

苦瓜枯萎病菌的产毒条件优化及发酵滤液特性

陈振东^{1,2,3}, 秦健^{1,3}, 郭元元^{1,3}, 石延霞², 谢学文², 柴阿丽², 李宝聚²

(1. 广西农业科学院蔬菜研究所 南宁 530007; 2. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所 北京 100081;
3. 广西蔬菜育种与新技术研究实验室 南宁 530007)

摘要: 为明确苦瓜枯萎病菌毒素产生的最佳发酵条件以及发酵滤液的特征特性, 采用浸根法接种, 研究病菌的产毒培养条件和发酵滤液的生物活性、稳定性等基本性质。结果表明, 苦瓜枯萎病菌产毒的最适液体培养基、振荡培养时间、装液量分别为 Czapek 培养液、14 d、100 mL (250 mL 三角瓶); 病菌毒素发酵滤液对紫外光 ($36 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$)、太阳光 (2800~10 000 lx)、高温高压 (121 °C, 0.11 MPa)、强碱 (pH 12) 和强酸 (pH 3) 稳定性好, 致萎指数分别为 95.83%、97.22%、97.22%、95.83% 和 91.67%。病菌毒素发酵滤液对黄瓜、甜瓜、西瓜、冬瓜、瓠瓜和丝瓜等葫芦科蔬菜作物幼苗生长均有致萎作用。综上所述, 苦瓜枯萎病菌毒素具有较好的稳定性, 且对瓜类作物具有普遍的致萎作用。

关键词: 苦瓜枯萎病菌; 毒素; 发酵滤液; 生物活性

中图分类号: S642.5 文献标志码: A 文章编号: 1673-2871(2022)03-016-05

Toxin-producing condition optimization, characterization and bioactivity of fermentation filtrate from *Fusarium oxysporum* f. sp. *momordicae*

CHEN Zhendong^{1,2,3}, QIN Jian^{1,3}, GUO Yuanyuan^{1,3}, SHI Yanxia², XIE Xuewen², CHAI Ali², LI Baoju²

(1. Vegetable Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, Guangxi, China; 2. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 3. Guangxi Laboratory of Vegetable Breeding and New Technology Development, Nanning 530007, Guangxi, China)

Abstract: In order to determine the best toxin-producing condition, characteristics and biological activity of fermentation filtrate from *Fusarium oxysporum* f. sp. *momordicae* (*FOM*) strain, we screened the culture medium of toxin production of *FOM* with the root-dipping method, investigated the basic properties such as bioactivity and stability of fermentation filtrate. The results showed that the optimal liquid medium, vibration culture time and liquid medium loading volume for toxin-producing were Czapek medium, 14 d and 100 mL liquid medium in 250 mL conical flask, respectively. The toxin fermentation filtrates were stable to ultraviolet ($36 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$), sunlight (2800-10 000 lx), high temperature and high pressure (121 °C, 0.11 MPa), strong alkali (pH 12) and strong acid (pH 3), and the wilting indexes were 95.83%, 97.22%, 97.22%, 95.83%, 91.67%, respectively. The toxin fermentation filtrate also caused wilt on other cucurbits seedlings, including cucumber, melon, watermelon, wax gourd, bottle gourd and loofah. In conclusion, the toxin of *FOM* had good stability and caused wilting on cucurbit crops.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *momordicae*; Toxin; Fermentation filtrate; Biological activity

枯萎病是苦瓜栽培过程中的一种重要病害, 由尖孢镰刀菌苦瓜专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *momordicae*) 病菌感染引起^[1], 该病害在广西苦瓜栽培主产区的发病率为 12.30%~56.75%^[2], 危害严重。枯萎病菌侵染过程中可产生致毒物质, 对植株有显著的损伤作用。病原菌侵染植物导致发病的

