

草莓红中柱根腐病菌生物学特性研究

穆丽松, 刘志恒, 孙俊, 张海英, 周如军, 马家瑞

(沈阳农业大学 植物保护学院 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 针对国内尚未见报道的茄腐镰孢菌引起的草莓红中柱根腐病, 对其病原菌的生物学特性进行了初步研究。试验结果表明, 病原菌在供试的 6 种碳源培养基和 9 种氮源培养基上生长均较良好, 而在 L-精氨酸上生长较慢。病菌菌丝在 10~35℃ 范围内均能生长, 最适生长温度为 25℃; 菌丝生长的 pH 值为 3~12, 最适 pH 为 7。光照对菌丝生长影响不大。病菌分生孢子在供试的 6 种营养物质中均能萌发; 萌发温度 10~35℃, 最适温度为 27℃; pH 值 2~12 范围内病菌孢子均能萌发, 最适 pH 值为 6; 分生孢子致死温度为 62℃、10 min。

关键词: 草莓红中柱根腐病; 茄腐镰孢菌; 生物学特性

中图分类号: S 668.4; S 436.639 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)03-0219-04

草莓(*Fragaria ananassa*)属于蔷薇科草莓属草本浆果类水果, 果实柔软多汁、色彩艳丽、酸甜适口、芳香浓郁, 被人们誉称“水果皇后”。同时, 草莓还有美容、医疗等多种功能。人类栽培草莓历史 300 多年^[1-2], 而我国栽培历史 80 多年。20 世纪 50 年代, 我国辽宁省丹东地区是从苏联、东欧引种草莓的地区, 80 年代草莓生产初具规模。目前, 丹东地区已成为全国草莓主栽产区之一。

近年来, 由于保护地栽培以及多年连作的影响, 草莓生产上土传病害的发生逐年加重。尤其是草莓根腐病, 严重地块发病率达 30%, 甚至绝收^[3]。

根据文献记载, 国内外的报道多为疫霉菌(*Phytophthora fragariae*)引起的草莓红中柱根腐病^[47]。阿根廷的 St John's Wort(2004 年)认为茄腐镰孢菌也能引起草莓红中柱根腐病^[8]。

2006 年对采自丹东、沈阳和抚顺等地的草莓红中柱根腐病组织进行了分离和鉴定, 并经柯赫氏证病试验, 结果证明辽宁省草莓红中柱根腐病的致病菌主要为茄腐镰孢菌(*Fusarium solani*)^[9]。并在此基础上对其病原菌的生物学特性进行了初步研究, 以为生产上草莓根腐病的防治提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

草莓根腐病标样采自辽宁省丹东东港市和沈阳市苏家屯区生产田, 选取草莓根腐病典型症状的根茎部,

采用常规组织分离方法^[11, 16]进行病原菌分离、培养、纯化备用。

1.2 柯赫氏证病

将分离的病原菌在 PSA 上培养 7 d 后, 从培养基上刮取菌丝, 制成孢子悬浮液, 在显微镜下用孢子计数器将孢子悬浮液浓度调至 1.0×10^6 个/mL。采用根部切伤接种法灌根接种, 接种量为 10 mL/株, 每个处理重复 3 次, 其中接种健康植株来自于沈阳农业大学草莓园栽培草莓丰香, 以无菌土(土/沙=2/1)为基质, 温室育苗钵育苗, 温度控制在 20~26℃, 设清水对照。定期观察、记录发病情况, 在接种植株出现症状后, 比较其症状是否与田间症状一致; 并从病组织上再次进行病原菌分离, 比较前、后分离病原菌的菌落形态和孢子的特征^[8, 12]。

1.3 病原菌形态观察记载

挑取纯化的病原菌, 在显微镜下镜检, 记载其形态特点, 一并拍照。

1.4 病菌菌丝生长特性测定

1.4.1 不同碳源的影响 选用 PSA(A1)、PFA(A2)、马铃薯淀粉琼脂(A3)、PLA(A4)、PMA(A5)、PDA(A6)、马铃薯糊精(A7)共 7 种培养基; 移植直径 6 mm 的病菌菌苔, 于 25℃ 恒温培养。以 PSA 为基本培养基, 各种碳源均以 20 g/L 量替代蔗糖分别加入, 配成各种碳源培养基。设 5 次重复, 5 d 后观察。采用十字交叉法测量菌落直径, 进行统计分析。

