

文章编号: 1001-1498(2010)04-0581-05

接种不同真菌菌株后黄栌生物电指标的变化

游崇娟, 王建美, 田呈明*

(北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083)

摘要: 以黄栌枯萎病发病植株的根部所分离到的 3 种优势菌株作为供试菌株, 利用新型电感电容表和电导率仪分别测定黄栌的树干电容、电阻和叶片电导率等生物电指标的变化, 发现接种不同真菌菌株后黄栌的树干电容均值都呈现逐渐下降的趋势, 树干阻抗均值、叶片细胞外渗液的相对电导率和叶片离子外渗百分率则都呈现逐渐增大的趋势。但接种 *Verticillium dahliae* 后黄栌出现枯萎病症状, 且各项生物电指标均呈现更为显著的变化, 其变化幅度较分别接种 *Fusarium* sp.、*Cylindrosporium* sp. 菌株后的电指标变化幅度大, 而且树干电容和电阻在接种 5 天后表现出显著差异性, 比病害症状出现提前 7 天; 同时, 受 *Verticillium dahliae* 侵染的植株和未受侵染植株在树体干部电容、阻抗和单位电容指标上差异显著, 树干电阻与树干电容在植株受侵染后表现出更为显著的负相关关系。

关键词: 电容; 阻抗; 电导率; 枯萎病; 黄栌

中图分类号: S712 文献标识码: A

Changes in Bioelectrical Indexes of *Cotinus coggygia* var. *cinerea* Inoculated with Different Fungus Strains

YOU Chong-juan, WANG Jian-mei, TIAN Cheng-ming

(Key Laboratory for Silviculture and Forest Conservation, Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: The paper studied the changes in bioelectrical indexes of *Cotinus coggygia* var. *cinerea* inoculated with three fungus strains isolated from infected *C. coggygia* var. *cinerea*, i. e. *Verticillium dahliae*, *Fusarium* sp. and *Cylindrosporium* sp., and the bioelectrical indexes, capacitance, impedance and conductivity, were tested by using the capacitance meter and electric conductivity instruments. The results indicated that the differences for the changes in bioelectrical indexes after inoculating with different fungus strains were significant, and the tree stem impedance, leaf exosmosis bioelectricity and exosmosis percentage increased gradually, while the tree stem capacitance decreased with the development of the process of infection. However, compared with inoculating with *Fusarium* sp., and *Cylindrosporium* sp., the ranges of changes in bioelectrical indexes of *C. coggygia* var. *cinerea* inoculated with *V. dahliae*, the main pathogens infecting *C. coggygia* var. *cinerea*, were larger, and also the changes of the tree stem impedance and tree stem capacitance showed more significant differences in 5 days after inoculation, which were 7 days earlier than the appearance of symptoms. There were evident differences between healthy and debility trees in stem impedance, tree stem capacitance and unit capacitance, and the stem impedance had more significant negative correlation with stem capacitance in infected *C. coggygia* var. *cinerea*.

Key words: capacitance; impedance; conductivity; *Verticillium* wilt; *Cotinus coggygia* var. *cinerea*

