

# 保护地蔬菜灰霉病菌的菌系分布及致病力分化测定

潘好芹, 夏海波, 李艳青, 赵 静

(潍坊科技学院, 山东 寿光 262700)

**摘 要:**以山东省寿光市保护地栽培蔬菜上分离的 30 个灰霉病菌菌株为试材, 采用菌落培养性状观察和菌饼活体接种法, 研究灰霉病菌的菌系划分及对黄瓜叶片的致病力差异。结果表明:供试菌株划分为菌核型、菌丝型和孢子型 3 个菌系, 不同菌株对黄瓜叶片的致病力分化显著, 致病力强弱与寄主植物无显著相关性; 强致病力菌株以菌核型为主, 菌丝型和孢子型菌株致病力相对较弱。

**关键词:**灰葡萄孢; 菌系; 致病力

**中图分类号:**S 432.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)01-0111-03

由灰葡萄孢(*Botrytis cinerea* Pres.)引起的蔬菜灰霉病是蔬菜生产特别是保护地蔬菜生产中发生最为严重的病害之一。灰葡萄孢分布广泛, 寄主种类繁多, 可危害多种粮食作物、果树、蔬菜及花卉植物<sup>[1-3]</sup>, 已报道的寄主约有 235 种<sup>[4]</sup>。灰霉病菌作为一个复杂群体, 具有明显群体多样性, 在自然界中存在 3 种菌系, 即菌核型(Sclerotium, Sc), 孢子型(Sporulation, Sp)和菌丝型(Mycelial, M), 并且不同菌系的致病力存在明显差异<sup>[5-6]</sup>。有研究表明, 灰霉病菌在不同作物间可相互交叉感染<sup>[7-8]</sup>, 并且不同菌株间的致病力存在明显分化现象<sup>[9-14]</sup>。

山东省寿光市保护地蔬菜栽培已有多年历史, 主要种植番茄、辣椒、黄瓜、茄子等蔬菜, 种植蔬菜品种繁多, 不同蔬菜间重茬、连作栽培普遍, 导致各种蔬菜灰霉病发生严重。课题组对该地区保护地中不同蔬菜灰霉病样本进行了系统采集, 分离、纯化灰霉病菌, 明确寿光市保护地中灰霉病菌的菌系构成及不同菌系和菌株对黄瓜的致病力分化差异, 以期为保护地蔬菜灰霉病的合理防控提供指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 供试菌株 从山东省寿光市不同地区的保护地

**第一作者简介:**潘好芹(1982-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为植物病害及真菌资源利用。E-mail: never423@163.com.

**基金项目:**山东省自然科学基金资助项目(ZR2011CQ037); 潍坊市科学技术发展计划资助项目(201301158); 潍坊科技学院博士基金资助项目(W13K010; W13K009); 山东省高等学校科技计划资助项目(J10LC74; J13LF53)。

**收稿日期:**2014-09-17

蔬菜上采集典型灰霉病症状的番茄、茄子、黄瓜、丝瓜等发病组织, 采用组织分离法<sup>[15]</sup>进行灰霉病菌分离。经分离、纯化获得 30 个灰霉病菌菌株。各菌株编号、寄主植物、采集地点见表 1。

表 1 各供试菌株编号、寄主植物和采集地点

Table 1 Host and locality of the isolates					
菌株编号	寄主植物	采集地点	菌株编号	寄主植物	采集地点
Isolates	Host	Locality	Isolates	Host	Locality
HGH005	黄瓜	孙集	FQH027	番茄	后朴里
HGH007	黄瓜	孙集	FQH028	番茄	后朴里
HGH014	黄瓜	稻田	FQH031	番茄	古城
HGH017	黄瓜	稻田	QZH008	茄子	孙集
HGH018	黄瓜	稻田	QZH009	茄子	孙集
HGH020	黄瓜	文家	QZH010	茄子	孙集
HGH026	黄瓜	文家	QZH011	茄子	纪台
HGH028	黄瓜	文家	QZH012	茄子	纪台
HGH029	黄瓜	文家	QZH014	茄子	纪台
FQH010	番茄	古城	SGH001	丝瓜	后朴里
FQH011	番茄	古城	SGH002	丝瓜	后朴里
FQH012	番茄	古城	LJH010	辣椒	洛城
FQH014	番茄	马瞳	LJH016	辣椒	洛城
FQH016	番茄	古城	LJH018	辣椒	洛城
FQH022	番茄	后朴里	LJH022	辣椒	洛城

