

百合茎腐病菌生物学特性及药剂筛选

吕凡¹,冯文馨¹,聂江力¹,薛萌琪¹,王勇²,杨利娟²,邵美琪¹,杜蒙蒙¹,裴毅^{1*}

1. 天津农学院园艺园林学院,天津 300392

2. 天津市农业科学院植物保护所,天津 300381

摘要: 确定兰州地区百合鳞茎腐病致病菌种类可为防治兰州地区百合鳞茎腐病提供有力的数据支撑。本试验采用室内创伤鳞片回接法检验病原菌致病性,通过形态学和分子生物学鉴定明确其分类地位,采用菌丝生长速率法探究其生物学特性,利用菌丝生长抑制率法测定11种杀菌剂对该病菌的室内毒力。结果表明:兰州地区百合鳞茎腐病的致病菌为层出镰孢菌(*Fusarium proliferatum*)。该菌的菌丝最适生长培养基为马铃薯琼脂培养基(PA);pH为9;温度为25℃~30℃,致死温度为60℃;光照24h最佳;最佳碳源和氮源分别为4%甘露醇和0.5%甘氨酸。杀菌剂室内毒力结果显示30%丙硫菌唑OD和98%咯菌腈TC对百合鳞茎腐病的病原菌的抑制效果最强,EC₅₀分别是0.015 0 mg·L⁻¹和0.079 7 mg·L⁻¹。综上所述,供试的11种药剂中有10种药剂对层出镰孢菌(*F. proliferatum*)有一定的抑制作用,其中30%丙硫菌唑OD和98%咯菌腈TC作用较强。

关键词: 兰州百合茎腐病;病原菌鉴定;层出镰孢菌;生物学特性;室内毒力测定

中图法分类号: S644.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-2324(2026)02-0345-10

Biological Characteristics and Fungicide Screening of Lily Stem Rot Pathogen

LV Fan¹, FENG Wen-xin¹, NIE Jiang-li¹, XUE Meng-qi¹, WANG Yong²,
YANG Li-juan², SHAO Mei-qi¹, DU Meng-meng¹, PEI Yi^{1*}

1. College of Horticulture and Landscape Architecture/Tianjin Agricultural University, Tianjin 300392, China

2. Plant Protection Institute of Tianjin Academy of Agricultural Sciences, Tianjin 300381, China

Abstract: Determining the pathogenic species causing lily bulb stem rot in the Lanzhou region can provide robust data support for the prevention and control of the disease. This experiment tests the pathogenicity of pathogen using the indoor puncture scale reattachment method, and clarifies the classification of the pathogen through morphological and molecular biology identification. Meanwhile, it explores the biological characteristics of the pathogen using the mycelial growth rate method, and determines the indoor toxicity of 11 fungicides against the pathogen through the mycelial growth inhibition rate method. The results show that the pathogen of lily bulb rot in the Lanzhou area is *Fusarium proliferatum*. The optimal growth medium for its mycelium is PA; the optimal pH is 9; the temperature ranges from 25 °C to 30 °C, with a lethal temperature of 60 °C; continuous light for 24 hours is optimal; and the best carbon and nitrogen sources are 4% mannitol and 0.5% glycine, respectively. The indoor toxicity results of fungicides show that 30% propiconazole OD and 98% fludioxonil TC exhibit the strongest inhibitory effect on the pathogen of Lily bulb rot, with EC₅₀ values of 0.015 0 mg·L⁻¹ and 0.079 7 mg·L⁻¹, respectively. In summary, among the 11 tested medicaments, 10 show a certain inhibitory effect on *Fusarium proliferatum*, among which 30% propiconazole OD and 98% fungicide TC have stronger effects.

Keywords: Lanzhou lily stem rot Disease; pathogen identification; *Fusarium proliferatum*; biological characteristics; indoor toxicity measurement

兰州百合(*Lilium davidii* var. *unicolor*)隶属百合科百合属,生长在海拔2 000 m以上的甘肃地区。其外观洁白如玉、宛若未舒展的白木兰花瓣,被誉为“蔬菜黄金”且含有多种营养成分,如蛋白质、多糖、果胶、维生素和生物碱等;其肉质肥厚

且细腻,纤维少。百合药食同源,可以做为可食用植物制作美味菜肴,也可以做为中药材具有润肺止咳、清火降燥、滋阴养颜等功效。同时兰州百合做为观赏植物,深受到广大消费者的深切喜爱,在花卉市场占据一席之地,市场需求量大。

收稿日期: 2025-04-18

修回日期: 2026-03-08

基金项目: 天津市农业产学研用“揭榜挂帅”项目(GBGG202312);甘肃省科技计划项目(22CX8NE193)

第1作者简介: 吕凡(2000-),女,硕士研究生,研究方向:蔬菜学。E-mail: 3049406480@qq.com

*通讯作者: Author for correspondence. E-mail: peiyee@126.com

百合茎腐病又称为百合枯萎病,是一种典型的土传病害,可造成叶片变黄枯萎,鳞茎变褐直到整株植株死亡,给百合产业的健康发展带来严重危害。据统计,引起百合茎腐病的病原菌多达 47 种,其中有 22 种为病原真菌,多数为镰孢菌^[1],其中有尖孢镰孢菌(*Fusarium oxysporum*)^[2]、茄镰孢菌(*Fusarium solani*)、三线镰孢菌(*Fusarium tricinctum*)^[3]和串珠镰刀菌(*Fusarium moniliform*)^[4]。李润根等首次发现并报道层出镰孢菌可侵染龙牙百合引起百合枯萎病^[5],并对其生物学特性和防控药剂进行筛选。除侵染百合外,层出镰孢菌(*F.proliferatum*)还可引起多种植物形成枯萎病,如皱木耳^[6]、牛膝^[7]、樱

桃^[8]、葡萄^[9]铁皮石斛^[10]等。本文对兰州百合鳞茎茎腐病病原菌 BY3 进行了致病性鉴定,并明确了其分类地位、生物学特性和杀菌剂敏感性,研究结果为百合茎腐病的防治提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

