

定西市黄芪根腐病优势病原菌生物学特性研究

丁文姣, 于安芬, 李瑞琴, 徐 瑞, 白 滨

(甘肃省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 采用菌落生长法研究了定西市黄芪根腐病优势病原菌的生物学特性。结果表明, 黄芪根部腐烂病害的优势致病病原菌为腐皮镰刀菌, 其生长最适温度为 25 ℃, 最适 pH 为 5~8。菌丝的致死温度为 60 ℃恒温 10 min。产孢最适温度为 25 ℃, 在 pH 为 6 时产孢量最高。能利用多种单糖、多糖及醇类作碳源和赖氨酸等有机氮和硝酸铵等无机氮作氮源。该菌对环境条件的适应范围较广, 对营养要求不是很严格, 菌丝生长和孢子产生的适宜条件及适应范围与甘肃黄芪栽培区的环境条件较为一致, 这也是甘肃地区黄芪根腐病近年来发病严重的原因之一。

关键词: 黄芪; 根腐病; 茄镰孢; 生物学特性; 定西市

中图分类号: S435.67 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2018)03-0033-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.03.009

Study on Biological Characteristics of Dominant Pathogenic Bacteria of *Astragalus* Root Rot in Dingxi

DING Wenjiao, YU Anfen, LI Riuqin, XU Rui, BAI Bin

(Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: The biological characteristics of the dominant pathogen of *Astragalus* root rot in Dingxi were studied by the method of colony growth. The results show that the dominant pathogens bacteria was *Fusarium solani* which caused *Astragalus* Root Rot, the optimum growth temperature was 25 ℃, and the optimum pH was 5~8. The lethal temperature of mycelium was 60 ℃ as constant temperature for 10 minutes. The optimum temperature of sporulation was 25 ℃, and the sporulation reached the highest when pH was 6. A variety of monosaccharides, polysaccharides and alcohols can be used as carbon sources, while organic and inorganic nitrogen, such as lysine and ammonium nitrate, as nitrogen sources. The fungus has a wide range of adaptation to environmental conditions and is not very strict in nutritional requirements. The suitable conditions and adaptation range of mycelium growth and spores were consistent with the environmental conditions in *Astragalus* cultivation area of Gansu province, which is one of the causes of *Astragalus* root rot in Gansu province in recent years.

Key words: *Astragalus*; Root rot; *Fusarium solani*; Biological characteristics; Dingxi city

黄芪普遍种植于甘肃各地, 尤以甘肃中部的定西等地最多^[1-4]。近年来, 随着中药产业化的不断发展, 黄芪种植面积也不断扩大, 轮作周期缩短, 连作面积增加, 导致黄芪根腐病越来越严重。根腐病危害的黄芪植株, 其地上部生长衰弱, 地下部被害主、侧根出现褐色坏死病斑, 严重时根皮腐烂呈纤维状, 直接影响黄芪的产量和品质。我们在对甘肃中部地区黄芪根腐病原的研究中发现, 茄病镰刀菌 (*Fusarium solani*) 是该区域黄芪根腐病的优势病原菌。为探明黄芪根腐病优势病原菌生长发育与温度、光照、酸碱度和营养等生物

学因子的关系, 对来源于甘肃中部地区黄芪根腐病的优势病原菌茄病镰刀菌的生物学特性进行了研究, 以期黄芪无公害生产和根腐病综合防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试黄芪根腐病优势病原菌及来源

供试黄芪根腐病优势病原菌茄病镰刀菌 (*F. solani*) 菌株为 2014—2015 年从甘肃省定西市 4 个县 13 个乡镇黄芪产区采集的 15 份黄芪根腐病株标样上分离, 通过单孢纯化得到纯培养, 根据 Burgess 等^[5]与 Neson 等^[6]的分类系统在标准培养

收稿日期: 2017-12-04

基金项目: 甘肃省农业科学院农业科技创新专项“甘肃地区黄芪根腐病优势病原毒素致病机理研究”(2013GAAS41)。

作者简介: 丁文姣(1980—), 女, 甘肃兰州人, 助理研究员, 硕士, 主要从事资源微生物利用研究工作。联系电话: (0931)7612383。E-mail: dingwenjiao@gsagr.ac.cn。