有毒代谢物包括酶、毒素、激素等物质。其中, 毒素是病原物的次生代谢物, 可分为寄主选择性毒素^[3]和非寄主选择性毒素^[4]。由镰刀菌产生的非寄主选择性镰刀菌毒素, 能抑制寄主植物细胞的正常生理功能, 通过破坏细胞结构使寄主出现中毒症状^[5-7]。病原菌产生毒素的能力在不同的种属间乃至专化

收稿日期: 2021-05-12; 修回日期: 2021-09-17

基金项目: 广西科技重大专项 (AA17204039); 中央引导地方科技发展专项 (ZY18076007); 广西科技基地和人才专项 (AD16380055; AD17129042); 广西农科院科技发展基金重点项目 (2021YT101; 2016JZ04); 广西自然科学基金项目 (2017GXNSFBA198192)

作者简介: 陈振东, 男, 研究员, 主要从事蔬菜育种栽培与病理研究工作。E-mail: czd3808@gxaas.net

通信作者: 李宝聚, 男, 研究员, 主要从事蔬菜病害综合防治研究工作。E-mail: libaoju@caas.cn

型间的差异较大^[8-10],而同一菌株产生毒素的能力往往又直接受到不同的C源和N源营养条件、光照、温度、pH值、培养时间和方式等外界条件的影响^[11-13]。胡忠亮等^[14]以香石竹幼苗为研究对象,发现温度25~30℃,培养时间15d,在PSC培养液中,全天振荡培养最有利于尖孢镰刀菌产毒,且在强酸、强碱和高温下具有较强的稳定性;胡颖慧等^[15]研究发现尖孢镰刀菌唐菖蒲专化型在Czapek培养基中培养15d产生的滤液毒性最强,该滤液经121℃灭菌20min后对唐菖蒲根仍有很强的抑制作用;台莲梅等^[16]研究认为最适宜大豆根腐病菌生长及产生毒素的培养液为PSC培养液,连续振荡培养以及光照有利于病菌产毒,而pH值对产毒影响不大。唐树戈等^[8]研究发现玉米弯孢叶斑病菌的毒素粗提液在高温、低温和光处理后其生物活性不受影响,具有良好的稳定性。

苦瓜枯萎病菌是尖孢镰刀菌对苦瓜致病的一种专化型病菌,其产生毒素的规律以及培养基和营养成分对其产生毒素的影响、病菌毒素发酵滤液特性鲜有报道。本试验以苦瓜幼苗为主要测试对象,研究苦瓜枯萎病菌的产毒培养条件,通过测定苦瓜枯萎病菌毒素滤液对苦瓜幼苗的毒力活性、稳定性及基本性质,明确不同营养成分的培养基和培养条件对苦瓜枯萎病菌毒素发酵滤液毒力的影响,找出有利于毒素产生的培养条件,为分离纯化苦瓜枯萎病菌的毒素并鉴定其物质成分、探索病害的致病机制以及加速抗病品种选育打下基础。

1 材料与方法

1.1 病菌来源及供试品种

供试的苦瓜枯萎病菌株Fom3506来自广西农业科学院蔬菜研究所,经鉴定为尖孢镰刀菌苦瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *momordicae*)病菌。供测试的作物品种有:大直瘤油绿苦瓜桂农科三号(*Momordica charantia*);黄色薄皮橙肉哈密瓜桂蜜12号(*Cucumis melo* var. *Reticulatus*);华北型密刺黄瓜桂青1号(*Cucumis sativus* L.);浅绿皮有棱丝瓜桂丝2号(*Luffa acutangula* Roem.);圆柱形黑皮冬瓜桂蔬一号(*Benincasa hispida* Cogn.);均来自广西农业科学院蔬菜研究所;墨绿皮西瓜黑美人(*Citrullus lanatus* var. *vulgaris*)来自珠海市农之友种子有限公司;浅绿皮短身瓠瓜(*Lagenaria siceraria* var. *clavata*),来自广州市蔡远种子店;所有测试品种均为适宜华南地区种植的早中熟品种。

