瓜类细菌性果斑病菌对硫酸铜的敏感性检测与分析

赵文龙, 杨玉文, 王铁霖, 蒋 洁, 刘慧芹, 赵廷昌*

(中国农业科学院植物保护研究所,植物病虫害生物学国家重点实验室,北京 100193)

摘要 果斑病菌两个亚群的 143 个菌株继代培养 10 代后,通过平板画线法对各菌株的硫酸铜敏感性检测结果表明:在硫酸铜浓度为 $300~\mu g/mL(1.88~mmol/L)$ 时只有一株菌株表现敏感,在浓度达到 $750~\mu g/mL(4.69~mmol/L)$ 时所有菌株均表现敏感;浓度为 $450\sim650~\mu g/mL$ ($2.81\sim4.06~mmol/L$)时分离自甜瓜的敏感菌株所占比率显著低于西瓜菌株;继代培养后所有菌株的硫酸铜敏感性没有改变,证实果斑病菌具有稳定的抗铜性。

关键词 细菌性果斑病菌; 硫酸铜; 敏感性

中图分类号: S 481.4 文献标识码: A **DOI**: 10.3969/j. issn. 0529 - 1542. 2013. 06. 019

Sensitivity test and analysis of Acidovorax citrulli to copper sulfate

Zhao Wenlong, Yang Yuwen, Wang Tielin, Jiang Jie, Liu Huiqin, Zhao Tingchang

(State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract The 143 strains of Acidovorax citrulli from two subgroups were cultivated for ten generations and tested for copper sulfate sensitivity using streak plate method. The results indicated that only one strain was sensitive to copper sulfate at the concentration of 300 μ g/mL (1.88 mmol/L). All strains were sensitive at the concentration of 750 μ g/mL (4.69 mmol/L). The number of watermelon sensitive strains was much more than that of the melon strains at the concentration between 450 and 650 μ g/mL (2.81-4.06 mmol/L). The same sensitivity of subcultured strains and original strains indicated that A. citrulli has stable resistant ability to copper.

Key words Acidovorax citrulli; copper sulfate; sensitivity

瓜类细菌性果斑病(bacterial fruit blotch, BFB)是西瓜和甜瓜上最重要的毁灭性种传细菌性检疫病害,病原菌为西瓜嗜酸菌(Acidovorax citrulli, Ac)。菌株间存在比较丰富的遗传多样性,主要分为两个亚群,亚群 I 主要分离自甜瓜、南瓜等,亚群 II 主要分离自西瓜[1-4]。目前,该病害在美国、澳大利亚、韩国、日本、土耳其及泰国等国家均有发生。我国的西瓜、甜瓜种植面积和产量都位居世界前列,而且我国是西瓜、甜瓜的重要制种基地,该病害自1998年在我国首次报道以来[5],已经在我国大面积发生,给西甜瓜种植业造成了巨大的损失[6],成为目前我国西甜瓜种植业生产上亟待解决的问题。

田间防治果斑病的药剂主要是含铜杀菌剂^[7-8],随着铜化合物药剂的使用,菌株对铜的敏感度越来

越低,为果斑病的药剂防治带来困难。Walcott 等^[4] 对 35 株果斑病菌铜敏感度进行了初步检测,发现 83%的亚群 I 菌株对硫酸铜不敏感,菌株间对铜敏感性存在差异。目前,国内尚没有关于果斑病菌株对硫酸铜敏感度的检测报道,因此作者对实验室保存的 143 株菌株的硫酸铜敏感性进行了检测,以确定菌株的硫酸铜敏感浓度,以及不同菌株之间的敏感度差异,为合理使用含铜杀菌剂田间防治该病提供帮助。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验室保存的 143 株果斑病菌菌株。其中寄主 为甜瓜的菌株 71 株,寄主为西瓜的菌株 71 株(含寄主

收稿日期:2013-01-22修订日期:2013-03-26基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201003066);国家西甜瓜产业技术体系(CARS-26)* 通信作者E-mail;tingchangzhao@gmail.com

