

嗜热脂肪芽孢杆菌 A-10⁺对马铃薯植株 生理生化指标的影响

王瑞霞,田宏先,杜 珍,鲁喜荣,岳新丽

(山西省农业科学院 高寒区作物研究所,山西 大同 037008)

摘要:马铃薯脱毒苗经环腐病菌悬液浸根后,再用 A-10⁺生防菌液处理,结果表明:叶片内的苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化氢酶(CAT)和叶绿素的含量与对照相比均有明显的增加,表明植物的抗病性增强;可溶性蛋白的释放减少,表明降低了病菌对组织的破坏作用,说明嗜热脂肪芽孢杆菌对马铃薯植株的抗病性具有诱导效应。

关键词:嗜热脂肪芽孢杆菌;生理生化指标;诱导抗性;马铃薯

中图分类号:S532.01 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2011)06-0145-03

Study on the *Bacillus. stearothermophilus* A-10⁺ on Physiological and Biochemical of Potato Plate

WANG Rui-xia, TIAN Hong-xian, DU Zhen, LU Xi-rong, YUE Xin-li

(Institute of High Altitude Crop, Shanxi Academy of Agriculture Sciences, Datong 037008, China)

Abstract: Endophytic bacteria A-10⁺ have remarkable preventive function to Potato bacteria ring rot. The paper studies the changes of the chlorophyll contents and the activity of several enzymes inside the plants of potato. After they have been treated with bacterial suspension of A-10⁺. The experiment result shows that, compared with the control, the activity of CAT, PAL and the content of chlorophyll in leaves of potato increased obviously and the content of soluble protein reduced. The paper concluded that as the activity of the enzymes mentioned above and the chlorophyll contents are in positive relation to the disease resistance of plants. And the content of soluble protein reduced showed that the germ reduce the damaging effects of bacteria on the organization.

Key words: *B. stearothermophilus*; Physiological and biochemical; Induced resistance; Potato

芽孢杆菌耐热、耐干,具有很强的生存能力,广泛分布于各种微生态环境,在土壤和植物表面以及组织内部普遍存在,在植物体内具有稳定的生存空间,通过竞争、拮抗、诱导植物抗性等方式控制病害^[1],是一类重要的生防细菌。因而用于生防的芽孢杆菌种类比较多^[2-4]。嗜热脂肪芽孢杆菌(*B. stearothermophilus*) A-10⁺是一个定殖、促生和拮抗3种作用兼备、有很好应用前景的内生细菌^[5]。本试验就 A-10⁺抑菌活性成分对马铃薯植株体内各种酶类数量变化进行了研究,为明确该菌株的抑菌机制、生防菌剂的研发及应用奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

内生拮抗菌株 A-10⁺的菌悬液;病原菌为马铃

薯环腐病菌的菌悬液;供试感病马铃薯脱毒苗为弗乌瑞它。

1.2 方法

1.2.1 植株的接种与取样 共设生防菌液、病原菌+生防菌液、病原菌、清水4个处理,每个处理重复3次。设2个对照,分别是清水处理和马铃薯环腐病原菌菌悬液处理。选用大小均匀一致的马铃薯脱毒幼苗,剪去1/3根系,用环腐病菌菌悬液浸根处理30 min之后,将幼苗移栽到装有自然土的塑料钵(直径10 cm,高15 cm)中,每钵移栽1株,每处理50株。对于病原菌+生防菌液处理,则先用病原菌菌悬液浸根处理30 min,再用生防菌液浸根处理30 min,之后栽到塑料钵中。未接种的各处理均应浇灌相应量的清水。接种环腐病菌以后,温度控制为22~24℃,为了促进病原菌的萌发,在接种病原菌

收稿日期:2011-09-31

基金项目:山西省农科院重点项目(YZD1007);山西省科技攻关项目(981014)

作者简介:王瑞霞(1972-),女,山西保德人,助理研究员,博士,主要从事马铃薯细菌性病害防治工作。

通讯作者:田宏先(1971-),男,山西应县人,助理研究员,主要从事马铃薯细菌性病害生物防治工作。

12 h 内用塑料膜覆盖整个花盆,并保持土壤潮湿。马铃薯植株分别于接种病原菌后 0, 1, 2, 3, 4, 5 d 取样,每份样品 2 g, 3 次重复,于冰冻保存备用。

