

枯萎病不同抗性黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 根系分泌物氨基酸组分与抗病的相关性

潘 凯 ,吴凤芝*

(东北农业大学园艺学院 ,哈尔滨 150030)

摘要 :以 5 种对枯萎病不同抗性黄瓜品种为试材 ,对其根系分泌物氨基酸组分进行测定 ,并对氨基酸组分与黄瓜品种枯萎病抗病性之间的相关性进行了分析。结果表明 ,在中抗品种根系分泌物中检测到的 16 种氨基酸 :半胱氨酸 Cys、苏氨酸 Thr、丙氨酸 Ala、缬氨酸 Val、异亮氨酸 Ile、天冬氨酸 Asp、亮氨酸 Leu、苯丙氨酸 Phe、甘氨酸 Gly、甲硫氨酸 Met、组氨酸 His、谷氨酸 Glu、酪氨酸 Tyr、赖氨酸 Lys、丝氨酸 Ser 和精氨酸 Arg。其中的精氨酸在感病品种中没有被检出 ,组氨酸和精氨酸组分在抗病品种中没有被检出。根系分泌物中总氨基酸含量随品种抗性的增加而降低 ;精氨酸、丝氨酸和赖氨酸的含量与品种对枯萎病的病情指数呈负相关 ,其他 13 种氨基酸组分含量与品种对枯萎病的病情指数呈正相关 ,其中苯丙氨酸含量与病情指数呈显著正相关。丝氨酸与苯丙氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、甘氨酸的比值均与品种对枯萎病的病情指数呈显著负相关 ,其中 Ser/Phe 与品种对枯萎病的病情指数呈极显著负相关。

关键词 :黄瓜品种 ,根系分泌物 ,氨基酸 ,病情指数

文章编号 :1000-0933 (2007)05-1945-06 中图分类号 :Q948 ,S432 文献标识码 :A

Correlation analysis of amino acids components in cucumber root exudates and fusarium wilt resistance

PAN Kai , WU Feng-Zhi*

Horticulture College , Northeast Agricultural University , Harbin 150030 , China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (5) :1945 ~ 1950.

Abstract : Root exudates have an important effect on the resistance to soil-borne disease in some crops. Free amino acids are important components of some crop root exudates. The cucumber (*Cucumis sativus* L.) is an economically important vegetable , and fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* owen) infection in cucumber production can be severe. Rigorous investigation of root exudates requires the study of correlations between amino acids components and disease resistance. Therefore , an experiment was designed to investigate this correlation. Root exudates were collected from five cucumber cultivars possessing different fusarium wilt resistance reactions. Free amino acids from these root exudates were then detected using an Automatic Amino Acid Analyzer. Data indicate that the kinds and contents of amino acids examined were different in these root exudates. Sixteen kinds amino acids were detected in root exudates of intermediate-resistant cucumber cultivars (Jinchun 3# and Zhongnong 1101) , to indicate aspartic acid , methionine , leucine , glycine , phenylalanine , histidine , arginine , serine , glutamic acid , lysine , tyrosine , cysteine , threonine , alanine , valine , and

基金项目 :国家自然科学基金项目 (30370819 , 30571264)

收稿日期 :2006-11-21 ; 修订日期 :2007-04-08

作者简介 :潘凯 (1974 ~) ,男 ,哈尔滨市人 ,讲师 ,主要从事蔬菜学研究。E-mail :mugonglin@sina.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail :feng4862@sina.com

Foundation item :The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30370819 , 30571264)

Received date 2006-11-21 ; **Accepted date** 2007-04-08

Biography PAN Kai , Lecturer , mainly engaged in olericulture science. E-mail :mugonglin@sina.com

isoleucine. Arginine was not found in the root exudates of the susceptible cucumber cultivars (Jinyan 4# and Qiupeng), and histidine and arginine were not found in resistant cultivars (Zhongnong 13). The research conclusion moreover, general amino acid content increased with increased degree of susceptibility in these cucumber varieties. Correlations between root exudates and disease indices in these cultivars indicated that disease indices were positively correlated with arginine, serine, and lysine content. However, disease indices were negatively correlated with the contents of the other thirteen amino acids examined. The correlation between phenylalanine content and disease indices was significant ($P < 0.05$) and positive (0.95). A significant ($P < 0.05$) negative relationship was detected between the disease indices and the ratios of content of serine to the asparagines (-0.943), alanine (-0.956), and glycine (-0.902), respectively. The disease indices were highly negatively correlated ($P < 0.01$) with the ratios of content of serine to phenylalanine (-0.959).