为打瓜的菌株 5 株),寄主为南瓜的菌株 1 株;亚群I菌株 91 株,亚群II菌株 52 株(表 1)^[9]。King's B(KB)培养基^[10],CuSO₄ • 5H₂O购自天津大学科威公司。

1.2 方法

1.2.1 不同浓度硫酸铜 KB 培养基配制

称取 0.3125 g CuSO₄ • $5H_2$ O,溶于 100 mL 的蒸馏水,配制 0.2%的母液,4 C冰箱保存。分别取母液 25.64、52.63、81.08、111.11、142.86、176.47、212.12、250、290.32、333.379.31、428.58、481.48、538.46、600 mL 加入 KB 培养基成分中,定容至1000 mL,配制含有 50、100、150、200、250、300、350、400 450、500、550、600 650 700 750 $\mu g/mL$ 硫酸铜平板的

KB培养基。融化培养基,制成含有不同浓度硫酸铜的 KB平板。

1.2.2 硫酸铜敏感性测定

将 143 株果斑病菌株(表 1)分批次在 KB 培养基上于 28 ℃下培养 48 h 后待用。挑取单菌落在含有不同浓度硫酸铜的 KB 平板上画线,28 ℃培养。每个浓度设 3 个重复,以不加硫酸铜的 KB 平板作为对照,2 d 后开始观察菌落生成情况,直至 10 d,观察期间若有单菌落生成则判定为不敏感,若无单菌落生成则定为敏感。挑取首次活化的菌株单菌落于KB 平板上进行继代培养,培养 10 代后,用同样方法再次对菌株的硫酸铜敏感性进行测定。

