

根腐病病原菌粗提物胁迫下黄芪幼根代谢变化初探

丁文姣, 于安芬, 李瑞琴, 徐 瑞, 白 滨

(甘肃省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 为明确黄芪根腐病致病机制, 探索感病植株在物质代谢上对毒素的响应, 将分离所得茄病镰刀菌毒素粗提物稀释成不同浓度胁迫处理黄芪幼根, 对处理后的幼根蛋白质含量进行了测定。结果表明, 随着毒素胁迫时间的延长, 黄芪幼根蛋白质含量均快速下降, 这可能是随着毒素作用时间的延长, 破坏了植株体内的正常代谢, 进而抑制了蛋白质的合成。毒素胁迫后黄芪幼根可溶性糖含量降低得快, 说明植株体内呼吸作用加强; 脯氨酸含量则随着胁迫时间和毒素浓度的增加而增加, 说明黄芪幼苗对毒素危害表现为敏感响应。

关键词: 根腐病菌; 粗毒素; 黄芪幼苗; 物质代谢

中图分类号: S567.23 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2018)12-0031-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.12.010

Metabolism Changes of Astragalus Radicle under Stress of Initial Extract from Root Rot Pathogenic

DING Wenjiao, YU Anfen, LI Riuqin, XU Rui, BAI Bin

(Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: In order to clarify the pathogenesis of astragalus root rot disease and explore the response of susceptible plants to toxins in terms of material metabolism, the crude extract of *Fusarium solani* toxin from the eggplant was diluted into different concentration for stress treatment to astragalus radical, and the protein content of young root after treatment was determined. The results showed that the protein content of juvenile root protein of astragalus was rapidly decreased with the extension of toxin stress time. The soluble sugar content of young root of astragalus decreased rapidly after toxin stress, indicating that the respiration of the plant was strengthened. Proline content increased with the increase of stress time and toxin concentration, indicating that astragalus seedling showed sensitive response to toxin damage.

Key words: Root rot fungus; Crude toxin; Astragalus radical; Metabolism

黄芪根腐病(*Astragalus Root Rot*)是黄芪的重要病害之一, 它是一种分布较广、危害较重、致病的病原种类多和防治困难的常发土传病害, 其主要病原菌为镰刀菌, 以土壤带菌和植株的病残体进行传播^[1]。黄芪普遍种植于甘肃各地, 尤以甘肃中部的定西等地种植最多, 种植面积也不断扩大, 轮作周期缩短, 连作面积增加, 导致黄芪根腐病越来越严重。被根腐病危害的黄芪植株地上部生长衰弱, 地下部被害后主、侧根出现褐色坏死病斑, 严重时根皮腐烂呈纤维状, 直接影响黄芪的产量和品质。我们在对甘肃中部地区黄芪根腐病原的研究中发现, 茄病镰刀菌(*F. solani*)是

该区域黄芪根腐病的优势病原菌^[2]。镰刀菌可产生对植物组织和细胞有明显毒害作用的毒素^[3-5], 脯氨酸和可溶性糖在高等植物的抗逆生理中发挥着重要的作用^[6], 是在各种生物体内均有分布的渗透保护物质, 在毒素胁迫下, 高等植物通过增加细胞内的脯氨酸和可溶性糖含量来维持细胞的渗透压。可溶性蛋白质是重要的营养物质, 它的增加和积累能提高细胞的抗性, 增强细胞对逆境胁迫的抵抗能力^[7-10]。为探明黄芪根腐病优势病原毒素对黄芪的致病机制毒素与黄芪根系间的互作关系, 我们通过用不同浓度黄芪根腐病粗毒素对黄芪幼苗根系苗不同时间处理, 然后对幼根可溶

收稿日期: 2018-04-11

基金项目: 甘肃省农业科学院农业科技创新专项“甘肃地区黄芪根腐病优势病原毒素致病机理研究”(2013GAAS41)。

作者简介: 丁文姣(1980—), 女, 甘肃兰州人, 助理研究员, 硕士, 主要从事资源微生物利用研究工作。联系电话: (0931)7612383。Email: dingwenjiao@gsagr.ac.cn。

