

# 苦瓜枯萎病病原菌研究<sup>\*</sup>

朱天圣<sup>1</sup> 戚佩坤<sup>2</sup>

(1 广东省农科院植物保护研究所, 510640; 2 华南农业大学资源环境学院)

**摘要** 广东苦瓜枯萎病近几年来发生较普遍, 一些地块较重。研究结果如下: (1) 广东苦瓜枯萎病由尖镰孢(*Fusarium oxysporum* Schl.)侵染引起, 经5科15种不同属植物接种的专化型研究证明是尖镰孢苦瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *momodicae* Sun & Huang), 与台湾1981年首次报道一致。此外, 还发现该菌侵染瓠瓜(*Lagenaria vulgaris* var. *hispida*)幼苗和成株及葫芦(*Lagenaria vulgaris*)幼苗, 而不侵染其它植物。(2) 品种抗病性鉴定以孢子悬浮液浸根接种为宜, 孢子浓度在每毫升 $10^6$ 个孢子左右, 病情调查在接种后9~12 d进行。(3) 广东现有的品种和材料未发现高抗品种, 抗病品种约占14%左右, 而76%是中感或高抗品种。

**关键词** 苦瓜枯萎病; 尖镰孢; 专化型; 抗病鉴定

中图分类号 S 436.429

苦瓜枯萎病(*Fusarium oxysporum* f. sp. *momodicae* Sun & Huang)于1981年首次报道(Sun et al., 1983), 该专化型除苦瓜外不侵染其它瓜类及其他科属植物; 我国大陆尚未见专项研究。《中国蔬菜病虫原色图谱》先定病原菌为尖镰孢变种——金黄尖镰孢[*F. oxysporum* Schl. var. *aurantianum* (L. K.) Wollenw.] (吕佩珂等, 1992)。其续集改用孙与黄的命名。但均未见任何致病性试验或菌丝融合群的报道。此病近几年在广东多有发生, 苗期至结瓜期均可为害, 而以开花期发病最重, 正逐步成为生产上的重要病害。1997年广州市郊白云区发病率轻的为10%左右, 较重的在30%~40%左右, 而南海市某些田块竟高达60%~70%, 几乎全田毁灭; 茂名、中山的市县也反映苦瓜枯萎病十分严重。本文对经致病性测定后的病原菌做了鉴定, 并对品种抗病性鉴定的方法及目前一些主要品种材料抗病性做了初步鉴定。

## 1 材料与方法

### 1.1 病原菌形态及专化型鉴定

镰刀菌在马铃薯葡萄糖培养基(PDA)及石竹叶培养基(CLA)(时雪荣等, 1988)上培养, 温度25~26℃, 培养7~10 d, 观察菌落特征及病菌产孢细胞、大小孢子与厚垣孢子的形态。专化型鉴定选择强致病力病原菌单孢菌标, 经PDA培养基培养7、10 d后, 用无菌水洗出孢子, 采用伤根法分别接种以下5科12属15个种属植物的幼苗和成株: 苦瓜、黄瓜、甜瓜、西瓜、南瓜、节瓜、冬瓜、葫芦、瓠瓜、丝瓜、番茄、辣椒、结球甘蓝、长豇豆、芹菜; 培养温度25~27℃, 均设清水对照, 15~30 d后观察各种植物发病情况, 计算发病率。发病或不发病的植株均再分离维管束组织。

1997—12—11 收稿 朱天圣, 32岁, 助理研究员, 硕士

\* 国家自然科学基金(3970517)资助项目 ©1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.

## 1.2 抗病性鉴定方法

强致病力菌株在马铃薯乳糖培养液内培养 7~10 d (温度 25~26 °C), 培养液经高速离心 (3 500~4 000 r/min) 20 min, 以无菌水洗出沉淀, 制成孢子液.