收稿日期: 2009-10-12

基金项目: 国家“十一五”科技支撑项目(2006BAD08A10-03);北京市教委科研基地共建项目

作者简介: 游崇娟(1986—),女,山西交城人,在读硕士研究生,主要从事森林病理学研究。

* 通讯作者: 教授,博士生导师,主要从事林木病理学、菌物系统学研究。E-mail: chengmt@bjfu.edu.cn

电容、阻抗和电导率等作为重要的植物生物电指标,不仅可量化评价植物生长势,还可以定量评价植物在遭受病害等逆境胁迫下的生理状况和受害程度^[1]。Piene^[2]、Glenn^[3]、周章义^[4]、曹兵^[5]等对树干电容、电阻与树木树势之间的关系进行了研究,指出树干电容同生长势成显著正相关,而树干电阻与生长势成负相关关系;高保山等^[6]也从热力学熵增原理对此进行了科学的解释。同时,Wilner^[7]、Robert^[8]、唐友林^[9]、梁军^[1,10]等通过实验证实植物对逆境的电生理反应比外观症状变化更为迅速。目前许多学者对植物生物电指标及其影响因素进行了一些探索性工作,但主要集中于植物电生理学在植物抗旱性、抗寒性和耐热性等植物抗逆生理学领域的应用^[10],对植物生物电指标与植物病害之间关系的研究尚显不足。为此,本文通过对接种不同真菌菌株后黄栌(*Cotinus coggygria*(L.) Scop. var. *cinerea* Engl.)的树体干部电容、阻抗及叶片电导率等相关电指标及其变化规律进行测定和分析,为利用植物电生理学对植物病害在症状出现早期的非破坏性地检测的研究提供基础资料和理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1年生黄栌实生苗购于河北省定州市绿路园林苗圃场。将土壤基质(粘土、砂土和砾石按4:3:1比例混合)以0.1%福尔马林液浇灌,用塑料膜捂盖7~8天后敞开,待福尔马林完全挥发后分装在直径30 cm的花盆中,选显微镜检和组织分离后确诊不携带病菌苗,将其黄栌根部用自来水冲洗干净后种植在上述灭菌土壤中,2~3月后进行接种^[11]。

1.2 供试菌株

按常规组织分离法从北京香山发生枯萎病黄栌根部分离到3种优势菌株,分别为大丽轮枝菌 *Verticillium dahliae* Kleb. (菌株编号:vd)、镰刀菌属一种 *Fusarium* sp. (菌株编号:XBH2) 以及柱孢属一种 *Cylindrosporium* sp. (菌株编号:BGE19)。

1.3 试验方法

1.3.1 接种方法 参照杨家荣^[12]的方法制备孢子悬浮液,并采用伤根接种法。当黄栌幼苗长出4~5片叶子时,将植株四周的土壤轻轻扒开,使用灭过菌的剪刀在植株根部造成轻微的伤口,然后每株苗木接种40 mL浓度为 1.8×10^6 cfu·mL⁻¹的分生孢子悬浮液。3个菌株的孢子悬浮液分别接种在不同的

苗木上,并覆土。以接种无菌水为对照,共4个处理,镰刀菌(vd)、柱孢属(XBH2)和无菌水各处理10株黄栌苗,轮枝菌接种20株苗木。

1.3.2 树体干部电容、阻抗测定方法 采用广东省优利德科技有限公司生产的UT600系列的新型电感电容表。将与电感电容表相连的2个带夹测试线的负极夹住距地面1 cm的苗木枝干处,正极夹住距负极约6 cm的枝干处,保持间距不变且两个带夹测试线处于同一水平,两极夹的范围、距离一定要固定,以减少误差,调整适合的量程,读取电容表数据。树干电容小于2 nF时,用仪表的2 nF键测量,大于2 nF时,用20 nF键测量^[10]。并计算出树干单位电容即树体干部电容与树木胸径的比值^[11]。

树体干部阻抗的测定方法同电容测定,量程转换到适合的阻抗量程,读取数据。

在接种前1天(B1)和接种后1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21天的同一时间段内即早上10:00—10:30分别测定黄栌干部的电容、阻抗值。每个菌株及对照分别测定10株,取其平均值。

1.3.3 叶片电导率的测定方法 参照梁军^[11]的方法。称取约0.2 g新鲜叶片,将其用无离子水冲洗3遍后切断成碎片,放入提前装有20 mL无离子水的三角瓶中,采用上海优特优泰仪器科技有限公司生产的PC510电导率仪测定电导率(记为零值),静置3 h,再测定1次(记为初值),之后将叶片煮沸15 min再测定1次(记为终值)。在接种前1天(B1)和接种后1、5、9、13、17、21天同一时间段即早上9:00—10:00分别测定叶片电导率,每个菌株及对照分别测定10株,取其平均值。计算叶片细胞外渗液的相对电导率和叶片细胞离子外渗百分率。叶片细胞外渗液相对电导率=(初值-零值)/(终值-零值),细胞离子外渗百分率=(初值/终值)×100%。

1.4 数据处理方法

采用Excel 2007和SPSS统计分析软件对数据进行作图和分析。

2 结果与分析

2.1 接种不同菌株后树体干部电容、电阻的变化

接种大丽轮枝菌 *Verticillium dahliae* 菌株(vd组)、镰刀菌属 *Fusarium* sp. 菌株(XBH2组)和柱孢属 *Cylindrosporium* sp. 菌株(BGE19组)后树体干部电容均值都呈现逐渐下降的趋势,但降幅显著不同

