

桃色欧文氏菌 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长生理的影响

田望军,何林鑫,陈海雁,赵亮,靳振海,张振粉*

(甘肃农业大学草业学院,草业生态系统教育部重点实验室,甘肃省草业工程实验室,中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】探究桃色欧文氏菌(*Erwinia persicina*)Cp2 粉红色素对紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响。【方法】以紫花苜蓿(*Medicago sativa*)品种巨能 551 为试验材料,使用不同浓度(0、0.094、0.188、0.282、0.376、0.470 mg/mL)的 Cp2 粉红色素处理紫花苜蓿,并测定紫花苜蓿种子萌发、幼苗生长及生理相关指标。【结果】1)Cp2 粉红色素对紫花苜蓿种子萌发没有显著影响;2)Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗的生长呈现出浓度效应:随着 Cp2 粉红色素浓度的增加,紫花苜蓿幼苗叶片黄化、整株萎蔫的症状愈加明显,且紫花苜蓿幼苗根系向着渐短渐粗的趋势发展、叶绿素含量较 CK 显著降低。0.470 mg/mL 处理使紫花苜蓿幼苗根系长度和叶绿素含量降至最低,叶片相对电导率达到最高($P<0.05$);3)与对照相比,Cp2 粉红色素致使紫花苜蓿幼苗超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的活性显著降低;0.188~0.470 mg/mL 处理诱导紫花苜蓿幼苗体内超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)及丙二醛(MDA)的含量较 CK 显著升高;4)相关性分析和主成分分析结果表明不同浓度的 Cp2 粉红色素致使紫花苜蓿幼苗的生长较 CK 产生了实质性差异,这种差异主要体现在对紫花苜蓿幼苗根系生长的抑制、降解叶绿素、抑制抗氧化酶的活性等方面。【结论】桃色欧文氏菌 Cp2 分泌的粉红色素能够显著抑制紫花苜蓿幼苗的生长发育,该结果为揭示桃色欧文氏菌 Cp2 的致病机理及紫花苜蓿细菌性病害的防治奠定了理论依据。

关键词:紫花苜蓿;种子萌发;幼苗生长;相关性分析;主成分分析

中图分类号:S541 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2024)05-0022-11

DOI:10.13817/j.cnki.cyycp.2024.05.003



紫花苜蓿(*Medicago sativa*)作为多年生优质豆科牧草,因其卓越的营养和生态价值成为全球范围内分布最广泛的栽培草本植物之一^[1]。紫花苜蓿在诸多国家的种植面积、商业价值、产量和管理投入等方面与玉米(*Zea mays*)和小麦(*Triticum aestivum*)类似,因

此,在畜牧业可持续生产中发挥着举足轻重的作用,并且这一作用正在从传统的干草和放牧生产系统扩展到用于沙拉、营养补充剂和生物能源原料等方面^[2],凸显出紫花苜蓿在人类社会中的重要性。

病害是限制紫花苜蓿生产和利用的主要因素之一^[3]。桃色欧文氏菌(*Erwinia persicina*)是革兰氏阴性杆状细菌,属于欧文氏菌科,欧文氏菌属(*Erwinia*),其特点是能够产生水溶性的粉红色素^[4]。Zhang 等^[5]的研究表明,桃色欧文氏菌能够引起紫花苜蓿细菌性芽萎蔫病,且在发病过程中伴随有粉红色素产生。桃色欧文氏菌除了能使紫花苜蓿致病外,还在侵染百合科(大蒜鳞茎粉红色腐烂、洋葱粉红色软腐)^[6-7]、白蘑科(金针菇粉红色感染)^[8]和伞形科(欧芹

收稿日期:2023-02-08;**修回日期:**2023-04-23

基金资助:国家自然科学基金项目(32060369);甘肃省杰出青年基金项目(20JR10RA562);草业生态系统教育部重点实验室—人才培育项目(KLGE 202203)

