



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113777237 B

(45) 授权公告日 2022.05.24

(21) 申请号 202111052604.7

(22) 申请日 2021.09.09

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113777237 A

(43) 申请公布日 2021.12.10

(73) 专利权人 中国科学院地球化学研究所
地址 550081 贵州省贵阳市观山湖区林城西路99号

(72) 发明人 吴沿友 张承 苏跃 吴沿胜
方蕾 童成英 周英 罗亮

(74) 专利代理机构 日照市聚信创腾知识产权代
理事务所(普通合伙) 37319
专利代理师 池学化

(51) Int. Cl.
G01N 33/00 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 111788991 A, 2020.10.20
石伟琦等. 丛枝菌根真菌对羊草气体交换和

δ 13C、 δ 15N的组成影响.《核农学报》.2008,(第03期),第353-358页.

STABLE CARBON ISOTOPES等.CARBON TRANSFER BETWEEN C₃ AND C₄ PLANTS LINKED BY A COMMON MYCORRHIZAL NETWORK, QUANTIFIED USING STABLE CARBON ISOTOPES.《Soil Bid. Biochem.》.1996,第28卷(第4/5期),第471-477页.

Jos Ignacio Querejeta等.Differential response of d13C and water use efficiency to arbuscular mycorrhizal infection in two aridland woody plant species.《Oecologia》.2003,第135卷第510-515页.

Lian-Xian Guo等.Fungus-larva relation in the formation of Cordyceps sinensis as revealed by stable carbon isotope analysis.《SCIENTIFIC REPORTS》.2017,第1-10页.

审查员 帅丽

权利要求书2页 说明书9页

(54) 发明名称

一种定量检测菌核病侵染能力的方法

(57) 摘要

本发明公开一种定量检测菌核病侵染能力的方法。利用稳定碳同位素值差异较大的来源于C₃植物的甜菜蔗糖和C₄植物的甘蔗蔗糖,建立双向同位素示踪培养体系,形成在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖培养基上培养的待测植物和核盘菌,用甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖培养基上培养的待测植物交替感染甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖培养基上培养的核盘菌,构建双向同位素示踪培养系统,利用双向同位素示踪培养系统,可以获取菌-叶体系中菌块的份额,计算不同时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} 以及菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i ,依据 f_{ni} 和 δ_i 来定量评判不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况;对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级。

CN 113777237 B

1. 一种定量检测菌核病侵染能力的方法,其特征在于:

第一,分别选用C₄植物的代表性蔗糖甘蔗蔗糖和C₃植物的代表性蔗糖甜菜蔗糖作为有机碳源,分别测定其 $\delta^{13}\text{C}$ 值,甘蔗蔗糖的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{C1} ,甜菜蔗糖的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{C2} ;

第二,分别用上述甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制培养待测植物的培养基,培养待测植物组培苗,培养一段时间后,用于后续的核盘菌侵染实验;

第三,同时,同样用上述甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制培养核盘菌的培养基,将该培养基制成平板,培养核盘菌,培养一段时间后,一部分用于核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的测定,一部分用于后续的侵染待测植物的实验;

第四,配制高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基,用于随后的核盘菌侵染待测植物的培养;

第五,分别用甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块,去交替侵染长势一致的、在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物,培养在高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基;

第六,分别测定用甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,其中在甘蔗蔗糖培养基中培养的核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{B1} ,在甜菜蔗糖培养基中培养的核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{B2} ;

第七,随后再测定不同侵染时间时的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,用甘蔗蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块,去侵染在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 $\delta\text{T}_{\text{A}i}$,用甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块,去侵染在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 $\delta\text{T}_{\text{B}i}$,这里的i为不同时间的取样次数, $\delta\text{T}_{\text{A}0}$ 与 $\delta\text{T}_{\text{B}0}$ 分别为在实验开始的0时刻的 $\delta\text{T}_{\text{A}i}$ 和 $\delta\text{T}_{\text{B}i}$;

第八、依据 δ_{B1} 、 δ_{B2} 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta\text{T}_{\text{A}0}$ 以及 $\delta\text{T}_{\text{B}0}$,获取菌-叶体系中菌块的份额f以及在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,其中;在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{A} ,在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{B} ;获取菌-叶体系中菌块的份额f的计算公式为:
$$f = \frac{\delta\text{T}_{\text{A}0} - \delta_{\text{B}0} - \delta_{\text{C2}} + \delta_{\text{C1}}}{\delta_{\text{B1}} - \delta_{\text{B2}} - \delta_{\text{C2}} + \delta_{\text{C1}}}$$
 ;

将f代入公式:
$$\delta_{\text{A}} = \frac{\delta\text{T}_{\text{B}0} - f \delta_{\text{B2}}}{1-f}, \quad \delta_{\text{B}} = \frac{\delta\text{T}_{\text{A}0} - f \delta_{\text{B1}}}{1-f}$$
, 获得在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_{A} 和在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_{B} ;