表 1 143 株瓜类细菌性果斑病菌

Table 1 143 strains of Acidovorax citrulli

菌株 Strain	采集 地点 Location	寄主 Host	分离 部位 Organ isolated	亚群 Subgroup	菌株 Strain	采集 地点 Location	寄主 Host	分离 部位 Organ isolated	亚群 Subgroup	菌株 Strain	采集 地点 Location	寄主 Host	分离 部位 Organ isolated	亚群 Subgroup
AAC29625	С	西瓜		I	pslb18	F	甜瓜	叶片	I	pslb93	K	甜瓜	叶片	I
AAC00-1	C	西瓜		I	pslb19	F	甜瓜	叶片	1	pslb94	K	加版	茎	I
AAC94-36	C	西瓜	_	I	pslb22	F	甜瓜	果实	1	pslb95	K	甜瓜	茎	1
AAC94-21	C	西瓜		I	pslb23	F	甜瓜	果实	I	pslb96	L	甜瓜		I
AAC 92-17	C	西瓜	:	11	pslb24	F	加版	果实	I	pslb97	M	甜瓜	果实	\mathbf{I}
AAC 94-55	C 2	西瓜		11	pslb25	F	加版	果实	I	pslb98	N	甜瓜		I
AAC 94-87	С	西瓜	<u> </u>	I	pslb27	F	甜瓜	果实	П	pslb99	О	和瓜	+ 1	I
AAC 94-39	С	西瓜	_	n	pslb28	F	甜瓜	果实	1	pslb101	L	甜瓜	果实	I
Saticoy B	С	加陆		11	pslb29	F	甜瓜	果实	I	pslb102	P	加版	叶片	1
AAC 94-48	C	西瓜	. .	II	pslb30	F	甜瓜	果实	Ι	pslb103	P	甜瓜	叶片	I
AAC 201-1	2 C	西瓜		п	pslb31	F	甜瓜	叶片	1	pslbtw1	Q	西瓜	果实	I
AAC 94-12	C	西瓜	· . <u> —</u> · · .	п	pslb35	G	甜瓜	子叶	I	pslbtw2	Q	西瓜	果实	I
AAC 203-5	0 W	甜瓜		п	pslb36	G	甜瓜	子叶	1	pslbtw3	Q	西瓜	果实	I
AAC 208-2	7 C	西瓜	4 <u>- 1</u>	п	pslb37	Н	甜瓜	果实	1	pslbtw5	Q	西瓜		Ι
AAC 205-1	4 C	西瓜	. ست	п	pslb38	Н	甜瓜	果实	I	pslbtw6	Q	西瓜		I
AAC 92-30	1 C	西瓜		1	pslb39	1	甜瓜	果实	I	pslbtw7	Q	西瓜		I
AAC 92-30	0 C	西瓜	_	I	pslb40	1	甜瓜	果实	I	pslbtw8	Q	西瓜	-	I
AAC 201-1	8 X	西瓜	_ `-	I	pslb41	1	甜瓜	果实	1	pslbtw9	Q	西瓜		I
AAC 98-17	C	南瓜		I	pslb42	1	甜瓜	果实	I	pslbtw10	Q	西瓜		I
AAC 99-5	C	甜瓜	4. - 4.	I	pslb44	Н	甜瓜		1	pslbtw11	Q	西瓜	-	I
AAC 200-2	3 C	西瓜	-	I	pslb45	H	甜瓜		1	pslbtw14	R	西瓜	果实	1
AAC 200-6	C	西瓜		I	pslb46	H	加版		1	pslbtw15	M	西瓜	叶片	1
AAC 201-1	3 X	西瓜	. 1	I	pslb47	Н	甜瓜		I	pslbtw16	S	西瓜	叶片	1
AAC 202-6	66 Y	加版	<u> </u>	I	pslb48	Н	甜瓜	子叶	1	pslbtw19	Т	西瓜	嫁接苗	1
AAC 203-5	55 Z	西瓜		1	pslb49	H	甜瓜	叶片	1	pslbtw20	U	西瓜	叶片	11
Fc183	\mathbf{C}^{-1}	西瓜	<u> </u>	I	pslb52	Н	甜瓜	叶片	1	pslbtw22	V	西瓜	果实	1
Fc380	С	西瓜	` .	11	pslb53	H	甜瓜	叶片	1	pslbtw23	V	西瓜	果实	11
Fc464	C	西瓜	- ,"	I	pslb54	Н	加版	叶片	1	pslbtw24	V	西瓜	果实	11
W 1	Y	西瓜		П	pslb60	H	甜瓜	_	I	pslbtw25	V	西瓜	果实	1
M6	Y	甜瓜		I	pslb61	Н	甜瓜		I	pslbtw26	v	西瓜	果实	II
Aacwl	Α	西瓜		1	pslb62	H	甜瓜		I	pslbtw27	H	打瓜	果实	11
Aacw2	Α	西瓜	 .	1	pslb63	Н	甜瓜		I	pslbtw28	H	打瓜	果实	1
Aac5	В	西瓜		П	pslb64	н	甜瓜	-	I	pslbtw29	H	打瓜	果实	11

菌株 Strain	采集 地点 Location	寄主 Host	分离 部位 Organ isolated	亚群 Subgroup	菌株 Strain	采集 地点 Location	寄主 Host	分离 部位 Organ isolated	亚群 Subgroup	菌株 Strain	采集 地点 Location	寄主 Host	分离 部位 Organ isolated	亚群 Subgroup
Aac13	В	西瓜		I	pslb65	Н	甜瓜		I	pslbtw30	Н	打瓜	果实	1
Aac14	В	西瓜		II	pslb68	J	甜瓜		1	pslbtw31	Н	打瓜	果实	1
Fc247	C	西瓜		I	pslb69	J	甜瓜		I	pslbtw32	S	西瓜	叶片	11
Fc356	D	西瓜	_	II I	pslb70	J	甜瓜		I	pslbtw33	S	西瓜	叶片	11
Fc376	C	四瓜		11	pslb71	J	甜瓜		1	pslbtw34	S	西瓜	果实	11
Fc491	Ε	西瓜	-	11	pslb73	J	甜瓜	-	I	pslbtw35	S	西瓜	果实	11
Fc520	C	西瓜	1	1	pslb74	J	甜瓜	-	I	pslbtw36	S	西瓜	果实	11
pslb1	Α	甜瓜	叶片	I	pslb75	J	甜瓜		I	pslbtw37	S	西瓜	果实	11
pslb2	Α	甜瓜	叶片	1	pslb76	J	甜瓜	-	I	pslbtw38	S	西瓜	果实	11
pslb3	A_{i}	甜瓜	叶片	1	pslb86	H	甜瓜	-	1	pslbtw39	T	西瓜	子叶	11
pslb4	A	甜瓜	叶片	1	pslb88	Α	甜瓜	果实	I	pslbtw40	L	西瓜	子叶	11
pslb8	Α	甜瓜	叶片	I	pslb89	Α	甜瓜	果实	1	pslbtw41	V	西瓜	子叶	1
pslb9	A	甜瓜	叶片	1	pslb90	Α	甜瓜	果实	I	pslbtw42	V	西瓜	子叶	1
pslb10	A	甜瓜	叶片	I	pslb91	Α	甜瓜	果实	1	pslbtw43	V	西瓜	子叶	11
pslb15	A	甜瓜	叶片	I	pslb92	A	甜瓜	果实	1					