作者简介:田望军(1998-),男,甘肃定西人,硕士研究生。

E-mail:1921975271@qq.com

*通信作者。E-mail:zhangzf@gsau.edu.cn

根粉红色腐烂)^[9]等植物的过程中伴随有粉红色素产生。

桃色欧文氏菌所产胞外水溶性粉红色素在侵染寄主过程中对寄主造成的影响尚不明确,国际上有关桃色欧文氏菌粉红色素的研究罕见报道。鉴于此,本研究以紫花苜蓿种带优势病原细菌桃色欧文氏菌 Cp2^[10]所分泌的粉红色素为试验对象,以紫花苜蓿品种巨能 551 为试验材料,使用不同浓度的 Cp2 粉红色素处理紫花苜蓿,并测定紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长相关指标,以期为桃色欧文氏菌 Cp2 致病机理的揭示及紫花苜蓿细菌性病害的防治奠定理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试紫花苜蓿品种巨能 551(*Medicago sativa* cv. Juneng 551)由甘肃农业大学牧草种质资源实验室提供。

桃色欧文氏菌 Cp2 粉红色素由甘肃农业大学草业学院牧草病理实验室提供,Cp2 粉红色素的制备参考 Zhang 等^[11]的方法。

1.2 试验方法

1.2.1 Cp2 粉红色素标准曲线及浓度的确立 标准曲线的建立:称取 Cp2 粉红色素固体 3 000 mg 溶于 300 mL 无菌水中,使用 Cp2 粉红色素的紫外吸收波长^[11]测溶液的吸光值,并将溶液逐步稀释为自身的 2、3、4、5、6 倍,同时测每个稀释倍数下溶液的吸光值,从而建立 Cp2 粉红色素溶液的标准曲线($y=0.0262x+1.4527, R^2=0.9995$)。

Cp2 粉红色素浓度的确立:将 Cp2 粉红色素($D_{340\text{nm}}=1.502$)的吸光值代入标准曲线方程中换算出 Cp2 粉红色素的浓度(1.88 mg/mL),在预试验的基础上将其稀释至 0.094、0.188、0.282、0.376、0.470 mg/mL 后备用。

1.2.2 紫花苜蓿种子发芽试验 参照《草种子检验规程 GB/T 2930.4—2017》^[12]挑选籽粒饱满、无病虫害、大小基本一致的巨能 551 种子 2 400 粒于 1% 的 NaClO 溶液中消毒 5 min,蒸馏水冲洗 3~4 遍,使用滤纸吸干水分,置于垫有两层滤纸的 9 cm 培养皿中,每皿放置 100 粒种子^[13],以无菌水作对照共设置 6 个处理:0 (CK)、0.094、0.188、0.282、0.376、0.470

mg/mL,每个处理设置 4 个重复,向培养皿中添加所需的 Cp2 粉红色素溶液 5 mL,CK 处理组添加无菌水 5 mL,使用称重法每天补充水分,将培养皿于光照培养箱中(温度 20℃,光周期 12 h/12 h,光强 5 000 lx,相对湿度 75%)放置 10 d,记录每天发芽的种子数。

1.2.3 Cp2 粉红色素处理紫花苜蓿 前期准备:挑选籽粒饱满、无病虫害的巨能 551 种子 600 粒,以无菌水作对照,共设置 6 个浓度梯度:0 (CK)、0.094、0.188、0.282、0.376、0.470 mg/mL,每个浓度梯度设置 4 个重复,每个生长瓶^[14]中放置 25 粒紫花苜蓿种子。

生长瓶水培试验:向生长瓶中加入 200 mL 各浓度梯度下的 Cp2 粉红色素溶液,在高温高压灭菌锅(121℃,0.11 Mpa)中灭菌,然后将 25 粒紫花苜蓿种子等距放置于发芽床上,在温度 23℃、湿度 45%、光照(23.5 klx)18 h+黑暗 6 h 的组培室中培养 21 d 后测定所需的生长及生理指标。

1.3 指标测定

1.3.1 萌发指标的测定 发芽势(Germinating potential, GP)=(第 4 d 发芽的种子数/供试种子数)×100%

发芽率(Germination rate, GR)=(第 10 d 发芽的种子数/供试种子数)×100%

发芽指数(Germination index, GI)= $\sum(Gt/Dt)$

式中:Gt 为第 t 日发芽的种子数,Dt 为发芽天数^[13]。

1.3.2 生长指标的测定 根长、苗长的测定:从各生长瓶中随机选取 5 株幼苗,每个浓度梯度 4 个重复,即每个处理共 20 株幼苗。测量幼苗根尖到根基的长度,即为根长,测量植株最高部位到根基的长度即为苗长^[15]。

