

根系分泌物中糖和氨基酸对棉花枯萎菌的影响

刘素萍 王汝贤 张 荣 郭 岩 杨之为

(西北农业大学植物保护系, 陕西杨凌 712100)

摘 要 通过对中棉、陆地棉(抗、感棉花枯萎病品种)和海岛棉根系分泌物中葡萄糖、蔗糖及不同氨基酸成分和含量的测定表明: 棉花感病品种根分泌物中葡萄糖和蔗糖的含量是抗病品种的 2~3 倍; 在所测定的 6 个棉花品种中共含有 12 种氨基酸, 其种类和含量依棉花品种不同而异。不同糖的浓度对菌落生长速度影响不大, 但影响菌落的旺盛程度及色素的形成。在所测定的 12 种氨基酸中, 丙氨酸、天冬氨酸、组氨酸、脯氨酸和异亮氨酸对棉枯萎菌的生长略有刺激作用, 精氨酸、谷氨酸、赖氨酸、丝氨酸则有抑制作用。

关键词 根系分泌物, 棉花枯萎菌, 糖, 氨基酸

分类号 S432.22, S435.621.24

根系分泌物是含有多种成分的混合物, 包括糖、氨基酸、有机酸等初生代谢产物及酚类等次生代谢产物, 还有一些不知名的物质^[1~5]。根系分泌物中至少有 10 种糖, 25 种氨基酸已得到鉴定, 其中葡萄糖和果糖在一般报道中最为常见, 氨基酸也得到广泛研究^[1, 6, 7]。作者在前人研究的基础上^[1, 8, 9], 选用中棉、陆地棉和海岛棉为试材, 在不进行人工接菌的条件下, 分析了根分泌物中葡萄糖、蔗糖的含量以及氨基酸的情况, 试图探索它们对棉枯萎菌的影响。

1 材料与方法

1.1 供试材料

棉花品种为抗岱 16(抗)、沧 38(抗)、晋 89 S-23(抗)、冀棉 11(感)、90-3(感)、4738(感)、新陆早(感)、普及中棉、海岛棉(新海八号)。棉花种子均经浓硫酸脱绒, 1 mL · L⁻¹ 401 抗菌剂浸种 30 min。催芽后, 选芽长一致(3 cm)的种子用具孔滤纸将其架于 18 cm × 200 cm 的试管上, 使胚根浸入试管的培养液中, 管壁用黑纸包裹。每管置 4 粒种子, 每品种种 10 管。培养 20 d 后, 拔去棉苗, 用细菌滤器过滤培养液、浓缩备用。

1.2 试验方法

1.2.1 方法 用蒽酮比色法测定不同棉花品种根分泌物中葡萄糖、蔗糖的含量。用氨基酸分析仪, 测定分泌液中游离氨基酸的含量。

1.2.2 不同糖浓度对棉枯萎菌菌落生长及厚垣孢子形成的影响 ¹ 培养基的基本成分

收稿日期 1997-11-28
课题来源 国家自然科学基金资助项目, 39170027
作者简介 刘素萍, 女, 1971 年生, 助理研究员, 硕士; 现在福建农科院植保所工作, 福州 350013

© 1993-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

是: KH_2PO_4 1.0 g, KCl 0.5 g, MgSO_4 0.5 g, 乙二胺四乙酸铁盐 0.01 g, 硼酸钠 0.5 g, 天冬酰胺 2.0 g, 琼脂 15 g, 水 1 000 mL; ④ 给上述培养基分别加入 5, 10, 15, 20 及 $25\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的葡萄糖或蔗糖; ④将同龄等量的棉枯萎菌菌饼置于上述培养基平板上, 于 25°C 恒温箱中测定生长速度, 每个浓度重复 4 次, 24 h 测一次菌落直径, 共测 6 次。20 d 后记录每视野(10×10 倍) 中的厚垣孢子数。

1.2.3 不同氨基酸对棉枯萎菌菌落生长的影响¹ 在 $15\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水洋菜培养基中, 分别加入待测的氨基酸并制成平板, 测定棉枯萎菌的生长情况。待测氨基酸的种类是: 天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸。每种氨基酸的含量分别为 0.5, 1 及 $5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; ④取对棉枯萎菌具不同作用的氨基酸各一种, 各配制成上述浓度的溶液 10 mL, 分别加入装有 20 g 无菌土的培养皿中, 以无菌水为对照, 将长满棉枯萎菌的玻璃纸片贴入培养皿, 每皿贴 8~10 块, 5~7 d 后观察菌丝消解及厚垣孢子形成情况。

