

# 氨基酸对黄瓜枯萎病病原菌生长发育的影响

潘 凯, 吴凤芝

(东北农业大学 园艺学院, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 在组培条件下, 系统研究了与作物抗病性相关的 11 种氨基酸对黄瓜枯萎病菌生长发育各项指标的影响。依据各处理对病菌生长发育的影响可将供试氨基酸分为促菌氨基酸和抑菌氨基酸两类; 促菌氨基酸包括: 天冬氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸; 抑菌氨基酸包括: 精氨酸、丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸。两类氨基酸的促进和抑制作用, 随处理浓度的增加而增强; 促菌氨基酸中天冬氨酸的促进作用不明显, 抑菌氨基酸中谷氨酸的抑制作用相对较弱。在低浓度(0.5 g/L)条件下, 与对照相比较, 除谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸显著抑制病菌孢子的产生外, 其他氨基酸对病菌生长发育各项指标影响不显著或呈显著促进作用; 在高浓度(1.5 g/L)处理条件下, 除天冬氨酸外, 各处理对病菌生长相应的促进或抑制作用均显著高于对照。

**关键词:** 氨基酸; 黄瓜枯萎病病菌

**中图分类号:** S 436.421.1<sup>+</sup>3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)02-0228-04

游离氨基酸作为作物根系分泌物的重要成分之一<sup>[1-8]</sup>, 有研究表明氨基酸对棉花、茄子等作物的土传病害病原菌生长发育的影响不同<sup>[3-5]</sup>。枯萎病病菌(*Fusarium oxysporum*, f. sp. *cucumerinum* owen)是引起葫芦科蔬菜枯萎病的真菌, 属于半知菌亚门镰孢属的尖孢镰刀菌中 5 个专化型之一的黄瓜专化型<sup>[7]</sup>。该病菌高度侵染黄瓜和甜瓜, 轻度侵染西瓜, 是一种世界性的典型土传真菌病害, 严重威胁和阻碍着黄瓜生产的发展<sup>[9]</sup>。有研究表明, 黄瓜根系分泌物与枯萎病病原菌的生长发育密切相关, 其中可溶性糖含量与病原菌生长发育呈正相关, 酚酸类物质在低浓度下对病原菌有刺激作用, 较高浓度下对病原菌有抑制作用; 但关于氨基酸与黄瓜

枯萎病病原菌生长发育相关性的研究未见报道。

试验以 11 种可能与土传病原菌生长发育相关的氨基酸为研究对象, 采用平板培养的方法, 旨在弄清楚氨基酸对黄瓜枯萎病病原菌生长发育的影响, 为进一步明确黄瓜根系分泌物组分与枯萎病之间关系奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*, f. sp. *Cucumerinum*): 分离于东北农业大学试验实习基地温室内的黄瓜枯萎病病株。用 PDA 培养基(马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、水 1 000 mL, 固体培养基加 20 g 琼脂)进行培养保存。

### 1.2 试验设计

试验设计及处理编号见表 1。

氨基酸培养基的制备: 在水洋菜培养基中(硝酸钾 2.0 g, 硫酸镁 1.0 g, 磷酸二氢钾 1.0 g, 果糖 30.0 g, 洋菜 17.0 g, 蒸馏水 1000 mL), 分别加入各处理浓度待测的氨基酸并制成平板, 每种氨基酸的含量分别为 0.5、1.0 及 1.5 g/L。

### 1.3 测定项目及方法

1.3.1 不同氨基酸处理对枯萎病病菌孢子萌发影响的测定 参照杨革(2004)的方法略加改进<sup>[16]</sup>, 用配好的氨基

表 1 氨基酸 试验设计及处理编号

氨基酸 浓度/g·L <sup>-1</sup>	Asp	Met	Leu	Gly	Phe	His	Arg	Ser	Glu	Lys	Tyr
0	CK										
0.5	Asp0.5	Met0.5	Leu0.5	Gly0.5	Phe0.5	His0.5	Arg0.5	Ser0.5	Glu0.5	Lys0.5	Tyr0.5
1.0	Asp1.0	Met1.0	Leu1.0	Gly1.0	Phe1.0	His1.0	Arg1.0	Ser1.0	Glu1.0	Lys1.0	Tyr1.0
1.5	Asp1.5	Met1.5	Leu1.5	Gly1.5	Phe1.5	His1.5	Arg1.5	Ser1.5	Glu1.5	Lys1.5	Tyr1.5