鲜重、干重的测定:从各生长瓶中随机选取 10 株幼苗为 1 组,每个浓度梯度 4 个重复,即每个处理共 40 株幼苗。使用滤纸吸干表面水分,称取每组的鲜重,置于烘箱 75℃干燥 48 h 至恒重,即为干重。

根系形态指标的测定:从各生长瓶中随机选取 3 株幼苗,每个浓度梯度 4 个重复,即每个处理共 12 株幼苗。从根基部切断,使用牙签调整根毛的位置,使根系在扫描系统中(WinRH120)能够充分展开,将扫描完的图片使用 Win-RHIZO 根系分析系统软件(Regent Instruments Canada Inc)分析,即得到平均根直径(单个测量植株的所有根的平均直径,mm)、根总体

积(单个测量植株的所有根的体积,cm³)、根总面积(单个测量植株的所有根的面积,cm²)^[16]。

叶绿素含量的测定参照 Yu 等^[17]的方法,用乙醇浸提法测定;叶片相对电导率的测定参照熊庆娥^[18]的方法,使用电导法测定,每个处理4个重复。

1.3.3 生理指标的测定 取紫花苜蓿幼苗整株进行生理指标的测定,每个处理设置4个重复。超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性、过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性、丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量、根系活力(取紫花苜蓿幼苗根系)的测定参照李合生^[19]的方法;可溶性蛋白含量的测定参考Campion 等^[20]的方法;过氧化氢(H₂O₂)含量的测定参考 Satterfield 等^[21]的方法,超氧阴离子(O₂⁻)含量的测

定参考王爱国等^[22]的方法。

1.4 数据分析

使用 Excel 2021 整理数据,使用 SPSS 26.0 对紫花苜蓿的萌发、生长及生理指标进数据行 One—Way ANOVA 统计分析和 Duncan 极差法差异显著性检验,使用 Origin 2021 进行相关性分析和主成分分析,数值表示为平均值±标准误。

2 结果与分析

2.1 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿种子萌发的影响

随着 Cp2 粉红色素浓度的增加,紫花苜蓿种子的发芽势、发芽率和发芽指数与对照相比差异不显著,该结果表明 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿种子萌发没有显著影响(表1)。

表1 桃色欧文氏菌 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿种子萌发的影响
Table 1 Effect of *Erwinia persicina* Cp2 pink pigment solution on alfalfa seed Germination

Cp2 粉红色素浓度/(mg·mL ⁻¹)	发芽势/%	发芽率/%	发芽指数
CK	93.33±1.49 ^a	94.22±1.17 ^a	71.76±1.37 ^a
0.094	92.44±2.15 ^a	94.22±1.17 ^a	69.69±2.20 ^a
0.188	93.78±2.01 ^a	94.67±1.33 ^a	69.40±2.00 ^a
0.282	93.78±1.35 ^a	94.67±1.15 ^a	70.188±1.40 ^a
0.376	92.44±3.36 ^a	92.89±2.96 ^a	70.28±2.86 ^a
0.470	94.67±1.15 ^a	95.11±0.88 ^a	71.44±0.88 ^a

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同。

2.2 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗生长指标的影响

2.2.1 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗根长、苗长、平均根直径、根总体积、根总面积的影响 外源 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗的生长表现出浓度效应,随着 Cp2 粉红色素浓度的升高,紫花苜蓿幼苗根系逐渐由白色转变为褐色并且向着渐短渐粗的趋势发展,紫花苜蓿幼苗呈现出叶片黄化、整株萎蔫的症状(图1)。

Cp2 粉红色素显著抑制紫花苜蓿幼苗根系的发育,使根系向着渐短渐粗的趋势发展。Cp2 粉红色素使紫花苜蓿幼苗的根长、根总体积和根总面积较 CK 显著降低($P<0.05$),且在 0.470 mg/mL 处理下降至最低,依次比 CK 下降 90.62%、62.77%、84.95%。0.188~0.470 mg/mL 处理使紫花苜蓿幼苗平均根直径较 CK 显著升高($P<0.05$),0.470 mg/mL 处理下平均根直径达到最高,较 CK 上升 67.41%。不同浓度的

