

南方根瘤線蟲與西瓜蔓割病菌複合感染西瓜根系對病害發生之影響

顏志恆¹ 黃振文² 林俊義^{1,3} 陳殿義¹ 蔡東纂²

1. 台中縣霧峰鄉 台灣省農業試驗所植物病理系
 2. 台中市國光路 國立中興大學植物病理學系
 3. 聯絡作者：電子信箱 CYLin@wufeng.tari.gov.tw；傳真機 04-3338162
- 接受日期：中華民國 87 年 12 月 1 日

摘 要

顏志恆、黃振文、林俊義、陳殿義、蔡東纂。1998. 南方根瘤線蟲與西瓜蔓割病菌複合感染西瓜根系對病害發生之影響。植病會刊 7:201-204.

富寶二號西瓜品種在接種 1000 隻以上的南方根瘤線蟲二齡幼蟲經 45 天後，其根瘤指數維持在 2.0 以上，而接種 500 隻二齡幼蟲其根瘤指數則為 1.8。在接種西瓜蔓割病菌試驗中，接種 10^3 及 10^4 (propagules/g dry soil) 菌量時，西瓜幼苗罹患蔓割病的百分率分別為 80 % 及 100 %，而接種 10^2 (propagules/g dry soil) 菌量時，西瓜幼苗罹患蔓割病的百分率為 40 %。以 500 隻南方根瘤線蟲二齡幼蟲與 10^2 (propagules/g dry soil) 西瓜蔓割病菌菌量為接種濃度進行交互感染試驗，結果顯示，先接種南方根瘤線蟲後再接種西瓜蔓割病菌、先接種西瓜蔓割病菌後再接種南方根瘤線蟲、及南方根瘤線蟲和西瓜蔓割病菌同時接種等線蟲和真菌交互作用處理，富寶二號西瓜品種蔓割病發病程度皆比單獨接種真菌處理者為高，顯示植物寄生性線蟲與病原真菌複合感染胡蘆科植物時，確有加重病害發生之趨勢。

關鍵詞：南方根瘤線蟲、西瓜蔓割病菌、複合感染

緒 言

西瓜蔓割病為臺灣西瓜栽培的重要土媒真菌病害之一 (6, 8)，其病原菌為 *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* (E. F. Smith) Snyder & Hansen (5)，可經由種子或土壤侵入植株根莖組織內，致使植株萎凋死亡 (3, 5)。葫蘆科植物是根瘤線蟲之良好寄主，因此在多數西瓜蔓割病罹病地區，常可檢測出大量的根瘤線蟲及根腐線蟲 (1)。許多學者已証實植物病原線蟲可在植物根部造成傷口，有利於植物病原真菌的感染，並易使寄主植物的抗病力降低 (2, 9, 11, 13)。臺灣地區西瓜蔓割病的發生率與植物病原線蟲的感染間是否存在交互作用的關係，目前尚無資料可供佐證，因此本研究的主要目的在於探討南方根瘤線蟲與西瓜蔓割病菌之接種源密度及兩病原接種先後次序對病害發生的影響。

材料與方法

供試南方根瘤線蟲及西瓜蔓割病菌之來源

本試驗所使用之南方根瘤線蟲 [*Meloidogyne incognita*

(Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949] 蟲源，係於溫室中先行種植空心菜 (*Ipomoea reptans* Poir.，尖囊品種) 植株於泥炭土與珍珠石等量混合之盆鉢中，再將南方根瘤線蟲的卵塊分別接種至空心菜根部 (10)，約一個半月，一個世代完成新的卵塊產生後，作為溫室試驗之接種源。至於試驗所使用之西瓜蔓割病菌菌土係由國立中興大學植物病理學系植物病害管理研究室所提供，為每克土壤中含有 10,000 個西瓜蔓割病菌的菌體 (Propagules)。

接種源之製備

南方根瘤線蟲接種蟲源於接種前，分別由空心菜根部組織收集根瘤線蟲卵塊，置於無菌水中浸泡 24 小時後，以消毒過的玻璃吸管吸取孵化出來的二齡幼蟲，收集於 100 毫升的小燒杯中，計算蟲量備用。西瓜蔓割病菌菌土為把田間採回之西瓜藤蔓切成 0.5 至 1 公分長的小段，經陽光曬乾後裝於三角燒瓶中，經高壓滅菌 (121 C、151 b、30 min) 冷卻後，加入西瓜蔓割病菌孢子懸浮液培養，待菌絲長滿整瓶取出與砂質土攪拌均勻，然後以 Nash-PCNB 選擇性培養基 (14) 測定病菌土中西瓜蔓割病菌的菌體密度後備用。