1.2.1 接种方法试验 a). 胚根法: 苦瓜种子经表面消毒后温水(45~50 °C左右)浸种 10~12 h, 保湿催芽 2~3 d, 待胚芽长 1~1.5 cm, 用孢子悬浮液浸泡 30 min, 然后播种于装有灭菌土的培养杯内. b). 伤根法: 待瓜苗长至 3~4 片真叶, 小心挖出, 经清水洗净泥土后, 用消毒刀剪伤主根及须根, 然后浸于孢子悬浮液中 30 min, 再植回营养杯培育. c). 浸根法: 待瓜苗长至 3~4 片真叶, 自营养杯内小心挖出, 经清水洗净泥土后, 于孢子悬浮液中浸泡 30 min, 再植回营养杯培育. d). 浸土法: 将孢子悬浮液直接倒入培植瓜苗的营养杯内与土壤混合; 瓜苗 3~4 片真叶.

试验中孢子悬浮液中含孢子数均为  $10^6$  个/mL, 苦瓜品种为翠绿 1 号和英引苦瓜, 每处理 20~30 苗, 3 次重复, 均设清水对照, 24~28 °C 培育.

1.2.2 接种浓度 镰刀菌孢子悬浮液浓度分别为:  $10^6$ 、 $2 \times 10^5$ 、 $10^5$ 、 $10^4$ 、 $10^3$  个/mL, 加清水对照. 采用浸根法接种, 瓜苗 3~4 片真叶, 品种为翠绿 1 号, 24~28 °C 培育. 分别在接种后 9 及 12 d 各调查 1 次.

## 1.3 品种材料抗病性初步测定

在接种方法和接种试验基础上, 将初步在广州收集的 14 个苦瓜品种材料, 生长温度 16~26 °C, 采用浸根法测定其对镰刀菌枯萎病的抗性, 孢子悬浮液含孢子数为  $10^6$  个/mL, 接种苗龄为 3~4 片真叶 14 个苦瓜品种和材料分别是: 105F1、5 #、102、19 #、104F1、杂交翠绿大顶、101、104 ▲、槟城、江门大顶、翠绿 1 号(由广东省农科院蔬菜所提供)、英引苦瓜、穗新 1 号、穗新 2 号(由广州市蔬菜研究所提供), 接种后 12 d 调查.

## 2 结果

### 2.1 病原菌形态及专化型

在石竹叶培养基(CLA)上, 气生菌丝茂盛, 絮状, 菌丛白色, 菌丝反面无色(在马铃薯葡萄糖培养基上, 菌丛反面淡紫色). 小型分生孢子大都生于单茁瓶梗状或短枝状的分生孢子梗上, 数量较多, 1~2 个细胞, 肾形, 椭圆形和圆形, 大小为  $8.7 \sim 12 \mu\text{m} \times 2.0 \sim 2.5 \mu\text{m}$ . 大型分生孢子镰刀形, 壁薄, 两端尖, 顶端细胞稍弯曲, 基部有足细胞或近似足细胞, 大多数 3 个隔膜, 少数 4 个隔膜或 5 个隔膜, 3 个隔膜者为  $30 \sim 45 \mu\text{m} \times 2.8 \sim 3.5 \mu\text{m}$ , 大多数为  $30 \sim 37 \mu\text{m} \times 2.28 \sim 3.5 \mu\text{m}$ , 4 个隔膜的为  $40 \sim 45 \mu\text{m} \times 2.8 \sim 3.5 \mu\text{m}$ , 5 个隔膜的为  $42 \sim 50 \mu\text{m} \times 3 \sim 4 \mu\text{m}$ . 产孢细胞瓶梗状, 单茁或多茁. 厚垣孢子很多, 无色单孢, 偶尔双孢, 球形或椭圆形, 单生于短侧枝上, 壁光滑, 大多顶生, 极少数间生,  $d$  为  $7.5 \sim 10.5 \mu\text{m}$ , 据 Booth (1971) 镰刀菌分类系统, 该菌应属美丽组尖镰孢 *Fusarium oxysporum* Schl..

