

冬瓜枯萎病菌与节瓜枯萎病菌的差异比较

谢大森¹, 何晓明¹, 何素娟², 彭庆务¹

(¹广东省农业科学院蔬菜研究所, 广东广州 510640; ²华南农业大学园艺学院, 广东广州 510642)

摘要: 对冬瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* (schl.) f.sp. *benincasae* 与节瓜枯萎病菌 *F. oxysporum* (schl.) f.sp. *chieh-qua* 在形态、致病力、致病速度、毒素分泌量、寄主范围等方面进行了比较研究。结果表明二者的形态基本相似, 但在致病力、致病速度、毒素分泌量、寄主范围等方面均存在较大差异。从而推断冬瓜枯萎病菌与节瓜枯萎病菌可能不是同一病原物。

关键词: 冬瓜枯萎病菌; 节瓜枯萎病菌; 形态; 致病力

中图分类号: S432.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-411X(2006)02-0045-03

Studies on Differences Between the Pathogens Brought Wilt Disease

in Wax Gourd and Chieh-Qua

XIE Da-sen¹, HE Xiao-ming¹, HE Su-juan², PENG Qing-wu¹

(¹ Vegetable Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; ² College of Horticulture, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Differences between the pathogens brought wilt disease in wax gourd and chieh-qua were studied. The results showed that two pathogens were similar in shape, while different in ability of infection, speed of infection, the yield of toxin and scope of parasitism, thus indicated that the isolate of wax gourd wilt was not the same as that of chieh-qua wilt.

Key words: *Fusarium oxysporum* (schl.) f. sp. *benincasae*; *F. oxysporum* (schl.) f. sp. *chieh-qua*; shape; ability of infection

冬瓜 *Benincasa hispida* Cogn. 在我国有悠久的栽培历史, 分布全国各地, 其产量高, 耐贮运, 既可鲜销, 又可加工, 仅广东、广西冬瓜年种植面积达 4 万 hm^2 。节瓜 *Benincasa hispida* Cogn. var. *chieh-qua* How. 是冬瓜属的一个变种, 仅广东节瓜年种植面积达 1 万 hm^2 以上。冬瓜、节瓜是调节夏秋蔬菜淡季的主要品种, 也是广东省北运和出口创汇的重要蔬菜。随着市场对冬瓜、节瓜需求量的增加, 冬瓜、节瓜生产有进一步扩大的趋势。枯萎病是制约冬瓜、节瓜扩大生产的主要病害之一, 在老菜区, 冬瓜发病率高达 60%, 节瓜为 50% ~ 80%, 严重影响冬瓜、节瓜的产品质量和产量。有关瓜类枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* 的研究早在 20 世纪 70 年代已经开展, 尤其是对

西瓜、甜瓜、黄瓜枯萎病菌生理小种、接种浓度、接种方法、致病机理、抗性遗传等方面进行了系统、深入研究^[1-3]。Gertagh 等^[4]最先报道导致冬瓜枯萎病的病原物是一种新的专化型——冬瓜枯萎病菌专化型 *Furarium oxysporum* (schl.) f. sp. *benincasae*。随后谢双大等^[5]证实了此观点。孙妍芳等^[6]、曾永三等^[7]分别对冬瓜、节瓜枯萎病菌的生物学特性进行了研究。谢双大等^[5]认为导致节瓜产生维管束枯萎病的病菌也是尖镰孢菌冬瓜专化型。然而, 笔者在长期的抗性鉴定实践中发现导致冬瓜和节瓜发生枯萎病的病菌并不相同。迄今为止, 国内外相关报道甚少。开展瓜类枯萎病菌专化型的研究有利于进行抗源材料的筛选, 明确冬瓜、节瓜枯萎病菌的专化型可以加

收稿日期: 2005-09-15

作者简介: 谢大森(1970-), 男, 副研究员, 博士研究生, E-mail: dasenxie@21cn.com

基金项目: 广东省科技计划项目(2003A2010301); 广东省自然科学基金(04002088); 广州市科技攻关项目(NK0401002)

快冬瓜、节瓜抗病育种进程。

1 材料与方法

1.1 试验材料

新鲜病株采自广东省佛山市南海区、台山市、清远市、东莞、佛山市三水区、广州市花都区、博罗县等冬瓜、节瓜主产区。接种材料:巨人二号黑皮冬;江心四号节瓜(由广东省农业科学院蔬菜研究所提供)。

