

上海市进口火龙果软腐病病害分析

崔志婧 王奕文* 于岳 许玲

(华东师范大学 生命科学学院 上海 200062)

摘要: 应用病原形态学和真菌 rDNA-ITS 分子标记及 *Fusarium oxysporum* 种特异性序列分析, 对引起上海市水果市场销售的进口火龙果软腐的市场病害进行了分离与鉴定, 明确了两种主要的致病真菌为尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)和单隔镰刀菌(*Fusarium dimerum*)。其中, *F. oxysporum* 为引起进口火龙果采后软腐的最主要病原真菌, 该菌最适生长温度和致病温度均为 25 °C, 光照条件下的致病性强, 在 15 °C 和 35 °C 条件下致病性明显降低, 5 °C 和 45 °C 条件下该菌无法正常生长和致病, 并且该菌还能够引起香蕉、番茄、葡萄等多种水果腐烂。系统研究引起进口火龙果采后软腐病原真菌的生物学特性, 为进口火龙果采后病原真菌有效控制方法的制定提供了有益的参考。

关键词: 进口水果, 市场病害, 镰刀菌, 分子标记, 生物学特性

Pathogens analysis of soft rot disease of imported pitaya in Shanghai

CUI Zhi-Jing WANG Yi-Wen* YU Yue XU Ling

(School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: In this study, the major pathogens that caused soft rot disease of imported dragon fruit were studied morphologically and molecularly. Two strains of *Fusarium* were identified in this study, which respectively belongs to *Fusarium oxysporum* and *Fusarium dimerum*. *F. oxysporum* was the most important pathogen which caused postharvest rot on imported pitaya. The most optimum temperature for *F. oxysporum* growth and pathogenicity was 25 °C. In addition, there was a positive relationship between pathogenicity and illumination. It could neither grow nor form lesion under lower temperature (5 °C) and higher temperature (45 °C), its pathogenicity became weaker under 15 °C and 35 °C. Further analysis showed that it could also cause postharvest rot on banana, tomato and grape. Taken together, our results analysis the key pathogen caused postharvest rot on imported pitaya and provide a useful reference for making measures towards the disease.

Keywords: Imported fruits, Market disease, *Fusarium* sp., Molecular markers, Biological characteristics

火龙果(*Hylocereus undatus* Britt.et Rose)属仙人掌科三角柱属植物^[1-2],原产于西半球赤道附近中美洲热带雨林区域^[3],人工栽培遍及中美洲、以色列、越南、泰国、美国南部、我国台湾地区和海南、广东等地^[4-6]。火龙果的经济价值高^[7],营养丰富,功能独特,含有一般植物少有的植物性白蛋白、花色苷、可溶性膳食纤维和多种矿物质营养元素及人体所必需的8种氨基酸^[8],具有美容和保健的双重功效^[9]。近年来,火龙果作为一种营养价值高且口感好的水果,受到消费者的广泛青睐,然而,国产火龙果数量远远满足不了人们的需求,大量火龙果需要依赖于进口。仅2010年1-4月,越南、泰国等东盟国家通过广西口岸出口到我国的火龙果就达3.4万t^[10]。

上海市水果市场销售的火龙果也主要依赖于从国外进口。我们在对进口水果市场病害调查的过程中发现,进口火龙果上存在大量的市场病害,如镰刀菌(*Fusarium* spp.)、链格孢菌(*Alternaria* spp.)、炭疽菌(*Colletotrichum* spp.)等都能够危害市售进口火龙果。前人对火龙果病害的研究多集中在采前田间病害^[11-17],而在采后病害方面报道很少,仅马腾飞等^[18]的研究表明,镰刀菌(*Fusarium* spp.)和链格孢菌(*Alternaria* spp.)是市售进口火龙果的主要市场病害,Taba等^[19]的研究表明,*Bipolaris cactivora*是日本火龙果的主要市场病害;另外,卢琨等^[20]研究认为火龙果采后贮藏病害主要是砖红镰刀菌(*Fusarium lateritium* Nees)、黑曲霉(*Aspergillus niger* V. Tiegh)和黄曲霉(*Aspergillus flavus* Link)。由于火龙果的消费需求不断扩大,其来源又主要依赖于进口,因此对进口火龙果病原物的检验检疫和分析鉴定,减少采后流通过程中的损失极为重要。本研究以上海市水果市场销售的进口火龙果为研究对象,通过病原形态学与分子生物学相结合的方法,对进口火龙果市场病害进行分离与鉴定,发现尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)是引起进口火龙果采后软腐的最主要病原菌,此外,我们还对该菌的重要生物学特性进行了研究,探明影响其正常生长的环境条件,从而丰富了国内关于进口火龙果市场病

害的研究,为进一步研究其发病机理提供理论依据,也为制定更健康环保的果蔬保鲜措施提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

