

# 不同氮、碳源对黄花草乌头根腐病病原菌生长的影响

魏书琴

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

**摘要:**采用凹玻片法,通过不同碳源和氮源处理条件对黄花草乌头根腐病的镰刀菌的生长影响进行了研究。结果表明:不同碳源对该病原菌分生孢子萌发均有促进作用,其中单糖>二糖>多糖;黄花草乌头根腐病菌对氮源的吸收效果由好至低的顺序依次为:必需氨基酸>酰胺类>铵盐类>硝酸盐类,其中丙氨酸、天门冬酰胺、谷氨酸、尿素对病原菌孢子萌发有一定的促进作用,而其它盐类氮源对病原菌孢子萌发有一定抑制作用。

**关键词:**碳源;氮源;黄花草乌头;根腐病菌

**中图分类号:** Q 949.746.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2010)24—0160—03

黄花草乌头(*Aconitum coreanum*)为毛茛科乌头属多年生草本植物。又名关白附、关附子,具有祛风燥湿、化痰、止痛等功效,主要用于治疗腰膝关节冷痛、头痛、口眼歪斜、冻疮等症。近年研究发现,其块根中的关附甲素成分是治疗心律不齐的特效药,现已是制药企业新研制的国家一类新药“盐酸关附甲素注射液”的主要原料。黄花草乌头主要分布在我国的吉林、辽宁、黑龙江等省的山区、半山区。由于近年来掠夺式采挖,野生资源已濒临灭绝。为了满足需求,急需进行人工栽培,扩大生产面积。在黄花草乌头人工栽培生产中存在着很多病虫害等实际生产问题,其中,黄花草乌头根腐病就是其中一个严重影响黄花草乌头人工栽培的一大难题,现针对黄花草乌头根腐病病原菌对不同碳源和氮源的需求进行了详细的研究,为黄花草乌头的人工栽培提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

分离得到的黄花草乌头根腐病病原菌。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 不同碳源对病原菌孢子萌发的影响** 配制果糖、甘露醇、葡萄糖、麦芽糖、糊精、乳糖、蔗糖等孢子营养液,用凹玻片法于25℃恒温培养箱培养,3次重复,以清水孢子液作为对照,于3、6、9、12 h 分别镜检孢子萌发情况,并计算各培养处理下孢子的萌发率<sup>[1-5]</sup>。

**1.2.2 不同氮源对病原菌孢子萌发的影响** 配制氨水、硝酸钾、硝酸钠、硫酸铵、氯化铵、尿素、谷氨酸、天门冬酰胺、丙氨酸等孢子营养液,用凹玻片法于25℃恒温培养

箱培养,3次重复,以清水孢子液作为对照,于3、6、9、12 h 分别镜检孢子萌发情况,并计算各培养液处理下孢子的萌发率<sup>[1-5]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同碳源对病原菌生长的影响

由图1可知,黄花草乌头根腐病菌在不同碳源处理下,孢子萌发率为葡萄糖>蔗糖>乳糖>麦芽糖>果糖>糊精>甘露醇>清水对照。其中葡萄糖最适合病原菌孢子的萌发,清水最不适合病原菌孢子萌发,其它各种碳源较适合病原菌孢子的萌发。此外,由图1还可以看出,在不同碳源处理下,病原菌的孢子萌发率都与时间成正比。

对不同碳源对病原菌生长影响的方差分析表明(表1),各不同碳源处理条件下,病原菌的孢子萌发率差异不显著,其中清水对照、甘露醇、糊精、果糖、麦芽糖不同处理的条件下,病原菌孢子萌发率差异不显著;甘露醇、糊精、果糖、麦芽糖、乳糖等不同处理条件下,孢子萌发率差异不显著;糊精、果糖、麦芽糖、乳糖、蔗糖和葡萄糖等不同处理条件下,孢子萌发率差异不显著;但清水对照与乳糖、蔗糖、葡萄糖等不同处理间差异极显著;甘露醇与蔗糖、葡萄糖等不同处理间差异极显著。

表1 不同碳源对孢子萌发率影响的方差分析

	差异显著性	
	0.05	0.01
清水对照	a	A
甘露醇	a	AB
糊精	a	ABC
果糖	a	ABC
麦芽糖	a	ABC
乳糖	a	BCD
蔗糖	a	CD
葡萄糖	a	CD

