

5 种碳源对核盘菌丝生长及菌核形成的影响

郑磊 程显好*, 王淑芳 (鲁东大学生命科学学院, 山东烟台 264025)

摘要 [目的] 探究5种碳源对核盘菌菌丝生长和菌核形成的影响。[方法] 设固体培养条件下5种碳源(葡萄糖、淀粉、甘油、甘露醇、乙醇)和空白对照,3次重复,观测不同浓度(2%、4%、8%、16%、20%)碳源对核盘菌的菌丝生长和菌核产生的影响。[结果] 碳源种类及浓度对核盘菌的菌丝生长和菌核形成均有较大影响。葡萄糖和淀粉是核盘菌的适宜的碳源,既适合于菌丝营养生长也适合于菌核形成,但菌丝生长和菌核形成的最适浓度不一致;甘油、甘露醇和乙醇3种碳源适宜于菌丝营养生长,但抑制菌核的形成。[结论] 该研究为找到可以控制核盘菌生长或菌核形成的靶标位点提供了依据。

关键词 核盘菌;菌核;碳源

中图分类号 S182 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)04-01366-02

Effects of 5 Kinds of Carbon Sources on the Mycelial Growth and Sclerotium Formation of *Sclerotinia sclerotiorum*

ZHENG Lei et al (College of Life Science, Ludong University, Yantai, Shandong 264025)

Abstract [Objective] The research aimed to explore the effects of 5 kinds of carbon resources on the mycelial growth and sclerotium formation of *Sclerotinia sclerotiorum*. [Method] Under the conditions of solid culture, 5 kinds of carbon sources (glucose, starch, glycerol, mannitol and ethanol) and blank control were set up with 3 repetitions to observe the effects of carbon sources with different concentrations (2%, 4%, 8%, 16%, 20%) on the mycelial growth and sclerotium formation of *S. sclerotiorum*. [Result] Both the kinds of carbon sources and their concentrations had greater effects on the mycelial growth and sclerotium formation of *S. sclerotiorum*. Glucose and starch were suitable carbon sources for *S. sclerotiorum* and they were fit for both mycelial nutrient growth and sclerotium formation. But their optimum concentrations for the mycelial growth and sclerotium formation were inconsistent. 3 kinds of carbon sources including glycerol, mannitol and ethanol were favorable for mycelial nutrient growth, but they inhibited the formation of sclerotium. [Conclusion] The research provided basis for finding out the target sites that could control the mycelial growth or sclerotium formation.

Key words *Sclerotinia sclerotiorum*; Sclerotium; Carbon source

核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum* (Lid) de Bary) 是一种宿主广泛的病原真菌,能危害64科225属共383种植物。油菜菌核病就是由核盘菌引起的。国内外对该病害的发生和流行规律及预测预报等进行了长期的研究工作,也在药物控制、防治等方面取得了许多成绩,但目前尚未从根本上改变油菜菌核病害严重危害的局面。因此,研究病原菌的生物学性质,找到可以控制该菌生长或菌核形成的靶标位点具有重要意义。笔者探讨了5种碳源因素对病原菌核盘菌的菌丝生长和菌核形成的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料 核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum* (Lid) de Bary) 由鲁东大学生命科学学院微生物实验室保藏。所用试剂为国产分析纯或化学纯试剂。

1.2 试验方法 试验采用的固体培养基为:碳源(根据试验设计选取),蛋白胨 10 g/L,酵母浸粉 5 g/L,琼脂 20 g/L。采用的碳源分别为:葡萄糖、淀粉、甘油、甘露醇、乙醇,设每种碳源分别添加2%、4%、8%、12%、16%、20%及空白对照7个处理,每个处理均设3次重复。在每个培养皿中加入培养基 25 ml,平板中央接种大小基本一致的菌核1个,接种后置30℃恒温培养,每隔12 h观察1次,测量菌落直径,并观察菌核是否形成,记录形成菌核时间。在培养结束后,测定每个培养皿中形成菌核的数量及菌核干重(105℃干燥至恒重)。