第九、依据 $\delta\text{T}_{\text{A}0}$ 、 $\delta\text{T}_{\text{B}0}$ 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta\text{T}_{\text{A}i}$ 以及 $\delta\text{T}_{\text{B}i}$,获取不同时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} ,这里的i为不同时间的取样次数;获取不同时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} 计算方法为:将 $\delta\text{T}_{\text{A}0}$ 、 $\delta\text{T}_{\text{B}0}$ 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta\text{T}_{\text{A}i}$ 以及 $\delta\text{T}_{\text{B}i}$,代入方程:

$$f_{\text{ni}} = \frac{\delta\text{T}_{\text{A}i} - \delta_{\text{A}0} - \delta\text{T}_{\text{B}i} + \delta\text{T}_{\text{B}0}}{\delta_{\text{C2}} - \delta_{\text{C1}}};$$

第十、依据 $\delta\text{T}_{\text{A}0}$ 、 δ_{B} 、 $\delta\text{T}_{\text{A}i}$ 以及f、 f_{ni} ,或者 $\delta\text{T}_{\text{B}0}$ 、 δ_{A} 、 $\delta\text{T}_{\text{B}i}$ 以及f、 f_{ni} ,获取不同时刻下菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i ,这里的i为不同时间的取样次数;获取不同时刻下菌-叶体系的

的稳定碳同位素分馏值 δ_i 的方法为:
$$\delta_i = \frac{\delta\text{T}_{\text{A}i} - \delta\text{T}_{\text{A}0} - f_{\text{ni}} \delta_{\text{B}}}{1-f+f_{\text{ni}}} \text{ 或 } \delta_i = \frac{\delta\text{T}_{\text{B}i} - \delta\text{T}_{\text{B}0} - f_{\text{ni}} \delta_{\text{A}}}{1-f+f_{\text{ni}}};$$

第十一、依据 f_{ni} 和 δ_i 来定量评判不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况；

第十二、联合使用 f_{ni} 和 δ_i 来对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级。

2. 根据权利要求1所述的一种定量检测菌核病侵染能力的方法,其特征在于:在第二步骤中,在甘蔗蔗糖或甜菜蔗糖配制的培养基培养待测植物组培苗时,培养的组培苗应为同一来源的无性系,培养过程需经过多次增殖培养,使获得的材料能保证后续的需要。

3. 根据权利要求1所述的一种定量检测菌核病侵染能力的方法,其特征在于:在第三步骤中,获取甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块的方法是,将核盘菌菌株先分别在含甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖的培养基上活化培养7天后,切取6mm菌块,菌丝体朝下接触培养基,接种于新的相应培养基的平板中心点培养,培养7天后,一部分培养后的材料用于核盘菌菌块的 $\delta^{13}C$ 值的测定,一部分用于后续的侵染待测植物的实验。

4. 根据权利要求1所述的一种定量检测菌核病侵染能力的方法,其特征在于:在第四步骤中的所述的高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基配制方法为,按照质量守恒定律,将 $^{13}C/^{12}C$ 标准品和甘蔗蔗糖配置成 $\delta^{13}C$ 值为30.0‰PDB的培养基。

5. 根据权利要求1所述的一种定量检测菌核病侵染能力的方法,其特征在于:在第五步骤中,核盘菌菌块交替侵染待测植物的方法是,将长势一致的、在甜菜蔗糖培养基中培养的待测植物转接至高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基中,然后切取在甘蔗蔗糖培养基中培养7天的核盘菌的菌块,菌块菌丝朝下接触叶片,接种于上述系统中的待测植物叶片上,叶片接种部位为每张叶片的中心部位;同理,将长势一致的、在甘蔗蔗糖培养基中培养的待测植物幼苗转接至高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基中,然后切取在甜菜蔗糖培养基中培养7天的核盘菌的菌块,菌块菌丝朝下接触叶片,接种于上述系统中的待测植物叶片上,叶片接种部位为每张叶片的中心部位。

6. 根据权利要求1所述的一种定量检测菌核病侵染能力的方法,其特征在于:在第十一步骤中所述的依据 f_{ni} 和 δ_i 来定量评判不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况的方式是:分别比较同一时刻不同植物,或不同时刻同一植物的 f_{ni} 和 δ_i , f_{ni} 和 δ_i 值越大表示侵染得越多,植物菌核病的感染得较严重,反之,则表示侵染得越少,植物菌核病的感染得较轻。

7. 根据权利要求1所述的一种定量检测菌核病侵染能力的方法,其特征在于:在第十二步骤中所述的联合使用 f_{ni} 和 δ_i 来对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级方法为: $S_i = 10f_{ni} + 166.67\delta_i$,这里的i为不同时间的取样次数, S_i 为不同时刻待测植物感染核盘菌的级数。

一种定量检测菌核病侵染能力的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种定量检测菌核病侵染能力的方法,属于植物病理信息检测技术。

背景技术

[0002] 菌核病是由核盘菌引起的一种植物真菌病害,宿主范围广,破坏性极强。菌核病能够侵染十字花科、茄科、豆科等75个科的278个属的400多种植物,是诸葛菜和油菜上危害最严重的病害。菌核病在诸葛菜和油菜的全生育期内均易发生,开花期后发病尤其严重,能一直危害到成熟期。菌核病严重影响着油菜产量和植物油质量;常年发病率为10~30%、严重时高达80%以上,减产率达10~70%、含油量降低1~5%。因此,快速、准确地获取植物菌核病的侵染信息对其高效、安全、绿色防控具有重要意义。