**作者简介:**魏书琴(1974),女,讲师,现从事药用植物保护教学与科研工作。E-mail:wsqgl@163.com。

**收稿日期:**2010—10—27

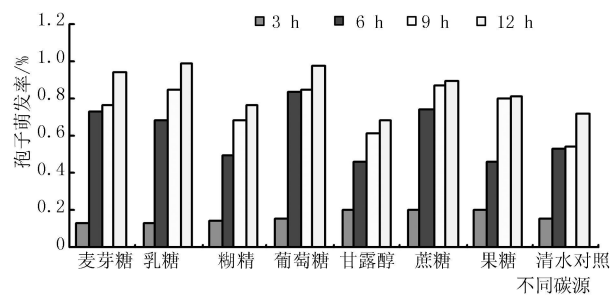


图1 不同碳源对孢子萌发率的影响

2.2 不同氮源对病原菌生长的影响

由图2可知,黄头乌头根腐病菌在不同氮源处理下,其孢子萌发率分别是丙氨酸>天门冬酰胺>谷氨酸>尿素>对照>氯化铵>硫酸铵>硝酸钠>硝酸钾>氨水。其中丙氨酸最适合病原菌孢子的萌发,氨水最不适合病原菌孢子萌发,并且氨水、硝酸钾、硝酸钠、硫酸铵、氯化铵等处理条件下,病原菌孢子萌发率低于清水对照,也就是说氨水、硝酸钾、硝酸钠、硫酸铵、氯化铵等对病原菌的孢子萌发有一定的抑制作用。而丙氨酸、天门冬酰胺、谷氨酸和尿素对病原菌孢子萌发率有一定的促进作用。而且,由图2还可看出,在不同碳源处理下,病原菌的孢子萌发率都与时间成正比。

对不同氮源对病原菌生长影响进行方差分析表明(表2),不同氮源处理条件下,氨水、硝酸钾、硝酸钠、硫酸铵、氯化铵等处理之间病原菌孢子萌发率差异不显著;硝酸钠、硫酸铵、氯化铵、尿素、清水对照、谷氨酸等不同处理之间差异不显著;氯化铵、尿素、清水对照、谷氨酸、天门冬酰胺等不同处理之间差异不显著;但氨水和硝酸钾不同处理与尿素、清水对照、谷氨酸、天门冬酰胺、丙氨酸等不同处理之间的差异显著;氨水、硝酸钾、硝酸钠、硫酸铵、氯化铵等不同处理与天门冬酰胺、丙氨酸等不同处理间差异显著;而且氨水、硝酸钾、硝酸钠、硫酸铵、氯化铵与尿素、清水对照、谷氨酸、天门冬酰胺、丙氨酸等处理间差异极显著;硝酸钾、硝酸钠、硫酸铵、氯化铵与清水对照、谷氨酸、天门冬酰胺、丙氨酸等不同处理间也是差异极显著。

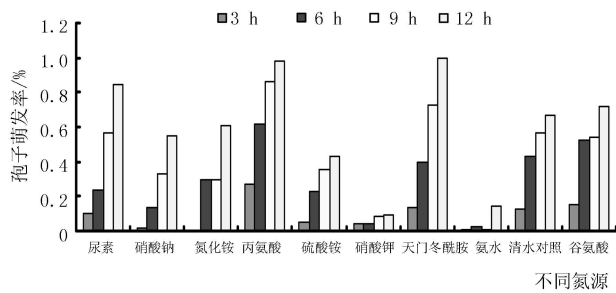


图2 不同氮源对孢子萌发率的影响

表2 不同氮源对病原菌孢子萌发率的方差分析

	差异显著性	
	0.05	0.01
氨水	a	A
硝酸钾	a	AB
硝酸钠	ab	ABC
硫酸铵	ab	ABC
氯化铵	abc	ABC
尿素	bcd	BCD
清水对照	bcd	CD
谷氨酸	bcd	CD
天门冬酰胺	cd	CD
丙氨酸	d	D

3 结论

3.1 不同碳源处理对病原菌生长的影响

由以上黄头乌头根腐病菌在不同碳源处理条件下孢子萌发率进行分析可知,黄头乌头根腐病菌对单糖的吸收效果最好,对二糖的吸收效果比较好,对多糖和糊精等的吸收效果不太好,即黄头乌头根腐病的镰刀菌对碳源的吸收效果由好至低的顺序依次为:单糖>二糖>多糖。

造成以上结果的原因是由于单糖结构比较简单,所以比较有利于病原菌的吸收和利用;二糖因为结构较复杂,所以降解较慢,较不容易被病原菌吸收和利用;而多糖类的结构更加复杂,降解更慢,更不容易被病原菌吸收和利用,这与碳源结构的特点紧密相关。

3.2 不同氮源处理对病原菌生长的影响

由以上黄头乌头根腐病菌在不同氮源处理条件下孢子萌发率进行分析可知,黄头乌头根腐病菌对氮源的吸收效果丙氨酸>天门冬酰胺>谷氨酸>尿素>对照>氯化铵>硫酸铵>硝酸钠>硝酸钾>氨水。从营养角度进行分析可知,黄头乌头根腐病菌对氮源的吸收效果由好至低的顺序依次为:必需氨基酸>酰胺类>铵盐类>硝酸盐类。因为,必需氨基酸很容易被生物吸收,而其它硝态氮和氨态氮不易被生物吸收。

参考文献

[1] 王利国,王晓英,翁伟华,等.广金钱草根腐病病原生物学特性研究[J].中华中医药学刊,2008(1):147-149.  
[2] 张彩玲,陆宗芳,王保全.环境因素对尖孢镰刀菌分生孢子萌发的影响[J].甘肃农业科技,2008(2):5-8.  
[3] 宋娟,马玺,周洪友,等.沙打旺根腐病菌的生物学特性研究[J].内蒙古农业大学学报,2009(1):132-137.  
[4] 龚弘强,黄丽丽,乔宏萍,等.西藏青稞籽粒燕麦镰刀菌生物学特性研究[J].干旱地区农业研究,2007,25(2):21-25.  
[5] 刘春元,邢小萍,李洪连,等.玉米苗枯病菌生物学特性及药剂防治研究[J].玉米科学,2007,15(3):136-140.  
[6] 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):299-301.