1.2 试验方法

1.2.1 病菌毒素发酵液制备 试验于2019年3—10月在广西蔬菜育种与新技术研究实验室进行。将供试菌株Fom3506转至PDA培养基上,于28℃下活化7d,沿菌落边缘打出直径为7mm的菌块,将菌块接入装有100mL培养液的250mL三角瓶中,每瓶接3块,共6瓶,在黑暗、28℃、120r·min⁻¹条件下振荡培养。培养14d后取样,每次取3瓶。培养液先用4层纱布过滤,滤液在3400r·min⁻¹下离心20min。弃去沉淀,上清液煮水中保持20min,得到毒素培养液原液,保存于4℃冰箱,备用。

1.2.2 毒素滤液生物活性测定 将供试的苦瓜种子用清水清洗,经0.3%次氯酸钠进行表面消毒10min后,用无菌水冲洗干净置于网兜内,清水中浸泡24h,再置于30℃恒温培养箱内保湿催芽,种子露白后播种至50孔穴盘(540mm×270mm×50mm)灭菌基质中。待苦瓜幼苗长至2叶1心时,用浸根法接种,将苦瓜幼苗放入装有8mL病菌液体培养滤液的10mL玻璃试管中。每个重复6株,3次重复,设培养液和无菌水作对照,放置在光照16h、湿度90%下栽培生长,48h后调查植株萎蔫情况,并计算萎蔫指数。

参考庄敬华等^[16]的植株萎蔫分级标准:0级,叶面无症状;1级,25%以下的叶面积有轻微萎蔫;2级,25%~50%的叶面积萎蔫失水;3级,50%以上叶面积萎蔫失水;4级,全株萎蔫死亡。萎蔫指数(WI)= $\sum(\text{病级株数} \times \text{萎蔫级数}) / (\text{试验总株数} \times \text{最高萎蔫级数}) \times 100$ 。

1.2.3 病菌产毒条件筛选 产毒培养液毒力检测。分别配制PS、Czapek和Richard三种培养液,按1.2.1的方法制备病菌毒素发酵滤液,按1.2.2的方法测定病菌不同培养液的毒素发酵滤液对苦瓜幼苗的致萎活性。

产毒培养时间测定。将菌块接入装有100mL Czapek培养液的250mL三角瓶中振荡培养,分别于培养5、8、11、14、17d后取样,按1.2.2的方法测定不同培养时间的毒素发酵滤液的生物活性。

装液量对毒素发酵滤液毒力的影响测定。在250mL三角瓶中分装Czapek培养液,设装液量为40、60、80、100、120mL共5个处理,接入菌块振荡培养,14d后取样,按1.2.2的方法测定不同含量培养液的毒素发酵滤液对苦瓜幼苗的致萎活性。

毒素发酵滤液稳定性测定。以未经处理的病菌毒素发酵滤液为对照,按1.2.2的方法测定Cza-

pek 培养液病菌毒素发酵滤液在不同逆境条件下处理后对苦瓜幼苗的致萎活性。将发酵滤液经加压蒸汽高温(121 °C, 0.11 MPa)处理 20 min, 冷却至室温, 测定其热稳定性, 每个处理 3 次重复。用 1 mol·L⁻¹ HCl 和 1 mol·L⁻¹ NaOH 将发酵滤液的 pH 值分别调至 3 和 12, 室温下静置 1 h 后, 将 pH 值调回 7, 测定其耐酸碱性, 每个处理 3 次重复。将滤液分别放置于紫外灯(36 μW·cm⁻²)下 10 cm 处和太阳光(2800~10 000 lx)下敞口照射 1 h, 测定其光稳定性, 每个处理 3 次重复。

1.2.4 毒素发酵滤液对葫芦科蔬菜幼苗的生物活性 以 1.1 的瓜类作物为测试对象, 待幼苗长出 2 片真叶后, 按照 1.2.2 方法测定病菌毒素发酵滤液对不同作物的致萎活性。

1.3 统计分析

试验数据采用 Microsoft Excel 2007、DPS 7.05 软件进行处理和统计分析, 采用 Duncan's 多重比较法分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同培养液对苦瓜枯萎病菌产毒的影响