[0003] 植物的组织培养是当前生物技术中的最基本的技术和手段,现已广泛应用到园艺、农业和林业生产中。它是一种在人为提供一定的温度、光照、湿度、营养、激素等条件下,快速繁育植物的技术。

[0004] 无论是核盘菌还是植物都可以依赖蔗糖来进行培养。自然界的蔗糖因为来源不同,它们的稳定碳同位素的差异是不同的。在植物组织培养过程中,组培苗通常是额外提供糖作为有机碳源。 C_3 植物 $\delta^{13}C$ 的变化范围为-20‰~-35‰, C_4 植物 $\delta^{13}C$ 的变化范围为-9‰~-17‰。因此,来源于 C_3 植物的甜菜蔗糖和 C_4 植物的甘蔗蔗糖的稳定碳同位素值差异较大,用相应的蔗糖培养的培养物的 $\delta^{13}C$ 的差异也大。

[0005] 双向同位素示踪培养技术是指同时在同一条件下,将相同的生物材料分别培养在两种同位素值差异较大的同一种培养基上,依据生物材料的同位素值得差异变化,获取物质来源信息的方法。核盘菌分泌的和感病组织产生的有机物为致病进程中重要的致病因子。究竟是核盘菌分泌的还是感病组织产生的致病因子,目前仍难以区分。对致病因子的来源的解析,可为菌核病的发病情况提供基础信息,为理解菌核病的发病机理提出科学数据。本发明就是通过多次使用同位素示踪培养和双向同位素技术来定量检测菌核病感染植物的能力。

发明内容

[0006] 本发明要解决的技术问题是,提供一种定量检测菌核病侵染能力的方法,以克服现有技术只凭病斑大小的表观结果来判断菌核病侵染能力,一方面难以定量比较菌核病的侵染程度,另一方面难以获取菌核病侵染植物过程信息等的不足。

[0007] 本发明采取以下技术方案:它包括以下步骤:

[0008] 第一,分别选用 C_4 植物的代表性蔗糖甘蔗蔗糖和 C_3 植物的代表性蔗糖甜菜蔗糖作为有机碳源,分别测定其 $\delta^{13}C$ 值,甘蔗蔗糖的 $\delta^{13}C$ 值记为 δ_{C1} ,甜菜蔗糖的 $\delta^{13}C$ 值记为 δ_{C2} ;

[0009] 第二,分别用上述甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制培养待测植物的培养基,培养待测植物组培苗,培养一段时间后,用于后续的核盘菌侵染实验;培养组培苗应为同一来源的无性系,培养过程需经过多次增殖培养,使获得的材料能保证后续的需要;

[0010] 第三,同时,同样用上述甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制培养核盘菌的培养基,将该培养基制成平板,培养核盘菌,培养一段时间后,一部分用于核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的测定,一部分用于后续的侵染待测植物的实验;获取甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基培养的培养核盘菌菌块的方法是,将核盘菌菌株先分别在含甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖的培养基上活化培养7天后,切取6mm菌块,菌丝体朝下接触培养基,接种于新的相应培养基的平板中心点培养,培养7天后,一部分培养后的材料用于核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的测定,一部分用于后续的侵染待测植物的实验;

[0011] 第四,配制高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基,用于随后的核盘菌侵染待测植物的培养;高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基配制方法为,按照质量守恒定律,将 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 标准品和甘蔗蔗糖配置成 $\delta^{13}\text{C}$ 值为30.0‰PDB的培养基;

[0012] 第五,分别用甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基培养的培养核盘菌菌块,去交替侵染长势一致的、在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物,培养在高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基;核盘菌菌块交替侵染待测植物的方法是,将长势一致的、在甜菜蔗糖培养基中培养的待测植物转接至高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基中,然后切取在甘蔗蔗糖培养基中培养7天的核盘菌的6mm菌块,菌块菌丝朝下接触叶片,接种于上述系统中的待测植物叶片上,叶片接种部位为每张叶片的中心部位;同理,将长势一致的、在甘蔗蔗糖培养基的待测植物幼苗转接至高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基中,然后切取在甜菜蔗糖培养基中培养7天的核盘菌的6mm菌块,菌块菌丝朝下接触叶片,接种于上述系统中的待测植物叶片上,叶片接种部位为每张叶片的中心部位;

[0013] 第六,分别测定用甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基培养的培养核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,其中在甘蔗蔗糖培养基中培养的培养核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{B1} ,在甜菜蔗糖培养基中培养的培养核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{B2} ;

[0014] 第七,随后再测定不同侵染时间时的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,用甘蔗蔗糖配制的培养基培养的培养核盘菌菌块,去侵染在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 $\delta_{T_{A_i}}$,用甜菜蔗糖配制的培养基培养的培养核盘菌菌块,去侵染在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 $\delta_{T_{B_i}}$,这里的i为不同时间的取样次数, $\delta_{T_{A_0}}$ 与 $\delta_{T_{B_0}}$ 分别为在实验开始的0时刻的 $\delta_{T_{A_i}}$ 和 $\delta_{T_{B_i}}$;

[0015] 第八、依据 δ_{B1} 、 δ_{B2} 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta_{T_{A_0}}$ 以及 $\delta_{T_{B_0}}$,获取菌-叶体系中菌块的份额f以及在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,其中;在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_A ,在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_B ;获取菌-叶体系中菌块的份额f的计算公式为:
$$f = \frac{\delta_{T_{A_0}} - \delta_{B_0} - \delta_{C_2} + \delta_{C_1}}{\delta_{B1} - \delta_{B2} - \delta_{C_2} + \delta_{C_1}}$$
;