供试进口火龙果于2009年3月至2010年7月购自上海市水果销售市场(农工商超市、好又多大卖场、鲜果多水果超市)。

1.2 方法

1.2.1 病原真菌分离及其致病性鉴定:从病组织边缘切取病健交界处组织块(约4 mm×6 mm)和果实内部健康果肉进行表面灭菌^[21],放入马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)平板培养基中25℃条件下培养2-3 d。当菌落直径长至1 cm时,用接种针挑取菌落边缘幼嫩菌丝转入另一PDA平板内继续培养,重复3次即可获得纯化菌种。无菌打孔器取直径5 mm的待鉴定菌菌碟,并分别以有伤与无伤两种方法接种健康火龙果果实,放入无菌干燥器内,25℃条件下饱和湿度放置7 d,记录致病症状并镜检观察病原菌的孢子形态。接种用病原菌的制备、被接种果实的准备及有伤、无伤接种方法参考许玲等^[21]方法。

1.2.2 病原真菌的形态学鉴定:观察感病火龙果外观发病症状,体视显微镜下观察发病组织中有无病原菌菌丝。在PDA培养基上培养观察其菌落特征,诸如颜色、气味、生长速度、气生菌丝形态等;用合成低营养培养基(SNA)^[22]或Bilay培养基^[23]培养观察镰刀菌属真菌的显微特征,镰刀菌种的鉴定所依据的显微特征主要包括大、小型分生孢子的产生情况及其形态;厚垣孢子的有无和产生方式;产孢细胞的类型等等。依据上述指标参照Booth^[23]和邵力平等^[24-26]真菌形态学鉴定手册方法鉴定分离所致病菌的种类。

1.2.3 病原真菌的分子生物学鉴定:(1)基因组DNA的提取。称取0.05 g在PDA培养基上生长7 d的待鉴定病原菌菌丝,参考刘少华等^[27]的方法提取病原真菌基因组DNA,-20℃条件下保

存备用。

(2) 病原真菌 rDNA-ITS 序列测定及其系统发育地位分析。利用通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTG AACCTGCGG-3')和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')^[28]扩增病原真菌基因组上保守的 ITS 序列,用以在分子水平上鉴定病原菌。20 μ L PCR 扩增体系如下: 10 \times buffer 2 μ L, MgCl₂ 2 μ L, 2.5 mmol/L dNTPs, 1.0 个单位 Taq DNA 聚合酶(均购于 TIANGEN 公司), 1 μ L DNA 模板, 引物浓度均为 0.2 μ mol/L。依照以下反应程序进行扩增: 94 $^{\circ}$ C 3 min; 94 $^{\circ}$ C 1 min, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 20 min。扩增产物于 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测,之后用胶回收试剂盒(上海莱枫生物技术有限公司)回收纯化, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。回收纯化产物委托上海桑尼生物公司测序, 测序结果在 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> 的数据库中进行比对, 将病原菌鉴定到种, 并构建致病真菌的分子系统树, 明确其进化地位。

(3) *Fusarium oxysporum* 种特异性片段的扩增分析。为证明所得病原真菌是否属于 *F. oxysporum*, 利用该菌的种特异性扩增引物 FOF1 (5'-ACATACCA CTTGTTGCCTCG-3')和 FOR1 (5'-CGCCAATCAAT TTAGGAACG-3')扩增所得病原真菌的保守序列^[29], 以尖孢镰刀菌标准菌株(购买编号 ACCC30069)为阳性对照进行比较, 同时以实验室菌种库中的灰霉菌 (*Botrytis cinerea*: B.C.0510、B.C.0023)、禾谷镰刀菌 (*F. graminearum*, 中国科学院植物生理生态研究所唐威华老师馈赠)、链格孢菌(*Alternaria alternata*, 购买编号 ACCC310001)、芽枝霉(*Cladosporium* sp.)作为阴性对照。

1.2.4 环境因素对优势致病菌致病性的影响分析:

(1) 温度对优势致病菌菌落生长和致病性的影响。取 25 $^{\circ}$ C 培养 7 d 直径 5 mm 的菌碟至 PDA 平板, 分别置于 5 $^{\circ}$ C、15 $^{\circ}$ C、25 $^{\circ}$ C、35 $^{\circ}$ C 和 45 $^{\circ}$ C 培养箱中恒温培养, 每 24 h 测量菌落直径, 连续测量 7 d。每一处理设 3 个平行, 共重复 3 次。

(2) 温度对优势致病菌致病性的影响。取 25 $^{\circ}$ C 培养 7 d 直径 5 mm 的菌碟接种已表面消毒的健康火龙果表面, 分别置于 5 $^{\circ}$ C、15 $^{\circ}$ C、25 $^{\circ}$ C、35 $^{\circ}$ C 和 45 $^{\circ}$ C 恒温条件下的无菌干燥器中, 饱和湿度放置, 以不接菌的健康火龙果为空白对照。7 d 后统计不同温度条件下的病斑直径、发病率和菌丝侵染深度, 比较温度因素对致病优势菌致病性的影响。

