

花生根结线虫对花生植株内源激素、氨基酸、核酸及糖的影响

宾淑英¹ 冯志新²

(1 仲恺农业技术学院科研处, 广州, 510225; 2 华南农业大学资源环境学院)

摘要 测定了花生根结线虫侵染后,花生植株内源激素、氨基酸、核酸和糖含量的变化。结果表明,线虫侵染可引起花生根和茎叶的生长素含量、细胞分裂素和脱落酸的活性提高,赤霉素的含量降低;病根产生蛋氨酸,及其半胱氨酸、赖氨酸、精氨酸和还原糖的含量提高,脯氨酸、苏氨酸、可溶性总糖和非还原糖的含量降低;病茎叶没有脯氨酸,其苏氨酸、甘氨酸、丙氨酸、组氨酸、精氨酸、RNA、可溶性糖、非还原糖的含量和14种氨基酸总量明显降低,DNA和苯丙氨酸含量升高。

关键词 花生根结线虫;花生;内源激素;氨基酸;核酸;糖

中图分类号 S 432.45; S 565.2

花生根结线虫[*Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949]对花生的致病性(宾淑英等, 1993),影响花生根活力、营养吸收、光合作用和呼吸作用等方面的研究已见报道(宾淑英等, 1999)。本文进一步探讨花生根结线虫对花生内源激素、氨基酸、核酸及糖的影响,以摸清感病花生对线虫侵染所引起的生理变化,为深入研究线虫的致病机理和寄主的抗病机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 线虫来源

试验用花生根结线虫采自华南农业大学线虫研究室。

1.2 试验作物

供试花生品种是粤油 116,由广东省农科院经作所提供。

1.3 接种处理

取消毒土(121 ℃, 103.5 kPa, 消毒 2 h)5 kg 盆栽花生,每盆栽 5~6 株。出苗后每盆接种 100 块花生根结线虫卵囊,60 d 后取花生样品进行内源激素、核酸和游离氨基酸的含量测定。以不接种线虫的花生作对照。

1.4 糖、核酸和游离氨基酸测定

称取根结、病株健根、病株茎叶、健株茎叶和健株健根各 1 g,用 3,5-二硝基水杨酸法测还原糖,蒽酮法测总糖(袁晓华等, 1984),朱治平(1985)的方法测定核酸含量。其中,非还原糖 = 总糖 - 还原糖。再各称 0.5 g 样本放在研钵中研磨,加入 2 mL ρ 为 50 mg/L 的磺基水杨酸均浆。用 3 mL 离子水将均浆洗入离心管,经 10 000 r/min 高速冷冻离心 15 min,提取 2 mL 上清液于 5 mL 刻度试管中定容到 5 mL,并用 1 mol/L 的 NaOH 调 pH = 2.0~2.5,置于日立-850

氨基酸自动分析仪测定.另挑取同重根结内的线虫来校正根结的各项测定数据.每项测定设3个重复,测试数据经DMRT检验($P=0.05$).

1.5 内源激素测定

IAA、GA₃、ABA和CTK的测定基本按丁静等(1979)的方法进行,经此法纯化分离获得含IAA、GA₃和ABA的提取液A,及含CTK的提取液B,按以下步骤进行分析测定.

(1)将30 cm×3 cm滤纸在层析缸中饱和1 h后,放上提取液A样品展开20 cm,其中IAA和GA₃的展开剂是正丁醇:异丙醇:氨:水=2:5:1:1;ABA展开剂的比例是4:10:1:3.然后取出滤纸自然风干,在紫外分析仪上观测暗斑位置,并参照IAA、GA₃和ABA的标样层析谱判断出3种物质的位置为 $R_{f\text{IAA}}=0.3\sim0.5$, $R_{f\text{GA}_3}=0.5\sim0.7$, $R_{f\text{ABA}}=0.7\sim0.9$.

(2)将16 cm×9 cm的荧光氧化铝薄板置于层析缸中饱和1 h,放上提取液B样品展开10 cm并风干,分割10段用苋红法测出CTK的位置为 $R_{f\text{CTK}}=0.7\sim0.9$.展开剂是正丁醇:氨:水=1.5:0.1:1.