Cp2 粉红色素使紫花苜蓿幼苗苗长较 CK 显著升高($P<0.05$)(图2)。

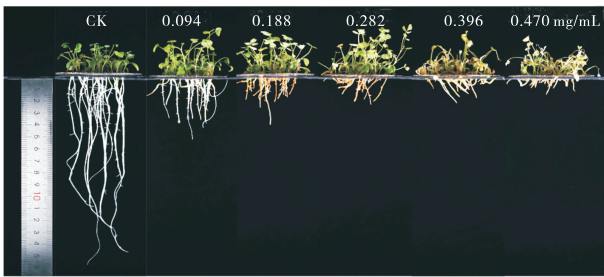


图1 不同浓度 Cp2 粉红色素处理下的紫花苜蓿幼苗形态
Fig.1 Morphology of alfalfa seedlings treated with different concentrations of Cp2 pink pigment

2.2.2 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗鲜重和干重的影响 0.094、0.188 和 0.282 mg/mL 的 Cp2 粉红色素使紫花苜蓿幼苗总鲜重、总干重、地上鲜重及地上干重较 CK 显著增加($P<0.05$),且在 0.282 mg/mL 处理下达到最高,依次比 CK 升高 11.43%、57.34%、

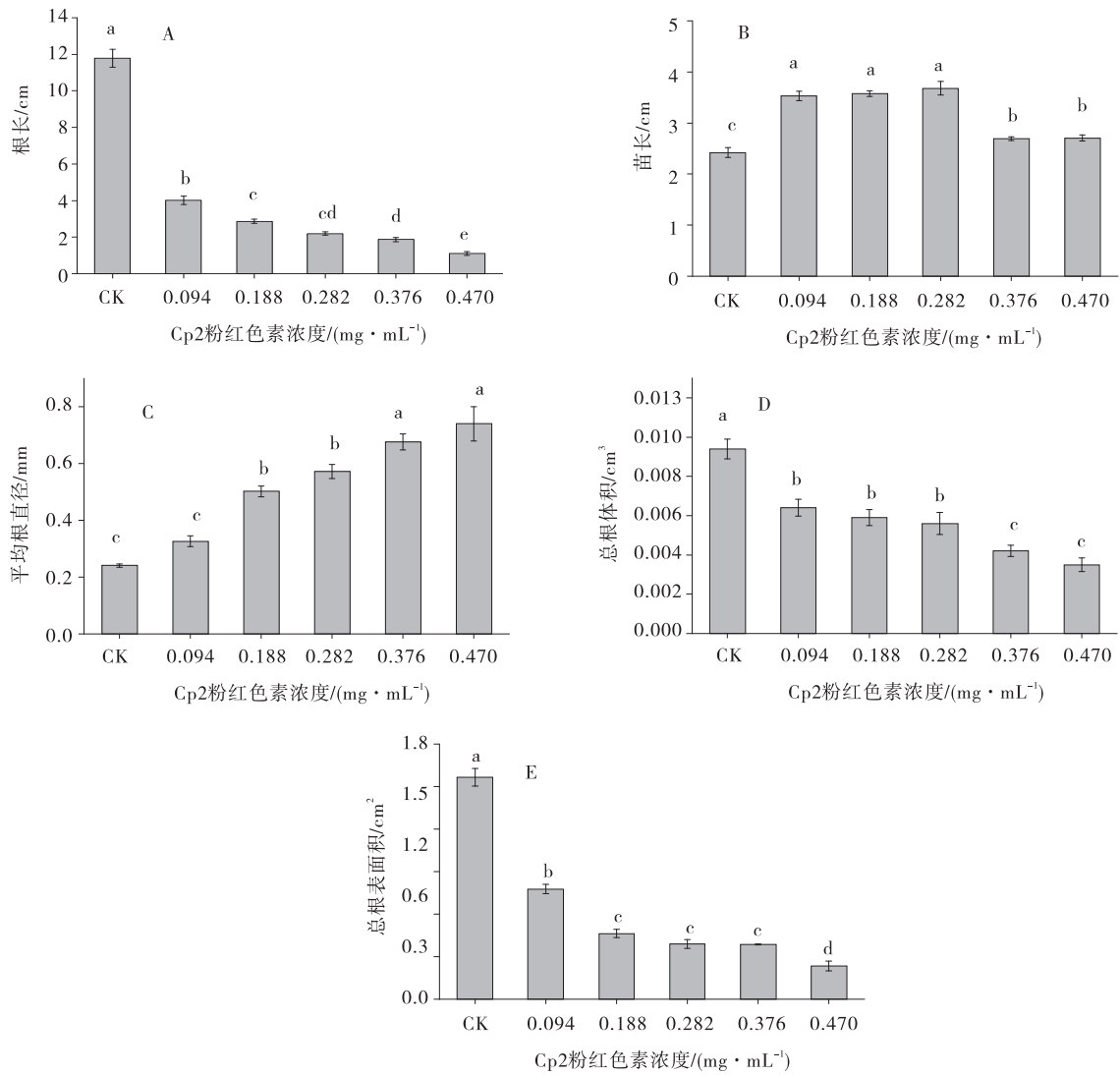


图2 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗根系指标的影响

Fig. 2 Effect of Cp2 pink pigment on Root length, Plant length, Mean root diameter, Total root volume and Total root area of alfalfa seedlings

17.86% 及 71.17%。0.376、0.470 mg/mL 的 Cp2 粉红色素使紫花苜蓿幼苗的总鲜重、总干重、地上鲜重及地上干重较 CK 显著降低 ($P < 0.05$)。0.188~0.470 mg/mL 处理使紫花苜蓿幼苗地下鲜重、干重较 CK 显著降低 ($P < 0.05$), 且在 0.470 mg/mL 处理下降至最低, 地下鲜重、干重依次较 CK 下降 56.45% 及 41.53% (图 3)。