(3) 光照对优势致病菌致病性的影响。同 1.2.4 (2)方法接种健康火龙果, 分别置于持续光照条件和持续黑暗条件下, 7 d 后统计光照和黑暗条件下的病斑直径、发病率、菌丝侵染深度和果实硬度, 比较光照对致病优势菌致病性的影响。

1.2.5 优势致病菌株对其它果蔬的致病性比较: 取 25 $^{\circ}$ C 培养 7 d 直径 5 mm 的菌碟以有伤和无伤两种方式接种于已表面灭菌的健康葡萄、香蕉、番茄、黄瓜和茄子表面, 放入无菌干燥器内 25 $^{\circ}$ C 恒温饱和湿度培养, 7 d 后统计优势致病菌菌落直径和病斑直径, 明确优势致病菌是否具有广寄主性而造成严重危害。

2 结果与分析

2.1 病原菌的分离

从供试的市售感病进口火龙果发病部位(图 1A)共分离出 32 株真菌(表 1)和 5 株细菌, 将分离得到的病原菌依照柯赫氏法则反接种鉴定证明, 5 株细菌均不具致病性, 20 株真菌具有致病性, 其中 12 株病原真菌能够不同程度地导致火龙果采后腐烂, 经形态学初步鉴定属于镰刀菌属(*Fusarium*)、链格孢菌属(*Alternaria*)、炭疽菌属(*Colletotrichum*)和曲霉属(*Aspergillus*)等 4 个属, 表 2 为 6 株代表菌株的致病性强弱比较, 其中 2 株病原真菌的致病性最强, 可导致火龙果果实表面形成黄褐色病斑、病斑凹陷且边缘清晰, 果实褐变软腐, 与市售感病火龙果的典型发病症状相符合(图 1B)。由此确定进口火龙果的采后软腐病主要由这两种病原真菌感染引起, 分别编号为 EXHC-1 和 EXHC-2。

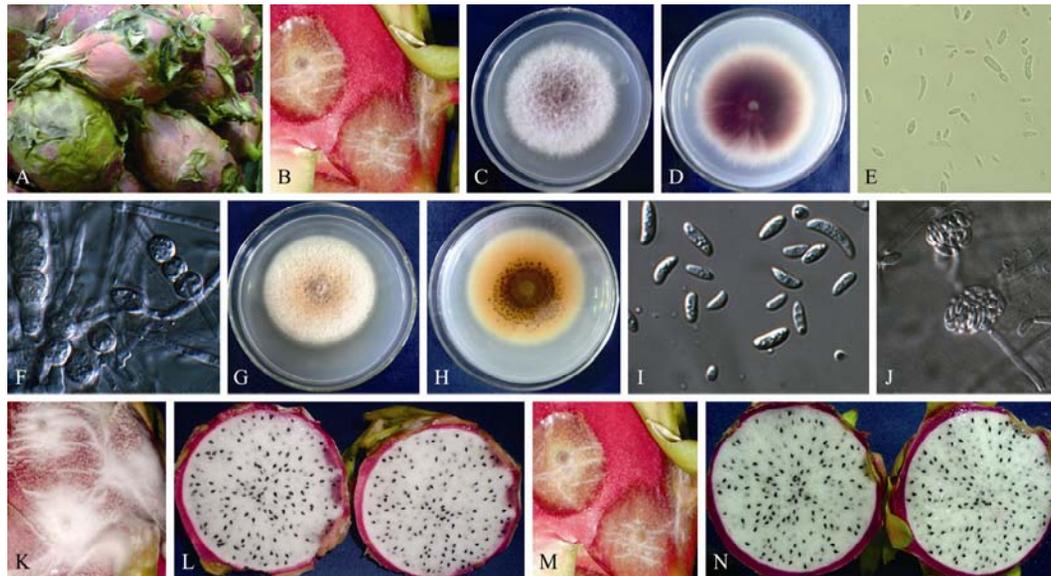


图 1 进口火龙果软腐病症状与致病真菌

Fig. 1 Symptom of fruit rot of imported pitaya and pathogens

注: A: 市售进口火龙果感病症状; B: EXHC-1 菌碟法反接种健康火龙果造成软腐病; C: EXHC-1 菌株菌落(正面); D: EXHC-1 菌株菌落(背面); E: EXHC-1 菌株大、小型分生孢子形态; F: EXHC-1 菌株厚垣孢子形态及着生方式; G: EXHC-2 菌株菌落(正面); H: EXHC-2 菌株菌落(背面); I: EXHC-2 菌株小型分生孢子形态; J: EXHC-2 菌株的分生孢子梗; K: EXHC-1 在光照条件下的致病症状; L: EXHC-1 在光照条件下侵染火龙果的横切面; M: EXHC-1 在黑暗条件下的致病症状; N: EXHC-1 在黑暗条件下侵染火龙果的横切面。