Key Words : cucumber cultivars ; root exudates ; amino acid ; disease index ; correlation

Buxton 认为抗、感品种的生化性质的差异在抗病中发挥作用,并且这种差异可通过根系分泌物反映出来。植物品种不同,其根系分泌物的组成及数量也不同。大量的研究表明,不同植物的根系分泌的氨基酸、有机酸的种类与数量有明显差异^[1-5]。王芳研究认为不同茄子品种的根系分泌物中的氨基酸含量明显不同,抗性较强的品种其根系分泌物中氨基酸含量低于感病品种^[6]。袁虹霞对 7 个不同抗性棉花品种根系分泌物进行研究,结果发现感病品种根系分泌物中氨基酸含量和种类较多,而苯丙氨酸、脯氨酸等仅出现在感病品种的根系分泌物种^[7]。

黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 是一种世界性蔬菜作物,枯萎病病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* owen) 作为一种土传病害,是世界各国黄瓜生产中的主要病害之一^[8],不同抗性黄瓜品种的抗病性存在着明显差异,近些年虽在不同抗性黄瓜品种的病理组织学、对枯萎病抗性遗传规律及抗性与其他农艺性状相关性等方面开展了许多研究^[9],但关于黄瓜根系分泌物组分与品种抗性之间的研究未见报道。

本研究以 5 个对枯萎病不同抗病的同一生态型的黄瓜品种为试材,采用设施内环境控制栽培和实验室仪器分析相结合方法,对试材根系分泌物种的氨基酸组分进行系统分析,旨在弄清不同抗性黄瓜根系分泌物氨基酸组分差异及其与黄瓜品种枯萎病抗性之间的关系,将为对枯萎病的生态防治、抗枯萎病黄瓜品种生化指标筛选与确定奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试黄瓜品种及各品种的病情指数见表 1^[1] 种子均由哈尔滨市农业科学研究所提供。

表 1 供试黄瓜品种名称及各品种病情指数^[1]

Table 1 the name of the cucumber cultivars and the disease index to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* owen^[1]

黄瓜品种 Cucumber cultivars	中农 13 Zhongnong 13	津春 3 号 Jinchun 3#	中农 1101 Zhongnong 1101	津研 4 号 Jinyan 4#	秋棚 Qiupeng
病情指数 Disease index	25.33	38.33	44.17	72.67	68.25

1.2 根系分泌物的收集和处理

参照吴凤芝、韩雪等^[5]方法,种子用无菌水冲洗数次,然后在 55℃ 的温水中烫种 15min,30℃ 温水中浸种 12h,取出洗净,在 30℃ 黑暗处恒温催芽,待胚根长约 0.5cm 时,分别播种于盛有酸洗的石砾(石砾经 2mol/L HCl 浸泡 48h,用自来水冲洗至中性,再用蒸馏水淘洗数次)的苗盘中,每品种种植 50 粒,生长过程中不断加入蒸馏水和无机营养液。第 2 片真叶展开时,先用蒸馏水淋洗 4 次,然后再用去离子水淋洗 2 次,最后加入一定量的去离子水培养 3d,收集培养液,并用布氏漏斗过滤,在将收集液于真空旋转蒸发仪器浓缩至 20ml。在 -20℃ 冰箱中冷藏备用。

营养液配方为华南农大果菜类通用配方 :大量元素药品 (mg/L) :四水硝酸钙 472、硝酸钾 404、磷酸二氢钾 100、七水硫酸镁 264 ;微量元素药品 (mg/L) : $\text{Na}_2\text{Fe-EDTA}$ 30、硼酸 2.86、四水硫酸锰 2.13、七水硫酸锌 2.22、五水硫酸铜 0.08、四水钼酸铵 0.02。

1.3 根系分泌物中氨基酸组分测定

取已制备的根系分泌物浓缩液 过 $0.45\mu\text{m}$ 膜后 用日本 L-8800 氨基酸自动分析仪进行氨基酸测定 (委托哈尔滨工业大学食品药品质量安全检测与标准化研究中心测定)。

