

# 百合鳞茎腐烂病病原菌的鉴定及生物学特性研究

曹 兴<sup>1</sup>, 刘南南<sup>1</sup>, 胡燕佩<sup>1</sup>, 义鸣放<sup>2</sup>, 王桂清<sup>1\*</sup>

(1. 聊城大学农学院, 山东聊城 252059; 2. 中国农业大学园艺学院/花卉发育与品质调控北京市重点实验室, 北京 100193)

**摘要:** 为确定北京市昌平区百合鳞茎腐烂病的病原菌, 采用组织分离、致病性测定、形态学及分子生物学方法对病原菌进行鉴定, 并利用菌落生长法和血球计数板孢子计量法研究了主要致病菌的生物学特性。结果表明, 引起当地百合鳞茎腐烂病的病原菌为尖孢镰刀菌和腐皮镰刀菌, 尖孢镰刀菌在分离数量上占优势, 腐皮镰刀菌的致病性较强。尖孢镰刀菌的最适培养基为 PDA 培养基。菌丝生长和产孢的最适温度为 25 ℃, 菌丝生长的最适 pH 值为 5, 产孢的最适 pH 值为 7。12:12 光暗交替条件下菌丝生长最快, 产孢量最高。菌丝生长的最适碳源和氮源分别为乳糖和硝酸钠, 产孢的最适碳源和氮源分别为葡萄糖和甘氨酸。

**关键词:** 百合; 鳞茎腐烂病; 病原菌鉴定; 尖孢镰刀菌; 生物学特性

中图分类号: S436.8 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2018)12-0096-06

## Identification and Biological Characteristics of the Pathogen of Lily Bulb Rot Disease

CAO Xing<sup>1</sup>, LIU Nannan<sup>1</sup>, HU Yanpei<sup>1</sup>, YI Mingfang<sup>2</sup>, WANG Guiqing<sup>1\*</sup>

(1. College of Agriculture, LiaoCheng University, LiaoCheng 252059, China; 2. College of Horticulture, China Agricultural University/Beijing Key Laboratory of Development and Quality Control of Ornamental Crops, Beijing 100193, China)

**Abstract:** To determine the pathogen causing lily bulb rot disease in Changping district, Beijing city, the pathogens were identified by tissue isolation, pathogenicity test, morphological characteristics study and rDNA-ITS sequence analysis. Biological characteristics of the major pathogen were determined by measuring the diameter of the colony and counting the number of conidia using hemocytometer measurement. The results showed that *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* were identified as the pathogens causing bulb rot in lily. *F. oxysporum* was the dominant strain although its pathogenicity was weaker than *F. solani*. For the mycelial growth and sporulation of *F. oxysporum*, the optimum medium was PDA, the optimum temperature was 25 ℃, and the optimum light condition was 12:12 alternation of light and darkness. The optimal pH values for mycelial growth and sporulation were 5 and 7, respectively. Lactose was the best carbon source and NaNO<sub>3</sub> was the best nitrogen source for mycelial growth. The optimum carbon source and nitrogen source for sporulation were glucose and glycine separately.

**Key words:** Lily; Bulb rot disease; Pathogen identification; *Fusarium oxysporum*; Biological characteristics

百合为百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)球根花卉, 其花姿雅致、花色丰富、馨香宜人, 在我国被广泛栽培用作切花、盆花和庭院用花等<sup>[1]</sup>。此外, 百

合还具有较高的药用与食用价值<sup>[2-3]</sup>。由镰刀菌引起的百合鳞茎腐烂病(又称根腐病、枯萎病)是百合的主要病害, 病原菌主要从肉质根或鳞茎盘基部的

收稿日期: 2018-08-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(31601788); 山东省自然科学基金项目(ZR2016CB36); 聊城大学博士科研启动基金项目(318051312); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201710447107, 201810447074)

作者简介: 曹 兴(1984-), 男, 山东滕州人, 讲师, 博士, 主要从事园艺作物病害防治研究。E-mail: caoxinglina@163.com

\* 通讯作者: 王桂清(1968-), 女, 河北泊头人, 教授, 博士, 主要从事园林植物病虫害防治研究。

E-mail: wangguiqing@lzu.edu.cn

伤口侵入,造成肉质根和盘基变褐腐烂,并逐渐向上发展,鳞片出现褐色凹陷病斑,后期鳞片从盘基脱落。染病植株地上部分明显矮化,叶片自下而上黄化干枯,最后全株枯萎死亡<sup>[4]</sup>。