1.4.2 不同氮源的影响 选用硝酸钾(B1)、硝酸钠(B2)、蛋白胨(B3)、氯化铵(B4)、硫酸铵(B5)、L-胱氨酸(B6)、L-丙氨酸(B7)、磷酸二氢铵(B8)、L-精氨酸(B9)共 9 种培养基。移植直径 6 mm 的病菌菌苔, 于 25℃ 恒

第一作者简介: 穆丽松(1977-), 女, 沈阳农业大学硕士, 从事植物病理学研究。E-mail: wa_mulisong@126.com。

通讯作者: 刘志恒。E-mail: lzhh1954@sina.com。

收稿日期: 2007-09-27

温培养。以 PSA 为基本培养基 各种氮源均以 0.5% 的量分别加入, 配成各种氮源培养基。设 5 次重复, 5 d 后进行观察。采用十字交叉法测量菌落直径 并进行统计分析。

1.4.3 温度的影响 分别设置 5、10、15、20、25、27、30、35、40℃ 共 9 个温度梯度, 采用 PSA 平板培养基。移植直径 6 mm 的病菌菌苔, 分别在上述不同温度下进行暗培养。设 5 次重复, 5 d 后进行观察。采用十字交叉法测量菌落直径, 并进行统计分析。

1.4.4 光照的影响 采用 PSA 培养基 设置 3 种处理条件: 全光照、12 h 光暗交替、全黑暗, 每处理 3 次重复。移植直径 6 mm 的病菌菌苔, 于 25℃ 恒温培养。5 d 后进行观察。采用十字交叉法测量菌落直径 并进行统计分析。

1.4.5 不同 pH 值的影响 设 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0 共 10 个 pH 梯度; 采用 PSA 培养基, 用 HCl 和 NaOH 调节酸碱度, 配制不同 pH 值的培养基, 制成平板, 移植直径 6 mm 的病菌菌苔, 于 25℃ 恒温培养。5 次重复, 5 d 后进行观察。采用十字交叉法测量菌落直径, 并进行统计分析。

1.5 病菌分生孢子萌发条件测定

1.5.1 营养物质的影响 选用葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、淀粉和糊精 6 种营养源, 溶液浓度均设置为 10 g/L, 以清水为对照。取病菌分生孢子配制孢子悬液, 采用载玻片法萌发。25℃ 下保湿培养, 设 3 次重复。24 h 后镜检, 每处理随机检查 100 个孢子, 计算比较孢子萌发率。

1.5.2 温度的影响 设置 5、10、15、20、25、27、30、35、40℃ 共 9 个温度梯度, 萌发方法及重复同上, 分别保湿培养, 24 h 后镜检, 每处理随机检查 100 个孢子, 计算比较孢子萌发率。

1.5.3 pH 值的影响 调节 pH 值为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0 共 11 个梯度, 以 HCl 和 NaOH 溶液配制不同的 pH 值溶液, 萌发方法及重复同上。24 h 后镜检, 每处理随机检查 100 个孢子, 计算比较孢子萌发率。

1.5.4 分生孢子致死温度测定 将分生孢子悬浮液装于大小一致的试管中, 每试管约 5 mL, 分别置于 40、45、48、50、53、55、58、59、60、62℃ 的恒温水浴锅中加热 10 min, 预热 1 min 后开始计时。处理过程中随时缓慢摇动试管, 保证试管中的孢子悬液受热均匀。取出后立即在冷水中冷却。采用载玻片法于 25℃ 恒温培养 24 h, 检查并纪录 100 个孢子萌发情况。

2 结果与分析

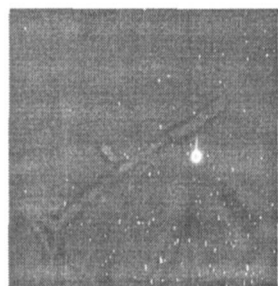
2.1 柯赫氏证病结果

接种 2 周后, 对照植株生长情况良好, 而接种植株约 90% 发病, 其症状表现为植株矮小、萎蔫, 易拔起, 根系髓腔呈红褐色, 与田间症状基本一致。在接种病株上再次分离病原菌, 经 PSA 培养基培养, 显微镜观察, 发现再分离得到的病原菌与接种病原菌为同一病原菌。