(图 1)。其中, 接种大丽轮枝菌后, 第 16 天降幅最大, 达 37.9%; 接种镰刀菌菌株后的第 17 天降幅最大, 达 29.8%; 接种柱孢属菌株后的第 15 天降幅最大, 达 20%; 而对照组的树干电容均值则呈现逐渐增加的趋势, 在接种后第 21 天增幅最大, 达 26.5%。方差分析显示, 各处理组的树干电容均值在 0.05 水平上差异达显著水平。从接种前 1 天到接种后 3 天, 接种 *Verticillium dahliae* 菌株和对照组的差异不显著, 而从接种后第 5 天起, $P=0.032$, 则在 0.05 水平上差异显著。

分别接种 3 种真菌后, 树干阻抗均值的变化趋势与树干电容均值的变化趋势相反, 树干阻抗均值都呈逐渐增大的趋势, 增幅也显著不同(图 2)。其中接种大丽轮枝菌菌株后的第 21 天增幅最大, 达 20.2%, 接种镰刀菌属菌株后在接种后第 13

天增幅最大, 达 15.0%, 接种柱孢属菌株后, 在接种后第 13 天增幅最大, 达 13.0%; 而对照组的树干阻抗均值则呈现逐渐减小的趋势, 在接种后第 18 天降幅最大, 达 37.9%。方差分析显示, 各处理组的树干电阻均值在 0.05 水平上差异达显著水平。从接种前 1 天到接种后 5 天, 接种大丽轮枝菌菌株和对照组的差异不显著, 而从接种后第 7 天起, $P=0.025$, 则在 0.05 水平上差异显著。

同时发现, 在接种 15 天后, 接种大丽轮枝菌的植株陆续发病, 发病率为 50%, 症状表现为叶片褪色发黄, 但叶脉仍保持绿色, 自叶缘向内干缩、卷曲萎蔫, 后期变焦枯, 根、枝的横切面边材部可见褐色条纹, 剥皮后可见褐色病残线; 而接种镰刀菌属以及柱孢属的植株都未出现发病症状。

