

西葫蘆毒病种子帶毒試驗初报

河北农业大学植物病理教研組

石振亚 朱之堉 侯保林 石万余

西葫蘆 (*Cucurbita pepo* L.) 毒病种子帶毒問題, 各国学者还存有不同看法。Doolittle 和 Walker^[6] (1925) 認為美洲南瓜 (西葫蘆)、甜瓜和倭瓜的种子不帶毒。Cohen 和 Nifzany^[5] (1963) 也認為感染甜瓜花叶病毒的西葫蘆、甜瓜和豌豆植株的种子, 都不能产生病苗。但根据 Middleton^[8] (1944) 的报导, 則認為西葫蘆种子的帶毒率和西葫蘆种子质量有着一定程度的相关性, 来源于病株的輕而不飽滿或呈畸形的种子, 平均帶毒率为0.96%, 重而飽滿的种子則帶毒率为0.14%; 新收获的和保存三年的种子的帶毒率, 基本上无显著差异。Rader, Fritzpatrick 和 Hildbrand^[9] (1947) 通过溫室鉴定結果, 也認為甜瓜花叶毒可以通过甜瓜 (*Cucumis melo*)、倭瓜 (*Cucurbita moschata*)、越瓜 (*C. flexuosus*)、西葫蘆 (*C. pepo*) 等的种子传毒, 但黃瓜种子不传毒。

西葫蘆种子能否传带病毒, 在生产防病上具有重要的实践意义^[4]。一方面是帶毒种子极难从外表上来識別; 另一方面种子所带的病毒, 可以和它的昆虫介体結合起来, 很快地使西葫蘆毒病流行起来。本文对西葫

蘆种子是否帶毒問題, 进行了初步的探討, 茲介紹如下。

一、西葫芦种子帶毒的鉴定試驗

1. 溫室直播鉴定試驗:

(一) 病瓜部位、种子质量对种子帶毒率的影响: 供試品种有保定当地的綠皮西葫蘆和东北引入的叶儿三。保定綠皮种分別采自田間重病株和輕病株的“根瓜”和“腰瓜”, 并根据“根瓜”和“腰瓜”有无症状分为“病根瓜”、“病腰瓜”、“健根瓜”和“健腰瓜”四級。每級瓜內的种子又根据种子飽滿度, 分为“飽滿种”和“秕种”兩級。試驗前將上述种子, 先在清水中浸12小时催芽, 然后在无虫溫室和大田內直播, 以大田直播为对照。溫室土壤采用前作为棉花的未消毒土, 粪土比例为1:3; 室內每三天噴 E059 一次, 以严格防止蚜虫侵入, 并定期逐株进行調查。为了驗証溫室条件是否适于西葫蘆病毒症状的表現, 1963年在各批試驗中, 分別进行了部份植株的病毒汁液常規接种試驗, 并用来源完全相同的种子, 同时在大田播种作为对照, 結果見表1。

表1 不同来源种子温室直播鉴定结果

试验日期 (年 月/旬)	试验场所	品 种	供试种子级别	播种粒数	病 株 率 (%)				试验期间温 度日平均范 围 (.C)	
					苗 期	现蕾期	开花期	结瓜期		
62 ⁸ /下—62 ¹⁰ /中 (第一批试验)	无虫温室	保定绿皮种 (当年新采收种子)	重病株病瓜	饱满种	200	0	0	0	0	—
				秕 种	203	0	0	0	0	
			轻病株健瓜	饱满种	260	0	0	0	0	
				秕 种	200	0	0	0	0	
			混 合 种 子	1040	0	0	0	—		
大田对照	保定绿皮种	混 合 种 子	150	14.1	30.5	38.1	—			
63 ¹ /下—63 ³ /上 (第二批试验)	无虫温室	保定绿皮种 (62年采收种子)	轻病株健瓜	饱满种	45	0	0	0	0	11.4—21.9
				秕 种	31	0	0	0	0	
			重病株病瓜	饱满种	89	0	0	0	0	
				秕 种	82	0	0	0	0	
63 ⁵ /下—63 ⁸ /上 (第三批试验)	无虫温室	保定绿皮种	处 理 同 上		640	0	0	2	—	13.9—28.7
			混 合 种 子		2837	0	0	0	—	
		东北叶儿三品种	饱 满 种	200	0	0	0	—		
			秕 种	207	0	0	1	—		
	大田对照	保定绿皮种	混 合 种 子	150	64	100	100	100		
63 ⁷ /上—63 ⁸ /中 (第四批试验)	无虫温室	保定绿皮种	重病瓜 秕 种子	200	0	0	—	—	21.9—25.8	