1.2 病菌分离

参照柯赫氏法则获得致病病原物。经单孢分离、纯化获得不同来源的菌株系,孢子液人工接种上述接种材料,选留致病力强的菌株系,备用。

1.3 病菌的毒素提取方法

参照谢大森等^[8]的方法进行毒素培养,在 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 下振荡培养 20 d 后,培养液过滤、离心,滤液为毒素粗提液。将毒素粗提液用 4 mol/L HCl 调 pH 至 3,用乙酸乙酯萃取 3 次,萃取液经旋转蒸发仪浓缩至干,无水乙醇冲洗,滤去残渣,得到镰刀菌酸(fusaric acid, FA)粗制品溶液。

1.4 形态学观察

利用高倍显微镜测量大分生孢子、小分生孢子和厚垣孢子大小,观察其形状。

1.5 冬瓜、节瓜幼苗的准备

种子经消毒、催芽后,播到已灭菌的疏松基质上,在 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 2 000 lx 光照的生长箱内培养,昼夜温差保持 10°C ,在一叶一心(或二叶)期,小心将幼苗拔出,洗净根部。

1.6 人工接种方法

2001~2003 年参照谢大森等^[9]的方法采用切除部分须根法(即伤根法)对幼苗进行浸泡接种,接种孢子浓度 $5 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$;2004 年春、秋季还对包括苗期人工接种材料在内的 25 份冬瓜、节瓜材料进行了成株期人工接种,采用伤根浇灌法,每株接种量为 50 mL,接种孢子浓度 $5 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 。

1.7 寄主范围试验

参考黄瓜、西瓜枯萎病菌寄主范围鉴定方法^[1,10-11],选取黄瓜 *Cucumis sativus*、瓠瓜 *Lagenaria leucantha*、冬瓜、节瓜、南瓜 *Cucurbita maschata*、苦瓜 *Momordica charantia*、丝瓜 *Luffa acutangula*、甜瓜 *Cucumis melon*、西瓜 *Citrullus lanatus* 为寄主材料,以上作物属 5 个属,9 个种,种子均由广东省农业科学院蔬菜研究所提供。

以上各处理均设 3 次重复,调查病情指数按 Vakalounakis 等^[3]的致萎程度分级方法进行。

2 结果与分析

2.1 冬瓜、节瓜枯萎病菌的形态差异

冬瓜枯萎病菌、节瓜枯萎病菌在形态上基本相似,大型分生孢子都是典型的镰刀形,有足细胞,有 3 个隔膜,节瓜枯萎病菌少数存在 4~5 个隔膜;小型分生孢子都是椭圆形,无隔膜。但在分生孢子的大小方面存在少许差异。冬瓜枯萎病菌大型分生孢子 $41.3 \sim 45.2 \mu\text{m} \times 4.2 \sim 4.4 \mu\text{m}$,小型分生孢子 $12.5 \sim 16.3 \mu\text{m} \times 3.8 \sim 4.4 \mu\text{m}$;节瓜枯萎病菌大型分生孢子 $39.0 \sim 46.2 \mu\text{m} \times 4.0 \sim 4.2 \mu\text{m}$,小型分生孢子 $13.5 \sim 17.3 \mu\text{m} \times 3.8 \sim 4.2 \mu\text{m}$ 。

2.2 分泌毒素的量

毒素是枯萎病菌分泌的一种致使植株发病的化学物质,它是产生枯萎病萎蔫症状的机理之一。从表 1 中可看出,在相同的培养条件 $[(25 \pm 2)^\circ\text{C} 120 \text{ r/min}$ 振荡培养 20 d]、接种孢子浓度 $(3 \times 10^6 \text{ mL}^{-1})$ 、体积(200 mL Richard 培养液)下,冬瓜枯萎病菌、节瓜枯萎病菌分泌的 FA 量不同,每 200 mL 分别为 70.23 和 82.43 mg,两者差异达显著水平。

表 1 两种病菌分泌毒素量的差异¹⁾

Tab. 1 Difference in production of FA between two kinds of pathogen

病菌 pathogen	FA 产量 ²⁾ FA production/mg			均值 ²⁾ mean/mg
	I	II	III	
冬瓜枯萎病菌				
<i>F. oxysporum</i> (schl.)	64.5	70.4	75.8	70.23a
f. sp. <i>benincasae</i>				
节瓜枯萎病菌				
<i>F. oxysporum</i> (schl.)	87.0	68.0	92.3	82.43b
f. sp. <i>chieh-qua</i>				