近年来,北京市昌平区温室栽培的百合出现大面积的鳞茎腐烂病,严重影响了种球、切花的产量和质量,制约百合周年生产。为确定该地区百合鳞茎腐烂病的病原菌,采集了东方百合杂种系索邦的鳞茎腐烂病病株,对病原物进行分离和鉴定,并分析了主要致病菌的生物学特性,为深入研究该病的发病规律和防治技术奠定理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

采样地点为北京市昌平区李村百合生产合作社,寄主为东方百合杂种系(*Lilium oriental hybrids*)索邦(Sorbonne),采集病株具有典型鳞茎腐烂病症状。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 病原菌的分离与纯化** 采用组织分离法,用清水冲洗具有典型鳞茎腐烂病症状的鳞茎片,于超净工作台内切取病健组织交界处,剪成2 mm×3 mm大小,用75%乙醇浸泡30 s,无菌水漂洗3次,再于7.5%的次氯酸钠中浸泡3 min,无菌水冲洗3次,置于马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)上25 ℃恒温培养3~5 d,观察分离结果,纯化后保存菌种待鉴定。

**1.2.2 病原菌致病性测定** 离体测定:将分离纯化的菌株在PDA上培养7 d后,用打孔器制成直径5 mm的菌饼备用。选取索邦健康鳞茎片,用75%乙醇进行表面消毒,无菌水冲洗。用灭菌解剖针在鳞茎片上刺孔,将菌饼贴在孔上,以贴PDA培养基为对照。保湿培养,每天观察发病情况。

活体测定:将索邦种球消毒后栽种在直径12 cm的花盆中,基质为经过高温灭菌的细河砂。拌入PDA上培养7 d的分离菌,1盆1皿,以拌入PDA培养基为对照。25 ℃培养,及时观察发病状况。

根据柯赫氏法则<sup>[5]</sup>,对接种发病的百合鳞茎片再次进行病原菌的分离与鉴定。

**1.2.3 病原菌鉴定** 形态鉴定:将分离纯化的病原菌分别在PDA上25 ℃恒温培养,观察菌落特征。同时用水作为浮载剂,用BX51奥林帕斯显微镜观察菌丝和孢子形态,拍照。

分子生物学鉴定:使用Omega Bio-Tek公司的D3390-02 Fungal DNA Kit提取病原菌基因组DNA。采用真菌核糖体基因内转录间隔区(ITS)通

用引物ITS1(5'-TCCGTAGGTGAAACCTGGCG-3')和ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')进行rDNA-ITS序列扩增<sup>[6]</sup>。PCR反应程序:95 ℃ 5 min; 95 ℃ 30 s, 54.5 ℃ 30 s, 72 ℃ 1 min, 33个循环; 72 ℃ 10 min。PCR产物用1%的琼脂糖凝胶电泳检测,将500 bp左右的条带切胶回收,连接pMD18-T载体并转化至大肠杆菌DH5α感受态细胞中,经Amp抗性筛选和菌落PCR检测后,将含有目的基因片段的阳性克隆送上海铂尚生物技术有限公司测序。所得序列在NCBI网站用BLAST进行比对分析,利用MEGA 5.0构建系统发育树。

**1.2.4 病原菌生物学特性分析** 将直径7 mm的尖孢镰刀菌菌块接种于供试培养基平板(直径9 cm)中央,置于培养箱中培养,研究培养基种类、温度、光照、pH值、碳源、氮源对病原菌菌丝生长和产孢量的影响。

培养基的影响:供试培养基分别为PDA、改良沙氏葡萄糖蛋白胨琼脂培养基(mSDA)、查氏培养基(CZA)、基础培养基(BM)等4种固体培养基。

温度的影响:培养温度分别为5、10、15、20、25、30、35、40 ℃。

光照的影响:设置全光照、光暗交替(12 h光照/12 h黑暗)、全黑暗3个处理。

pH值的影响:pH值梯度设置为3、4、5、6、7、8、9、10、11、12。

碳源的影响:以查氏固体培养基为基础培养基,将葡萄糖分别用等量的蔗糖、麦芽糖、乳糖、果糖、海藻糖、阿拉伯糖、可溶性淀粉、微晶纤维素代替,制成不同碳源的培养基,以无碳源培养基为对照。

