

兰州百合枯萎病病原菌侵染的解剖学机理

魏百弘, 蒋玉明, 赵娇娇, 李艺敏, 叶福金, 牟晓玲

(甘肃农业大学应用技术学院, 甘肃 临洮 730500)

摘要: 近年来, 甘肃省随着百合栽培面积的不断增长, 枯萎病发病率越来越高, 严重影响百合的产量和品质。通过对兰州百合植株进行不同接菌处理, 对其发病率、病情指数进行了分析, 并切片观察了兰州百合枯萎病发病前后病原菌侵染的解剖机理。结果表明, 伤根+鳞茎盘刺伤+灌根处理更能加剧接菌百合植株的病情。相比较于对照不接菌处理, 接菌处理后发病的兰州百合, 其根、茎、叶、鳞叶的内部结构都有了不同程度的破坏, 淀粉粒含量明显减少, 甚至没有淀粉粒贮藏。

关键词: 兰州百合; 镰刀菌; 枯萎病; 显微结构

中图分类号: S644.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2020)05-0020-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2020.05.006

Anatomy Mechanism of Lanzhou Lily Infected by *Fusarium wilt*

WEI Baihong, JIANG Yuming, ZHAO Jiaojiao, LI Yimin, YE Fujin, MOU Xiaoling

(College of Applied Technology, Gansu Agricultural University, Lintao Gansu 730500, China)

Abstract: In recent years, with the increasing area of lily cultivation in Gansu province, the incidence of *Fusarium wilt* is getting higher and higher, which seriously affects the yield and quality of lily. The morbidity and disease index of Lanzhou lily plants were studied through different inoculation treatments of Lanzhou lily plants. The anatomical mechanism of the infection of the pathogens of *Fusarium wilt* of Lanzhou lily was studied by section observation. The results show that wounded roots + bulb disk stabbed+ irrigated root treatments could aggravate the disease of lily recipient. Compared with the control group without inoculation, the internal structure of the root, stem, leaf, and scale of Lanzhou lilies after the *Fusarium wilt* had been damaged to different degrees, the content of starch granules was significantly reduced, and even no starch granules were stored.

Key words: Lanzhou lily; *Fusarium*; *Fusarium wilt*; Microstructure

百合是百合科百合属的植物。兰州百合属于川百合变种, 因个大、色白、肉厚、味甜, 是我国食用百合的最佳品种^[1-4], 配药可润肺止咳, 宁心安神, 且百合花色鲜艳, 栽培可供观赏。近年来, 兰州百合栽培面积不断增加, 枯萎病发病率越来越高, 严重影

响了兰州百合的产量和质量。前人对兰州百合枯萎病的研究多集中在病原菌、根系分泌物、自毒物质等研究方面^[5-20], 对发病前后植株内部结构变化的研究较少^[21-23]。我们结合甘肃农业大学 SRTP 项目, 对兰州百合枯萎病病原菌侵染的解剖学机理进行了研

收稿日期: 2020-01-06; 修订日期: 2020-03-15

基金项目: 甘肃农业大学2018年SRTP项目(20181904)。

作者简介: 魏百弘(1997—), 女, 甘肃庄浪人, 本科在读, 研究方向为植物生理。联系电话: (0)15693284810。

通信作者: 牟晓玲(1973—), 女, 甘肃临洮人, 高级讲师, 主要从事植物学、植物生理学教学和研究工作及蔬菜栽培生理研究工作。联系电话: (0)18193253495。Email: 1282363911@qq.com。

究, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 供试材料

指示作物兰州百合 (*Lilium davidii* var. *unicolor*)、供试病原菌尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*), 均由甘肃农业大学应用技术学院提供。

1.2 试验方法

参考他人的方法^[24-25], 试验采用浸根、刺伤和灌根相结合的接种方法。试验共设4个处理, 分别为处理1, 伤根(当90%的兰州百合植株株高达到10 cm时, 剪去兰州百合的部分根尖, 在浓度为 10^7 个孢子/mL的菌液中浸泡30 min)+灌根(将接菌处理过的植株再次栽种于基质中, 每钵用浓度为 10^7 个孢子/mL的菌液10 mL灌根); 处理2, 伤根(同上)+鳞叶刺伤(用在浓度为 10^7 个孢子/mL的菌液中浸泡过的医用注射针头, 在百合鳞叶的3个不同部位分别进行刺伤)+灌根(同上); 处理3, 伤根(同上)+鳞茎盘刺伤(用在浓度为 10^7 个孢子/mL的菌液中浸泡过的医用注射针头, 在百合鳞茎盘的3个不同部位分别进行刺伤)+灌根(同上); 处理4, 空白对照(CK), 不接菌。每处理均栽植35钵, 重复3次。

