

西瓜种传枯萎病原菌鉴定及其防控方法

耿丽华 官国义 宋顺华* 徐秀兰 吴 萍 孟淑春

(北京市农林科学院蔬菜研究中心, 农业部华北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室,
蔬菜种质改良北京市重点实验室, 北京 100097)

摘要: 为明确西瓜生产中一种幼苗新病害的病原菌种类, 分离纯化获得菌株 XG1601, 并测定其致病性, 利用形态学特征和 rDNA ITS 序列分析技术明确了该病原菌的分类地位, 研究了不同杀菌剂及干热处理西瓜种子对该病害的防治效果。结果显示, 结合形态特征及 rDNA ITS 序列技术分析最终确定菌株 XG1601 为尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*。该病原菌为种子传带, 引起西瓜种传枯萎病, 西瓜种子种皮和种胚的带菌率分别为 5.4% 和 1.7%, 在温室中播种 30 d 左右, 幼苗的发病率可达 35.7%~41.1%。种子处理对该病害的防治试验结果显示, 6.25% 精甲霜灵·咯菌腈悬浮种衣剂和 2.5% 咯菌腈悬浮种衣剂包衣种子对病害的防治效果分别为 67.0% 和 68.6%, 80℃ 干热处理种子 72~96 h 的防治效果均为 100.0%, 且对处理种子的发芽势、出苗率和鲜重均无不利影响。说明 80℃ 干热处理种子 72~96 h 对西瓜种传枯萎病的防治效果最好。

关键词: 西瓜; 尖孢镰刀菌; 鉴定; 苗期病害; 种传枯萎病

Identification and control of seed-borne pathogen of watermelon wilt disease

Geng Lihua Gong Guoyi Song Shunhua* Xu Xiulan Wu Ping Meng Shuchun

(Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops of North China Area; Beijing Key Laboratory of Vegetable germplasm improvement, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Beijing Vegetable Research Center, Beijing Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: To clarify the pathogen of one new watermelon seedling disease, the strain XG1601 was obtained from the symptomatic seedlings, and the strain was identified by the morphological characteristics and rDNA ITS sequence analysis. The control effects of dry heat treatments and different fungicide treatments on this disease were tested. The results showed that strain XG1601 was identified as *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. The rates of infected seed coat and embryo were 5.4% and 1.7%, respectively. After sowed in the greenhouse at 30 d, the rate of diseased seedlings was 35.7%–41.1%. The disease control efficacies of the treatments with seeds coated with 6.25% metalaxy1-M·fludioxonil seed-coating suspension and 2.5% fludioxonil seed-coating suspension reached 67.0% and 68.6%, respectively. The dry-heat treatment at 80℃ for 72–96 h showed the best control efficiency (100%) against *Fusarium* wilt of watermelon without negative influence on seed germination energy, seedling emergence rate and seedling fresh weight. The results indicated that the dry-heat treatment was the best disease management strategy.

Key words: watermelon; *Fusarium oxysporum*; identification; seedling disease; seed-borne *Fusarium* wilt

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0201300), 国家现代农业产业技术体系北京市西瓜创新团队专项(BAIC10), 北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJCX20170102)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: songshunhua@nrcv.org

收稿日期: 2017-11-22

西瓜枯萎病是在世界范围内广泛发生的一种病害,其病原菌为尖孢镰刀菌西瓜专化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*,该菌在土壤中存活时间可长达8~10年(Miguel et al., 2004)。多年来,土传西瓜枯萎病严重影响西瓜生产,田间病株率一般为10%~20%,严重时可达80%~90%,甚至可造成绝产。据报道,西瓜种子可携带具有致病性的镰刀菌(Gargouri et al., 2000),从我国的西瓜种子上也分离得到了具有致病性的尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*(吴学宏等, 2009; 2010),种子各部位携带尖孢镰刀菌的比例与幼苗的枯萎率相关(Michail et al., 2002)。2007年国外首次报道西瓜上种传枯萎病的发生和危害,被严重感染的种子样品种植后其幼苗发病率达到50%以上(Boughalleb & El-Mahjoubet al., 2007),而在我国关于由尖孢镰刀菌引起西瓜种传枯萎病在生产上发生和危害尚未见报道。