1.4 数据分析方法

该试验原始数据的处理采用 Excel (2001) 软件完成 ,0.05 水平差异显著性测验采用 SAS (v6.12) 软件完成。

2 结果与分析

2.1 不同抗性黄瓜品种根系分泌物中氨基酸种类及含量

采用氨基酸自动分析仪对 5 种不同抗性黄瓜品种根系分泌物中氨基酸种类及含量进行检测 ,结果如图 1、图 2 所示。

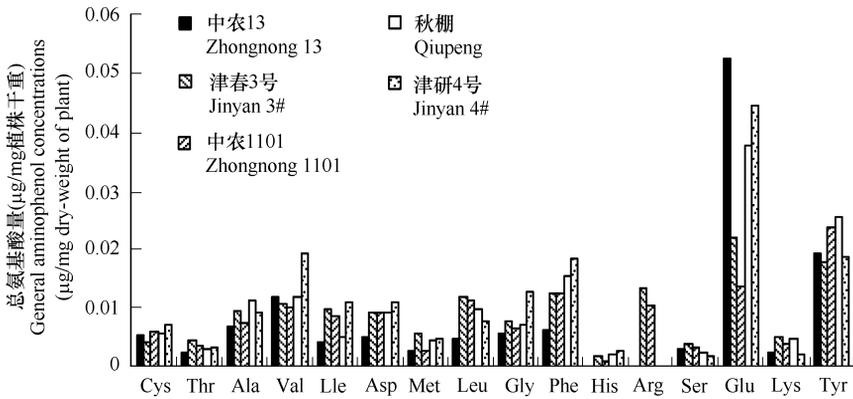


图 1 不同抗性黄瓜品种根系分泌物中各氨基酸组分比较

Fig. 1 The compare of aminophenol acid kinds and content in cucumber root exudates of different resistant cultivars

共检出 16 种氨基酸组分 :半胱氨酸 Cys、苏氨酸 Thr、丙氨酸 Ala、缬氨酸 Val、异亮氨酸 Ile、天冬氨酸 Asp、亮氨酸 Leu、苯丙氨酸 Phe、甘氨酸 Gly、甲硫氨酸 Met、组氨酸 His、谷氨酸 Glu、酪氨酸 Tyr、赖氨酸 Lys、丝氨酸 Ser、精氨酸 Arg。两个中抗品种津春 3 号、中农 1101 的根系分泌物中包含全部的 16 种氨基酸组分 ,精氨酸组分在两个感病品种津研 4 号、秋棚的根系分泌物中没有被检测到 ,精氨酸、苯丙氨酸组分在抗病品种中农 13 的根系分泌物中没有被检测到 (图 2)。

黄瓜根系分泌物中总氨基酸量随品种对枯萎病抗性的增加而降低 3 类抗病品种中 ,感病品种 (秋棚 ,津研 4 号)根系分泌物中的总氨基酸含量最高 ,抗病品种 (中农 13)根系分泌物中的总氨基酸含量最低 (图 2) ;中抗品种 (津春 4 号、中农 1101)根系分泌物中的总氨基酸含量居中。

2.2 根系分泌物中各氨基酸组分含量与各品种病情指数相关性分析

为明确黄瓜根系分泌物中氨基酸组分与品种对枯萎病抗性之间的关系 ,对根系分泌物中氨基酸组分与试

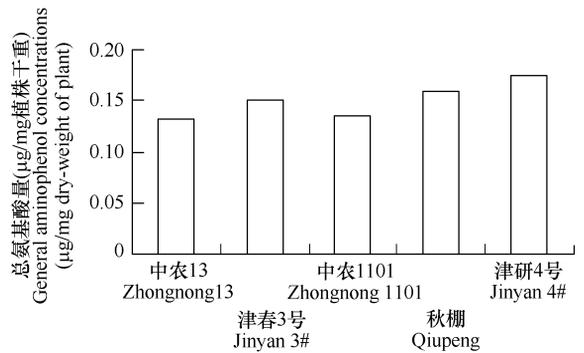


图 2 不同抗性黄瓜品种根系分泌物中总氨基酸量比较

Fig. 2 The compare of general aminophenol concentrations in cucumber root exudates of different resistant cultivars