供试氨基酸: 天冬氨酸 Asp、甲硫氨酸 Met、亮氨酸 Leu、甘氨酸 Gly、苯丙氨酸 Phe、组氨酸 His、精氨酸 Arg、丝氨酸 Ser、谷氨酸 Glu、赖氨酸 Lys、酪氨酸 Tyr。为蛋白质分析用氨基酸, 由东北农业大学蔬菜系提供。

第一作者简介: 潘凯(1974), 男, 博士, 讲师, 现主要从事园艺商品学、蔬菜栽培生理及无土栽培学方向教学与科研工作。E-mail: mugonglin@sina.com.

通讯作者: 吴凤芝。

收稿日期: 2007-08-28

酸溶液配制孢子悬浮液,保湿于 25℃下,振荡培养 12 h 后,镜检孢子萌发情况,以无菌水作对照,每处理重复 3 次,每重复检查 10 个视野。

1.3.2 不同氨基酸处理对枯萎病病原菌产孢量影响的测定 参照杨革(2004)的方法略加改进<sup>[16]</sup>,用直径 0.6 cm 的打孔器打取生长一致、培养基厚度一致的等龄菌饼置于制备好的氨基酸培养基上,并将其平板倒置于(25±1)℃恒温箱中培养。待 5 d 后测定病原菌的产孢量,以加入无菌水的培养基为对照,每个处理 3 次重复。

1.3.3 不同氨基酸处理对枯萎病病原菌菌丝生长影响的测定 参照杨革(2004)的方法略加改进<sup>[16]</sup>,用直径 0.6 cm 的打孔器打取生长一致、培养基厚度一致的等龄菌饼置于制备好的氨基酸培养基上,于(25±1)℃恒温箱中培养,5 d 后测定菌落直径,以加入无菌水的培养基为对照,每处理重复 3 次。

1.3.4 不同氨基酸处理对枯萎病病原菌菌重影响的测定 参照杨革(2004)的方法略加改进<sup>[16]</sup>,用直径 0.6 cm 的打孔器打取生长一致、培养基厚度一致的等龄菌饼置于制备好的氨基酸培养基上,于(25±1)℃恒温箱中培养 5 d 后测定病原菌菌重,以加入无菌水的培养基为对照,每处理重复 3 次。菌重的测定方法参照干重比色法测定微生物的生物量法(杨革,2004)。

1.3.5 不同氨基酸处理对枯萎病病原菌化感作用效应敏感指数(RI)的计算 采用 Williamson<sup>[23]</sup>的方法,加以调整。化感作用效应敏感指数 RI 表示各处理对病原菌化感作用。当  $T \geq C$  时,  $RI = 1 - C/T$ ; 当  $T < C$  时,  $RI = T/C - 1$ ; C 为对照值, T 为处理值。  $RI > 0$  表示促进,  $RI < 0$  表示抑制。各处理相对于对照的抑制率或促进率等于  $RI \times 100\%$ 。

RI1: 以孢子萌发率计算的各处理相当于对照的抑制率或促进率(%); RI2: 以 5 d 产孢量计算的各处理相当于对照的抑制率或促进率(%); RI3: 以 5 d 菌饼的直径计算的各处理相当于对照的抑制率或促进率(%); RI4: 以 5 d 菌饼的重量计算的各处理相当于对照的抑制率或促进率(%)。

## 1.4 数据分析方法

该试验原始数据的处理采用 Excel(2001)软件完成,0.05 水平差异显著性测验采用 SAS(v6.12)软件完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度氨基酸对枯萎病病原菌生长发育的影响