¹⁾ A-中国内蒙古临河市;B-中国台湾;C美国;D-印度;E-日本;F-中国内蒙古临河市八一乡;G-中国内蒙古巴盟农业多种经营站;H-中国新疆;I-中国新疆呼图壁;J-中国新疆阿尔泰;K-中国新疆五家渠;L-中国海南;M-中国山东;N-中国河北乐亭;O-中国浙江宁波;P-中国新疆222 团;Q-中国北京;R-中国广东;S-中国黑龙江哈尔滨;T-中国海南文昌;U-中国海南三亚;V-中国北京大兴;W-智利;X-澳大利亚;Y-以色列;Z-洪都拉斯。

A-Linhe City, Inner Mongolia, China; B-Taiwan, China; C-America; D-India; E-Japan; F-Bayi Town, Linhe City, Inner Mongolia, China; G-Inner Mongolia Barneng agricultural management station, China; H-Xinjiang, China; I-Hutubi, Xinjiang, China; J-Altai, Xinjiang, China; K-Wujiaqu, Xinjiang, China; L-Hainan, China; M-Shandong, China; N-Leting Town, Hebei, China; O-Ningbo City, Zhejiang, China; P-Xinjing 222 group, China; Q-Beijing, China; R-Guangdong, China; S-Harbin, Heilongjiang, China; T-Wenchang City, Hainan, China; U-Sanya City, Hainan, China; V-Daxing District, Beijing, China; W-Chile; X-Australia; Y-Israel; Z-Honduras.

2 结果与分析

2.1 果斑病菌对硫酸铜的敏感性

果斑病菌对不同浓度硫酸铜敏感性的检测结果见表 2。供试所有菌株在对照和低浓度硫酸铜培养基中均能正常生长,表现为不敏感,因此低于300 µg/mL(1.88 mmol/L)处理结果没有在表中显示。浓度为300 µg/mL时,菌株生成单菌落的时间开始延缓,随着硫酸铜浓度的增加,部分菌株表现出对硫酸铜敏感(表

2)。浓度为 300 μ g/mL(1. 88 mmol/L)、350 μ g/mL(2. 19 mmol/L)时除 pslbtw43 菌株外所有菌株表现为不敏感,在浓度达到 700 μ g/mL(4. 38 mmol/L)时,分离自我国的所有菌株均不能生长,而来自国外亚群I的 8 株菌株在此浓度下仍然能够生长,表现出良好的抗性,浓度达到 750 μ g/mL(4. 69 mmol/L)后所有菌株在培养 10 d 内均不能生长。将菌株继代培养 10 代后,再一次检测所有菌株的敏感性,试验结果与第一代没有差异。

表 2 果斑病菌对不同浓度硫酸铜敏感性检测结果¹⁾
Table 2 Sensitivity of 143 strains of A. citrulli to copper sulfate