供試植物及土壤

供試植物為西瓜 (*Citrullus vulgaris* Schrad) 商業品種富寶二號，於溫室中將西瓜種子播種於含 Bas Van Buuren (BVB) 介質 (No.4, Maasland, Netherlands) 之黑色塑膠育苗穴植盤中 (12 × 24 格)，每一小格 (2.5 × 2.5 cm) 播一至二粒種子，當植株的子葉完全張開時，移植至裝有滅菌過栽培土之花盆中 (直徑 11.5 公分)，每一花盆移植一棵幼苗，每日早晚澆水一次，每星期施以葉肥 (獅馬牌) 300 ~ 500 倍水溶液以維持植株良好生長，以育苗 7 天之植株作為供試植物。而本試驗所用之土壤，係取自南投縣草屯鎮坪林里之田土，經土壤分析為砂質壤土 (sandy loam)，pH 值為 6.7，含水量為 12 %。質地含砂粒 (sand) 佔 60.4 %，粘粒 (clay) 佔 25.6 %，粉粒 (silt) 佔 14 %。供試土壤經蒸汽滅菌消毒 (90 C, 24 hrs) 後備用。

西瓜商業品種富寶二號對於不同濃度南方根瘤線蟲之感受性

將培育 7 天之西瓜幼苗，分別接種不同數量 (500 隻、1000 隻、5000 隻) 南方根瘤線蟲之二齡幼蟲 (second juvenile, J2)，經 45 天後，記錄植株根部根瘤指數 (root knot index)、植株地上部乾重量、及根部乾重量 (90 C, 48 hrs)。其中根瘤指數分下列五級：0 級：無病徵；1 級：1 ~ 15% 的根系有根瘤發生；2 級：16 ~ 30% 的根系有根瘤發生；3 級：31 ~ 50% 的根系有根瘤發生；4 級：51 ~ 100% 的根系有根瘤發生。每個處理各有五個重複，本試驗重複進行兩次。

土壤中西瓜蔓割病菌濃度對於西瓜商業品種富寶二號發病程度之影響

本試驗的目的在於找出適當的蔓割病菌接種濃度，以避免接種後寄主植物過早發病死亡，而導致無法觀察其對植物寄生性線蟲及蔓割病菌複合感染的反應。將培育 7 天之西瓜幼苗，分別種植於含西瓜蔓割病菌 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 propagules/g dry soil 之盆鉢中，於溫室中觀察一個月，記錄其病徵表現。每個處理各有五個重複，本試驗重複兩次。西瓜蔓割病之病害調查法是以觀察西瓜植株的葉部出現萎凋時，以刀片縱切莖基部，若維管束出現褐變並可分離到西瓜蔓割病菌，即視為罹患西瓜蔓割病之植株，並且計算罹病之百分率。

西瓜對南方根瘤線蟲及蔓割病菌複合感染之感受性

將培育 7 天之西瓜幼苗分別依照下列方式進行接種：
1. 先接種南方根瘤線蟲，經四星期後接種蔓割病菌，再經兩星期後觀察結果 (N + F)。2. 先接種蔓割病菌，經兩星期後接種南方根瘤線蟲，再經四星期後觀察結果 (F + N)。3. 單獨接種南方根瘤線蟲，經六星期後觀察結果 (N)。4. 單獨接種蔓割病菌，經六星期後觀察結果 (F)。5.

兩者同時接種，經六星期後觀察結果 (NF)。6. 不接種，經六星期後觀察結果 (Check)。線蟲之接種方法是將 500 隻南方根瘤線蟲二齡幼蟲水溶液澆灌於盆鉢的土壤中，而西瓜蔓割病菌則以土壤混菌法 (soil infestation method) 方式接種，接種濃度為 1×10^2 propagules/g dry soil。先接種南方根瘤線蟲，經一個月後接種西瓜蔓割病菌的處理，西瓜蔓割病菌的接種方式是直接將西瓜蔓割病菌病土加入盆鉢中 (盆鉢土壤為 500 克定量) 均勻混拌，再將西瓜植株重新植入盆鉢中。經六星期後，記錄罹病植株根部根瘤指數、植株地上部乾重量、根部乾重量、及西瓜蔓割病發病率。每個處理各有五個重複，本試驗重複進行兩次。