1) 同列数据后,不同字母表示经方差分析在 0.05 水平上差异显著(新复极差法);2) 为 200 mL 的产量及均值

2.3 冬瓜、节瓜枯萎病菌对冬瓜、节瓜致病力比较

相同的接种浓度,冬瓜、节瓜枯萎病菌分别对冬瓜、节瓜进行人工接种,结果发现:节瓜枯萎病菌对冬瓜、节瓜均能致病,但其致萎程度、病情发展速度有所不同(图 1):节瓜枯萎病菌对节瓜的致病力(最大病情指数达 91.7)比对冬瓜的致病力(最大病情指数为 53.6)强,并且病情发展的速度快;冬瓜枯萎病菌对冬瓜、节瓜也均能致病,但其发病速度也有所不同(图 2):冬瓜枯萎病菌对节瓜侵染发病速度快,说明节瓜比冬瓜更易被侵染,同时可发现冬瓜枯萎病菌对冬瓜、节瓜均有很强致病力(最大病情指数高达 100)。对相同的寄主(冬瓜或节瓜)而言,冬瓜

枯萎病菌的致病力比节瓜枯萎病菌的强,发生快,病情指数高.也就是说无论寄主是冬瓜还是节瓜,冬瓜枯萎病菌的侵染力强于节瓜枯萎病菌.在包括巨人二号黑皮冬、江心四号节瓜在内的25份冬瓜、节瓜材料的成株期人工接种结果与苗期接种结果基本吻合.

