

新疆棉花枯萎病菌群体变异监测研究^{*}

张莉^{1,2}, 吴彩兰², 李国英², 贾磊², 杨之为¹

(1 西北农林科技大学 植保学院, 陕西 杨凌 712100;

2 新疆兵团绿洲生态农业重点实验室, 新疆 石河子 832003)

[摘 要] 利用鉴别寄主法对40个新疆棉花枯萎病菌菌系进行了生理小种测定,同时采用nit 硝酸还原酶缺陷型突变体技术对棉花枯萎病菌菌系进行了营养亲和性测定。结果表明,28个供试菌系高度侵染海岛棉、陆地棉及K₁₀₂,属典型的7号生理小种,其余12个菌系在鉴别寄主上的反应与7号生理小种略有差异;供试菌系属于一个营养亲合群,且与7号生理小种的标准菌系相亲和,与3号、8号小种的标准菌系不相亲和;新疆棉花枯萎病菌依旧以7号生理小种为主。与以往的研究结果相比,新疆棉花枯萎病菌的群体组成基本没有发生变化。

[关键词] 棉花枯萎病菌;群体变异;生理小种;营养亲合群

[中图分类号] S435.621.2⁺4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)02-0095-04

棉花枯萎病菌(*Fusarium oxysporium* f. sp. *vasinfectum* (A tk) Synder et Hansen)具有较强的生理专化性,不同地区和不同生态条件下,枯萎病菌在形态上比较相似,但其致病力常存在差异。目前,世界上棉花枯萎病菌存在8个生理小种,我国有3号、7号、8号生理小种,其中以7号生理小种为优势小种,3号及8号仅在个别地区出现。1998年李国英等^[1]对新疆棉花枯萎病菌致病性分化的研究结果表明,新疆棉花枯萎病菌以7号生理小种为优势小种,未发现3号及8号生理小种。但是,近年来随着新疆植棉面积的不断扩大及从各地大量调运棉种,其病原种群是否有所变化,不少植棉单位存在一定疑问。为此,本研究采用常规鉴别寄主法和营养亲和性技术,对新疆棉花枯萎病菌的生理小种类型及其病原种群进行了研究,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材 料

2002~2003年自北疆、南疆、东疆等主要植棉区采集棉花枯萎病病株,用常规组织分离法获得86个棉花枯萎病菌菌系,从中选出40个具有代表性的菌系供试验用,供试菌系和标准菌系来源见表1。

1.2 鉴别寄主法鉴定

1.2.1 培养基 麦粒培养基:将小麦与大麦按质量

比1:1混合,水浸24h后捞出,装入耐高压塑料袋中,用报纸封口,高压灭菌2h,供接菌用。

查氏培养液:KNO₃ 2g, KH₂PO₄ 1g, MgSO₄ 0.5g, KCl 0.5g, FeSO₄·7H₂O 0.01g, 蔗糖30g, 蒸馏水1L。

1.2.2 鉴别寄主 采用目前国际上通用的一套棉属鉴别寄主进行鉴定,即海岛棉: Sakel, A shmouni, Coastland; 陆地棉: A cala, Row den, Stoneville; 辅助鉴别寄主: K102。

1.2.3 鉴定方法 采用塑料钵土壤接菌法:试验用土在160℃烘箱内烘烤2h,然后接入2.5%土壤重量的麦粒沙培养基菌种(具体方法是将分离纯化培养的各菌株接入250mL的查氏培养液中,25℃振荡培养7d,然后将各菌株再接入麦粒沙培养基上,每瓶接种50mL,25℃培养7d即可使用),充分混匀后装入塑料钵中,每个菌系装21钵,7钵放入一个塑料盘内,每钵播一个品种,每个菌系重复3次。

1.2.4 调查方法 种子出苗后20d开始调查,每隔7d调查1次,共调查4次,以最后1次调查为标准,统计各菌系的发病率和病情指数,并以病情指数作为划分品种抗性的标准,即“S”表示感病,病情指数在20.1以上;“W”表示发病较轻,病情指数在0.1~20.0;“R”表示抗病,病情指数为0。苗期枯萎病鉴定标准按5级进行,0级,健株;1级,1~2片子