氮源的影响:以查氏固体培养基为基础培养基,将天门冬酰胺分别用等量的硫酸铵、氯化铵、蛋白胨、酵母浸膏、尿素、甘氨酸、硝酸钠代替,制成不同氮源的培养基,以无氮源培养基为对照。

试验中若无特殊说明,培养条件均为:PDA培养基、25 ℃、12 h光照/12 h黑暗。每个处理3皿,重复3次。培养5 d后采用十字交叉法测量菌落的直径,6 d后采用血球计数板法测量孢子量。

### 1.3 数据处理

利用Excel 2007和SPSS 18软件分析、处理数据。

## 2 结果与分析

### 2.1 百合鳞茎腐烂病病原菌的分离与鉴定

**2.1.1 病原菌形态及分子生物学鉴定** 从索邦鳞茎腐烂病斑上分离纯化得到15个菌株(编号为

BH1—BH15),其培养性状和形态特征为:在 PDA 培养基上 25 ℃恒温培养,菌落圆形,气生菌丝绒毛状或絮状,易产生色素,颜色多样;菌丝有隔,分生孢子梗无色,有少量分枝;小型分生孢子无色,形态多样,多为单细胞,少数为 1~3 分隔;大型分生孢子无色,镰刀形,3~10 分隔。根据培养性状和菌丝、孢子形态,初步鉴定 15 个分离菌株均为镰刀菌(*Fusarium*)。

对 15 个分离株进行 rDNA - ITS 测序,分离株

BH15 的序列长度为 564 bp,与序列号为 KR364579、MG183708、MH569611、KM268689 等腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)的同源性为 99%。其余分离株的序列一致,长度均为 544 bp,与序列号为 MG836253、MH512964、MG020429、KX786247 等尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)的同源性为 100%。根据 BH1 和 BH15 的 ITS 序列构建的系统发育树如图 1。

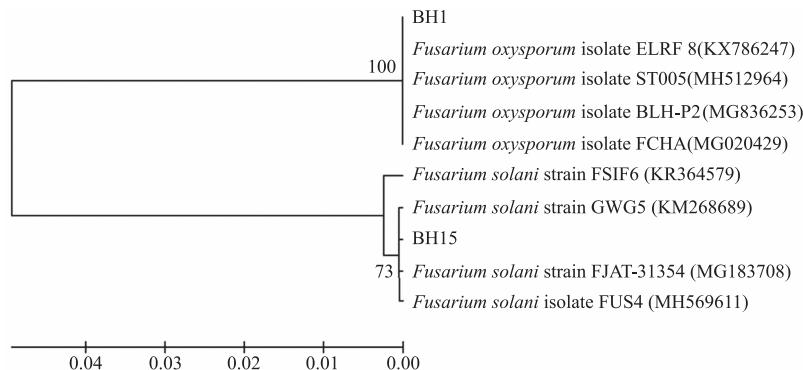
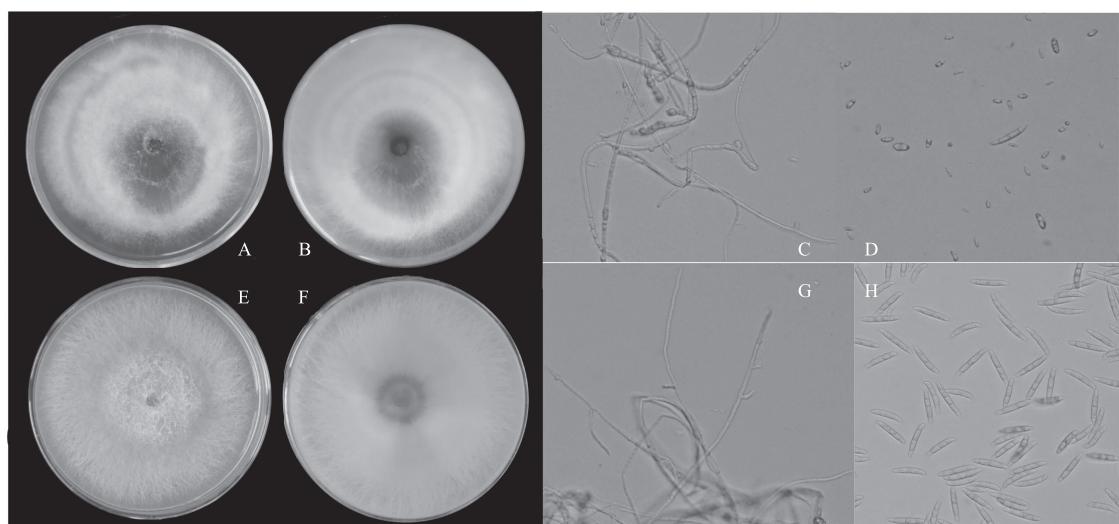


