

# 芸薹根肿菌的休眠孢子萌发条件的研究

张 铨 哲<sup>1</sup>, 陈 聪<sup>1</sup>, 解 明 静<sup>1</sup>, 孙 畅<sup>1</sup>, 芮 星 海<sup>1</sup>, 朴 海 金<sup>2</sup>

(1. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 延边州农业技术推广总站, 吉林 延吉 133000)

**摘 要:**以哈尔滨市阿城区白菜根肿菌的休眠孢子为试材, 对其进行萌发测定, 研究了不同因素对休眠孢子萌发的影响。结果表明: 休眠孢子萌发的适宜温度为 24℃, 适宜 pH 为 6.3; 黑暗处理的休眠孢子比光照处理的休眠孢子萌发率高, 分别为 73.33% 和 12.16%, 腐烂处理根肿的萌发率最高为 73.33%。以上结果表明白菜根肿病容易发生在低温和偏酸性条件下。

**关键词:**芸薹根肿菌; 休眠孢子; 萌发率

**中图分类号:**S 436.34 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)07-0112-03

我国是世界上最大的蔬菜生产大国和消费大国, 其中白菜是在我国种植面积最大的蔬菜, 也是北方冬贮数量最大的蔬菜。由于白菜营养丰富, 具有抗癌功效<sup>[1]</sup>, 增长潜力大, 是人类未来的理想蔬菜, 是重点培育的优势产业, 也是我国加工创汇的重要资源。随着白菜栽培面积的扩大、白菜贸易的频繁、生态环境的改变, 白菜根肿病已成为白菜的主要病害。

大白菜根肿病是由芸薹根肿菌 (*Plasmodiophora brassicae*) 引起的毁灭性病害, 它可危害十字花科植物, 如大白菜、小白菜、芥菜、芜菁、油菜、花椰菜和甘蓝类蔬菜等和一些油菜 (*Brassica* spp.)<sup>[2]</sup>。在田间, 芸薹根肿菌休眠孢子借雨水、灌溉水、土壤中昆虫的活动及农事操作在田间近距离传播, 然后萌发并产生游动孢子侵入寄主危害<sup>[3]</sup>; 有些病菌则通过菜苗、植株的调运或带菌泥土的转移, 此为远距离传播<sup>[4]</sup>。病原菌不能进行腐生生活, 当孢子萌发时, 如果没有遇到合适寄主则较易死亡<sup>[5]</sup>。

休眠孢子萌发直接影响根肿病菌侵染十字花科植物, 但影响休眠孢子萌发的条件比较苛刻<sup>[7]</sup>, 国内关于根肿菌的研究仅限于抗病品种的筛选、病菌的遗传规律以及防治措施的总结等<sup>[6]</sup>, 国外有报道称十字花科根部渗出物-烯丙基异硫氰酸能刺激休眠孢子的萌发<sup>[8-9]</sup>, 目前关于病菌休眠孢子萌发的生物学特性的研究报道很少。由于该病原菌具有传染性强、传播速度快、传播途径多、防治困难等特点。因此, 该研究对白菜根肿病休