菌株			硫i Concer	酸铜剂 ntratic				e		菌株	硫酸铜浓度/μg•mL ⁻¹ Concentration of copper sulfate									
Strain	300	350	400	450	500	550	600	650	700	O Strain	300	350	400	450	500	550	600	650	700	
AAC29625	+	+	+	+	+	+	+	+	+	pslb94	+	+	+	+	+	+	+	+		
AAC92-301	4	+	+	+	+	+	+	+		pslb95	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
AAC92-300	+	+	4-	+	+	+	+	+	- 1	pslb96	+	+	_							
AAC201-18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	pslb97	+	+	+	+	+	+	+	-		
AAC98-17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	pslb98	+	+	+	+	+	+	+	-		
AAC99-5	+	+	+	+	+	+	+	+	- 1	pslb99	+	+	+	+	+	+	+	-		
AAC200-23	1+	+	4	+	+	+	+	+	+	pslb101	+	+	+	+	+	+	+	+		
AAC200-6	+	+	+	+	+	.+-	+	+	+	pslb102	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
AAC201-13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	pslb103	+	+	+	+	+	+	+	+		
AAC202-66	+	+	+	+	+	+	+	+	+	pslbtwl	+	+	+	+	+	+	+	2		
AAC203-55	+	+	+	+	4	+	+	+	- 1	pslbtw2	+	+	+	4	+	+	+	4		

续表 2 Table 2(Continued)

			硫	设铜 浓	度/μ	g • ml		支 2	Table	2 (Continued)	硫酸铜浓度/µg・ml1										
菌株 Strain		(Concer					e		菌株 Strain	Concentration of copper sulfate										
Strain	300	350	400	450	500	550	600	650	700	Strain	300	350	400	450	500	550	600	650	700		
Fc464	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw3	+	+	+	+	+	+	+-	+	-		
M6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	pslbtw5	+	+	+	+	+	+	+	+	-		
Aacwl	+	+	+	+	+	+	+	+		pslbtw6	+	+	+	+	+	+	+	+			
Aacw2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw7	+	+	+	+	+	+	+	+	-		
Fc247	+	+	+	+	+	+	+			pslbtw8	+	+	+	+	+	+	**	+			
Fc520	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw9	+	+	+	+	+	+	+	+			
pslb1	+	+	+	+	+	+	+			pslbtw10	+	+	+-	+	+	+	+	+	-		
pslb2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw11	+	+	+	+	+	+	+	+			
pslb3	+	+	+	+	+	+	+			AAC00-1	+	+	+	-							
pslb4	+	+	+	+	+	+	+	+		AAC94-36	+	+	+	_							
pslb8	+	+	+	+	+	+	+	-		AAC94-21	+	+	+	-							
pslb9	+	+	+	_						AAC92-17	+	+	+	_							
pslb10	+	+	+	+	+	+	+	+		AAC94-55	+	+	+	+	-						
pslb15	+	+	+	+	+	+	+	+		AAC94-87	+	+	+	+							
pslb18	+	+	+	+	+	+	+	+	- 1	AAC94-39	+	+	+	-							
pslb19	+	+	+	+	+	+	+	+	- 1	Saticoy B	+	+	+	+							
pslb22	+	+	+	4	+	+	+	+		AAC94-48	+	+	+	+							
pslb23	+	+	+	+	+	+	+	+	- 1	AAC201-12	+	+	+								
pslb24	+	+	+	+	+	+	+	+	_	AAC94-12	+	+	+	-							
pslb25	+	+	+	+	+	+	+	+		AAC203-50	+	+	+	_							
pslb28	+	+	+	+	+	+	+	+	_	AAC208-27	+	+	+								
pslb29	+	+	+	+	+	+	+	<u></u> -		Fc183	+	+	+	_							
pslb30	+	+	+	+	+	+	+	+	_	Fc380	+	+	+								
pslb31	+	+	+	+	+	+	+	+	_	wl	+	+	+								
pslb35	+	+	+	+	+	+	+	+	_	AAC205-14	+	+									
pslb36	+	+	+	+	+	+	+	+		Aac5	+	+	+								
pslb37	+	+	+	+	+	+	+	+	_	Aacl3	+	+	+								
pslb38	+	+	+	+	+	+	+	+	_	Aacl4	+	+	+								
pslb39	+	+	+	+	+	+	+	+		Fc356	+	+	+	4-							
pslb40	+	+	+	+	+	+	+	+	_	Fc376	+	+	+	_							
pslb41	+	+	+	+	+	+	+	+	_	Fc491	+	+	_								
pslb42	+	+	+	+	+	+	+	+	_	pslb27	+	+	+								
pslb44	+	+	+	+	+	+	+	+	_	pslb86	+	+	+								
pslb45	+	+	+	+	+	+	+			pslbtwl4	+	+	, +	+	_						
psib45 pslb46	+	1	+	+	+	+	+	+		pslbtw15	+	<u>.</u>	, 	+	4						
pslb47	+	+	+	+	+	+	+	+	_	pslbtw16	+	+	+	+							
	+	+	+	т +	+	+	+	+	_	psibtw19	+	+	+	+							
pslb48			+		+	+	+	+	_	psibtw19 pslbtw20	+	+	+								
pslb49	+	++		+	+	+	+	+	_	psibtw20 pslbtw22	+	+	+	+							
pslb52	+		+																		
pslb53	+	+	+	+	+	+	+	7		pslbtw23	+	+	+	-							
pslb54	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw24	+	+	+	-							
pslb60	+	+	+	+	+	+	+	+	_	pslbtw25	+	+	+	+							
pslb61	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw26	+	+	+	+							
pslb62	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw27	+	+	+								
pslb63	+	+	+	+	+	+	+	_		pslbtw28	+	+	+	*+							
pslb64	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw29	+	+	+	+							
pslb65	+	+	+	+	+	+	+	+	_	pslbtw30	+	+	+	+							
pslb68	+	+	+	+	+	+	+			pslbtw31	+	+	+	+							
pslb69	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw32	+	+	+	+							
pslb70	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw33	+	+	+	+	-						
pslb71	+	+	+	+	+	+	+	+	_	pslbtw34	+	+	+	-							
pslb73	+	+	+	+	+	+	+	+		pslbtw35	+	+	+								

