

甘肃白兰瓜、西瓜疫霉种的鉴定研究

唐德志 孙毓彬 何苏琴

(甘肃省农科院植物保护研究所)

摘 要 从甘肃白兰瓜、西瓜上分离出15株疫霉,鉴定出两个种:掘氏疫霉 *Phytophthora drechsleri* Tucker, 辣椒疫霉 *P. capsici* Leonian。分离物经过配对培养,均可产生性器官,10株掘氏疫霉为A₁交配型,5株辣椒疫霉为A₂交配型。

关键词 白兰瓜,西瓜,掘氏疫霉 *Phytophthora drechsleri* Tucker, 辣椒疫霉 *P. capsici* Leonian

疫霉 *Phytophthora* 可侵染白兰瓜、西瓜的根、茎、叶、瓜。在甘肃主要引起烂秧、烂瓜,损失严重。世界各地报道危害甜瓜、西瓜的疫霉有6种 (*P. cactorum*, *P. capsici*, *P. parasitica*, *P. drechsleri*, *P. melonis*, *P. cryptogea*)。Ho et al. 报道新疆哈密瓜(厚皮甜瓜)疫霉为掘氏疫霉 *Phytophthora drechsleri* [1]。李淑娥等报道新疆哈密瓜疫霉为甜瓜疫霉 *P. melonis* [2]。我们于1986至1988年研究了甘肃白兰瓜、西瓜的疫霉。

1 材料和方法

1.1 菌种分离

分离疫霉主要用玉米粉琼脂培养基(CMA),其他试验用燕麦琼脂培养基(OMA),马铃薯蔗糖琼脂培养基(PSA),V-8汁琼脂培养基(V-8),胡萝卜琼脂培养基(CA),蔬菜汁琼脂培养基(VA)。用常规法从白兰瓜病瓜上分离到phy-3(安宁区),phy-5(红古区),phy-14(兰州市),phy-21,phy-22,phy-23,phy-24,phy-25(青白石),phy-16、phy-18(敦煌市)疫霉菌株。从西瓜病瓜上分离到phy-13、phy-17(高台县),phy-4、phy-6、phy-7(靖远县)疫霉菌株进行种的鉴定。菌株斜面在8~9℃冰箱中保存,用时在CMA上25℃下扩大培养。

1.2 菌种鉴定

1.2.1 菌落形态比较

取各个菌株在CMA培养基上生长的菌落边缘圆片(直径0.5cm),分别放入OMA, CMA, CA, PSA, V-8培养基平板中央,25℃下培养4d检查菌落形态。

1.2.2 孢子囊形成、脱落试验

采用余永年等的方法[3]进行。

文稿收到日期:1990年-01-20

1.2.3 有性器官的形成试验

供试菌株在V-8或VA培养基上单独和配对培养, 检查藏卵器形成情况。所用标准菌株为 *Phytophthora drechsleri* Tucker、*Phytophthora capsici* Leonian。

1.2.4 生长温度试验

取在CMA培养基上生长4d的各个菌株的菌落边缘圆片移植于MA培养基平板中心。分别在10, 15, 20, 25, 30, 35, 40°C温箱中培养4d, 测量各个温度下的菌落直径。

1.2.5 淀粉利用能力及孔雀绿耐性测定

采用Ho et al.的方法^[4]进行。

1.2.6 产生色素试验

采用 Timmers 的培养基^[5]测定。

1.2.7 寄主范围测定

寄主范围测定在温室内进行, 用菌片(直径0.5cm)在无菌水中浸泡24h, 产生孢子囊后, 再把菌片贴于被测植物茎干基部, 用脱脂棉包上保湿。用打孔器在苹果和马铃薯块茎上打孔, 把菌片接入孔内, 透明胶带封口, 25°C温箱培养。

1.2.8 菌丝可溶性蛋白质凝胶电泳

采用徐大雅的方法^[6]进行电泳测定, 用岛津CS-930扫描仪进行光谱扫描。

2 结果和讨论

2.1 温度反应及菌落形态

Waterhouse et al.*根据疫霉丝生长温度, 把疫霉归为高温菌、中温菌、低温菌。供试的15个菌株属于高温菌。在10°C和40°C下不生长, 适宜温度为30°C^[7]。