随后将f代入公式:
$$\delta_A = \frac{\delta_{T_{B_0}} - f \delta_{B2}}{1-f}, \quad \delta_B = \frac{\delta_{T_{A_0}} - f \delta_{B1}}{1-f}$$
, 获得在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_A 和在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_B ;

[0016] 第九、依据 $\delta_{T_{A_0}}$ 、 $\delta_{T_{B_0}}$ 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta_{T_{A_i}}$ 以及 $\delta_{T_{B_i}}$,获取不同时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} ,获取不同时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} 计算方法为:

将 $\delta_{T_{A_0}}$ 、 $\delta_{T_{B_0}}$ 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta_{T_{A_i}}$ 以及 $\delta_{T_{B_i}}$,代入方程:
$$f_{ni} = \frac{\delta_{T_{A_i}} - \delta_{A_0} - \delta_{T_{B_i}} + \delta_{T_{B_0}}}{\delta_{C2} - \delta_{C1}}$$
, 这里的i为不同时间

的取样次数；

[0017] 第十、依据 δT_{A0} 、 δ_B 、 δT_{Ai} 以及 f 、 f_{ni} ，或者 δT_{B0} 、 δ_A 、 δT_{Bi} 以及 f 、 f_{ni} ，获取不同时刻下菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i ，获取不同时刻下菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i 的方法为： $\delta_i = \frac{\delta T_{Ai} - \delta T_{A0} - f_{ni} \delta_B}{1 - f + f_{ni}}$ 或 $\delta_i = \frac{\delta T_{Bi} - \delta T_{B0} - f_{ni} \delta_A}{1 - f + f_{ni}}$ ，这里的 i 为不同时间的取样次数；

[0018] 第十一、依据 f_{ni} 和 δ_i 来定量评判不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况；定量评判不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况的方式是：分别比较同一时刻不同植物，或不同时刻同一植物的 f_{ni} 和 δ_i ， f_{ni} 和 δ_i 值越大表示侵染得越多，植物菌核病的感染得较严重，反之，则表示侵染得越少，植物菌核病的感染得较轻；

[0019] 第十二、联合使用 f_{ni} 和 δ_i 来对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级；对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级方法为： $S_i = 10f_{ni} + 166.67\delta_i$ ，这里的 i 为不同时间的取样次数， S_i 为不同时刻待测植物感染核盘菌的级数。

[0020] 本发明的优点如下：

[0021] 1) 本方法不仅能够测定菌核病侵染植物叶片时菌-叶体系中菌块的份额 f 以及在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}C$ 值，而且还可以测定不同时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} ，最重要的是还可以定量核盘菌侵染待测植物的过程以及对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级；

[0022] 2) 本方法能够定量比较核盘菌侵染不同植物的过程，为植物菌核病的抗病机理研究提供基础数据，为植物菌核病的防治提供科技支撑；

[0023] 3) 本方法能够对植物菌核病感病情况进行预测和定量分级，为菌核病的精确施药提供依据。

[0024] 本发明的基本原理为：

[0025] C_3 植物 $\delta^{13}C$ 的变化范围为 $-20\text{‰} \sim -35\text{‰}$ ， C_4 植物 $\delta^{13}C$ 的变化范围为 $-9\text{‰} \sim -17\text{‰}$ 。因此，利用稳定碳同位素值差异较大的来源于 C_3 植物的甜菜蔗糖和 C_4 植物的甘蔗蔗糖建立双向同位素示踪培养体系，形成在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖培养基上培养的待测植物和核盘菌，用甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖培养基上培养的待测植物交替感染甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖培养基上培养的核盘菌，构建双向同位素示踪培养系统，利用双向同位素示踪培养系统，可以获取菌-叶体系中菌块的份额 f 。本发明的初始培养时的双向同位素示踪培养系统的两端元的同位素混合模型可以表示为：

$$[0026] \quad \delta T_{A0} = f\delta_{B1} + (1-f)\delta_B \quad (1)$$

$$[0027] \quad \delta T_{B0} = f\delta_{B2} + (1-f)\delta_A \quad (2)$$

[0028] δT_{A0} 为在实验开始的0时刻，用甘蔗蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块，去侵染在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}C$ 值， δT_{B0} 为用甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块，去侵染在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}C$ 值， δ_{B1} 为在甘蔗蔗糖培养基中培养的核盘菌菌块的 $\delta^{13}C$ 值， δ_{B2} 为在甜菜蔗糖培养基中培养的核盘菌菌块的 $\delta^{13}C$ 值， f 为实验开始的0时刻的菌-叶体系中菌块的份额， δ_A 为在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}C$ 值， δ_B 为在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}C$ 值。

[0029] 联立(1)和(2)式，可获得菌-叶体系中菌块的份额 f 的计算公式为：

$f = \frac{\delta T_{A0} - \delta_{B0} - \delta_{C2} + \delta_{C1}}{\delta_{B1} - \delta_{B2} - \delta_{C2} + \delta_{C1}}$; 随后将f代入公式(1)或(2),求得 δ_A 和 δ_B :

$$\delta_A = \frac{\delta T_{B0} - f \delta_{B2}}{1-f}, \quad \delta_B = \frac{\delta T_{A0} - f \delta_{B1}}{1-f}。$$