2 试验结果

2.1 不同抗性棉花品种根分泌液中葡萄糖、蔗糖的含量

从分泌液中葡萄糖、蔗糖含量的测定结果(表 1) 可知: 棉花抗病品种抗岱 16, 沧 38, 晋 89S-23 和普及中棉的根分泌液中, 葡萄糖含量分别为 143.3, 88.8, 162.6 和 $120.9\text{ }\mu\text{g}/\text{株}$, 而感病品种冀棉 11, 90-3, 4738 和新海八号的葡萄糖含量分别为 643.2, 344.3, 304 和 $255.2\text{ }\mu\text{g}/\text{株}$, 明显高于抗病品种根分泌液中的含量。抗病品种根分泌液中蔗糖含量最高的是晋 89S-23 ($86.72\text{ }\mu\text{g}/\text{株}$), 感病品种中蔗糖含量最高的是冀棉 11 ($341.7\text{ }\mu\text{g}/\text{株}$), 由此看出, 不论葡萄糖还是蔗糖, 棉花抗病品种根分泌物中的含量均远远低于感病品种。

表 1 不同抗性棉花品种根分泌液中葡萄糖、蔗糖的含量 $\mu\text{g}/\text{株}$

品 种	葡萄糖	蔗 糖
抗岱 16	143.3	77.1
沧 38(抗)	88.8	49.2
晋 89S-23(抗)	162.6	86.7
普及中棉	120.9	65.6
冀棉 11(S)	643.2	341.7
新海 8 号	255.2	142.4
90-3(S)	344.3	195.3
4738(S)	304.0	178.6

2.2 不同抗性棉花品种根分泌物中氨基酸的种类和含量

根分泌物中氨基酸和蛋白质含量的测定结果(表 2) 表明: 供试棉花品种根系分泌物中共含有 12 种氨基酸, 抗病品种抗岱 16, 沧 38 和普及中棉的根分泌液中氨基酸种类较少, 它们均不含异亮氨酸、苏氨酸和精氨酸。感病品种新海八号、新陆早、冀棉 11 中氨基酸的种类多, 主要为组氨酸、脯氨酸、甲硫氨酸、甘氨酸、谷氨酸。丝氨酸在沧 38 抗中含量较多, 丙氨酸和赖氨酸的含量在 6 种供试棉花品种中没有规律。

表 2 不同抗性棉花品种根分泌物中氨基酸的含量 μg/株

氨基酸	抗岱 16	沧 38 抗	普及中棉	新海 8 号	新陆早	冀 11(感)
丙氨酸	—	2. 427 2	0. 171 2	0. 370 2	0. 133 3	1. 115 4
天冬氨酸	0. 214 9	—	0. 178 4	0. 334 9	0. 311 1	—
组氨酸	0. 061 4	—	—	0. 349 7	—	—
脯氨酸	—	0. 873 8	—	—	—	1. 676 9
异亮氨酸	—	—	—	0. 379 0	—	—
苏氨酸	—	—	—	0. 351 1	0. 177 8	—
甲硫氨酸	0. 184 2	—	—	—	0. 444 4	—
甘氨酸	—	—	0. 146 9	0. 693 4	0. 444 4	—
精氨酸	—	—	—	0. 382 0	—	—
谷氨酸	—	—	0. 344 7	0. 553 9	—	1. 076 9
赖氨酸	—	0. 179 2	0. 945 6	1. 917 2	0. 444 4	0. 561 5
丝氨酸	—	3. 069 0	—	0. 421 6	0. 577 8	0. 784 1

2. 3 不同糖浓度对菌落生长的影响

通过不同糖浓度对病菌生长影响的处理(表 3)可以看出,不同糖浓度对菌落生长速度影响不大,但影响菌落生长的旺盛程度。糖浓度为 5 和 10 g · L⁻¹时,菌丝几乎平贴于培养基上,无色,不呈棉絮状;浓度为 15, 20 和 25 g · L⁻¹时,菌丝茂盛,呈棉絮状。浓度为 5 g · L⁻¹时,在培养基中不产生色素,其余浓度均产生色素,其颜色随糖浓度的增加而加深,浓度为 25 g · L⁻¹时,颜色为深紫色。