目前,西瓜枯萎病可以通过选用抗病品种、实行轮作、土壤消毒、嫁接育苗和施用化学农药等技术进行防治(徐伟慧等, 2013)。抗病育种是防治西瓜枯萎病最有效的一种途径,但病原菌容易产生变异,抗病育种工作难度较大;我国耕地面积有限,特别是在设施栽培条件下,很难完全实行轮作倒茬;而使用大剂量化学杀菌剂给生态环境和人体健康带来严重危害。西瓜嫁接栽培是目前防治土传西瓜枯萎病最有效的方法之一。日本从20世纪20年代开始,到80年代选育出抗尖孢镰刀菌南瓜专化型 *F. oxysporum* f. sp. *lagenariae*的南瓜品种 Renshi 作为砧木并广泛应用(Sakata et al., 2007),是目前应用嫁接技术防治西瓜枯萎病最为普遍的国家。我国应用嫁接技术防治西瓜枯萎病始于20世纪70年代,80年代末已广泛应用于生产(郑高飞等, 2000; 苏胜举等, 2005; 冯春梅等, 2006),该技术的应用显著降低了枯萎病田间发病率和病情指数(徐敬华等, 2004)。

西瓜枯萎病在田间的常见病害症状有以下3种类型,包括发生在幼苗期的猝倒型,发生在团棵伸蔓期的侏儒型和发生在结瓜期的萎蔫型,这是西瓜枯萎病的典型症状(臧君彩等, 2001)。2016年年初,我国西瓜产区出现一种新的西瓜幼苗病害,其症状与西瓜枯萎病常见的3种类型完全不同。该病发生在育苗期,采用嫁接育苗方法不能防止幼苗发病和接穗死亡,发病率高达80%,在育苗期造成毁灭性的危害和严重的损失。本试验采集典型发病样本进行病原菌分离和纯化,根据病原菌的形态特征和病原菌 rDNA 内部转录间隔区(internal transcribed spac-

er, ITS)序列对分离物进行鉴定,明确西瓜幼苗新发病害的病原菌,同时初步探索了田间幼苗发病的感染途径和病害防治方法,以期为该病害的防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试病样及西瓜品种:供试发病幼苗为2016年1月于山东省昌乐县的西瓜育苗基地采集。西瓜京颖种子、带菌的京欣307种子由北京市农林科学院蔬菜研究中心提供。

药剂:6.25%精甲霜灵·咯菌腈(metalaxyl-M·fludioxonil)悬浮种衣剂、2.5%咯菌腈(fludioxonil)悬浮种衣剂和50%咯菌腈(fludioxonil)可湿性粉剂,瑞士先正达作物保护有限公司。

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基:马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂粉20 g、蒸馏水1 L;康乃馨水琼脂(carnation leaf agar, CLA)培养基:20 g琼脂、蒸馏水1 L,在直径9 cm的培养基平板上加入大小为3~5 mm²的康乃馨叶片5~10片;马铃薯乳糖(potato lactose, PL)培养基:土豆200 g、乳糖20 g、蒸馏水1 L。所有培养基均于120℃高压灭菌20 min待用。

试剂及仪器:真菌基因组DNA快速抽提试剂盒、高纯度dNTP、*Taq* DNA扩增酶、10×Buffer、DNA Marker II,北京三博远志生物技术有限责任公司;其它无机试剂均为国产分析纯。MJ-150F-1霉菌培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;C1000 PCR仪,美国Bio-Rad公司;DYY-6C电泳仪,北京六一仪器厂;NIKON80i显微镜,日本尼康公司;种子干热处理机,现代农装科技股份有限公司;PRX-450D-30恒温光照培养箱,浙江联合赛福实验仪器科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分离纯化及致病性测定

病原菌的分离纯化:采用常规组织分离法从典型发病幼苗的病健交界处取4~5 mm×4~5 mm的小块组织,在75%乙醇溶液中浸泡2~3 s,然后用灭菌水冲洗3次,用灭菌滤纸吸干水分,放在PDA平板上25℃恒温培养2~3 d,将分离菌株单孢纯化后转入PDA培养基作为菌种保存备用(方中达, 1998)。

菌株的致病性测定:采用柯赫氏法则对分离菌株进行致病性验证。将分离纯化的菌株接种在PDA培养基上,在25℃条件下培养5 d,加适量水搅拌成菌泥,将30粒京颖西瓜种子与1/2个平板的菌