2 结果与分析

2.1 葡萄糖对菌丝生长和菌核形成的影响 葡萄糖浓度在2%~12%都适合于菌丝生长,2%~4%的葡萄糖浓度最适合菌丝的营养生长,葡萄糖浓度大于12%时菌丝的营养生长受到抑制(表1)。葡萄糖浓度在2%~12%对菌核开始形成的时间没有影响,对菌核的重量影响不大,但会影响菌核的数

量、大小。2%的葡萄糖组菌核数量最多,但单个菌核的平均重量较小。4%~12%浓度形成的菌核数量和重量差异不大。葡萄糖浓度在16%以上时,菌核形成明显受到抑制,每皿菌核数平均只有3个。但菌丝在20%的葡萄糖浓度下仍然能够生长,说明核盘菌对高渗透压的抗性较强。

表1 不同浓度葡萄糖对菌核形成的影响

Table 1 Effects of different glucose concentration on the formation of sclerotium

葡萄糖浓度 Glucose concentration %	60 h 直径 Diameter at the 60th hour cm	形成天数 Days after formed	菌核数 No. of scl- erotium 个/皿	菌核干重 Dry weight of sclerotium g/皿
0	0			
2	6.30	4~5	41	0.0715
4	7.70	4~5	31	0.0821
8	5.36	4~5	29	0.0884
12	5.91	4~5	29	0.0834
16	3.73	5	25	0.0569
20	4.15	6	3	0.0063

2.2 淀粉对菌丝生长和菌核形成的影响 淀粉浓度在2%~20%,随着淀粉浓度的提高,菌丝的营养生长速度加快,20%浓度的淀粉组生长速度最快。淀粉由于其分子量较大,对培养基的渗透压的影响较小,所以高浓度淀粉对营养生长的抑制较小。但菌核形成的数量和重量上,趋势与菌丝生长相反,随着淀粉浓度的增加,菌核数量减少,菌核重量也减少。8%浓度组菌核的重量接近2%浓度组重量的一半。说明高浓度的淀粉有利于菌丝生长,但并不利于菌核产生(表2)。

2.3 甘油对菌丝生长和菌核形成的影响 以甘油为碳源时,在2%~20%时的菌丝营养生长在8%~16%较佳,低于8%或高于16%时其生长速度减慢。菌核生成数目随着甘油

浓度的升高而增多,重量增大。在2%~4%浓度时,无菌核形成,8%甘油浓度组才开始形成菌核。20%甘油浓度下产生的菌核数量和重量最高。菌丝在甘油为碳源时生长特别旺盛,表现在气生菌丝生长茂密,可以充满整个培养皿。和其他碳源相比,还有一个特殊现象是在甘油培养基上形成的菌核更大,有的可达0.0772g,是在葡萄糖培养基上菌核重量(0.0017)的45倍。这种巨大菌核的形成机制和特殊意义有待进一步研究。菌丝在20%的甘油条件上仍能生长较好,进一步说明该菌株耐高渗透压的能力较强(表3)。

表2 不同浓度淀粉对菌核形成的影响(培养11d)

Table 2 Effects of different starch concentration on the formation of sclerotium

淀粉浓度 Starch concentration %	96 h 直径 Diameter at the 96th hour cm	形成天数 Days after formed d	菌核数 No. of sclerotium / 皿	菌核干重 Dry weight of sclerotium g/ 皿
2	3.67	6	61	0.2374
4	4.70	6	39	0.1554
8	6.93	5	36	0.1234
12	6.57	5	35	0.1219
16	7.10	5	22	0.0654
20	7.57	5	29	0.0945

表3 不同甘油浓度对菌核形成的影响

Table 3 Effects of different glycerin concentration on the formation of sclerotium

丙三醇浓度 Glycerin concentration %	156 h 直径 Diameter at the 156th hour cm	形成天数 Days after formed d	菌核数 No. of sclerotium / 皿	菌核干重 Dry weight of sclerotium g/ 皿
2	1.10			
4	6.00			
8	8.47	14	1.0	0.0099
12	7.27	12	6.0	0.0946
16	7.43	12	11.3	0.1738
20	6.27	12	74.3	0.3028

