

# 白叶枯病菌侵染对菜豆叶片叶绿素荧光系统性的影响

冯汉青, 焦青松, 田武英, 武舫伊

(西北师范大学 生命科学学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:**以菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)为试材,通过测定叶绿素荧光参数,研究了菜豆叶片局部感染白叶枯(*Xanthomonas oryzae*)病原菌后,叶片侵染位点和同一叶片非侵染位点叶绿素荧光特性的反应。结果表明:在病原菌侵染后,菜豆叶片的侵染位点和同一叶片非侵染位点叶潜在最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、光适应下叶片的最大光化学效率( $F_v'/F_m'$ )、光系统II(PSII)的潜在活性( $F_v/F_0$ )均显著降低,表明了叶片 PSII 供体侧及反应中心的活性均受到病原菌侵染的系统性抑制;叶片侵染位点和同一叶片非侵染位点的非光化学猝灭系数 NPQ 和  $qN$  以及调节性能量耗散的量子产量[Y(NPQ)]有所上升,但其非调节性能量耗散产量[Y(NO)]下降,表明病原菌侵染导致了叶片以热能形式耗散的光能比例以及菜豆的光保护能力均系统性增加。综上可知,白叶枯病菌的侵染对菜豆叶片叶绿素荧光特性产生了系统性影响。

**关键词:**叶绿素荧光;白叶枯病;光系统II;系统性

**中图分类号:**S 643.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)15-0112-04

白叶枯(*Xanthomonas oryzae*)属黄单胞杆菌属(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzal*)细菌。其病菌最早在水稻上发现,在自然界中,病菌主要从伤口或气孔侵入植物,发病后严重影响植物的生长发育<sup>[1]</sup>。植物生命周期的每个阶段都可能会受到病害的影响,染病后植物的光合系统活性和叶绿素荧光特性一般都会受到影响<sup>[2-3]</sup>。而(光系统II)PSII是植物光合机构中对环境变化最敏感的部位,叶绿素荧光参数是反映植物光合作用过程中 PSII 光能的吸收和利用情况的一种灵敏指标<sup>[4]</sup>。近年来,通过测定病菌侵染后植物叶片叶绿素荧光的变化来反映植物对病原菌响应的研究已经很普遍<sup>[5-6]</sup>,如烟草青枯病<sup>[2]</sup>、枇杷炭疽病<sup>[3]</sup>、栎树白粉病<sup>[7]</sup>和白菜黑斑病<sup>[8]</sup>等。但不同病原物侵染不同的植物,叶绿素荧光参数的变化规律却不同<sup>[3,9-11]</sup>。自然界中病原物往往是通过植株的局部侵染,进而对整个植株产生系统性的影响。而前人的报道多集中在病原物侵染位点光合性能的变化,对于病原物局部侵染后,植物叶片的侵染位点和非侵染点系统性影响的报道较少。

为此,以菜豆为试材,通过测定其叶片叶绿素荧光

参数,分析了局部侵染后的菜豆叶片侵染位点和同一叶片非侵染点叶绿素荧光特性的变化,研究白叶枯病菌侵染对菜豆叶片 PSII 的系统性影响,以期对局部病原菌侵染后植物作出的系统性反应和病害的控制提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)“农普 12 号”由广州市农业科学院提供。菜豆种子用 2% 的次氯酸钠表面消毒 20 min 并用蒸馏水充分冲洗,然后置于铺有蒸馏水浸湿的多层纱布中。待种子萌发后移栽到塑料钵中,每盆 1 株。培养基质为营养土、蛭石、珍珠岩(比例 3:1:1)。培养室的昼夜温度变化为 25℃/20℃,光照强度为 200  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,光周期 12 h/12 h(光照/黑暗)。空气湿度 45%,每天浇水 1 次,保持表层培养介质湿润。直至第 1 对真叶完全展开,选取长势一致的幼苗备用。白叶枯(*Xanthomonas oryzae*)病菌菌种由泰国 Chulabhorn 研究院生物工艺学实验室的 Skorn 教授馈赠,西北师范大学生命科学学院逆境植物代谢生理实验室保藏,将活化后的菌种接种到液体培养基中 27℃ 培养 12 h 备用。

### 1.2 试验方法

1.2.1 病原菌接种 选取长势一致的幼苗,采用注射法接种病原菌,对照组注射等量病原菌培养液。处理 15 d 后对各参数进行测定。由于发病后侵染位点出现明显枯死病斑,无法测定。故测量时选取枯斑边缘作为侵染