泥混合在一起,播种在直径为9 cm的小育苗盒中,以不接种病原菌的种子作为对照。育苗盒最底层铺2/3育苗盒高度的灭菌蛭石,第2层均匀放置30粒京颖西瓜种子,第3层覆盖1/3育苗盒高度的灭菌蛭石,置于25℃光照培养箱中恒温培养,每天光照12 h,并记录出苗及幼苗发病情况。每处理重复3次。

1.2.2 西瓜种传枯萎病病原菌的鉴定

病原菌的形态学鉴定:将纯化的病原菌接种到PDA平板上25℃黑暗条件下培养,观察菌落形态、测量其7 d内的生长速率;在CLA培养基上25℃黑暗培养,观察大型分生孢子、小型分生孢子和厚垣孢子,在100倍倒置显微镜下直接观察小型分生孢子的产生方式并拍照,综合上述形态特征依据Leslie & Summerell(2006)相关分类资料进行鉴定。

病原菌的分子生物学鉴定:将病原菌接种于PL培养基上,在25℃、125 r/min条件下振荡培养3~4 d,过滤收集菌丝体,加液氮研成粉末,按照真菌基因组DNA快速抽提试剂盒操作说明提取真菌DNA。用真菌通用引物ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')(White et al., 1990)对病原菌rDNA的ITS区进行PCR扩增,引物由北京三博远志生物技术有限公司合成。22 μL反应体系:DNA模板1 μL、dNTP 1.5 μL、Taq DNA扩增酶0.5 μL、10×Buffer 3 μL、ITS1和ITS4引物各1 μL、ddH₂O补足至22 μL。PCR扩增程序为:94℃预变性5 min;94℃变性1 min,57℃退火1 min,72℃延伸1 min,共30个循环;最终72℃延伸10 min。扩增产物在恒压150 V下用1%琼脂糖凝胶电泳检测,扩增片段由北京三博远志生物技术有限公司进行测序,将得到的序列在GenBank中进行比对,通过BLAST搜索和同源性分析对病原菌进行鉴定。

1.2.3 西瓜种子携带尖孢镰刀菌的检测

从带菌的京欣307西瓜种子中随机选取种子1 000粒进行种子内部带菌检测。将种子置于1%次氯酸钠溶液中浸泡1 min,然后用无菌水冲洗3次,在无菌培养皿底部铺上2层灭菌滤纸,将种子倒入其中,用无菌滤纸吸干种子表面的水分;用无菌解剖刀将种子解剖为种皮和种胚,将种皮(内侧朝下)和种胚分别均匀摆放在直径为15 cm的PDA平板上,每个培养皿的平板上摆放20块种皮或种胚,放在25℃恒温箱中黑暗培养,7 d后分别观察每块种皮或种胚的真菌生长情况,分离疑似镰刀菌,转接到PDA培养基上,按1.2.2方法进行形态学特征和分子

生物学鉴定,依据鉴定结果分别计算种皮和种胚的带菌率。种皮(胚)带菌率=带菌种皮(胚)数/检测种皮(胚)总数×100%。

1.2.4 种子处理对西瓜种传枯萎病的防治效果

本试验对西瓜种子处理包括杀菌剂处理与干热处理。杀菌剂处理种子方法:(1)选用目前市场上防治镰刀菌效果较好的6.25%精甲霜灵·咯菌腈悬浮种衣剂和2.5%咯菌腈悬浮种衣剂,药与种子按1:250的质量比包衣种子。包衣方法:将种子放入1个完好的塑料袋或自封袋中,根据种子的质量在烧杯中用自来水将种衣剂稀释5倍后混匀,将所有药液迅速倒入袋中,紧握袋口(让袋子中留下足够的空气),快速上下摇晃种子,将药液充分包裹在种子表面,处理后的种子置于室内阴干,直接用于试验;(2)50%咯菌腈可湿性粉剂4 000倍液浸种4 h,清水冲洗,然后催芽;(3)先用初始温度为55℃清水浸种催芽4 h,再用50%咯菌腈可湿性粉剂4 000倍液浸芽0.5 h后马上播种;(4)以不处理的种子作为对照。