Note: A: Symptom of fruit rot of imported pitaya on market; B: Fruit rot caused by EXHC-1; C: Colony of EXHC-1 (surface); D: Colony of EXHC-1 (bottom); E: Macroconidia and microconidia of EXHC-1; F: The shape and growth pattern of chlamydo-spore of EXHC-1; G: Colony of EXHC-2 (surface); H: Colony of EXHC-2 (bottom); I: Microconidia of EXHC-2; J: Conidiophore of EXHC-2; K: Pathogenicity of EXHC-1 under illumination; L: Transverse section of pitaya infected by EXHC-1 under illumination; M: Pathogenicity of EXHC-1 under darkness; N: Transverse section of pitaya infected by EXHC-1 under darkness.

表 1 市售进口火龙果腐烂部位的病原真菌种类
Table 1 Fungi isolated from diseased imported pitaya

分离菌种类 Isolated fungi	检出频度 Detection frequency		菌株数 Strain number			致病菌/致病菌 FCR/PF (%)
	附着菌 Surface attached	潜伏菌 Latent	Total	PF	FCR	
链格孢菌 <i>Alternaria</i> spp.	+	±	7	4	2	50.0
炭疽菌 <i>Colletotrichum</i> spp.	++	+	5	3	2	66.7
曲霉 <i>Aspergillus</i> spp.	+	-	6	3	1	33.3

注: ++: 频繁检出; +: 可检出; ±: 很少检出; -: 未检出; PF: 致病菌; FCR: 致腐菌。

Note: ++: Frequently detected; +: Occasionally detected; ±: Rarely detected; -: Not detected; PF: Pathogenic fungi; FCR: Fungi that can cause fruit rot.

2.2 病原菌的形态学鉴定

致病菌 EXHC-1 在 25 °C 条件下生长迅速, PDA 培养基上生长 7 d 菌落直径即可以达到 8.0 cm, EXHC-1 在生长初期可形成白色絮状菌丝体(图 1C), 随后菌丝中央转变为淡紫色, 在 PDA 培养基中分泌淡紫色或紫红色色素(图 1D)。该菌可形成两种类型

分生孢子, 大型分生孢子镰刀形、多细胞、具 3-5 隔, (27-46) $\mu\text{m} \times (3.0-4.5) \mu\text{m}$; 小型分生孢子卵圆形至椭圆形、透明、单胞、平直或弯曲, (4-7) $\mu\text{m} \times (2.5-4.0) \mu\text{m}$ (图 1E); 厚垣孢子在菌丝短侧枝上呈链状着生, 球形(图 1F)。相同培养条件下 EXHC-2 的菌落直径可达 6.0 cm, 其在 PDA 培养基上培养 7 d

表 2 各种病原真菌代表菌株致病性差异比较
Table 2 The affection of each pathogenic fungus to the pitaya rot

接种的病原真菌 Fungi used for inoculation	病斑直径 Lesion diameter (mm)		发病率 Morbidity (%)	
	有伤 Wounded	无伤 Non-wounded	有伤 (W)	无伤 (NW)
EXHC-1	18.43±0.74 ^a	13.99±1.13 ^a	100.0	100.0
EXHC-2	12.35±1.03 ^b	9.28±0.67 ^b	100.0	88.9
EXHC-3	11.63±0.88 ^b	8.08±0.39 ^c	100.0	44.4
EXHC-4	12.30±0.41 ^b	6.49±0.46 ^d	100.0	42.9
EXHC-5	2.58±0.32 ^c	0 ^e	100.0	0
EXHC-6	6.03±0.44 ^d	3.59±0.27 ^f	85.7	0

注: W: 有伤接种; NW: 无伤接种; 同列不同行小写字母不相同代表差异显著(*t* 检验, $P < 0.05$)。

Note: W: Needle-wounded inoculation; NW: Non-wounded inoculation; The same letter in the same column do not differ statistically at 5% significance (*t* test, $P < 0.05$).