[0030] 同样,不同培养时刻下菌-叶体系也满足双向同位素示踪培养系统的两端元的同位素混合模型,它们可分别表示为:

$$[0031] \quad f \delta_{B1} + f_{ni} (\delta_B + \delta_i) + (1-f) (\delta_B + \delta_i) = \delta T_{Ai} \quad (3)$$

$$[0032] \quad f \delta_{B2} + f_{ni} (\delta_A + \delta_i) + (1-f) (\delta_A + \delta_i) = \delta T_{Bi} \quad (4)$$

[0033] 这里 f_{ni} 为不同侵染时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数; δ_i 为不同时刻下菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值, δT_{Ai} 为用甘蔗蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块,去侵染在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}C$ 值, δT_{Bi} 为用甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块,去侵染在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}C$ 值,这里的i为不同时间的取样次数,其他符号代表的意义与前面所述的相同。

[0034] 联立(1)、(2)、(3)和(4)式,可求得 f_{ni}

$$[0035] \quad f_{ni} = \frac{\delta T_{Ai} - \delta_{A0} - \delta T_{Bi} + \delta T_{B0}}{\delta_{C2} - \delta_{C1}}$$

[0036] 依据 δT_{A0} 、 δ_B 、 δT_{Ai} 以及f、 f_{ni} ,或者 δT_{B0} 、 δ_A 、 δT_{Bi} 以及f、 f_{ni} ,获取不同时刻下菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i ,获取不同时刻下菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i 的方法为:

$$\delta_i = \frac{\delta T_{Ai} - \delta T_{A0} - f_{ni} \delta_B}{1-f+f_{ni}} \text{ 或 } \delta_i = \frac{\delta T_{Bi} - \delta T_{B0} - f_{ni} \delta_A}{1-f+f_{ni}}, \text{ 这里的i为不同时间的取样次数。}$$

[0037] 分别比较同一时刻不同植物,或不同时刻同一植物的 f_{ni} 和 δ_i , f_{ni} 和 δ_i 值越大表示侵染得越多,植物菌核病的感染得较严重,反之,则表示侵染得越少,植物菌核病的感染得较轻。

[0038] 定量进行核盘菌的侵染情况的分级,有利于进行不同植物的比较。联合使用 f_{ni} 和 δ_i 来对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级;对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级方法为:将核盘菌对植物的侵染情况分成10级,核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} 和菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i 的权重各定为0.5。核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} 为50% (0.5) 和菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i 为30‰ (PDB) 定成10级,则对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级方法为: $S_i = 10f_{ni} + 166.67\delta_i$,这里的i为不同时间的取样次数, S_i 为不同时刻待测植物感染核盘菌的级数。

具体实施方式

[0039] 本发明的实例:它包括以下步骤:

[0040] 第一,分别选用 C_4 植物的代表性蔗糖甘蔗蔗糖和 C_3 植物的代表性蔗糖甜菜蔗糖作为有机碳源,分别测定其 $\delta^{13}C$ 值,甘蔗蔗糖的 $\delta^{13}C$ 值记为 δ_{C1} ,甜菜蔗糖的 $\delta^{13}C$ 值记为 δ_{C2} ;

[0041] 第二,分别用上述甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制培养待测植物的培养基,培养待测植物组培苗,培养一段时间后,用于后续的核盘菌侵染实验;培养的组培苗应为同一来源的无

性系,培养过程需经过多次增殖培养,使获得的材料能保证后续的需要;

[0042] 第三,同时,同样用上述甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制培养核盘菌的培养基,将该培养基制成平板,培养核盘菌,培养一段时间后,一部分用于核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的测定,一部分用于后续的侵染待测植物的实验;获取甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块的方法是,将核盘菌菌株先分别在含甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖的培养基上活化培养7天后,切取6mm菌块,菌丝体朝下接触培养基,接种于新的相应培养基的平板中心点培养,培养7天后,一部分培养后的材料用于核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的测定,一部分用于后续的侵染待测植物的实验;

[0043] 第四,配制高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基,用于随后的核盘菌侵染待测植物的培养;高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基配制方法为,按照质量守恒定律,将 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 标准品和甘蔗蔗糖配置成 $\delta^{13}\text{C}$ 值为30.0‰PDB的培养基;

[0044] 第五,分别用甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块,去交替侵染长势一致的、在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物,培养在高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基;核盘菌菌块交替侵染待测植物的方法是,将长势一致的、在甜菜蔗糖培养基中培养的待测植物转接至高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基中,然后切取在甘蔗蔗糖培养基中培养7天的核盘菌的6mm菌块,菌块菌丝朝下接触叶片,接种于上述系统中的待测植物叶片上,叶片接种部位为每张叶片的中心部位;同理,将长势一致的、在甘蔗蔗糖培养基中培养的待测植物幼苗转接至高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基中,然后切取在甜菜蔗糖培养基中培养7天的核盘菌的6mm菌块,菌块菌丝朝下接触叶片,接种于上述系统中的待测植物叶片上,叶片接种部位为每张叶片的中心部位;

