

氮源对番茄灰霉病菌菌丝生长的影响

林 英, 曹慧颖, 曹冬煦

(沈阳农业大学 生物技术学院 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 选用 15 种常见氮源, 应用固体和液体培养方法, 筛选适宜番茄灰霉病菌生长的氮源营养物质。结果表明: 在固体培养中, 病菌对氮源的利用以蛋白胨为最好, 其次为酵母膏。在液体培养中, 病菌对氮源的利用以酵母膏为最好, 其次为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 。

关键词: 番茄灰霉病; 氮源; 固体培养; 液体培养

中图分类号: S 436.412.1⁺3 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2007)10-0199-02

番茄灰霉病(病原 *Botrytis cinerea*)是我国保护地番茄的主要病害之一。该病属低温高湿半腐生型病害, 主要为害花器和果实, 一般减产 20%~30%, 严重地块减产可达 60%以上^[1]。明确番茄灰霉病菌的生长发育环境条件, 可以为防治该病提供科学依据, 病菌对氮源的利用情况是生物学特性研究的重要组成部分^[2], 现就番茄灰霉病菌对常见的有机、无机氮源的选择作用报道如下。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试菌株: 由温室采集新发病果实分离获得, 培养基: 固体培养基为 PDA, 液体培养基 PD(为不加琼脂的 PDA); 无机氮: NaNO_2 、 KNO_3 、 NH_4Cl 、 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NH_4NO_3 ; 有机氮: 蛋白胨、尿素、谷氨酸、苯丙氨酸、天门冬氨酸、组氨酸、甘氨酸、牛肉膏、酵母浸出汁。分别以 0.5% 的量加入到培养基中, 配制不同氮源的培养基。

1.2 固体培养

将病原菌接种在 PDA 培养基上, 待菌落直径长到 4~5 cm, 从边缘打取直径 0.5 cm 的菌片, 分别移植到各种氮源培养基的中央。

1.2.1 菌丝干重的比较 将打取的菌块接种在含不同氮源的固体培养基中, 每处理做 3 次重复, 在 24℃ 恒温培养 7 d 后, 用无菌水将菌丝冲洗后过滤烘干, 测定菌丝干重。

1.2.2 菌丝生长速度曲线的绘制 按照以上方法每处理做 3 次重复, 在 24℃ 恒温培养, 每天记录菌落的扩展情况并测量菌落直径, 9 d 后绘制菌丝的生长速度曲线

进而加以比较。

1.3 液体培养

将病原菌接种在 PDA 培养基上, 待菌落直径长到 4~5 cm, 从边缘打取直径 0.5 cm 的菌片, 将菌片加入到 PD 液中培养 12 h 后作为液体种子, 吸取 1 mL 种子液加入到三角瓶(每 250 mL 三角瓶中加入 100 mL 不同氮源配制的 PD 培养液)中, 在 24℃, 150 rpm 条件下培养 7 d 后, 菌丝经过滤烘干, 测定菌丝干重。

2 结果与分析

2.1 固体培养

2.1.1 不同氮源固体培养基上菌丝干重的比较 通过对不同氮源固体培养基上菌丝干重的比较测定, 结果如表 1, 可见灰霉病菌生长以加入蛋白胨最为有利, 其次是酵母浸出汁, 经多重比较可以看出不同氮源之间的差异显著性, 其中以尿素为氮源的固体培养基上菌丝干重最小。

表 1 不同氮源固体培养基上菌丝干重的比较

氮源种类	菌丝干重	差异显著性	
蛋白胨	0.456	a	A
酵母浸出汁	0.349	b	AB
NH_4Cl	0.32	bc	BC
KNO_3	0.258	bcd	BCD
牛肉膏	0.231	cde	BCD
PDA	0.201	cde	BCDE
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.175	cde	BCDEF
NH_4NO_3	0.155	def	CDEFG
天门冬氨酸	0.121	def	CDEFG
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	0.12	efg	DEFG
苯丙氨酸	0.098	efgh	DEFG
组氨酸	0.074	efgh	DEFG
甘氨酸	0.048	fgh	EFG
NaNO_2	0.045	fgh	FG
谷氨酸	0.041	gh	G
尿素	0.022	h	G