HO的疫霉属分类种检索表中报道, 不同种的疫霉, 菌落可形成非绒毛型、绒毛型、花瓣型、放射型^[8]。供试的15个菌株(25°C), 在PSA上形成两种菌落。phy-3、phy-5、phy-13、phy-14、phy-17、phy-21、phy-22、phy-23、phy-24、phy-25为绒毛型; phy-4、phy-6、phy-7、phy-16、phy-18为花瓣型。

2.2 孢子囊的形态

根据15个菌株孢子囊有无乳突, 把它们归成两类。phy-3、phy-5、phy-13、phy-14、phy-17、phy-21、phy-22、phy-23、phy-24、phy-25无乳突, 有内层出现象为一类。孢子囊 $19.8\sim 75.0\mu\text{m}\times 15.4\sim 45.0\mu\text{m}$, 长宽比为1.4~1.6。孢子囊不易脱落; phy-4、phy-6、phy-7、phy-16、phy-18有明显的乳突, 少数有双乳突为第二类。孢子囊乳突高 $1.3\sim 5\mu\text{m}$, 孢子囊 $27.0\sim 62.5\mu\text{m}\times 20.0\sim 43.8\mu\text{m}$ 。易脱落, 柄长 $17.3\sim 74.4\mu\text{m}$ (图1, A, B, D, E)。

2.3 有性器官的形成

供试的15个菌株, 单独培养不产生藏卵器。phy-3、phy-5、phy-13、phy-14、phy-17、phy-21、phy-22、phy-23、phy-24、phy-25菌株与*Phytophthora drechsleri* A₂型配对产生大量藏卵器。藏卵器球形, 直径 $27.2\sim 39.6\mu\text{m}$; 雄器围生, 近球形、圆筒形, $16.1\sim 29.7\mu\text{m}\times 13.6\sim 22.3\mu\text{m}$; 卵孢子球形, 直径 $24.8\sim 33.4\mu\text{m}$ (图1, C)。

phy-4、phy-6、phy-7、phy-16、phy-18菌株与*Phytophthora capsici* A₁型配对

产生大量藏卵器。藏卵器球形， $24.8\sim 39.6\mu\text{m}$ ；雄器围生，近球形，圆筒形 $12.4\sim 19.8\mu\text{m}\times 12.4\sim 17.3\mu\text{m}$ ；卵孢子球形， $21.0\sim 34.2\mu\text{m}$ ，平滑、不满器（图1. F）。