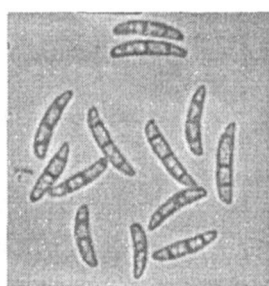
2.2 病原菌形态特点镜检观测结果

茄腐镰孢菌的小型分生孢子为卵形、肾形, 大小为 $5.1 \sim 14.4 \mu\text{m} \times 1.6 \sim 3.5 \mu\text{m}$; 大型分生孢子马特型, 最宽处为中线上部, 两端较钝, 顶孢稍弯, 多为 2~3 个隔膜, 大小为 $12.8 \sim 27 \mu\text{m} \times 2.4 \sim 4.3 \mu\text{m}$; 产孢细胞单瓶梗, 长筒形; 厚垣孢子球形, 单生、对生、或串生, 大小为 $5.90 \sim 10.31 \mu\text{m} \times 4.37 \sim 7.46 \mu\text{m}$ (图 1)。

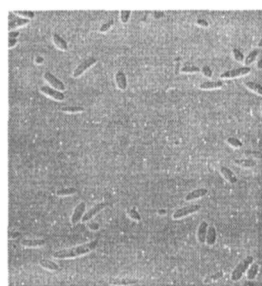
2.3 病原菌菌丝生长特性



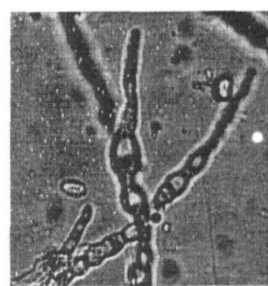
分生孢子和分生孢子梗



大型分生孢子



小型分生孢子



厚垣孢子

图 1 病原菌分生孢子形态图

2.3.1 不同碳源的影响 病菌菌丝在不同碳源培养基上均能生长, 在马铃薯糊精(A7)培养基上生长相对较快, 而在马铃薯淀粉琼脂(A3)培养基上较慢(图 2)。在培养基上, 病菌菌丝均为白色, 绒状, 大部分基质为肉色, 仅 PMA 培养基为淡紫色。

2.3.2 不同氮源的影响 病菌菌丝在不同氮源培养基上生长差异不甚显著, 在马铃薯硝酸钾琼脂培养基上生长较快; 在马铃薯蛋白胨琼脂(B3)培养基上次之; 而在马铃薯 L-精氨酸琼脂(B9)培养基上生长最慢(图 3)。在培养基上, 病菌菌丝均为白色, 绒状, 大部分基质为肉

色,仅马铃薯磷酸二氢氨琼脂培养基为粉紫色。

2.3.3 不同温度的影响 病菌菌丝在 10~35℃均可生长,25~30℃为生长适宜温度,5℃和 40℃下,菌丝停止生长(图 4),高温会使分生孢子生长畸形。

2.3.4 不同光照的影响 光照对病菌菌丝影响不明显,

全黑暗下相对生长较好,但差异不显著(图 5)。

2.3.5 不同 pH 值的影响 病原菌菌丝在 pH 值 3~12 均可生长,pH 值为 3.0、4.0、11.0、12.0 生长最弱,pH 值为 6.0、7.0、8.0 生长最快(图 6),pH 值为 3.0、4.0 时培养基基质为粉紫色,其他均为肉色。