結 果

試驗結果顯示，西瓜富寶二號品種在接種 1000 隻及 5000 隻南方根瘤線蟲二齡幼蟲，根瘤指數分別為 2.6 及 2.8，而接種 500 隻二齡幼蟲者，其根瘤指數則為 1.8 (表一)，在接種 500 隻以上的南方根瘤線蟲二齡幼蟲時，西瓜植株地上部乾重量及根部乾重量皆有明顯地降低，但未接種線蟲之對照組比較，不同接種濃度處理之間的差異不大，西瓜植株地上部乾重量在 0.74 至 0.96 克之間，根部乾重量在 0.26 至 0.32 克之間。在接種西瓜蔓割病菌試驗中，接種 10^3 及 10^4 (propagules/g dry soil) 菌量時，西瓜幼苗罹患蔓割病的百分率分別為 80 % 及 100 %，而接種 10^2 (propagules/g dry soil) 菌量時，西瓜幼苗罹患蔓割病的百分率為 40 % (圖一)。

以 500 隻南方根瘤線蟲二齡幼蟲與 10^2 (propagules/g dry soil) 西瓜蔓割病菌菌量為接種濃度進行交互感染試驗，結果顯示，先接種南方根瘤線蟲後再接種西瓜蔓割病菌、先接種西瓜蔓割病菌後再接種線蟲、及線蟲和西瓜蔓割病菌同時接種等處理中，西瓜富寶二號品種罹患蔓割病嚴重度皆比單獨接種真菌處理者顯著的高 (表二)，顯示植物寄生性線蟲與病原真菌複合感染胡蘆科植物時，確有加重病害發生之趨勢，而單獨接種線蟲的處理其蔓割病病害指數則為 0。在根瘤指數方面，則以線蟲和西瓜蔓割病菌同時接種及先接種南方根瘤線蟲後再接種西瓜蔓割病菌等處理為高，而單獨接種線蟲及先接種西瓜蔓割病菌後再接種線蟲等處理則次之，單獨接種西瓜蔓割病菌的處理則為 0。在植株生長情形方面，西瓜植株之根部乾重量在不同處理之間並沒有明顯的差異，分別在 0.26 至 0.32 克之間。而植株地上部乾重量在不同處理之間，則以線蟲和西瓜蔓割病菌同時接種及先接種南方根瘤線蟲後再接種西瓜蔓割病菌兩個處理較低。

討 論

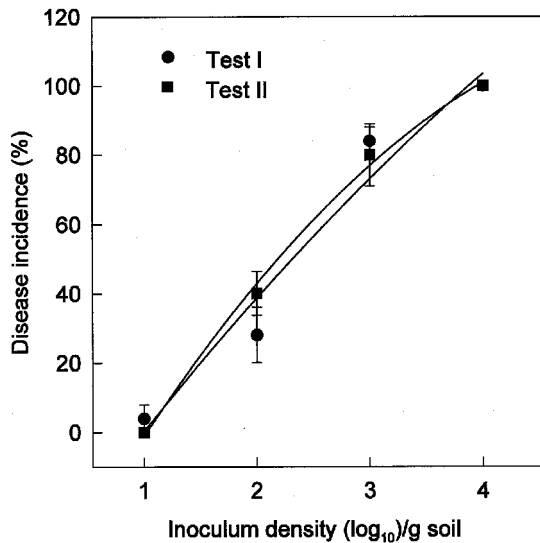
事實上，兩種以上之植物病原在同一寄主植物交互作用 (複合感染) 時，寄主植物可能有兩種反應，一是寄主

表一、西瓜富寶二號品種對於不同濃度南方根瘤線蟲之感病性

Table 1. The susceptibility of watermelon (cv. Fu-Bo No.2) to *Meloidogyne incognita* in the greenhouse

Nematode population (No./per pot)	Root knot index ¹		Plant weight ² (gram per plant)		Root weight ² (gram per plant)	
	Test I	Test II	Test I	Test II	Test I	Test II
0	0 ³	0	1.82	1.74	0.94	0.84
500	1.8	2.0	0.96	1.00	0.26	0.40
1000	2.6	2.8	0.92	0.72	0.32	0.36
5000	2.8	3.2	0.74	0.66	0.32	0.38
R ²	0.88	0.92	0.69	0.89	0.67	0.80
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

1. Root knot index based on a scale from 0 to 4; 0=no infection, 1=1-15 % of galled root in whole root, 2=16-30 %, 3=31-50 %, 4=51-100 %.
2. Plant weight = Top (above ground part of plant) dry weight(gram per plant), Root weight = root dry weight (gram per plant). Data were recorded 45 days after inoculation.
3. Means (n=5) in the same column followed by the same letter are not significantly different (p=0.05) according to multiple regression test.