1.2.2 马铃薯植株体内酶类测定 可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[6]; CAT 活性的测定参照植物生理学实验指导^[6]; MDA 含量的测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[6]; PAL 活性变化的测定参照李靖等^[7]采用的分光光度计测光密度值的方法;叶绿素含量的测定参照文献^[8]。

2 结果与分析

2.1 马铃薯植株体内可溶性蛋白含量的变化

各处理马铃薯植株可溶性蛋白含量(以鲜质量计)变化的测定结果表明(图 1),接种 1 d 时所有处理的可溶性蛋白含量均出现不同程度的下降,而生防菌液处理后 1 d 内马铃薯植株体内的可溶性蛋白含量比其他处理的高。1~3 d 内各处理马铃薯植株体内的可溶性蛋白含量逐渐上升,其中,只接种病原菌处理的可溶性蛋白含量上升的速度最快,3 d 时比清水处理高 10%;接种生防菌液+病原菌处理 3 d 时比清水处理高 8.3%;而只接种生防菌液处理 3 d 时可溶性蛋白的含量比清水处理降低了 3.0%。4 d 后各处理马铃薯植株体内的可溶性蛋白含量略有下降,接种病原菌处理的可溶性蛋白含量仍显著高于其他处理。

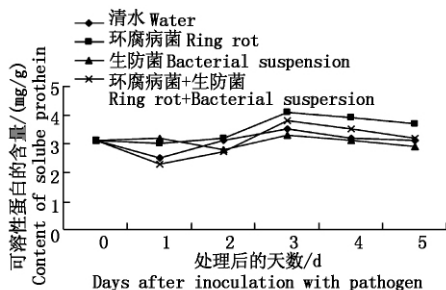


图 1 各处理马铃薯幼苗可溶性蛋白含量的变化

Fig. 1 Changes of content of soluble proteins in seedling of potato

2.2 马铃薯植株体内丙二醛含量的变化

处理后马铃薯植株体内丙二醛(MDA)含量(以鲜质量计)变化的测定结果表明(图 2),1 d 内各处理间 MDA 的含量都有下降,各处理间的差异相对较小。1 d 之后各处理 MDA 含量都保持上升趋势,但生防菌液处理 MDA 含量上升幅度最大,到第 3 天达到峰值,然后迅速下降,且下降幅度最大。只接病原菌和清水处理 MDA 含量 2 d 时达到最大值,但病原菌处理比清水处理高 21.4%;之后维持在高含量水平呈平稳下滑,其含量在 1~3 d 内均显著高于生

防菌液+病原菌处理。4 d 时清水处理 MDA 含量下降到最低点。而生防菌液+病原菌处理 3 d 后马铃薯植株体内 MDA 含量继续保持平稳。这说明马铃薯环腐病菌在较短的时间内完成了侵染,造成寄主组织细胞膜脂过氧化,使得 MDA 含量急剧上升,这与马铃薯环腐病在适合条件下即可完成侵染的特性相符。

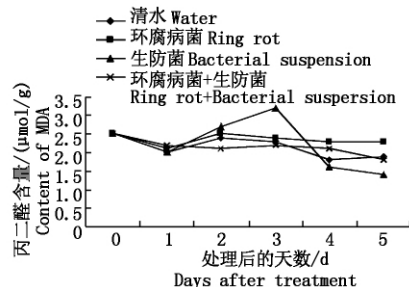


图 2 各处理块茎内丙二醛浓度的变化

Fig. 2 Changes of malondialdehyde in the potato tuber treatment

2.3 马铃薯植株体内过氧化氢酶活性的变化

各处理马铃薯植株体内过氧化氢酶(CAT)活性变化测定结果表明(图 3),清水对照处理马铃薯植株体内 CAT 活性变化相对平稳。单独接种环腐病菌的处理 1~2 d 马铃薯植株体内 CAT 活性升高,且 2 d 时其活性(以鲜质量计)高于其他各处理,比清水对照高出 36.7%。2 d 后急剧上升,4 d 时其活性是 0 d 活性的 4.56 倍。单独接种生防菌液处理的马铃薯植株体内 CAT 活性 1 d 时急剧下降,1 d 时其活性是清水对照的 1.47 倍,之后活性下降至与清水对照相当。