不同浓度氨基酸对病原菌孢子萌发的影响如图 1 所示。结果表明:各氨基酸在低浓度(0.5 g/L)条件下,除精氨酸处理的孢子萌发率低于对照外,其他氨基酸处理均对病原菌孢子萌发有一定的促进作用,其中谷氨酸处理显著高于对照。天冬氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸 6 种氨基酸对病原菌孢子萌发有促进作

用,且均随处理浓度增加促进作用增强;除天冬氨酸外,其他 5 种氨基酸处理在较高浓度下(1.0 g/L 和 1.5 g/L)的孢子萌发率显著高于对照。精氨酸、丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸 5 种氨基酸处理中,病原菌孢子萌发率随处理浓度的增加而下降,在较高浓度下(1.0 g/L 和 1.5 g/L),除 Glu1.0 处理的萌发率略高于对照外,其他处理的萌发率都显著低于对照。

不同浓度氨基酸对病原菌孢子产量的影响如图 2 所示。结果表明:天冬氨酸低浓度处理的产孢量高于对照,较高浓度处理的产孢量低于对照,但各浓度处理间差异不显著。甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸 5 种氨基酸对病原菌产孢量有促进作用,且均随处理浓度的增加促进作用增强;除组氨酸各浓度处理和 Met1.0 外,其他 4 种氨基酸较高浓度下(1.0 g/L、1.5 g/L)的产孢量显著高于对照。精氨酸、丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸 5 种氨基酸处理中,病原菌 5 d 产孢量随处理浓度的增加而下降;除 Gly 0.5、Phe 0.5 的产孢量与对照差异不显著外,其他各处理的产孢量显著低于对照。

不同浓度氨基酸对病原菌菌丝生长的影响如图 3 所示。结果表明:各氨基酸在低浓度(0.5 g/L)条件下,11 种氨基酸处理均对病原菌菌丝生长有一定的促进作用,其中 His 0.5 处理显著高于对照。天冬氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸 6 种氨基酸对病原菌菌丝生长有促进作用,且促进作用随处理浓度的增加而增强;除 Asp 1.0、Phe 1.0 两个处理外,在较高浓度下(1.0 g/L、1.5 g/L)各氨基酸的病原菌菌丝直径都显著高于对照。精氨酸、丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸 5 种氨基酸处理中,培养 5 d 后的病原菌菌丝直径测量值随处理浓度增加而降低;在较高浓度下(1.0 g/L 和 1.5 g/L)除 Glu 1.0、Tyr 1.0 外,各氨基酸的病原菌菌丝直径都显著低于对照。

不同浓度氨基酸对病原菌菌重的影响如图 4 所示。结果表明:各氨基酸在低浓度(0.5 g/L)条件下,除精氨酸、丝氨酸和酪氨酸处理的病原菌菌重低于对照外,其他氨基酸处理的菌重均高于对照,其中谷氨酸处理显著高于对照。天冬氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸 6 种氨基酸对病原菌菌重生长有促进作用,且促进作用随处理浓度的增加而增强;在较高浓度下(1.0 g/L、1.5 g/L)各氨基酸的病原菌菌丝直径都显著高于对照。精氨酸、丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸 5 种氨基酸处理的病原菌菌重随处理浓度的增加而降低;在较高浓度下(1.0 g/L 和 1.5 g/L)各氨基酸的病原菌菌重都显著低于对照。

### 2.2 不同种类氨基酸对枯萎病病原菌生长发育的影响

不同种类氨基酸对病原菌孢子萌发的影响如表 2 和图 5 所示。结果表明:天冬氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨

酸、苯丙氨酸、组氨酸、谷氨酸处理对病菌孢子萌发有促进作用; 其中甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸处理的孢子萌发率显著高于对照; 以苯丙氨酸的促进