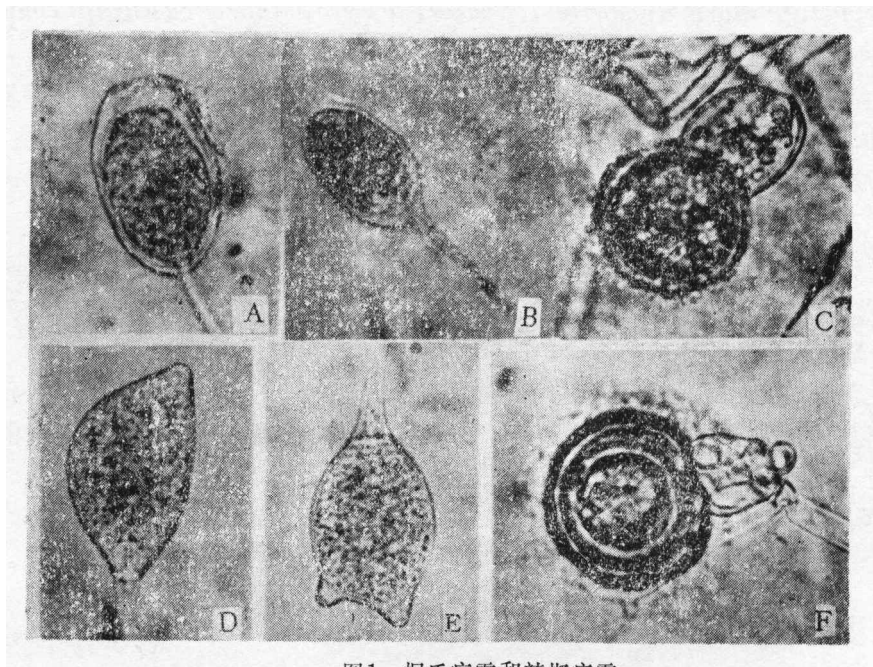


图1 掘氏疫霉和辣椒疫霉

A - B.掘氏疫霉孢子囊；C.掘氏疫霉藏卵器、雄器、卵孢子；
D - E.辣椒疫霉孢子囊；F.辣椒疫霉藏卵器、雄器、卵孢子

2.4 淀粉利用能力及对孔雀绿耐性测定

菌株phy-3、phy-5、phy-13、phy-14、phy-17、phy-21、phy-22、phy-23、phy-24、phy-25淀粉水解指数在 $0.37\sim 0.58$ 之间，均未超过 0.8 ，属于淀粉水解能力弱者。

菌株phy-18淀粉水解指数为 0.83 ，属于淀粉水解能力强者。phy-4、phy-6、phy-7、phy-16淀粉水解指数在 $0.52\sim 0.79$ 之间，属于淀粉水解能力弱者。

供试的15个疫霉菌株，在孔雀绿 $1:8\,000\,000$ 浓度下均能生长。

2.5 产生色素试验

15个疫霉菌株在Timmers培养基上产生少量棕色色素。其中phy-3、phy-5、phy-13、phy-14、phy-17、phy-21、phy-22、phy-23、phy-24、phy-25色淡，phy-4、phy-6、phy-7、phy-16、phy-18比前者色深些。

2.6 寄主范围测定

15个疫霉菌株对白兰瓜、西瓜、黄瓜、西葫芦、番茄、茄子、辣椒、豇豆、苹果、马铃薯等植物的茎或果实的致病性是：孢子囊无乳突的phy-3、phy-5、phy-13、phy-14、phy-17、phy-21、phy-22、phy-23、phy-24、phy-25菌株，除茄子外，对其他9种植物均能致病；孢子囊有乳突的phy-4、phy-6、phy-7、phy-16、phy-18菌株，对10种植物均能致病。15个疫霉菌株侵染瓜后，成水浸状病斑，后呈现烂茎而倒秧，辣椒、番茄、茄子发病后出现黑胫而倒苗。豇豆发病后呈红褐色锈斑。苹果和马铃薯接菌后，显