图 1 菌株 BH1 和 BH15 基于 ITS 序列同源性构建的系统发育树

菌株 BH1(尖孢镰刀菌)在 25 ℃的 PDA 培养基上,单菌落圆形,气生菌丝羊毛状,白色,菌落有浅紫色轮纹(图 2A、B),培养 4 d 的菌落直径为 5.0~5.1 cm。菌丝有隔,分生孢子梗无色,有少量分枝,分枝呈锐角状,菌丝内可见许多圆形内容物(图 2C)。小型分生孢子无色,单细胞,椭圆形、卵圆形、柱形等,中央宽,两端渐窄;大型分生孢子无色,镰刀形,细长,0~5 个隔膜,多数为 3 隔(图 2D)。菌株

BH15(腐皮镰刀菌)在 25 ℃的 PDA 培养基上,单菌落圆形,气生菌丝棉絮状,白色、浅粉色,培养基背面中央紫红色(图 2E、F)。与 BH1 相比,菌株 BH15 生长较慢,培养 4 d 菌落直径为 4.3~4.4 cm;产孢细胞为简单瓶梗,瓶梗较短(图 2G);分生孢子比较粗壮,小型分生孢子较大,大型分生孢子多,马特型,较胖,两端较钝(图 2H)。



A、B:菌株 BH1 正面、背面; C、D:菌株 BH1 菌丝、分生孢子形态; E、F:菌株 BH15 正面、背面; G、H:菌株 BH15 菌丝、分生孢子形态

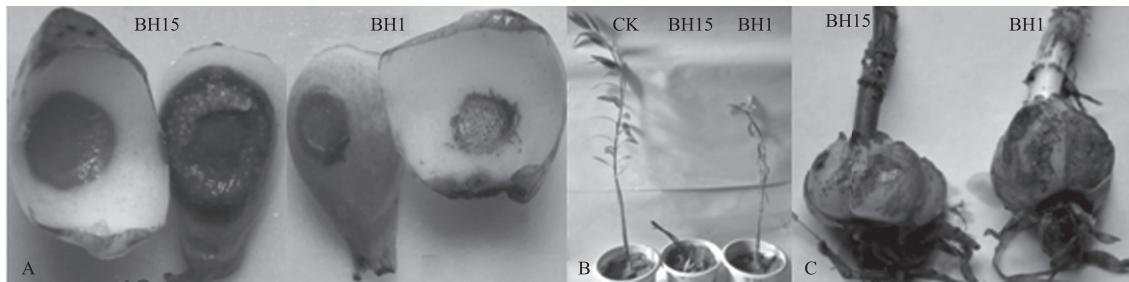
图 2 菌株 BH1 和 BH15 的培养性状与形态特征

### 2.1.2 病原菌致病性测定 离体接种时,4~8 d 出现病症,鳞片外部发病严重,病处有褐色病斑,病斑

上附有白色点状物,病斑边缘颜色较深,内部呈腐烂状(图 3A)。活体接种后 15~20 d 出现病症,前期

植株矮化,叶片由下而上黄化皱缩(图 3B),鳞茎表面出现褐色斑点,后期叶片几乎全部脱落,植株倒伏,茎部出现腐烂状且部分附有白色霉层,鳞茎表面

腐烂组织不断扩大,有些鳞片从鳞茎上脱落,最后整个鳞茎呈干腐状(图 3C),与采集的病样症状一致。



A: 离体接种鳞茎片病症; B: 活体接种地上部分病症; C: 活体接种鳞茎病症

图 3 百合接种 BH15 和 BH1 后病症

离体接种时,BH15 菌株接种 4 d 左右开始出现病症,鳞片腐烂程度强,BH1 菌株 8 d 才出现病症,鳞片腐烂程度弱;活体接种时,BH15 菌株接种 15 d 开始显症,植株地上部发病严重而死亡,BH1 菌株接种 20 d 显症,地上部表现脱叶、矮小,但不死亡。因此,BH15 菌株的致病性较强。