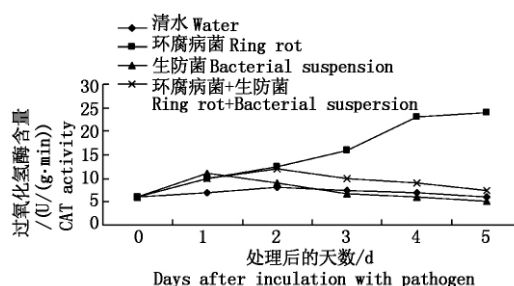


图 3 各处理马铃薯幼苗 CAT 含量的变化

Fig. 3 Changes of content of CAT in seedling of potato

2.4 马铃薯植株体内苯丙氨酸解氨酶活性的变化

各处理马铃薯植株体内苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性(以鲜质量计)变化测定结果表明(图 4),清水和生防菌液处理后,植株体内 PAL 的活性与 CAT 活性一样相对比较平稳,但 CAT 活性在 1~5 d 内显著低于清水对照。分别接种环腐病菌液处理和生防菌+环腐病原菌处理的马铃薯植株体内 PAL 活性 1 d 后迅速上升,且幅度最大,但环腐病菌液处理一直高于生防菌+环腐病原菌处理,2 d 后上升速度

出现差别,生防菌+环腐病菌处理开始低于环腐病菌处理 3 d 后 PAL 活性均显著高于清水和生防菌处理。

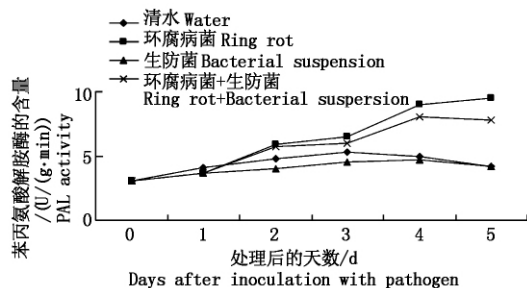


图 4 各处理马铃薯幼苗 PAL 含量的变化

Fig. 4 Changes of content of PAL in seedlings

2.5 马铃薯植株体内叶绿素含量的变化

各处理对马铃薯植株内叶绿素含量的结果表明(图 5),各处理叶绿素含量的变化差异较大。总体上清水对照处理马铃薯植株体内的叶绿素含量变化在整个过程呈现上升的趋势,但上升的幅度比较小。接种环腐病菌后马铃薯植株体内的叶绿素含量变化较大,接种处理后 1 d 内有所增加,但在 1 d 后开始迅速下降,2 d 后已显著低于其他处理,4 d 时达到最小值,为清水处理的 115%。接种生防菌+环腐病原菌的马铃薯植株叶绿素含量的变化与清水对照变化趋势大体一致。接种生防菌后 1 d 内叶绿素含量的变化不大,1~5 d 内出现快速上升的趋势,显著高于清水对照,之后变化趋于平稳。

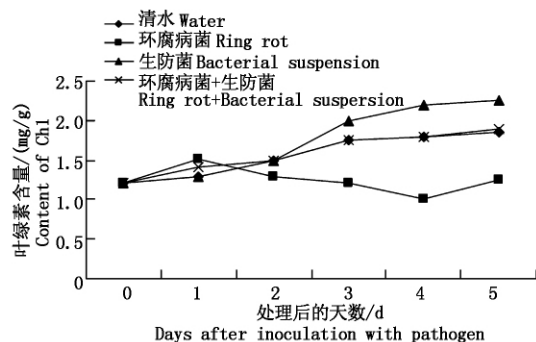


图 5 各处理马铃薯幼苗叶绿素含量的变化

Fig. 5 Changes of content of Chl in seedlings of potato

3 结论与讨论

本研究结果表明,接种生防菌对马铃薯植株体内可溶性蛋白含量无显著影响,但在接种生防菌后再接种环腐病菌,可降低病原菌对植株的影响,使马铃薯植株体内的可溶性蛋白含量变化减小,维持了相对稳定的生理功能。由于生防菌与病原菌的互作,使得他们共同接种时对马铃薯块茎的影响比单独接种小。生防菌与病菌共同接种后,由于生防菌抑制了病菌,降低病菌对组织破坏作用,减少可溶性蛋白的释放。