表 3 不同糖浓度对棉枯萎菌菌落生长的影响 菌落直径/cm

糖	天数/d	糖浓度/(g · L ⁻¹)				
		5	10	15	20	25
葡萄糖	1	1. 00	1. 03	1. 02	1. 05	1. 06
	2	2. 34	2. 34	2. 36	2. 35	2. 35
	3	4. 41	4. 49	4. 50	4. 40	4. 45
	4	6. 13	6. 43	6. 35	6. 13	6. 08
	5	7. 01	7. 73	7. 70	7. 49	7. 46
	6	7. 53	8. 08	8. 05	8. 01	8. 08
蔗 糖	1	0. 96	0. 97	1. 00	1. 09	1. 03
	2	2. 31	2. 36	2. 35	2. 34	2. 34
	3	4. 30	4. 56	4. 56	4. 56	4. 59
	4	5. 73	6. 31	6. 43	6. 43	6. 39
	5	6. 44	7. 50	7. 63	7. 65	7. 93
	6	6. 89	8. 14	8. 06	8. 28	8. 26

2. 4 不同糖浓度对棉枯萎菌厚垣孢子形成的影响

从枯萎菌厚垣孢子对不同糖浓度的反应试验(表 4)看出:在观察的前 3 d,无论是葡萄糖还是蔗糖,低浓度时,形成的厚垣孢子数较多,随糖浓度的增加,形成的厚垣孢子量依次减少。在 4 d 时,情况向相反的方向变化,葡萄糖、蔗糖浓度均为 25 g · L⁻¹时,平均每个视野的厚垣孢子数分别是 40. 3 和 43. 5,高于其他浓度的厚垣孢子数。这种现象说明,在糖浓度较低的情况下,厚垣孢子形成的早,随着时间的推移,糖浓度越高,形成的厚垣孢子数

增加。

表 4 不同糖浓度对棉枯萎菌厚垣孢子形成的影响											厚垣孢子数/ 个		
糖	浓度/ (g · L ⁻¹)	1 d			2 d			3 d			4 d		
		<i>X</i>	<i>P</i> _{0.05}	<i>P</i> _{0.01}	<i>X</i>	<i>P</i> _{0.05}	<i>P</i> _{0.01}	<i>X</i>	<i>P</i> _{0.05}	<i>P</i> _{0.01}	<i>X</i>	<i>P</i> _{0.05}	<i>P</i> _{0.01}
葡萄糖	5	6. 5	a	A	13. 8	a	A	24. 3	a	A	26. 5	b	A
	10	3. 5	b	AB	6. 0	b	B	21. 3	a	A	23. 3	b	B
	15	1. 3	bc	B	2. 5	c	BC	20. 8	a	A	23. 3	b	B
	20	0. 0	c	B	1. 0	c	C	12. 3	b	B	29. 3	ab	A
	25	0. 0	c	B	0. 5	c	C	9. 3	b	B	40. 3	a	A
蔗 糖	5	7. 3	a	A	11. 8	a	A	24. 5	a	A	23. 5	a	A
	10	3. 5	b	AB	5. 8	b	B	17. 5	b	AB	20. 3	b	A
	15	1. 3	bc	A	2. 5	c	BC	19. 5	b	AB	26. 5	a	A
	20	0. 0	c	A	1. 0	c	C	12. 0	bc	B	39. 0	a	A
	25	0. 0	c	A	0. 3	c	C	10. 3	c	B	43. 5	a	A

