

# 西瓜枯萎病及抗性育种研究进展

余贤美, 郑服丛

(中国热带农业科学院 环境与植物保护研究所, 中国海南 儋州 571737)

**摘要:** 西瓜枯萎病是一种毁灭性的土传真菌病害, 给西瓜生产造成了严重的经济损失, 选育抗性新品种是防治西瓜枯萎病的一种有效手段。主要对西瓜枯萎病的症状、病原、侵染途径、抗性机制及抗性育种等方面进行了综述, 并对西瓜枯萎病及抗性育种研究进行展望。

**关键词:** 西瓜; 枯萎病; 嫁接; 抗性育种

中图分类号: S4; Q81

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2006)S2-0090-05

## Progress on Study of the Watermelon Wilt and the Anti-Fusarium Wilt Breeding

YU Xian-mei, ZHENG Fu-cong

(Institute of Environment and Plant Protection, Chinese Academy of Tropical Agriculture Science, Danzhou 571737, Hainan, China)

**Abstract:** The watermelon wilt is a destructive soil-borne disease, it has brought the severe economic lost in the production of watermelon. And the breeding and selection of wilt-resistant variety is an efficient measure to prevent and cure the watermelon wilt. The progress in the symptoms of wilt, the pathogeny, the way of infection, the mechanism of resistance and wilt-resistant breeding were reviewed.

**Key words:** watermelon; fusarium wilt; grafting; disease-resistant breeding

(Life Science Research, 2006, 10(4)S2: 090 ~ 094)

西瓜枯萎病又称蔓割病、萎凋病、萎蔫病等, 是一个世界性的毁灭性的土传真菌病害, 我国各地栽种西瓜均有枯萎病发生。枯萎病可造成西瓜产量下降 30%, 有些地块减产 50% 以上, 甚至绝产, 给西瓜生产造成严重的经济损失。由于近年来西瓜栽培面积迅速扩大, 重茬西瓜面积增多, 西瓜枯萎病的发生越来越普遍和严重<sup>[1]</sup>, 而中国缺乏高抗枯萎病的西瓜种质资源<sup>[2]</sup>, 因此, 深入研究西瓜枯萎病的发生规律、有效防治方法及抗性育种等, 已成为当前生产上急待解决的重要问题。

### 1 西瓜枯萎病症状及发病原因

#### 1.1 西瓜枯萎病症状

##### 1.1.1 西瓜枯萎病的田间症状类型<sup>[3]</sup>

西瓜整个生育期都可遭受枯萎病的侵染危害, 但其危害程度有所不同, 苗期病害较轻, 开花结瓜期病害严重。田间常见病害症状有以下 3 种类型。

1) 猝倒型: 发生在幼苗期。受害瓜苗子叶失水萎蔫下垂, 茎基部溢缩变褐, 最后猝倒枯死。

收稿日期: 2006-08-22; 修回日期: 2006-09-12

作者简介: 余贤美 (1976-), 女, 福建浦城人, 助理研究员, 中国热带农业科学院植物基因工程及植物抗病育种学硕士研究生, Tel: 0898-23300141, E-mail: yuxianmei95@163.com; 郑服丛 (1956-), 广东汕头人, 中国热带农业科学院研究员, 通讯作者, 主要从事植物病理学研究, Tel: 0898-23300141, E-mail: zwbhys@scuta.edu.cn.

2) 侏儒型: 发生在团棵伸蔓期。病株生长缓慢, 蔓细、节间短、瘦小, 叶片发黄边缘向上卷曲, 呈畸形小老苗; 有的病株呈直立状, 根系稀少发黄, 维管束变褐, 最后枯死。

3) 萎蔫型: 多发生在结瓜期。这是西瓜枯萎病的典型症状, 按其表现形式有全株枯萎, 或同一株上有的蔓枯萎, 有的蔓正常, 或同一条蔓上有的端部枯萎, 另一部分正常。