材料:层出镰孢菌(*F. proliferatum*)BY3 由发病的兰州百合鳞茎分离鉴定得到。

健康兰州百合种球:采购于甘肃省兰州市七里河区魏玲乡小山口村兰州百合种植基地。

培养基:培养基及其配方(表 1)。

表 1 培养基配方
Table 1 Medium formulation

培养基类型 Type of culture medium	培养基成分 Composition of culture medium
马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)	马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 20 g, 加水定容至 1 L, pH 自然
马铃薯蔗糖琼脂培养基(PSA)	马铃薯 200 g, 蔗糖 20 g, 琼脂 20 g, 加水定容至 1 L, pH 自然
马铃薯琼脂培养基(PA)	马铃薯 20 g, 琼脂 20 g, 加水定容至 1 L, pH 自然
马铃薯胡萝卜琼脂培养基(PCA)	胡萝卜 25 g, 马铃薯 20 g, 琼脂 20 g, 加水定容至 1 L, pH 6~6.5
燕麦琼脂培养基(OMA)	燕麦 60 g, 琼脂 12.5 g, 加水定容至 1 L, pH 6~6.2
察式培养基(Czapek)	硝酸钠 3 g, 磷酸氢二钾 1 g, 硫酸镁 0.5 g, 氯化钾 0.5 g, 硫酸亚铁 0.01 g, 蔗糖 30 g, 琼脂 18 g, 蒸馏水 1 L, pH 7.0~7.2

供试杀菌剂:22 种药剂均为天津市农业科学院植物保护研究所保存(表 2)。

表 2 杀菌剂
Table 2 Fungicide

杀菌剂 Fungicide	生产厂家 Manufacturer	杀菌剂 Fungicide	生产厂家 Manufacturer
96%咪鲜胺 TC	黑龙江联顺生物科技有限公司	96%噻呋酰胺 TC	山东康乔生物科技有限公司
96.6%甲霜灵 TC	一帆生物科技集团有限公司	25%吡唑醚菌酯 SC	山东亿嘉农化有限公司
97%啶菌酯 TC	黑龙江联顺生物科技有限公司	0.3%四霉素 AS	辽宁微科生物工程有限公司
98%咯菌腈 TC	上海禾本药业股份有限公司	100 万孢子/g 寡雄腐霉菌 WP	捷克生物制剂股份有限公司
93%福美双 TC	天津市农药研究所	200 g/L 氟唑菌酰胺 SC	先正达南通作物保护有限公司
96.5%苯醚甲环唑 TC	江苏优嘉植物保护有限公司	30%丙硫菌唑 OD	安徽久易农业股份有限公司
97.5%戊唑醇 TC	安道麦马克西姆有限公司	450 g/L 三氟吡啶胺 SC	瑞士先正达作物保护有限公司
98%多菌灵 TC	允发化工(上海)有限公司	400 g/L 氟氯醚菌唑 SC	巴斯夫欧洲公司
96%异菌脲 TC	浙江禾本科技股份有限公司	40%己唑醇 SC	上海沪联生物药业(夏邑)股份有限公司
99.83%氟啶胺 TC	山东省联合农药工业有限公司	6%春雷霉素 WP	兴农药业(中国)有限公司
25%氰烯菌酯 SC	江苏省农药研究所股份有限公司	80%乙蒜素 EC	德州祥龙生化有限公司

1.2 病原菌分离纯化及鉴定

1.2.1 病原菌分离纯化 采用组织分离法对兰州百合腐烂病发病鳞茎进行组织分离。从病健交

界处切分 0.5 mm×0.5 mm 的组织块到培养皿中,用 75% 的酒精浸泡 30 s 后用 5% 的次氯酸钠浸泡 2 min 后无菌水冲洗 3~5 次,每皿放置 4~5 个组织

块并将切面与PDA培养基平板接触于25℃恒温培养,3次重复。2~3 d后观察组织块边缘并挑取菌丝接种到新的PDA培养基平板上进行纯化培养,最少需3~5次。纯化后的菌种转移到PDA斜面培养基上4℃保存。

1.2.2 病原菌致病性检测 采用室内创伤鳞片回接法检测BY3的致病性。首先选取新鲜健康的鳞片用清水冲洗10 min,风干后用75%的酒精浸泡30 s再用5%的次氯酸钠浸泡2 min后用无菌水冲洗3~5次,用无菌滤纸吸干水分;然后用无菌接种针在鳞片凹面画“十”字备用;将培养5 d的BY3菌株用打孔器打取直径6 mm的菌饼,紧贴放置于鳞片凹面“十”字处,最后将接种后的鳞片放置于铺有两层无菌滤纸的培养皿中,同时向培养皿中滴加无菌水以保持湿润。设对照组为不接组织块有创伤的鳞片。每个培养皿放置3个鳞片,重复3次。在25℃恒温培养7 d后观察发病症状,将发病后的鳞片再次进行病原菌分离纯化明确致病菌,并与BY3做比对。

1.2.3 病原菌形态学鉴定 将BY3接种到PDA平板上,在25℃恒温培养5 d,利用显微镜观察并拍照记录菌落的形态、颜色、菌丝及孢子形态大小。

1.2.4 病原菌分子生物学鉴定 采用CTAB法提取BY3 DNA,分别采用ITS^[11]和EF-1 α ^[12]法对rDNA-ITS序列、EF序列进行PCR扩增(表3)。PCR反应总体系(20 μ L):2 \times Det PCR MasterMix 10 μ L;正反向引物各0.5 μ L;模板DNA 1 μ L;ddH₂O 8 μ L。扩增程序:94℃预变性3 min,94℃变性30 sec,55℃退火30 sec,72℃延伸1 min,共35个循环;72℃再延伸5 min,4℃保存。PCR产物经琼脂糖凝胶电泳检测后,将目的片段送至公司测序。将测序结果在NCBI数据库进行比对和同源性分析,下载相似性高的基因序列。使用Mega 7软件采用邻接法(Neighbour-Joining, NJ)构建多基因联合(顺序串接rDNA-ITS-EF-1 α 基因序列)系统发育树。

1.3 病原菌的生物学特性

1.3.1 不同培养条件对菌丝生长的影响 (1)不同培养基:参照韦唯等^[13]的方法设置5种培养基(PDA、PCA、PSA、OMA、PA)。(2)不同温度:分别在5、10、15、20、25、30、35、40℃条件下恒温培养;参考曹秋丽等^[14]的方法在灭过菌的2 mL离