圖一、不同濃度西瓜蔓割病菌對西瓜富寶二號品種幼苗感染蔓割病的百分率

Fig. 1. Effect of inoculum density of *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* on disease incidence of watermelon(cv. Fu-Bo No.2) fusarium wilt in the greenhouse.

植物被其中一種植物病原侵入，導致傾病性 (predisposition) 提高，致使另一病原為害更為嚴重，即兩種植物病原協力 (synergistic) 為害寄主植物；其二為寄主植物被一種植物病原誘發抗病性，而使其抵抗另一種植物病原的侵害 (12, 15, 18, 21)。本試驗結果得知，南方根瘤線蟲與西瓜蔓割病菌複合感染西瓜富寶二號品種，歸屬於

表二、西瓜富寶二號品種接種南方根瘤線蟲與西瓜蔓割病菌後之發病情形

Table 2. The disease incidence of watermelon (cv. Fu-Bo No.2) inoculated with *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* in the greenhouse

Treatment ¹	Root knot index ²	Top DW ³ (g)	Root DW ³ (g)	Disease incidence (%) ⁴
N+F	3.0 a ⁵	0.43 d	0.27 b	100 a
F+N	1.6 b	0.77 c	0.37 b	80 b
N	2.0 b	1.10 b	0.40 b	0 d
F	0 c	0.87 c	0.40 b	60 c
NF	3.2 a	0.30 d	0.23 b	100 a
Check	0 c	1.7 a	0.97 a	0 d

1. Different treatments: N+F=inoculated with the nematode first, and then inoculated with the fungus two weeks later, F+N=inoculated with the fungus and then inoculated with the nematode two weeks later, N= inoculated with the nematode only, F=inoculated with the fungus only, NF=inoculated with fungus and nematode simultaneously, Check= no inoculation. Watermelon seedlings were inoculated with *Meloidogyne incognita* at 500 second juveniles and *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* at 10² propagules/g dry soil.
2. Root knot index based on a scale from 0 to 4; 0=no infection, 1=1-15 % of whole root system formed galls, 2=16-30 %, 3=31-50 %, 4=51-100 %.
3. Plant weight = Top (above ground part of plant) dry weight (gram per plant), Root weight = root dry weight (gram per plant).
4. Disease incidence (%) = Number of infected seedlings / number of total seedlings X 100% and was recorded 45 days after inoculation.
5. Means (n=5) in the same column followed by the same letter are not significantly different (p=0.05) according to Duncan's multiple range test.

第一類交互作用的現象。而根瘤線蟲除了製造傷口使西瓜蔓割病菌易於侵入外，且由於根瘤線蟲侵入西瓜根部，因而產生巨型細胞 (giant cell)，並造成植株組織之細胞構造、生理、或生化特性發生改變，導致線蟲口針周圍巨型細胞內含物如氨基酸、磷酸、蛋白質、核酸、及醣類大量的增加，可提供西瓜蔓割病菌生長繁殖的營養源 (16, 17, 19)，故有利於蔓割病菌感染植株，使複合感染之病害發生更趨嚴重。

一般防治西瓜蔓割病的方法包括有採用抗病品種、抗病根砧、種子消毒、輪作、利用拮抗微生物、及有機添加物防治等 (4, 5, 7, 8)。然而一般防病的試驗工作大多針對單一病原西瓜蔓割病菌或根瘤線蟲進行探討與篩選，卻少有同時針對西瓜蔓割病菌與植物病原線蟲兩種根部病原檢測有效保護寄主植物的方法，實為防治工作不容忽視的問題。未來西瓜根部病害的防治應考慮西瓜蔓割病菌與根瘤線蟲複合感染的問題，設法探討如何將 S-H 混合物 (20) 及LT有機添加物 (10) 結合施用之可行性，以達成控制複合感染病害的目標。