#### 1.1.2 枯萎病与生理性急性萎蔫的区别<sup>[4]</sup>

西瓜镰刀菌引起枯萎病在整个生育期都可发生, 开花到结果期最重。幼苗发病, 须根减少, 枯萎发黄, 倒伏枯死。成株发病, 叶片自下向上逐渐萎蔫, 前期白天萎蔫, 夜间恢复, 茎基部开始呈黄绿色水浸状, 有长条形病斑, 有时可生白色至粉红色霉状物, 近地部根、茎有褐变, 维管束变褐, 可检查出枯萎病菌。

西瓜生理性急性萎蔫一般在收获初期发生, 在连续阴雨天气最易发生。发病初期病株叶片白天萎蔫, 夜间略有恢复, 3~4 d后加重, 以致全株枯萎。叶片除枯萎外, 其他变化很小, 根、茎除稍有发黄外, 也无其他明显变化, 维管束闭塞, 看不到病原菌。

#### 1.1.3 西瓜枯萎病和根腐病的症状异同点<sup>[5]</sup>

西瓜枯萎病和根腐病的症状特点有许多相似之处, 例如: 都是先危害根茎部, 维管束变褐; 危害后期, 根茎部组织破碎, 只留丝状维管束; 危害初期中午萎蔫, 早晚或阴天或浇水后恢复, 最后全株永久性萎蔫, 全株枯死。

西瓜根腐病和枯萎病症状的不同点。枯萎病的症状为: 1) 苗期至定植后, 全生育期均可发病; 2) 维管束变褐, 逐步向枝蔓扩展; 3) 茎、蔓裂口处有琥珀色胶状物溢出; 4) 环境潮湿时, 病害表面常产生白色或粉红色霉状物(病菌分生孢子); 5) 病根部褐色腐烂, 稍缢缩。根腐病的症状为: a) 只在定植后发病; b) 维管束变褐, 但不向枝蔓扩展; c) 病部裂口处无胶状物溢出; d) 环境潮湿时, 病部腐烂, 但无霉状物出现; e) 病部无缢缩现象。

#### 1.2 发病原因

温度高、湿度大是发生病害的原因之一。病菌在24~32℃和高湿条件下侵染力强, 发病快; 连阴2 d以上降雨量大及土粘重, 地势低洼, 排水不良, 管理粗放的连作地块均有此病发生。肥料配比不合理是引起发病原因的另一个主要原因,

底肥不足, 氮肥过量, 磷、钾肥不足, 使用未腐熟好的带病菌的有机肥, 地下害虫危害严重的都可以导致西瓜枯萎病的发生, 所以在施肥上一定要进行土壤化验, 采取配方施肥有利于植株正常生长发育, 减少一些病害发生达到高产、稳产。西瓜枯萎病发病轻重与轮作年限直接相关, 轮作年限越短, 发病越重; 轮作年限越长, 发病越轻。连作重茬地死株率高, 往往造成改种或毁种<sup>[3,6]</sup>。

## 2 西瓜枯萎病病原及侵染途径

瓜类枯萎病专化型有 *niveum*(西瓜专化型)、*cucumerinum*(黄瓜专化型)、*melonis*(甜瓜专化型)、*iuffae*(丝瓜专化型) 和 *lagenariae*(葫芦专化型) 等5个专化型<sup>[7]</sup>。西瓜枯萎病是由尖镰孢菌西瓜专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Niveum* (E. F. Smith) Snyder & Hansen) 侵染引致的维管束系统病害。迄今为止, 已发现西瓜枯萎病有3个生理小种, 即生理小种0、生理小种1、生理小种2; 与其他2个生理小种相比, 生理小种2更具侵染性。生理小种1的抗性受单主效基因控制的显性遗传, 而生理小种2的抗性是由隐性多基因控制, 符合“加性-显性”模型, 以加性效应为主, 感病对抗病表现为显性<sup>[8,9]</sup>。我国大多数学者认为中国以生理小种1占主导<sup>[10]</sup>。