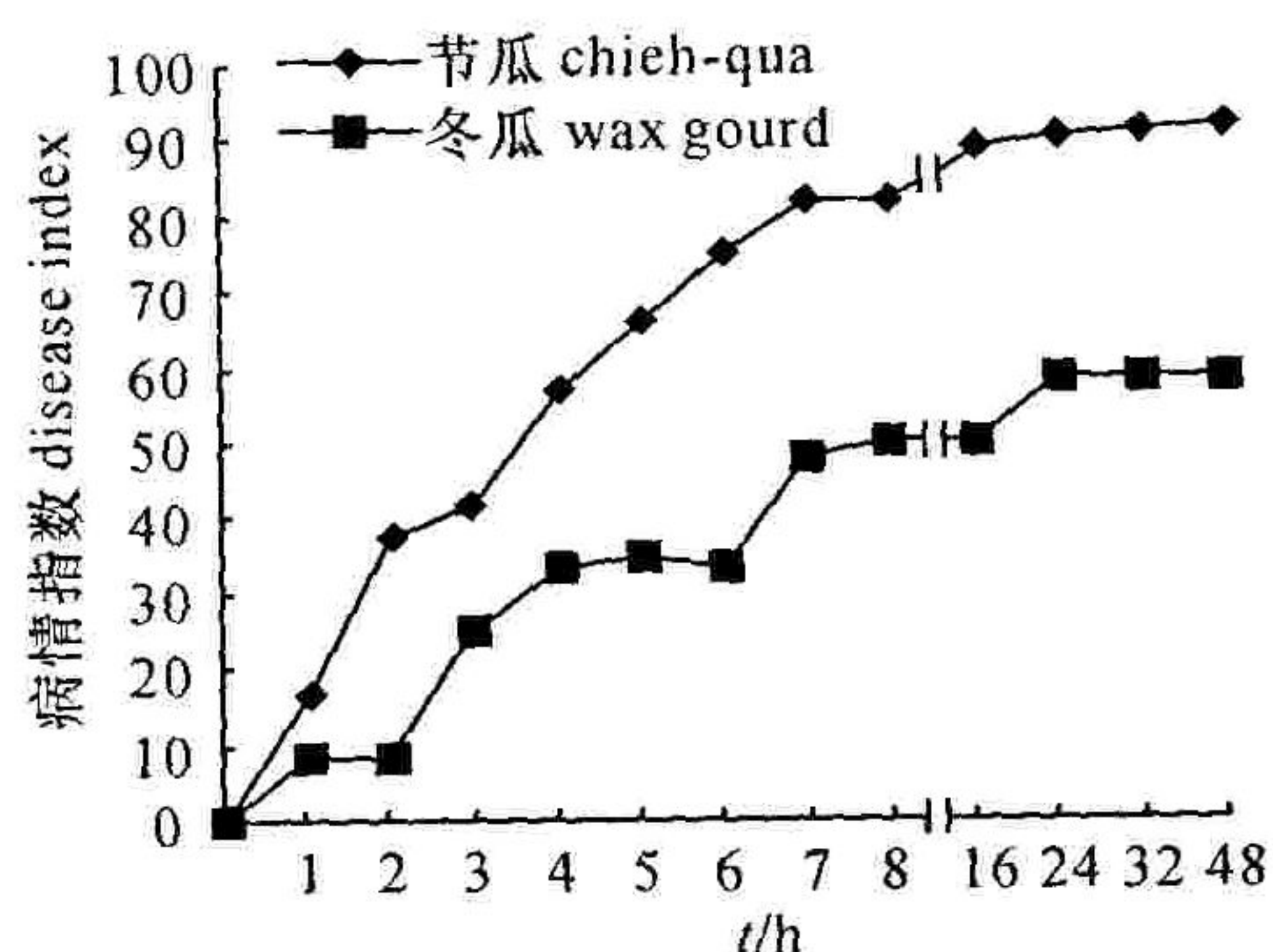


图1 节瓜枯萎病菌侵染冬瓜、节瓜情况比较

Fig. 1 Difference in virulence of *Fusarium oxysporum* f. sp. chieh-qua was gourd and chieh-qua

2.4 寄主范围试验

接种孢子浓度为 $5 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, 采用伤根法对黄瓜、瓠瓜、冬瓜、节瓜、南瓜、苦瓜、丝瓜、甜瓜、西瓜等