通讯作者: 白 滨(1965—), 男, 甘肃平凉人, 副研究员, 主要从事植物保护及农产品风险评估研究工作, 联系电话: (0931)7612662。

基和标准培养条件下鉴定,用柯赫氏法致病性试验证明其致病性后置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,试验前在 PDA 平板上活化待用。

1.2 供试培养基种类

供试培养基为以下集中培养基^[7-8],PDA 培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 13 g、水 1 000 mL。基础培养基:KCl 0.5 g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g、 K_2HPO_4 1.0 g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g、 KNO_3 2.0 g、葡萄糖 30 g、琼脂 13 g、蒸馏水 1 000 mL。

1.3 菌种扩繁

将活化的菌种接种于 PDA 平板上, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下扩繁生长 5 d,用于生物学特性的研究。

1.4 生物学特性

1.4.1 温度对黄芪根腐病优势病原菌生长和产孢的影响 将扩繁菌种用直径为 6 mm 的打孔器打成菌饼,接种于 PDA 平板中央,分别置于 5、10、15、20、25、30、35、 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 共 8 个梯度下于黑暗条件下培养,3 次重复。3 d 后用十字交叉法测量菌落直径,取其平均值。5 d 后用血球计数板计算产孢量^[7-10]。

1.4.2 pH 对黄芪根腐病优势病原菌生长和产孢的影响 用浓度为 1~10 mol/L 的盐酸和氢氧化钠溶液配制 pH 分别为 5、6、7、8、9、10 等 6 个酸碱度梯度的 PDA 培养基。用直径为 6 mm 的菌饼分别接种于不同 pH 的 PDA 平板中央,3 次重复, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下培养,其余同 1.4.1^[7-10]。

1.4.3 光照对黄芪根腐病优势病原菌生长和产孢的影响 在人工气候箱内设置 24 h 连续黑暗、24 h 连续荧光、12 h 连续黑暗+12 h 连续荧光交替处理共 3 种光照条件,将 6 mm 的菌饼接种于 PDA 平板中央,分别置于以上条件的人工气候箱内培养,3 次重复。其余同 1.4.1^[7-10]。

1.4.4 不同碳源对黄芪根腐病优势病原菌生长和产孢的影响 用蔗糖、甘露醇、乳糖、山梨醇、D-果糖、木糖、L-山梨糖、鼠李糖、麦芽糖替换基础培养基中的葡萄糖,配制不同碳源的固体培养基,设不添加碳源为对照。将 6 mm 的菌饼接种于平板中央,分别置于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下培养培养,每处理 3 次重复。其余同 1.4.1^[7-10]。

1.4.5 不同氮源对黄芪根腐病优势病原菌生长和产孢的影响 用蛋白胨、DL-甲硫氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸、亮氨酸、酪氨酸、谷氨酸钠、甘氨酸、赖氨酸替换基础培养基中的 KNO_3 , 配制不同

氮源的固体培养基,设添加氮源 KNO_3 为对照。将 6 mm 的菌饼接种于平板中央,分别置于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下培养培养,3 次重复。其余同 1.4.1^[7-10]。

1.5 黄芪根腐病优势病原菌致死温度的测定

利用恒温水浴的方法测定致死温度。将 6 mm 菌饼接入规格为 15 mm × 200 mm 的灭菌试管中,每管装 10 mL 灭菌蒸馏水,接入 3 个菌饼。分别在 40、45、50、55、 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴锅中处理 10 min,处理时缓慢摇动试管使之受热均匀。将不同温度处理后的菌饼用灭菌挑针挑出接入 PDA 平板上,置 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中保暗培养,5 d 后观察有无菌落生长。3 次重复。

2 结果与分析

2.1 不同温度条件下黄芪根腐病优势病原菌生长情况和产孢量

通过表 1 可以看出,在测试温度范围内,黄芪根腐病优势病原菌在不同温度下的菌落生长量和产孢量差异显著。病原菌在温度为 5~ $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时均能生长,生长适宜温度范围为 20~ $30\text{ }^{\circ}\text{C}$,最适为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$,菌落直径为 $(28.33 \pm 0.22)\text{ mm}$ 。在 10~ $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时均能产孢,产孢适宜温度为 20~ $30\text{ }^{\circ}\text{C}$,最适为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$,产孢量为 $(5.92 \pm 1.22) \times 10^8$ 个/皿, $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下则未见产孢。