强致病力的单孢菌种接种 5 科 15 种植物鉴定其专化型的结果如下: 该菌侵染苦瓜的能力极强, 幼苗发病率为 100.0%, 成株发病率在 75.8%~100.0%, 接种苗表现出典型的枯萎症状; 此外, 该菌还可侵染葫芦科内的其他两种瓜: 葫芦 (*L. vulgaris*) 的幼苗, 发病率为 25.65%, 但不侵染成株, 不引起典型枯萎; 葫芦的变种瓠瓜 (*L. vulgaris* Ser. var. *hispida* Nakai).

异名为 *L. vulgaris* Ser. var. *clavata* Ser., 学名‘瓠子’, 俗称瓠瓜)的幼苗和成株, 发病较重, 幼苗的发病率为 75.5%, 成株发病率为 48.6%, 接种表现明显矮化, 幼苗的子叶首先枯死, 然后真叶发黄, 植株枯死。内部见维管束变褐, 成株发病, 叶片稍变黄, 但并不枯萎, 分离菌亦是尖镰孢。其它 12 种瓜类和蔬菜, 无论幼苗或成株均不被侵染。再分离维管束组织均无病菌。可见, 该菌的致病性较为复杂, 侵染的寄主具有主次之分。从接种植物发病程度分析, 该菌侵染苦瓜的能力最强, 苦瓜是其主要寄主, 而瓠瓜和葫芦是病原菌侵染的次要寄主。

### (1) 4 种人工接种方法的比较

胚根法和浸土法植株发病太轻, 且接种至发病所需时间竟长达 1 个月左右, 显然不适宜用作品种抗病性鉴定接种方法; 伤根法虽发病迅速, 但发病过重, 根本无法从发病程度上区分品种抗病性差异; 浸根法发病程度和发病潜育时间上均较适宜用于品种抗病性鉴定, 见表 1。

(2) 接种浓度比较。接种浓度  $10^6$  个/mL 时, 发病率 85%, 比较恰当。

表 1 苦瓜镰刀菌枯萎病接种方法 (广州, 1996. 5)

接种方法	发病率/%		接种苗龄	$t^1/d$
	翠绿 1 号	英引苦瓜		
胚根法	3.20	2.50	胚根长 1~1.5 cm	25~30
伤根法	100.00	100.00	3~4 真叶	9
浸根法	85.00	43.32	3~4 真叶	9~12
浸土法	18.96	9.00	3~4 真叶	28~30
对照	0.00	0.00	3~4 真叶	—

1) 指接种至发病时间

表 2 浸根法接种浓度试验<sup>1)</sup>

接种浓度/ (个·mL <sup>-1</sup> )	接种株数 /株	接种后 9 d 调查		接种后 12 d 调查	
		病株数/株	发病率/%	病株数/株	发病率/%
$10^6$	20	12	60.00	17	85.00
$2 \times 10^5$	20	5	25.00	9	45.00
$10^5$	20	4	20.00	8	40.00
$10^4$	26	4	15.38	10	38.46
$10^3$	20	0	0.00	3	15.00
CK	20	0	0.00	0	0.00

1) 品种: 翠绿 1 号, 培育温度: 24~26 °C

### 2.3 苦瓜品种材料抗病性初步测定

苦瓜品种之间分化十分明显, 发病率的跨度很大, 在 22.86%~82.97% 之间, 大顶和油瓜这 2 种主要类型的苦瓜中均存在有抗病和感病的品种。若以发病率小于 10% 为高抗, 小于 30% 大于 10% 为抗病, 小于 60% 大于 30% 为中度抗病, 发病率 60% 以上为感病标准来初步划分 14 个品种材料, 则各抗性类型所占的比例分别为: 高抗品种为 0, 抗病品种占 14.29%, 中感品种占 64.29%, 感病品种占 21.43%。这个标准虽然还有待进一步试验和田间证实, 但也可初步确定苦瓜的品种材料中, 抗病的品种材料所占的比例不多, 而大多是中感和感病的, 目前广州市种植面积较大的几个品种: 英引苦瓜、穗新 1 号抗性稍好, 而穗新 2 号、江门大顶和翠绿 1 号则较为感病, 特别是翠绿 1 号, 属高度感病的品种。