眠孢子萌发条件进行了测定, 以期明确其发病机制, 为减轻和控制根肿病的蔓延和危害提供重要的理论依据。

## 1 材料与方法

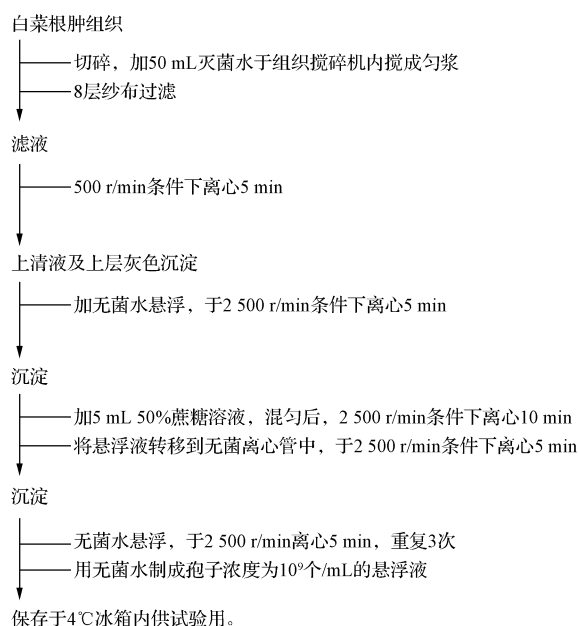
### 1.1 试验材料

供试菌源: 2011 年 9 月在黑龙江省哈尔滨市阿城区白菜地采集白菜根肿病的新鲜病组织 (根肿瘤), 洗净后分装于塑料袋中, 在 -20℃ 冰箱中冻藏。

供试白菜品种“北京新三号”由北京京研益农科技发展中心提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 休眠孢子悬浮液的制备 综合肖崇刚等<sup>[9]</sup>、郭国华<sup>[7]</sup>和马淑青等<sup>[10]</sup>的方法来制备休眠孢子悬浮液。取保存的 10 g 根肿在自来水下冲洗干净, 置于 24℃ 条件下任其腐烂 5 d, 按以下流程图制成休眠孢子悬浮液。



**第一作者简介:**张铨哲(1970-), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为真菌病害的综合防治。E-mail: zhe3850@yahoo.com.cn.

**基金项目:**哈尔滨市科技攻关计划资助项目(20111AA613BN072-1); 国家级大学生创新训练计划资助项目(20120224001)。

**收稿日期:**2013-12-23

1.2.2 根分泌物的收集 将“北京新三号”白菜种子于28℃下催芽2 d后,将催好的10株芽放在盛有Hoagland营养液的50 mL小烧杯上的有孔塑料薄片上,在24℃恒温箱中培养,7 d后收集根分泌物溶液,见图1。

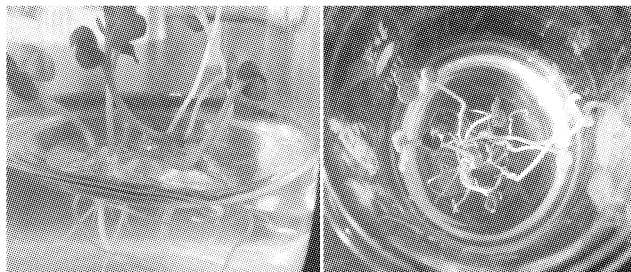


图1 培养7 d后根分泌物的收集

Fig. 1 Root exudates collected after cultured at 7 d

1.2.3 温度对休眠孢子萌发的影响 将浓度为 $10^9$ 个/mL的孢子悬浮液用根分泌物溶液调至浓度为 $10^7$ 个/mL,取10 mL置于三角瓶中,pH调到6.3左右,分别设于4、8、12、16、20、24、28、32、36、40℃黑暗条件下培养,5 d后镜检休眠孢子萌发情况。

1.2.4 pH值对休眠孢子萌发的影响 将浓度为 $10^9$ 个/mL的休眠孢子悬浮液用根分泌物溶液调至浓度为 $10^7$ 个/mL,然后用1 mol/L KOH和8% HNO<sub>3</sub>分别将休眠孢子悬浮液调制pH为2.5、3.5、4.5、5.5、6.0、6.3、7.3、8.3、9.3等9个处理(用酸度计测定pH值),置于24℃条件下黑暗培养,5 d后镜检休眠孢子萌发情况。

1.2.5 光照对休眠孢子萌发的影响 在24℃条件下,将含有根分泌物的孢子悬浮液置于24 h光照(日光灯900 lx)和24 h黑暗2种条件下培养,5 d后镜检孢子萌发情况。

1.2.6 根肿腐烂处理与未腐烂处理对休眠孢子萌发的影响 在24℃条件下腐烂处理5 d和未经腐烂处理的根肿,分别配成孢子悬浮液,并加根分泌物进行稀释后,在24℃条件下黑暗培养,每隔24 h镜检孢子萌发情况,连续观察5 d。

1.2.7 计算公式 孢子萌发率(%)=萌发的孢子数/调查总孢子数×100%;孢子萌发率(%)=培养后萌发率-培养前萌发率;校正萌发率(%)=处理萌发/对照萌发×100%;孢子萌发抑制率(%)=(对照孢子萌发率-药剂处理孢子萌发率)/对照孢子萌发率×100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 温度对休眠孢子萌发的影响

白菜根肿病菌的休眠孢子萌发温度为4~40℃范围内,由图2可知,其最适宜的萌发温度为24℃,休眠孢子的萌发率为70.5%。以24℃为临界点,在12~32℃范围内,休眠孢子萌发率随温度的升高而缓慢的升高,达到顶峰之后(24℃,70.5%)休眠孢子萌发率随温度的升高而缓慢下降。当休眠孢子处于≤8℃或≥36℃时,其休眠孢子萌发率均较低,尤其是温度为40℃时,其休眠孢