第三第四批试验均设有室内人工汁液接种对照,发病率为80—90%。

表1说明:两年来在无虫温室直播的四批种子中,无论是采自轻病株,重病株上的“根瓜”或“腰瓜”的不同程度饱满种子,甚至是重病瓜的“秕种子”以及混合采收的生产用种子,先后在苗期、现蕾期进行逐株调查,都不表现典型的西葫芦病毒症状。而用同样来源,同时在大田内播种作为对照的种

子,有的在苗期即已发病,有的延迟到现蕾期都100%的发病。值得注意的是在1963年五月的第三批温室鉴定试验中,在植株的开花后期出现了三棵病株。这三棵病株的出现,距幼苗出土时间为33—40天,因此认为可能是后期侵染,并非由于种子带毒所致,将在讨论中加以分析说明。

(二) 不同地区种子带毒率的鉴定: 根据徐錫琳、陈永萱等^[1,2]关于葫蘆科作物花叶病毒的毒源鉴定以及我們1963年对保定地区西葫蘆毒病病原鉴定, 是属于甜瓜花叶病毒种群(MMV)的初步結果, 怀疑是否不同地区的毒源有所不同, 因而直接影响了西葫蘆种子的带毒率。为此收集了河北省张家口、唐山、石家庄、保定以及东北等地区生产用种子, 总計1165粒, 在1963年八月至九月在我校大型无虫溫室內进行試驗(試驗过程中室內日平均溫度为28.4°C)。同时用大田直播的250株和室內10棵西葫蘆幼苗进行汁液接种作为对照。試驗結果田间对照在現

蕾期全部发病, 溫室接种的10棵, 其中9棵在接种7—9天后发病, 发病率达90%, 而室內1165株試驗植株, 直至观察到現蕾期, 无一表現病毒症状。

2. 大田籠罩鉴定試驗: 为了使試驗場所更接近于自然条件, 在1963年五月至八月份, 进行了三批大田內籠罩保护的直播試驗。三批共播455粒, 直到开花后期无一表現症状。而籠罩外圍的对照植株, 則在幼苗期或現蕾期全部发病。在籠罩內先后以汁液常規接种作为对照的20棵西葫蘆幼苗, 也都全部发病。結果見表2:

表2 不同来源种子籠罩直播鉴定結果

試驗日期 (年 月/旬)	試驗場所	供試种子級別	播種粒數	病 株 率 (%)		
				苗 期	現 蕾 期	開 花 期
63 ⁵ /下—63 ⁷ /上 (第一批試驗)	防 蚜 籠 罩	輕病株飽滿種	20	0	0	0
		重病株批種	20	0	0	0
	大 田 對 照	混 合 種 子	140	64	100	100
63 ⁶ /中—63 ⁸ /上 (第二批試驗)	防 蚜 籠 罩	輕病株飽滿種	115	0	0	0
		重病株批種	185	0	0	0
	大 田 對 照	混 合 種 子	140	100	100	100
63 ⁶ /下—63 ⁸ /中 (第三批試驗)	防 蚜 籠 罩	混 合 種 子	115	0	0	—
	大 田 對 照	混 合 種 子	140	100	100	100

每批試驗期間籠罩內放置接種植株4棵作为对照, 发病率为100%。

3. 直接接种鉴定試驗:

(一) 单株接种鉴定: 用1962年保定綠皮种重病株上收集的西葫蘆种子, 播種在无虫溫室中, 到剛出現真叶时, 随机撥取40棵

分別研碎榨出液汁稀釋后, 分別接种在120棵对西葫蘆病毒比較敏感的北瓜幼苗上。另以不接种的10棵北瓜幼苗和从田间采集的西葫蘆病株的榨出液稀釋后接种在5棵北瓜幼

苗上作为对照。試驗从1963年六月二十二日开始,到八月上旬結束。結果除用西葫蘆病株榨出液接种的5棵对照植株处,其余未接种的和接种的北瓜幼苗,都不曾表現典型的花叶症状。

(二) 混合接种鉴定: 为了快速增加鉴定种子的数量,“将保定綠皮”、“保定白皮”等品种的混合种子和部份畸形种子以及东北叶儿三品种的混合种子共800粒,分別育苗后,以每50棵幼苗为一組,混合研碎,然后将其榨出液分別在北瓜幼苗上进行常规的汁液接种,每組5棵(对照同上)。結果被接种的80棵北瓜幼苗,无一表現症状,說明这800粒被鉴定的西葫蘆种子,也是不带毒的。