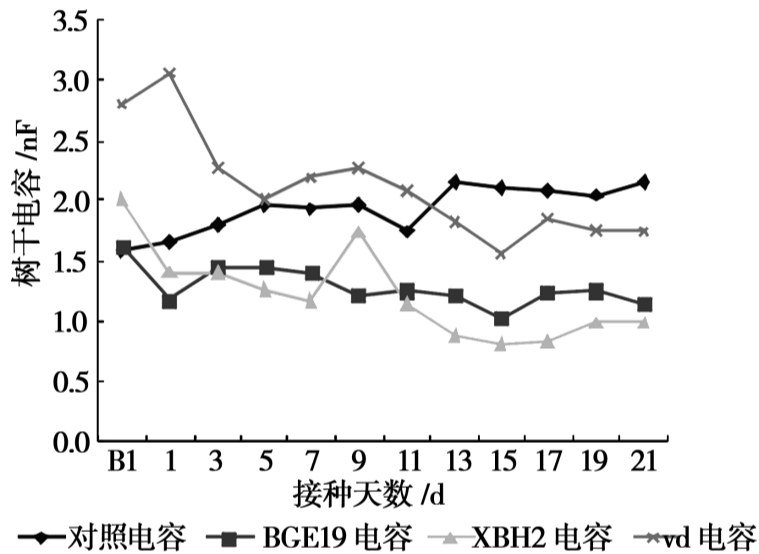


图 1 接种不同真菌菌株后树干电容的变化

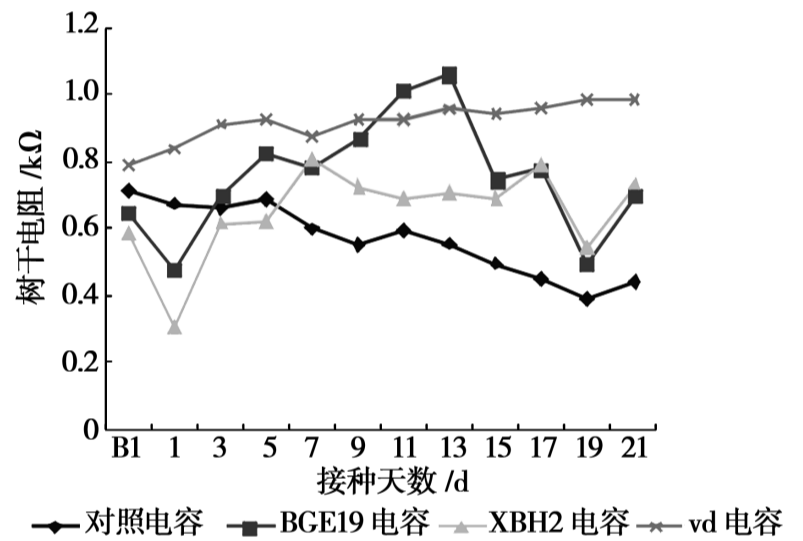


图 2 接种不同真菌菌株后树干电阻的变化

2.2 接种不同菌株后对树干单位电容的影响

单位电容反映了单位胸径树干储存电荷的大小^[1], 接种不同菌株后对树干平均单位电容指标的影响如表 1 所示。接种大丽轮枝菌菌株后树干平均电容小于其他菌株, 尤其是单位电容小于其他菌株的平均单位电容。方差分析显示, 单位电容在 0.05 水平上差异显著。

表 1 接种不同真菌后对树体单位电容的影响

菌株	树体干部 平均电容 /nF	平均 胸径/ cm	平均单位 电容/ (nF·cm ⁻¹)
大丽轮枝菌 <i>Verticillium dahliae</i> (vd)	1.54a	0.470	3.27 a
柱孢属 <i>Cylindrosporium</i> sp. (BGE19)	1.94b	0.474	4.09b
镰刀菌 <i>Fusarium</i> sp. (XBH2)	1.78ab	0.430	4.13b
对照组 (CK)	2.13c	0.395	5.4ab
方差分析结果 <i>F</i>	24.697*	-	17.304*

注:* 同列数据后标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

2.3 接种不同菌株后叶片电导率的变化

接种不同真菌菌株后, 叶片细胞外渗液的相对电导率和叶片离子外渗百分率都呈现逐渐增大的趋势(图 3、4)。尤其接种大丽轮枝菌后, 其电导率增幅显著大于接种其他两种真菌的电导率变化幅度, 而对照组的电导率则基本保持不变。方差分析结果也显示, 处理组和对照组的这两项电生理指标值, 在 0.05 的置信水平上都存在显著性差异。

2.4 接种大丽轮枝菌后受侵染和未受侵染的树体干部电指标的变化

对接种大丽轮枝菌后感病和健康黄栌植株的树干电指标分析后发现, 受侵染植株的树干平均电容和平均单位电容明显分别低于未受侵染苗木树干平均电容和单位电容, 但受侵染的树干平均阻抗明显高于未受侵染的树干平均阻抗(表 2)。方差分析可知: 受侵染和未受侵染的植株在树体干部电容、阻抗和单位电容指标上差异显著。