1.2.1 接菌后发病情况观测 百合植株接菌培养后, 前15 d每天观察、统计并记录发病情况。以后每15 d记录1次。根据统计结果, 参考他人在马铃薯上进行的病情分级标准^[26], 将百合植株发病等级划分为5级(表1)。计算各处理的发病率、病情指数。

发病率=(发病苗数/供试总苗数)×100%

病情指数(DI)=[\sum (病级苗数×病级数值)]/(总苗数×最高病级数值)×100

1.2.2 百合发病前后的显微观测 将发病前后兰州百合的根、茎、叶、鳞叶分别进行取材做徒手简易切片、石蜡切片, 并进行显微解剖观察。

1.3 数据处理

试验数据采用Excel 2016软件处理, 并采用SPSS 22.0统计软件进行方差分析, 处理间的差异显著性用Duncan's Multiple Range Test法分析, 差异显著性水平为0.05。

2 结果与分析

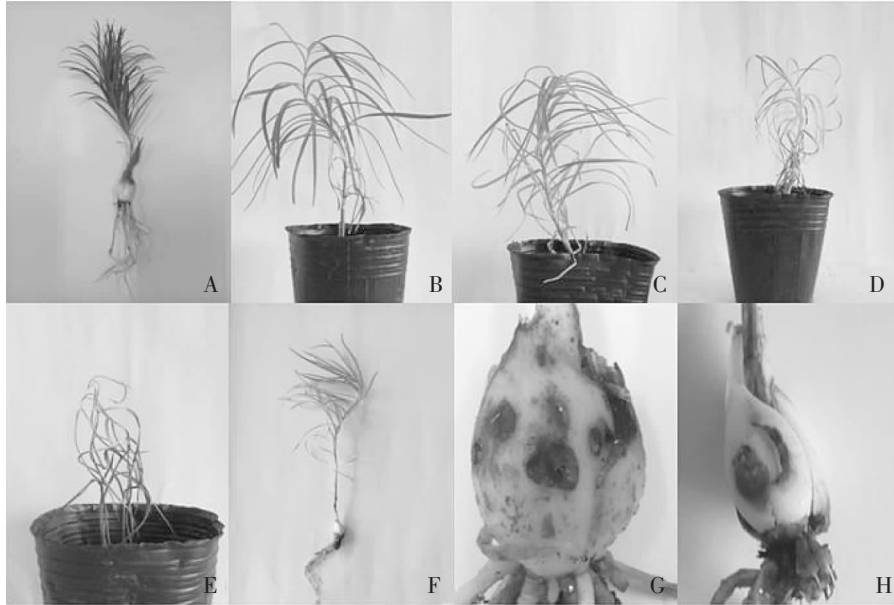
2.1 百合接菌后的发病情况

用浸根、刺伤和灌根相结合的方法, 将尖孢镰刀菌接种到健康兰州百合植株上后, 根、鳞茎、鳞叶逐渐变褐, 腐烂, 甚至死亡; 茎上的叶, 沿着由下向上、由叶尖到叶基的顺序, 逐渐发黄、变褐、死亡, 边缘有卷曲。地上茎表现出由上及下, 茎秆逐渐发黄、变褐, 最终干枯死亡。最终, 整株植物死亡(图1)。植株枯萎病发生的症状和前人文献描述的一致^[2]。

2.1.1 发病率 接菌处理后, 除CK外, 处理1、处理2、处理3从第13天起均开始发病; 第13~15天, 处理3(即伤根+鳞茎盘刺伤+灌根处理)的发病率始终最高。接菌第13天、第14天, 处理3的发病率与处理1、CK的发病率存在着显著差异, 处理2的发病率与处理1、CK的发病率也存在着显著差异, 但处理3的发病率和处理2的发病率无显著差异。接菌第15天, 4个处理间发病率均存在着显著差异; 接菌第16天, 处