1.1.2 供试黄瓜 供试黄瓜品种为“津春四号”。采用常规育苗, 长至 1 片真叶时选择大小一致的健壮黄瓜苗, 移栽于盛有适量营养土的盆中, 置于日光温室内, 常规管理。

### 1.2 试验方法

1.2.1 灰霉病菌的菌系划分 将供试灰霉病菌菌株接种到 PDA 培养基平板上, 25℃条件下培养 4 d, 沿菌落边缘用打孔器打取直径 5 mm 菌饼, 挑取菌饼接种于 PDA 平板上, 25℃恒温培养箱中培养 7、14、21 d, 观察记录各菌落形态, 根据菌核、分生孢子、气生菌丝等特征划分为菌

核型(Sc)、孢子型(Sp)和菌丝型(M)。每个菌株重复 3 皿。

1.2.2 灰霉病菌的致病力测定 将供试菌株接种到 PDA 培养基平板上,25℃条件下培养 4 d,沿菌落边缘用打孔器打取直径 5 mm 菌饼,挑取菌饼接种于大小、部位相近的黄瓜叶片表面,并用脱脂棉球保湿 48 h,活体接种。每个菌株接种 5 张叶片,3 次重复,以空白培养基作为对照。接种后在自然条件下培养 3 d,采用十字交叉法测定黄瓜叶片病斑大小。

### 1.3 数据分析

采用 DPS v7.05 软件对各供试菌株侵染引起的病斑直径进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 灰霉病菌的菌系划分

由表 2 可知,菌核型灰霉病菌菌株 21 个,占全部供试菌株的 70%,为灰霉病菌的优势菌系;菌丝型菌株 7 个,占全部供试菌株的 23.3%;而孢子型菌株(HGH014、HGH026)仅 2 个,占供试菌株的 6.7%。菌核型灰霉病菌在不同寄主来源的供试菌株中的分布具有明显差异。茄子来源的供试菌株中,菌核型菌株 5 个,占总数的 83.33%;番茄来源的供试菌株中,菌核型菌株 7 个,占 77.78%;丝瓜和辣椒来源的供试菌株中,菌核型菌株均占 50%。菌丝型灰霉病菌在不同寄主植物上均有分布,其中番茄和辣椒上均分离获得 2 个,其它寄主分离获得 1 个,而孢子型灰霉病菌仅分离自黄瓜,可能该类型灰霉病菌的分布与寄主有关。

### 2.2 灰霉病菌不同菌株对黄瓜叶片的致病力测定

由表 2 可知,不同供试菌株接种黄瓜叶片后,均可引起叶片发病,最大病斑直径为 1.37 cm,最小病斑直径仅为 0.22 cm,不同灰霉病菌菌株引起黄瓜叶片病斑的平均直径差异较大。通过 DPS v7.05 软件对灰霉病菌不同菌株所致病斑直径进行分析,结果表明,不同供试菌株所致黄瓜叶片病斑直径间存在极显著差异。菌株 HGH007、HGH014、HGH018、HGH020、HGH029、QZH010、QZH012、QZH014、FQH016 接种黄瓜叶片后 3 d,所致病斑的平均直径均大于 1.00 cm,说明这 9 个菌株的致病力较强,占供试菌株总数的 30%;菌株 FQH014、FQH022、FQH031、HGH005、LJH022、LJH018 接种黄瓜叶片所致病斑的平均直径均小于 0.50 cm,其致病力较弱,占 20%;其余菌株所致黄瓜叶片病斑直径为 0.50~1.00 cm,致病力中等,占 50%。

分离自相同寄主植物的菌株对黄瓜叶片的致病力也存在明显分化。菌株 HGH018 分离自黄瓜,接种黄瓜叶片后所致病斑直径达 1.37 cm,为强致病力菌株;菌株 HGH017、HGH026 所致病斑直径分别为 0.68 cm、0.58 cm,致病力中等;而菌株 HGH005 所致病斑直径仅为 0.37 cm,致病力较弱。分离自番茄的菌株 FQH016

接种黄瓜叶片后,所致病斑的平均直径为 1.13 cm,致病力较强,菌株 FQH012、FQH028(病斑平均直径分别为 0.70、0.81 cm)的致病力中等,而菌株 FQH022、FQH031(病斑平均直径分别为 0.38、0.22 cm)的致病力较弱。由此可见,不同灰霉病菌菌株的致病力强弱与菌株来源无明显相关性。