菌株 Strain		. (酸铜浓 ntratic			−1 sulfat	e		菌株 Strain	硫酸铜浓度/μg•mL ⁻¹ Concentration of copper sulfate									
Strain	300	350	400	450	500	550	600	650	700	Strain		300	350	400	450	500	- 550	600	650	700
pslb74	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw36		. +	+	+						
pslb75	+	+	+	+	+	+	+	+	_	pslbtw37		+	+	+						
pslb76	+	+	+	+	+	+	+	$_{1}+^{\frac{1}{2}}$	-	pslbtw38		+	+	+	+					
pslb88	+	+	+	+	+	+	+	+		pslbtw39		+ .	+	+	-					
pslb89	+	+	+	+	+	+ '	+	+	<u> </u>	pslbtw40		+	+							
pslb90	+	+	+	+	+	+	+	+	-	pslbtw41		+	+	+	+					
pslb91	+	+	+	+	+-	$\dot{p}_{ij} + \dot{p}_{ij} = 0$	+	+	_	pslbtw42		+:	+	+	+					
pslb92	+	+	+	+	. +	+	+			pslbtw43										
pslb93	+.	+	+.	+:	+	. +	+	+	: 											

续表 2 Table 2(Continued)

2.2 不同寄主菌株硫酸铜敏感性差异

对不同寄主菌株的硫酸铜敏感性进行了统计分析 (图 1)。在硫酸铜浓度低于 400 µg/mL(2.5 mmol/L) 时,2 种寄主上的敏感菌株数量无显著差异。浓度为 450 µg/mL(2.81 mmol/L)时,西瓜和甜瓜上的敏感菌株数量开始增加。500 µg/mL(2.13 mmol/L)时 32% 分离自西瓜的菌株不敏感,其中分离自打瓜的菌株全部不能生长,92%分离自甜瓜的菌株不敏感。浓度为 500~650 µg/mL(2.13~4.06 mmol/L)时分离自西瓜和甜瓜的敏感菌株比率无显著变化。浓度为 700 µg/mL(4.38 mmol/L)时,3%分离自甜瓜的菌株不敏感,但此时仍有 7%分离自西瓜的菌株能够生长,该浓度下不敏感的菌株全部来自于美国(Walcott 赠送)。综合分析表明寄主为甜瓜的菌株比其他寄主的菌株对硫酸铜具有更低的敏感性,即有更高的抗铜性。