干热处理种子方法:将种子置于干热处理机内,设5个处理:(1)对照(CK),不处理;(2)72℃,96 h;(3)72℃,120 h;(4)80℃,72 h;(5)80℃,96 h。在种子高温处理前,先在35℃处理24 h,然后50℃处理24 h,接着进行不同高温处理,关闭电源,在机器内放置24 h后取出种子,置于种子保存箱内。

种子处理的防治效果检测:各处理随机抽取250粒种子播种于72孔育苗穴盘中,栽培基质为灭菌蛭石。播种后的育苗盘置于日光温室中,温度为25℃左右,进行正常肥水管理。种子出苗后每天调查发病情况,记载发病株数并及时清理发病植株,播种后30~35 d终止调查,最后计算幼苗的发病率和各处理的防治效果,试验重复4次。发病率=发病幼苗数量/幼苗总数量×100%;防治效果=(对照发病率-处理发病率)/对照发病率×100%。

1.2.5 种子处理对种子活力和幼苗长势的影响

根据种子处理对病害的防治效果,筛选出具有较好防治效果的种子处理方法,对其处理的种子进行发芽试验,评价该处理方法对西瓜京欣307种子的活力和幼苗生长势的影响,以未处理的西瓜京欣307种子作为对照(CK)。将处理后的种子直接播种在育苗盘中,基质为灭菌蛭石,置于25℃恒温、L:D=12 h:12 h的条件下培养。播种后自幼苗出土起,每天调查出苗情况,记录出苗时间。每处理100粒种子,重复4次。播种后5 d计算种子的发芽势,14 d计算种子的出苗率,观察幼苗的生长特性。测定幼苗

生长特性时,将幼苗连根拔出,用水洗净后放在滤纸上吸去多余水分,称量每个重复幼苗的总质量,计算平均每株苗鲜重。种子发芽势=第5天正常幼苗数量/播种种子总数量 $\times 100\%$ 。

1.3 数据分析

试验数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,利用单向方差法(one-way ANOVA)进行数据分析,用 SNK(Student-Newman-Keuls)法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 病原菌分离纯化和致病性测定

典型西瓜发病幼苗的症状表现为子叶展开之后,从生长点开始,沿茎纵向开裂,很快导致幼苗或者嫁接苗的接穗死亡(图1)。按常规方法对采集的典型发病幼苗进行病原菌分离纯化,共得到1株分离物菌株XG1601。经柯赫氏法则回接鉴定证明,接种分离物后,幼苗发病致死,与田间幼苗自然发病症状相符,说明其分离物可以侵染西瓜幼苗引起发病。从接种发病的幼苗上分离纯化的病原菌,与该分离物在形态上相同,因此确定该分离物是病原菌。

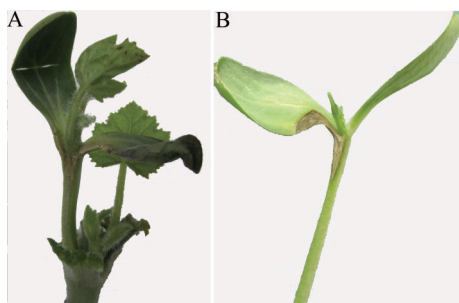


图1 西瓜幼苗种传枯萎病发病的典型症状

Fig. 1 The typical symptoms of seed-borne *Fusarium* wilt of watermelon seedlings

A: 嫁接苗接穗; B: 嫁接前的幼苗。A: Scion of grafted seedling; B: seedling before graft.

2.2 西瓜种传枯萎病病原菌鉴定

形态学特征:病原菌在PDA培养基上呈粉白色,菌落圆形,菌丝绒毛状,在25℃黑暗条件下、在PDA平板上的生长速率为11.0 mm/d(图2-A);大型分生孢子为镰刀型,有3~5个分隔,以3个分隔为主(图2-B);小型分生孢子数量多,椭圆形,0~1个分隔,以无隔为主(图2-C);分生孢子梗短、生于菌丝侧面,单生,无分枝;厚垣孢子顶生或间生,圆形,多为单独生长,偶尔也对生或串生(图2-D)。根据形态特征初步鉴定该病原菌为尖孢镰刀菌。