[0045] 第六,分别测定用甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,其中在甘蔗蔗糖培养基中培养的核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{B1} ,在甜菜蔗糖培养基中培养的核盘菌菌块的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{B2} ;

[0046] 第七,随后再测定不同侵染时间时的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,用甘蔗蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块,去侵染在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 $\delta_{T_{A_i}}$,用甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块,去侵染在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 $\delta_{T_{B_i}}$,这里的i为不同时间的取样次数, $\delta_{T_{A_0}}$ 与 $\delta_{T_{B_0}}$ 分别为在实验开始的0时刻的 $\delta_{T_{A_i}}$ 和 $\delta_{T_{B_i}}$;

[0047] 第八、依据 δ_{B1} 、 δ_{B2} 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta_{T_{A_0}}$ 以及 $\delta_{T_{B_0}}$,获取菌-叶体系中菌块的份额f以及在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,其中;在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_A ,在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_B ;获取菌-叶体系中菌块的份额f的计算公式为:
$$f = \frac{\delta_{T_{A_0}} - \delta_{B_0} - \delta_{C_2} + \delta_{C_1}}{\delta_{B1} - \delta_{B2} - \delta_{C_2} + \delta_{C_1}};$$

随后将f代入公式:
$$\delta_A = \frac{\delta_{T_{B_0}} - f \delta_{B2}}{1-f}, \quad \delta_B = \frac{\delta_{T_{A_0}} - f \delta_{B1}}{1-f},$$
获得在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_A 和在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_B ;

[0048] 第九、依据 $\delta_{T_{A_0}}$ 、 $\delta_{T_{B_0}}$ 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta_{T_{A_i}}$ 以及 $\delta_{T_{B_i}}$,获取不同时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} ,获取不同时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} 计算方法为:

将 δT_{A0} 、 δT_{B0} 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 δT_{Ai} 以及 δT_{Bi} ，代入方程： $f_{ni} = \frac{\delta T_{Ai} - \delta_{A0} - \delta T_{Bi} + \delta T_{B0}}{\delta_{C2} - \delta_{C1}}$ ，这里的i为不同时间的取样次数；

[0049] 第十、依据 δT_{A0} 、 δ_B 、 δT_{Ai} 以及 f 、 f_{ni} ，或者 δT_{B0} 、 δ_A 、 δT_{Bi} 以及 f 、 f_{ni} ，获取不同时刻下菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i ，获取不同时刻下菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i 的方法为：

$\delta_i = \frac{\delta T_{Ai} - \delta T_{A0} - f_{ni} \delta_B}{1 - f + f_{ni}}$ 或 $\delta_i = \frac{\delta T_{Bi} - \delta T_{B0} - f_{ni} \delta_A}{1 - f + f_{ni}}$ ，这里的i为不同时间的取样次数；

[0050] 第十一、依据 f_{ni} 和 δ_i 来定量评判不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况；定量评判不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况的方式是：分别比较同一时刻不同植物，或不同时刻同一植物的 f_{ni} 和 δ_i ， f_{ni} 和 δ_i 值越大表示侵染得越多，植物菌核病的感染得较严重，反之，则表示侵染得越少，植物菌核病的感染得较轻；

[0051] 第十二、联合使用 f_{ni} 和 δ_i 来对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级；对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级方法为： $S_i = 10f_{ni} + 166.67\delta_i$ ，这里的i为不同时间的取样次数， S_i 为不同时刻待测植物感染核盘菌的级数。

[0052] 详细实施过程及内容

[0053] 分别选用 C_4 植物的代表性蔗糖甘蔗蔗糖(δ_{C1} ， $\delta^{13}C$ 值-14.45‰(PDB))和 C_3 植物的代表性蔗糖甜菜蔗糖(δ_{C2} ， $\delta^{13}C$ 值-26.73‰(PDB))作为有机碳源。待测植物为：甘蓝型油菜和诸葛菜。甘蓝型油菜种子，品种为宝油早12，由贵州禾睦福种子有限公司提供。诸葛菜种子采自于中国科学院地球化学研究所老所园区。油菜和诸葛菜分别在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配置的培养基中经种子萌发、增殖等步骤培养，得到的材料用于后续的核盘菌侵染实验。种子萌发培养培养基为1/2MS培养基，随后将无菌播种后培养基放置于培养室中培养2周后，接着接种于增殖培养基内进行增殖培养，在增殖培养基中培养4周后，挑选待测植物的丛芽接至高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基($\delta^{13}C$ 值30‰(PDB))中进行核盘菌侵染实验。

[0054] 病原菌为核盘菌。核盘菌的培养，将菌株首先分别在含甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖的MS培养基上活化培养7天后，将核盘菌菌株先分别在含甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖的培养基上活化培养7天后，切取6mm菌块，菌丝体朝下接触培养基，接种于新的相应培养基的平板中心点培养，培养7天后，一部分培养后的材料用于核盘菌菌块的 $\delta^{13}C$ 值的测定，一部分用于后续的侵染待测植物的实验；经测定，本实验的在甘蔗蔗糖培养基中培养的核盘菌菌块的 $\delta^{13}C$ 值为-15.51‰(PDB)，在甜菜蔗糖培养基中培养的核盘菌菌块的 $\delta^{13}C$ 值为-24.06‰(PDB)。