表3 本研究所用引物
Table 3 Primers used in study

引物 Primer	引物序列 Primer sequence
ITS1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCCC-3'
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'
EF1a-F	5'-ATGGGTAAGGAAGACAAGAC-3'
EF2a-R	5'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3'

心管中加入1 mL的无菌水放置直径6 mm的BY3菌饼,在水浴加热锅中分别加热至不同温度(45、50、55、60、65、70、75、80℃)10 min,冷却至室温后放入PDA培养基,确定菌丝致死温度。(3)不同光周期:设置3个光照水平(24 h光照、24 h黑暗、12 h光照12 h黑暗)。(4)不同pH:参考赵倩等^[15]的方法,分别用1 mol·L⁻¹ NaOH和1 mol·L⁻¹ HCl将PDA培养基调至5个pH水平(5,6,7,8,9,10)。

上述试验均是将直径6 mm的BY3菌饼转接到对应的培养基中,重复4次,25℃恒温培养4 d后测其增长半径。

1.3.2 碳源和氮源对菌丝生长的影响 (1)筛选最适碳源和氮源:以PDA为基础培养基添加不同的碳源和氮源。参考苏文文^[16]的方法,碳源与培养基的比为1:50;氮源与培养基的比为1:250。设置6种碳源,分别为葡萄糖、蔗糖、甘露醇、乙醇、肌醇、可溶性淀粉;6种氮源,分别为硫酸铵、牛肉膏、蛋白胨、尿素、甘氨酸、硫酸钾。将配好的各种培养基灭菌后倒皿备用,将直径6 mm的BY3菌饼放置于培养基中央,重复4次,在25℃恒温培养4 d,测其增长半径,确定最佳碳源和氮源。

(2)确定碳源和氮源最适浓度:a、以不加蔗糖的察氏培养基为基础培养基,设置7个碳源浓度水平(1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%);b、以不加NaNO₃的察氏培养基为基础培养基,设置7个氮源浓度水平(0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%);接入直径6 mm的BY3菌饼,重复4次,在25℃恒温培养4 d,测其增长半径,依此确定碳源和氮源的最适浓度。

1.4 病原菌对杀菌剂的敏感性测定

(1)筛选抑菌率达50%的杀菌剂:采用菌丝生长抑制率法测定22种杀菌剂对BY3的室内毒力。将22种杀菌剂用去离子水溶解,难溶于水

的杀菌剂添加少量二甲基亚砷溶解,可加微量吐温 80 以增加溶解性,随后分别配制成 10 mg·L⁻¹ 的工作液。随后将工作液与 PDA 培养基按 1:9 混匀制成含药培养基,将 BY3 菌饼贴放置培养皿中,设置无菌水:PDA 培养基=1:9 为对照组,重复 4 次。在 25 °C 恒温培养 4 d。测其增长半径,计算抑菌率,筛选出对 BY3 抑菌率达 50% 的杀菌剂。

抑菌率(%)=(处理组菌落增长半径-对照组菌落增长半径)/对照组菌落增长半径×100%

(2)设置杀菌剂浓度:采用上步的方法将筛选出的杀菌剂配置工作液后用无菌水按照表 4 配为所需浓度,与培养基按上步比例混合制成含药培养基,对照组为不含杀菌剂的培养基,重复 4 次。将直径 6 mm 的 BY3 菌饼贴放在培养基上,在 25 °C 恒温培养 4 d。测其增长半径。

表 4 杀菌剂浓度设置
Table 4 Concentration settings of fungicide

杀菌剂 Fungicide	有效成分浓度/(mg/L) Effective ingredient concentration	杀菌剂 Fungicide	有效成分浓度/(mg/L) Effective ingredient concentration
96%咪鲜胺 TC	10、1、0.1、0.01、0.001	25%吡唑醚菌酯 SC	50、20、10、1、0.1
97%嘧菌酯 TC	50、20、10、1、0.1	0.3%四霉素 AS	100、50、25、10、1
98%咯菌腈 TC	20、10、1、0.1、0.01	200 g/L 氟唑菌酰胺 SC	20、10、1、0.1、0.01
96.5%苯醚甲环唑 TC	20、10、1、0.1、0.01	30%丙硫菌唑 OD	10、1、0.1、0.01、0.001
97.5%戊唑醇 TC	20、10、1、0.1、0.01	400 g/L 氯氟醚菌唑 SC	20、10、1、0.1、0.01
99.83%氟啶胺 TC	50、20、10、1、0.1	25%氰烯菌酯 SC	20、10、1、0.1、0.01

将药剂浓度转化为浓度对数 X,抑菌率转化成概率值,进行回归分析,得出药剂毒力回归方程^[17]。求得独立回归方程 $Y=a+bX$,得出药剂对 BY3 有效抑制中浓度 EC₅₀ 及相关系数 R²。

1.5 数据分析

利用 SPSS17.0 进行数据统计分析,采用 Duncan 进行差异性显著分析 (P<0.05)。利用 Excel 绘图。

2 结果与分析

2.1 病原菌分离纯化及致病性检测

采用组织分离法从发病鳞茎分离纯化出病原菌 BY3(图 1A、图 3A)。随后采用室内创伤鳞片回接法确定该菌具有致病性。接种 BY3 菌块 3 d 后百合鳞茎出现轻微褐色并且逐步扩大,在

第 6 d 时病斑半径超过组织块半径,对照组不发病(图 1B、C)。随后从发病百合鳞茎的病健交界处分离得到与接种病菌 BY3 形态学特征一致的菌落,且经分子生物学鉴定采用通用引物 ITS1/ITS4 对病原菌 BY3 进行测序后得到 750 bp 的片段(图 2),在 NCBI 上进行 BLAST 比对,鉴定菌株为层出镰孢菌 (*F. proliferatum*)。由此确定 BY3 具有致病性。

2.2 病原菌形态学鉴定

菌株 BY3 在 PDA 培养基培养 4 d,菌落呈近圆形,边缘齐整,菌丝为白色且较为松散(图 3A),培养初期时菌落呈现白色,中期菌落中心会产生微粉色或者紫色(图 3B);菌丝中有近似球状物质(图 3C);该菌分生孢子较多,但大型的分生孢子较少,无色,通常近似镰刀型且细长,大多数具有

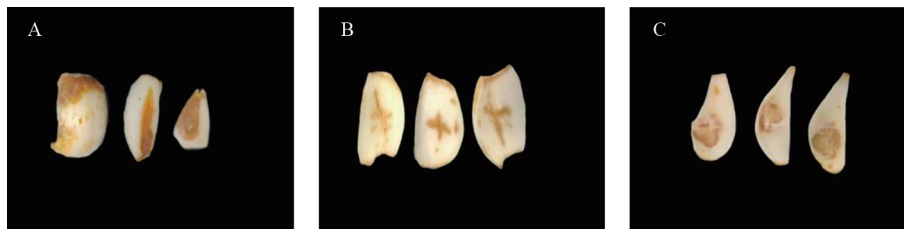


图 1 兰州百合鳞茎发病症状

Fig. 1 Symptoms of Lily bulb disease in Lanzhou

注:A.发病鳞茎 B.对照组 C.试验组。

Note: A. Pathogenic bulb B. Control group C. Infected scales.