引用文獻

1. 杜金池、程永雄、王貴美、蔡東纂. 1990. 臺灣地區西瓜根瘤線蟲之發生及防治. 中華農業研究 39:325-338.
2. 林奕耀. 1968. 植物寄生性線蟲之研究 *Pratylenchus penetrans* 與 *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* 之相互關係. 植保會刊 10:29-40.
3. 孫守恭、黃振文. 1977. 西瓜蔓割病菌在土壤中的存活. 植保會刊 19:257-264.
4. 孫守恭、黃振文. 1983. 土壤添加物防治西瓜蔓割病之研究. 植保會刊 25:127-137.
5. 孫守恭、黃振文. 1996. 臺灣植物鐮胞菌病害. 世維出版社. 臺中市. 170頁.
6. 黃振文. 1976. 西瓜蔓割病菌生態之研究. 國立中興大學植物病理系學士論文. 72頁.
7. 黃振文. 1978. 西瓜蔓割病菌的生物學及其防治試驗. 國立中興大學植物病理系碩士論文. 111頁.
8. 黃振文、王麗媚. 1995. 瓜類作物蔓割病菌的病原性、存活與防治. 瓜類作物保護技術研討會專刊: 127-134. 中華植物保護學會. 臺灣嘉義.
9. 程永雄、杜金池. 1989. 線蟲與其它病原之複合感染. 植物線蟲病害防治研討會專集: 61-70. 臺灣省農業試驗所編印. 台中霧峰.
10. 蔡東纂. 1998. 植物寄生性線蟲之生物防治. 國立臺灣大學植物病理系博士論文. 102頁.
11. Francl, L. J., and Wheeler, T. A. 1993. Interaction of plant-parasitic nematodes with wilt-inducing fungi. Pages 79-103 in: Nematode Interactions. M. W. Khan ed. Chapman & Hall, New York, 377 pp.
12. Khan, M. W. 1993. Mechanisms of interactions between nematodes and other plant pathogens. Pages 55-78 in: Nematode Interactions. M. W. Khan ed. Chapman & Hall, New York, 377 pp.
13. Mai, W. F., and Abawi, G. S. 1987. Interactions among root-knot nematodes and *Fusarium* wilt fungi on host plants. Annu. Rev. Phytopathol. 25:317-338.
14. Nash, S. M., and Snyder, W. C. 1965. Quantitative estimations by plate counts of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils. Phytopathology 52:567-572.
15. Pitcher, R. S. 1965. Interrelationship of nematodes and other pathogens of plants. Helminthological Abstract 34: 1-17.
16. Pitcher, R. S. 1978. Interactions of nematodes with other pathogens. Pages 63-77 in: Plant Nematology. J. F. Southey ed. Her Majesty's Stationery Office, London.
17. Powell, N. T. 1971. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. Annu. Rev. Phytopathol. 9:253-274.
18. Sidhu, G. S., and Webster, J. M. 1981. Genetics of plant-nematode interaction. Pages 61-87 in: Plant Parasitic Nematodes, Vol. III. B. M. Zuckerman, and R. A. Rohde eds. Academic Press, New York.
19. Sumner, D. R., and Johnson, A. W. 1973. Effect of root-knot nematodes on *Fusarium* wilt of watermelon. Phytopathology 63:857-861.
20. Sun, S. K., and Huang, J. W. 1985. Formulated soil amendment for controlling *Fusarium* wilt and other soilborne disease. Plant Dis. 69:917-920.
21. Taylor, C. E. 1990. Nematode interactions with other pathogens. Ann. Appl. Biol. 116:405-416

ABSTRACT

Yen, J. H.¹, Huang, J. W.², Lin, C. Y.^{1,3}, Chen, D. Y.¹ and Tsay, T. T.². 1998. Interaction between *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in watermelon roots. Plant Pathol. Bull. 7:201-204. (¹ Dept. of Plant Pathology, Taiwan Agricultural Research Institute; ² Dept. of Plant Pathology, National Chung Hsing University; ³ corresponding author: E-mail:CYLin@wufeng.tari.gov.tw ; Fax:04-3338162)

The interaction between *Meloidogyne incognita* (MI) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (FON) in watermelon roots has been conducted in the greenhouse. Root-knot index of watermelon (cv. Fu-Bo No. 2) were 2.8, 2.6, and 1.8 respectively 45 days after inoculation with 5000, 1000, and 500 second juveniles (per pot) of *Meloidogyne incognita*. Disease incidence of watermelon (cv. Fu-Bo No.2) Fusarium wilt was 40 % after inoculation with 10² propagules/g dry soil of FON for 45 days. Therefore, watermelon seedlings inoculated with MI at 500 second juveniles and FON at 10² propagules/g dry soil were used to study the phenomena of disease complex. Disease incidence of watermelon Fusarium wilt in three treatments including watermelon seedlings (a) inoculated with root-knot nematode for two weeks, and then inoculated with FON; (b) inoculated with FON for two weeks, and then inoculated with the nematodes; (c) inoculated with nematode and FON simultaneously was more severe than the seedlings inoculated with FON only. The results indicated that *Meloidogyne incognita* was able to increase the disease incidence of watermelon Fusarium wilt.

Key words: *Meloidogyne incognita*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum*, disease complex