作用最强, 化感指数达 18.1。精氨酸、丝氨酸、赖氨酸、酪氨酸处理对病菌孢子萌发有显著的抑制作用; 其中赖氨酸的抑制作用最强, 化感指数达-39.3。

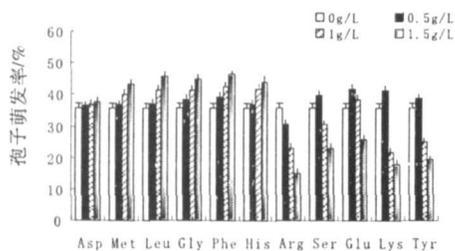


图1 不同浓度氨基酸对病原菌孢子萌发率影响

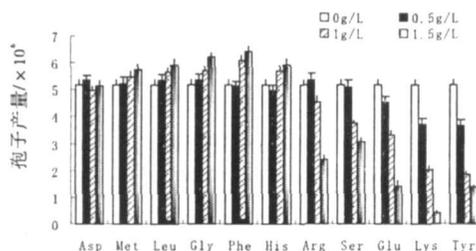


图2 不同浓度氨基酸对处理 5 d 病原菌产孢量影响

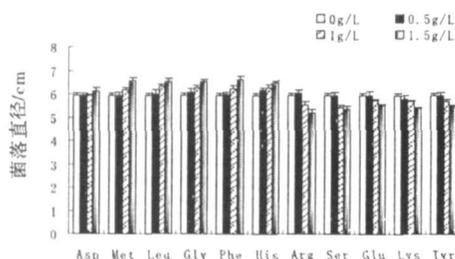


图3 不同浓度氨基酸对处理 5 d 病原菌菌丝生长影响

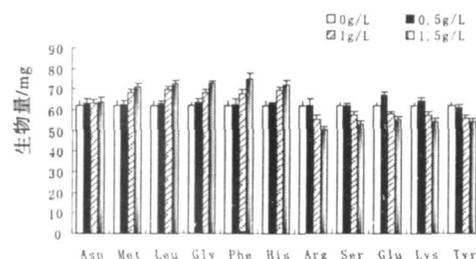


图4 不同浓度氨基酸对处理 5 d 病原菌菌重影响

不同种类氨基酸对病菌孢子产量的影响如表 2 和图 5 所示。结果表明: 甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸处理对病菌孢子产量有促进作用; 其中亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸处理的孢子产量显著高于对照; 以苯丙氨酸的促进作用最强, 化感指数达 16.9。

天冬氨酸、精氨酸、丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸处理对病菌孢子产量有显著的抑制作用; 其中酪氨酸的抑制作用最强, 化感指数达-64.6。

不同种类氨基酸对病菌菌丝生长的影响如表 2 和图 5 所示。结果表明: 天冬氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸

处理对病菌菌丝生长有显著的促进作用; 以亮氨酸的促进作用最强, 化感指数达 6.6。精氨酸、丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸处理对病菌菌丝生长有抑制作用; 其中精氨酸、丝氨酸、赖氨酸、酪氨酸处理显著低于对照; 以丝氨酸的抑制作用最强, 化感指数达-7.8。

表 2 不同氨基酸对病原菌的影响

氨基酸	12 h 孢子萌发 %	5 d 产孢量/×10 <sup>6</sup>	5 d 菌丝直径 cm	5 d 菌重/mg
Asp1.0	37.07±1.61	4.98±0.17	5.96±0.04	63.50±1.53
Met1.0	40.25±1.42	5.48±0.22	6.20±0.09	68.56±1.79
Leu1.0	41.36±1.52	5.67±0.16	6.32±0.13	70.02±1.59
Gly1.0	41.46±1.50	5.69±0.19	6.28±0.12	68.22±1.71
Phe1.0	42.35±1.69	6.08±0.24	6.26±0.15	68.19±1.84
His1.0	41.66±1.71	5.70±0.20	6.28±0.16	69.84±1.38
CK	35.86±1.50	5.20±0.20	5.93±0.11	62.40±1.85
Arg1.0	23.04±1.45	4.53±0.24	5.56±0.16	55.67±2.22
Ser1.0	30.42±1.50	3.75±0.15	5.47±0.11	57.65±1.51
Glu1.0	38.54±1.52	3.32±0.18	5.74±0.07	58.08±1.63
Lys1.0	21.78±1.58	2.05±0.17	5.69±0.06	57.72±1.54
Tyr1.0	24.85±1.48	1.84±0.14	5.70±0.09	56.10±1.69