从发病组织上再次分离纯化病原菌,其在 PDA 培养基上的培养性状及菌丝、孢子特征均与接种前对应的菌株一致。根据柯赫氏法则,百合鳞茎腐烂病的病原菌为尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 和腐皮镰刀菌 (*Fusarium solani*)。

## 2.2 百合鳞茎腐烂病病原菌尖孢镰刀菌的生物学特性

**2.2.1 培养基对尖孢镰刀菌菌丝生长和产孢量的影响** 不同培养基对尖孢镰刀菌的菌丝生长和产孢量有显著影响(表 1)。培养至第 5 天,该菌在 BM 培养基上的菌落直径最大,为 63.27 mm,但菌丝稀疏,在 PDA 培养基上的菌落直径次之,为 56.33 mm,菌落致密。PDA 培养基上的孢子量最大,为  $10.00 \times 10^7$  个/皿,其次为 CZA 培养基,BM 和 mSDA 培养基的产孢量较低。综上,PDA 培养基为尖孢镰刀菌的适宜培养基。

25 °C 时生长最快,其次为 30 °C。25 °C 条件下的产孢量最大,为  $9.88 \times 10^7$  个/皿,其次为 30 °C 时,二者无显著差异。因此,尖孢镰刀菌生长和产孢的适宜温度为 25 ~ 30 °C,最适温度为 25 °C。

表 2 不同温度下尖孢镰刀菌菌落的生长情况和孢子量

温度/°C	菌落直径/mm	产孢量/( $\times 10^7$ 个/皿)
5	7.00 ± 0.00e	0.00 ± 0.00e
10	28.27 ± 1.26c	0.30 ± 0.01d
15	30.33 ± 1.08c	0.38 ± 0.01d
20	47.93 ± 0.75b	0.65 ± 0.10c
25	56.37 ± 0.40a	9.88 ± 0.45a
30	48.03 ± 1.60b	9.70 ± 0.36a
35	22.00 ± 0.67d	1.78 ± 0.10b
40	9.00 ± 0.15e	0.00 ± 0.00e

**2.2.3 光照对尖孢镰刀菌菌丝生长和产孢量的影响** 从表 3 可以看出,尖孢镰刀菌在全光照、光暗交替和全黑暗条件下均能较好生长。光暗交替条件下菌丝生长最快,与全黑暗处理相比,菌落直径差异不显著,但显著高于全光照处理。光暗交替条件下的产孢量最高,达  $9.75 \times 10^7$  个/皿,显著高于全光照和全黑暗环境。

表 3 不同光照下尖孢镰刀菌菌落的生长情况和孢子量

光照条件	菌落直径/mm	产孢量/( $\times 10^7$ 个/皿)
全光照	51.25 ± 0.98b	3.20 ± 0.24c
光暗交替	56.33 ± 1.07a	9.75 ± 0.63a
全黑暗	55.25 ± 0.43ab	4.40 ± 0.40b

**2.2.4 pH 值对尖孢镰刀菌菌丝生长和产孢量的影响** 从表 4 可以看出,尖孢镰刀菌在 pH 值 4 ~ 12 内均可生长,在 pH 值为 5 及碱性的环境条件下生长较快,但在高 pH 值(10 ~ 12)下菌丝疏松。培养基的酸碱度影响色素的形成,pH 值 5 ~ 8 时,该菌易产生红色色素。pH 值为 3 时不产孢,在 pH 值 4 ~ 12 内,产孢量先增加后降低,当 pH 值为 7 时,产孢

表 1 不同培养基上尖孢镰刀菌菌落的生长情况和孢子量

培养基	菌落直径/mm	产孢量/( $\times 10^7$ 个/皿)
PDA	56.33 ± 2.42b	10.00 ± 0.25a
mSDA	50.82 ± 2.40c	4.50 ± 0.28d
CZA	48.60 ± 1.20c	8.25 ± 0.61b
BM	63.27 ± 0.95a	5.75 ± 0.66c