**第一作者简介:**冯汉青(1978-),男,博士,副教授,研究方向为植物生化与分子生物学。E-mail:fenghanq@nwnu.edu.cn.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31260059;30900105);教育部科学技术研究重点资助项目(211190);甘肃省财政厅高校基本科研业务资助项目;西北师范大学基金资助项目(NWNU-kjcxgc-03-77;NWNU-09-31;NWNU-LKQN-10-32)。

**收稿日期:**2014-03-13

点记作 A 点, A 点同一叶片主叶脉对称处为 B 点。

1.2.2 叶绿素荧光参数测定 叶绿素荧光参数测定使用叶绿素荧光成像仪 IMAGING-PAM(Waltz, Germany)。参照 Demmig-Adams 等<sup>[12]</sup>的方法, 测定地点在培养室, 空气湿度 45%, 温度 23℃。测定前对每组供试材料均暗适应 30 min, 测定时以黑布遮挡防止外部光干扰。测得基底荧光( $F_0$ ), 然后打开饱和脉冲光测得暗适应下叶片的最大荧光( $F_m$ ), 接着再开启作用光, 当所测材料实时荧光达到稳态( $F_s$ )后打开饱和脉冲光测得光适应下最大荧光( $F_m'$ ), 再打开远红光(far-red light)测定光适应叶片的最小荧光( $F_0'$ ), 调节性能量耗散量子产量  $Y(NPQ)$  和非调节性能量耗散量子产量  $Y(NO)$ , 非光化学猝灭系数  $NPQ$  和  $qN$  由仪器导出, 其它参数可通过计算得出。叶片的潜在最大光化学量子产率  $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ , 光适应下叶片的最大光化学量子产率  $F_v'/F_m' = (F_m' -$

$F_0')/F_m'$ <sup>[9]</sup>。PSII 反应中心的潜在活性  $F_v/F_0 = (F_m - F_0)/F_0$ , 每组重复测量 4 次。

### 1.3 数据分析

将所得数据用 Excel 预处理后使用 Origin 6.0 统计软件进行显著性检验( $P < 0.05$ )及绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 白叶枯病菌侵染后菜豆 PSII 反应中心活性的变化

图 1 为染病后的菜豆叶片叶片侵染位点和同一叶片非侵染点 PSII 反应中心活性的值。由图 1 A、B、C 可以看出, 与对照相比, 叶片的暗适应下潜在最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、光适应下最大光化学效率( $F_v'/F_m'$ )、光系统 II(PSII)的潜在活性( $F_v/F_0$ )均显著降低, 由此反映出 PSII 光能捕获效率, 供体侧与反应中心活性均受到抑制。

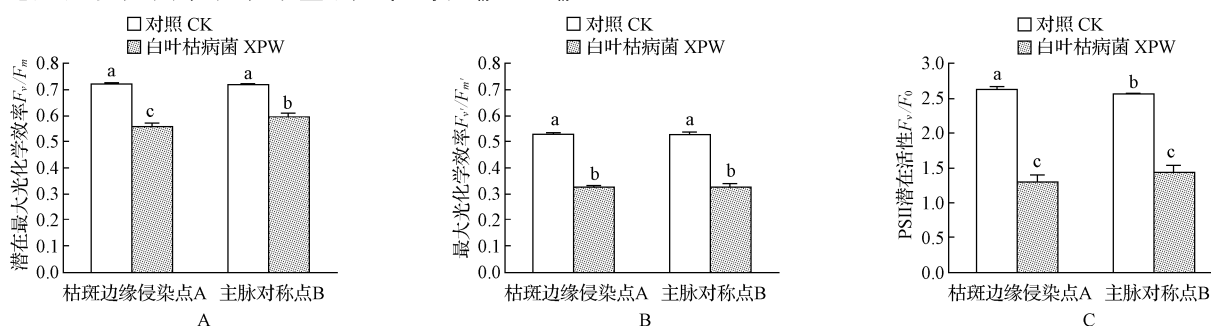


图 1 白叶枯病菌侵染后菜豆 PSII 反应中心活性的变化

Fig. 1 Changes of PSII reaction activity center in bean leaves infected by *Xanthomonas oryzae*

### 2.2 白叶枯病菌侵染后菜豆叶片光保护能力的变化

$Y(NPQ)$  和  $Y(NO)$  分别代表调节性能量耗散和非调节性能量耗散的量子产量, 其中  $Y(NPQ)$  反映植物的光保护能力,  $Y(NO)$  则是反映光损伤的重要指标。由

图 2A、B 可以看出, 白叶枯病菌侵染后, 菜豆叶片侵染位点和同一叶片非侵染位点的光保护能力显著升高, 同时光损伤显著降低, 表明病原菌的侵染诱使菜豆产生了更高水平的光保护能力, 从而减少了光损伤。