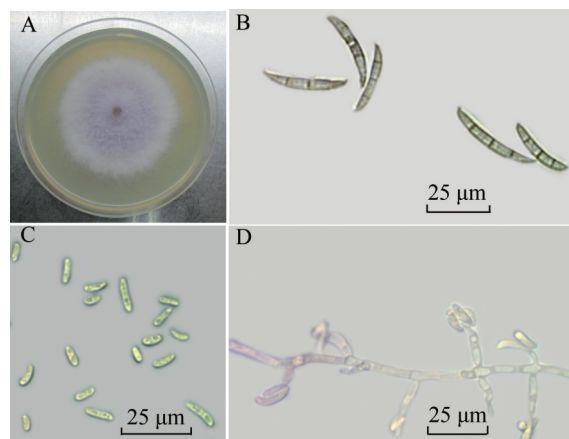


图2 西瓜种传枯萎病病原菌的形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of the pathogen for seed-borne *Fusarium* wilt of watermelon

A: PDA 平板上菌落正面形态; B: 大型分生孢子; C: 小型分生孢子; D: 分生孢子梗。A: Colony morphology on the PDA plate at the positive side; B: macroconidia; C: microconidia; D: conidiophores.

分子生物学鉴定:用真菌通用引物 ITS1/ITS4 对该病原菌 rDNA 的 ITS 区进行 PCR 扩增,扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,得到 1 个大小约 520 bp 的清晰条带(图3),经测序分析其长度为 518 bp,将该序列提交至 GenBank,通过 BLAST 进行序列比对后,同源分析发现,其与尖孢镰刀菌(KJ475803)等的序列同源性达到 100%。结合病原菌的形态学特征,最终将该病原菌鉴定为尖孢镰刀菌。

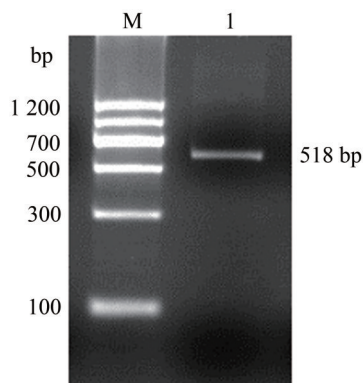


图3 基于rDNA-ITS序列的PCR扩增结果

Fig. 3 PCR of the pathogen for seed-borne *Fusarium* wilt of watermelon based on rDNA-ITS

M: 200 bp marker; 1: 菌株 XG1601。M: 200 bp marker; 1: XG1601 strain.

2.3 西瓜种子内部携带病原菌情况

对田间发病的京欣307西瓜种子检测结果表明,其种子携带尖孢镰刀菌,其中种皮尖孢镰刀菌分离频率为4.1%~6.9%,平均分离频率为5.4%;种胚尖孢镰

刀菌分离频率为0.9%~2.4%,平均分离频率为1.7%。

2.4 种子药剂处理对病害的防治效果

不同杀菌剂处理带菌种子均对西瓜种传枯萎病有一定的防治效果(表1)。播种后35 d,对照发病率为56.6%,6.25%精甲霜灵·咯菌腈悬浮种衣剂、2.5%咯菌腈悬浮种衣剂、50%咯菌腈可湿性粉剂4 000倍

液浸种4 h和浸芽0.5 h四种药剂处理后幼苗发病率分别为18.7%、17.8%、42.7%和44.9%,其防治效果分别为67.0%、68.6%、24.5%和20.6%。与对照相比,6.25%精甲霜灵·咯菌腈悬浮种衣剂和2.5%咯菌腈悬浮种衣剂包衣种子对病害有一定的防治效果,其它2种处理的防治效果不明显。

表1 杀菌剂处理西瓜种子对西瓜种传枯萎病的防治效果

Table 1 Effects of watermelon seed treatment by fungicides on *Fusarium* wilt of watermelon

%

处理 Treatment	播种后35 d幼苗发病率 Seedling disease incidence at 35 d after sowing	防治效果 Control efficacy
对照CK	56.6±14.5 Aa	—
50%咯菌腈 WP 4 000倍液浸芽0.5 h	44.9±1.2 ABab	20.6±1.2 Aa
50% fludioxonil WP 4 000× bud soaking for 0.5 h		
50%咯菌腈 WP 4 000倍液浸种4 h	42.7±0.7 Bb	24.5±0.7 Aa
50% fludioxonil WP 4 000× seed soaking for 4 h		
6.25%精甲霜灵·咯菌腈 FS	18.7±1.8 Cc	67.0±1.8 Bb
6.25% metalaxyl-M·fludioxonil FS		
2.5%咯菌腈 FS 2.5% fludioxonil FS	17.8±5.1 Cc	68.6±5.2 Bb

表中数据为平均数±标准误。同列数据后不同大、小写字母表示经SNK法检验在 $P<0.01$ 和 $P<0.05$ 水平差异显著。Data in the table are mean±SE. Different uppercase or lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P<0.01$ or $P<0.05$ level by SNK test.