注:同列不同小写字母代表差异显著( $P < 0.05$ ),下同。

**2.2.2 温度对尖孢镰刀菌菌丝生长和产孢量的影响** 不同温度对菌丝生长量和产孢量的影响显著(表 2)。温度过低(5 °C)或过高(40 °C)时,菌丝停止生长和产孢。该菌在 10 ~ 35 °C 条件下均可生长,

量最大,达  $7.70 \times 10^7$  个/皿。

表 4 不同 pH 值下尖孢镰刀菌菌落的生长情况和孢子量

pH	菌落直径/mm	产孢量/( $\times 10^7$ 个/皿)
3	-	$0.00 \pm 0.00$ f
4	$42.13 \pm 1.04$ d	$2.83 \pm 0.36$ e
5	$69.50 \pm 1.78$ a	$4.70 \pm 0.29$ c
6	$61.90 \pm 1.79$ bc	$6.70 \pm 0.54$ b
7	$57.23 \pm 1.40$ c	$7.70 \pm 0.31$ a
8	$69.30 \pm 1.08$ a	$6.50 \pm 0.46$ b
9	$68.63 \pm 0.80$ a	$6.40 \pm 0.25$ b
10	$64.63 \pm 0.50$ ab	$3.48 \pm 0.40$ d
11	$66.30 \pm 0.83$ ab	$4.10 \pm 0.39$ c
12	$69.70 \pm 1.24$ a	$4.58 \pm 0.20$ c

2.2.5 碳源对尖孢镰刀菌菌丝生长和产孢量的影响 尖孢镰刀菌在有糖和无糖培养基上均能生长(表 5)。最适宜菌丝生长的碳源为乳糖,5 d 时菌落直径可达 60.33 mm,其次为麦芽糖、葡萄糖,与对照(无碳)相比,海藻糖和可溶性淀粉抑制了菌丝的生长。该菌在以葡萄糖和海藻糖为碳源的培养基上产孢量较多,分别是对照的 5.50 倍和 5.33 倍。

表 5 不同碳源下尖孢镰刀菌菌落的生长情况和孢子量

碳源	菌落直径/mm	产孢量/( $\times 10^7$ 个/皿)
葡萄糖	$54.30 \pm 2.54$ bc	$8.25 \pm 0.46$ a
果糖	$51.93 \pm 2.55$ bc	$5.00 \pm 0.31$ c
海藻糖	$40.40 \pm 0.93$ e	$8.00 \pm 0.40$ a
麦芽糖	$56.30 \pm 1.76$ ab	$4.25 \pm 0.15$ d
乳糖	$60.33 \pm 1.68$ a	$5.25 \pm 0.33$ c
蔗糖	$45.27 \pm 4.48$ de	$7.00 \pm 0.21$ b
阿拉伯糖	$53.80 \pm 1.80$ bc	$3.75 \pm 0.30$ d
可溶性淀粉	$44.20 \pm 0.69$ de	$5.25 \pm 0.29$ c
微晶纤维素	$49.23 \pm 3.38$ cd	$1.75 \pm 0.29$ e
无碳	$44.97 \pm 0.70$ de	$1.50 \pm 0.15$ e

2.2.6 氮源对尖孢镰刀菌菌丝生长和产孢量的影响 虽然尖孢镰刀菌在无氮培养基上也可生长,但菌丝非常稀疏、不产孢,说明尖孢镰刀菌对氮素的要求较高(表 6)。菌丝生长氮源以硝酸钠和酵母浸膏最好,硫酸铵和氯化铵最差,表明该菌对硝态氮和有机氮的利用效果较好,对铵态氮的利用效果较差。氮源也影响其色素的产生,蛋白胨和酵母浸膏有利

表 6 不同氮源下尖孢镰刀菌菌落的生长情况和孢子量

氮源	菌落直径/mm	产孢量/( $\times 10^7$ 个/皿)
蛋白胨	$58.97 \pm 1.75$ bc	$2.76 \pm 0.23$ b
酵母浸膏	$61.30 \pm 0.89$ ab	$3.10 \pm 0.40$ b
甘氨酸	$57.23 \pm 1.50$ c	$3.93 \pm 0.35$ a
尿素	$42.73 \pm 0.55$ d	$2.73 \pm 0.28$ b
硝酸钠	$62.03 \pm 1.97$ a	$2.68 \pm 0.28$ b
硫酸铵	$16.43 \pm 0.42$ e	$0.00 \pm 0.00$ c
氯化铵	$16.87 \pm 2.50$ e	$0.00 \pm 0.00$ c
无氮	$57.93 \pm 1.25$ c	$0.00 \pm 0.00$ c