2.1.2 不同氮源固体培养基上菌落生长情况的比较 病菌在不同氮源培养基上的生长趋势见图 1、图 2。在图 1 中可以看出蛋白胨、牛肉膏、酵母浸出汁的培养基中

第一作者简介: 林英(1975-), 女, 辽宁人, 硕士, 实验师, 从事微生物工程与酶工程研究。E-mail: 99linyinying@163.com。

基金项目: 沈阳农业大学青年教师科研基金资助项目(20070113)。

收稿日期: 2007-05-16

菌丝的长势明显好于其它的有机氮源,在蛋白胨培养基上,病菌保持较为匀速的生长;在牛肉膏培养基上生长3 d后病菌有一个加速生长的过程;在其它的有机氮源培养基上菌落的长势缓慢。在图2无机氮源培养基上,除尿素外在4 d时均表现出加速生长,但加速生长的程度有明显的不同,其中NH₄Cl对菌丝的生长有显著的促进作用,NH₄H₂PO₄的作用并不明显;而以尿素培养基上菌丝生长的最差。

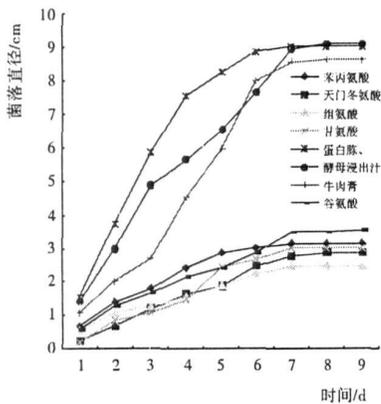


图1 不同有机氮源固体培养基上菌落生长情况的比较

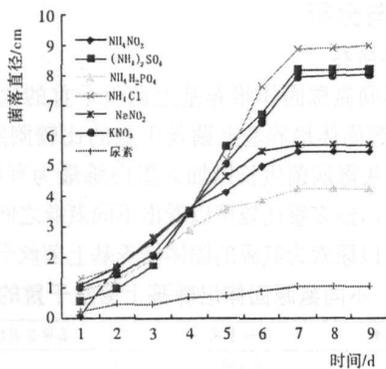


图2 不同有机氮源固体培养基上菌落生长情况的比较

2.2 液体培养

通过对不同无机氮源和有机氮源的液体培养基中灰霉病菌生长的测定,试验结果见表2,可见灰霉病菌

在不同的氮源液体培养基中均可以生长,适宜的氮源为酵母浸出汁,其次为(NH₄)₂SO₄,这和固体培养的结果有一定的差异,但菌丝干重总体高于固体培养基,说明番茄灰霉病菌在液体培养基中培养时菌丝产生更为丰富。

表2 不同氮源液体培养基上菌丝干重的比较

氮源种类	菌丝干重	差异显著性	
酵母浸出汁	0.55	a	A
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.35	b	B
天门冬氨酸	0.34	b	B
NH ₄ Cl	0.34	b	B
KNO ₃	0.33	b	BC
NaNO ₂	0.29	c	CD
牛肉膏	0.28	c	D
PA	0.26	c	DE
蛋白胨	0.22	d	E
NH ₄ NO ₃	0.16	e	F
组氨酸	0.13	f	FG
NH ₄ H ₂ PO ₄	0.13	f	FG
谷氨酸	0.11	fg	FG
苯丙氨酸	0.10	fg	G
尿素	0.08	g	G
甘氨酸	0.08	g	G

3 结语

试验中可以看出番茄灰霉病菌对各种氮源营养具有明显的选择作用。在固体培养中,病菌对氮源的利用以蛋白胨为最好,其次为酵母浸出汁。在液体培养中,病菌对氮源的利用以酵母浸出汁为最好,其次为(NH₄)₂SO₄,病菌对天门冬氨酸和NH₄Cl利用也较好,而对其它氮源利用较差,菌丝干重较低。在病菌的氮源试验中一个值得注意的现象是病菌的直线生长速度同干重生长速度并无正相关。从菌落直径的测定结果可以看出蛋白胨、酵母浸出汁和NH₄Cl对菌丝的生长有显著的促进作用,而尿素培养基上菌丝生长的最差。病菌在氮源的利用上总体以蛋白胨、酵母浸出汁和(NH₄)₂SO₄为好,对其它氮源的利用效率则较低。

参考文献

- [1] 郑果,杜蕙.几种新型药剂对番茄灰霉病的防治效果[J].中国蔬菜 2006(9): 22-23.
- [2] 张子君,李海涛,邹庆道.不同氮源对番茄早疫病菌丝生长的影响[J].辽宁农业科学 2003(4): 35-36.

Effect of Different Nitrogen Source on the Mucelium Growth of Botrytis Cinerea

LIN Ying, CAO Huiying, CAO Dong-xu

(Biotechnology College, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China)

Abstract: Used 15 nitrogen sources to select the fittest nitrogen source by solid culture and liquid culture. The results of the experiments showed: Peptone was the best nitrogen source in solid culture, the second was yeast extract. Yeast extract was the best nitrogen source in liquid culture, the second was (NH₄)₂SO₄.

Key words: Botrytis Cinerea; Nitrogen source; Solid culture; Liquid culture