通信作者: 白 滨(1965—), 男, 甘肃镇原人, 副研究员, 主要从事植物保护及农产品风险评估研究工作, 联系电话: (0931)7612662。

性蛋白质、可溶性糖、脯氨酸等 3 种物质代谢指标的含量进行了研究, 以期为进一步从生理生化方面探究其抗病性机制和植株对毒素的响应机制。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

供试菌种为前期经分离纯化鉴定所得的黄芪根腐病优势致病菌茄病镰刀菌(*F. solani*)^[11]。

1.2 供试植株

选取大小均匀饱满的当年黄芪种子, 用 90% 浓硫酸浸泡 4 min 后用流水冲洗 15~30 min, 以破除种子硬实现象。将处理后的种子用湿纱布覆盖并置于培养皿中, 待种子露白后分别种于装满无菌蛭石的营养钵中, 每盆种已露白的种子 6~7 粒培养。待黄芪出苗、子叶完全展开时, 用 1/2 Hoag-land 营养液浇灌, 然后每 7 d 加 1 次 1/2 Hoag-land 营养液, 其余时间喷洒蒸馏水保湿。待黄芪幼苗第 2 片复叶完全展开时选取长势基本一致幼苗供试^[12]。

1.3 供试培养基

PDA 培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 12 g、蒸馏水 1 000 mL。PSC 培养液: 蔗糖 30 g、硫酸镁 0.5 g、蛋白胨 10 g、磷酸二氢钾 1 g、硫酸亚铁 0.01 g、氯化钾 0.5 g、蒸馏水 1 000 mL^[2]。

1.4 试验方法

1.4.1 毒素制备 采用炭吸附法提取病原毒素^[13-15]。将供试菌株在 PDA 平板上活化 7 d, 沿菌落边缘打取菌饼(d=5 mm), 转接到盛有 150 mL PSC 培养液的 250 mL 三角瓶内, 每瓶 10 片, 置摇床 25 °C 下 160 r/min 12 h 间歇摇动暗培养 12 d。培养液经纱布过滤后 8 000 r/min 离心 15 min, 弃沉淀, 留上清液即为培养滤液。在培养滤液中加入 5% 的活性炭置 5~6 °C 冰箱内, 12 h 后用滤纸过滤炭末, 然后按体积比 1:10 的比例将炭末浸泡于 45 °C 热甲醇中 1 h 后过滤, 浓缩甲醇提取液至淡黄色, 再将浓缩物溶于 50 mL 热甲醇中过滤。上清液加 3 倍体积的氯仿沉淀, 移出黄色不溶物, 剩下甲醇-氯仿溶液旋转蒸发至黑色粘稠, 即获得粗毒素。用无菌蒸馏水将粗毒素稀释 30 倍即为粗毒素母液, 再分别配制成 0%、25%、50%、100% 的粗毒素溶液待用。

1.4.2 黄芪幼苗的处理 取 2~3 叶期的黄芪幼苗洗净根部, 放入用无菌蒸馏水稀释配制的 0%、25%、50%、100% 的粗毒素溶液中, 置 25 °C 培养箱培养, 分别在第 0、6、12、24 h 时取部分根

系, 以无菌蒸馏水浸泡的试管苗作为对照, 处理好的根系组织保存于 -20 °C 冰柜待用。同时进行植株外观形态的观察记载。

1.5 测定指标与方法

黄芪幼苗根系脯氨酸含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白质含量的测定分别参照张宪政主编的《作物生理研究法》规定的考马斯亮蓝法、蒽酮法、磺基水杨酸法^[16]。

2 结果与分析

2.1 对黄芪幼根组织蛋白质含量的影响

由图 1 可见, 经毒素处理后黄芪幼根组织蛋白含量呈先升高后下降的趋势。其中, 用毒素胁迫处理 6 h 后, 黄芪幼根蛋白质含量略有升高。6~12 h, 随着胁迫时间的延长, 除 100% 粗毒素溶液处理黄芪幼苗的可溶性蛋白质仍在升高外, 其余处理的可溶性蛋白含量均在降低。12~24 h, 各处理可溶性蛋白含量均不同程度降低。这可能是由于植物体内正常的蛋白质合成过程受到抑制, 但同时有一些被诱导出的新蛋白出现或原有蛋白质含量的明显增加; 后又降低是由于随着毒素作用时间的延长, 破坏了植株体内的正常代谢, 进而抑制了蛋白质的合成。