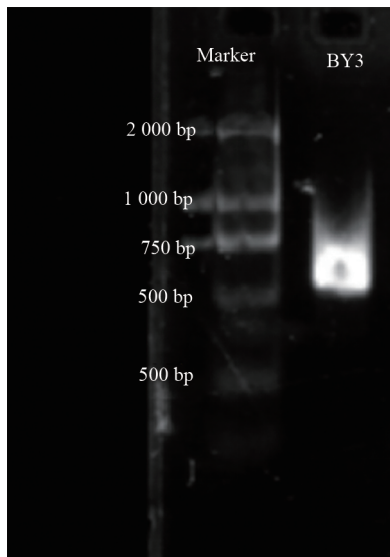


图 2 真菌 ITS 的扩增
Fig. 2 Amplification of fungal ITS

3~5 个隔膜,大小为(26.4~39.8 μm)×(3.8~8.7 μm),平均为 33.3 μm×6.25 μm;小型的分生孢子无色,通常椭圆形长卵形或肾形,一般 0~2 个隔膜,大小为(1.30 μm~8.52 μm)×(3.57 μm~15.58 μm),平均为 4.91 μm×9.575 μm(图 3D)。该菌种的形态特征与《常见镰刀菌鉴定指南》^[18]中镰孢菌属的描述相似。

2.3 病原菌分子生物学鉴定

对菌株 BY3 的 DNA 进行扩增测序后将结果上传至 NCBI 数据库,并且在 BLAST 上进行比对。测序后的目标基因为 1 000 bp 的片段,在 BLAST 上的同源性高达 99.26%,采用 N-J 法构建系统发育树,结果发现 BY3 与 *F. proliferatum* 同源性一致,登录号为 OQ160305.1。最终鉴定菌株为层出镰孢菌(*F. proliferatum*)(图 4)。

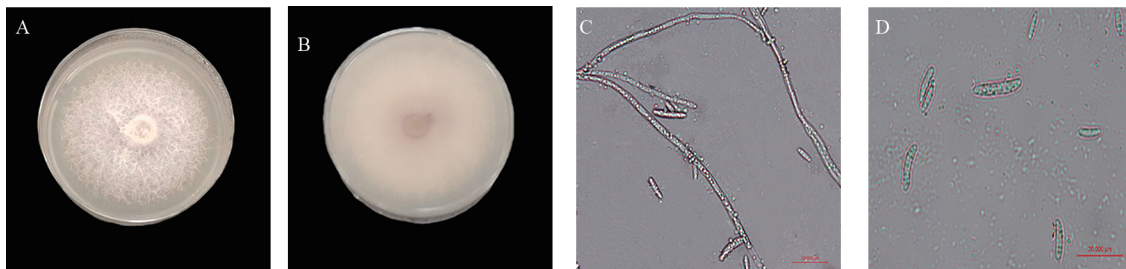


图 3 菌落特征和致病菌菌丝体和分生孢子的显微镜观察

Fig. 3 Colony features and microscopic observation of mycelia and conidia of the pathogenic bacteria

注:A~D 分别是层出镰孢菌菌落形态正面、反面;菌丝形态(40X);小型孢子形态(40X)。

Note: A~D represent the front and back colony morphology of *Fusarium proliferatum*, respectively; mycelial morphology (40X); small microconidium (40X).

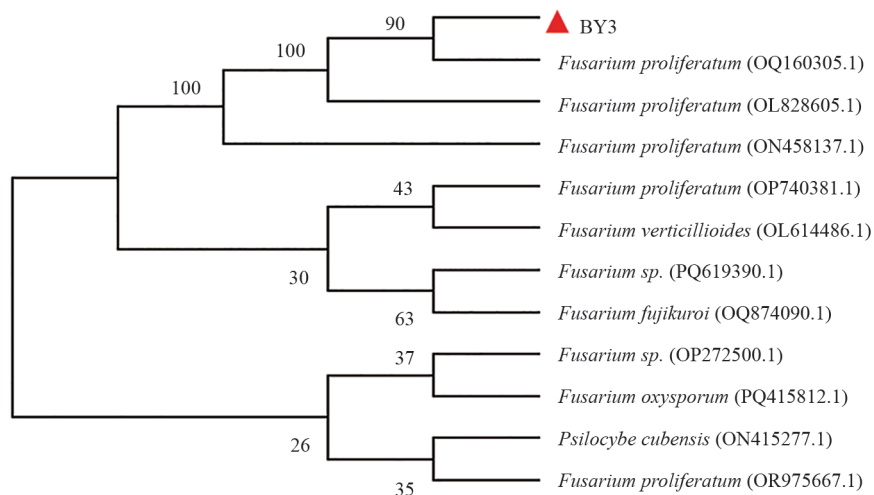


图 4 基于 ITS 和 EF 基因构建的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree constructed based on ITS and EF sequences