表 2 灰霉病菌不同菌株对黄瓜叶片的致病力测定

Table 2 Pathogenicity of different isolates to cucumber leaves

菌株编号 Isolate	菌系类型 Strain type	平均病斑直径 Average lesion diameters/cm	显著性差异 5%显著水平 0.05 level	Difference significance 1%极显著水平 0.01 level
HGH018	Sc	1.37	a	A
QZH014	Sc	1.35	a	A
HGH029	Sc	1.28	ab	AB
QZH010	Sc	1.22	abc	ABC
HGH007	Sc	1.16	abcd	ABCD
FQH016	Sc	1.13	abcde	ABCD
HGH020	Sc	1.12	abcde	ABCD
QZH012	Sc	1.08	abcdef	ABCDE
HGH014	Sp	1.01	bcdefg	ABCDEF
SGH001	Sc	0.99	bcdefgh	ABCDEFGH
HGH028	M	0.93	cdefg	BCDEFGH
LJH010	Sc	0.90	defg	BCDEFGHI
QZH011	Sc	0.86	defghij	CDEFGHI
QZH008	M	0.84	efghij	CDEFGHI
FQH028	Sc	0.81	fghij	DEFGHI
QZH009	Sc	0.77	ghijk	DEFGHIJ
FQH012	Sc	0.70	hijkl	EFGHIJ
FQH027	M	0.68	ijklm	EFGHIJ
HGH017	Sc	0.68	ijklm	EFGHIJ
LJH016	Sc	0.67	ijklm	EFGHIJ
SGH002	M	0.63	ijklm	FGHIJK
FQH010	M	0.58	ijklm	GHIJKL
HGH026	Sp	0.58	ijklm	HIJKL
FQH011	Sc	0.55	jklmn	HIJKL
FQH014	Sc	0.49	klmno	IJKL
LJH022	M	0.41	lmno	JKL
FQH022	Sc	0.38	mno	JKL
HGH005	Sc	0.37	mno	JKL
LJH018	M	0.28	no	KL
FQH031	Sc	0.22	o	L

注:表中同一列不同字母表示在 0.05 和 0.01 水平的显著差异。Sc:菌核型;M:菌丝型;Sp:孢子型。

Note: Different letters in the same column show significant difference at 0.05 and 0.01 levels. Sc: Sclerotium; M: Mycelial; Sp: Sporulation.

### 2.3 灰霉病菌不同菌系对黄瓜叶片的致病力分析

由表 2 可以看出,灰霉病菌不同菌系对黄瓜叶片的致病力差异显著。菌核型菌株的致病力明显分化,在强、中、弱 3 种致病力类型中均有分布。如致病力较强的 HGH007、HGH018、HGH020、HGH029、QZH010、QZH012、QZH014、FQH016 菌株均为菌核型,而同为菌核型的 FQH014、FQH022、FQH031 菌株致病力则较弱。孢子型菌株(HGH014、HGH026)的致病力存在较大差异,病斑平均直径分别为 1.01、0.58 cm,分属强致病力和中等致病力菌株。菌丝型菌株主要为中等致病力和

弱致病力菌株。由此可见,致病力较强的菌株以菌核型为优势菌系,菌丝型和孢子型菌系的致病力相对较弱,表现为中等致病力和弱致病力。

### 3 讨论

灰霉病是蔬菜生产中发生普遍、危害严重的病害之一。张从宇等<sup>[7]</sup>研究番茄灰霉病菌的寄主范围及致病力分化时发现,番茄灰霉病菌能够侵染菠菜、黄瓜、辣椒、豌豆、马铃薯、山药、萝卜、柑橘、菊花等多种植物的不同组织,并且不同菌株对不同植物的致病力差异显著。李廷刚等<sup>[11]</sup>对山东省番茄灰霉病菌的致病力分化研究发现,采自山东 11 个番茄主产区的 22 个菌株致病力显著分化,菌株间致病力与菌株地理来源无相关性。李喜玲等<sup>[13-14]</sup>研究了不同寄主来源的灰葡萄孢对番茄、草莓叶片和果实的致病力分化,结果表明不同寄主来源的灰葡萄孢对番茄和草莓的致病力明显不同,并且其致病力强弱与寄主来源无相关性。该研究针对山东省寿光市保护地蔬菜灰霉病菌进行致病力测定,各供试菌株接种黄瓜叶片后均可引起发病,其致病力分化显著,不同菌株的致病力强弱与寄主来源无显著相关性。该研究结果与李廷刚等<sup>[11]</sup>、李喜玲等<sup>[13-14]</sup>报道基本一致。