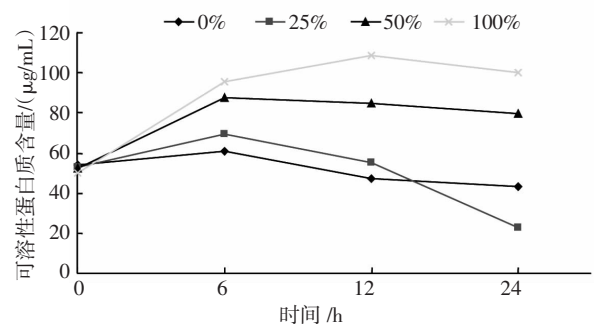


图 1 粗提物和处理时间对黄芪幼根组织蛋白质含量的影响

2.2 对黄芪幼根组织可溶性糖含量的影响

由图 2 可见, 随着毒素浓度的增加和胁迫处理时间的延长, 黄芪幼苗根系的可溶性糖含量 25% 粗毒素溶液处理呈先降后升再降的趋势; 50%、100% 浓度处理均呈先下降后上升的趋势。在毒素处理的前期, 随着粗毒素液浓度越高可溶性糖含量下降的幅度越大。在毒素处理 6 h 时, 幼苗根系的可溶性糖含量比毒素处理前下降了 31.00%~73.67%, 这可能是由于可溶性总糖主要参与植物体的呼吸代谢, 毒素胁迫后植株体内呼吸作用加强, 消耗了可溶性糖。在粗毒素处理 12 h 后, 除 25% 粗毒素溶液处理下降外, 幼苗根系的可溶性糖含量开始缓慢升高,

但始终明显低于对照,这可能是因为植株为抵抗毒素的伤害作用,将大量的可溶性糖降解为小分子糖,为抗性代谢提供能量,并且还可以将可溶性糖作为基础物质转化成为某些抗性物质。

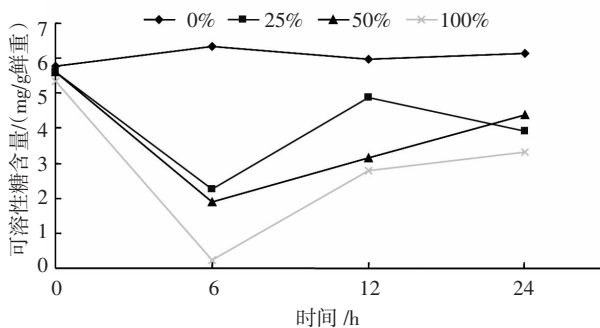


图2 粗提物和处理时间对黄芪幼根组织可溶性糖含量的影响

2.3 对黄芪幼根组织脯氨酸含量的影响

由图3可见,毒素处理黄芪幼苗后,初期(0~6h)幼苗根系的游离脯氨酸含量均快速增加,随着粗毒素液浓度的增大而增高,即胁迫初期脯氨酸含量与处理浓度呈正相关。中后期(6~24h)脯氨酸含量变化开始呈现不同趋势,随着处理时间的延长,25%、50%、100%浓度处理脯氨酸含量增加缓慢,而对照脯氨酸含量开始持续降低。毒素胁迫从处理初期开始脯氨酸含量就明显升高,这可能是由于植株感染病菌后,其体内游离脯氨酸含量的大量累积是植株抵御病毒侵染的一种防御反应,脯氨酸含量则随着胁迫时间和毒素浓度的增加而增加,表现了黄芪幼苗对毒素敏感响应。