示典型褐腐。

2.7 菌丝可溶性蛋白质电泳和紫外光吸收测试

测试结果表明, 供试的白兰瓜、西瓜疫霉菌株, 显示出两种不同类型的电泳图谱和紫外光吸收图(图2)。

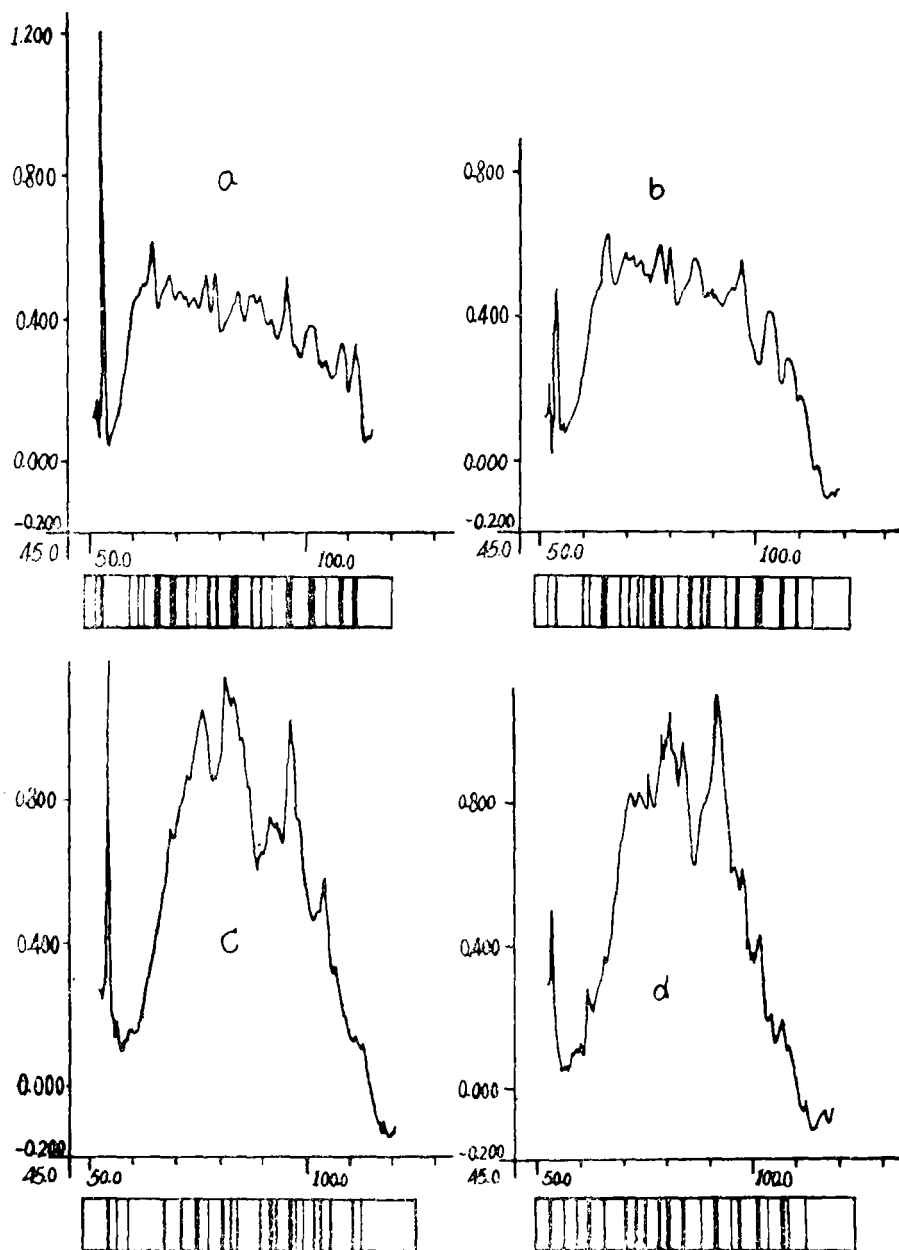


图2 可溶性蛋白质电泳图谱和紫外光吸收图

a, b, *P. drechsleri* (Phy-13, Phy-14); c, d, *P. capsici* (Phy-18, Phy-20)

如图所示, 两种疫霉的电泳图谱和紫外光吸收图有明显的区别, 其中两株掘氏疫霉 *P. drechsleri* phy-13 (高台、西瓜菌株)、phy-14 (兰州白兰瓜菌株) 的图谱和吸收

图基本一致,两株辣椒疫霉*P. capsici* phy-18(敦煌白兰瓜菌株)、phy-20(余永年提供的标准菌株原编号116)图谱和吸收图基本相同。相比之下,不同种之间的差异明显,而来自不同寄主、不同地区的同一种疫霉菌株图谱和吸收图则基本一致。

2.8 鉴定结果

根据形态特征和生理特性,把来自白兰瓜、西瓜上的15个疫霉菌株归为两类:phy-13、phy-5、phy-13、phy-14、phy-17、phy-21、phy-22、phy-23、phy-24、phy-25为第一类;phy-4、phy-6、phy-7、phy-16、phy-18为第二类。第一类的孢子囊、藏卵器与Waterhouse et al.所描述的*Phytophthora drechsleri* Tucker基本一致^[7,9]。另外电泳图谱和吸收图也基本相同。

关于掘氏疫霉*Phytophthora drechsleri* Tucker与隐地疫霉*P. cryptogea* Pethyb. & Laff.是否存在差异,一直有争议。一般认为在35°C下掘氏疫霉生长,而隐地疫霉则不生长。Newhook et al.的检索表表明隐地疫霉的卵孢子壁较厚,是重要鉴别特征之一^[10]。Ho et al.认为掘氏疫霉与隐地疫霉不易区别,建议将两者合并,以隐地疫霉*P. cryptogea*作为种名^[11]。郑小波、陆家云在南京雪松上分离到CD-5、CD-6菌株,与南京分离到的掘氏疫霉及标准菌株ATCC15428(H.HH提供)作比较,有差异,他们把CD-5、CD-6鉴定为隐地疫霉^[12]。我们分离的这10个菌株,与陆家云提供的掘氏疫霉菌株phy-64在形态、生理、菌丝蛋白质电泳诸方面均相同。据此将10个疫霉菌株鉴定为掘氏疫霉*Phytophthora drechsleri* Tucker。