2.4 甘露醇对菌丝生长和菌核形成的影响 以甘露醇为碳源时,菌丝生长缓慢,菌核形成时间也长。所以甘露醇不是菌体生长和菌核形成的适宜碳源。在甘露醇浓度2%~20%时,菌丝营养生长最适宜的甘露醇浓度是8%,菌核生长最适宜的浓度则是20%(表4)。

表4 不同浓度甘露醇对菌核形成的影响

Table 4 Effects of different mannitol concentration on the formation of sclerotium

甘露醇浓度 Mannitol concentration %	204 h 直径 Diameter at the 204th hour cm	形成天数 Days after formed d	菌核数 No. of sclerotium / 皿	菌核干重 Dry weight of sclerotium g/ 皿
2	4.30			
4	3.30			
8	3.60			
12	8.30	25	3	0.0237
16	3.90	23	2	0.0202
20	2.05	21	3	0.1011

2.5 乙醇对菌丝生长和菌核形成的影响 核盘菌可以利用乙醇作为碳源,但对乙醇的利用速度极慢。在浓度2%~20%时,随着浓度升高菌丝生长速度越快,培养16d,20%浓度组菌核形成。其他试验组未见菌核形成。菌丝在以乙醇为碳源的培养基上也生长旺盛,气生菌丝茂密,可以充满整个培养皿(表5)。

表5 不同浓度乙醇对菌核形成的影响

Table 5 Effects of different ethanol concentration on the formation of sclerotium

乙醇浓度 Ethanol concentration %	372 h 直径 Diameter at the 372th hour cm	形成天数 Days after formed d	菌核数 No. of sclerotium / 皿	菌核干重质量 Dry weight of sclerotium g/ 皿
2	0.80			
4	3.75			
8	3.90			
12	2.65			
16	5.70			
20	7.75	16	5	0.0047

3 讨论

(1) 菌核是由菌丝组织化形成的一种致密的菌丝结构,这种结构对不良的环境条件有抵抗作用。许多真菌可形成防御结构,以度过干燥、寒冷、高温、湿度过度等不良环境条件。

(2) 一般情况下,在适合菌丝迅速生长的条件下菌核不会形成。只有在环境营养因素受限、营养生长受阻时菌核才会形成^[1-5]。营养因素既可以刺激菌核的形成,也可能抑制菌核的形成。影响菌核形成的非营养因素包括光照、温度、pH、有机酸、环境腐败产物的积累、酚类化合物、多酚氧化酶活性、机械屏障、巯基修饰因子以及渗透压等。以上因素都已经有了试验证明对菌核形成有作用,但菌核形成的分子机制以及信号传导途径等方面还有待于进一步研究阐明。

(3) 试验结果表明,核盘菌对渗透压的逆境胁迫有较强抗性,对碳源的利用有较强的适应性,这是该菌在防治和控制上较难见效的原因之一。另外,核盘菌在不同碳源条件下的生长和菌核形成特性表现不同。葡萄糖和淀粉是核盘菌的适宜的碳源,既适合于菌丝生长也适合于菌核形成,而甘露醇、甘油、乙醇3种多元醇作为碳源时菌丝的营养生长旺盛、菌核形成减少,说明菌核形成与碳源代谢途径有关。糖具有还原性,而糖醇不具有还原性,所以二者在培养基或细胞内引起的氧化还原电位的变化是不同的。氧化还原电位的变化是不是启动菌核形成信号途径的重要步骤,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] CHRISTIAS C, LOCKWOOD J L. Conversion of mycelial constituents in four sclerotium forming fungi in nutrient deprived conditions [J]. *Phytopathology*, 1973, 63: 602 - 605.
- [2] CHET I, HENS Y. Sclerotial morphogenesis in fungi [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1975, 13: 169 - 192.
- [3] LE TOURNEAU D. Morphology, cytology, and physiology of sclerotia species in culture [J]. *Phytopathology*, 1979, 69: 887 - 890.
- [4] WILLETIS H J, BULLOCK S. Developmental biology of sclerotia [J]. *Mycol Res*, 1992, 96: 801 - 816.
- [5] WILLETIS H J, WONG J A L. The biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliarum*, and *S. minor* with emphasis on sclerotium formation [J]. *Bot Rev*, 1980, 46: 101 - 165.