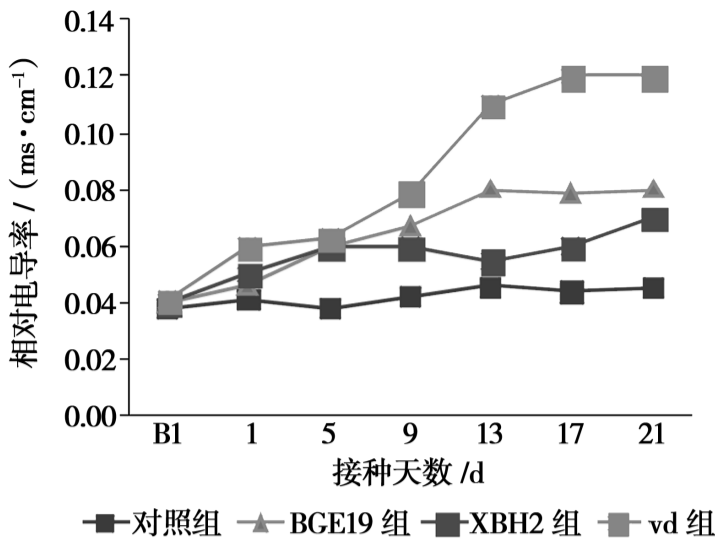


图3 接种不同真菌后叶片相对电导率的变化

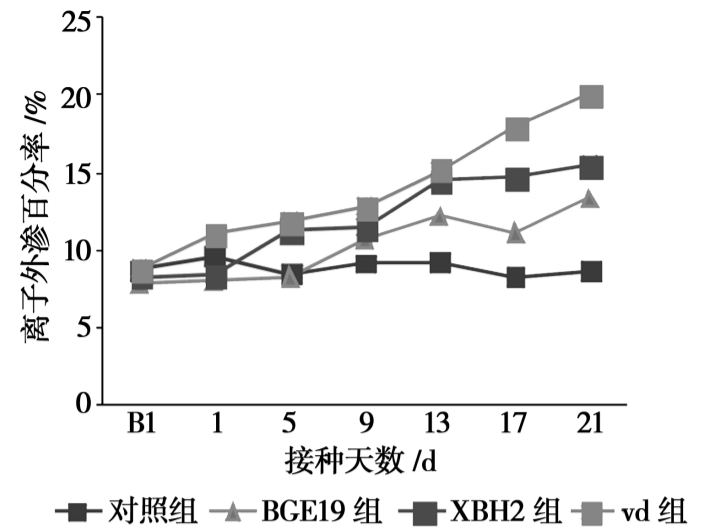


图4 接种不同真菌后叶片离子外渗百分率的变化

表2 接种大丽轮枝菌菌株后受侵染和未受侵染的黄栌苗干电指标的变化

处理	树 干 部 平均电容 /nF	树 体 干 部 平均阻抗 /k	平均单位 电容/ (nF·cm ⁻¹)	平均 胸径 /cm
接种后受侵染	1.11	1.57	2.92	0.38
接种后未受侵染	1.97	0.59	4.53	0.44
方差分析结果 F	20.421**	17.330*	22.384*	-

注: * 表示差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

接种大丽轮枝菌后, 受侵染植株的树干电容与树干电阻的关系如图5所示。相关分析结果显示, 两者的相关系数 $r = -0.868$, $P = 0.005$, 表明两者在0.01水平上呈显著负相关关系。曲线回归分析结果显示: 决定系数 $R^2 = 0.754$, $F = 48.024$, $p < 0.05$, 表明该曲线回归具有显著意义, 得到以树干电容为自变量, 树干电阻为因变量的曲线回归方程为: $Y = -0.009X^2 - 0.07X + 1.113$ 。另外线性回归分析结果显示, 决定系数 $R^2 = 0.753$, $P = 0.003$, 得到以树干电容为自变量, 树干电阻为因变量的线性方程为: $Y = -0.115X + 1.163$ 。根据决定系数可知, 曲线回