该研究对保护地蔬菜灰霉病菌进行菌系划分时发现,不同菌系对黄瓜叶片的致病力也存在差异,致病力较强的菌株以菌核型为优势菌系,菌丝型和孢子型菌系的致病力相对较弱。而李喜玲等<sup>[13]</sup>研究中发现致病力强的菌株气生菌丝生长旺盛,分生孢子产生量较大,与该研究结果存在差异,这可能与不同区域中灰霉病菌的优势种群结构有关。该研究分离获得较多的菌核型菌株,菌丝型和孢子型菌株较少,说明该地区菌核型灰霉病菌为优势菌系。二者是否有相关性,尚需进一步试验明确。

### 参考文献

- [1] 陈宇飞,文景芝,李立军. 葡萄灰霉病研究进展[J]. 东北农业大学学报,2006,37(5):693-699.
- [2] 董平,赵培宝,任爱芝. 蝴蝶兰灰霉病菌的分离鉴定[J]. 北方园艺,2014(4):109-111.
- [3] 张从宇,高智谋,岳永德. 番茄灰霉病菌生物学性状研究[J]. 安徽技术师范学院学报,2002,16(3):10-14.
- [4] Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, et al. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease[J]. Molecular Plant Pathology, 2007, 8: 561-580.
- [5] 陈立芹. 番茄灰霉病生态防治机理的研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2000.
- [6] Rylski I. Fruit set and development of seeded and seedless tomato fruits under diverse regimes of temperature and pollination [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1979, 104: 835-838.
- [7] 张从宇,张巨全,胡能兵,等. 番茄灰霉病菌寄主范围及致病力分化研究[J]. 安徽技术师范学院学报,2003,17(3):239-242.
- [8] 董蕴慧,陈夕军,徐敬友,等. 江苏省蔬菜灰葡萄孢生物学性状及致病力研究初报[J]. 中国蔬菜,2003(1):33-34.
- [9] Beever R E, Weeds P L. Taxonomy and genetic variation of *Botrytis* and *Botryotinia*, in: Elad Y., Williamson B., Tudzynski P., Delen N. (eds.). *Botrytis*: biology, pathology and control [M]. Netherlands: Dordrecht Kluwer Academic Press, 2004.
- [10] 范咏梅,陈林凤,赫敬喆,等. 新疆灰霉病菌多态性及其致病力分化分析[J]. 中国生态农业学报,2010,18(3):548-555.
- [11] 李廷刚,李敏,李宝笃. 山东省番茄灰霉病菌致病力分化研究[J]. 山东农业科学,2013,45(3):97-99.
- [12] 寇宏达,张艳杰,乔丹娜,等. 灰葡萄孢霉对不同葡萄品种致病力差异的检测和分析[J]. 西北农业学报,2013,22(8):138-143.
- [13] 李喜玲,高智谋,李艳梅,等. 不同寄主来源的灰葡萄孢对番茄的致病力分化研究[J]. 菌物学报,2008,27(3):343-350.
- [14] 李喜玲,高智谋,李艳梅,等. 四种寄主来源的灰葡萄孢对草莓的致病力分化研究初报[J]. 园艺学报,2009,36(9):1365-1369.
- [15] 方中达. 植物研究方法[M]. 北京:农业出版社,1998.

## Strain Distribution and Pathogenicity Differentiation of *Botrytis cinerea* on Protected Vegetables

PAN Hao-qin, XIA Hai-bo, LI Yan-qing, ZHAO Jing

(Weifang University of Science and Technology, Shouguang, Shandong 262700)

**Abstract:** Taking thirty isolates of *Botrytis cinerea* as experimental materials which were obtained from the protected vegetables in Shouguang of Shandong Province. Based on the colony culture characters and applying mycelia block inoculation, the strain distribution and pathogenicity differentiation to cucumber leaves were detected. The results showed that all tested isolates were classified in three strains: sclerotium, sporulation and mycelial. There was significant differentiation in pathogenicity to cucumber leaves between all tested isolates and the pathogenicity difference was not significant related to the host. The isolates with strong pathogenicity were mainly sclerotium strain while the pathogenicity of sporulation and mycelia strains were relatively weak.

**Keywords:** *Botrytis cinerea*; strain; pathogenicity