于产生红色色素。以甘氨酸为氮源时,病原菌的产孢量最高,达  $3.93 \times 10^7$  个/皿,显著高于其他处理,其次是酵母浸膏、蛋白胨和尿素,而在无氮与铵态氮条件下均不产生分生孢子,表明有机氮有利于尖孢镰刀菌产孢。

### 3 结论与讨论

在生长期或贮藏期,百合较易发生鳞茎腐烂病。引起贮藏期鳞茎腐烂的病原真菌主要有圆弧青霉(*Penicillium cyclopium*)、匍枝根霉(*Rhizopus stolonifer*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、丛花青霉(*Penicillium corymbiferum*)和尖孢镰刀菌等<sup>[7]</sup>。生长期鳞茎腐烂病的病原菌主要有尖孢镰刀菌、腐皮镰刀菌、串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme* Sheldon)和层出镰刀菌(*Fusarium proliferatum*)等<sup>[8]</sup>。研究表明,不同地区百合生长期鳞茎腐烂病的病原菌不完全相同。甘肃省临洮县兰州百合枯萎病病原菌经分离,被鉴定为尖孢镰刀菌、茄病镰刀菌(*Fusarium solani*)和禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)<sup>[9]</sup>。湖南省隆回县龙牙百合生长期鳞茎腐烂病和云南省嵩明县观赏百合根腐病的病原菌均为尖孢镰刀菌<sup>[10,4]</sup>。引起甘肃省会川县观赏百合根腐病的主要致病菌为尖孢镰刀菌和茄病镰刀菌<sup>[11]</sup>。虽然不同地区的病原菌不完全相同,但主要致病菌均为尖孢镰刀菌,仅严重侵染百合的为百合专化型(*F. oxysporum* f. sp. *lilii*),对百合和唐菖蒲都致病的为唐菖蒲专化型(*F. oxysporum* f. sp. *gladioli*)<sup>[12-13]</sup>。本研究鉴定北京昌平地区东方百合杂种系索邦鳞茎腐烂病病原菌为尖孢镰刀菌和腐皮镰刀菌。从分离数量上,尖孢镰刀菌占优势,占总分离株的 93.3%;从致病性上,腐皮镰刀菌在显症时间和致病程度上都强于尖孢镰刀菌。尖孢镰刀菌也能引起该地区食用百合鳞茎腐烂<sup>[14]</sup>,但与该研究结果相比,本研究还鉴定了腐皮镰刀菌为致病菌。

百合鳞茎腐烂病是土传病害,病原菌主要以菌丝体在鳞茎内或以菌丝体、厚垣孢子及菌核随病残体在土壤中越夏越冬,成为次年百合发病的初侵染源。高温高湿、排水不良、氮肥施用过多、通风不畅、土壤偏酸、连作等均有利于该病发生<sup>[15]</sup>。本研究的病样采集自昌平郊区的温室观赏百合生产基地,由于多年连作,病害逐年加重。为利于病害的流行预测和防治,进一步研究了主要致病菌尖孢镰刀菌的生物学特性。该菌生长和产孢的最适培养基为 PDA 培养基;生长和产孢的适宜温度为 25~30 °C,最适温度为 25 °C;菌丝生长的最适 pH 值为 5,产孢