2. 5 不同浓度氨基酸对棉枯萎菌的影响

依据不同抗性棉花品种根分泌物中氨基酸种类和含量的测定结果, 在含有不同氨基酸的培养基上测定棉枯萎菌的生长情况(表 5)。

表 5 不同浓度氨基酸对棉枯萎菌菌落生长的影响													菌落直径/ cm	
时间/ d	浓度/ (g · L ⁻¹)	丙氨酸	天冬氨酸	组氨酸	脯氨酸	异亮氨酸	苏氨酸	甲硫氨酸	甘氨酸	精氨酸	谷氨酸	赖氨酸	丝氨酸	对 照
1	0. 5	0. 62	0. 68	0. 57	0. 75	0. 54	0. 53	0. 53	0. 53	0. 67	0. 68	0. 82	0. 70	
	1. 0	1. 02	0. 70	0. 77	0. 77	0. 59	0. 55	0. 50	0. 60	0. 68	0. 62	0. 55	0. 65	0. 52
	5. 0	0. 92	0. 95	0. 72	0. 82	0. 79	0. 55	0. 52	0. 97	0. 52	0. 55	0. 52	0. 51	
2	0. 5	1. 07	1. 27	1. 17	1. 68	1. 03	1. 02	0. 80	0. 63	1. 18	1. 38	1. 35	1. 30	
	1. 0	1. 57	1. 33	1. 24	1. 72	1. 13	1. 17	0. 82	0. 97	1. 17	1. 00	1. 28	1. 07	1. 0
	5. 0	1. 95	1. 95	1. 33	1. 77	1. 37	1. 12	0. 78	1. 08	0. 63	1. 05	0. 63	1. 00	
3	0. 5	1. 80	2. 27	1. 57	1. 98	1. 67	1. 45	1. 15	0. 97	1. 83	2. 22	2. 00	1. 67	
	1. 0	2. 52	2. 78	1. 87	2. 73	1. 80	1. 77	1. 35	1. 13	1. 63	2. 03	1. 73	1. 57	1. 65
	5. 0	3. 25	3. 15	2. 50	2. 82	1. 87	1. 67	1. 27	1. 47	0. 93	1. 80	1. 15	1. 30	
4	0. 5	2. 52	2. 65	2. 40	2. 55	2. 38	1. 72	1. 52	1. 25	2. 43	2. 87	2. 63	2. 89	
	1. 0	3. 20	3. 23	2. 45	3. 60	2. 40	2. 30	1. 73	1. 62	2. 30	2. 75	2. 27	2. 37	2. 10
	5. 0	4. 40	4. 25	3. 32	3. 82	2. 60	2. 50	1. 98	2. 25	1. 38	2. 47	1. 35	2. 01	
5	0. 5	3. 30	3. 40	3. 23	3. 68	3. 30	2. 32	1. 85	1. 80	3. 32	3. 95	3. 47	3. 50	
	1. 0	3. 80	4. 28	3. 40	4. 58	3. 42	2. 97	2. 00	1. 90	3. 00	3. 80	3. 28	2. 97	3. 03
	5. 0	5. 35	5. 10	4. 37	4. 90	3. 70	3. 10	2. 92	2. 77	1. 70	3. 60	1. 93	2. 90	
6	0. 5	4. 30	3. 83	4. 10	4. 60	4. 03	2. 70	2. 23	2. 23	3. 85	4. 40	4. 02	4. 37	
	1. 0	4. 35	5. 17	4. 23	5. 55	4. 23	3. 50	2. 63	2. 27	3. 47	4. 27	3. 90	3. 23	3. 53
	5. 0	6. 50	5. 57	5. 40	5. 93	4. 37	3. 77	3. 53	3. 20	2. 32	4. 25	2. 47	3. 07	
7	0. 5	4. 80	4. 43	4. 82	5. 53	4. 57	3. 70	3. 53	3. 15	4. 55	5. 38	4. 75	5. 41	
	1. 0	4. 80	5. 63	5. 82	6. 47	4. 92	4. 70	4. 25	3. 73	4. 03	5. 28	4. 17	4. 24	4. 38
	5. 0	7. 63	5. 95	6. 52	7. 03	5. 13	5. 35	5. 80	4. 70	2. 68	4. 70	2. 87	3. 92	

按照菌落的生长速率, 将所测定 12 种氨基酸分为 3 类: 第 1 类随氨基酸浓度的增大, 菌落直径增大, 且菌落直径基本大于对照, 属于这类的氨基酸是组氨酸、脯氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、天冬氨酸, 其中组氨酸、脯氨酸和异亮氨酸在棉花感病品种根分泌液中含量较

多, 丙氨酸、天冬氨酸在所测试的 6 种供试棉花品种中无规律; 第 2 类随氨基酸浓度增大, 菌落直径增大, 但在低浓度下直径小于对照, 在高浓度下直径大于对照, 属于这类的氨基酸是苏氨酸、甲硫氨酸、甘氨酸, 低浓度下抑制棉枯萎菌的生长, 在高浓度下则刺激棉枯萎菌的生长; 第 3 类随氨基酸浓度增大, 菌落直径减小, 属于这类的氨基酸是精氨酸、谷氨酸、赖氨酸、丝氨酸, 其中只有丝氨酸在抗病品种中含量较多, 其余则含量较少或无。