西瓜枯萎病菌通过土壤、种子传播, 厚垣孢子在土壤中存活10年以上, 离开寄主的情况下也能存活5~6年。尖孢镰刀菌以菌丝、厚垣孢子、分生孢子和菌核在土壤或未腐熟的带菌肥料、病残株、种子和土壤中越冬, 一般分布在0~25 cm土层内, 是翌年发病的初侵染源。该菌侵染寄主根系的温度为15~35℃, 最适温度为23~28℃。病菌通过胚根侵染发芽的种子, 通过植株根部自然伤口或从根毛顶端细胞间直接侵入, 或通过线虫等侵染伤口及其他机械损伤侵入, 最终进入维管束, 引起萎蔫。也可以从病蔓经由果梗侵入果实而发病, 或从果皮伤口处侵入, 引起瓜腐烂。可使皮层腐烂, 子叶和嫩叶褪绿, 在胚轴上出现水浸状软腐环带, 使成株叶片萎蔫, 任何生育阶段都可发生枯萎病, 花期和结果期最明显<sup>[3,11]</sup>。

## 3 西瓜枯萎病抗性育种

### 3.1 抗病机制

#### 3.1.1 结构抗性

西瓜对枯萎病的抗性与幼苗主根中导管的分

布, 中央导管数目及其木质纤维壁的加厚程度密切相关<sup>[12]</sup>。感病品种的导管集中于中央, 管腔较大, 细胞壁薄。高抗品种的导管分布分散, 且中央导管少, 胞腔较小, 细胞壁较厚, 胞壁内有一层加厚的细胞壁, 可阻止病菌的侵入。苗琛等针对枯萎病菌对西瓜幼根的侵染过程进行研究, 以西瓜感病、抗病品种受感染后细胞学特征变化进行了观察, 结果表明, 枯萎病菌多从根部受损部位侵入, 穿过薄壁组织后进入维管组织, 在菌丝体生长处, 薄壁组织多坏死, 木质部导管中相继出现侵填体及一些褐色物质, 并发生管壁加厚现象, 在筛管中筛析加厚形成胼胝质这种现象在感病品种与抗性品种中都能见到, 但在抗性品种中发生更早, 频率更高<sup>[13]</sup>。

### 3.1.2 化学抗性

植物抗病与一些生理生化物质和体内中间转化物质的含量有着十分密切的关系。木质素与富含羟脯氨酸糖蛋白 (HRGP) 含量、过氧化物酶 (POD) 与苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性, 随病菌的侵染, 在抗感品种体内均有不同程度地提高, 抗病品种的增加幅度明显高于感病品种<sup>[14]</sup>。徐敬华等测定了 2 个西瓜品种早佳 (8284) 和春光及其与 2 个砧木品种的嫁接苗经病原菌处理后, PAL 活性在植株不同部位的动态变化过程, 结果表明: PAL 活性表达呈周期性变化; PAL 表达具有组织特异性, 叶片部是 PAL 活性高效表达的部位; PAL 活性与枯萎病抗性呈正相关; PAL 活性的强弱还与植物体感病与否有关, 发病植株的 PAL 活性高于未发病植株<sup>[15]</sup>。马国斌等发现, 镰刀菌酸处理 72 h 后, 抗病品种 SOD 活性比感病品种提高 50% 左右, SOD 活性的提高有利于膜结构的稳定性, 保持抗性<sup>[16]</sup>。另外, 植物体内抗坏血酸氧化酶活性与西瓜枯萎病抗性之间存在极显著正相关, 可用作西瓜枯萎病抗性的一个生化指标<sup>[17]</sup>。

## 3.2 抗性育种

培育抗病品种是解决枯萎病的有效途径, 可以通过嫁接, DNA 直接导入、分子标记辅助育种等分子育种方式实现。

### 3.2.1 嫁接抗性育种

西瓜嫁接栽培是解决西瓜枯萎病简便易行可靠、成本低、效益高的技术措施, 是目前防治西瓜枯萎病最为有效的途径。日本普遍采用嫁接防治西瓜枯萎病。近几年, 我国西瓜嫁接栽培发展较快, 效果显著。选择对西瓜枯萎病有抗性或者免