^{*} [收稿日期] 2004-04-07

[基金项目] 新疆兵团绿洲生态农业重点实验室资助项目

[作者简介] 张莉(1970-),女,江苏如皋人,副教授,博士,主要从事棉花病害研究。E-mail: zhangli7010@sohu.com

[通讯作者] 杨之为(1941-),男,陕西西安人,教授,博士生导师,主要从事植物病害流行学和生态病理学研究。

E-mail: yzw_shta@public.xa.sn.cn

叶发病; 2 级, 1 片真叶发病; 3 级, 2 片或2 片以上真叶发病; 4 级, 植株生长点或全株枯死。

表1 40 个供试菌系和标准菌系的名称、来源及寄主

Table 1 The name of 40 strains of <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i> and their sources					
菌系 Strains	菌系来源 Source	棉花品种 Varieties	菌系 Strains	菌系来源 Source	棉花品种 Varieties
Fxj 9	新疆阿克苏 Xinjiang Akesu	长绒棉 Staple cotton	Fxj 112	新疆奎屯 Xinjiang Kuitun	91-2
Fxj 10	新疆阿克苏 Xinjiang Akesu	长绒棉 Staple cotton	Fxj 87	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	陆地棉 Upland cotton
Fxj 6	新疆阿克苏 Xinjiang Akesu	新海 15 Xinhai 15	Fxj 79	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	陆地棉 Upland cotton
Fxj 4	新疆阿克苏 Xinjiang Akesu	长绒棉 Staple cotton	Fxj 88	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	陆地棉 Upland cotton
Fxj 11	新疆阿克苏 Xinjiang Akesu	长绒棉 Staple cotton	Fxj 91	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	陆地棉 Upland cotton
Fxj 13	新疆阿克苏 Xinjiang Akesu	长绒棉 Staple cotton	Fxj 82	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	陆地棉 Upland cotton
Fxj 12	新疆阿克苏 Xinjiang Akesu	陆地棉 Upland cotton	Fxj 89	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	中 36 Zhong 36
Fxj 7	新疆阿克苏 Xinjiang Akesu	新海 14 Xinhai 14	Fxj 71	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	辽 97 Liao 97
Fxj 5	新疆阿克苏 Xinjiang Akesu	897	Fxj 77	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	陆地棉 Upland cotton
Fxj 25	新疆库尔勒 Xinjiang Kuerle	-	Fxj 76	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	陆地棉 Upland cotton
Fxj 26	新疆库尔勒 Xinjiang Kuerle	军棉 Jun cotton	Fxj 74	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	中 36 Zhong 36
Fxj 24	新疆库尔勒 Xinjiang Kuerle	-	Fxj 73	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	中 36 Zhong 36
Fxj 21	新疆库尔勒 Xinjiang Kuerle	海岛棉 Island cotton	Fxj 85	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	中 36 Zhong 36
Fxj 34	新疆和田 Xinjiang Hetian	中 35 Zhong 35	Fxj 86	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	中 36 Zhong 36
Fxj 31	新疆和田 Xinjiang Hetian	-	Fxj 90	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	陆地棉 Upland cotton
Fxj 37	新疆和田 Xinjiang Hetian	33B	Fxj 121	新疆伽师 Xinjiang Jiashi	中 35 Zhong 35
Fxj 109	新疆博乐 Xinjiang Bole	陆地棉 Upland cotton	Fxj 122	新疆伽师 Xinjiang Jiashi	-
Fxj 52	新疆五家渠 Xinjiang Wujiaqu	陆地棉 Upland cotton	Fxj 123	新疆石河子 Xinjiang Shihezi	-
Fxj 53	新疆五家渠 Xinjiang Wujiaqu	中 36 Zhong 36	Ag 2	中国农科院植保所赠 CAA S	棉花 Cotton
Fxj 51	新疆五家渠 Xinjiang Wujiaqu	中 36 Zhong 36	Ag 16	中国农科院植保所赠 CAA S	棉花 Cotton
Fxj 117	新疆奎屯 Xinjiang Kuitun	9615	Ag 84	中国农科院植保所赠 CAA S	棉花 Cotton
Fxj 116	新疆奎屯 Xinjiang Kuitun	C-6524			

1.3 营养亲和性鉴定

1.3.1 培养基 (1)PSA 培养基: 用于保存菌系。(2)KPS 培养基: 1L PSA 培养基, 15 g KClO₃, 用于诱发 nit 突变体。(3)BM 培养基 MM 培养基 MH 培养基 MO₂ 培养基配制及突变体的诱导和表型鉴定方法参照文献[2, 3]。

1.3.2 营养亲和性测定 在 niM, nit1, nit3 突变体类型中, niM 与 nit1 或 nit3 之间亲和性最强, 故本试验直接将各待测菌系的 nit1 或 nit3 突变体分别与标准菌系的 niM 突变体在 MM 培养基上等距离(相距约 2 cm)配对培养, 若两个突变体菌丝相接触处出现野生型生长, 则说明这 2 个菌系亲和, 它们属于同一营养亲和群; 反之, 则属于不同的亲和群。