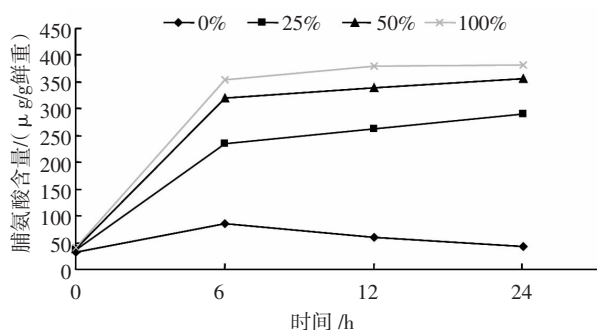


图3 粗提物处理时间对黄芪幼根组织脯氨酸含量的影响

3 结论与讨论

研究表明,黄芪苗在经过毒素处理后,可溶性蛋白含量均呈先升高后降低的趋势。植物体内可溶性蛋白含量升高可能是在受病菌侵染后形成了对病菌或毒素更稳定、活性更强的同工酶,取代了对毒素或病菌不稳定的酶,结果使它们在病害条件下发挥其特异功能。毒素处理后蛋白质含

量下降,可能是由于病原菌所诱导的抗病性生化反应的启动促使可溶性蛋白降解,蛋白质分解加快而合成受到抑制,其分解产物有可能参与抗性物质的合成。可溶性蛋白含量是否可作为驯化黄芪的一个生理指标有待进一步考证。

毒素处理前期时黄芪幼根可溶性糖含量大幅度下降,说明病原菌对黄芪幼苗表现出强致病性。脯氨酸含量则随着胁迫时间和毒素浓度的增加而增加,说明植株体内呼吸作用加强。参照台莲梅等^[17]的研究可知,抗病品种和感病品种在毒素胁迫后可溶性糖变化趋势不一,故可溶性糖含量的变化趋势可以参考作为驯化黄芪和培育抗性品种的依据之一。脯氨酸是植物受害或在逆境时发生明显变化的一种生物物质,试验结果表明,脯氨酸含量随粗毒素溶液浓度和胁迫时间的增加而增加,说明黄芪幼苗对毒素危害表现为敏感响应。

蛋白质是植物细胞中最重要的有机物质之一,是细胞结构中最重要成分。植物在逆境条件下通过可溶性蛋白质含量的变化,直接调控其适应逆境的能力,在干旱、盐渍、重金属、病菌侵染等多种逆境胁迫下,植物体内正常的蛋白质合成过程会受到抑制,但同时会有一些被诱导出的新蛋白出现或原有蛋白质含量明显增加。可溶性糖在植物体内主要参与呼吸代谢。在逆境条件下,植株体内游离脯氨酸会增加,它可以清除活性氧自由基,因此对植物起到保护作用,说明毒素可引起叶片细胞内游离脯氨酸含量的升高,使细胞束缚水的能力增强,促进了蛋白质的水合作用,保持蛋白质的空间结构,从而维持细胞膜的正常生理活动,同时也可能表现了黄芪幼苗对致病细菌毒素的敏感响应。植株感染病菌后,体内游离脯氨酸含量的大量累积是植株抵御病毒侵染的一种防御反应,并且其增加幅度与抗性正相关,这为以后黄芪驯化培育抗性品种提供了良好的基础。

参考文献:

- [1] 陈垣,朱蕾,郭凤霞,等.甘肃渭源蒙古黄芪根腐病原菌的分离与鉴定[J].植物病理学报,2011,41(4):428-431.
- [2] 丁文蛟,李金花,柴兆祥.黄芪根腐病菌毒素滤液产生条件和生物活性的测定[J].中国中药杂志,2009,32(20):2571-2575.
- [3] 史建荣,王裕中,何晨阳,等.镰刀菌单端孢霉烯毒素及其在植物病程中的作用[J].植物病理学报,1997,27(4):298-302.

14 个晚熟马铃薯新品系在榆中的品比试验初报

郑永伟, 李 掌, 曲亚英, 白永杰, 文国宏

(甘肃省农业科学院马铃薯研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 在榆中县川水地高垄黑色地膜覆盖灌溉栽培条件下, 对甘肃省农业科学院马铃薯研究所自育的 14 个马铃薯新品系进行了品比试验。结果表明, 马铃薯新品系 L1011-15 折合产量最高, 达 48 728.10 kg/hm², 较对照品种陇薯 10 号增产 8.8%; L08104-13 折合产量次之, 为 48 005.40 kg/hm², 较对照陇薯 10 号增产 7.2%。综合评价, L1011-15、L08104-12 这 2 个新品系综合性状优良, 生长健壮, 抗逆性强, 折合产量高, 抗病性强, 且薯块大、丰产性好, 可作为榆中县川水地高垄黑色地膜覆盖灌溉栽培的优良马铃薯晚熟品种种植。