(3)将上述各区段割下,其中IAA按Schlenk等(1960)的方法,GA₃用常规的三甲硅烷法预处理,经岛津GC-9气相色谱仪测定.柱成分由 ρ 为30 mg/L的OV和Chrom Q(100~200目)组成,其中IAA的测试条件是柱温为220℃,检测器温度为260℃,氢气压为49 kPa,空气压为98 kPa,氮气流速1.1 mL/h,纸速0.4 mm/h;GA₃的测试条件是柱温为250℃,检测器温度为275℃,氢气压为98 kPa,空气压为49 kPa,氮气流速0.9 mL/h,纸速0.4 mm/h. CTK和ABA用 φ 为95%的乙醇浸提,再分别用苋红法和麦芽鞘法测定活性.其中,CTK活性以苋红色素在620 nm的光密度值减去542 nm的光密度值表示;ABA活性以处理牙鞘伸长减少占原始长度的百分率表示.

2 结果与分析

2.1 花生根结线虫对花生植株的蛋白质、糖和核酸的影响

表1结果表明,花生受花生根结线虫侵染后,植株各部位的糖和核酸发生比较明显的变化.其中,根结的DNA和RNA含量显著高于病株健根和健株根,每克鲜根结分别含DNA 0.22 mg、RNA 0.71 mg;可溶性总糖、非还原糖和还原糖的含量则与病株健根差异不大,每克鲜根结的3种糖含量各为6.83、4.71和2.13 mg,但前二者明显比健株根低,后者则比健株根高,每克鲜健株根的3种糖含量分别为16.98、15.75和1.23 mg.每克鲜病茎叶的RNA、可溶性总糖和非还原糖含量都明显低于健株,分别是0.59、10.87和8.90 mg;DNA含量则为0.31 mg,显著比健株的高.

表1 花生根结线虫对花生植株各部位的糖和核酸含量(mg)影响 ($\bar{x} \pm SE$)

测试项目	根结	病株健根	健株根	病株茎叶	健株茎叶
可溶性总糖	6.83 ± 0.083c	6.92 ± 0.712c	16.98 ± 1.128a	10.87 ± 1.331b	15.42 ± 0.651a
还原糖	2.13 ± 0.050a	1.90 ± 0.126a	1.23 ± 0.145b	1.97 ± 0.294a	2.42 ± 0.117a
非还原糖	4.71 ± 0.058c	5.02 ± 0.802c	15.75 ± 1.087a	8.90 ± 1.485b	13.00 ± 0.926a
DNA	0.22 ± 0.002c	0.14 ± 0.009d	0.15 ± 0.012d	0.31 ± 0.014a	0.27 ± 0.016b
RNA	0.71 ± 0.004a	0.49 ± 0.010d	0.60 ± 0.012c	0.59 ± 0.012c	0.64 ± 0.020b

2.2 花生根结线虫对花生植株游离氨基酸含量的影响

(1) 病根与健株根比较 . 表 2 结果表明,花生根结线虫可引起花生植株的根结和同株健根产生蛋氨酸,使每克鲜根结和同株健根分别含蛋氨酸 7.85 和 6.45 μg ;半胱氨酸、赖氨酸和精氨酸的含量都明显比健株根的高,脯氨酸、苏氨酸和氨基酸总含量则显著比健株根低.如每克鲜病根根结和健根的精氨酸含量分别是 257.65 和 287.09 μg ,而健株根的为 184.21 μg ;每克鲜病根根结和健根的脯氨酸含量分别是 91.71 和 63.32 μg ,健株根的则为 228.59 μg .

(2) 病株根结与同株健根比较 . 从表 2 结果看到,在花生根结线虫导致花生根部形成的根结中,其每克鲜根结的缬氨酸、苯丙氨酸和赖氨酸的含量显著比同株健根的高,分别是 58.78、29.90 和 58.01 μg ,同株健根的则是 42.47、16.33 和 46.90 μg ;但组氨酸的含量是 74.68 μg ,则明显低于同株健根的 115.28 μg .

(3) 病株茎叶与健株茎叶比较 . 表 2 结果表明,受花生根结线虫侵染发病的花生茎叶没有脯氨酸,其每克鲜病茎叶的苏氨酸、甘氨酸、丙氨酸、组氨酸、精氨酸的含量和氨基酸总含量都明显比健株茎叶的低,分别是 43.46、5.98、39.36、83.45、148.79 和 662.78 μg ,而健株茎叶的则是 92.53、9.46、69.00、134.38、198.02 和 885.18 μg ;其苯丙氨酸含量则为 32.41 μg ,明显高于健株茎叶的 22.73 μg .