2.4 病原菌的生物学特性研究

2.4.1 不同培养条件对菌丝生长的影响 在 5 种

不同的培养基中最适宜 BY3 生长的培养基是马铃薯琼脂培养基(PA),平均增长半径为

21.938 mm, 显著高于其他培养基; 其次是马铃薯蔗糖琼脂培养基 (PSA), 平均增长半径是 18.938 mm; 最不适宜的培养基是马铃薯胡萝卜

琼脂培养基 (PCA) 和燕麦琼脂培养基 (OMA), 不仅平均增长半径生长缓慢, 而且菌丝生长极为稀疏 (图 5A)。

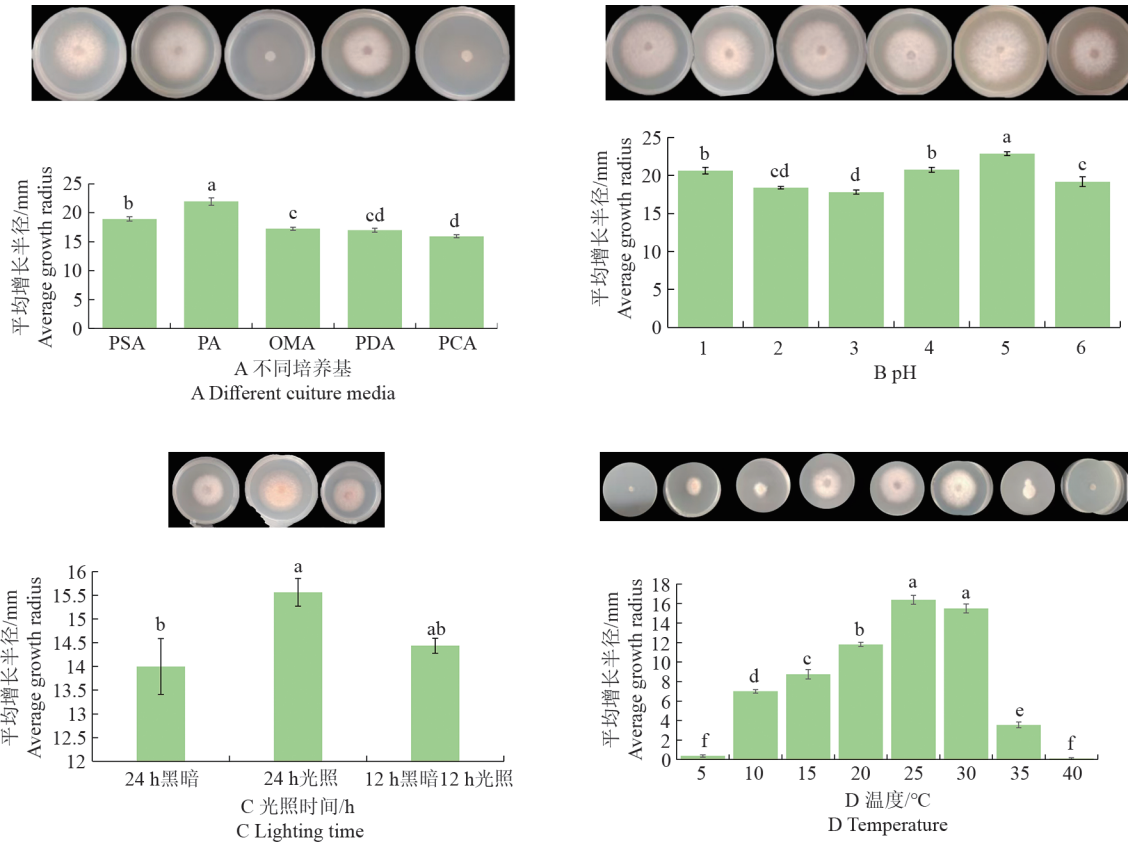


图 5 层出镰孢菌生物学特性

Fig. 5 Biological characteristics of *Fusarium proliferatum*

注: A. 培养基对层出镰孢菌的影响 B. pH 对层出镰孢菌的影响 C. 光照对层出镰孢菌的影响 D. 温度对层出镰孢菌的影响 不同小写字母表示各处理间差异显著 ($P < 0.05$)。同图 6-图 7。

Note: A. Medium effects on *Fusarium proliferatum* B. PH effects on *Fusarium proliferatum* C. Light effects on *Fusarium proliferatum* D. Temperature effects on *Fusarium proliferatum* Different lowercase letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$). The same as Fig. 6-7.

BY3 适宜生长在偏碱性的环境, pH 为 9 时最适菌株生长, 平均增长半径是 22.875 mm (图 5B)。

在 24 h 光照环境中最适菌株 BY3 生长, 平均增长半径是 15.563 mm, 其次是 12 h 黑暗 12 h 光照, 在 24 h 黑暗的环境中菌丝生长受到抑制 (图 5C)。

BY3 在 25 °C~30 °C 时最适菌株生长, 平均增长半径是 15.500~16.375 mm, 显著高于其他处理组。在 5 °C 和 40 °C 时菌丝生长受到抑制, 平均增长半径分别是 0.125 mm 和 0.375 mm。后续试验得出菌丝的致死温度是 60 °C (图 5D)。

2.4.2 碳源和氮源对菌丝生长的影响 最适宜 BY3 生长的碳源是甘露醇, 其增长半径是 22.750 mm, 显著高于其他处理组。随着甘露醇浓度的增加, BY3 平均增长半径先升高后下降, 最适宜生长的浓度是 4%, 显著高于其他处理组, 所以最适碳源为 4% 甘露醇 (表 5、图 6)。

最适宜 BY3 生长的氮源是甘氨酸, 其增长半径是 18.625 mm, 显著高于其他处理组。随着甘氨酸浓度的增加, BY3 平均增长半径先升高后下降, 最适宜生长的浓度是 0.5%, 显著高于其他处理组, 所以最适氮源为 0.5% 甘氨酸 (表 6、图 7)。

表 5 碳源对层出镰孢菌的影响

Table 5 Effects of carbon source on *Fusarium proliferatum*

碳源	均值±标准差
Carbon source	Mean±standard deviation
葡萄糖	20.375±0.554 b
蔗糖	18.625±0.239 c
甘露醇	22.75±0.144 a
乙醇	15.125±0.554 e
肌醇	19.875±0.239 b
可溶性淀粉	17.125±0.315 d

注:表中数据为均值±标准差,同各指标数据间不同小写字母表示各处理间差异显著($P<0.05$)。同表 6-表 7。

Note: The data in the table are the mean±standard deviation, and different lowercase letters in the same column of data for the same indicator and the same period indicate significant differences between treatments ($P<0.05$). The same as Table 6-7.