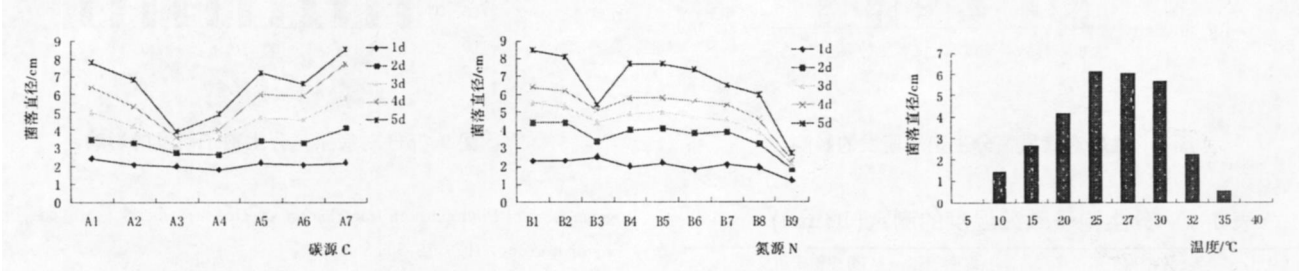


图 2 碳源对菌丝生长的影响

图 3 氮源对菌丝生长的影响

图 4 温度对菌丝生长的影响

2.4 病原菌分生孢子萌发条件

2.4.1 营养物质对分生孢子萌发的影响 不同营养物质对病菌分生孢子萌发的影响有一定差异,麦芽糖中的萌发率最高,糊精、淀粉和果糖中相对较低,清水中也有较高的萌发率,说明病菌孢子萌发对营养物质并无特殊要求(图 7)。

2.4.2 温度对分生孢子萌发的影响 分生孢子在 10~35℃均可萌发,5℃和 40℃下不萌发,27℃为最适温度,6 h 萌发率可达 36%,24 h 萌发率可达 97%(图 8)。

2.4.3 pH 值对分生孢子萌发的影响 由图 9 可知,pH

为 2~12 时分生孢子均可萌发,但在 4~8 间对分生孢子的影响差异不明显。pH 值为 6 时分生孢子的萌发率最高达 92%,pH 值为 12 时分生孢子的萌发率最低为 14%。pH 对孢子萌发影响趋势表明,病菌分生孢子萌发较喜偏酸条件。

2.4.4 分生孢子致死温度测定 病菌分生孢子在水浴 62℃、10 min 时,失去萌发能力,经 62℃以上的温度处理,分生孢子均不能萌发,由此确定分生孢子的致死温度为 62℃、10 min(见表 1)。

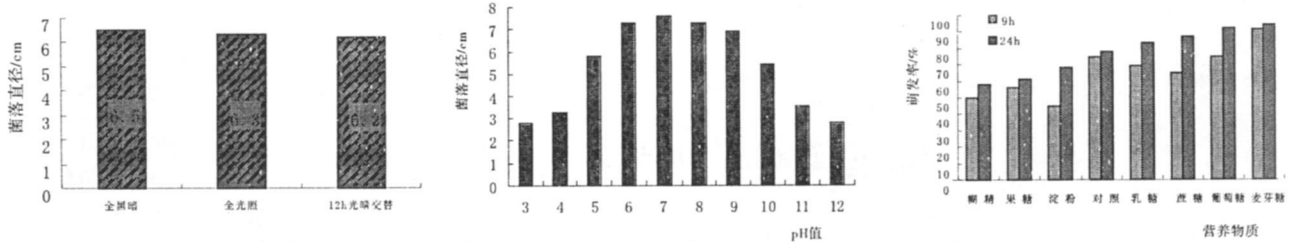


图 5 光照对菌丝生长的影响

图 6 pH 对菌丝生长的影响

图 7 不同营养物质对病原菌分生孢子萌发的影响

3 结论与讨论

结果表明,病原菌在供试的培养基上均可生长,仅在马铃薯 L-精氨酸琼脂培养基上生长明显缓慢;25℃为最适生长温度;在全光照、12 h 光照交替、全黑暗 3 种条件下无明显差异,说明是否光照对菌丝生长影响不明显;pH 值 5~10 为菌丝适宜生长范围,pH 值为 7 最适合病菌生长。

病菌分生孢子对各种营养物质均可利用;27℃为分生孢子萌发的最适温度;pH 值为 6 时,孢子萌发率最高;病菌分生孢子的致死温度为 62℃、10 min。

结果分析认为,病菌菌丝在光照、光暗交替、黑暗 3 种条件下均可正常生长,说明光照对菌丝生长无明显影响;高温适宜病菌分生孢子萌发;这些特性和田间病害的发生特点相吻合。病菌在供试培养基上多产生卵形小型分生孢子。结果表明,病菌抗逆性较强,而在田间一般发病适宜条件较为广泛,病情较难控制。但病菌在低温下生长缓慢,分生孢子萌发较喜酸性,据此在棚室生产中可适当调节温度,提高土壤碱性,以减少病害发生。

