 10^7$  个  $\cdot \text{mL}^{-1}$  的孢子悬浮液挑战接种的处理植株, 基本不表现诱导抗病效果。

诱导效果 ( $IE$ ) 与挑战接种孢子浓度 ( $CC$ ) 之间可用指数方程描述, 其中, F-43-1 号诱导的抗病效果第 1 次和第 2 次调查分别用  $IE_1 = 73.3982 \text{EXP}(-4.2017 \times 10^{-8} CC_1)$ ,  $r = 0.9623$  和  $IE_2 = 52.5075 \text{EXP}(-5.7127 \times 10^{-8} CC_1)$ ,  $r = 0.9262$  描述, F-32-2 号可分别用  $IE_1 = 67.7309 \text{EXP}(-4.6488 \times 10^{-8} CC_1)$ ,  $r = 0.9489$  和  $IE_2 = 50.7724 \text{EXP}(-6.0301 \times 10^{-8} CC_1)$ ,  $r = 0.9093$  描述。

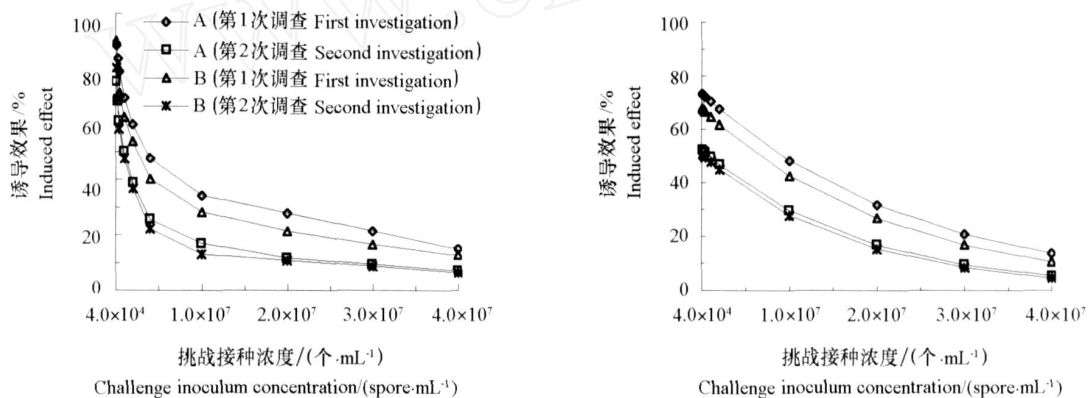


图 2 菌株 F-43-1 (A) 和 F-32-2 (B) 挑战接种浓度与诱导效果关系

左: 实测值; 右: 估测值。

Fig. 2 Relationship between challenge inoculum concentration of isolates F-43-1 (A), F-32-2 (B) and induced effect

Left Observed value; Right Estimated value

### 2.6 诱导接种与挑战接种间隔期试验结果

调查挑战接种间隔时间对 F-43-1 号和 F-32-2 号菌株诱导效果的影响, 结果见图 3。两个诱导菌株的诱导抗病性都在诱导接种后 6 h 开始显现, 72 h 内随挑战接种间隔期延长, 诱导效果增加, 诱导接种后 2 d 抗病效果达到最高峰, 此时诱导效果第 1 次调查分别为 71.78% 和 77.39%, 第 2 次调查分别为 55.95% 和 58.14%, 诱导接种后 3 d 其诱导抗病效果仍处于高峰。诱导接种后立即挑战接种不产生抗病效果, 说明诱导抗病性表达有一迟滞期, 也表明在诱导株与强致病株同时接种的情况下 (诱导后立即挑战接种), 诱导株竞争不过强致病株, 诱导后立即挑战接种的处理发病程度与对照基本相同。

诱导效果 ( $IE$ ) 与挑战接种间隔时间 ( $t$ ) 之间的关系可用抛物线描述, 其中 F-43-1 号诱导的抗病效果第 1 次和第 2 次调查分别为  $IE_1 = 8.3698 + 2.2669t - 0.01859t^2$ ,  $r = 0.9951$  和  $IE_2 = -1.0756 + 2.0149t - 0.01799t^2$ ,  $r = 0.9924$ ; F-32-2 号分别为  $IE_1 = 2.3888 + 2.5815t - 0.02309t^2$ ,  $r = 0.9847$  和  $IE_2 = -4.4227 + 1.9915t - 0.01623t^2$ ,  $r = 0.9893$ 。