注: 小写字母表示 P<0.05 水平, 同一列中不同字母代表差异显著(以下同)。

不同种类氨基酸对病菌菌重的影响如表 2 和图 5 所示。结果表明: 天冬氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸处理对病菌菌重增加有的促进作用; 其中甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸处理的菌重直径显著高于对照, 彼此间差异不显著; 以亮氨酸的促进作用最强, 化感指数达 12.2。精氨酸、丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸处理的病菌菌重显著低于对照, 彼此间差异不显著; 其中以精氨酸的抑制作用最强, 化感指数达-10.8。

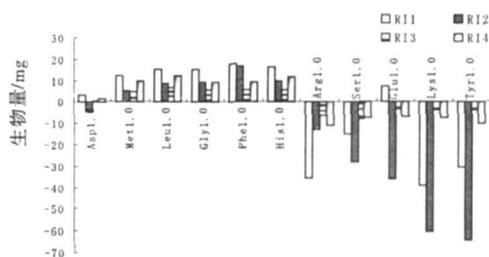


图5 不同氨基酸对黄瓜枯萎病病菌化感指数比较

## 3 讨论

研究表明,各氨基酸处理浓度较低时,除谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸处理的显著抑制孢子的产生外,其他处理对病菌生长发育无显著影响或显著促进。说明大多数氨基酸在低浓度范围内,对病菌微生物的生长是有益的,氨基酸是合成蛋白质的前提,微生物细胞中主要的固形成分是蛋白质,可以说氨基酸是微生物生长所必须的。氨基酸作为一种碳源,被微生物吸收利用的过程目前还不十分清楚,通常是某一种氨基酸是蛋白质的重要原料之一,或与某种酶的活性部位有关,或维持酶的天然构象,或是辅酶的组分,成为微生物所需的生长因子<sup>[1]</sup>。

依据各处理的对病菌生长发育的影响可将供试氨基酸分为促菌氨基酸、抑菌氨基酸两类;促菌氨基酸包括:天冬氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、甘氨酸、苯丙氨酸、组氨酸;抑菌氨基酸包括:精氨酸、丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸、酪氨酸。两类氨基酸的促进和抑制作用,随处理浓度增加而增强;促菌氨基酸中天冬氨酸的促进作用不明显,抑菌氨基酸中谷氨酸的抑制作用相对较弱。该研究结果与刘素萍<sup>[4]</sup>的研究结果相似,刘素萍研究认为,在棉花根系分泌物中丙氨酸、天冬氨酸、组氨酸、脯氨酸、异亮氨酸对棉枯萎菌的菌落直径生长略有刺激作用,精氨酸、谷氨酸、赖氨酸、丝氨酸,则有抑制作用<sup>[4]</sup>;但王芳研究认为苏氨酸、脯氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸对茄子黄萎病病菌菌丝生长有促进作用,甘氨酸、组氨酸、精氨酸、亮氨酸则有抑制作用,天冬氨酸在低浓度时有促进作用,高浓度时有抑制作用<sup>[5]</sup>;甄文超<sup>[2]</sup>根据不同氨基酸对3种根病病原菌 *F. oxysporum* 和 *R. solani*、*V. dahliae* 菌丝生长的作用将检测到的氨基酸分为两类:抑制型氨基酸:天冬氨酸和谷氨酸;选择促进型:丝氨酸、苏氨酸、脯氨酸和精氨酸;两人的研究结果与该研究所得结果差异很大。不同研究间的结果