表 1 不同温度下黄芪根腐病优势病原菌的生长情况和孢子量^①

温度 / $^{\circ}\text{C}$	菌落直径 /mm	产孢量 /($\times 10^8$ 个/皿)
5	5.00 ± 0.00 f	0.00 ± 0.00 d
10	6.17 ± 0.29 e	0.16 ± 0.03 d
15	9.33 ± 0.28 d	1.45 ± 0.75 c
20	17.00 ± 0.10 b	2.00 ± 0.04 c
25	28.33 ± 0.22 a	5.92 ± 1.22 a
30	16.17 ± 0.29 c	4.66 ± 0.88 b
35	5.33 ± 0.05 f	0.00 ± 0.00 d
40	5.00 ± 0.00 f	0.00 ± 0.00 d

①表中数据为平均数±标准差。同列数据后相同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异不具统计学意义($P > 0.05$)。下表同。

2.2 不同酸碱条件下黄芪根腐病优势病原菌生长情况和产孢量

在 pH 为 5~10 的酸碱度范围内,黄芪根腐病优势病菌都能生长。随 pH 的升高,菌落直径呈先增大后减小趋势,以 pH 为 5~8 时生长较好,菌落直径间无显著差异;pH 高于 8 时生长减慢。产孢量则以 pH 为 6~7 时最多,其中 pH 为 6 时最高,为 $(3.80 \pm 1.99) \times 10^8$ 个/皿。

表 2 不同 pH 下黄芪根腐病优势病原菌的生长情况和孢子量

pH	菌落直径 /mm	产孢量 /($\times 10^8$ 个/皿)
5	27.00 \pm 0.00 b	0.30 \pm 0.45 f
6	27.50 \pm 0.05 a	3.80 \pm 1.99 a
7	26.80 \pm 0.03 a	3.55 \pm 1.12 b
8	25.00 \pm 0.00 b	2.20 \pm 0.10 c
9	24.00 \pm 0.00 c	0.55 \pm 0.31 d
10	23.30 \pm 0.03 d	0.35 \pm 0.19 e

2.3 不同光照条件下黄芪根腐病优势病原菌生长情况和产孢量

从图 1 可以看出,在设置的 3 种光照处理中,以黑暗条件下菌落生长较快,说明黑暗条件利于菌丝的生长。但统计分析表明,不同光照处理间菌落生长量差异并不显著,说明设置的 3 种光源对其生长无显著影响。在对产孢量的影响方面,以 24 h 连续荧光下的产孢量最大,其次为 12 h 光暗交替,24 h 连续黑暗下的产孢量最低。统计分析表明,光照处理间对产孢的影响有显著差异,说明光照条件能促进产孢。