2 结果与分析

2.1 鉴别寄主法测定结果

由表 2 可以看出, 依据不同鉴别寄主对每个菌系的反应型, 可将供试菌系划分为 3 个类群。第一类群有 28 个菌系, 致病力最强, 占供试菌系的 70.2%。高度侵染海岛棉和陆地棉, 也多感染辅助鉴别寄主 K102, 与内地报道的 7 号生理小种相同, 可以断定这些菌系为 7 号生理小种。第二类群有 4 个菌系, 致病

力中等, 严重感染海岛棉, 轻度感染陆地棉 Acala, 与 7 号小种相似。第三类群有 8 个菌系, 致病力较弱, 在海岛棉和陆地棉上致病力较复杂, 与内地报道的 3 号、7 号、8 号小种均有一定差异。

由此可见, 7 号生理小种是新疆棉区棉花枯萎病菌的优势生理小种, 与 1998 年李国英等^[1]所做的同类研究相比, 小种类型、组成没有变化, 这说明新疆棉花枯萎病菌的变异较小, 整体水平较为稳定。另外, 从表 2 还可以看出, 新疆棉花枯萎病菌的致病力较强, 以强致病力类型占主体, 占供试菌系的 70.0%, 中等和弱致病力类型仅占供试菌系的 30.0%。表 2 还表明, 7 号生理小种中的 28 个强致病力菌系在全疆各植棉区均有分布, 中等致病力和弱致病力的 12 个菌系在南北疆植棉区也均有分布, 但以北疆棉区为主, 南疆棉区棉花枯萎病菌的致病力相对较强, 这与北疆大部分棉区均种植本地品种有关。

2.2 nit 突变体营养亲和性鉴定结果

2.2.1 突变体的获得和表型鉴定 通过在 KPS 培养基上诱发, 供试的 40 个菌系共诱发得到 353 个 nit 突变体, 每个菌系至少获得一种表现型的 nit 突变体, 各种类型突变体的诱发比例由高到低依次为

nit1> nitM > nit3

2 2 2 营养亲和性测定 通过营养亲和性配对测定, 供试的 40 个菌系均属于同一亲合群, 且各菌系

诱发的突变体均与 7 号生理小种标准菌系的突变体亲和。因此, 供试的 40 个棉花枯萎病菌与 7 号生理小种属于同一个营养亲和群(VCG1) (表 2)。

表 2 40 个代表菌株致病性及亲和性测定结果

Table 2 The results of pathogenicity and vegetative compatibility test of 40 different hosts in Gossypium