[0055] 核盘菌菌块交替侵染待测植物实验：分别用甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块，去交替侵染长势一致的、在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物，培养在高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基；核盘菌菌块交替侵染待测植物的方法是，将长势一致的、在甜菜蔗糖培养基中培养的待测植物转接至高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基中，然后切取在甘蔗蔗糖培养基中培养7天的核盘菌的6mm菌块，菌块菌丝朝下接触叶片，接种于上述系统中的待测植物叶片上，叶片接种部位为每张叶片的中心部位；同理，将长势一致的、在甘蔗蔗糖培养基中培养的待测植物幼苗转接至高丰度稳定碳同位素的蔗糖培养基中，然后切取在甜菜蔗糖培养基中培养7天的核盘菌的6mm菌块，菌块菌丝朝下接触叶片，接种于上述系统中的待测植物叶片上，叶片接种部位为每张叶片的中心部位。分别于接种后0h、24h、48h、60h、72h取菌块和发病叶片部位的菌-叶体系测定的 $\delta^{13}C$ 值。用甘蔗蔗糖配

制的培养基培养的核盘菌菌块,去侵染在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 $\delta\text{T}_{\text{Ai}}$,用甜菜蔗糖配制的培养基培养的核盘菌菌块,去侵染在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物的菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 $\delta\text{T}_{\text{Bi}}$,这里的i为不同时间的取样次数, $\delta\text{T}_{\text{A0}}$ 与 $\delta\text{T}_{\text{B0}}$ 分别为在实验开始的0时刻的 $\delta\text{T}_{\text{Ai}}$ 和 $\delta\text{T}_{\text{Bi}}$;结果如表1。

[0056] 依据 δ_{B1} 、 δ_{B2} 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta\text{T}_{\text{A0}}$ 以及 $\delta\text{T}_{\text{B0}}$,获取菌-叶体系中菌块的份额f以及在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,其中;在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{A} ,在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值记为 δ_{B} ;获取菌-叶体系中菌块的份额f的计算公式为:

$$f = \frac{\delta\text{T}_{\text{A0}} - \delta_{\text{B0}} - \delta_{\text{C2}} + \delta_{\text{C1}}}{\delta_{\text{B1}} - \delta_{\text{B2}} - \delta_{\text{C2}} + \delta_{\text{C1}}}$$

随后将f代入公式: $\delta_{\text{A}} = \frac{\delta\text{T}_{\text{B0}} - f\delta_{\text{B2}}}{1-f}$, $\delta_{\text{B}} = \frac{\delta\text{T}_{\text{A0}} - f\delta_{\text{B1}}}{1-f}$,获得在甘蔗蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_{A} 和在甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_{B} ;如表2。

[0057] 表1 核盘菌菌块交替侵染待测植物实验不同时刻菌-叶体系的 $\delta^{13}\text{C}$ 值(‰PDB)

侵染方式/时间	$\delta\text{T}_{\text{A0}}/\delta\text{T}_{\text{B0}}$ (0 h 时刻)	$\delta\text{T}_{\text{A1}}/\delta\text{T}_{\text{B1}}$ (24 h 时刻)	$\delta\text{T}_{\text{A2}}/\delta\text{T}_{\text{B2}}$ (48 h 时刻)	$\delta\text{T}_{\text{A3}}/\delta\text{T}_{\text{B3}}$ (60 h 时刻)	$\delta\text{T}_{\text{A4}}/\delta\text{T}_{\text{B4}}$ (72 h 时刻)
[0058] 甘蔗蔗糖培菌接种 甜菜蔗糖培油菜	-21.95	-21.72	-21.54	-21.36	-20.87
甜菜蔗糖培菌接种 甘蔗蔗糖培油菜	-21.52	-20.47	-20.16	-20.00	-19.61
甘蔗蔗糖培菌接种 甜菜蔗糖培诸葛菜	-21.77	-21.44	-20.99	-20.32	-20.15
[0059] 甜菜蔗糖培菌接种 甘蔗蔗糖培诸葛菜	-18.92	-18.24	-17.53	-16.21	-15.24

[0060] 表2 核盘菌菌块交替侵染待测植物实验接种的菌-叶体系中菌块的份额f以及在甘蔗蔗糖和甜菜蔗糖配制的培养基上培养的待测植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值(‰PDB)

	菌块的份额f	蔗糖培植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值
[0061] 甘蔗蔗糖培菌接种甜菜蔗糖培油菜	0.57	-30.49
甜菜蔗糖培菌接种甘蔗蔗糖培油菜	0.57	-18.16
甘蔗蔗糖培菌接种甜菜蔗糖培诸葛菜	0.44	-26.68
甜菜蔗糖培菌接种甘蔗蔗糖培诸葛菜	0.44	-14.88

[0062] 依据 $\delta\text{T}_{\text{A0}}$ 、 $\delta\text{T}_{\text{B0}}$ 、 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta\text{T}_{\text{Ai}}$ 以及 $\delta\text{T}_{\text{Bi}}$,获取不同时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} ,获取不同时刻下核盘菌在待测植物叶片上的增殖系数 f_{ni} 计算方法为:将 $\delta\text{T}_{\text{A0}}$ 、

$$f_{\text{ni}} = \frac{\delta\text{T}_{\text{Ai}} - \delta_{\text{A0}} - \delta\text{T}_{\text{Bi}} + \delta\text{T}_{\text{B0}}}{\delta_{\text{C2}} - \delta_{\text{C1}}}$$