二、花粉粒接种和病瓜种子 內病毒消失过程試驗

綜合上述試驗,初步說明西葫蘆种子是不带毒的。为了进一步探索花粉粒是否带毒和种子失毒过程,1963年六月下旬至七月上旬在无虫溫室內,用不同播种期試驗田內重病株的花粉粒和不同成熟度病瓜的种仁作为接种材料,以病瓜病肉榨出液作为对照,按常规汁液接种法分別接种在西葫蘆和北瓜幼苗上,观察其发病情况。試驗中的花粉粒接种,是把大量病株上的花粉粒,置乳鉢中加0.1M的磷酸緩冲液(pH=7)稀釋五倍后,直接接种在西葫蘆和北瓜幼苗上。对未

表3 花粉粒接种及种子病毒消失过程試驗結果

取 样 部 位	接 种 寄 主	接 种 日 期	接 种 株 数	发 病 株 数	发 病 率 (%)	潜 育 期 (天)	接 种 后 旬 平 均 温 度 (°C)
病 株 花 粉 粒	西 葫 芦	7 月 3 日	10	0	0	/	26.7
	北 瓜	6 月 24 日	10	0	0	/	27.5
未 经 授 粉 的 病 瓜 胚 珠	西 葫 芦	7 月 8 日	10	8	80	5	26.7
	北 瓜	6 月 29 日	5	5	100	7	26.7
接 近 成 熟 病 瓜 的 种 仁	西 葫 芦	7 月 8 日	2	2	100	7	28.3
	北 瓜	—	—	—	—	—	—
完 全 成 熟 病 瓜 干 种 仁	西 葫 芦	7 月 8 日	10	0	0	/	28.3
	北 瓜	6 月 24 日	10	0	0	/	27.5
病 瓜 肉 榨 出 液 对 照	西 葫 芦	7 月 8 日	10	9	90	6	28.3
	北 瓜	—	—	—	—	—	—

經受粉胚珠的處理，是先以 0.1% 高錳酸鉀消毒 10 分鐘，然後研碎，用 0.1M 磷酸緩沖液稀釋五倍後接種。對接近成熟或完全成熟病瓜種仁的處理，同樣用 0.1% 高錳酸鉀進行表面消毒後接種。試驗結果見表 3。

表 3 初步說明西葫蘆病毒可以進入瓜肉和接近成熟的種仁內，用其汁液在西葫蘆和北瓜幼苗上接種，都能表現出典型的花葉症狀。但以花粉粒和完全成熟的病瓜種仁接種，則均不表現症狀。為了進一步証實上述結果，將剛成熟後採收下來的病西葫蘆種子 100 粒，用清水沖洗後種植在無蟲溫室中，結果出土三十天後的西葫蘆幼苗並不表現症狀。這也說明西葫蘆種子早在成熟階段病毒即已消失，與前述大量種子帶毒率試驗中種子不帶毒的結果，是完全一致的。

三、溫室條件與生理明脈問題

溫室條件特別是溫度和光綫強弱，能直接影響病毒症狀的表現和隱蔽。為此結合上述鑑定試驗，對無蟲溫室條件是否適合於西葫蘆毒病症狀的出現，進行了一系列室內接種試驗。試驗是在 1963 年五月下旬到八月上旬進行的。採用帶毒蚜蟲接種和常規的汁液接種法，每次供試的接種西葫蘆幼苗，最少五棵，多至三十二棵，平均 5—7 日接種一次，接種期間的旬平均溫度為 16.2—28.4°C。試驗結果証實，無論溫室的前排、中排或後排，對西葫蘆毒病症狀的表現都是適合的；潛育期在 5—14 天左右，發病百分率在 40—100% 之間。這一時期大田平均氣溫為 20.2—28.9°C，和上述室內溫度差異不大。說明在炎熱的夏季，溫室條件（頂棚復蓋草蓆，

四壁改裝紗窗等降溫措施），毫不影響西葫蘆毒病症狀的表現。參照 1962 年的試驗，七、八月份的溫室溫度平均高於室外 6.35°C 左右（當時溫室尚未改裝降溫設備），以及大田玻璃籠罩內，在最高溫度 40°C 下，用帶毒蚜蟲接種西葫蘆幼苗，也能表現典型的花葉病毒症狀的結果看來，高溫似乎不足以影響西葫蘆病毒症狀的出現。此外，在四批溫室種子帶毒率鑑定過程中和 1963 年陽畦和田間苗期病害調查時，經常發現沿西葫蘆幼苗的主脈和部份側脈有輕微變色，生出類似病毒明脈的“生理明脈”現象〔3〕。把這種具有“生理明脈”現象的葉片汁液，接種在西葫蘆幼苗上，另以田間具有真正病毒明脈的葉片汁液，進行對照接種；前後重複三次，結果證明這種“生理明脈”是非侵染性的，並且後期也不能發展為花葉症狀。而以“病毒明脈”接種的西葫蘆幼苗，則表現系統性的花葉症狀。據調查“生理明脈”的形成，與植株幼苗所處的環境條件有關。一般苗期溫度高、濕度大、植株徒長，則“生理明脈”現象重；反之干旱、低溫、光綫較強時，則“生理明脈”現象即輕。溫室和田間籠罩內西葫蘆幼苗的“生理明脈”率，有的可達 90% 以上。