疫的瓜类砧木与西瓜嫁接, 可达到抗病增产、克服连作障碍的目的。常用的嫁接方法有切接、顶插接、靠接等。采用瓠瓜、葫芦、南瓜、冬瓜等抗病力强的瓜类作砧木, 均能达到防病的目的。徐胜利等以能抗瓜类枯萎病的瓜类枯萎病的云南黑籽南瓜 (*Cucubita moschata* Duch.)、西葫芦 (*Cucurbitaceae pepo* L.) 和瓠瓜 (*Lagenaria leucantha* Rusby) 为砧木嫁接西瓜 (*Cucurbitaceae melo var. saccharinus* Naud), 嫁接后的西瓜植株表现光合作用速率和根系吸收面积增加; 叶片中束缚水/自由水比值增加, 保水能力提高, 从而增强了嫁接西瓜的抗逆性; 根系中苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性增高, 而各处理植株叶片中的 PAL 均有所降低, 表明嫁接西瓜根中 PAL 活性变化相对于叶片而言与根抗病性的关系更为密切。根系和叶片中的过氧化物酶 (POD) 活性均显著提高, 表明嫁接西瓜植株中 POD 活性变化与抗病性关系极为密切, POD 的提高能够显著增强嫁接西瓜植株的抗枯萎病能力<sup>[18]</sup>。

### 3.2.2 分子育种

#### 3.2.2.1 DNA 直接导入

西瓜枯萎病是一种毁灭性土传病害, 选育抗枯萎病新品种是解决这一问题最根本和最有效的途径。南瓜和瓠瓜对西瓜枯萎病高抗或免疫, 用南瓜或瓠瓜作砧木进行西瓜嫁接栽培是防治西瓜枯萎病的一种有效方法, 但由于南瓜、瓠瓜与西瓜间的亲缘关系远, 利用常规育种方法无法将它们枯萎病抗性转育到西瓜上来。通过转基因技术获得西瓜抗枯萎病品种可打破远缘物种间的遗传距离, 从而实现分子水平上的远缘杂交, 获得抗枯萎病育种的突破。肖光辉等采用浸胚法, 即西瓜干种子直接浸在 500 mg/L 的 DNA 溶液中, 将瓠瓜 DNA 导入西瓜, 在病圃中经 3 代自交纯化和抗性筛选, D<sub>3</sub> 代选育出了 4 份抗性材料, 苗期接种鉴定结果表明, 有 2 份材料 (D<sub>3</sub>-1、D<sub>3</sub>-2) 对西瓜枯萎病高抗, 2 份材料 (D<sub>3</sub>-3、D<sub>3</sub>-4) 中抗。证明外源 DNA 导入是进行作物抗病育种的有效途径, 瓠瓜枯萎病抗性导入西瓜已获得抗枯萎病变异, 创造了全新的西瓜种质资源<sup>[19-24]</sup>。Chen 等通过花粉管通道法将抗镰刀枯萎病基因转入西瓜, 从南瓜叶中提取了对枯萎病抗性的全长 DNA, 携同 CaMV35S 启动子与 GUS 基因注射导入西瓜 F<sub>1</sub> 代杂种的胚珠, 通过人工授粉获得转基因杂种, 转化植株表现出枯萎病抗性<sup>[25]</sup>。王浩波等采用子房注

射法将南瓜总 DNA 导入西瓜, 获得 5 份稳定西瓜新材料, 经苗期人工接种和病圃田间自然抗性鉴定, 其抗病性明显提高. 试验表明, 子房注射法将外源 DNA 导入西瓜是一种简便实用的分子育种方法, 是解决西瓜抗病种质资源匮乏和遗传基础狭窄的有效途径<sup>[26]</sup>.