表1 百合植株病情分级标准

病情等级	发病症状
0	全株正常, 未发病, 无任何发病症状
1	约 $\leq 1/3$ 叶片失绿发黄、萎蔫、干枯, 茎绿色
2	约 $1/2$ 叶片失绿发黄、萎蔫、干枯, 茎有轻度发黄症状
3	约 $2/3$ 叶片发黄、萎蔫、干枯, 茎发黄症状严重
4	全部叶片干枯, 且茎呈现褐色, 全株干枯死亡



A 为 CK; B: 1/3 叶发病变黄; C 为 1/2 叶发病变黄; D 为 2/3 叶发病变黄; E 为全株变褐死亡; F 为鳞茎盘和鳞叶基部腐烂; G、H 为发病后的根、鳞叶和鳞茎盘

图 1 兰州百合植株接菌后发病症状

理 1、处理 2、处理 3 间发病率无差异，但均与 CK 存在显著差异(图 2)。可以看出，处理 3(即伤根+鳞茎盘刺伤+灌根处理)最有利于接菌后兰州百合的迅速发病，处理 2、处理 1 百合植株发病次之，CK 处理百合植株未见发病。

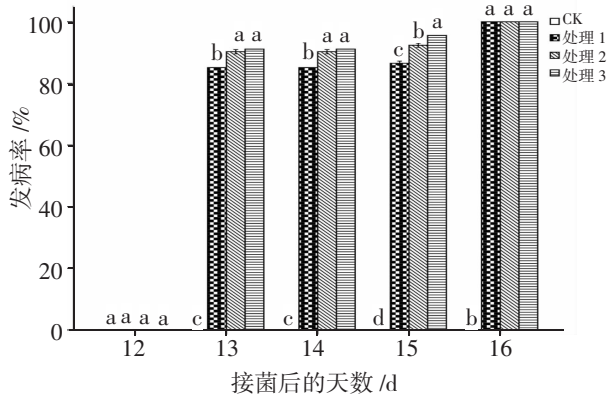


图 2 植株接菌发病率

2.1.2 病情指数 从图 3 可知，接菌后第 15 天、第 30 天、第 45 天、第 60 天、第 90 天，处理 3 的病情指数均为最高；接菌后第 75 天，处理 2 的病情指数最高。接菌第 15 天、第 60 天、第 90 天，病情指数由高到低的顺序均为处理 3、处理 2、处理 1、CK，

且各处理间差异显著；接菌后第 30 天，病情指数由高到低的顺序为处理 3、处理 1、处理 2、CK，且各处理间差异显著。接菌后第 45 天，病情指数由高到低的顺序为处理 3、处理 2、处理 1、CK，除处理 1 和处理 2 间无显著差异外，其余处理间均差异显著。接菌后第 75 天，病情指数由高到低的顺序为处理 2、处理 3、处理 1、CK，且各处理间差异显著。可见，兰州百合接菌发病后，以处理 3(即伤根+鳞茎盘刺伤+灌根处理)的百合植株发病最严重，说明处理 3 的接菌方法最有利于促进接菌后兰州百合枯萎病病情

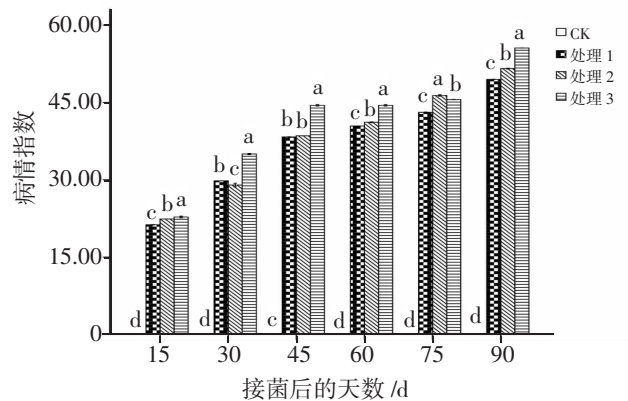
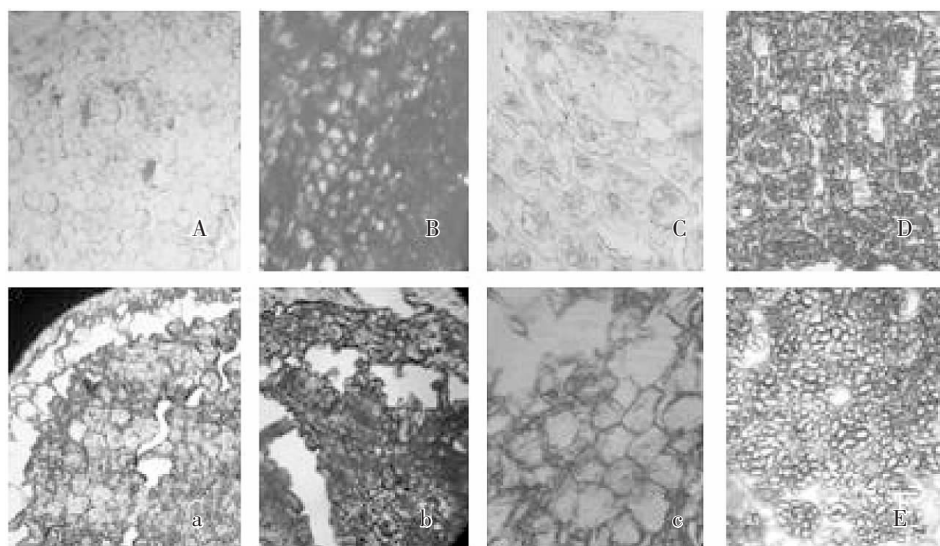