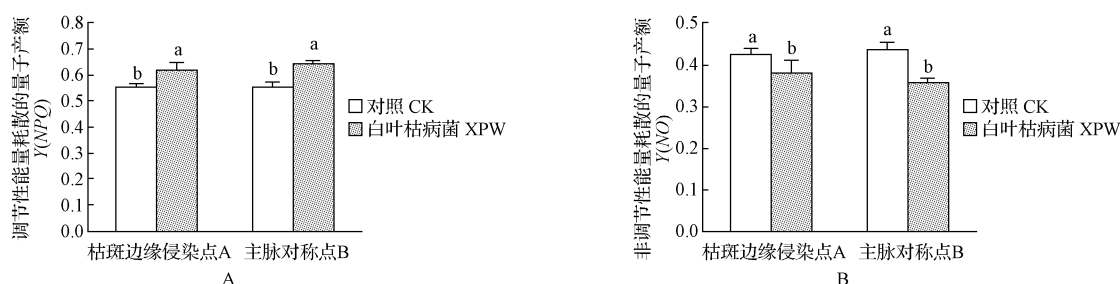


图 2 白叶枯病菌侵染后菜豆叶片光保护能力的变化

Fig. 2 Changes of light protection capacity in bean leaves infected by *Xanthomonas oryzae*

### 2.3 白叶枯病菌侵染后菜豆叶片热耗散水平的变化

$qN$  和  $NPQ$  反映非光化学过程(例如热耗散过程)引起的荧光产额的降低, 是光照条件下 PSII 的天线系统将过量的光能热耗散掉的指标。由图 3 A、B 可知, 白叶枯病菌侵染后菜豆叶片侵染位点和同一叶片非侵染点的  $qN$  和  $NPQ$  均呈上升趋势, 表明病菌侵染后菜豆叶

片以热耗散的形式散失的光能比例更高。

## 3 讨论与结论

许多研究表明, 病原菌侵染会导致植物光合能力下降及叶片叶绿素含量的降低<sup>[16-17]</sup>。当植物的光合作用受到抑制后, 叶片的过刺激发能就会增加, 从而引起 PSII

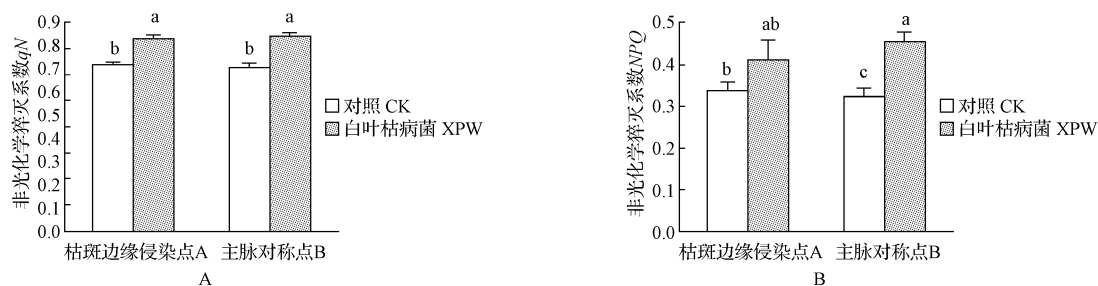


图3 白叶枯病菌侵染后菜豆叶片热耗散水平的变化

Fig. 3 Changes of heat dissipation in bean leaves infected by *Xanthomonas oryzae*

光破坏甚至导致 PSII 失活<sup>[15-16]</sup>,降低光合作用的潜能<sup>[11,17]</sup>。

与对照相比,感病叶的侵染位点和非侵染位点的  $F_v'/F_m'$ 、 $F_v/F_0$  和  $F_0/F_m$  值均显著降低,说明吸收的光能中,用于光化学反应的能量降低,PSII反应中心的光化学效率降低<sup>[18]</sup>。这表明白叶枯病菌侵染后会抑制 PSII 反应中心的活性,从而影响菜豆的光合作用。 $qN$  和  $NPQ$  反映天线色素系统对激发能的热耗散能力,白叶枯病菌局部侵染后菜豆叶片的侵染位点和非侵染位点的  $qN$  和  $NPQ$  均呈上升趋势,这印证了  $F_v'/F_m'$  降低,即部分激发能没有传递给 PSII 反应中心,而是通过天线色素的热耗散消耗掉<sup>[19]</sup>。也表明白叶枯病原菌侵染后叶片的侵染位点和非侵染位点均受到影响,因此,通过提高  $NPQ$  来保护自身,热耗散增加可减少 PSII 和电子传递链的过分还原,是植物防御光破坏的热耗散机制防御光破坏机制的运转,却导致了反应中心的光能转化效率和叶片光合效率下降<sup>[20]</sup>。