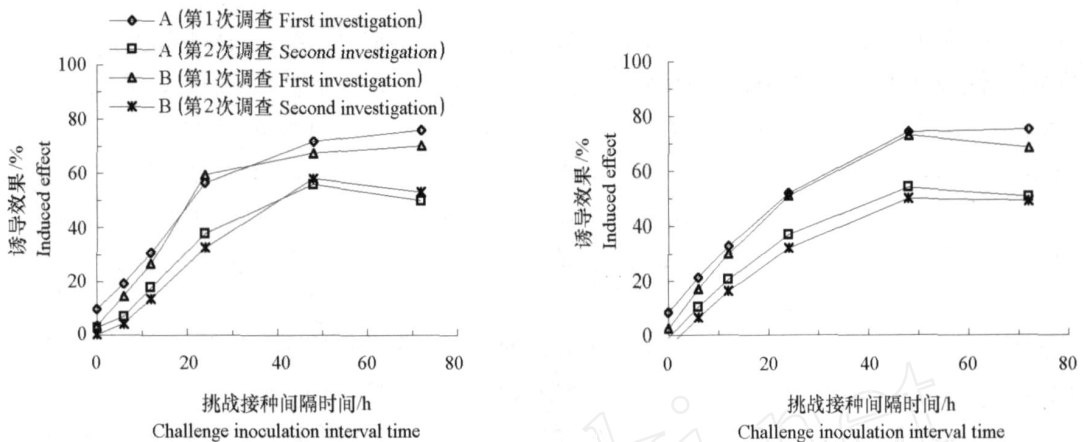


图 3 菌株 F-43-1 (A) 和 F-32-2 (B) 挑战接种间隔期与诱导效果关系  
左：实测值；右：估测值。

Fig 3 Relationship between challenge inoculation interval time of isolates F-43-1 (A), F-32-2 (B) and induced effect

Left: Observed value; Right: Estimated value

2.7 耐高温菌株的低致病力及其诱导抗病性的稳定性测定结果

试验证明，连续培养 15 代后耐高温菌株的低致病力（非亲和性）及其诱导抗病的能力仍然保持（表 3），且各世代间的致病力和诱导抗病能力基本一致，说明本试验所选耐高温菌株经数代繁殖后其低致病力和诱导抗病的能力稳定遗传，可见该菌株有较高的利用价值。

表 3 瓜枝孢耐高温菌株的低致病力及其诱导的抗病性的稳定性测定结果

Table 3 Stability test of low pathogenicity and induced effect of heat-temperature isolates of *C. cucumerium*

F-43-1				F-32-2			
世代 Generation	致病力 (病情指数 /% ) Pathogenicity (disease index)	诱导抗病结果 Result of induced resistance		世代 Generation	致病力 (病情指数 /% ) Pathogenicity (disease index)	诱导抗病结果 Result of induced resistance	
		挑战接种 病情指数 /% Disease index	诱导效果 /% Induced resistance			挑战接种 病情指数 /% Disease index	诱导效果 /% Induced resistance
1	0.00	14.47	52.64	1	1.25	14.57	58.22
2	0.00	14.55	60.13	2	0.73	16.66	52.22
3	0.00	13.94	54.37	3	0.53	17.26	50.50
4	0.00	12.88	57.84	4	0.00	15.37	55.92
5	0.21	12.18	52.37	5	0.00	13.60	61.00
6	0.54	11.67	61.80	6	0.80	11.45	67.16
7	0.36	14.59	52.17	7	1.10	19.33	44.57
8	0.50	13.64	55.35	8	0.60	15.73	54.89
9	0.00	14.46	52.67	9	0.20	12.06	65.41
10	0.00	15.47	49.36	10	0.00	14.20	59.28
11	0.70	15.36	49.72	11	0.00	18.55	46.80
12	0.00	13.25	56.63	12	0.40	10.69	69.34
13	0.53	15.77	48.38	13	0.00	16.71	52.08
14	0.28	11.12	63.60	14	0.00	14.84	57.44
15	0.00	12.34	59.61	15	0.00	13.77	60.51
43号母株	29.60	30.55	-	32号母株	32.77	34.87	-
Isolate 43				Isolate 32			