2.5 干热处理对病害的防治效果的影响

4种干热处理方法对西瓜种传枯萎病的防治效果结果显示,对照处理在播种后7 d幼苗开始发病,播种后30 d时幼苗发病率为35.7%;72℃分别处理带菌西瓜种子96 h和120 h,其播种后30 d幼苗发病率分别为18.2%和15.9%,其防治效果分别为49.0%和55.5%;80℃分别处理带菌西瓜种子72 h和96 h,其播种后30 d没有发现幼苗发病,其防治效果为100.0%。表明72℃不能有效地灭活种子上携带的尖孢镰刀菌,延长处理时间也不能提高防治效果;而

80℃处理种子72~96 h对尖孢镰刀菌的灭活效果最好,说明80℃干热处理种子对该种传病害防治效果显著(表2)。

因此,对80℃干热处理72 h和96 h的带菌西瓜种子的活力和幼苗鲜重进行测定,结果显示,与对照相比,80℃处理种子72~96 h后,对种子的发芽势、出苗率和鲜重均无显著影响,其中处理72 h后种子发芽势、出苗率和每株鲜重分别为96.0%、99.0%和0.390 g,处理96 h后分别为98.0%、99.0%和0.388 g(表2)。

表2 干热处理对西瓜种传枯萎病的防治效果

Table 2 Effects of dry heat treatment on seed-borne *Fusarium* wilt of watermelon

处理 Treatment	播种后30 d幼苗发病率 Seedling disease incidence 30 d after sowing (%)	防治效果 Control efficacy (%)	发芽势 Germination energy (%)	出苗率 Seedling emergency (%)	鲜重(g/株) Seedling weight per plant
对照CK	35.7±12.1 Aa	—	100.0±0.3 Aa	100.0±0.3 Aa	0.385±0.004 Aa
72℃, 96 h	18.2±8.6 Ab	49.0±13.8 Aa	—	—	—
72℃, 120 h	15.9±5.4 Ab	55.5±8.6 Aa	—	—	—
80℃, 72 h	0.0±0.0 Bc	100.0±0.0 Bb	96.0±2.2 Aa	99.0±0.8 Aa	0.390±0.011 Aa
80℃, 96 h	0.0±0.0 Bc	100.0±0.0 Bb	98.0±0.5 Aa	99.0±0.5 Aa	0.388±0.006 Aa

表中数据为平均数±标准误。同列数据后不同大、小写字母表示经SNK法检验在 $P<0.01$ 和 $P<0.05$ 水平差异显著。Data in the table are mean±SE. Different uppercase or lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P<0.01$ or $P<0.05$ level by SNK test.

3 讨论

镰刀菌是土壤中的优势真菌种群(韩利真等, 2011),引起成株期西瓜植株萎蔫,被认为是典型的土传病害。本研究通过形态学特征分析和分子生物学鉴定引起西瓜幼苗新病害的病原菌为尖孢镰刀菌。国外2007年首次报道西瓜种传枯萎病的发生和危害(Boughalleb & El-Mahjoub, 2007),吴学宏等(2009; 2010)从我国西瓜种子上也分离得到尖孢镰刀菌,并证明其具有致病性。本研究结合形态特征以及rDNA ITS序列分析技术结果确定我国西瓜主产区出现的幼苗新病害是由尖孢镰刀菌引起的种传枯萎病,这是我国关于生产中西瓜种传枯萎病发生和鉴定方面的首次报道,鉴定结果与国外报道相符(Boughalleb & El-Mahjoub, 2007)。