生防菌处理后植株的 MDA 含量与清水处理的含量保持一致,甚至比清水的含量还低;生防菌与病原菌共同接种后的 MDA 含量上升,但与单独接种病原菌相比上升幅度明显降低。可以看出,寄主体内 MDA 含量的变化与病害发生情况基本吻合。表明寄主体内 MDA 含量与寄主细胞的损伤程度有关,这与陈少裕等^[9]研究,认为寄主体内 MDA 含量是膜脂过氧化程度的一个重要标志,它与寄主细胞膜的损伤程度直接相关的结果相符。单独接种生防菌可使马铃薯块茎内的 MDA 含量显著降低,可能是由于生防菌可分泌一种具有某种保护细胞膜脂过氧化的物质,降低了 MDA 的形成,在防病过程中也观察到,菌液处理后的马铃薯块茎表面比清水处理的硬度较大,但其具体的原因有待进一步研究。

过氧化氢酶是一种末端氧化酶,它能促进呼吸氧化作用并能加速分解病菌的致病基质,即过氧化氢酶的活性愈强,植株抗病性愈强^[10]。

内生细菌菌株处理后的马铃薯植株与病原菌互作时可使马铃薯的 PAL 活性快速升高,表现抗病性。PAL 是莽草酸途径的关键酶,其活性与酚类化合物密切相关。酚被氧化会产生毒性很高的醌,会对病原菌产生毒害^[7]。内生细菌菌株使马铃薯体内的 PAL 活性降低并使其活性保持在一个相对较低的水平,而在马铃薯植株与病原菌互作时又可使马铃薯的 PAL 活性快速升高,这还有待进一步研究。叶绿素含量的增高也是植株生长健壮,抗病力增强的一个标志^[11]。

参考文献:

- [1] 梅汝鸿,徐维敏.植物微生物学[M].北京:中国农业出版社,1998.
- [2] 田宏先,崔林,王秀英,等.马铃薯内生促生菌的促生长作用[J].山西农业科学,2003,31(1):28-30.
- [3] 王瑞霞,贺运春,赵廷昌,等.马铃薯环腐病生防菌株 P₁ 的鉴定、防病效果及促生作用研究[J].植物病理学报,2010,40(1):66-73.
- [4] 田宏先,崔林,孙振,等.内生菌对马铃薯环腐病的田间防效及增产作用[J].山西农业科学,2002,30(1):73-75.
- [5] 田宏先,王瑞霞,李荫藩,等.马铃薯环腐病内生细菌的分离、筛选及鉴定[J].农业生物技术学报,2005,13(2):241-246.
- [6] 西北农业大学植物生理生化教研组.植物生理学实验指导[M].西安:陕西科学技术出版社,1986:47-48,92-93.
- [7] 李靖,利容千,袁文静.黄瓜感染霜霉病菌叶片中一些酶活性的变化[J].植物病理学报,1991,21(4):277-282.
- [8] 薛雅琳,田淑梅,武占军.油菜籽和菜籽油中叶绿素测定方法的确定[J].中国油脂,2003,28(9):33-34.
- [9] 陈少裕.膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J].植物学通报,1998,6(4):211-217.
- [10] 刘庆元,张穗,李久禄,等.黄瓜品种对霜霉病的抗性机理[J].华北农学报,1993,8(1):70-75.
- [11] 高芬,马利平,乔雄梧,等.家畜返肥浸渍液对蔬菜抗病性相关酶活性及叶绿素含量的影响[J].华北农学报,2003,18(2):60-62.