菌 株	A shmouni		Sakel		Coastland		A cala		Stoneyine		Rowden		K102		平均病指	小种类型	营养亲合群
	病指 DI	反应型 RT	病指 DI	反应型 RT	病指 DI	反应型 RT	病指 DI	反应型 RT	病指 DI	反应型 RT	病指 DI	反应型 RT	病指 DI	反应型 RT	Average DI		
Fxj 116	78	S	73 3	S	84 3	S	54 3	S	81 9	S	86 5	S	61 3	S	74 3	7	VCG1
Fxj 52	95 7	S	58 3	S	89 3	S	67 1	S	89 3	S	69 2	S	38 5	S	72 8	7	VCG1
Fxj 87	90 2	S	51 9	S	54 3	S	-	-	61 2	S	49 2	S	73 9	S	63 4	7	VCG1
Fxj 34	93 3	S	70 8	S	69 4	S	45 2	S	62 9	S	45 8	S	54 3	S	63 1	7	VCG1
Fxj 25	86 2	S	43 8	S	87 5	S	45 5	S	50 8	S	67 8	S	43	S	60 9	7	VCG1
Fxj 79	63 6	S	52 3	S	66	S	65	S	51 9	S	76	S	39 3	S	59 1	7	VCG1
Fxj 9	75	S	54 2	S	79 2	S	41 1	S	59 4	S	59 1	S	18 7	W	55 2	7	VCG1
Fxj 26	63 4	S	70	S	61 9	S	37 1	S	69 8	S	44 4	S	36 8	S	54 8	7	VCG1
Fxj 10	81 8	S	52 3	S	73 1	S	30 4	S	22 4	S	28 6	S	78 8	S	52 5	7	VCG1
Fxj 6	71 7	S	57 5	S	72 6	S	51 7	S	44 8	S	32 5	S	24 1	S	50 6	7	VCG1
Fxj 88	53 6	S	57 9	S	85 4	S	28	S	44 7	S	46 9	S	32 4	S	49 8	7	VCG1
Fxj 4	61 6	S	94 2	S	26 3	S	25	S	55 2	S	28	S	51 4	S	48 8	7	VCG1
Fxj 11	45 8	S	54 1	S	62	S	41 3	S	51 7	S	43 2	S	42 5	S	48 7	7	VCG1
Fxj 91	73 1	S	52 7	S	57 5	S	32 3	S	46 7	S	47 3	S	31 2	S	48 7	7	VCG1
Fxj 82	73 8	S	32 7	S	92 2	S	30	S	50	S	33 3	S	8 7	W	46 6	7	VCG1
Fxj 31	55 2	S	69	S	41 7	S	31 2	S	37 5	S	45 8	S	44 8	S	46 5	7	VCG1
Fxj 24	56 7	S	52 5	S	61 5	S	32 5	S	46 5	S	35 8	S	39 1	S	46 4	7	VCG1
Fxj 37	68 8	S	35 8	S	46 2	S	34 2	S	35	S	57 5	S	45	S	46 2	7	VCG1
Fxj 89	87 5	S	44 6	S	65 9	S	20	W	32 5	S	26 2	S	44 4	S	45 9	7	VCG1
Fxj 71	52 9	S	55 6	S	54 8	S	35 8	S	42 5	S	47 4	S	29 8	S	45 6	7	VCG1
Fxj 21	54 8	S	45	S	43 3	S	45 6	S	50	S	40 7	S	38 9	S	45 5	7	VCG1
Fxj 109	58	S	40	S	58 6	S	49	S	25 9	S	31 5	S	41 7	S	43 5	7	VCG1
Fxj 77	53 8	S	16 3	W	58	S	26 9	S	50 9	S	47 5	S	46 1	S	42 8	7	VCG1
Fxj 76	48 9	S	16 1	W	64 6	S	43 3	S	52 7	S	50 9	S	19 3	W	42 2	7	VCG1
Fxj 121	63 3	S	29 4	S	66 1	S	25	S	44 3	S	26 9	S	23 8	S	39 8	7	VCG1
Fxj 51	34	S	41 4	S	58 7	S	33 3	S	30 6	S	48 8	S	6 5	W	36 2	7	VCG1
Fxj 13	36 8	S	26	S	51 8	S	28 4	S	67 7	S	32 7	S	5 3	W	35 5	7	VCG1
Fxj 74	30 6	S	36 3	S	50	S	22 3	S	38 9	S	33 9	S	32 7	S	34 9	7	VCG1
Fxj 73	25	S	40 6	S	59	S	19 2	W	38 3	S	42	S	12 5	W	33 8	近似 7 号 Near No 7	VCG1
Fxj 112	52 4	S	20 8	S	44 2	S	16 7	W	24 1	S	27 1	S	4 4	W	27 1	近似 7 号 Near No 7	VCG1
Fxj 117	52 4	S	15	W	48 1	S	16 7	W	27 8	S	20 8	S	4 4	W	26 5	近似 7 号 Near No 7	VCG1
Fxj 5	35 6	S	50 9	S	45 7	S	17 3	W	33	S	19 6	W	3 6	W	23 5	近似 7 号 Near No 7	VCG1
Fxj 53	87 5	S	-	-	10	W	63	S	95 8	S	9 7	W	71 6	S	56	?	VCG1
Fxj 122	57 1	S	64 1	S	63 9	S	10 4	W	17 2	W	17 1	W	18 4	W	35 5	?	VCG1
Fxj 12	15 6	W	19 1	W	63 2	S	24 1	S	41	S	44 2	S	21 7	S	32 7	?	VCG1
Fxj 7	72	S	11 9	W	63 9	S	15 2	W	44 5	S	4 2	W	5 2	W	30 9	?	VCG1
Fxj 85	49 1	S	7 9	W	52 1	S	10 6	W	42	S	29 6	S	9 1	W	28 6	?	VCG1
Fxj 86	31 3	S	11 2	W	55 4	S	13 5	W	34 4	S	17 7	W	6 6	W	24 3	?	VCG1
Fxj 90	23 9	S	20 6	S	58 1	S	15 4	W	10 8	W	9 3	W	8 2	W	20 9	?	VCG1
Fxj 123	23 5	S	11 5	W	11 1	W	12 5	W	7 8	W	6 8	W	3 1	W	11	?	VCG1