不同培养液及其病菌毒素发酵滤液对苦瓜幼苗的致萎活性存在较大差异(表 1)。3 种培养液的病菌毒素发酵滤液对苦瓜幼苗均有抑制作用。其中, Richard 培养液的病菌毒素发酵滤液的抑制作用最强(WI 为 100%), 其次为 Czapek 培养液(WI 为 98.61%), PS 培养液的抑制作用最小(WI 为 8.33%), 可见 Richard 培养液和 Czapek 培养液均有利于病菌产毒。但是, 未接菌种的 Richard 培养液对苦瓜幼苗产生明显的生长抑制作用(WI 达到 30.56%), 而未接菌种的 Czapek 培养液对苦瓜幼苗生长影响微弱(WI 为 1.39%); 未接菌种的 PS 培养液对苦瓜幼苗生长没有影响; 未接菌种的 Czapek 培养液和 PS 培养液对苦瓜幼苗生长的影响无显著差异。结果表明, Czapek 培养液更适合作为苦瓜枯

表 1 不同培养液对苦瓜幼苗的影响

培养液处理	平均萎蔫指数/%
Czapek 病菌发酵滤液	98.61 aA
Richard 病菌发酵滤液	100.00 aA
PS 病菌发酵滤液	8.33 cC
Czapek 空白培养液	1.39 cdC
Richard 空白培养液	30.56 bB
PS 空白培养液	0.00 dC

注: 同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著, 不同大写字母表示在 0.01 水平差异显著。下同。

萎病菌产毒培养液。

2.2 培养时间对病菌产毒能力的影响

苦瓜枯萎病菌 Czapek 培养液在振荡条件下设定的 5 个不同培养时间处理, 发现毒素发酵滤液对苦瓜幼苗的致萎能力存在显著差异(表 2)。病菌培养 5 d 时, 毒素发酵滤液对苦瓜幼苗的平均萎蔫指数已达 70% 以上。随着病菌培养时间的延长, 毒素发酵滤液对苦瓜幼苗的致萎能力不断增强, 培养至 14 d 时平均萎蔫指数最高, 达到 98.61%, 显著高于其他处理。当培养时间为 17 d 时, 发酵滤液对苦瓜幼苗的致萎能力有所下降。以上结果说明, 在 Czapek 培养液中连续振荡 14 d 是苦瓜枯萎病菌的最佳发酵时间, 其产毒能力最强, 毒素培养滤液致萎活性最高。

表 2 不同培养时间对苦瓜枯萎病菌产毒的影响

培养时间/d	平均萎蔫指数/%
5	70.83 dC
8	81.94 cdBC
11	91.67 bcAB
14	98.61 aA
17	93.06 bAB

2.3 装液量对病菌产毒能力的影响

病菌在 Czapek 培养液的 5 种装液量下培养, 其毒素滤液对苦瓜幼苗的毒性差异显著(表 3)。随着装液量的增加, 萎蔫指数表现为先上升后降低。当装液量为 100 mL 时滤液萎蔫指数最高, 达到 93.06%, 显著高于其他处理, 而装液量为 120 mL 时滤液的萎蔫指数下降至 83.33%, 说明在 250 mL 三角瓶中的装液量为 100 mL 时病菌毒素发酵滤液的毒素浓度最大。

表 3 不同装液量对苦瓜枯萎病菌产毒的影响

装液量/mL	平均萎蔫指数/%
40	66.67 dC
60	73.61 cdBC
80	81.94 bcB
100	93.06 aA
120	83.33 bB

2.4 病菌毒素发酵滤液的稳定性

光照、强酸、强碱、高温高压对病菌毒素发酵滤液的毒力有一定的影响, 但是所有处理的平均萎蔫指数仍然在 91% 以上(图 1)。太阳光(2800~10 000 lx)和紫外光(36 μW·cm⁻²)下处理病菌毒素发酵滤液 1 h 后, 萎蔫指数分别为 97.22% 和 95.83%, 且与未经处理的病菌培养滤液相比未达差异显著水平, 说明病菌毒素发酵滤液对光照具有稳定性。强碱