討 論

二年來室內鑑定和室外籠罩試驗，共鑑定了 8694 粒種子。試驗結果表明：除了 3 棵西葫蘆在開花期表現典型病毒症狀外，其餘 8691 棵植株，都未表現症狀。根據 1963 年花粉粒接種和種子內病毒消失過程試驗，也初步証實了病株的花粉粒不帶毒，種子在成熟

过程中病毒消失，因而成熟的西葫芦种子不带毒。这与 Doolittle 和 Walkev〔6〕(1952) Cohen 和 Nitzany〔5〕(1963) 的结果是一致的。

至于1963年第三批试验中所出现的三棵西葫芦病株，如果作为种子带毒并按二年来播种总粒数(8694粒)计算，其带毒率也仅为0.03%。

根据 Mahoney〔7〕(1953)，Rader〔9〕(1947) 等关于甜瓜种子传毒的试验报导，带毒的甜瓜种子，一般在第一真叶上表现典型症状，只有在少数情况下，第一真叶不表现症状而在第二片真叶表现症状，在极少数情况下，症状延迟到第三真叶出现。根据以上报导，西葫芦种子如果带毒，其症状也应在幼苗期第一、二或第三片真叶上出现。另外我们用西葫芦毒病汁液，直接按常规接种法接种在刚露胚根的种子，这种人工接种的带毒种子，也是在第一真叶表现症状的。而上述三棵病株，都是在西葫芦开花后期。并且只在后期长出的嫩叶上表现典型病毒症状。症状出现晚，可能与后期温室管理较差，防蚜不够严格有关，因此，可以认为不是带毒种子所致的病株。

关于 Middleton〔8〕(1944) 用白西葫芦(White bushy scally)、黄颈西葫芦(Yellow crock-neck)和意大利西葫芦(Italian marrow 或 Zuchnii)的严重感病株种子播种后，所得出的种子质量、种子贮存时间和带毒率相关性的资料，和我们二年来无论轻重病株、结瓜部位、种子质量以及新陈种子都不带毒的试验结果，是不一致的。这可能是由于西葫

芦品种不同，病毒毒源不同(经初步鉴定保定地区的西葫芦病毒，属于甜瓜花叶病毒群)所致。虽然 Rader〔9〕(1947) 认为甜瓜花叶病毒(MMV)可以通过西葫芦种子传毒，但同一病毒在寄主的不同品种间，种子传毒能力可以有所不同，同时保定地区的甜瓜花叶病毒的株系，也可能和 Rader 所报导的株系有所不同，因此不能得到一致的结果。这一问题尚有待进一步研究。

参 考 文 献

- 〔1〕徐锡琳、裘维蕃(1963)京郊葫芦科作物花叶病毒的类型初报，植保学报2(2)205—215。
- 〔2〕陈永萱、魏景超(1959)南京地区瓜类花叶病毒的初步鉴定，植病学报5(1)1—6。
- 〔3〕石振亚、朱之增、侯保林(1962)西葫芦种子带毒试验(油印资料)。
- 〔4〕裘维蕃(1961)植物病毒学P.51—52北京农业大学植物保护系病理学教研组出版。
- 〔5〕Cohen S. and Nitzany E.F.(1963)Identity of viruses affecting cucurbits in Israel, phytopath. 53:193—196
- 〔6〕Doolittle S.P. and M.N. Walker(1925) Further studies on the overwintering and dissemination of cucurbit mosaic, Jour. Agr. Res.〔U. S.〕31:1—58
- 〔7〕Mahoney C.H.(1935) Seed transmission of mosaic in inbred lines of muskmelon (Cucumis melo L.), Amer. Soc. Hort. Sci. Proc.32:477—480
- 〔8〕Middleton J.T.(1944)Seed transmission of squashmosaic virus, phytopath. 34:405—410
- 〔9〕Rader W.E., Fritzpatrick H.F. and Haldbrand E.M.(1947) A Seed borne virus of muskmelon, phytopath. 37:809—816