有研究表明,生物因子(包括真菌、细菌、病毒及其代谢物等)和物理因子(如机械损害、电磁处理、射线和热处理等)等也能诱导植物产生抗病反应<sup>[21-22]</sup>。植物受病原物诱导可以产生系统的抗病性能(Induced Systemic Resistance,简称 ISR),也称系统获得性抗性(Systemic Acquired Resistance,简称 SAR)<sup>[23]</sup>。感病叶侵染位点和非侵染位点的  $Y(NPQ)$  均上升反映植物的光保护能力增强, $Y(NPQ)$  上升,一方面表明光是过剩的,另一方面表明植物有能力通过自身的调节机制耗散掉过剩的光能而自我保护暗示着植物对病原菌的侵染已作出了抗病响应, $Y(NO)$  是反映光损伤的重要指标,侵染后其值降低暗示热耗散的增加产生了作用,同时也进一步说明了光保护机制的建立。以上结果均表明 PSII 反应中心的功能受到了影响。综上可以看出,菜豆叶片局部染病后,叶片的叶绿素荧光参数却产生了系统性的响应。

#### 参考文献

- [1] 郝敏,邢达,谢波,等. 含有绿色荧光蛋白基因的质粒载体的构建及其在水稻白叶枯细菌中的表达[J]. 激光生物学报,2002,11(6):427-430.
- [2] Funayama S, Hikosaka K, Yahara T. Effects of virus infection and

growth irradiance on fitness components and photosynthetic properties of *Eupatorium makinoi* (Compositae)[J]. American Journal of Botany, 1997, 84 (6):823-829.

[3] Zhou Y H, Peng Y H, Lei J L, et al. Effects of potato virus YNTN infection on gas exchange and photosystem 2 function in leaves of *Solanum tuberosum* L[J]. Photosynthetica, 2004, 42(3):417-423.

[4] Schreiber U, Bilger W, Neubauer C. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis[M]. Ecophysiology of photosynthesis. Springer Berlin Heidelberg, 1994:49-70.

[5] Krause G H, Wei E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis; The basics[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biology, 1991, 42:313-349.

[6] Michalczyk B, Borkowska B, Blal B. Chlorophyll fluorescence as an indice of the ability of micropropagated plants to alleviate biotic and abiotic stresses[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2001, 23(3):74-75.

[7] 柯玉琴,潘廷国,方树民. 青枯菌对烟草叶片  $H_2O_2$  代谢、叶绿素荧光参数的影响及其与抗病性的关系[J]. 中国生态农业学报, 2002, 10 (2):36-39.

[8] 郑国华. 炭疽病侵染对枇杷叶片  $H_2O_2$  含量和叶绿素荧光参数的影响[J]. 福建农业大学学报, 2001, 30(3):353-356.

[9] Guo D P, Guo Y P, Zhao J P, et al. Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in leaves of stem mustard (*Brassica juncea* var. *tsatsai*) after turnip mosaic virus infection[J]. Plant Science, 2005, 168(1):57-63.

[10] 沈喜,李红玉,文雅,等. 白粉病菌侵染对黄瓜叶片光合电子传递及其 PSII 功能蛋白 D1 表达的影响[J]. 植物病理学报, 2003, 33(6):546-549.

[11] 部建雯,姚广,高辉远,等. 核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)侵染抑制黄瓜光合作用的机理[J]. 植物病理学报, 2009, 39(6):613-621.

[12] Demmig-Adams B, Adams W W, Barker D H, et al. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation[J]. Physiol Plant, 1996, 98:253-264.

[13] 沈喜,李红玉,贾秋珍,等. 条锈病对小麦(*Triticum aestivum* L.)叶片光合功能及光合功能蛋白 D1 表达的影响[J]. 生态学报, 2008, 28(2):669-676.

[14] 施定基,王春梅,朱水芳,等. 黄瓜花叶病毒对烟草叶片和叶绿体光合活性的影响[J]. 植物学报, 2000, 42(4):388-392.

[15] Prssil O, Adir N, Ohad I. Dynamics of photosystem II: mechanism of photoinhibition and recovery processes[J]. Topics in Photosynthesis, 1992 (11):295-348.

[16] Aro E M, Virgin I, Andersson B. Photoinhibition of photosystem II: Inactivation, protein damage and turnover[J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 1993, 1143(2):113-134.

[17] Nishiyama Y, Yamamoto H, Allakhverdiev S I, et al. Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery[J]. The

EMBO Journal, 2001, 20(20): 5587-5594.