表 2 病健花生植株各部位的游离氨基酸含量变化 μg

测试项目	根结	病株健根	健株根	健株茎叶	病株茎叶
天冬氨酸	44.57 $\pm$ 9.67b	46.83 $\pm$ 1.35b	36.98 $\pm$ 6.15b	105.36 $\pm$ 6.15a	131.06 $\pm$ 18.95a
苏氨酸	83.41 $\pm$ 4.88bc	74.13 $\pm$ 3.92c	119.55 $\pm$ 4.88a	92.53 $\pm$ 5.39b	43.46 $\pm$ 4.65d
甘氨酸	5.40 $\pm$ 0.86b	4.45 $\pm$ 0.76b	4.17 $\pm$ 0.10b	9.46 $\pm$ 1.32a	5.98 $\pm$ 0.12b
丙氨酸	17.17 $\pm$ 1.30b	13.53 $\pm$ 1.07b	19.26 $\pm$ 2.22b	69.00 $\pm$ 8.04a	39.36 $\pm$ 5.13c
半胱氨酸	12.78 $\pm$ 0.85b	11.45 $\pm$ 0.32b	8.51 $\pm$ 0.25c	22.19 $\pm$ 0.74a	21.81 $\pm$ 0.61a
缬氨酸	58.78 $\pm$ 3.52a	42.47 $\pm$ 3.39b	46.18 $\pm$ 0.41ab	46.50 $\pm$ 4.50ab	53.61 $\pm$ 6.32ab
蛋氨酸	7.83 $\pm$ 0.29a	6.43 $\pm$ 0.15a	0	0	0
异亮氨酸	30.47 $\pm$ 2.32a	19.93 $\pm$ 0.48a	24.84 $\pm$ 5.99a	23.84 $\pm$ 1.24a	32.49 $\pm$ 5.40a
亮氨酸	15.78 $\pm$ 1.30ab	9.56 $\pm$ 0.10b	20.05 $\pm$ 9.01ab	18.99 $\pm$ 0.76ab	25.15 $\pm$ 2.70a
苯丙氨酸	29.90 $\pm$ 2.32ab	16.33 $\pm$ 0.29c	24.29 $\pm$ 3.82b	22.73 $\pm$ 1.07bc	32.41 $\pm$ 2.13a
赖氨酸	58.01 $\pm$ 4.38a	46.90 $\pm$ 1.46b	35.45 $\pm$ 0.63c	35.99 $\pm$ 4.69c	45.21 $\pm$ 2.94bc
组氨酸	74.68 $\pm$ 0.47c	115.28 $\pm$ 2.10ab	69.86 $\pm$ 3.40c	134.38 $\pm$ 6.68a	83.45 $\pm$ 7.81bc
精氨酸	257.65 $\pm$ 8.90a	287.09 $\pm$ 4.21a	184.21 $\pm$ 12.75bc	198.02 $\pm$ 9.78b	148.79 $\pm$ 6.70c
脯氨酸	91.71 $\pm$ 0.69bc	63.32 $\pm$ 5.41c	228.59 $\pm$ 16.32a	106.55 $\pm$ 5.29b	0
总含量	787.87 $\pm$ 38.23ab	757.70 $\pm$ 15.40bc	832.36 $\pm$ 43.04a	885.18 $\pm$ 14.8a	662.78 $\pm$ 55.32c

2.3 花生根结线虫对花生植株内源激素水平的影响

从表 3 结果看到,花生根结线虫可引起花生植株根和茎叶的 IAA 含量、CTK 和 ABA 的活性提高,GA₃ 含量降低.其中,病株根的 IAA 含量、CTK 和 ABA 的活性分别比健株的增加 94.53%、48.81%和 25.00%,但其 GA₃ 含量则比健株的减少 77.96%;病株茎叶的 IAA 含量、CTK 和 ABA 的活性分别比健株的增加 41.52%、90.20%和 36.54%,GA₃ 含量则比健株的减少

10.90%。此外,从测定结果还看到,IAA 和 GA_3 在根部的变化较大,CTK 和 ABA 则在茎叶部变化较大。

表3 花生根结线虫对花生植株的 IAA、 GA_3 含量和 CTK、ABA 活性的影响

处 理	$m_{IAA}/\mu g$	$m_{GA_3}/\mu g$	$D_{680-520}^{11}$	活性(ABA)/%
病株根	6.40	3.26	0.06	110
健株根	3.29	14.79	0.04	88
增减率/%	94.53	-77.96	48.81	25
病株茎叶	14.11	4.13	0.10	142
健株茎叶	9.97	4.63	0.05	104
增减率/%	41.52	-10.90	90.20	36.54