注:“S”表示病情指数在 20 1 以上,“W”表示病情指数在 0 1~ 20 0,“R”表示病情指数为 0。
Note:“S”show s Disease index is above 20 1;“W” show s Disease index is between 0 1and 20 1;“R” show s Disease index is 0

3 结论与讨论

本研究结果表明, 供试的 40 个棉花枯萎菌系均属于 7 号生理小种, 归属于强致病类型, 说明 7 号生理小种依旧是新疆棉花枯萎病菌的优势小种, 本

次试验仍未发现 3 号、8 号生理小种, 这一结果与同类研究结果基本相同^[1, 4], 说明新疆棉花枯萎病菌的群体组成基本没有变化。由此可见, 新疆棉花枯萎病菌整体水平较稳定, 病菌致病性变异较小。
在 70~ 80 年代初, 查明我国棉花枯萎病菌中致

病性弱的3号生理小种分布于新疆^[5,6]。本研究专门从长绒棉种植区采集了8个棉花枯萎病病株,期望能够发现3号生理小种,但是仍未发现。其原因可能是新疆棉花的种植结构变化后,因长绒棉种植区大量改种陆地棉,使得只侵染海岛棉而不侵染陆地棉的3号生理小种极难存活或发生了变异。

本研究结果表明,南疆棉区棉花枯萎病菌的致病力相对较强,其原因是南疆棉区从内地引种量较大,而北疆大部分棉区均种植本地品种。所以在进行

种子调运和品种选择时应该注意考察种子的来源,并加强种子带菌量的检验工作。

DNA的多态性为植物病原菌的种类鉴定提供了大量的遗传标记,各种分子生物学技术(RAPD, RFLP, PCR等)已广泛应用于植物病原的种、亚种、专化型、生理小种或致病类型的鉴定和诊断中^[7,8]。在棉花枯萎病菌群体变异监测中,如能将传统的鉴别方法与现代分子生物学方法相结合,对小种的鉴定及搞清各小种间的关系、变异趋势具有重要意义。

[参考文献]

- [1] 李国英,张莉,孙文姬,等.新疆棉花枯萎病菌生理小种的初步研究[J].石河子大学学报,1998,2(4):321-326
- [2] Correll J C, Klittich C J R, Leslie J F. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests[J]. Phytopathology, 1987, 77: 1640-1646
- [3] Puhalla J E. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility[J]. Canadian Journal of Botany, 1985, 63: 179-186
- [4] 李国英,丁胜利,张莉.当前新疆枯萎病发生情况及应采取的对策[J].新疆农垦科技,1997,9(增刊):111-115
- [5] 孙文姬,简桂良,陈其煊.我国棉花枯萎镰刀菌生理小种变异监测研究[J].中国农业科学,1999,32(1):51-57
- [6] 棉花枯萎镰刀菌生理型研究协作组.全国棉花枯萎病菌生理型试验研究报告[J].西北农学院学报,1981,9(4):15-19
- [7] Assegbetse K B, Fernandez D, Dubois M P, et al. Differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* Races on cotton by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis[J]. Phytopathology, 1994, 84: 622-626
- [8] Moricca S, Ragazzi A, Kasuga T, et al. Detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in cotton tissue by polymerase chain reaction[J]. Plant Pathology, 1998, 47: 486-494

Research on monitoring the population variation of cotton *Fusarium* wilt in Xinjiang

ZHANG Li^{1,2}, WU Cai-lan², LI Guo-yang², JIA Lei², YANG Zhi-wei¹

(1 College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Key Laboratory of Oasis Ecological Agriculture in Shihezi, Shihezi, Xinjiang 832003, China)

Abstract: The physiological races of 40 strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk) Synder et Hansen in Xinjiang were identified with the method of identification host. At the same time, Vegetative compatibility of cotton *Fusarium* wilt was determined by the technology of nitrate reductase deficiency. The results show that 28 severely infected strains of cotton *Fusarium* wilt belong to the typical race 7 of sea island cotton, upland cotton and K₁₀₂ and the reaction to the identification host of the other 12 cotton *Fusarium* wilt have little difference to the race 7. The whole tested strains belong to one vegetative compatibility group, which is compatible with standard strain of race 7 but not with standard strain of race 3 and race 8. The research result shows that race 7 is still primary in cotton *Fusarium* wilt in Xinjiang. Compared with previous research, the population components of cotton *Fusarium* wilt in Xinjiang have not changed yet.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum*; population variation; physiological race; vegetative compatibility group