差异可能是由于研究所用病原菌种类不同而导致的,同时上述研究者的相关研究都以病菌单一的某个生长发育指标作为研究内容得出的。

研究将供试氨基酸按照对黄瓜枯萎病病菌的化感特性进行了初步的划分,有待于在对不同抗性黄瓜根系分泌物中氨基酸组分进行进一步的分析与验证。

## 参考文献

- [1] Francisco J. Root exudates of wild oats allelopathic effect on spring wheat [J]. *Phytochem*, 1991, 30: 2199-2201.
- [2] Ingrid Krafizkyk. Soluble root exudates of maize; Influence of potassium supply and rhizosphere microorganism [J]. *Soil Biol Biochem*, 1984, 16: 315-322.
- [3] 袁虹霞,李洪连,王焯,等.棉花不同抗性品种根系分泌物分析及其对黄萎病菌的影响. *植物病理学报* 2002(2): 127-131.
- [4] 刘素萍,杨之为.根系分泌物[J]. *中国生态农业学报*, 1998 6(2): 34-36.
- [5] 王芳.茄子连作障碍机理研究[D]. *中国农业大学博士论文*, 2003: 46-51.
- [6] 祝金水.高抗黄萎病的低酚棉种质系中 5629 的选育与抗性机理研究[J]. *棉花学报* 2004 16(5): 307-312.
- [7] 王芳,黄朝表,刘鹏,等.铝对荞麦和金荞麦根系分泌物的影响[J]. *水土保持学报*, 2005, 19(2): 106-109.
- [8] 吴凤芝,孟立君,文景芝.黄瓜根系分泌物对枯萎病菌丝生长的影响[J]. *中国蔬菜*, 2002(5): 26-27.
- [9] 韩雪,吴凤芝,潘凯.不同抗性黄瓜品种根系分泌物对枯萎病病原菌的影响[J]. *中国蔬菜* 2006(5): 13-15.
- [10] 周长林.微生物学[M].北京:中国医药科技出版社,2004: 79-88, 134-139.
- [11] 甄文超,王晓燕,曹克强,等.草莓根系分泌物和腐解物中氨基酸的检测及其化感作用研究[J]. *河北农业大学学报*, 2004(2): 76-80.
- [12] 吴凤芝.外源酚酸对黄瓜自毒作用的生理生化机制研究[D]. *哈尔滨东北农业大学博士论文*, 2002: 24-26.
- [13] Wu Fengzhi, Han Xue, Wang Xuezheng. Allelopathic effect of root exudates of cucumber cultivars on *Fusarium oxysporum* [J]. *Allelopathy Journal* 2006 18(1): 163-172.
- [14] 陈声明,刘丽丽.微生物学研究法[M]. *中国农业科技出版社*, 1996: 81-82.
- [15] 杨革.微生物学实验教程[M].北京:科学出版社,2004: 50-53.
- [16] 冯东听,李宝栋.黄瓜枯萎病病原菌研究及抗病育种进展[J]. *中国蔬菜* 1994(5): 56-58.

Effects of Amino Acids on Growth and Development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*

PAN Kai WU Feng-zhi

(Horticulture College, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

**Abstract:** In laboratory bioassays, effects of 11 kinds of amino acids associated with resistance on growth and development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* were studied. The results showed, according their effects on *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*, amino acids tested were divided into promoting amino acids and inhibitory amino acids. Promoting amino acids included Asparagine, Methionine, Leucine, Glycine, Phenylalanine and Histidine. Inhibitory amino acids included Arginine, Serine, Glutamic acid, Lysine and Tryptophane. The promoting or inhibitory action increased with treatment concentration increased. The promoting action of Asparagine was not obvious among promoting amino acids, the inhibitory action of Glutamic acid was relatively weak. Compared to control, except Glutamic acid, Lysine and Tryptophane inhibited the spore germination significantly ( $p < 0.05$ ), other amino acids showed no significant effect or significant promoting effects on growth and development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* at lower treatment concentration (0.5 g/L) ( $p < 0.05$ ). At higher treatment concentration (1.5 g/L), compared to control, except for Asparagine, other amino acids all showed the significant promoting or inhibitory effect on *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* ( $p < 0.05$ ).

**Key words:** Amino acid; *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*