的菌落呈橘黄色(图 1G), 可形成致密的淡黄色气生菌丝, 在培养基中分泌黄色至橘黄色色素(图 1H)。该菌大型分生孢子很少, 小型分生孢子的形态为宽新月状(图 1I), 无色透明、中间有分隔, (10–17) $\mu\text{m} \times$ (3–4) μm , 产孢方式为瓶梗式(图 1J)。根据致病症状和病原菌的菌落及显微形态特征, 参照真菌分类鉴定手册^[23–26]可初步确认, 这两种致病真菌为镰刀菌属的种。

2.3 致病菌的分子生物学鉴定

2.3.1 致病菌的 rDNA-ITS 序列测定及其系统发育地位分析: 采用真菌 rDNA-ITS 分子标记法将进口火龙果上分离得到的强致病性镰刀菌鉴定到种。以病原真菌的基因组 DNA 作为模板, 利用通用引物扩增得到 EXHC-1 的 rDNA-ITS 序列 505 bp,

EXHC-2 的 rDNA-ITS 序列 523 bp。BLAST 比对结果表明, EXHC-1 的 rDNA-ITS 序列(GenBank 注册号 HQ271449)与半知菌亚门、从梗孢目、瘤座孢科、镰刀菌属的尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*) (GenBank 注册号 DQ535184)的 ITS 序列 100% 同源, 而 EXHC-2 的 rDNA-ITS 序列则与单隔镰刀菌(*Fusarium dimerum*, GenBank 注册号 EU926284)的同源性为 99%, 由此可确定, 进口火龙果上的主要致病菌为尖孢镰刀菌和单隔镰刀菌。将测序所得的致病真菌 EXHC-1 和 EXHC-2 的 rDNA-ITS 序列与 NCBI 中检索到的镰刀菌属其余种真菌的 rDNA-ITS 序列进行比对, 构建系统进化树, 得出进口火龙果软腐致病菌的遗传关系, 结果如图 2 所示。

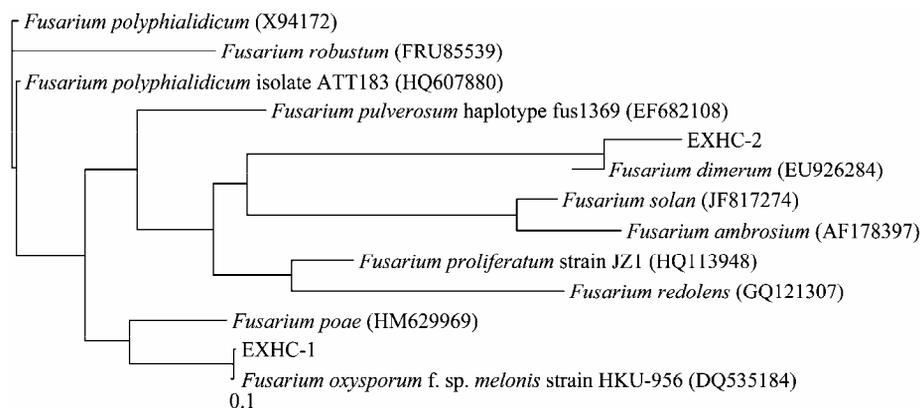


图 2 致病真菌 EXHC-1 和 EXHC-2 的分子系统树

Fig. 2 Phylogenetic tree of pathogen EXHC-1 and EXHC-2

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank. Bar: 0.1 substitutions per nucleotide position.

2.3.2 *F. oxysporum* 种特异性片段扩增分析: 尖孢镰刀菌对环境的适应性极强, 本身富于变异, 为确认所得 rDNA-ITS 序列分析正确, 故扩增 *F. oxysporum* 种特异性片段。结果表明(图 3), 尖孢镰刀菌标准菌株和 EXHC-1 均可扩增出 340 bp 的特异性条带, 可进一步验证 EXHC-1 为尖孢镰刀菌并以其为代表菌株进行后续研究。

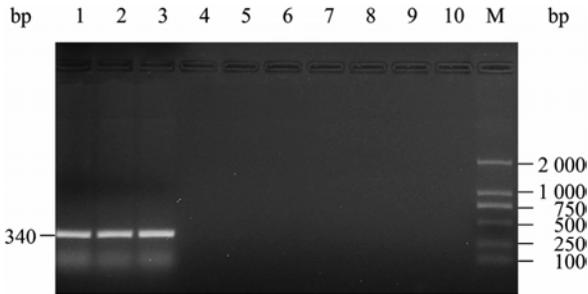


图 3 病原真菌 *F. oxysporum* 种特异性片段扩增图谱

Fig. 3 *F. oxysporum* specific band amplification profiles

注: 1: EXHC-1; 2: EXHC-1; 3: 尖孢镰刀菌标准菌株; 4: EXHC-2; 5: 灰霉菌 0510; 6: 灰霉菌 0023; 7: 链格孢菌; 8: 芽枝霉; 9: 禾谷镰刀菌; 10: 双蒸水。

Note: 1: EXHC-1; 2: EXHC-1; 3: *Fusarium oxysporum*; 4: EXHC-2; 5: *Botrytis cinerea* 0510; 6: *B. cinerea* 0023; 7: *Alternaria alternata*; 8: *Cladosporium* sp.; 9: *F. graminearum*; 10: ddH₂O.