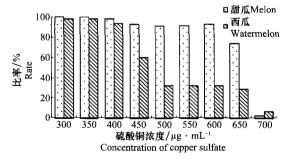


图 1 不同硫酸铜浓度下不同寄主菌株的生长比率 Fig. 1 The growth rate of strains from different hosts under different copper sulfate concentrations

2.3 亚群Ⅰ和亚群Ⅱ菌株硫酸铜敏感性差异

通过对亚群 I 和亚群 II 菌株硫酸铜敏感性的统计分析,结果表明:硫酸铜浓度低于 450 μg/mL

(2.81 mmol/L)时亚群I和亚群II菌株敏感性没有差异;在浓度为 450 μ g/mL(2.81 mmol/L)时,亚群II菌株中对硫酸铜不敏感的菌株所占比例开始显著降低,在 500 μ g/mL(2.13 mmol/L)时所有亚群II菌株均不能生长。在浓度为 650 μ g/mL(4.06 mmol/L)时,亚群 I 不敏感菌株数量开始出现较明显的下降,但仍有 82%的菌株不敏感;浓度为 700 μ g/mL(4.38 mmol/L)时,有 9%亚群 I 菌株不敏感;在 750 μ g/mL(4.69 mmol/L)浓度时所有亚群 I 菌株均不能生长。分析结果表明亚群 I 菌株硫酸铜敏感性显著低于亚群 II 菌株(图 2)。

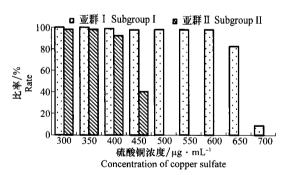


图 2 不同硫酸铜浓度下两组菌株的生长比率
Fig. 2 The growth rate of strains from different groups
under different copper sulfate concentrations

3 讨论

通过检测,确定了 143 株果斑病菌株的硫酸铜敏感浓度。供试 143 株果斑病菌菌株包含来自我国西瓜、甜瓜主产区的 10 个省市,地理来源丰富、具有代表性,因此试验结果可以体现我国果斑病菌菌株的硫酸铜敏感性。试验采用与 Walcott R R 相同的检测方法,且试验所用部分国外供试菌株也相同。Walcott R R 对

^{1) &}quot;十"表示不敏感可生长,"一"表示敏感不可生长。

[&]quot;+" represents that strains can grow on the plate, "-" represents that strains cannot grow on the plate.

200 μg/mL(1.25 mmol/L)硫酸铜浓度下不敏感的菌株并没有继续检测其硫酸铜敏感浓度;其试验结果表明在硫酸铜浓度为100 μg/mL(0.63 mmol/L)时即有菌株表现为敏感,而本试验在相同浓度和相同观察时间下相同供试菌株均表现为不敏感^[4]。来自美国的部分菌株在浓度达到700 μg/mL(4.38 mmol/L)时仍能够生长,而来自于我国的菌株在该浓度下均不能生长,该结果表明美国的菌株对铜有更高的抗性。试验试图分析菌株硫酸铜敏感度与时间、地理来源的关系,但由于相同地点不同时间段菌株的来源与数量有限,无法得出伴随铜制剂农药的使用等因素使果斑病菌株的铜敏感度逐年增加的结论,需要进一步进行对该病害的监测和病原菌的分离检测。