## 3 讨论与结论

(1) 广东苦瓜枯萎病由镰刀菌侵染引起, 与台湾 1981 年报道一致, 但台湾病害发生普遍。

较轻, 而广东所发生的枯萎病较之严重得多, 且十分普遍, 这可能与两地田间普遍栽种的品种及菌系的致病性不同有关。从我们对广东种植面积较大的几个品种的抗病性测定看, 抗病性均较差, 只有英引苦瓜和穗新1号抗性稍好, 而多数的品种是感病或高度感病的, 如翠绿1号、翠绿大顶、江门大顶等, 而这些都是发病较重地区的主栽品种。

(2) 广东苦瓜枯萎病病原菌经5科12属15种不同植物上接种的专化型研究证明是尖镰孢苦瓜专化型(*F. oxysporum* Schl. f. sp. *momordicae* Sun & Huang), 除可侵染苦瓜、瓠瓜和葫芦外, 不侵染其他接种的植物。

(3) Sun等(1983)在对台湾苦瓜枯萎病作专化型鉴定时, 仅接种了西瓜、甜瓜、黄瓜、萝卜及芹菜等5种植物。广东所分离的病原菌专化型对这5种植物也不侵染。Sun等没有接种瓠瓜和葫芦, 而广东的苦瓜枯萎病接种瓠瓜的幼苗和成株发病率分别是75.5%和28.6%, 接种葫芦幼苗发病率为25.6%, 但不侵染其成株。由于葫芦属植物的枯萎病病原菌有其本身的专化型(*F. oxysporum* Schl. f. sp. *lagenariae* Matuo et Yamamoto), 故接种瓠瓜和葫芦是十分必要的。

(4) 尖镰孢葫芦专化型是日本学者松尾卓见(Matuo et al, 1967)在日本发现的, 病原菌是从瓠瓜(*L. vulgaris* Ser. var. *hispoda* Nakai 即 *L. siceraria* Ser. var. *clavata* Ser. 的异名)病株上分离的, 对瓠瓜具有极强的致病力, 他们接种的3个瓠瓜品种Omara、Naga、Nihong幼苗发病率分别是: 92.00%、100.00%、100.00%; 此外该专化型还对多种豆科植物大豆、蚕豆、豌豆及结球甘蓝均有一定的致病力, 但很遗憾, 松尾并没有接种苦瓜。我们的试验虽然可严重危害瓠瓜, 但它不侵染葫芦的成株, 在瓠瓜的成株上不呈明显萎蔫, 不能侵染结球甘蓝和长豇豆, 却严重为害苦瓜, 故不是葫芦专化型, 瓢瓜和葫芦是其次要寄主。《蔬菜病虫原色图谱》称: “有的报道丝瓜尖镰孢专化型可侵染苦瓜”(吕佩珂, 1996), 但本试验不可能是尖镰孢丝瓜专化型(*F. oxysporum* f. sp. *luffa* Suzuki & Kawai), 因为无论丝瓜的幼苗或成株它都不能侵染。

(5) 品种抗病性测定不同于病原菌专化型试验, 发病过于严重只会使许多抗病的品种亦遭淘汰。我们根据4种接种方法的比较试验认为, 测定抗病品种宜采用浸根法, 这种方法具有快速和准确的特点, 接种的孢子悬浮液以含孢子数 $10^6$ 个/mL。广东的苦瓜品种中, 对枯萎病的抗性有明显的分化, 可通过育种方法选出优良的抗病品系, 解决生产上存在的问题是完全可能的。