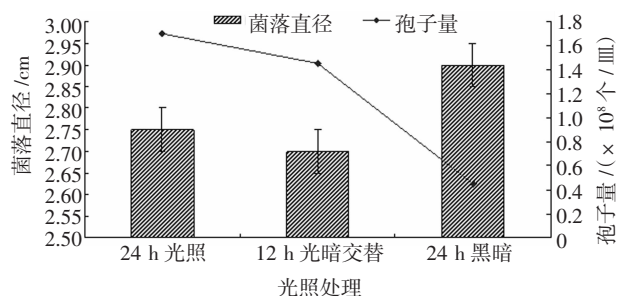


图 1 不同光照下黄芪根腐病优势病原菌的生长情况和孢子量

2.4 不同碳、氮源对黄芪根腐病优势病原菌生长情况及产孢量的影响

由表 3 可知,黄芪根腐病优势病菌对培养基中的 9 种碳源利用能力都较好,生长量差异不显

表 3 不同碳、氮源对黄芪根腐病优势病原菌生长情况和产孢量的影响

碳源	菌落直径 /mm	产孢量 /($\times 10^8$ 个/皿)	氮源	菌落直径 /mm	产孢量 /($\times 10^8$ 个/皿)
蔗糖	48.30 \pm 0.08 ab	1.99 \pm 0.23 b	蛋白胨	50.80 \pm 0.06 a	4.27 \pm 1.49 a
葡萄糖	47.70 \pm 0.25 abc	1.94 \pm 0.69 b	DL-甲硫氨酸	39.50 \pm 0.05 de	1.13 \pm 1.65 b
甘露醇	46.70 \pm 0.15 abcd	1.90 \pm 0.75 b	苯丙氨酸	38.50 \pm 0.10 e	0.96 \pm 0.59 b
乳糖	46.30 \pm 0.08 bcd	4.00 \pm 1.50 a	丙氨酸	48.70 \pm 0.10 ab	1.48 \pm 0.46 b
山梨醇	45.30 \pm 0.15 cd	1.75 \pm 0.56 b	亮氨酸	42.80 \pm 0.25 cd	0.60 \pm 0.50 b
D-果糖	44.20 \pm 0.10 de	1.79 \pm 0.13 b	酪氨酸	41.70 \pm 0.10 de	3.60 \pm 0.65 a
木糖	41.80 \pm 0.15 e	0.88 \pm 0.13 b	谷氨酸钠	46.00 \pm 0.22 bc	3.40 \pm 0.65 a
鼠李糖	48.20 \pm 0.10 abc	0.73 \pm 0.49 b	甘氨酸	45.80 \pm 0.16 bc	1.48 \pm 0.46 b
麦芽糖	49.30 \pm 0.18 a	1.88 \pm 1.0 b	赖氨酸	40.50 \pm 0.05 de	3.48 \pm 0.07 a
CK(不添加碳源)	47.10 \pm 0.20 abc	0.00 \pm 0.00 c	CK(KNO ₃)	47.20 \pm 0.42 ab	4.94 \pm 0.90 a

著。产孢量明显不同,在以乳糖为碳源的培养基上的产孢量最大,其次为蔗糖、葡萄糖、甘露醇,在不添加碳源的培养基上不产孢。黄芪根腐病优势病菌可不同程度地利用无机氮源和有机氮源,菌落生长直径在蛋白胨、丙氨酸培养基上最大,在其余氮源上菌落直径差异不显著。总体来说对无机氮源利用能力较强。产孢量则以 KNO₃ 为氮源的培养基为最大,含亮氨酸和苯丙氨酸的培养基产孢能力最弱。

2.5 黄芪根腐病优势病原菌的致死温度

从表 4 可知,经 60 $^{\circ}$ C 及以上温度恒温水浴处理 10 min 的菌饼在 PDA 平板上均不再生长,表明病原菌致死温度为 60 $^{\circ}$ C。

表 4 黄芪根腐病优势病原菌致死温度测定结果^①

温度 / $^{\circ}$ C	生长状况
40	+
45	+
50	+
55	+
60	-

①: “+” 成活, “-” 致死。

3 小结与讨论

研究表明,定西黄芪根部腐烂病的优势致病病原菌为腐皮镰刀菌。病原菌在温度为 5 ~ 40 $^{\circ}$ C、pH 为 5 ~ 10 内菌丝均能生长,生长的最适温度为 25 $^{\circ}$ C,最适 pH 为 5 ~ 8。菌丝致死温度为 60 $^{\circ}$ C 恒温 10 min。产孢最适温度为 25 $^{\circ}$ C,5 $^{\circ}$ C 虽能缓慢生长,但不产生孢子。在 pH 为 6 时生长最快,产孢量最高。在全程光照条件下产孢量最多,在全程黑暗条件下菌丝生长最好。说明该菌对环境条件的适应范围较广,菌丝生长和孢子产生的适宜

庄浪县高寒阴湿区蚕豆引种试验初报

马秋叶

(庄浪县农业技术推广中心, 甘肃 庄浪 744600)

摘要: 以当地主栽品种临蚕 6 号为对照, 在庄浪县高寒阴湿区对 6 个蚕豆品种进行了引种试验。结果表明, 青蚕 14 号、临蚕 7 号综合性状优良, 生长势强, 晚熟, 丰产性好, 平均产量分别为 5 000.00、4 909.09 kg/hm², 较对照品种临蚕 6 号分别增产 4.8%、2.9%, 可在庄浪县高寒阴湿区推广种植。对照品种临蚕 6 号综合性状好, 生长势较强, 晚熟, 丰产性较好, 平均产量为 4 772.73 kg/hm², 可继续种植。