2.4 环境因素对优势致病菌致病性的影响

2.4.1 温度对优势致病菌生长的影响: 温度实验结果(图 4, 图中菌落直径是指在 PDA 上生长 7 d 的菌落直径)表明, EXHC-1 的最适生长温度为 25 °C, 5 °C 和 45 °C 可以抑制菌丝的生长。另外, 温度不仅可以影响菌丝的生长速度, 还会影响菌丝的形态。环境温度为 15 °C 时, 菌丝为白色絮状, 气生菌丝较多, 菌落边缘不整齐; 25 °C 时, 菌丝蓬松, 产生大量气生菌丝, 菌落边缘不整齐; 35 °C 时, 菌丝致密, 气生菌丝较少, 菌落边缘整齐。

2.4.2 温度对优势致病菌致病性的影响: 如图 5 所示, 接种 7 d 后, 在 25 °C 条件下 EXHC-1 的致病性最强, 而在 15 °C 或 35 °C 培养时, 该菌的致病力明显降低, 5 °C 和 45 °C 条件下不具致病性。

2.4.3 光照对优势致病菌致病性的影响: 在光照条件下培养 7 d, EXHC-1 的菌丝可覆盖整个火龙果表

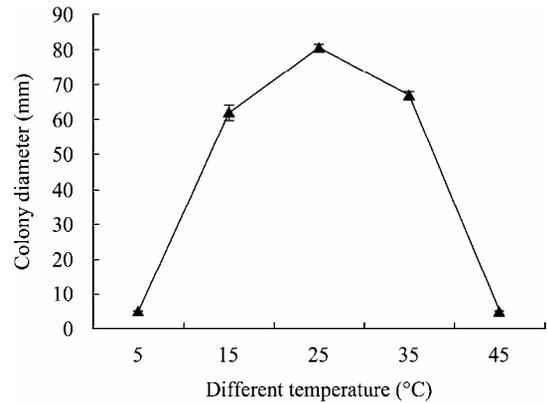


图 4 温度对 EXHC-1 菌丝生长的影响

Fig. 4 Effect of different temperature on mycelia growth of EXHC-1

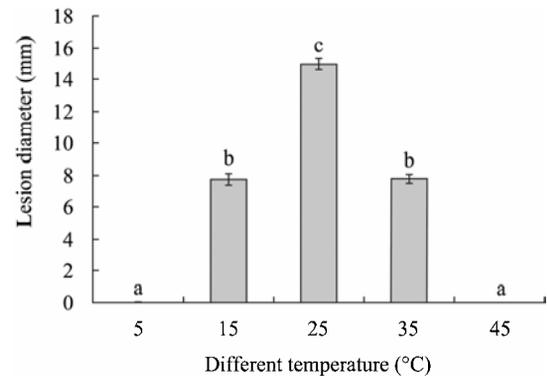


图 5 温度对 EXHC-1 致病性的影响

Fig. 5 Effect of different temperature on pathogenicity of EXHC-1

注: 柱形图上不同字母表示处理间差异显著, $P < 0.05$ 。

Note: Significant difference ($P < 0.05$) among treatments in each group are indicated by different letters above bars.

面(图 1K), 而黑暗条件下菌丝生长较慢(图 1M), 仅分布于接种位点周围。光照可增强病原菌对果实的侵染, 形成明显的病斑(表 3), 侵染深度也明显大于黑暗条件下(表 3, 图 1L、图 1N)。此外, 光照条件下的果实硬度明显低于黑暗条件下(表 3)。因此可知光照会促进 EXHC-1 的致病性, 黑暗可抑制其致病性。

2.5 菌株对其它果蔬的致病性比较

实验结果(图 6)表明, EXHC-1 不仅能够引起进口火龙果采后腐烂, 同样会引起番茄、香蕉和葡萄的采后腐烂, 具有广寄主性, 危害巨大。

表3 光照和黑暗处理对 EXHC-1 致病性的影响
Table 3 The effect of illumination and darkness on pathogenicity of EXHC-1

处理条件 Treatment	病斑直径 Lesion diameter (mm)		侵染深度 Infection depth (mm)	果实硬度 Fruit firmness (N/cm ²)
	有伤 Wounded	无伤 Non-wounded		
持续光照 Constant illumination	18.61±1.11 ^a	15.38±0.97 ^a	8.27±0.27 ^a	82.00±4.50 ^a
持续黑暗 Constant darkness	14.82±0.25 ^b	12.99±0.22 ^b	5.03±0.12 ^b	102.00±5.60 ^b

注: *t* 检验, 同列不同行小写字母不相同代表差异显著, $P < 0.05$ 。

Note: *t* test, the same letter in the same column do not differ statistically at 5% significance, $P < 0.05$ 。