验黄瓜品种对枯萎病的重要抗病性指标——病情指数——进行相关性分析,结果如图 3、图 4 所示。

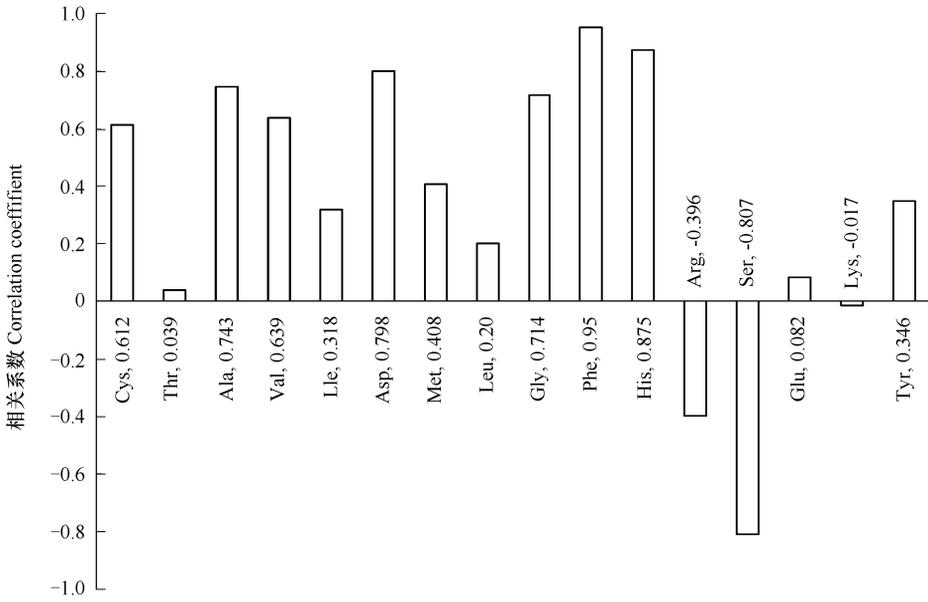


图 3 各氨基酸指标与黄瓜品种病情指数的相关系数比较

Fig. 3 The compare of correlation coefficient between the aminophenol acid content in cucumber root exudates and the disease index of different resistant cultivars

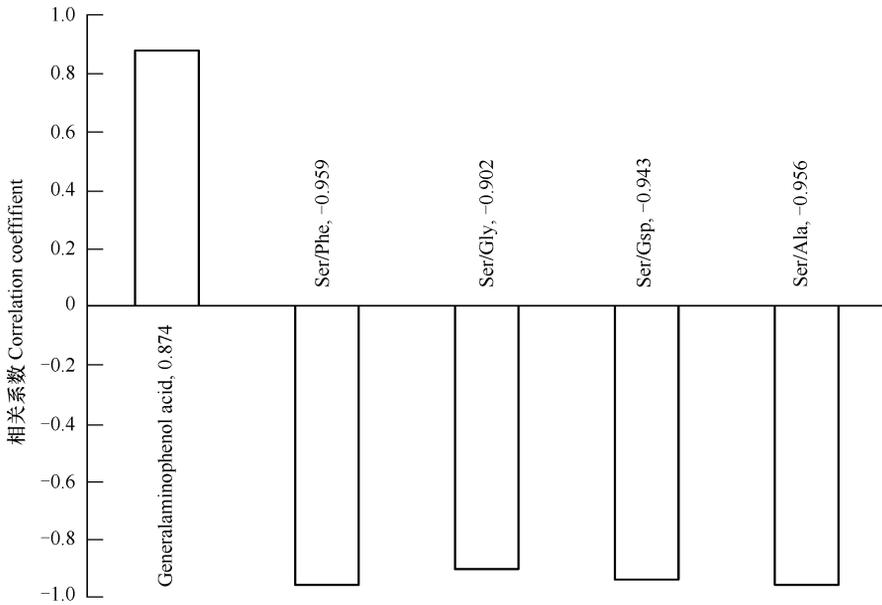


图 4 黄瓜根系分泌物氨基酸指标与品种病情指数的相关系数比较

Fig. 4 The compare of correlation coefficient between the aminophenol acid index in cucumber root exudates and the disease index of different resistant cultivars