(pH=12)处理病菌滤液 1 h 后,萎蔫指数为 95.83%,与未经处理的病菌培养滤液相比未达差异显著水平。强酸(pH=3)处理 1 h 后平均萎蔫指数下降至 91.67%,较未经处理的病菌培养滤液下降 7.04%,与未经处理的病菌培养滤液相比达到差异显著水平;强酸处理的萎蔫指数较强碱性处理下降 4.16%,说明病菌毒素发酵滤液在强酸下的稳定性比强碱下稍弱,但强酸处理与强碱处理相比未达显著差异水平,与其他处理相比均未达极显著差异水平。病菌毒素发酵滤液经高温高压(121 °C, 0.11 MPa)处理 20 min 后,滤液的萎蔫指数降低了 1.41%,与病菌培养滤液相比未达差异显著水平,表明病菌毒素发酵滤液在高温高压下具有较好的稳定性。综上可见,强酸处理对病菌培养液滤液致病力的稳定性影响较大。

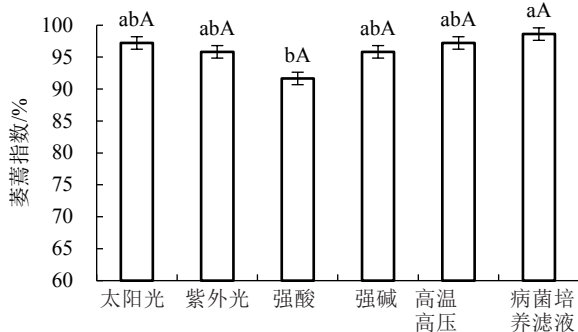


图1 病菌毒素发酵滤液在不同逆境处理下的稳定性

2.5 毒素发酵滤液对不同葫芦科作物幼苗的毒力

苦瓜枯萎病菌 Czapek 毒素发酵滤液对 7 种葫芦科蔬菜作物幼苗都有强烈的致萎作用(图 2)。所有作物的萎蔫指数均达到 94% 以上。其中,黄瓜、甜瓜、冬瓜和丝瓜的萎蔫指数达 100%,显著高于瓠瓜、西瓜和苦瓜的萎蔫指数。未接种病菌的 Czapek 培养液对不同葫芦科蔬菜作物幼苗也有一定的致萎作用,黄瓜、甜瓜、西瓜和冬瓜的幼苗出现不同程度的萎蔫(WI 为 12.50%~33.33%),但是对苦瓜幼