第二类疫霉的孢子囊、藏卵器与Waterhouse和余永年等所描述的*Phytophthora capsici* Leonian相一致^[3,7,9],电泳图谱、紫外光吸收图与余永年提供的*P. capsici*菌株基本相同。据此将这一类鉴定为*Phytophthora capsici* leonian(见下表)。

白兰瓜和西瓜疫霉鉴定结果

菌名	菌号	交配型	来源	产地
掘氏疫霉	phy-3	A ₁		安宁
	phy-5	A ₁	白兰瓜	红古
	phy-13	A ₁	西瓜	高台
	phy-14	A ₁	白兰瓜	兰州
	phy-17	A ₁	西瓜	高台
	phy-21	A ₁		
	phy-22	A ₁		
	phy-23	A ₁	白兰瓜	青白石
	phy-24	A ₁		
	phy-25	A ₁		
辣椒疫霉	phy-4	A ₂		
	phy-6	A ₂	西瓜	靖远
	phy-7	A ₂		
	phy-16	A ₂	白兰瓜	敦煌
	phy-18	A ₂		

承中国科学院微生物研究所余永年教授、南京农业大学陆家云教授提供标准菌株,特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Ho H H, Lu J Y, Gong L G. *Phytophthora drechsleri* causing blight of cucumis species in China. *Mycologia* 1984, 76 (1) 115-121
- 2 李淑娥, 王志田, 汤细等. 哈密瓜疫霉病及防治研究. 植物保护学报, 1986, 13 (1) 53-58
- 3 余永年, 李金亮, 杨雄飞. 中国橡胶树疫霉种的研究. 真菌学报, 1986, 5 (4) 193-207
- 4 Ho H H, Foster B. Starch utilization by *phytophthora* spp. *Mycopath. Myc. Appl.* 1972, 46, 335-339
- 5 Timmer L W, Eroin D C, McCormick W H. *Mycologia* 1970, 62, 967-977
- 6 徐大雅, 黄河, 王春平. 疫霉蛋白质聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳. 真菌学报, 1982, 1 (1), 40-47
- 7 Waterhouse G M. Key to the species of *phytophthora* DE Bary. *Mycol. pape.*, 1963, 92, 1-22
- 8 Ho H H. Synoptic keys to the species of *phytophthora*. *Mycologia* 1981, 73, 705-714
- 9 Waterhouse G M. Genus *Phytophthora* DE Bary. *Mycol. pap.* 1970, 122, 1-59
- 10 Newhook F J. Tabular key to the species of *phytophthora* DE Bary. *Mycologica payers* 1978, 143 1-22
- 11 Ho H H, Jong S C. A comparison between *phytophthora cryptogea* and *P. drechsleri*. *Mycotaxon* 1986, 27, 289-319
- 12 郑小波, 陆家云. 福建、浙江、江苏、上海疫霉种的研究. 真菌学报, 1989, 8 (3) 161-163

Studies on *phytophthora* Species From Honeydew and Watermelon in Gansu province

Tang Dezhi Sun Yubin

He Suqin

(Plant Protection Institute, Gansu Academy of Agricultural
Sciences)

Abstract A total of 15 isolates from diseased fruits of Honey Dew and Water melon in the plantation were obtained from Gansu province. These isolates were identified as *P. drechsleri* and *P. capsici*, based on the morphology of sporangia, sporangial caducity, type of antheridia and physiological characteristics, etc. 15 isolates can form sex organs when paired with an opposite strain. Both A₁ and A₂ mating types are detected in these two districts. A₁ mating type of *phytophthora drechsleri* in all ten isolates. As for *P. capsici* A₂ mating type in all five isolates.

Key words *phytophthora*, watermelon, *Phytophthora drechsleri* Tucker, *P. capsici* Leonian