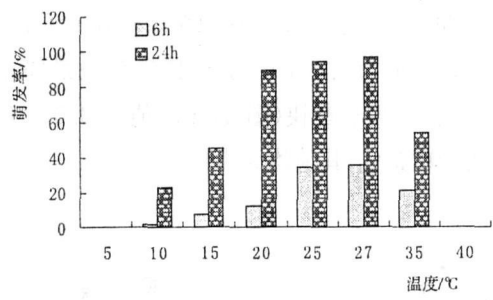


图8 温度对病原菌分生孢子萌发的影响

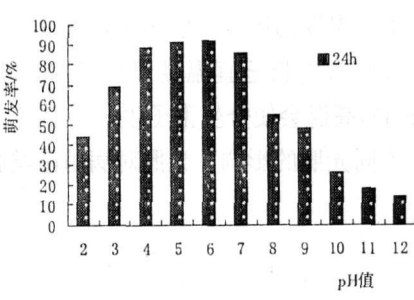


图9 pH对病原菌分生孢子萌发的影响

表1 分生孢子致死温度的测定(10 min)

温度/℃	分生孢子萌发率/%	温度/℃	分生孢子萌发率/%
40	90	62	0
45	86	63	0
50	50	65	0
55	27	70	0
60	13	75	0
61	8	80	0

参考文献

[1] Darrow G M. The strawberry- history, breeding and physiology[M]. New York: Holt. Rine hart and Winston, 1996.
[2] 丁文芹,迟峰. 丹东发展树莓、蓝莓、草莓情况的调查[J]. 辽宁林业科技, 2006(5): 51-54.
[3] 张帅,王春林,刘照川. 大棚草莓红心根腐病的发生与防治[J]. 烟台果树, 2005 92(4):38.
[4] 张志宏. 辽宁草莓产业所面临的问题[J]. 专家论坛, 2006(6):4-5.
[5] 姜祥云,安丰硕,厉运福. 控制棚室草莓重茬病的有效药剂——氯化苦[J]. 西北园艺, 2006(8): 37.
[6] Charlie ODell. Strawberry Root Rots are Becoming More Prevalent in Many Areas[J]. Vegetable Growers News, 2000(7): 4.
[7] Milholland R D, Cline W O, Daykin M E. Criteria for identifying path-

ogenic races of Phytophthora fragariae on selected strawberry genotypes[J]. Phytopathology, 1989, 79:535-538.
[8] Gaetan S, Madia M, Cepeda R. First Report of Fusarium Crown and Root Rot Caused by Fusarium solani on St. John's Wort in Argentina[J]. Plant Dis., 2004 88: 1050.
[9] 陆家云. 植物病原真菌学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
[10] 张中义. 植物病原真菌学[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1988.
[11] 方中达. 植病研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
[12] 郝保春. 草莓病虫害防治彩色图谱[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
[13] 刘丽云,刘晓林,刘志恒,等. 辣椒根腐病菌生物学特性研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2007 38(1):54-58.
[14] 郑莉,朱秋珍,冯自立,等. 草莓枯萎病病原菌鉴定及其生物学特性[J]. 湖北农业科学, 2005 45(2):194-195.
[15] BOOTH C. The Genus Fusarium[M]. England :C M I, Kew, Surrey, 1971.
[16] NELSON P E, TOUSSOUN T A, MARASAS W F O. Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification[D]. Pennsylvania State University Press: University Park, Pennsylvania, 1983.

The Biological Characteristics of *Fusarium solani*

MU Li-song, LIU Zhi-heng, SUN Jun, ZHANG Hai-ying, ZHOU Ru-jun, MA Jia-rei
(College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China)

Abstract: There was no report about strawberry red stele root rot, which was caused of *Fusarium solani* in China. The biological characteristics of *Fusarium solani* was studied in this strawberry. The results showed as follows: the mycelial can grow better on the six kinds of N sources media and the nine kinds of C sources media, but worse on the potato L-arginine agar culture than others. The temperature range for mycelial growth was 10~35℃, 25℃ was the optimum. The mycelial may grow from pH 3 to 12, pH 7 was the best. The effect of light on the mycelial growth was not evident. Pathogens were easy to produce conidia on various kinds of culture media. The conidia can germinate in six kinds of nutrition. The range of temperature for conidia germination was 10~35℃, 27℃ was the optimum. The conidia can germinate within the treatments from pH 2 to 12. pH 6 was optimum, which the conidia lethal temperature was 62℃ for ten min.

Key words: Strawberry red stele root rot; *Fusarium solani*; Biological characteristics