子萌发率最低为1%。说明高温能很好地抑制休眠孢子的萌发率。

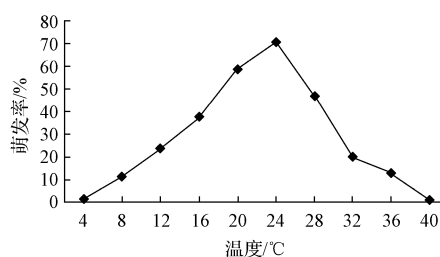


图2 温度对休眠孢子的萌发的影响

Fig. 2 Effects of temperature on the resting spores for germination rate

### 2.2 pH值对休眠孢子萌发的影响

由图3可知,休眠孢子在弱酸性溶液(pH 5.5~7.3)中萌发情况较好,以pH 6.3时平均萌发率最高(59.3%)为准,在pH为5.5~7.3范围内,休眠孢子的萌发率先增加到顶峰后迅速下降,当pH≤3.5或≥8.3时,其萌发率均小于10%。在碱性和中强酸中萌发率逐渐降低,在强酸和强碱溶液中萌发率最低。

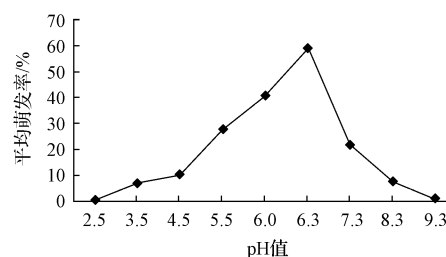


图3 pH值对休眠孢子萌发的影响

Fig. 3 Effects of the germination of pH on the resting spores for germination rate

### 2.3 光照对休眠孢子萌发的影响

由表1可知,5 d后镜检休眠孢子萌发情况,发现经黑暗处理的休眠孢子比光照处理的休眠孢子萌发率高出61.17个百分点,其休眠孢子萌发率分别为73.33%和12.16%。

表1 光照条件对休眠孢子萌发的影响

Table 1 Effect of the germination of illumination on the resting spores for germination rate %

光照条件	萌发率 Germination rate			均值 Average value
	I	II	III	
24 h 光照	12.0	13.5	11.0	12.16
24 h 黑暗	70.5	76.5	73.0	73.33

### 2.4 根腐烂处理与未腐烂处理对休眠孢子萌发的影响

由图4可知,经腐烂处理的根肿休眠孢子萌发率显著高于未经腐烂处理根肿的休眠孢子萌发率。当培养5 d时,2种处理根肿的萌发率最高,萌发率分别为73.33%和15.83%。培养6 d时,根腐烂处理的休眠孢

子萌发率略有降低,未经腐烂处理的休眠孢子萌发率却略有升高,但幅度很小。

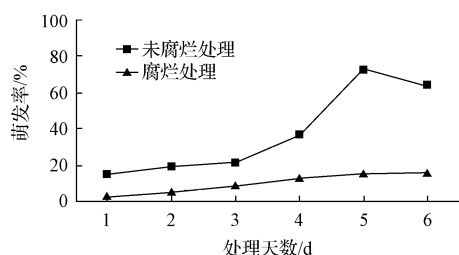


图4 经不同处理的根肿对休眠孢子萌发的影响

Fig. 4 Effects of the germination of various treated galls on the resting spores for germination rate

### 3 讨论与结论

该试验结果表明,休眠孢子萌发的适宜温度为24℃,最适pH为6.3,与黄云等<sup>[11]</sup>的研究结果相同。作物在苗期较易受根肿病菌的侵染,因此播种时应考虑到这一因素,使作物的苗期阶段避开适宜根肿病菌发病的温度条件。徐海燕<sup>[12]</sup>研究发现土壤pH值与田间根肿病的发生密切相关。因此,可以通过施用石灰等碱性物质改善由于大量施用化学肥料和农药所导致的土壤酸化问题,提高土壤的pH值,从而控制根肿病的发生<sup>[13]</sup>。经黑暗处理的休眠孢子比光照处理的休眠孢子萌发率高,其萌发率分别为73.33%和12.16%,表明光能明显抑制休眠孢子的萌发,这一结果与杨文强<sup>[14]</sup>、马淑青等<sup>[10]</sup>和肖崇刚等<sup>[9]</sup>的研究基本一致。因此种植十字花科的植物时,尽量不要种植在背阴的地带,以便可以获得充足的光照,减少根肿病的发生。经腐烂处理的根肿休眠孢子萌发率显著高于未经腐烂处理根肿的休眠孢子萌发率,培养6d时,根腐烂处理的休眠孢子萌发率略有降低,未经腐烂处理的休眠孢子萌发率却略有升高,但幅度很小。这一结果与Howard等<sup>[15]</sup>的研究结果