1)表示 CTK 的活性

3 讨论

本研究表明,花生根结线虫侵染花生后,严重影响花生植株的物质代谢和生理调节,致使花生根和茎叶的可溶性糖、核酸、多种氨基酸含量和内源激素水平发生不同程度的变化,从而影响花生植株的正常生长。这些异常的变化,可能是由于线虫的侵染一方面破坏了根细胞结构,致使根系活力下降并直接影响植株对各种营养元素的吸收(宾淑英等,1999),另一方面诱导植株自身的抗性反应,导致一些酶的活性异常,细胞膜的透性改变,各种物质的合成与代谢紊乱而造成的,具体的机理有待深入研究。

从试验结果还看到,花生根结线虫可引起花生根和茎叶的 IAA 含量、CTK 和 ABA 活性提高, GA_3 的含量降低,与 *M. incognita* 在番茄上引起的变化相似(Ganguly,1988)。这可能是花生根结线虫导致花生形成根结和黄化矮缩等症状(宾淑英等,1993)的主要内因。因为 IAA 含量和 CTK 活性的提高,刺激了细胞分裂和分化,导致细胞增生,形成根结和产生须根; GA_3 含量的减少抑制了植株茎的伸长,使感病花生植株矮化;ABA 活性提高也对植株细胞的生长产生抑制作用,并加速植株的衰老过程,使叶片黄化脱落。

参 考 文 献

- 丁 静,沈镇德,方亦维,等. 1979. 植物内源激素的提取和生物鉴定. 植物生理学通讯, (2):29~39
- 朱治平. 1985. 植物生理学实验手册. 上海: 科技出版社,45
- 袁晓华,杨中汉. 1984. 植物生理生化实验. 北京: 高等教育出版社,1~8
- 宾淑英, 冯志新. 1993. 花生根结线虫对花生的致病性研究. 仲恺农业技术学院学报,6(1):7~13
- 宾淑英,姚圣梅,林进添,等. 1999. 花生根结线虫对花生植株主要生理指标的影响. 华中农业大学学报, 18(2):121~124
- Ganguly A K, Rajan S, Dasgupta D R. 1988. Development of auxin, cytokinin and abscisic acid-like substances in the root-knot nematode, *Meloidiogyne incognita* infected tomato root. Indian Journal of Nematology, 18(1):158~159
- Schlen H, Gllerma J. 1960. Esterification of fatty acids with diazometh on a small scale. Anal Chem, 32(1):1412~1414

Changes in the Growth Hormones, Free Amino Acids, Nucleic Acids and Suger Contents of Peanut Plants Infected by *Meloidogyne arenaria*

Bin Shuying¹ Feng Zhixin²

(1 Zhongkai Agrotechnical College, Guangzhou, 510225;

2 College of Natural Resources & Environment, South China Agric. Univ.)

Abstract The experiments were conducted to study the changes of the growth hormones, free amino acids, nucleic acids and suger contents of peanut plants after being inoculated with *M. arenaria*. The results showed that the activity of cytokinin(CTK) and abscisic acid(ABA), the content of indole acetic acid(IAA) in the root and leaves of infected plants increased, and that the content of gibberellic acid(GA₃) decreased. The contents of methionine(Met) in the root-knots and the healthy roots of infected plants were 7.83 and 6.43 $\mu\text{g/g}$ in fresh-weight respectively, while that of uninfected plants was zero. The contents of cysteine, lysine, arginine and reducing sugars in the roots of infected plants increased, while the contents of proline, threonine, total sugars and disreducing sugers decreased. The content of Pro in the leaves of uninfected plants was 106.18 $\mu\text{g/g}$ in fresh-weight, and that of infected plants was zero. The contents of Thr, glycine(Gly), alanine(Ala), histidine(His), Arg, RNA, total sugars, disreducing sugars and total free amino acids in the leaves of infected plants were significantly lower than those of uninfected plants, while the contents of DNA and phenylalanine(Phe) in the leaves of infected plants were bigger than those of uninfected plants. In the same infected plants, the contents of DNA, RNA, valine, Phe and Lys in root-knots were bigger than those of healthy roots, while the content of His of root-knot was lower.

Key words *Meloidogyne arenaria*; peanut; growth hormones; free amino acids; nucleic acids; suger

【责任编辑 张 砾】