目前在生产中所采取的砧木嫁接防治措施对土传西瓜枯萎病有较好的防治效果,但不适合种传枯萎病的防治。安全有效的种子处理是防治种传病害、繁育健康幼苗的重要措施(宋顺华等, 2017)。本研究采用4种化学药剂处理方法和4种干热处理方法初步探索了种子处理防治西瓜种传枯萎病的效果,其中,在80℃干热处理种子72~96 h对西瓜种传枯萎病的防治效果最好,达到100.0%。干热处理是经常用于种子健康处理的一种物理处理方法,在国际上被广泛应用于具有高附加值的种子上(Kim & Lee, 2000; Kim et al., 2003)。因不同作物对高温的敏感度不一样,处理种子的最高温度因作物种类和种子来源不同而稍有差别(宋顺华等, 2011)。针对种子上不同的目标病原菌要求的温度也不相同,有的病原菌需要更高的温度才能使其灭活,如莴苣花叶病毒(*Lettuce mosaic virus*, LMV),但过高的温度会影响一些种子的活力,较低的温度对病原菌的灭活效果不理想,对于不同的目标需要有针对性地摸索干热处理的条件,以便有效地灭活种传病原菌,而又不影响种子的质量(Lee, 2004)。本试验的80℃干热处理种子72~96 h对西瓜种传枯萎病的防治效果为100.0%,而且对西瓜种子的发芽势、出苗率和鲜重均没有显著影响,说明是防治西瓜种传枯萎病有效和可行的方法。

本试验较系统地研究了我国西瓜生产上发生的一种苗期新病害,确定为由尖孢镰刀菌侵染引起的西瓜种传枯萎病,并为该病害的防治提供了一项切实可行的措施。但是,有些问题还需要今后进一步研究探讨,比如,这种种传病害的病原菌是否来自于

土传的西瓜枯萎病;该病害的发生是否因西瓜品种差异而不同;该病害的发生与育苗环境的温、湿度条件的关系等。另外,干热灭菌需要专用设备,周期较长,1次需要1周时间,每次处理种子量有限,因此,有必要进一步试验和筛选高效、低毒的浸种药剂,以期生产提供不同的技术选择。

参 考 文 献 (References)

- Boughalleb N, El-Mahjoub M. 2007. Frequency of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* and *F. solani* f. sp. *cucurbitae* from watermelon seeds and their effect on disease incidence. *Research Journal of Parasitology*, 2(1): 32–38
- Fang ZD. 1998. *Plant disease research methods* (3rd edition). Beijing: China Agriculture Press, pp. 122–127 (in Chinese) [方中达. 1998. 植病研究方法(第3版). 北京: 中国农业出版社, pp. 122–127]
- Feng CM, Mo YB, Pan XB, Chen HP. 2006. Effects of different root stocks on disease resistance and main economic characters in watermelon. *Chinese Agriculture Science Bulletin*, 22(2): 289–291 (in Chinese) [冯春梅, 莫云彬, 潘晓飏, 陈海平. 2006. 不同砧木嫁接对西瓜抗病性及主要经济性状的影响. 中国农学通报, 22(2): 289–291]
- Gargouri S, Hajlaoui MR, Abdennadher M, Marrakchi M. 2000. Isolation and morphological and molecular identification of *Fusarium* spp. transmitted by watermelon seeds. *Bulletin OEPP*, 30(2): 217–222
- Han LZ, Li XF, Wang JM. 2011. Isolation and identification of several diseased plants of *Fusarium*. *Agricultural Technology and Equipment*, (3): 48–51, 56 (in Chinese) [韩利真, 李新风, 王健明. 2011. 几种罹病植物镰刀菌的分离鉴定. 农业技术与装备, (3): 48–51, 56]
- Kim DH, Lee JM. 2000. Seed treatment for cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) in gourd (*Lagenaria siceraria*) seeds and its detection. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*, 41: 1–6
- Kim SM, Nam SH, Lee JM, Yim KO, Kim KH. 2003. Destruction of cucumber green mottle mosaic virus by heat treatment and rapid detection of virus inactivation by RT-PCR. *Molecules & Cells*, 16(3): 338–342
- Lee JM. 2004. Advances in seed treatments for horticultural crops. *Chronica Horticulturae*, 44(2): 11–20
- Leslie JF, Summerell BA. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. England: Blackwell Publishing, pp. 212
- Michail SH, Rehim MAA, Tarabei AM, Aly MA. 2002. Effect of *Fusarium* seed-borne infection levels on watermelon wilt incidence. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 37(4): 347–351
- Miguel A, Maroto JV, San Bautista A, Baixauli C, Cebolla V, Pascual B, López S, Guardiola JL. 2004. The grafting of triploid watermelon is an advantageous alternative to soil fumigation by methyl bromide for control of *Fusarium* wilt. *Scientia Horticulturae*, 103: 9–