综合分析表明寄主为甜瓜的菌株比寄主为西瓜 的菌株对硫酸铜具有更低的敏感性,但不是所有寄 主为甜瓜的菌株抗铜性都高于其他寄主的菌株。通 过对不同亚群菌株硫酸铜的敏感性分析表明,亚群 Ⅰ菌株硫酸铜敏感性显著低于亚群 Ⅱ 菌株; 硫酸铜 浓度为 500 μg/mL(3.13 mmol/L)时,亚群 I 菌株 只有2%敏感,而亚群Ⅱ菌株100%敏感,且根据试 验中的观察,在不同浓度硫酸铜平板上,亚群 I 菌株 形成单菌落的速率也高于亚群 Ⅱ 菌株,表明亚群 Ⅱ 菌株抗铜性均较弱,因此使用铜制剂防治该亚群果 斑病可以获得更好的效果。造成寄主为甜瓜的菌株 比寄主为西瓜的菌株对硫酸铜具有更低的敏感性的 原因可能是:通常情况下,甜瓜叶片显症明显,瓜农 在发现叶片病斑后,为了防止病害进一步暴发,造成 较大的经济损失,通常选择第一时间喷洒农药;而西 瓜叶片症状不明显,瓜农往往不施药;因此甜瓜较西 瓜用药更加频繁,使得分离自甜瓜的菌株对铜有更 高的抗性。但该原因无法解释寄主为甜瓜的亚群Ⅱ 菌株抗铜性较差,寄主为西瓜的亚群 I 菌株抗铜性 较高。显然以亚群判断菌株的抗铜性更加科学与准 确。因此要想真正阐明果斑病菌株间抗铜性差异的 原理,需要进一步从生理与分子机理上开展研究。 本研究仅有一株来自于美国寄主为南瓜的菌株,该 菌株对硫酸铜的敏感度为 700 μg/mL(4.38 mmol/ L),由于数量有限无法对南瓜上的菌株硫酸铜敏感 性作出判断,需要进一步获得更多菌株。

田间防治果斑病的主要含铜杀菌剂 53.8% 氢氧化铜干悬浮剂 800 倍液,铜浓度约为6.86 mmoL/L;

47%春·王铜可湿性粉剂 800 倍液,铜浓度约为 5.23 mmoL/L。两种农药的铜含量均高于4.69 mmoL/L (750 μg/mL),存在滥用现象。在大田发生病害后,并没有根据菌株的不同而设定使用不同浓度的农药。因此本试验菌株硫酸铜敏感浓度以及不同亚群和寄主菌株间硫酸铜敏感性差异的确定为科学合理地选择果斑病防治方法及使用铜制剂农药浓度提供了理论依据。合理的使用、选择农药不仅可以降低成本、减少农药残留、减少污染、有效地控制病害,更可以减缓菌株对农药抗性提升的速度,提升果斑病的防治效率。供试菌株继代培养后的检测结果没有差异,表明菌株具有稳定的铜抗性。果斑病菌是否存在抗铜性基因目前还不清楚,抗铜机理也尚未研究,在今后的试验中可以在分子水平对其进行研究分析。

参考文献

- [1] Somodi G C, Jones J B, Hopkins D L, et al. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida[J]. Plant Disease, 1991, 75(10); 1053 1056.
- [2] O'Brien R G, Martin H L. Bacterial blotch of melons caused by strains of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* [J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 1999, 39; 479 485.
- [3] Walcott R R, Langston D B, Sanders F H, et al. Investigating intraspecific variation of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* using DNA fingerprinting and whole cell fatty acid analysis[J]. Phytopathology, 2000, 90: 191-196.
- [4] Walcott R R, Fessehaie A, Castro A C. Differences in pathogenicity between two genetically distinct groups of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on cucurbit hosts[J]. Phytopathology, 2004, 152: 277 285.
- [5] 张荣意,谭志琼,文衍堂,等. 西瓜细菌性果斑病症状描述和病原菌鉴定[J]. 热带作物学报,1998,19(1):70-75.
- [6] 阎莎莎,王铁霖,赵廷昌.瓜类细菌性果斑病研究进展[J]. 植物检疫,2011,25(3):71-75.
- [7] Hopkins D L. Control of bacterial fruit blotch of watermelon with cupric hydroxide[J]. Phytopathology, 1991, 81; 1228.
- [8] Hopkins D L. Copper-containing fungicides reduce the spread of bacterial fruit blotch of watermelon in the greenhouse [J]. Phytopathology, 1995, 85; 510.
- [9] Yan Shasha, Yang Yuwen, Wang Tielin, et al. Genetic diversity analysis of *Acidovorax citrulli* in China [J]. European Journal of Plant Pathology, 2013,136(1):171 181.
- [10] King E O, Ward M K, Raney D E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin[J]. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 1954, 44(2): 301 307.