2.2.3 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗叶绿素含量和叶片相对电导率的影响 紫花苜蓿幼苗总叶绿素、叶绿素 a 及叶绿素 b 的含量随 Cp2 粉红色素浓度的增加总体呈现降低趋势, 叶片相对电导率持续升高。Cp2 粉红色素显著降低紫花苜蓿幼苗总叶绿素、叶绿素 a 及叶绿素 b 的含量 ($P < 0.05$), 且在 0.470 mg/mL 处理下达到最低, 依次比 CK 下降 74.22%、68.59% 及

59.35%。Cp2 粉红色素使紫花苜蓿幼苗叶片相对电导率较 CK 显著升高 ($P < 0.05$), 在 0.470 mg/mL 处理下紫花苜蓿幼苗叶片相对电导率达到最高, 比 CK 升高 69.79% (图 4)。

2.3 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗生理指标的影响

2.3.1 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗活性氧水平、抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响 随着 Cp2 粉红色素浓度的升高, 紫花苜蓿幼苗体内 O_2^- 、 H_2O_2 及 MDA 的含量呈上升趋势, 而 SOD 和 CAT 的活性呈持续下降趋势。0.188~0.470 mg/mL 处理使紫花苜蓿幼苗体内 O_2^- 、 H_2O_2 及 MDA 的含量较 CK 显著升高 ($P < 0.05$), 且在 0.470 mg/mL 处理下达到最高, 依次比 CK 上升 101.30%、88.92% 及 47.93%。Cp2 粉红色素使紫花苜蓿幼苗体内 SOD 和 CAT 的活性较 CK 显

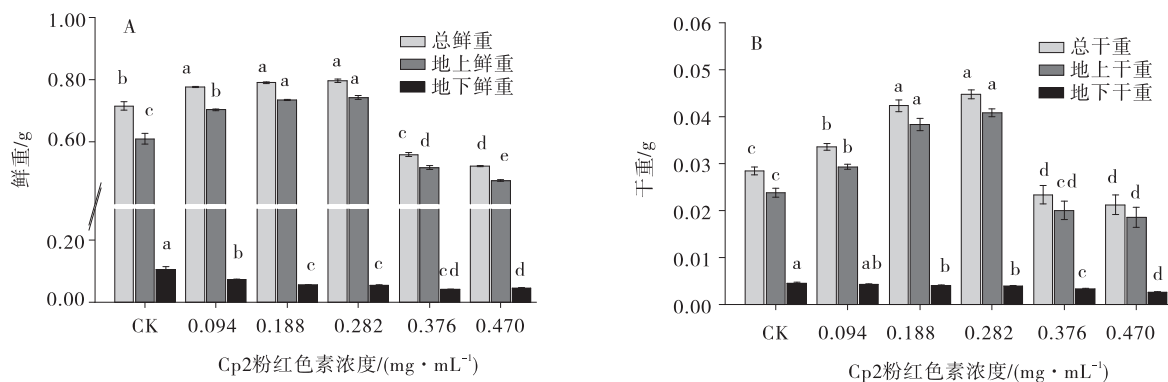


图3 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗鲜重和干重的影响

Fig. 3 Effect of Cp2 pink pigment on Fresh weight and Dry weight of alfalfa seedlings