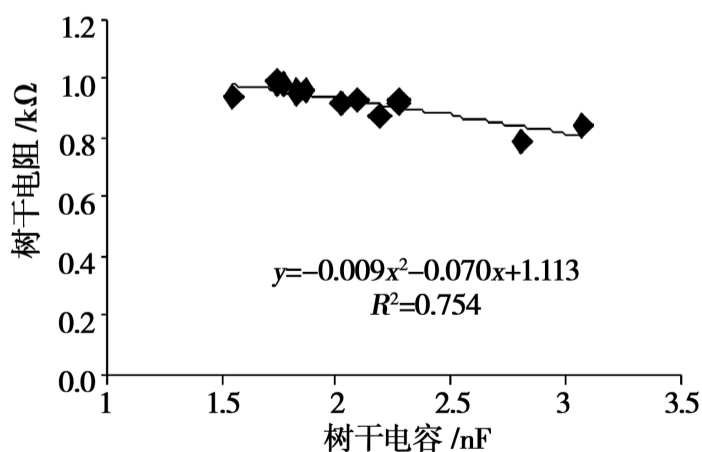


图5 接种大丽轮枝菌受侵染植株的树干电容与电阻的关系

归方程的拟合程度好于直线方程。

接种后, 未受侵染植株的树干电容与树干电阻的关系如图6所示。相关分析结果显示, 两者的相关系数 $r = -0.772$, $P = 0.003$, 表明两者在0.01水平上呈负相关关系。曲线回归分析结果显示: 决定系数 $R^2 = 0.602$, $F = 33.766$, $p < 0.05$, 表明该曲线回归具有显著意义, 得到以树干电容为自变量, 树干电阻为因变量的曲线回归方程为: $Y = -0.281X^2 + 0.639X + 0.390$ 。线性回归分析结果显示, 决定系数 $R^2 = 0.595$, $F = 24.476$, 得到以树干电容为自变量, 树干电阻为因变量的线性方程为: $Y = -0.417X + 1.375$ 。根据决定系数可知, 曲线回归方程的拟合程度比直线方程好。

因此, 无论黄栌是否受病原菌侵染, 树干电容与树干电阻都呈显著负相关关系。即树干电阻随树干电容的增大而减小, 且多项式方程拟合略优于直线方程拟合。另外, 受侵染植株的电指标的决定系数大于未受侵染植株的决定系数。因此, 两者的相关关系在植株受侵染后更显著。

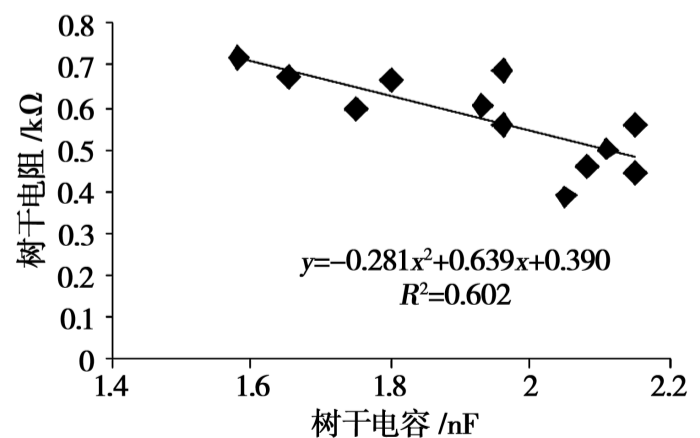


图6 未受侵染植株的树干电容与树干电阻的关系

3 结论与讨论

接种不同真菌菌株对黄栌各项生物电指标如树

干电容、单位电容、树干电阻和叶片电导率等有不同程度的影响。尤其接种 *Verticillium dahliae* 后, 黄栌幼苗表现出枯萎病症状, 其生物电指标也呈现更加

显著的变化。树干电容均值、树干电阻均值以及叶片细胞外渗液的相对电导率和叶片细胞离子外渗百分率的变化幅度较分别接种 *Fusarium sp.*、*Cylindrosporium sp.* 菌株后各项电指标的变化幅度大。病原菌侵染寄主植物主要引起细胞膜受损, 使其透性改变, 而生物电指标的变化幅度可反映出细胞膜受损害的程度, 间接反映不同病原菌对植物的致病力强弱。接种大丽轮枝菌后黄栌细胞膜相对透性增大的幅度显著大于接种其他两种菌株后的植株, 也可以间接说明大丽轮枝菌对黄栌有较强的致病力。此外, 接种大丽轮枝孢菌后的黄栌树干电容值和电阻值分别在接种第5天和第7天表现出显著差异性, 而在第15天后才陆续观察到发病症状。可以看出, 植物电生理反应比外观症状反应提前7~10天。因此, 可通过测定植物异常生物电指标的变化来对植物病害做早期检测。

受大丽轮枝孢菌侵染的植株树干平均电容和平均单位电容明显分别低于未受侵染苗木树干平均电容和单位电容, 但树干平均阻抗明显高于未受侵染的树干平均阻抗, 并且不管是否受到侵染, 树干电阻都随树干电容的增大而减小, 这种负相关关系在受侵染植株上表现更为显著。病原菌的侵入使植物的细胞膜受损, 植物组织中的 Na^+ 、 K^+ 等离子发生渗漏, 引起具有电容器效应的细胞膜透性改变, 电导率增高, 电容和单位电容降低^[1, 13]。又根据熵增原理, 当植物遭受逆境时, 离子处于无序状态, 沿有序方向运动的速度变小, 阻抗增大^[3, 6]。因此, 树木电容值尤其单位电容值以及阻抗值的大小与细胞的健康状况密切相关, 电容和单位电容随细胞健康状况的增强而增大, 阻抗则相反^[3-4]。