关键词: 蚕豆; 新品种; 引种; 试验; 庄浪县

中图分类号: S643.6 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-1463(2018)03-0036-04

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2018.03.010](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2018.03.010)

庄浪县为陇中黄土高原丘陵沟壑区第三副区, 属温带大陆性半湿润季风气候区, 地处北纬 35° 03' 23" ~ 35° 28' 26"。海拔 1 400 ~ 2 857 m, 年均降水量 547.8 mm, 蒸发量是年降水量的 2.6 倍, 年均气温 7.9 °C, 无霜期 142 d, ≥10 °C 活动积温 2 208.8 ~ 2 903.7 °C, 是甘肃省东部主要旱作农业区。蚕豆是庄浪县高寒阴湿区优势作物之一, 主要分布在郑河、永宁、通化、韩店、杨河等关山

高寒阴湿区, 常年播种面积 1 100 hm² 左右, 是当地群众增产增收的第二大产业^[1-5]。但由于品种更新缓慢, 高产优质品种引进少, 致使产量低, 经济收入不高。笔者于 2017 年引进了 6 个蚕豆新品种进行试验, 现将结果初报如下。

1 材料及方法

1.1 供试材料

参试品种共 7 个, 其中青蚕 12 号、青蚕 13

收稿日期: 2017-11-27

作者简介: 马秋叶(1989—), 女, 甘肃庄浪人, 助理农艺师, 主要从事农业技术推广工作。联系电话: (0)18152251636。E-mail: 1028393789@qq.com。

条件及适应范围与甘肃黄芪栽培区的环境条件较为一致, 且能够利用多种单糖、多糖及醇类做碳源和硝酸铵、蛋白胨、甘氨酸、赖氨酸等多种无机氮和有机氮做氮源, 在各种氮源碳源培养基上均能生长, 对营养的要求不是很严格。这是甘肃地区黄芪根腐病近年来发病严重的原因之一。

黄芪根腐病是一种土传病害, 病菌可在土壤中逐年积累。根据黄芪根腐病优势病原菌的生物学特性, 对黄芪根腐病的防治应以预防为主, 综合协调运用以轮作为主的综合措施, 恶化病菌的生态条件, 可减少病菌源数量, 减轻根腐病危害, 提高产量与品质。

参考文献:

- [1] 王国祥, 武伟国, 蔡子平, 等. 氮钾耦合对黄芪种子产量和质量的影响[J]. 甘肃农业科技, 2016(11): 9-14.
- [2] 王琳. 陇西县黄芪地膜育苗密度试验初报[J]. 甘肃农业科技, 2017(8): 59-61.
- [3] 史虎军. 旱地黄芪地膜育苗技术[J]. 甘肃农业科技,

2013(10): 59-60.

- [4] 尚虎山, 刘效瑞, 王兴政. 地面覆盖方式对黄芪育苗的影响[J]. 甘肃农业科技, 2013(10): 53-55.
- [5] BURGESS L W, SUMMERELL B A, BULLOCK S, et al. Laboratory manual for *Fusarium* research (3rd ed.) [M]. Sydney: University of Sydney, 1994: 1-133.
- [6] NELSON P E, TOUSSOUN T A, MARASAS W F O. *Fusarium* species: An illustrated manual for identification [M]. University Park and London: The Pennsylvania State University Park, 1983: 1-193.
- [7] 俞大绂. 植物病理学和真菌学技术汇编: 第 1 卷[M]. 北京: 人民教育出版社, 1963: 419-423.
- [8] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 农业出版社, 1998: 37-155.
- [9] 姜峰, 马艳芝, 客绍英, 等. 唐山地区柴胡根腐病病原菌分离鉴定及生物学特性研究[J]. 河北农业科学, 2017, 21(3): 45-50.
- [10] 赵杰. 山东省烟草镰刀菌根腐病病原及生物学特性的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.

(本文责编: 陈伟)