### 3.2.2.2 分子标记辅助育种

野生西瓜材料 PI296341 是国际上目前公认的唯一的一份抗枯萎病 3 个生理小种的抗源<sup>[27]</sup>, 将其抗性转育到西瓜栽培品种上来具有重大意义. 但由于 PI296341 的农艺性状与品质极差, 传统的转育方法效率较低, 分子标记技术的建立和发展为实现抗性的转育提供了一种新途径. 利用分子标记技术已找到了许多与抗病基因连锁的分子标记, 并进行定位或图谱克隆, 在甜瓜上已找到与抗枯萎病基因连锁的分子标记<sup>[28]</sup>. 2001 年, Hawkins 等采用 RAPD 标记绘出了西瓜抗枯萎病的连锁图谱, 筛选出了与生理小种 1 抗性相关的 3 个 RAPD 标记和与生理小种 2 抗性相关的 4 个 RAPD 标记. 但绘出的连锁图谱与抗性位点的联系过于松散, 而很难作为一种有效的分子辅助抗性选择手段<sup>[29]</sup>. 许勇等运用 RAPD 技术, 采用混合分组分析 (Bulked Segregant Analysis, BSA) 方法进行了西瓜 [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansfeld var. *citroides*] 野生种质 PI296341 抗枯萎病基因连锁的分子标记研究, 研究结果表明: 西瓜野生种质 PI296341 抗枯萎病生理小种 1 的抗性由单显性基因控制, RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA) 标记 OPP01/700 与其抗病基因连锁. 并将该 RAPD 标记 OPP01/700 进行克隆、测序, Southern 杂交证明此标记为 1 个拷贝, 并转化为以 PCR 为基础的检测标记, 即 SCAR(Sequence Characteristic Amplified Region) 标记, 通过简化 SCAR 扩增产物的检测技术以及在抗病育种后代选择中进行验证, 初步建立了西瓜抗枯萎病育种分子标记辅助选择技术系统. 这为高效利用西瓜野生种质的优良抗病性状提供了可能, 也为最终定位与克隆西瓜野生种质的抗病基因打下了良好基础<sup>[30,31]</sup>.

## 4 展望

西瓜枯萎病在我国各个栽种地区均有发生, 给西瓜生产造成严重的经济损失. 随着西瓜栽培面积迅速扩大, 重茬西瓜面积增多, 西瓜枯萎病的发生越来越普遍和严重, 而中国缺乏高抗枯萎病

的西瓜种质资源. 通过嫁接和转基因技术等途径获得西瓜抗枯萎病品种在西瓜枯萎病的防治方面发挥着重要作用, 可以有效的减少枯萎病的发生, 减轻枯萎病给西瓜生产带来的经济损失. 随着现代育种技术和植物基因工程的发展, 西瓜枯萎病的防治工作将会有更好的前景.

### 参考文献 (References):

- [1] 肖光辉, 郑素秋. 西瓜枯萎病的发生及药剂防治研究 [J]. 北方园艺, 1997, (3): 54-56.
- [2] 张学炜, 黄学森, 古勤生, 等. 西瓜品种对枯萎病抗性鉴定研究初报 [J]. 中国西瓜甜瓜, 1991, (1): 22-24.
- [3] 臧君彩, 罗维德, 孟昭萍, 等. 西瓜枯萎病发生危害与综合防治 [J]. 植物保护, 2001, 27(5): 48-49.
- [4] 迟照芳, 孙丰宝, 孙振军. 西瓜生理性急性萎蔫与镰刀菌引起枯萎病的区分与防治 [J]. 北方园艺, 2004, (6): 48-49.
- [5] 刘保才, 李才华, 夏新叶, 等. 西瓜根腐病和枯萎病的症状识别与防治 [J]. 中国西瓜甜瓜, 2004, (6): 39.
- [6] 李金荣, 王浩, 李晓维. 枯萎病对西瓜的危害及防治措施 [J]. 中国农学通报, 2003, 19(2): 169.
- [7] 川出武夫, 杨鼎新. 西瓜对枯萎病的抗性 [J]. 中国西瓜甜瓜, 2003, (1): 43-44.
- [8] 谢大森, 陈家旺. 西瓜枯萎病研究进展 [J]. 江西农业大学学报, 1997, 19(4): 42-45.
- [9] 于天祥, 张明方. 西瓜枯萎病研究进展 [J]. 中国西瓜甜瓜, 2004, (1): 17-19.
- [10] 刘伟, 张艳秋, 徐刚, 等. 西瓜枯萎病防治研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2004, 32(6): 1235-1237.
- [11] 李敏, 王维华, 刘润进, 等. 西瓜枯萎病抗病性研究进展 [J]. 莱阳农学院学报, 2003, 20(3): 165-167.
- [12] 张显. 西瓜枯萎病抗性机制研究 [J]. 西北农业大学学报, 1989, 17(4): 29-34.
- [13] 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): 877-880.
- [14] 许勇, 葛秀春. 枯萎病菌诱导的结构抗性和相关酶活性的变化与西瓜枯萎病抗性的关系 [J]. 果树科学, 2000, 17(2): 123-127.
- [15] 徐敬华, 黄丹枫, 支月娥. PAL 活性与嫁接西瓜枯萎病抗性传递的相关性 [J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2004, 22(1): 12-16.
- [16] 马国斌, 林德佩, 王叶筠, 等. 西瓜枯萎病菌镰刀菌酸对西瓜苗作用机制的初步探讨 [J]. 植物病理学报, 2000, (4): 373-374.
- [17] 张显, 王鸣. 西瓜枯萎病抗性及其与体内一些生化物质含量的关系 [J]. 西北农业学报, 2001, 10(4): 34-36.
- [18] 徐胜利, 陈小青, 陈青云. 嫁接西瓜植株的生理特性及其抗枯萎病能力 [J]. 中国农学通报, 2004, 20(2): 149-151.
- [19] 肖光辉, 肖兰异, 罗赫荣, 等. 瓠瓜 DNA 导入西瓜产生抗枯萎病变异的遗传研究 [J]. 中国西瓜甜瓜, 1998, (1): 5-8.