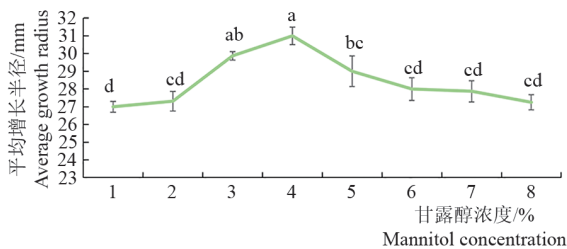
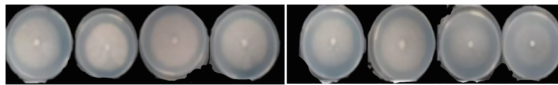


图 6 甘露醇浓度对层出镰孢菌的影响

Fig. 6 Effect of mannitol concentration on *Fusarium proliferatum*

表 6 氮源对层出镰孢菌的影响

Table 6 Effects of nitrogen source on *Fusarium proliferatum*

氮源	均值±标准差
Nitrogen source	Mean±standard deviation
硫酸铵	14.375±0.427 d
牛肉膏	15.688±0.277 c
蛋白胨	17.563±0.258 b
尿素	16.75±0.144 b
甘氨酸	18.625±0.239 a
硝酸钾	15.25±0.323 c

注:表中数据为均值±标准差,同各指标数据间不同小写字母表示各处理间差异显著($P<0.05$)。同表 6-表 7。

Note: The data in the table are the mean±standard deviation, and different lowercase letters in the same column of data for the same indicator and the same period indicate significant differences between treatments ($P<0.05$). The same as Table 6-7.

2.5 病原菌对杀菌剂的敏感性测定

对 BY3 的抑制效果大于 50% 的药剂有 96% 咪鲜胺、97% 啞菌酯等 11 种药剂,其中抑制效果最佳的是 96% 咪鲜胺和 30% 丙硫菌唑,抑菌率

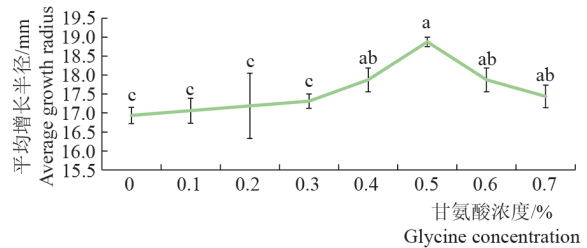


图 7 甘氨酸浓度对层出镰孢菌的影响

Fig. 7 Effects of glycine concentration on *Fusarium proliferatum*

分别为 96.045 0%, 94.855 0%; 其次是 25% 氰烯菌酯悬浮剂,抑制率为 75.977 5%。剩余药剂中抑制效果最不好的是 98% 多菌灵,抑制率为 11.725 0%,随后是 80% 乙蒜素乳油和 6% 春雷霉素可湿性粉剂,抑制率分别为 12.545 0%、13.577 5%。将抑制率高于 50% 的 11 种试剂稀释为适宜浓度,以求毒力回归方程(表 7)。

由室内毒力测定结果可以看出,除了 97% 啞菌酯剂外,其余 10 种杀菌剂都对百合鳞茎腐烂病的致病菌层出镰刀菌有较强的抑菌活性。97% 啞菌酯的 EC_{50} 为 $21.3107 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其余 10 种杀菌剂的 EC_{50} 为 $0.0150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\sim 5.4121 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,指标值由小到大的顺序是 30% 丙硫菌唑<98% 咯菌腈<96.5% 苯醚甲环唑<96% 咪鲜胺<99.83% 氟啶胺<25% 氰烯菌酯悬浮剂<97.5% 戊唑醇<400 g/L 氯氟醚菌唑悬浮剂<200 g/L 氟唑菌酰胺悬浮剂<25% 吡唑醚菌酯悬浮剂。抑菌活性最大的是 30% 丙硫菌唑,抑菌活性最小的是 25% 吡唑醚菌酯悬浮剂。结果表明这 10 种杀菌剂均可作为防治百合鳞茎腐烂病的候选杀菌剂(表 8)。

3 讨论

镰孢菌是引起百合茎腐病的主要病原菌且具有较强的致病力^[19]。镰孢菌属在形态特征方面易受到培养条件和环境条件的影响,且在自然界中分布广泛、种类繁多,给菌种的鉴定带来诸多困难。有 4 种方法能够在镰孢菌属内鉴定到“种”水平,分别是核糖体基因转录间隔区 ITS、翻译延伸因子 EF-1 α 、 β -微管蛋白 Tub 和 RNA 聚合酶 II 第二大亚基 RPB2 基因序列^[20-22]。本试验

表 7 22 种杀菌剂对层出镰孢菌的抑制作用
Table 7 Inhibitory effects of 22 fungicides on *Fusarium proliferatum*

杀菌剂 Fungicide	抑菌率/% Inhibition rate	杀菌剂 Fungicide	抑菌率/% Inhibition rate
96%咪鲜胺 TC	96.045 0±2.646 6 a	96%噻呋酰胺 TC	24.000 0±8.725 8 fg
96.6%甲霜灵 TC	20.190 0±11.496 7 g	25%吡唑醚菌酯 SC	53.552 5±6.790 4 d
97%啞菌酯 TC	53.677 5±6.945 8 d	0.3%四霉素 AS	20.057 5±9.564 4 g
98%咯菌腈 TC	61.220 0±7.044 1 cd	100 万孢子/g寡雄腐霉菌 WP	16.230 0±13.375 3 g
93%福美双 TC	24.337 5±1.744 6 fg	200g/L 氟唑菌酰胺 SC	72.897 5±5.590 0 bc
96.5%苯醚甲环唑 TC	68.445 0±5.729 4 bc	30%丙硫菌唑 OD	94.855 0±0.343 9 a
97.5%戊唑醇 TC	67.885 0±6.726 4 bc	450 g/L 三氟吡啶胺 SC	25.512 5±11.707 0 fg
98%多菌灵 TC	11.725 0±8.618 9 g	400 g/L 氯氟醚菌唑 SC	72.332 5±3.174 3 bc
96%异菌脲 TC	39.447 5±6.091 5 e	40%己唑醇 SC	35.480 0±9.175 6 ef
99.83%氟啶胺 TC	53.642 5±8.300 7 d	6%春雷霉素 WP	13.577 5±13.579 1 g
25%氰烯菌酯 SC	75.977 5±10.628 9 b	80%乙蒜素 EC	12.545 0±7.926 9 g