但是, 在利用植物生物电指标对植物病害进行检测时, 当电指标出现异常时并不能表明是遭受哪种病害, 还需根据病害症状和其他生理生化指标进行综合判断^[1, 10, 14], 同时电指标的测量要受到很多生理和环境因素的影响, 例如用电容表测电容时, 要受树木阻抗的干扰^[4]; 电极的类型和材质有可能对植株造成损伤, 影响生物电指标数值的稳定^[3]。因此, 在测量时, 要尽量保证测量环境的一致性, 在相同的测定标准和体系下进行, 使误差降至最低, 以便准确预测不同胁迫因子对电参数的影响^[14-18], 另外对不同的植物-病原物组合应探索各自适宜的生物电指标^[1, 10]。因此, 通过不断深入地开展电指标变

化与植物病害之间关系的研究, 才能更合理科学地利用生物电指标评价植物的生理状况和受害程度。

参考文献:

- [1] 梁 军, 屈智巍, 贾秀贞, 等. 树体电容的生理学研究[J]. 林业科学, 2006, 42(1): 90 - 95
- [2] Piene H, Fension D S, Mclsaac J E, et al. Electrical resistance and capacitance measurements on young, spaced and unspaced, defoliated and protected, balsam fir trees[J]. Canadian Journal of Forestry Research, 1984, 14: 811 - 817
- [3] Glenn M, Thompson R G, Piene H. Stem electrical capacitance and resistance measurements as related to total foliar biomass fir trees [J]. Canadian Journal of Forestry Research, 1987, 17: 1071 - 1074
- [4] 周章义. 一项值得研究的树势探测技术——电容法[J]. 山东林业科技, 2000(6): 38 - 42
- [5] 曹 兵, 许 洁, 宋 恒. 几种造林树种生长势的初步研究 [J]. 宁夏农学院学报, 2003, 24(3): 11 - 13
- [6] 高保山, 董燕南, 王保柱. 树木生命力的电特性分析[J]. 河北农业大学学报, 1997, 20(1): 71 - 73
- [7] Wilner J, Brach E J. Utilization of Bioelectric Tests in Biological Research[M]. Engineering & Statistical Research Institute: Agriculture Canada, 1979: 1 - 139
- [8] Robert O B, Walter C S, Weston D. Mechanism relating cambial electrical resistance to periodic growth rate of balsam fir[J]. Canadian Journal of Forestry Research, 1983(13): 472 - 480
- [9] 唐友林. 植物的寒害、抗寒性与电阻参数的研究[J]. 植物生理学通讯, 1982(2): 7 - 11
- [10] 李怀方, 董汉松. 植物诱导抗病性的电生理学[M]. 北京: 科学出版社, 1995: 44 - 53
- [11] 王建美, 才玉石, 陶万强, 等. 不同真菌菌株对黄栌的致病性研究[J]. 中国森林病虫, 2008, 27(3): 1 - 6
- [12] 杨家荣, Harris D C. 枫树黄萎病接种方法研究[J]. 西北林学院学报, 1994, 9(2): 34 - 39
- [13] 李兴伟, 周章义, 张俊楼, 等. 探测树势的电测技术——电容法 [J]. 广东林业科技, 2002, 18(1): 19 - 24
- [14] 傅玉和. 植物病害诊断仪的传感机理研究[J]. 北京教育学院学报, 2000, 14(2): 43 - 48
- [15] Campll R W, Sloam R J. Forest stand responses to do foliation by the gypsy moth[J]. For Sci Monogr, 1977(19): 55 - 65
- [16] López-Escudero F J, Blanco-López M A. Recovery of young olive trees from *Verticillium dahliae*[J]. European Journal of Plant Pathology, 2005, 113: 367 - 375
- [17] Taitar T A, Blanchard R O. Electrophysiological research in plant pathology [J]. Annual Review of Phytopathology, 1976, 14: 309 - 325
- [18] Kao C C, Barlow E, Sequeira L. Extracellular polysaccharide is required for wild-type virulence of *Pseudomonas solanacearum*[J]. Bacteriol, 1992, 174: 1068 - 1071