# 葡萄根癌病菌的快速检测技术

樊金娟<sup>1</sup>, 王 平<sup>1</sup>, 刘长远<sup>2</sup>, 赵奎华<sup>2</sup>, 梁春浩<sup>2</sup>

(1. 沈阳农业大学 植物保护学院, 辽宁 沈阳 110161; 2. 辽宁省农业科学院 植物保护研究所, 辽宁 沈阳 110161)

**摘要:** 根据葡萄根癌病菌核糖体基因间隔片段(16S-23S Ribosomal DNA Intergenic Spacer, ITS)特异区域设计, 合成了一对引物, 建立了快速检测葡萄根癌病菌的 PCR 方法, 并对反应条件进行优化, 组装成快速检测试剂盒。结果表明: 只有葡萄根癌病菌能扩增出大小为 758 bp 的特异性条带, 而非葡萄根癌病菌均未能扩增出任何条带。检测灵敏度达 10 个细菌/ $\mu$ L 左右, 且稳定性好, 经多次反复冻融, 扩增条带未发现有明显变化。通过对田间病样进行检测, 证实该试剂盒具有操作简便、快速(4 h 左右完成检测)、灵敏度高、特异性强、重复性和稳定性好等优点。

**关键词:** 葡萄根癌病菌; 快速检测; 试剂盒

**中图分类号:** S 432 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)24-0162-04

葡萄根癌病是由葡萄土壤杆菌(*Agrobacterium vitis* Ophel & Kerr)引起的一种的土传病害。葡萄土壤杆菌从侵入到显瘤需数周到 1 a 时间, 多为 2~3 个月。而寄主细胞变成癌瘤后, 即使没有病菌癌瘤仍能继续扩大, 癌瘤有时易与生产中的嫁接愈伤瘤混淆。在中国东北、华北、西北、黄河及长江流域的许多省市区都有葡萄根癌

病发生, 有的葡萄园发病率高达 80%~90%, 产量损失 30%~70%, 甚至绝收, 造成了重大经济损失。

葡萄主要利用茎段扦插和嫁接等方式进行繁殖, 由于葡萄根癌病的潜伏期比较长, 苗木带菌是导致该病蔓延和扩散的主要途径。随着该病危害的加重, 近年来, 我国已将葡萄根癌病列入检疫对象。所以有效的检疫手段是防止葡萄根癌病传播蔓延的第一道防线。在对苗木进行根癌病菌的检疫检测过程中, 研究了很多方法, 如血清取样法(Serological sampling procedure)<sup>[1]</sup>、水一排量方法(Water-displacement)<sup>[2]</sup>、滑动凝集试验(The slide agglutination test, 简称 SAT)<sup>[3]</sup>、单克隆抗体(Monoclonal antibody, 简称 McAb)<sup>[4]</sup>等。但上述方法一方面操作复杂, 对实验室条件要求高; 另一方面检测周期比较长, 灵敏度低。因此, 非常有必对葡萄根癌病菌建立一种简单、快速、准确的检测方法, 从源头上控制病害的

**第一作者简介:** 樊金娟(1972-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事植物分子生物学研究工作。E-mail: jinjuanf@sohu.com.

**通讯作者:** 赵奎华(1955-), 男, 博士, 研究员, 现从事园艺作物病害防治研究工作。E-mail: zhkhua55@sina.com.

**基金项目:** 国家农业科技成果转化资助项目(2008GB2B000060); 辽宁省农业科学院博士后工作站资助项目。

**收稿日期:** 2010-10-18

## Effect of Different Nitrogen Sources and Carbon Sources on Pathogens Growth of *Aconitum coreanum* Root Rot Disease

WEI Shu-qin

(Jilin Agricultural Science and Technology College Jilin, Jilin 132101)

**Abstract:** Used concave slide method, fusarium growth influence of *Aconitum coreanum* root rot disease by different carbon and nitrogen treatment were studied. The results showed that the pathogen spore germination were promoted under different carbon sources, simple sugars> disaccharide> polysaccharide. pathogens of *Aconitum coreanum* root rot disease to carbon absorption from high to low as follows: essential amino acids> amides> ammonium salt type> nitrate, which alanine, asparagine, glutamic acid, urea spore had some role in promoting nitrogen sources, the other salts inhibited pathogen spore germination.

**Key words:** nitrogen sources; carbon sources; *Aconitum coreanum*; root rot disease