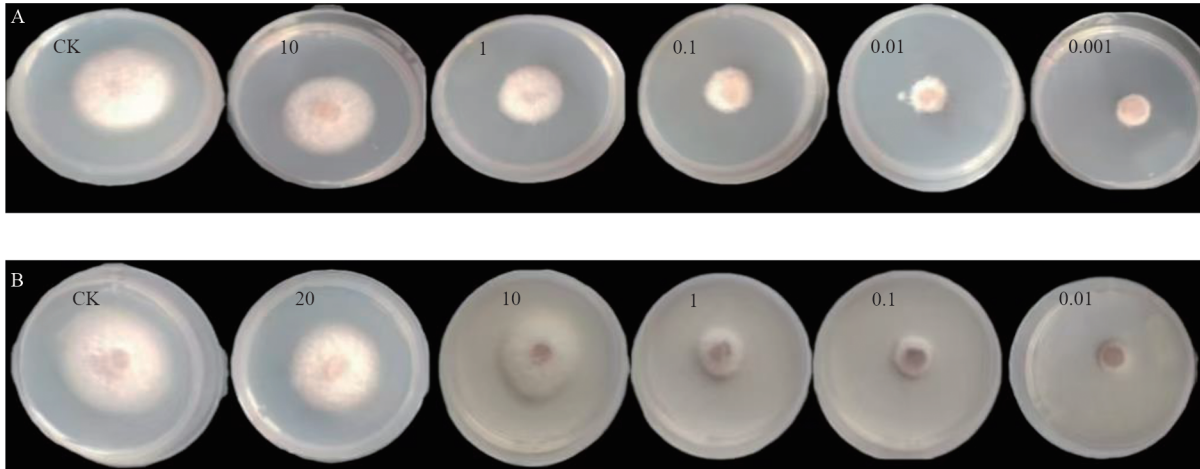


图 8 杀菌剂对层出镰孢菌的抑制效果图

Fig. 8 Inhibitory effects of fungicides on *Fusarium proliferatum*

注:A.30%丙硫菌唑B.98%咯菌腈;A、B 第一个图均为对照组。

Note: A. 30% propiconazole B. 98% carbinol;The first image in both group A and group B is the control group.

表 8 11 种杀菌剂对层出镰孢菌的抑制作用
Table 8 Inhibitory effects of 11 fungicides on *Fusarium proliferatum*

杀菌剂 Fungicide	毒力回归方程 Regression equation	相关系数 R^2 Correlation coefficient	抑制中浓度 $(EC_{50})/(mg \cdot L^{-1})$ InhibitoryInhibit medium concentration
96%咪鲜胺 TC	$y=5.361 8+0.564 0x$	0.998	0.228 3
97%啞菌酯 TC	$y=3.808 3+0.897 1x$	1	21.301 7
98%咯菌腈 TC	$y=5.437 9+0.398 6x$	0.995	0.079 7
96.5%苯醚甲环唑 TC	$y=5.373 9+0.545 0x$	0.994	0.206 1
97.5%戊唑醇 TC	$y=5.210 4+0.905 9x$	0.999	0.585 7
99.83%氟啶胺 TC	$y=5.330 8+0.562 7x$	0.992	0.258 3
25%氰烯菌酯 SC	$y=5.345 6+0.996 3x$	0.998	0.438 8
25%吡唑醚菌酯 SC	$y=4.282 4+0.978 5x$	0.992	5.412 1
200 g/L 氟唑菌酰胺 SC	$y=4.895 1+0.936 1x$	0.997	1.294 4
30%丙硫菌唑 OD	$y=5.835 1+0.457 8x$	1	0.015 0
400 g/L 氯氟醚菌唑 SC	$y=4.999 9+0.900 0x$	0.998	1.000 1

经核糖体基因转录间隔区 ITS 和翻译延伸因子 EF-1 α 鉴定,结果表明兰州百合茎腐病致病菌为层出镰孢菌。本试验从生物学特性和室内毒力试验这两个方面为该菌的防治提供理论依据。

结果表明该菌在马铃薯琼脂培养基上(PA)生长较好,与前人研究差异较大^[23]这可能是层出镰孢菌在不同地区不同环境吸收利用的营养物质差异较大。在 pH5~10 的环境中均可生长,对酸碱度不敏感,最适 pH 为 9,更适宜生长在碱性环境中。在 24 h 光照有利于 BY3 的生长,这与吕延超等对杧果畸形病层出镰孢菌的研究结果一致^[24]。其最适生长温度为 25~30 °C,致死温度为 60 °C。在细胞中,碳源和氮源是真菌生长所必需的营养元素。碳源供应真菌生长和繁殖所需的能量,BY3 的最佳碳源为 4% 的甘露醇,是一种有机碳源;真菌蛋白酶的产生受氮源的影响^[25],BY3 的最佳氮源为 0.5% 的甘氨酸,也是有机氮源,这表明该菌偏好有机碳源和氮源且与陈星星等对卷丹百合层出镰孢菌的研究结果类似^[23]。在百合茎腐病的防治中,唑类、甲酯类、酰胺类的效果最好^[26]。朱海燕等^[27]研究结果表明,12.5% 烯唑醇 WP、10% 苯醚甲环唑 WG、腈菌。福美双 WP、5% 己唑醇 ME、3% 中生菌素 WP 对百合鳞茎腐烂病原菌尖孢镰孢菌的抑菌作用较强;豇豆枯萎病病原菌的研究结果表明咪鲜胺的抑菌效果最好,EC₅₀ 为 0.086 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[28]。在本研究中,97% 啞菌酯的 EC₅₀ 为 21.301 7 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,对层出镰孢菌的抑制效果不明显,由于它对镰孢菌孢子萌发抑制效果好,不宜使用生长速率法判定抑菌效果,后续需孢子萌发试验进一步确定其抑菌效果。层出镰孢菌对 30% 丙硫菌唑和 98% 咯菌腈的敏感性更高,EC₅₀ 分别是 0.015 0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 0.079 7 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,可以对室内百合鳞茎茎腐病起一定作用,并为田间防治的药剂筛选提供理论基础。后续将对筛选出的药剂进行田间防治效果试验,筛选出对百合鳞茎茎腐病防治效果良好的药剂。