## 参 考 文 献

- 吕佩珂, 李明远, 吴锯文, 等. 1992. 中国蔬菜原色图谱. 北京: 农业出版社, 43~44
- 吕佩珂, 刘文珍, 段半锁, 等. 1996. 中国蔬菜原色图谱续集. 呼和浩特: 远方出版社, 102~103
- 时雪荣, 戚佩坤. 1988. 广东省巴戟枯萎病的病原菌鉴定. 植物病理学报, 18(3): 137~142
- Booth C. 1971. The Genus *Fusarium*. Kew: CMI, 130~154
- Sun S K, Huang J W. 1983. A new *Fusarium* wilt of bitter gourd in Taiwan. Plant disease, 67: 226~227
- Matuo T, Yamamoto I. 1967. On *Fusarium oxysporum* f. sp. *lagenariae*, Causal wilt of *Lagenaria* var. *hispida*. 日本菌学会报, VIII(2): 61~63

## STUDY ON THE PATHOGEN OF BITTER GOURD WILT IN GUANGDONG

Zhu Tiansheng<sup>1</sup> Qi Peikun<sup>2</sup>

(1 Institute of Plant Protection, Guangdong Academy of Agric. Science, Guangzhou, 510640;

2 College of Natural Resource &amp; Environment, South China Agric. Univ.)

**Abstract**

The wilt of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) was serious and widespread in recent years in Guangdong Province. (1) According to studies of the culture, morphology and pathogenicity, the pathogen of bitter gourd wilt in Guangdong was identified as *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *momordicae* Sun & Huang which were reported in the first time in Taiwan at 1981. The seedling and adult plants of white flowered bottle gourd (*L. vulgaris hispida*) and the seedling of bottle gourd (*L. vulgaris*) were also infected, but the pathogen did not infect other inoculated plants. (2) It was appropriate for identification of disease resistance with soaking roots in the spore suspension,  $10^6$  spores/mL could be preferable, and it was suggested that the proper time for investigation was in 9~12 days after inoculation. (3) There were no immune varieties in Guangdong Province now. The percentage of resistant varieties was about 14%, and above 76% was middle-sensitive or high-sensitive varieties. It is possible to breeding resistant varieties to control the bitter gourd wilt.

**Key words** bitter gourd wilt; *Fusarium*; form species; resistant identification

[责任编辑 张砾]

**量和单位的国家标准(GB3100—93)选登**可与国际单位制单位并用的我国法定计量单位<sup>1)</sup>

量的名称	单位名称	单位符号	与 SI 单位的关系
时间	分	min	$1 \text{ min} = 60 \text{ s}$
	[ 小] 时	h	$1 \text{ h} = 60 \text{ min} = 3600 \text{ s}$
	日, (天)	d	$1 \text{ d} = 24 \text{ h} = 86400 \text{ s}$
[ 平面] 角	度	°	$1^\circ = (\pi/180) \text{ rad}$
	[ 角] 分	'	$1' = (1/60)^\circ = (\pi/10800) \text{ rad}$
	[ 角] 秒	"	$1'' = (1/60)' = (\pi/648000) \text{ rad}$
体积	升	l L	$1 l = 1 \text{ dm}^3 = 10^{-3} \text{ m}^3$
质量	吨	t	$1 t = 10^3 \text{ kg}$
	原子质量单位	u	$1 u \approx 1.660540 \times 10^{-27} \text{ kg}$
旋转速度	转每分	r/min	$1 \text{ r}/\text{min} = (1/60) \text{ s}^{-1}$
能	电子伏	eV	$1 \text{ eV} \approx 1.602177 \times 10^{-19} \text{ J}$
面积	公顷	hm <sup>2</sup>	$1 \text{ hm}^2 = 10^4 \text{ m}^2$

1)平面角单位度、分、秒的符号，在组合单位中应采用(°)、(')、(")的形式，例如，不用°/s而用(°)/s；升的两个符号属同等地位，可任意选用；公顷的国际通用符号为ha