一致。经腐烂处理的根肿,可能是根肿在腐烂时根部产生的一些微生物刺激了休眠孢子的萌发,但具体的机理还有待于进一步研究。因此,田间发生根肿病的病田,要避免根部腐烂产生大量的休眠孢子在土壤中堆积,应及时拔除病根、集中销毁,从而减少下一生长季节根肿病的发生。

### 参考文献

- [1] 谭文,林东昕,肖颖,等. 大白菜抑制大鼠体内致癌物 PhIP-DNA 加合物形成及其可能的作用机理[J]. 中华肿瘤杂志,1998,20(6):408-411.
- [2] Caroline Donald I P. Integrated Control of Clubroot[J]. Plant Growth Regul,2009,28:289-303.
- [3] Hawksworth D L, Sutton B C, Pegler D N. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi[M]. Kew:Common Wealth Mycological Institute,1995.
- [4] 商桑,黄绵佳,田丽波. 十字花科蔬菜根肿生物学特性及分子生物学研究进展[J]. 吉林农业科学,2009,34(2):43-46.
- [5] 邓洁. 油菜根肿孢子(*Plasmodiophora brassicae*)免疫检测方法的初步构建[D]. 雅安:四川大学,2006.
- [6] 吴琼,沈向群,徐硕,等. 大白菜抗根肿病“临时保持系”的选育方法研究[J]. 江西农业大学学报,2010,32(2):289-294.
- [7] 郭向华. 甘蓝根肿病菌的生物学特性及致病研究[D]. 重庆:西南农业大学,2001.
- [8] 唐文华. 北京十字花科蔬菜根肿病的发生和鉴定[J]. 植物保护,1990,16(1):17-18.
- [9] 肖崇刚,郭向华. 甘蓝根肿病菌的生物学特性研究[J]. 菌物系统,2002,21(4):597-603.
- [10] 马淑青,黄云,王铮一,等. 油菜根肿病菌形态及生物学特性研究[J]. 四川农业大学学报,2006,24(2):161-165.
- [11] 黄云,马淑青,李晓琴,等. 油菜根肿病菌的形态和休眠孢子的生物学特性[J]. 中国农业科学,2007,40(7):1388-1394.
- [12] 徐海燕. 云南省油菜抗(耐)根肿病品种筛选及防治技术研究[D]. 北京:中国农业科学院,2011.
- [13] Kim S, Shin C, Moon S, et al. Isolation and characterization of *Streptomyces* sp. KACC 91027 against *Plasmodiophora brassicae*[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology,2004,14:220-223.
- [14] 杨文强. 小白菜根肿病发生规律、发病条件及病菌生物学特性研究[D]. 重庆:四川农业大学,2009.
- [15] Howard R J, Strelkov S E, Harding M W. Clubroot of cruciferous crops—new perspectives on an old disease[J]. Plant Pathol,2010,32:43-57.

## Study on the Germination Condition of the Resting Spores of *Plasmodiophora brassicae*

ZHANG Xuan-zhe<sup>1</sup>, CHEN Cong<sup>1</sup>, XIE Ming-jing<sup>1</sup>, SUN Chang<sup>1</sup>, RUI Xing-hai<sup>1</sup>, PIAO Hai-jin<sup>2</sup>

(1. School of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. Yanbian Agricultural Technology Extension Station, Yanji, Jilin 133000)

**Abstract:** Taking the germination of resting spores of *P. brassicae* collected from Acheng area in Heilongjiang province as material, its germination was measured and the various environmental factors on germination of dormant spores were basically defined. The results indicated that the optimum temperature for germination of dormant spores 24℃, the optimum pH value of 6.3. The resting spores treated in dark was higher than the resting spores treated in light, respectively, 73.33% and 12.16%. The highest germination rate of decay treatment was 73.33%. Above results showed that Chinese cabbage clubroot disease easily occurred at the low temperature and weak acidity condition.

**Key words:** *Plasmodiophora brassicae*; resting spores; germination rate