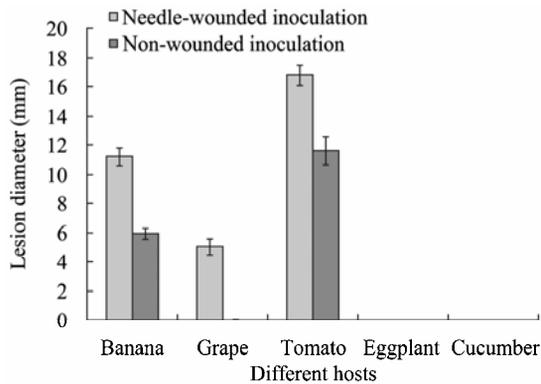


图6 EXHC-1 在不同寄主上的致病性验证

Fig. 6 Lesion diameter of EXHC-1 on different hosts

3 讨论

尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)属半知菌亚门、从梗孢目、瘤座孢科、镰刀菌属, 是一种世界性分布的土传病原真菌, 寄主范围广泛^[23], 可引起瓜类^[30-31]、香蕉^[32-33]、豆科^[34]及花卉^[35-36]等 100 多种植物枯萎病的发生。本研究结果表明, 在不同采样地点和不同时间的腐烂进口火龙果上, 分离得到菌株数目最多的即是 *F. oxysporum*, 并且该菌是引起腐烂的主要致病菌, 25 °C 接种 7 d 病斑直径即可达到 1.8 cm, 从而明确了引起进口火龙果采后软腐的主要病原为 *F. oxysporum*, 因此控制该菌的大规模爆发是延长进口火龙果保鲜期和货架期的有效手段。

对该菌生物学特性的研究表明, 其生长温度在 15 °C–35 °C 之间, 最适生长温度为 25 °C, 这与蓝江林等^[37]的研究结果基本一致。其在 25 °C 条件下的致病能力最强, 15 °C 和 35 °C 下的致病力明显降低, 5 °C 和 45 °C 条件下不能够致病, 这一实验结果在火龙果研究上尚属首次报道。因此, 在采后运输

贮藏过程中适当降低温度可以延长火龙果的货架期。光作为另外一个重要的环境因子, 会增强 *F. oxysporum* 在进口火龙果上的致病性, 所以在贮藏过程中减少光照时间有利于降低损失。另外, 该菌不为寄主专化型, 它还可以侵染香蕉、番茄、葡萄等多种水果, 因此, 进出口检验检疫部门应该严格检测该菌, 以免对我国的其它水果产生威胁, 更好地建立我国的水果进口贸易壁垒。本研究为今后进一步研究火龙果市场病害的发病机制奠定了理论基础, 也为制定更环保更健康的保鲜措施提供了有益的参考。

由于镰刀菌在形态和生理方面对环境具有极强的适应性, 富于变异, 给识别和鉴定工作带来了许多困难^[23]。传统的形态学鉴定需要严格控制培养条件并收集大量的形态学观察数据, 既耗时又需要较多的经验。近年来随着分子生物学技术的发展, 植物病原真菌的属种鉴定已得到长足的发展, 其中真菌 rDNA-ITS 序列分析是利用丰富的核酸数据库与已知属种的序列进行同源性比对, 来确认真菌的属和种, 该方法已被较多学者应用^[38-39]。本研究采用形态学鉴定结合分子生物学技术明确了菌株的分类地位, 这一研究方法可以为今后果蔬采后病害的快速鉴定提供有益的借鉴。

参考文献

- [1] Mizrahi Y, Nerd A, Nobel PS. Cacti as crops[J]. Horticultural Reviews, 1997(18): 291–319.
- [2] Anderson EF, Barthlott W, Brown R. The *Cactus* Family[M]. Portland: Timber Press, 2001.
- [3] Nerd A, Sitrit Y, Kaushik RA, et al. High summer temperatures inhibit flowering in vine pitaya crops (*Hylocereus* spp.)[J]. Scientia Horticulturae, 2002, 96(1/4): 343–350.