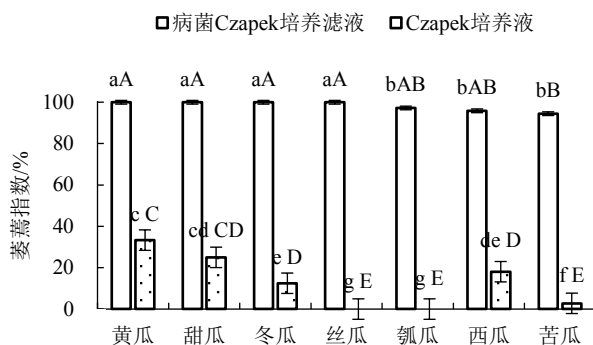


图2 病菌毒素发酵滤液对不同葫芦科作物幼苗的影响

苗的影响很小(WI 为 2.78%),而对丝瓜和瓠瓜幼苗无致萎作用。

3 讨论与结论

培养液种类、培养时间和培养液装液量等是影响微生物发酵的重要因子^[15],研究微生物的发酵条件优化及其特征特性对于深入研究微生物的滤液成分和开发利用其有效活性的代谢物具有重要意义^[17]。不同 C 源和 N 源及含有其他营养成分的液体培养基对不同病原物的菌丝生长、孢子浓度和产毒量存在较大的影响,对病菌开展产毒培养液种类的筛选是十分有必要的。本研究发现,苦瓜枯萎病菌毒素发酵的最适培养液为 Czapek 培养液,这与西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)、香蕉枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)等病菌产毒的最适液体培养基相同^[11-12]。Richard 培养液也能促进苦瓜枯萎病菌产生较多的代谢产物,但是培养液本身对苦瓜幼苗的抑制作用较强烈,会影响试验结果。而 PS 培养液促进苦瓜枯萎病菌产生代谢产物的能力较差,可能是由于缺少某些促进病原菌代谢必要的营养元素。本试验中,苦瓜枯萎病菌在 Czapek 营养液中培养时间为 14 d 以及装液量为 100 mL(250 mL 三角瓶)时更加利于毒素代谢产物的形成,其发酵后的致萎活性最佳,可见发酵培养时间以及发酵装置中氧气含量等也是影响病原物毒素发酵效率的重要因素。

明确病菌发酵滤液的特征特性是研究其成分和开发应用发酵滤液的前提。本研究发现,苦瓜枯萎病菌毒素发酵滤液在紫外光(36 μW·cm⁻²)和太阳光(2800~10 000 lx)、高温高压(121 °C, 0.11 MPa)以及强酸(pH=3)和强碱(pH=12)下具有稳定性,这与胡颖慧等^[13]、胡忠亮等^[14]研究表明的研究结果相似,说明尖孢镰刀菌毒素发酵滤液的成分具有较好的稳定性。

尖孢镰刀菌苦瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *momordicae*)病菌具有很强的寄主选择性,苦瓜是其主要寄主,瓠瓜是次要寄主^[18-19]。本试验中苦瓜枯萎病菌毒素发酵滤液对 7 种葫芦科蔬菜作物幼苗都有显著的致萎活性,说明该病菌的毒素发酵滤液对葫芦科作物没有寄主选择性。

病菌培养滤液中的次生物质是导致不同作物幼苗萎蔫的关键因子,在生理浓度范围内的非酶类毒素化合物可干扰植物正常生理功能^[20-22]。常见的镰刀菌毒素包括单端孢霉烯族毒素类(Trichoth-

cenes)、伏马毒素(Fumonisin)、玉米赤霉烯酮(ZEN)、镰刀菌酸(FA)、白僵菌素(BEA)等^[23-25]。苦瓜枯萎病菌的次生代谢物质是否也存在这些毒素化合物,有待进一步研究。

综上所述,苦瓜枯萎病菌毒素发酵的最佳培养液为 Czapek 培养液,最佳培养时间为 14 d、装液量为 100 mL(250 mL)三角瓶。苦瓜枯萎病菌毒素发酵滤液在紫外光、太阳光、高温高压以及强酸和强碱下具有较好的稳定性,且该病菌毒素发酵滤液无寄主选择性。