[18] Xu K, Guo Y, Zhang S, et al. Response of strawberry leaves photosynthesis to strong light and its mechanism[J]. The Journal of Applied Ecology, 2005, 16(1): 73.

[19] 苏秀荣, 王秀峰, 杨凤娟, 等. 硝酸根胁迫对黄瓜幼苗叶片光合速率, PSII, 光化学效率及光能分配的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(7): 1441-1446.

[20] Huner N P A, Öquist G, Hurry V M, et al. Photosynthesis, photoinhibi-

tion and low temperature acclimation in cold tolerant plants[J]. Photosynthesis Research, 1993, 37(1): 19-39.

[21] 马忠华, 周明国, 叶钟音. 非杀菌性化合物诱导水稻对稻瘟病的抗性[J]. 植物保护, 1997, 23(1): 39-40.

[22] 陈学平, 姚忠达, 郭家明, 等. 不同烟草品种感染 TMV 病程过程中 CAT、PAL 活力变化研究[J]. 安徽农业大学学报, 2002, 29(2): 103-107.

[23] 高德霖. 化学农药的全新机制[J]. 现代化工, 1999, 19(4): 15-18.

## Effect of *Xanthomonas oryzae* Infection on Chlorophyll Fluorescence Systemic of Bean Leaves

FENG Han-qing, JIAO Qing-song, TIAN Wu-ying, WU Fang-yi

(College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou, Gansu 730070)

**Abstract:** Taking *Phaseolus vulgaris* L. as material, the effect of the infection with *Xanthomonas oryzae* on the behaviors of photosystem II (PSII) in the infected area and in the non-infected area of the same bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves were investigated by measuring their chlorophyll fluorescence parameters. The results showed that the values of maximal photochemical efficiency of PSII ( $F_v/F_m$ ), the maximal photochemical efficiency of light adaptation ( $F_v'/F_m'$ ), and potential activity of PSII ( $F_v/F_0$ ) were significantly decreased in both the infected area and the non-infected area of the same leaf, compared with those of the control. These observations suggest that the reaction centers and donor sides of PSII were systemically inhibited by *Xanthomonas oryzae* infection. The infection with *Xanthomonas oryzae* caused a significant increase of non-photochemical quenching coefficient ( $NPQ$  and  $qN$ ) and quantum yield of regulated energy dissipation [ $Y(NPQ)$ ] but caused a decrease of the quantum yield of non-regulated energy dissipation [ $Y(NO)$ ]. These observations suggest that the pathogen infection caused a systemic enhancement of the energy dissipation in the form of thermal of light energy and the protection capability of light reaction. All of these results indicated that the infection with *Xanthomonas oryzae* had a systemic impact on chlorophyll fluorescence characteristics of bean leaves.

**Key words:** chlorophyll fluorescence; *Xanthomonas oryzae*; PSII; systemic

## 菜豆的主要价值

### 1 药用价值

现代医学分析认为,菜豆含有皂苷、尿毒酶和多种球蛋白等成分,具有提高人体免疫能力,增强抗病能力,激活 T 淋巴细胞,促进脱氧核糖核酸的合成等功能。可促进新陈代谢,菜豆中的皂苷类物质能降低脂肪吸收功能,促进脂肪代谢,所含的膳食纤维还可减短食物通过肠道的时间,可以起到减肥作用。可缓解慢性疾病,尿素酶对于肝昏迷患者有很好的效果。菜豆是一种难得的高钾、高镁、低钠食品,尤其适合心脏病、动脉硬化、高血脂、低血钾症和忌盐患者食用。可护发美容,吃菜豆对皮肤、头发都有好处。可以促进肌肤的新陈代谢,促使机体排毒,令肌肤更加光滑细腻。

### 2 食用价值

食用菜豆必须煮熟煮透,消除不利因子,趋利避害,更好地发挥其营养效益。嫩荚约含蛋白质 6%,纤维 10%,糖 1%~3%。干豆粒约含蛋白质 22.5%,淀粉 59.6%。鲜嫩荚可作蔬菜食用,也可脱水或制罐头。

菜豆还是一种难得的高钾、高镁、低钠食品,这个特点在营养治疗上大有用武之地。菜豆尤其适合心脏病、动脉硬化、高血脂、低血钾症和忌盐患者食用。芸豆的主要成分是蛋白质和粗纤维,还含有氨基酸、维生素及钙、铁等多种微量元素。芸豆中蛋白质含量高于鸡肉,钙含量是鸡肉的 7 倍多,铁为 4 倍, B 族维生素的含量也高于鸡肉。

(摘自百度百科)