- [20] 肖光辉, 吴德喜, 刘建雄, 等. 外源 DNA 导入创造抗枯萎病西瓜种质资源 [J]. 湖南农业大学学报, 1999, 25(6): 453-457.
- [21] 肖光辉, 吴德喜, 刘建雄, 等. 西瓜种质创新途径及创新种质的抗病性鉴定 [J]. 作物品种资源, 1999, (2): 38-40.
- [22] 肖光辉, 吴德喜, 刘建雄, 等. 瓠瓜 DNA 导入西瓜获得抗枯萎病材料的初步研究 [J]. 中国蔬菜, 1999, (2): 36-37.
- [23] 肖光辉, 刘建雄, 肖兰异, 等. 瓠瓜枯萎病抗性导入西瓜的遗传研究与利用 [J]. 湖南农业大学学报, 2000, 26(2): 90-92.
- [24] 肖光辉, 肖兰异, 吴德喜, 等. 利用瓠瓜 DNA 导入西瓜材料选育西瓜抗病品种 [J]. 中国西瓜甜瓜, 1999, (2): 7-11.
- [25] CHEN W S, CHIU C C, LIU H Y, *et al.* Gene transfer via pollen-tube pathway for anti-fusarium wilt in watermelon [J]. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 1998, (6): 1201-1206.
- [26] 王浩波, 林 茂, 杨 坤, 等. 导入南瓜 DNA 选育抗枯萎病西瓜新种质的研究 [J]. 西北农业学报, 2002, 11(1): 24-27.
- [27] ZHANG Xing-ping, BILL R. Inheritance of resistance to race 0, 1 and 2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in watermelon (*Citrullus* sp. PI296341) [J]. *CGC Report*, 1993, 16: 77-78.
- [28] WECHTER W P, WHITEHEAD M P, THOMAS C E, *et al.* Identification of a randomly amplified polymorphic DNA marker linked to the *Fom 2* *Fusarium* wilt resistance gene in muskmelon MR-1 [J]. *Phytopathology*, 1995, 85(10): 1245-1249.
- [29] HAWKINS L K, DANE F, KUBISIAK T L, *et al.* Linkage mapping in a watermelon population segregating for fusarium wilt resistance [J]. *Amer Soc Hort Sci*, 2001, 126(3): 344-350.
- [30] 许 勇, 欧阳新星, 张海英, 等. 与西瓜野生种质抗枯萎病基因连锁的 RAPD 标记 [J]. 植物学报, 1999, 41(9): 952-955.
- [31] 许 勇, 张海英, 康国斌, 等. 西瓜抗枯萎病育种分子标记辅助选择的研究 [J]. 遗传学报, 2000, 27(2): 151-157.