参考文献

- [1] SUN S K, HUANG J W. A new *Fusarium* wilt of bitter gourd in Taiwan[J]. *Plant Disease*, 1983, 67(2): 226-227.
- [2] 郭堂勋, 莫贱友. 几个苦瓜品种对枯萎病的抗性测定[J]. *广西农业科学*, 2007, 38(4): 408-410.
- [3] 董金皋, 李正平. 寄主选择性植物病原真菌的毒素化学[J]. *微生物学通报*, 1997, 24(4): 247-250.
- [4] 王江柱, 董金皋, 王玉真. 非寄生专化性植物病原真菌毒素致病机制研究现状[J]. *河北农业大学学报*, 1995, 18(4): 99-104.
- [5] 吴洪生, 尹晓明, 刘东阳, 等. 镰刀菌毒素对西瓜幼苗根细胞跨膜电位及叶细胞有关抗逆酶的抑制[J]. *中国农业科学*, 2008, 41(9): 2641-2650.
- [6] 郭新梅, 陈耀锋, 曹团武. 禾谷镰刀菌粗毒素对不同抗性水平小麦品种细胞膜透性的影响[J]. *植物遗传资源学报*, 2005, 6(2): 186-190.
- [7] DESMOND O J, MANNERS J M, STEPHENS A E, et al. The *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol elicits hydrogen peroxide production, programmed cell death and defence responses in wheat[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2008, 9(4): 435-445.
- [8] 唐树戈, 牟林, 郑其格, 等. 玉米弯孢叶斑病菌毒素稳定性的研究[J]. *植物保护*, 2009, 35(1): 111-113.
- [9] 宋喜霞. 亚麻枯萎病菌生长和产毒最适培养条件初探[J]. *中国麻业科学*, 2015, 37(3): 162-166.
- [10] 姚艳平, 王建明, 郭强, 等. 枯萎病菌不同专化型镰刀菌酸的产生数量与菌丝生长的相互关系[J]. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 2002, 22(3): 231-233.
- [11] 马国斌, 林德佩, 王叶筠, 等. 培养条件对西瓜枯萎病菌镰刀菌酸产生的影响[J]. *植物病理学报*, 1996, 26(2): 187-191.
- [12] 李赤, 于莉, 杨紫红, 等. 香蕉枯萎病菌产毒条件的研究[J]. *吉林农业大学学报*, 2007, 29(5): 491-494.
- [13] 胡颖慧, 龚束芳, 李彩华, 等. 枯萎病菌毒素培养滤液对唐菖蒲幼苗毒性的初步研究[J]. *植物病理学报*, 2012, 42(5): 497-504.
- [14] 胡忠亮, 邹东霞, 黄敏仁, 等. 镰刀菌毒素滤液对转基因香石竹抗枯萎病性能的测定[J]. *科学技术与工程*, 2016, 16(27): 131-136.
- [15] 台莲梅, 许艳丽. 大豆根腐病菌(*Fusarium oxysporum*)生长及产生毒素的条件筛选[J]. *中国油料作物学报*, 2004, 26(4): 71-73.
- [16] 庄敬华, 杨长成, 高增贵, 等. 瓜类枯萎病菌粗毒素的致萎作用及其钝化研究[J]. *沈阳农业大学学报*, 2006, 37(2): 177-181.
- [17] 张文芝, 郭坚华. 微生物发酵工艺优化研究进展[J]. *广东农业科学*, 2013, 40(6): 114-117.
- [18] 陈振东, 袁高庆, 黎起泰, 等. 苦瓜枯萎病菌的鉴定及其遗传多样性分析[J]. *植物病理学报*, 2014, 44(1): 36-45.
- [19] CHEN Z D, HUANG R K, LI Q Q, et al. Development of pathogenicity and AFLP to characterize *Fusarium oxysporum* f. sp. *momordicae* isolates from bitter gourd in China[J]. *Journal of Phytopathology*, 2015, 163(3): 202-211.
- [20] 杨媚, 黄永辉, 舒灿伟, 等. 香蕉枯萎病菌 4 号生理小种粗毒素特性的研究[J]. *园艺学报*, 2012, 39(3): 545-551.
- [21] 袁红旭, 商鸿生. 棉花枯萎病菌接种及粗毒素处理后棉苗维管束病理特征[J]. *植物病理学报*, 2002, 32(1): 16-20.
- [22] 赵杰, 王静, 李乃会, 等. 烟草镰刀菌根腐病菌致病粗毒素的研究[J]. *植物保护*, 2013, 39(3): 61-66.
- [23] 陈捷. 现代植物病理学研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 166-174.
- [24] MATSUMOTO K, BARBOSA M L, SOUZA L A C, et al. Race 1 fusarium wilt tolerance on banana plants selected by fusaric acid[J]. *Euphytica*, 1995, 84(1): 67-71.
- [25] 李春雨, 陈石, 左存武, 等. 香蕉枯萎病菌新毒素: 白僵菌素的鉴定[J]. *园艺学报*, 2011, 38(11): 2092-2098.