### 3 讨论

利用高温处理黄瓜黑星病的瓜枝孢病菌 (*C. cucurbitum*) 分生孢子的方法可以获得具有诱导黄瓜抗黑星病能力的非亲和菌株, 且菌株的低致病力稳定遗传 (关爱民 等, 2006)。在已有工作基础上, 本研究建立了耐高温瓜枝孢非亲和菌株的筛选方法, 籍此方法获得了一系列耐热非亲和菌株, 以其作为诱导因子诱导黄瓜对黑星病菌亲和菌株的抗病性, 从中选出了 2 个可明显诱导黄瓜抗黑星病的菌株, 第 1 次调查诱导效果都在 75% 以上, 第 2 次调查也在 60% 以上。分析诱导接种浓度、挑战接种浓度、诱导—挑战接种间隔期等影响诱导效果的因素证明, 诱导接种浓度增大、挑战接种浓度降低都有利于增强诱导黄瓜植株抗黑星病能力表达, 而且诱导—挑战接种之间存在最适时期。诱导菌株和强致病菌株同时接种黄化苗后, 诱导抗病效果非常低或病情发展与对照相同, 可见诱导菌株在与强致病菌株竞争过程中处于劣势, 因而不能诱导抗病反应。诱导—挑战接种时间间隔从 6 h 开始产生诱导抗病现象, 48 h 后诱导抗病效果达到最高水平, 72 h 后仍然保持最明显的诱导抗病效果。由此作者推测, 黄瓜黑星病菌诱导菌株优先占领强致病菌株的侵染位点, 使挑战接种菌的侵染概率降低, 最终导致经诱导处理的寄主发病减轻。

经连续 15 代培养发现所得耐高温瓜枝孢菌菌株的低致病力和诱导抗病能力都能稳定地遗传, 增加了试验的可靠性和可重复性, 也使得耐高温菌株的实际应用有了可能。研究发现, 尽管耐高温菌株诱导黄瓜抗黑星病性类似于病毒中的弱毒株系的交叉保护作用, 但他们之间又有本质上的区别, 病毒中的弱毒株系 (或称温和株系) 的利用存在潜在的风险, 因为温和株系在一定条件下可能突变成强毒株系, 它还可能传播到其它寄主植物上造成更严重的危害等, 而瓜枝孢耐高温菌株相对窄的寄主范围使得其成为一种较为安全的诱导因子, 它的低致病力和诱导抗病能力可稳定遗传, 这为以后将该诱抗菌株作为一种有效的诱导抗病因子的实际应用提供了理论依据。

本试验是在实验室内控制条件下进行的, 所获得的耐高温低致病力诱导菌株用于田间生产实践还需要进行大量的工作。

### References

- Boshan B, Cohen Y. 1983. Tobacco necrosis virus induces systemic resistance in cucumbers against *Sphaerotheca fuliginea*. *Physiological Plant Pathology*, 23 (1): 137 - 144.
- Cherif M, Benhamou N, Menzies J G, Belanger R R. 1992. Silicon induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 41 (6): 411 - 425.
- Dong Han-song, Yu Jian-li. 1993. Induced resistance conceptions of weak strain TAB16 of *Alternaria alternata* in tobacco. *Acta Phytopathologica Sinica*, 20 (2): 129 - 133. (in Chinese)
- 董汉松, 于建立. 1993. 赤星病弱毒株 TBA16 对烟草赤星病诱导条件的研究. *植物保护学报*, 20 (2): 129 - 133.
- Du Jun-qing, Yun Xing-fu. 2006. Research advance of induced disease resistance of plant. *Inner Mongolia Agricultural Science and Technology*, 6: 21 - 24. (in Chinese)
- 杜俊卿, 云兴福. 2006. 植物诱导抗病性的研究进展. *内蒙古农业科技*, 6: 21 - 24.
- Durrant W E, Dong X. 2004. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 42: 185 - 209.
- Fang Zhong-da. 1999. Research methods of plant disease. Third edition. Beijing: China Agricultural Press: 6 - 13. (in Chinese)
- 方中达. 1999. 植病研究方法. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社: 6 - 13.
- Fought L, Kú J. 1996. Lack of specificity in plant extracts and chemicals as inducers of systemic resistance in cucumber plants to anthracnose. *Journal of Phytopathology*, 144: 1 - 6.
- Ge Yin-lin, Li De-bao. 1995. Induced plant disease-resistance, its mechanism and molecular biology. *Chinese Journal of Biological Control*, 11 (3): 134 - 141. (in Chinese)
- 葛银林, 李德葆. 1995. 植物抗病性的诱导、机制、分子生物学研究进展. *中国生物防治*, 11 (3): 134 - 141.
- Guan Ai-min, Yang Sheng-yu, Shi Yan-xia, Li Bao-ju. 2006. Study on genetic of attenuated strains of *Cladosporium cucurbitum*. *Journal of*