关键词: 马铃薯; 新品种(系); 晚熟; 品比试验; 榆中县

中图分类号: S532

文献标志码: A

文章编号: 1001-1463(2018)12-0034-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.12.011

榆中县种植马铃薯历史悠久, 马铃薯是当地主要经济作物之一, 常年种植面积达 3 万 hm² 左右, 主要分布在榆中县的山旱地、川水地。虽然榆中县目前种植马铃薯晚熟品种较多, 由于受经济、文化的影响, 适宜榆中县川水地种植的马铃薯晚熟品种比较缺乏, 且品质差、产量低而不稳, 直接影响马铃薯产量, 从而制约了马铃薯产

业在当地的发展。为了筛选出适宜榆中县川水地种植的优良马铃薯晚熟品种(系), 在高垄黑色地膜覆盖灌溉栽培条件下, 2016 年我们在甘肃省农业科学院马铃薯研究所榆中试验站对自育的 14 个马铃薯新品系进行了品比试验, 旨在筛选出表现突出、性状优良的马铃薯晚熟品种(系)提供给当地农民推广种植^[1-4]。现将试验结果报道如

收稿日期: 2018-09-19

基金项目: 现代农业产业体系建设专项基金项目(GARS-10)、甘肃省马铃薯产业体系(GARS-03-P2)。

作者简介: 郑永伟(1972—), 男, 甘肃榆中人, 农艺师, 主要从事马铃薯遗传育种和示范推广工作。联系电话: (0)13139212450。

通信作者: 文国宏(1966—), 男, 甘肃定西人, 研究员, 主要从事马铃薯遗传育种工作。Email: 13659406968@126.com。

- [4] 彭 杰, 吴晓鹏, 黄惠琴, 等. 镰刀菌毒素研究进展[J]. 中国农学通报, 2009, 25(2): 25-27.
- [5] 张岳平. 镰刀菌真菌毒素产生与调控机制研究进展[J]. 生命科学, 2011, 23(3): 311-316.
- [6] VERBRUGGEN N, HERMANS C. Proline accumulation in plants: are view[J]. Amino Acids, 2008, 35(4): 753-759.
- [7] 王小华, 庄南生. 脯氨酸与植物抗寒性的研究进展[J]. 中国农业学报, 2008, 24(11): 398-402.
- [8] 王丽媛, 丁国华, 黎 莉. 脯氨酸代谢的研究进展[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 2010, 26 (2): 84-89.
- [9] 罗 丹, 张喜春, 田 硕. 低温胁迫对番茄幼苗脯氨酸积累及其代谢关键酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(16): 90-95.
- [10] 张 茹, 魏兵强, 王兰兰, 等. 低温胁迫对辣椒种子发芽及苗期 6 个生理指标的影响[J]. 甘肃农业科技, 2017 (12): 26-30.
- [11] 丁文姣, 徐 瑞, 白 滨, 等. 定西市黄芪根腐病优势病原菌生物学特性研究[J]. 甘肃农业科技, 2018 (3): 33-36.
- [12] 赛闹汪青, 张牡丹, 马小俊, 等. 镉胁迫对黄芪幼苗的生理学影响及凹凸棒粘土对镉胁迫缓解作用的研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(15): 3115-3119.
- [13] 台莲梅, 许艳丽, 高凤昌. 尖镰孢毒素的初步研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2004, 16(4): 9-12.
- [14] 孙顺娣. 茄病镰刀菌毒素的研究(1)[J]. 甘肃农业大学学报, 1994, 29(2): 140-144.
- [15] 孙顺娣. 茄病镰刀菌毒素的研究(2)[J]. 甘肃农业大学学报, 1994, 29(3): 245-249.
- [16] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1992: 150-152; 156-157; 205-207.
- [17] 台莲梅, 许艳丽, 闫凤云. 尖孢镰刀菌毒素对大豆幼根生理生化的影响[J]. 中国农学通报, 2005, 21 (11): 193-196.

(本文责编: 杨 杰)