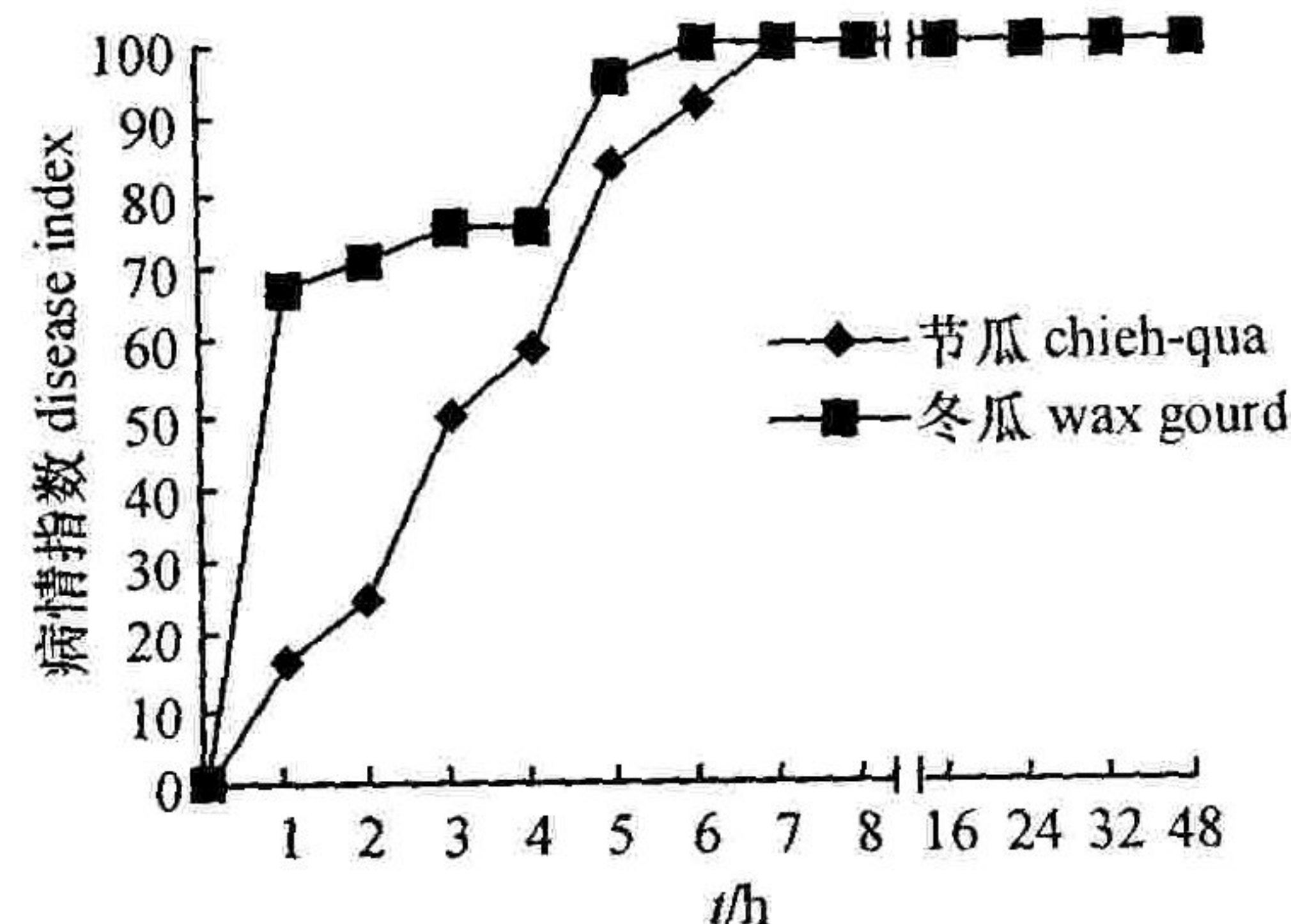


图2 冬瓜枯萎病菌侵染冬瓜、节瓜情况比较

Fig. 2 Difference in virulence of *Fusarium oxysporum* f. sp. benincasae to wax gourd and chieh-qua

9种瓜类作物进行浸泡接种. 结果表明:节瓜枯萎病菌对节瓜高度侵染,对冬瓜中度侵染,而对瓠瓜、丝瓜、甜瓜弱侵染,对黄瓜、南瓜、苦瓜不侵染;冬瓜枯萎病菌对节瓜、冬瓜高度侵染,对西瓜中度侵染,而对瓠瓜、黄瓜、甜瓜弱侵染,对丝瓜、南瓜、苦瓜不侵染. 对比两者寄主范围的差异,从表2中可看出节瓜枯萎病菌与冬瓜枯萎病菌对相同寄主有较大的差异:两者对南瓜、甜瓜、节瓜、苦瓜、瓠瓜侵染情况相同,而对西瓜、黄瓜、冬瓜、丝瓜的侵染情况有较大差异.

表2 两种病菌对不同寄主的致病情况¹⁾

Tab. 2 Difference in virulence of *F. oxysporum* f. sp. benincasae and *F. oxysporum* f. sp. chieh-qua to hosts

寄主 host	冬瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. benincasae		节瓜枯萎病菌 <i>F. oxysporum</i> f. sp. chieh-qua	
	侵染性	病情指数	侵染性	病情指数
	infection	disease index	infection	disease index
西瓜 <i>Citrullus lanatus</i>	+	15.65b	±	7.20c
黄瓜 <i>Cucumis sativus</i>	±	6.55c	-	0.00d
冬瓜 <i>Benincasae hispida</i>	++	84.45a	+	11.76b
节瓜 <i>B. hispida</i> Cogn. var. chieh-qua How.	++	80.85a	++	76.01a
苦瓜 <i>Momordica charantia</i>	-	0.00d	-	0.00d
丝瓜 <i>Luffa acutangula</i>	-	0.00d	±	5.45c
瓠瓜 <i>Lagenaria leucantha</i>	±	7.85c	±	4.20c
南瓜 <i>Cucurbita maschata</i>	-	0.00d	-	0.00d
甜瓜 <i>Cucumis melon</i>	±	8.15c	±	5.00c

1) “+”: 中度侵染; “±”: 弱侵染; “++”: 强侵染; “-”: 无侵染; 同列数据中不同字母表示经方差分析在 0.05 水平上差异显著 (新复极差法)

3 讨论

开展瓜类枯萎病菌专化型的研究有利于进行抗源材料的筛选,明确冬瓜、节瓜枯萎病菌的专化型可以加快冬瓜、节瓜抗病育种进程. 谢双大等^[5]报道在 PDA 培养基上长出菌丝绒毛状,紫色或白色稍带淡紫色,培养基的反面淡紫色,分生孢子有 2 种类型:大型分生孢子镰刀形,基部有足细胞,多数为 3 个隔膜, $41.3 \sim 45.2 \mu\text{m} \times 4.2 \sim 4.4 \mu\text{m}$;小型分生孢

子多数为椭圆形至纺锤形,多数无隔膜, $12.5 \sim 16.3 \mu\text{m} \times 3.8 \sim 4.4 \mu\text{m}$. 可强侵染冬瓜、节瓜,强侵或弱侵西瓜,弱侵瓠瓜、甜瓜、黄瓜,对丝瓜、南瓜、苦瓜、西葫芦、笋瓜、白瓜无致病力,从而把冬瓜枯萎病菌与节瓜枯萎病菌归为同一专化型. 本课题组从 2000 年开始研究冬瓜、节瓜枯萎病菌,在多年的实践中,发现两者并不尽相同,主要表现在两种病菌对节瓜、冬瓜的致病力完全不同;其毒素粗提液对节瓜、冬瓜

(下转第 64 页)