的最适 pH 值为 7; 菌丝在 12:12 光暗交替条件下生长最快, 产孢量最高; 对多种不同碳源均能利用, 菌丝生长的最适碳源为乳糖, 产孢的最适碳源为葡萄糖; 对有机氮和硝态氮利用较好, 菌丝生长的最适氮源是硝酸钠和酵母浸膏, 产孢的最适氮源是甘氨酸。本研究仅选择了 4 种培养基, 有一定的局限性, 应进一步筛选其他培养基, 如增加百合培养基、百合葡萄糖培养基等专用培养基<sup>[7]</sup>。本研究中, 适宜病原菌菌丝生长的温度和 pH 值范围与红景天根腐病菌基本相同<sup>[16]</sup>。光暗交替有利于尖孢镰刀菌菌丝生长, 这与王中武等<sup>[17]</sup>对尖孢镰刀菌的研究结果一致, 但尖孢镰刀菌亚麻专化型在持续黑暗环境下生长最好<sup>[18]</sup>。地域或寄主不同, 尖孢镰刀菌对碳源、氮源的利用情况有差异。尖孢镰刀菌亚麻专化型生长与产孢的最适氮源为氯化铵<sup>[18]</sup>, 而本试验的结果表明, 铵态氮显著抑制了尖孢镰刀菌的菌丝生长与产孢。硝态氮有利于兰州百合枯萎病病原菌尖孢镰刀菌的生长和产孢, 与本试验的结果相近, 但其生长和产孢的最适碳源为蔗糖<sup>[19]</sup>, 与本试验的结果不同。在生产实际中, 可通过改变栽培环境、合理施肥、合理轮作等方式来抑制病原菌的生长与产孢, 从而减轻百合鳞茎腐烂病的发生。

#### 参考文献:

- [1] 包满珠. 花卉学 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- [2] 王昌华, 舒抒, 银福军, 等. 药用百合正源考证研究 [J]. 中国中药杂志, 2018(8):1732-1736.
- [3] 李玉帆, 明军, 王良桂, 等. 百合基本营养成分和活性物质研究进展 [J]. 中国蔬菜, 2012(24):7-13.
- [4] 杨秀梅, 王继华, 王丽花, 等. 百合枯萎病病原鉴定与 ITS 序列分析 [J]. 西南农业学报, 2010, 23 (6): 1914-1916.
- [5] 方中达. 植病研究方法 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [6] 陈剑山, 郑服丛. ITS 序列分析在真菌分类鉴定中的应用 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(13):3785-3786.
- [7] 巩慧玲, 孙爱洁, 李茜, 等. 兰州百合鳞茎贮藏腐烂病原菌的鉴定及生物学特性 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(20):97-101.
- [8] 丁丁, 吕长平, 刘飞, 等. 百合枯萎病研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2009(3):128-130.
- [9] 边小荣, 师桂英, 梁巧兰. 兰州百合枯萎病病原菌的分离鉴定与致病性测定 [J]. 甘肃农业大学学报, 2016, 51(4):58-64.
- [10] 朱海燕, 夏花, 高必达. 湖南省食用百合生长期鳞茎腐烂病的病原鉴定 [J]. 植物病理学报, 2012, 42(5): 525-527.
- [11] 梁巧兰, 徐秉良, 刘艳梅. 观赏百合根腐病病原鉴定及药剂筛选 [J]. 甘肃农业大学学报, 2004, 39(1): 25-28.
- [12] Bollen G J. Pathogenicity of fungi isolated from stems and bulbs of lilies and their sensitivity to benomyl [J]. European Journal of Plant Pathology, 1973, 83: 317-329.
- [13] Baayen R P, Forch M G, Waalwijk C, et al. Pathogenic, genetic and molecular characterisation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lili* [J]. European Journal of Plant Pathology, 1998, 104: 887-894.
- [14] 李一寒, 何思琦, 孟嫣, 等. 北京昌平区食用百合根及鳞茎腐烂的病原菌分离与鉴定 [J]. 北京农学院学报, 2018, 33(2):32-37.
- [15] 吴祝华, 詹德智, 施季森, 等. 百合尖孢镰刀菌鳞茎腐烂病研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41(6):1-5.
- [16] 李熙英, 黄世臣, 权成武, 等. 红景天根腐病菌生物学特性 [J]. 东北林业大学学报, 2003, 31(4):12-13.
- [17] 王中武, 臧慧明. 草莓根腐病病原鉴定及生物学特性研究 [J]. 广东农业科学, 2011, 38(8):63-64.
- [18] 潘虹, 关凤芝, 吴广文, 等. 尖孢镰刀菌亚麻专化型生物学特性研究 [J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(7): 50-56.
- [19] 翟雅鑫, 姚晨阳, 薛丽芳, 等. 一株百合枯萎病菌的鉴定及其生物学特性研究 [J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2018, 38(5):1-6.