图 3 植株接菌病情指数



A-E 分别为植株发病前的根(A)、茎(B)、鳞叶(C、E)和叶(D)的显微结构；a、b、c 分别为植株发病后的根(a)、茎(b)、鳞叶(c)的显微结构；E 为徒手简易切片显微结构，其余均为石蜡切片显微结构

图 4 兰州百合植株接菌前后显微结构

的加剧，处理 2、处理 1 百合植株发病次之，CK 处理百合植株不发病。

2.2 百合植株发病前后的显微结构变化

将尖孢镰刀菌接种到健康的兰州百合植株上，分别利用徒手简易切片、石蜡切片进行显微观察。结果表明，发病前的兰州百合，其根、茎、叶、鳞叶各部分结构完整，可观察到导管(图4-B)、薄壁细胞(图4-A、4-C、4-D、4-E)、根的中柱(图4-A)等结构，且薄壁细胞中贮藏有大量的淀粉粒(图4-C、4-D、4-E)。发病后，根、茎、鳞叶内部均发生了不同程度的结构破坏，根表皮结构不完整(图4-a)，大量薄壁细胞已经不同程度的遭到破坏、消失，出现很大的空隙(图4-a、4-b、4-c)，淀粉粒贮藏减少，甚至有大量薄壁细胞中根本没有淀粉粒的贮藏(图4-c)。由以上可见，兰州百合植株受到尖孢镰刀菌的侵染后，病原菌会对植株的根、茎、叶、鳞叶的完整结构进行破坏，甚至导致细胞后含物(如淀粉)的积累受到抑制，甚至被降解、破坏。

3 结论与讨论

研究表明，兰州百合接菌发病后，会表

现出一定的发病症状。与对照不接菌处理比较，接菌植株的茎、叶逐渐发黄、变褐，最终枯萎死亡，根、鳞茎、鳞叶变褐，腐烂。利用徒手简易切片、石蜡切片进行显微观察可以看出，百合根、茎、叶、鳞叶的结构均受到破坏，表皮、皮层不同程度被破坏而不完整，表现出淀粉粒积累减少，甚至没有淀粉粒的积累。分析认为，细胞中积累的淀粉粒被尖孢镰刀菌吸收利用，导致细胞中贮藏淀粉粒数量减少，甚至不再贮藏。尖孢镰刀菌侵染兰州百合后可导致枯萎病的发生，发病后百合植株的内部结构受到不同程度的破坏，细胞淀粉积累减少，甚至不再积累淀粉。

相较于伤根 + 灌根处理、伤根 + 鳞叶刺伤 + 灌根处理，伤根 + 鳞茎盘刺伤 + 灌根处理更能加剧接菌百合植株的病情发生。可见，百合植株一定部位的损伤，可加剧枯萎病的发生危害，鳞茎盘的损伤则更加提高了发病率，加重了病情。

致谢：

在该科研项目的准备、实施阶段，以及论文的撰写过程中，得到了甘肃农业大学应

用技术学院牟晓玲老师的指导与帮助。同时,也感谢甘肃农业大学生命科学技术学院杨江伟老师为我们提供实验仪器、设备等方面的帮助。

参考文献:

- [1] 林玉红. 兰州食用百合生长发育及氮磷钾素养分吸收累积与分配规律研究[J]. 甘肃农业科技, 2019(12): 8-18.
- [2] 白贺兰, 乔德华. 兰州百合产业发展现状及优化升级对策[J]. 甘肃农业科技, 2017(12): 79-82.
- [3] 江晶, 杨一斐, 张朝巍, 等. 兰州百合优势种植区分布与土壤养分分析[J]. 甘肃农业科技, 2018(07): 45-47.
- [4] 白滨, 何苏琴, 于安芬, 等. 兰州百合褐腐病罹病根和根盘及鳞片分出的真菌和卵菌[J]. 甘肃农业科技, 2018(1): 16-20; 95.
- [5] 李诚, 李俊杰, 薛春胜, 等. 百合枯萎病病原菌鉴定[J]. 植物病理学报, 1996, 26(2): 192.
- [6] 边小荣. 兰州百合枯萎病病原鉴定及病原菌生物学特性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.
- [7] 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.
- [8] 郑思乡, 魏志刚, 毛莎莎, 等. 东方百合对茎腐病的抗性分析[J]. 植物保护学报, 2014, 41(4): 429-437.
- [9] 孙艳艳, 蒋桂英, 刘建国, 等. 加工番茄连作对农田土壤酶活性及微生物区系的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(13): 3599-3607.
- [10] 上官金虎, 吕广林, 王宏岳. 线辣椒连作障碍原因与对策[J]. 陕西农业科学, 2007(3): 122-123.
- [11] 任韵, 朱建方, 马善林, 等. 百合连作障碍调控技术研究进展[J]. 浙江农业科学, 2015, 56(10): 1615-1617.
- [12] 杨美悦, 赵科刚, 于艳梅, 等. 大棚草莓连作障碍机理控制实验及根部病原菌鉴定研究[J]. 陕西农业科学, 2012(1): 65-68.
- [13] 胡元森, 刘亚峰, 吴坤, 等. 黄瓜连作土壤微生物区系变化研究[J]. 土壤通报, 2006, 37(1): 126-129.
- [14] 王飞, 李世贵, 徐凤花, 等. 连作障碍发生机制研究进展[J]. 中国土壤与肥料, 2013(5): 6-13.
- [15] 李琼芳. 不同连作年限麦冬根际微生物区系动态研究[J]. 土壤通报, 2006, 37(3): 563-565.
- [16] 范君华, 龚明福, 刘明. 棉花连作对土壤养分、微生物及酶活性的影响[J]. 塔里木大学学报, 2008, 20(3): 36-40.
- [17] 徐鹏, 程智慧, 梁静, 等. 百合根系分泌物中不同组分的化感作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(11): 167-172.
- [18] 徐宁, 王超, 魏珉, 等. 大葱根系分泌物对黄瓜种子萌芽和枯萎病病原菌的化感作用及其GC-MS分析[J]. 园艺学报, 2012, 39(8): 1511-1520.
- [19] 周宝利, 孙传齐, 韩琳, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对茄子根际土壤黄萎菌数量及土壤微生物组成的影响[J]. 华北农学报, 2010, 25(6): 150-153.
- [20] 程智慧, 佟飞, 金瑞. 大蒜秸秆水浸液的抑菌作用和抑菌成分初步分析[J]. 西北植物学报, 2008, 28(2): 324-330.
- [21] 唐文菊. 根腐病病菌不同侵染程度对当归根解剖结构及生理指标的影响[D]. 兰州: 西北师范大学, 2014.
- [22] 张艳芳. 黄芪根腐病病根的形态及解剖学研究[D]. 兰州: 西北师范大学, 2013.
- [23] 李伯凌, 霍本君, 朱寿松, 等. 木薯叶片组织结构及生理生化特征与其抗细菌性枯萎病的关系[J]. 热带生物学报, 2017(3): 292-300.
- [24] 李瑞琴. 甜瓜枯萎病病原学及防治技术研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2004.
- [25] 张丽丽, 刘冬云, 赵婵璞. 百合枯萎病抗性鉴定及发病因素的研究[J]. 河北农业大学学报, 2012, 35(6): 27-32.
- [26] 陈红梅, 李金花, 柴兆祥, 等. 35个马铃薯品种对镰刀菌干腐病优势病原的抗病性评价[J]. 植物保护学报, 2012, 39(4): 308-314.

(本文责编: 郑立龙)