黄瓜根系分泌物中氨基酸总量与品种对枯萎病的抗病性呈正相关,但未达到显著水平(图 4)。

黄瓜根系分泌物含有的 16 种氨基酸组分中,有 3 种氨基酸(Arg、Ser 和 Lys)的含量与品种对枯萎病的病情指数呈负相关,其中 Ser 含量与病情指数的相关性最高,相关系数为 -0.807,但未达到显著相关水平;其他 13 种氨基酸组分含量与品种对枯萎病的病情指数呈正相关,其中 Phe 含量与病情指数的相关性最高,相关系数为 0.95,达到显著水平(图 3)。

单一氨基酸组分含量与病情指数的相关系数还不足以充分证明该类氨基酸与抗病性的关系,因此本研究对与抗病指数相关性较大的几种氨基酸 Ser (-0.807)、Phe (0.95)、Asp (0.798)、Ala (0.743)、Gly (0.714) 进行进一步分析,结果如图 4 所示:丝氨酸与精氨酸、丙氨酸、甘氨酸含量的比值与品种对枯萎病的病情指数间存在负相关性,且都达到显著水平 ($P < 0.05$);其中 Ser/Phe 与品种对枯萎病的病情指数间的负相关性达到极显著水平 ($P < 0.01$),相关系数为 -0.959。

3 讨论

刘素萍等对枯萎病不同抗性棉花品种幼苗根系分泌物的氨基酸进行分析^[10],共检测出 12 种氨基酸组分,感病品种的根系分泌物中氨基酸种类较多,抗病品种根系分泌物中的氨基酸组分较少,且发现丝氨酸组分在抗性品种沧 38 的根系分泌物中含量较多。韩丽梅等对两种基因型大豆品种根系分泌物的氨基酸组分及其对大豆根腐病病菌的化感作用进行了研究^[11],结果表明根系分泌物氨基酸组分对大豆根腐病病菌具有显著的抑制作用的 9536 大豆品种的根系分泌物氨基酸组分中精氨酸组分含量比吉林 30 高 1.02 倍,吉林 30 的根系分泌物氨基酸组分则对大豆根腐病病菌具有显著的促进作用。袁虹霞等对不同抗性棉花品种根系分泌物中氨基酸成份和含量进行了测定^[5],结果表明感病品种根系分泌物的氨基酸种类较多(10 种)且含量大,抗病品种根系分泌物中氨基酸种类较少,仅检测到 5 种氨基酸,精氨酸只在抗病品种豫 2067 的根系分泌物中存在,苯丙氨酸组分只在感病棉花品种的根系分泌物中存在。上述研究结果均与本研究结果相似。精氨酸组分只在中抗品种根系分泌物中存在,可能预示着该类品种的抗性机制不同于抗病和感病品种,该种现象出现的原因有待进一步的研究。

但袁虹霞等研究得出感病棉花品种根系分泌物的丝氨酸组分单株分泌量明显高于抗病品种,该结果与本试验的结果不同,因为本试验是以单位全株干重的氨基酸分泌量为依据分析的,两试验的差异可能是由于数据分析方法不同造成的。再者,单一氨基酸组分的含量由于样品处理、测定方法等诸多因素的影响还不能够作为说明作物抗病性差异的重要依据。

根系分泌物中游离氨基酸组分由于它的微量性,其在根际环境中的生态效应是以营养作用为主,但同时由于氨基酸与蛋白质的密切关系,根系分泌物中游离氨基酸的种类和含量与植株体内相应蛋白类物质的形成相关密切,但作物根系主动溢泌的氨基酸组分的变化是否是作物对环境变化的一种应急反应的结果,有待进一步研究。

已在相关研究中验证了丝氨酸、精氨酸对黄瓜枯萎病病菌的生长发育有显著的抑制作用,而苯丙氨酸、甘氨酸、天冬氨酸和丙氨酸对黄瓜枯萎病病菌的生长发育有明显的促进作用。本研究所得的相关性分析结果能否作为黄瓜品种枯萎病抗性的鉴定指标,需要再进一步在较大数量品种范围内检验。

4 结论

综上所述,本试验可以得出以下几点结论:

- (1) 不同抗性黄瓜的根系分泌中的游离氨基酸种类不同,精氨酸只在中抗品种中被检出。
- (2) 根系分泌物中总氨基酸含量随品种抗性的增加而降低。
- (3) Ser 含量与品种对枯萎病的病情指数呈负相关性最大, Phe 含量与病情指数呈显著正相关性。
- (4) Ser 与 Phe、Asp、Ala、Gly 的比值均与品种对枯萎病的病情指数呈显著负相关,其中 Ser/Phe 与品种对枯萎病的病情指数负相关达极显著水平。

References :

- [1] Han X, Wu F Z, Pan K. Effect of Root Exudates from Cucumber Cultivars on Pathogen of Fusarium Wilt. *China Vegetables*, 2006, (5): 13-15.
- [2] Wu F Z, Meng L J, Wen J Z. Effect of cucumber root exudates on mycelial growth of Fusarium wilt. *China Vegetables*, 2002, (5): 26-27.
- [3] Francisco J. Root exudates of wildoates allelopathic effect on springwheat. *Phytochem*, 1991, 30: 2199-2201.
- [4] Ingrid Krafizyk. Soluble root exudates of maize: Influence of potassium supply and rhizosphere microorganism. *Soil Biol. Biochem*, 1984, 16: 315-322.

- [5] Wu F Z, Han X, Wang X Z. Allelopathic effect of root exudates of cucumber cultivars on fusarium oxysporum. *Allelopathy Journal*, 2006, 18 (1): 163 - 172.
- [6] Wang F. The Mechanism of Eggplant (*Solanum melongena* L.) Replanting Problem. Dissertation for the doctor degree in agronomy of China Agricultural University 2003 46 - 51.
- [7] Yuan H X, Li H L, Wang Y, Fang W P, Wang Z Y. Analysis of root exudates from different resistance cultivars of cotton and effect *Verticillium dahliae* in cotton. *Acta Phyto pathologica Sinica* 2002 32 (2) :127 - 131.
- [8] Feng D T, Li B D. the development of resistance breeding of cucumber and the *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*. *China Vegetables*, 1994, (5) :56 - 58.
- [9] Chen M, Wang G P, Wu D H. Histopathological differences between cucumber cultivars with different resistances to *Fusarium* Wil. *Journal of South China Agricultural University* 2003 24 (4) :110 - 112.
- [10] Liu S P, Wang R X, Zang R. Effects of sugar and amino acid in root exudation of different resistant cotton cultivars on cotton fusarium wilt pathogen. *Acta. Univ. Agric. Boreali-Occident*, 1998 26 (6) 30 - 35.
- [11] Han L M, Ju H M, Yang Z M. Allelopathy of root exudates from two genotypes soybeans on root rot pathogenic fungi. *Chinese Journal of Applied Ecology* 2005 16 (1) :137 - 141.

参考文献：

- [1] 韩雪, 吴凤芝, 潘凯. 不同抗性黄瓜品种根系分泌物对枯萎病原菌的影响. *中国蔬菜* 2006 (5) :13 ~ 15.
- [2] 吴凤芝, 孟立君, 文景芝. 黄瓜根系分泌物对枯萎病菌丝生长的影响. *中国蔬菜*, 2002 (5) 26 ~ 27.
- [6] 王芳. 茄子连作障碍机理研究. 中国农业大学博士论文 2003. 46 ~ 51.
- [7] 袁虹霞, 李洪连, 王焯, 房卫平, 王振跃. 棉花不同抗性品种根系分泌物分析及其对黄萎病菌的影响. *植物病理学报*, 2002, 32 (2) :127 ~ 131.
- [8] 冯东昕, 李宝栋. 黄瓜枯萎病病原菌研究及抗病育种进展. *中国蔬菜* 1994 (5) :56 ~ 58.
- [9] 陈珉, 汪国平, 吴定华, 等. 黄瓜枯萎病抗、感品种在病菌入侵后的病理组织学差异研究. *华南农业大学学报* 2003 24 (4) :110 ~ 112.
- [10] 刘素萍, 王汝贤, 张荣, 等. 根系分泌物中糖和氨基酸对棉花枯萎菌的影响. *西北农业大学学报*, 1998 26 (6) 30 ~ 35.
- [11] 韩丽梅, 鞠会艳, 杨振明, 等. 两种基因型大豆根系分泌物对大豆根腐病病菌的化感作用. *应用生态学报* 2005 16 (1) :137 ~ 141.