从上述 3 类氨基酸中取丙氨酸、甘氨酸、精氨酸配成不同浓度的溶液, 接入无菌土中, 观察其对菌丝消解和孢子形成的作用。在加入丙氨酸和甘氨酸的土中, 随浓度的增大, 形成的厚垣孢子数增多, 菌丝的消解则逐渐减少。甘氨酸在 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度下, 菌丝大量消解。精氨酸的浓度为 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 形成大量的大孢子和少量的厚垣孢子, 其余两浓度形成的厚垣孢子数明显低于丙氨酸和甘氨酸, 且菌丝基本消解。

3 讨 论

分子生物学研究指出, 细胞之间的联系与糖分子有关, 寄生物与寄主之间的侵染和共生涉及细胞表面的糖分子识别。刘士庄等人^[8]在研究棉花凝集素时发现病原菌孢子外被为葡萄糖结构。本文对不同抗性棉花种、品种根分泌物中葡萄糖、蔗糖含量对棉枯萎菌作用的分析表明, 感病品种根分泌物中的含量高于抗病品种的 2~3 倍。在高糖培养基中病菌生长茂盛, 这可能是较多的葡萄糖给病原菌提供了丰富的营养, 有利于病菌在体外的增长、繁殖和增加了病原菌与寄主识别的机率。

本研究在抗、感棉花品种根系分泌物中共测定出 12 种氨基酸, 与冯洁等人^[1]测定的结果相比, 其中仅有 6 种氨基酸相同(谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、异亮氨酸、赖氨酸和精氨酸), 这种差异可能由于培养条件及棉花品种的差异所致。冯洁, 陈其瑛^[1], Hrushavetz S B^[6]等人研究了作物根分泌物中氨基酸的差异, 但不同氨基酸对病菌的作用仍不清楚。本研究仅从病菌生长速度及孢子形成情况将不同氨基酸归类, 抑制型的氨基酸不利于菌丝生长及厚垣孢子的形成, 却有利于大孢子形成; 而刺激型氨基酸的作用则相反, 但不同氨基酸对病菌作用的本质尚需进一步研究。在不同氨基酸的作用中, $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的精氨酸可以刺激形成大量的大孢子, 这将为棉枯萎菌大孢子的形成提供一个较为简捷的方法。

致谢: 中国农科院植保所孙文姬副研究员、西北农业大学农学系张云青教授提供棉种, 特此致谢。

参 考 文 献

- 1 冯 洁, 陈其瑛. 棉花幼苗根系分泌物与枯萎病关系的研究. 棉花学报, 1991(3): 89~96
- 2 杨之为, 王汝贤, 宗兆锋, 等. 棉花枯萎病抑病土成因初探 I. 棉根系分泌物对棉花枯萎菌的影响. 西北农业大学报, 1995, 4(4): 63~68
- 3 Francisco J. Root exudates of wildoates allelopathiceffect on springwheat. Phytochem, 1991, 30: 2199~2201
- 4 Ingrid Krazfyzk. Soluble root exudates of maize: Influence of potassium supply and rhizosphere microoganism. Soil Biol Biochem, 1984, 16: 315~322
- 5 Katznelson H. Rizosphere effect of mangels on certain groips of soil microoganism s. Soil Sci, 1946, 62: 343~354
- 6 Hrushavetz S B. Effect of amino acids on the *H. sativum* to wheat seedling. Phytopathology, 1957, 47: 261
- 7 陈其瑛, 郭海丹. 陆地棉不同品种苗期含糖水平与棉枯萎菌相关性研究. 北京: 中国农业科技出版社, 1990

- 8 刘士壮, 施承燊. 棉花凝集素的分离纯化及其对棉花枯萎病的影响. 植物病理学报, 1996, 26(4): 311~315
- 9 杨之为, 王汝贤. 不同棉花品种根分泌物对棉枯萎菌的影响. 中国农业科学, 1995, 28(1): 87

Effects of Sugar and Amino Acid in Root Exudation of Different Resistant Cotton Cultivars on Cotton Fusarium Wilt Pathogen

Liu Suping Wang Ruxiang Zhang Rong Guo Yan Yang Zhiwei

(Department of Plant Protection, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract The content of glucose and sucrose in susceptible cotton variety root exudation is two or three times more than resistant varieties. There are twelve amino acids in six cotton varieties' root exudation, and the type and quantity of amino acids are different in terms of different variety. The different sugar concentration has little effect on mycelial growing, but it affects the mycelium vigor and color formation. Alanine aspartic acid, histidine, proline, and isoleucine can stimulate the mycelial growth of pathogen, while arginine, glutamate, lysine and serine have suppressive effects.

Key words root exudation, cotton Fusarium wilt pathogen, sugar, amino acid