这里的i为不同时间的取样

次数;结果如表3。

[0063] 表3 核盘菌菌块交替侵染待测植物实验不同时刻菌-叶体系中核盘菌在待测植物

叶片上的增殖系数 f_{ni}

侵染方式/时间	0 h	24 h	48 h	60 h	72 h
甘蔗蔗糖培菌接种 甜菜蔗糖培油菜	0	0.067	0.077	0.076	0.068
甜菜蔗糖培菌接种 甘蔗蔗糖培油菜	0	0.067	0.077	0.076	0.068
甘蔗蔗糖培菌接种 甜菜蔗糖培诸葛菜	0	0.029	0.050	0.103	0.168
甜菜蔗糖培菌接种 甘蔗蔗糖培诸葛菜	0	0.029	0.050	0.103	0.168

[0065] 依据 δT_{A0} 、 δ_B 、 δT_{Ai} 以及 f 、 f_{ni} ,或者 δT_{B0} 、 δ_A 、 δT_{Bi} 以及 f 、 f_{ni} ,获取不同时刻下菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i ,获取不同时刻下菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i 的方法

为: $\delta_i = \frac{\delta T_{Ai} - \delta T_{A0} - f_{ni} \delta_B}{1 - f + f_{ni}}$ 或 $\delta_i = \frac{\delta T_{Bi} - \delta T_{B0} - f_{ni} \delta_A}{1 - f + f_{ni}}$,这里的i为不同时间的取样次数;计算结果

如表4。

[0066] 表4 核盘菌菌块交替侵染待测植物实验中不同时刻菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值 δ_i (‰PDB)

侵染方式/时间	0 h	24 h	48 h	60 h	72 h
甘蔗蔗糖培菌接种 甜菜蔗糖培油菜	0	4.573	5.439	5.746	6.332
甜菜蔗糖培菌接种 甘蔗蔗糖培油菜	0	4.573	5.439	5.746	6.332
甘蔗蔗糖培菌接种 甜菜蔗糖培诸葛菜	0	1.874	3.466	6.332	8.382
甜菜蔗糖培菌接种 甘蔗蔗糖培诸葛菜	0	1.874	3.466	6.332	8.382

[0068] 联合使用 f_{ni} 和 δ_i 来对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级;对不同时刻待测植物对核盘菌的侵染情况进行定量分级方法为: $S_i = 10f_{ni} + 166.67\delta_i$,这里的i为不同时间的取样次数, S_i 为不同时刻待测植物感染核盘菌的级数。计算结果如表5。

[0069] 表5 不同时刻油菜和诸葛菜感染核盘菌的级数

侵染方式	0h	24h	48h	60h	72h
甘蓝型油菜	0	1.432	1.677	1.718	1.735
诸葛菜	0	0.602	1.078	2.085	3.077

[0071] 本发明的实施效果如下:

[0072] 从表2中可以看出,无论是油菜还是诸葛菜,甘蔗蔗糖培养的植物叶片都具有较高

的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,而甜菜蔗糖培养的植物叶片都具有较低的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,两者之差达到10‰PDB,适用双向同位素示踪培养条件,同时也获取了初始培养菌-叶体系中菌块的份额 f ,这为以后的计算提供基础,同时也能准确地获取不同蔗糖培养的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,避免了不同时间培养的 $\delta^{13}\text{C}$ 值未能真实表示与实验条件相同的待测植物材料蔗糖培养的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,大大减少了实验误差。

[0073] 从表3中可以看出,不同时刻菌-叶体系中核盘菌在不同植物叶片上的增殖系数 f_{ni} 是显著不同的。油菜增殖系数在第一天就达到0.067,而诸葛菜在第一天的增殖系数仅为0.029,到第二天也仅为0.050;从油菜和诸葛菜的增殖系数来看,油菜发病快,到第二天病情就基本稳定,诸葛菜发病慢,但是,随后的48小时,病情迅速加重。从表4的不同时刻不同植物的菌-叶体系的稳定碳同位素分馏值中也可以看到类似结果。

[0074] 表5中,我们也同样可以看出,油菜发病快,病级数第一天就达到1.432,而诸葛菜在第一天仅为0.602,第二天也只有1.078,但到了第三天则达到3.077;油菜在第二天的病级数为1.677,至第三天也仅为1.733。从上述结果中可以看出,油菜虽然感病快,但是,在第二天就有“免疫”功能;而诸葛菜发病慢,但随后病情增长快,若能早期发现,早期防治,则可以达到事半功倍的效果。另外,我们通过拟合病级数 y (病级)与时间 x (小时)的关系发现,诸葛菜感病适合指数增长模型($y=0.302e^{0.033x}$),而油菜感病则适合2参数单矩形双曲线模型(米氏方程 $y=1.964x/(8.765+x)$),据此,我们可以对它们的感病情况进行预测和防治。

[0075] 所述实施例为本发明的优选的实施方式,但本发明并不限于上述实施方式,在不背离本发明的实质内容的前提下,本领域技术人员能够做出的任何显而易见的改进、替换或变型均属于本发明的保护范围。