- Anhui Agriculture Science, 34 (5) : 925 - 926 (in Chinese)
- 关爱民, 杨生玉, 石延霞, 李宝聚. 2006 瓜枝孢弱致病菌的筛选与遗传稳定性研究. 安徽农业科学, 34 (5) : 925 - 926
- Guo Zhen, Hu Xiao-ping, Yang Zhi-wei, Li Zhen-qi 2005. Studies on the systemic acquired resistance (SAR) induced by weak-virulent race against *Puccinia striiformis* sp. *tritici* in wheat . initial observe for SAR. Journal of Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition, 33 (Supplement): 22 - 25. (in Chinese)
- 郭 桢, 胡小平, 杨之为, 李振岐. 2005. 弱毒菌株尤 对小麦条锈病的诱导抗性 . 诱导抗性的初步观察. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 33 (增刊): 22 - 25.
- Li Bao-ju, Li Feng-yun, Miao Ze-yan, Wang Ke, Hao Xiao-li 1997. Pathogenicity of *Cladosporium cucumerium* . Relationship among pathogenicity and inoculum concentration, growth stage of pathogen. Liaoning Agricultural Science, 5: 21 - 24. (in Chinese)
- 李宝聚, 李凤云, 苗则彦, 王 克, 郝晓莉. 1997. 黄瓜黑星病菌致病性研究 . 病原物接种体浓度、菌龄与致病性的关系. 辽宁农业科学, 5: 21 - 24.
- Liu Shuang-qing, Li Hongmei, Gao Bi-da 2006. Plant systemic acquired disease resistance in plant disease control. Hunan Agricultural Sciences, (6) : 82 - 84, 86 (in Chinese)
- 刘双清, 李红玫, 高必达. 2006. 利用植物系统获得抗病性控制作物病害. 湖南农业科学, (6): 82 - 84, 86.
- Tian Ba 1985. Attenuated strain vaccine of plant virus. Wuhan: Hubei Science Technique Press: 1 - 284. (in Chinese)
- 田 波. 1985. 植物病毒弱毒疫苗. 武汉: 湖北科学技术出版社: 1 - 284.
- Wang Guo-ping, Luo Kuan 1994. On the induced resistance of rice varieties to blast disease I screening of inducers and methods. Acta Phytopathologica Sinica, 24 (2) : 123 - 127. (in Chinese)
- 王国平, 罗 宽. 1994. 水稻品种抗瘟性诱导研究 —— . 非生物诱导物的筛选及诱导方法初探. 植物病理学报, 24 (2) : 123 - 127.
- Wang Hai-hua, Kang Jian 2003. Application research on induced disease resistance of plant and its prospects. Journal of Xiangtan Normal University: Natural Science Edition, 25 (3) : 84 - 88. (in Chinese)
- 王海华, 康 健. 2003. 植物诱导抗病性的应用研究与展望. 湘潭师范学院学报: 自然科学版, 25 (3) : 84 - 88.
- Wu Xun-chi, Liu Ba 1987. The interprotection between strains of *Verticillium dahliae* Kleh . Experiment of the effective intervals between strains. Acta Phytopathologica Sinica, 17 (4) : 215 - 217. (in Chinese)
- 吴洵耻, 刘 波. 1987. 棉花黄萎病菌菌株间交互保护作用的研究 (1) 两菌株有效间隔天数的试验. 植物病理学报, 17 (4) : 215 - 217.
- Wu Ying-chang, Wang Shou-zheng 1991. Inducing resistance to fusarium wilt of cucumber with weak infectious strains. Journal of Henan Agricultural University, 25 (4) : 433 - 437. (in Chinese)
- 吴营昌, 王守正. 1991. 利用弱致病菌株诱导黄瓜抗枯萎病研究. 河南农业大学学报, 25 (4) : 433 - 437.
- Xiao Yue-yan, Wu Li-fen, Wang Zhuo-ran, Jiang Wen-bo, Zeng Shi-mai 2003. Resistance to wheat stripe rust induced by avirulent race of *Puccinia striiformis*. Acta Phytopathologica Sinica, 33 (3) : 254 - 260. (in Chinese)
- 肖悦岩, 武丽芬, 王卓然, 姜文波, 曾士迈. 2003. 小麦条锈病菌非亲和性小种诱发小麦抗锈性研究. 植物病理学报, 33 (3) : 254 - 260.
- Zhang Da-ye, Zhang Jia-qing 1996. Induction of resistance to cotton fusarium wilt mycelium extracts. Chinese Journal of Biological Control, 12 (1) : 5 - 6. (in Chinese)
- 张大业, 张家清. 1996. 棉花枯萎病诱导抗性初步研究. 中国生物防治, 2 (1) : 5 - 6.
- Zhu Jian-xiang 1998. Induction of resistance and susceptibility to powdery mildew in wheat. Acta Phytopathologica Sinica, 28 (1) : 11 - 17. (in Chinese)
- 朱建祥. 1998. 小麦对白粉菌的抗性和感病性的诱导. 植物病理学报, 28 (1) : 11 - 17.