本文从生物学特性和室内毒力试验这两个方面对层出镰孢菌(*F. proliferatum*)进行了研究。明确其最佳生长条件并通过室内筛选有效的杀菌剂,对兰州百合的生产扩张具有重要的意义。由于在田间种植时会受到温度、气候、土壤等多

种因素的影响,所以室内毒力试验还需田间再测试,明确在该地是否可以采用该环境条件和杀菌剂进行百合的种植和防治。因此在各地种植时,需因地制宜筛选出适宜的防治药剂。以明确所用药剂对百合茎腐病的实际防治效果,为百合茎腐病的防治提供科学依据。

4 结论

通过对菌株形态进行观察和分子生物学进行鉴定并且结合系统发育树进行分析,明确百合茎腐病致病菌是层出镰孢菌(*F. proliferatum*),其菌丝适宜生长条件:最适培养基为 PA;最适 pH 为 9;光照 24 h;温度 25 °C~30 °C,致死温度 60 °C;最佳碳源和氮源分别为 4% 的甘露醇、0.5% 的甘氨酸。通过菌丝生长速率法测定得出对百合鳞茎茎腐的病原菌抑制效果较好的是 30% 丙硫菌唑和 98% 咯菌腈。

参考文献

- [1] 田丽丽. 甘肃省切花百合病害及种球包衣剂的研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2008:2-3.
- [2] 姜玉玲. 百合 3 种病害病原菌鉴定及其生物农药混配增效作用研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2021:71.
- [3] 牟晓玲,李潇潇,师桂英,等. 兰州百合枯萎病病原菌鉴定及罹病组织超微结构观察[J]. 植物保护学报,2022,49(04):1111-1118.
- [4] 赵彦杰,宴文武,周蓉. 食用百合茎腐病的发生规律及综合防治[J]. 安徽农业科学,2005,33(12):2294-2295.
- [5] 李润根,程华,张鹏,等. 百合枯萎病菌 *Fusarium proliferatum* 的鉴定、生物学特性及抑菌药剂筛选[J]. 基因组学与应用生物学,2018,37(09):3844-3851.
- [6] 马明,冯云利,孙达锋,等. 皱木耳白毛病病原菌的分离与鉴定[J]. 中国食用菌,2024,43(02):110-113+124.
- [7] 王飞,杨瑾,李雪梦,等. 牛膝枯萎病病原菌鉴定、生物学特性及防治药剂筛选[J]. 植物病理学报,2024,54(01):49-58.
- [8] 戴启东,周朝辉,艾佳音,等. 辽宁省甜樱桃叶枯病病原菌鉴定[J]. 中国果树,2022(09):16-19+109.
- [9] 王旭楠,董文静,甄志先. 温室中葡萄根腐病的生防菌筛选及应用[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2024,44(05):78-87.
- [10] 刘惠芳,田旭军,王晓敏,等. 7 种生物药剂对铁皮石斛层出镰孢菌的生物活性及其协同作用[J]. 河南农业科学,2023,52(06):81-88.
- [11] Cai L, Hyde K D, Taylor P W J, et al. A polyphasic

- approach for studying *Colletotrichum* [J]. Fungal Diversity,2009,39(1):183-204.
- [12] O'Donnell K, Kistler H C, Cigelnik E, et al. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies[J]. Proc Natl Acad Sci USA,1998,95(5): 2044-2049.
- [13] 韦唯,任亚峰,李冬雪,等. 茶树叶部病害病原菌 *Phoma segeticola* var.*camelliae* 的生物学特性研究[J]. 中国植保导刊,2018,38(12):14-19.
- [14] 曹秋丽,尹群,刘俊涛,等. 无患子‘粤硕菩提’叶斑病病原菌鉴定及其生物学特性[J]. 植物保护,2025,51(02):72-81.
- [15] 赵倩,马振,杨若璇,等. 1株祁连山野生毛头鬼伞菌株鉴定及生物特性研究[J]. 食用菌,2024,46(03): 31-36.
- [16] 苏文文,罗英,李苇洁,等. 贵州省猕猴桃果实病害鉴定及病原菌生物学特性研究[J]. 中国南方果树, 2025,54(01):164-172.
- [17] 谭智勇,谌潇雄,李亚娟,等. 十五种药用植物水提取物对层出镰刀菌的抑制活性[J]. 热带农业科学,2023, 43(04):43-46.
- [18] 王拱辰,郑重,叶琪明,等. 常见镰刀菌鉴定指南[M]. 北京:中国农业科技出版社,1996:1- 97.
- [19] Dean R,Kan J,Pretorius Z A,et al.The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology[J].Molecular Plant Pathology,2012,13(7):414-430.
- [20] Ninet B, Jan I, Bontems O, et al. Molecular identification of *Fusarium* species in onychomycoses [J].Dermatology,2005,210 (1):21-25.
- [21] Visentin I, Tamietti G, Valentini D, et al. The ITS region as a taxonomic discriminator between *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* [J]. Mycological Research,2009,113(10):1137-1145.
- [22] Chehri K. Molecular identification of pathogenic *Fusarium* species,the causal agents of tomato wilt in western Irani [J]. Journal of Plant Protection Research,2016,56(2):143-148.
- [23] 陈星星,杨梦琳,郝馨珂,等. 卷丹鳞茎腐烂病菌的生物学特性及防病药剂筛选[J]. 中国植保导刊,2024, 44(08):15-20+62.
- [24] 吕延超,蒲金基,谢艺贤,等. 杧果畸形病原菌的生物学特性的初步研究[J]. 热带作物学报,2010,31(03):453-456.
- [25] Sun Y, Qian Y C, Zhao J X, et al. Extracellular protease production regulated by nitrogen and carbon sources in *Trichoderma reesei* [J]. Journal of Basic Microbiology, 2021,61(2):122-132.
- [26] 施祖国. 植物镰刀菌枯萎病防治的研究进展[J]. 现代农业科技,2016(20):102-103.
- [27] 朱海燕,夏花,高必达. 隆回县食用百合鳞茎腐烂病菌生物学特性及室内防治药剂筛选[J]. 湖南农业科学,2012(13):81-84.
- [28] 张馨予,洪丹露,冯婉珍,等. 豇豆枯萎病病原种类鉴定及防控药剂筛选[J]. 福建农业学报,2025,40(01): 71-80.