17

- Sakata Y, Ohara T, Sugiyama M. 2007. The history and present state of the grafting of cucurbitaceous vegetables in Japan. *Acta Horticulturae*, 731: 159–170
- Song SH, Wu P, Zheng XY, Ding HF. 2011. Sterilizing effects of dry heat treatment and its influence on vegetable seed quality. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 40(4): 117–119 (in Chinese) [宋顺华, 吴萍, 郑晓鹰, 丁海凤. 2011. 干热处理对蔬菜种子质量的影响及其杀菌效果研究. *河南农业科学*, 40(4): 117–119]
- Song SH, Xu XL, Wu P, Meng SC, Geng LH. 2017. Effect of seed treatment on the control of three watermelon diseases at seedling stage. *Plant Protection*, 43(3): 201–212 (in Chinese) [宋顺华, 徐秀兰, 吴萍, 孟淑春, 耿丽华. 2017. 种子处理对西瓜苗期3种病害的防治效果. *植物保护*, 43(3): 201–212]
- Su SJ, Yu CL, Cheng HS. 2005. The compared with different grafting methods on watermelon. *Northern Fruits*, (5): 17–18 (in Chinese) [苏胜举, 于春雷, 程洪森. 2005. 西瓜不同嫁接方法对比试验. *北方果树*, (5): 17–18]
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics.//Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ. *PCR protocols: a guide to methods and application*. San Diego, New York: Academic Press, pp. 315–322
- Wu XH, Han LM, Chen Q, Li HH, Gu QS. 2009. Morphological and molecular identification of seed borne *Fusarium* of watermelon and its effect on seed germination. *Acta Phytopathologica Sinica*, 39(2): 118–124 (in Chinese) [吴学宏, 韩鲁明, 陈倩, 李怀方, 古勤生. 2009. 西瓜种传镰刀菌形态和分子鉴定及其对种子发芽的影响. *植物病理学报*, 39(2): 118–124]
- Wu XH, Lu ZJ, Chen Q, Han LM, Li HH, Gu QS. 2010. Pythogenicity of seedborne *Fusarium oxysporum* of watermelon and effect of its crude toxin on seed germination. *Journal of China Agricultural University*, 15(3): 50–56 (in Chinese) [吴学宏, 卢志军, 陈倩, 韩鲁明, 李怀方, 古勤生. 2010. 西瓜种传尖孢镰刀菌致病性及其粗毒素对种子发芽的影响. *中国农业大学学报*, 15(3): 50–56]
- Xu JH, Huang DF, Zhi YE. 2004. Relationship of PAL activity and transfer of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in grafted watermelon. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science)*, 22(1): 12–16 (in Chinese) [徐敬华, 黄丹枫, 支月娥. 2004. PAL活性与嫁接西瓜枯萎病抗性传递的相关性. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 22(1): 12–16]
- Xu WH, Zhou Y, Wu FZ. 2013. Research progress on *Fusarium* wilt of watermelon. *China Vegetables*, (8): 4–11 (in Chinese) [徐伟慧, 周岩, 吴凤芝. 2013. 西瓜枯萎病的研究进展. *中国蔬菜*, (8): 4–11]
- Zang JC, Luo WD, Meng ZP, Shi KQ, Wang SQ, Zhang WS, Wang DQ. 2001. Occurrence and integrated control of watermelon wilt disease. *Plant Protection*, 27(5): 48–49 (in Chinese) [臧君彩, 罗维德, 孟昭萍, 石克强, 王淑清, 张文山, 王德清. 2001. 西瓜枯萎病发生危害与综合防治. *植物保护*, 27(5): 48–49]
- Zheng GF, Xu YY, Xu ZH, Zhang ZF, Shi XJ. 2000. Breeding of Chao Feng F₁ hybrid watermelon rootstock and its utilization for repeated stubble culture of watermelon. *Journal of Fruit Science*, 17(3): 207–213 (in Chinese) [郑高飞, 徐永阳, 徐志红, 张志发, 史宣杰. 2000. 超丰F₁砧木品种选育及其在西瓜抗重茬栽培中的应用. *果树科学*, 17(3): 207–213]

(责任编辑:王 璇)