- [4] Merten S, Tropi-Cal PO. A review of *Hylocereus* production in the United States[J]. JPACD, 2003: 98-105.
- [5] 郑良永. 海南岛火龙果丰产栽培技术[J]. 热带农业科学, 2004, 24(4): 36-41.
- [6] 陈杰, 庞江琳, 李尚德, 等. 火龙果的微量元素含量分析[J]. 广东微量元素科学, 2004, 11(5): 56-57.
- [7] 王彬, 郑伟, 韦茜, 等. 火龙果的保健价值及发展前景[J]. 广西热带农业, 2004(3): 19-21.
- [8] 张娜, 李家政, 关文强, 等. 火龙果生物学及贮运保鲜技术研究进展[J]. 北方园艺, 2010(1): 229-231.
- [9] 李兴华. 21 世纪保健食品—火龙果[J]. 云南农业, 2001(7): 14.
- [10] 章四平. 效益看好, 火龙果尚有扩种空间[N]. 南方农村报, 2010-8-17.
- [11] Masanto M, Sijam K, Awang Y, et al. The first report of the occurrence of anthracnose disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. on dragon fruit (*Hylocereus* spp.) in Peninsular Malaysia[J]. American Journal of Applied Sciences, 2009, 6(5): 902-912.
- [12] 袁诚林, 张伟锋, 袁红旭. 粤西地区火龙果病害调查初报及防治措施[J]. 中国南方果树, 2004, 33(2): 49-50.
- [13] 王德凤, 韦茜, 杨汝, 等. 贵州罗甸火龙果病害的初步鉴定[J]. 山地农业生物学报, 2007, 26(3): 267-270.
- [14] 郑伟, 蔡永强, 戴良英. 火龙果病虫害的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2007, 35(6): 139-142.
- [15] 林正忠, 郭韦柏, 蔡叔芬. 台湾红龙果病害[J]. 丰年, 2006, 56(2): 38-42.
- [16] 韦茜, 蔡永强, 钟杰, 等. 火龙果炭疽病药效筛选试验[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(10): 2999-3000.
- [17] 郑伟. 贵州火龙果病害调查及主要病害防治研究[D]. 长沙: 湖南农业大学硕士毕业论文, 2008.
- [18] Ma TF, Yang B, Yu Y, et al. Market disease pathogens detection of imported fruits in Shanghai[J]. Agricultural Sciences in China, 2009, 8(9): 1087-1096.
- [19] Taba S, Miyahira N, Nasu K, et al. Fruit rot of Strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*[J]. Journal of General Plant Pathology, 2007, 73(5): 374-376.
- [20] 卢琨. 火龙果采后的保鲜贮运技术[J]. 世界热带农业信息, 2006(7): 24-25.
- [21] 许玲, 李学文, 滕康宁. 果蔬采后致病真菌的检测及其控制[J]. 食品科学, 2003, 24(7): 155-158.
- [22] 张向民. 镰刀菌属分类学研究历史与现状[J]. 菌物研究, 2005, 3(2): 59-62.
- [23] Booth C. The Genus *Fusarium*[M]. Kew: CMI, 1971: 20-30.
- [24] 邵力平, 沈瑞祥, 张素轩, 等. 真菌分类学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1984: 250-300.
- [25] 许志刚. 普通植物病理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 131-132.
- [26] 张中义, 冷怀琼, 张志铭, 等. 植物病原真菌学[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1988: 400-460.
- [27] 刘少华, 陆金萍, 朱瑞良, 等. 一种快速简便的植物病原真菌基因组 DNA 提取方法[J]. 植物病理学报, 2005, 35(4): 362-365.
- [28] White TJ, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]//PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. San Diego: Academic Press, 1990: 315-322.
- [29] Mishra PK, Fox RTV, Culham A. Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic *Fusaria*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, 218(2): 329-332.
- [30] 苏世鸣, 任丽轩, 杨兴明, 等. 西瓜专化型尖孢镰刀菌的分离鉴定及水稻根系分泌物对其生长的影响[J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(1): 57-62.
- [31] 肖荣凤, 朱育菁, 蓝江林, 等. 黄瓜尖孢镰刀菌的营养特性[J]. 中国农学通报, 2008, 24(5): 299-303.
- [32] 王文华, 王葵娣, 曾会才. 香蕉枯萎病的危害及其防治策略[J]. 广西热带农业, 2007(3): 19-21.
- [33] 王振中. 香蕉枯萎病及其防治研究进展[J]. 植物检疫, 2006, 20(3): 198-200.
- [34] 白丽艳, 张全党, 李斌, 等. 新疆阿勒泰地区大豆镰刀菌根腐病原鉴定及致病性测定[J]. 新疆农业科学, 2009, 46(3): 543-548.
- [35] 王国良, 任善于, 应兴德. 香石竹萎蔫病病原的初步研究[J]. 植物病理学报, 1998, 28(1): 61-65.
- [36] 王继华, 陆琳, 唐开学. 香石竹尖孢镰刀菌 PCR 检测[J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2004, 26(4): 417-419.
- [37] 蓝江林, 刘波, 肖荣凤, 等. 温度对几种作物尖孢镰刀菌菌株生长的影响[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2004, 43(S1): 67-70.
- [38] 黄学顺, 付艳平, 秦乐业, 等. 梔子叶斑病及其病原的鉴定[J]. 华中农业大学学报: 自然科学版, 2006, 25(1): 21-25.
- [39] 林晓民, 李振岐, 王少先. 真菌 rDNA 的特点及在外生菌根鉴定中的应用[J]. 西北农业学报, 2005, 14(2): 120-125.