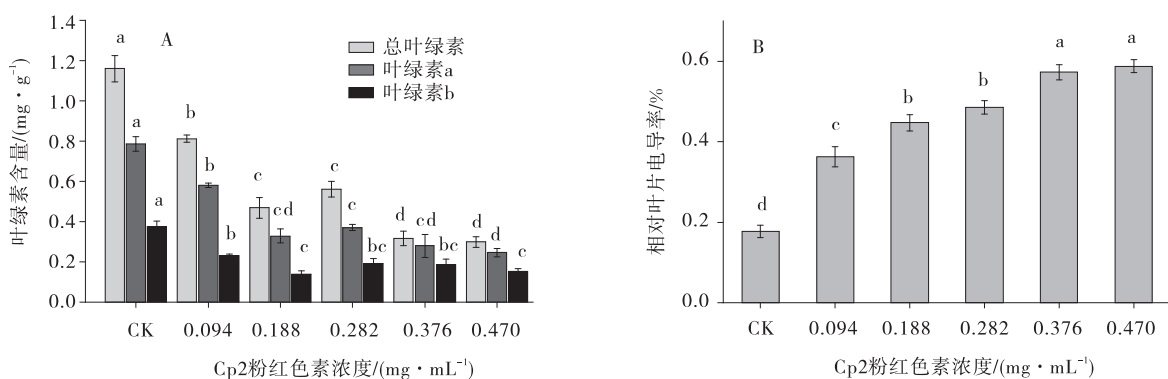


图4 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗叶绿素含量及叶片相对电导率的影响

Fig. 4 Effect of Cp2 pink pigment on Chlorophyll content and Leaf relative conductivity of alfalfa seedlings

著降低($P<0.05$),在0.470 mg/mL处理下降至最低,依次比CK下降46.40%及47.72%(图5)。

2.3.2 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗可溶性蛋白含量的影响 紫花苜蓿幼苗可溶性蛋白含量总体呈现先增加后降低的趋势。0.094、0.188和0.282 mg/mL处理使紫花苜蓿幼苗可溶性蛋白含量较CK显著升高,依次比CK上升13.69%、34.30%、34.58% ($P<0.05$)。0.376和0.470 mg/mL处理使紫花苜蓿幼苗可溶性蛋白含量较CK显著降低,依次比CK下降14.87%、17.73% ($P<0.05$)(图6)。

2.3.3 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗根系活力的影响 Cp2 粉红色素显著抑制紫花苜蓿幼苗的根系活力。随着Cp2 粉红色素浓度的增加,紫花苜蓿幼苗根系活力较CK显著降低,0.094~0.470 mg/mL处理下依次比CK下降69.96%、73.69%、73.33%、83.72%、86.47% ($P<0.05$)。

2.4 紫花苜蓿幼苗各指标间相关性分析和主成分分析

2.4.1 紫花苜蓿幼苗各指标间相关性分析 不同浓

度Cp2 粉红色素处理下的紫花苜蓿幼苗叶片相对电导率和MDA含量同时与平均根直径、 O_2^- 、 H_2O_2 含量之间呈极显著正相关关系($P<0.001$);与根长、地下鲜重、地下干重、根总面积、叶绿素、叶绿素a、SOD和CAT活性之间呈极显著负相关关系($P<0.001$)。该结果表明Cp2 粉红色素使紫花苜蓿幼苗叶片相对电导率和MDA含量上升的同时,紫花苜蓿幼苗的平均根直径、 O_2^- 和 H_2O_2 含量都会极显著增加,而紫花苜蓿幼苗的根长、地下鲜重、地下干重、根总面积、叶绿素、叶绿素a、SOD及CAT的活性都会极显著降低(图8)。

2.4.2 紫花苜蓿幼苗各指标间主成分分析 PC1和PC2的累积贡献率达80.3%,故可以很好的解释各样本的分布情况,基于25个指标间的主成分分析结果,能够将6组处理间的差异表达出来,即紫花苜蓿幼苗在4组Cp2 粉红色素浓度下(CK; 0.094 mg/mL; 0.188、0.282 mg/mL; 0.376、0.470 mg/mL)植株的生长产生了实质性差异。

紫花苜蓿幼苗根系生长相关指标(根长、根总体

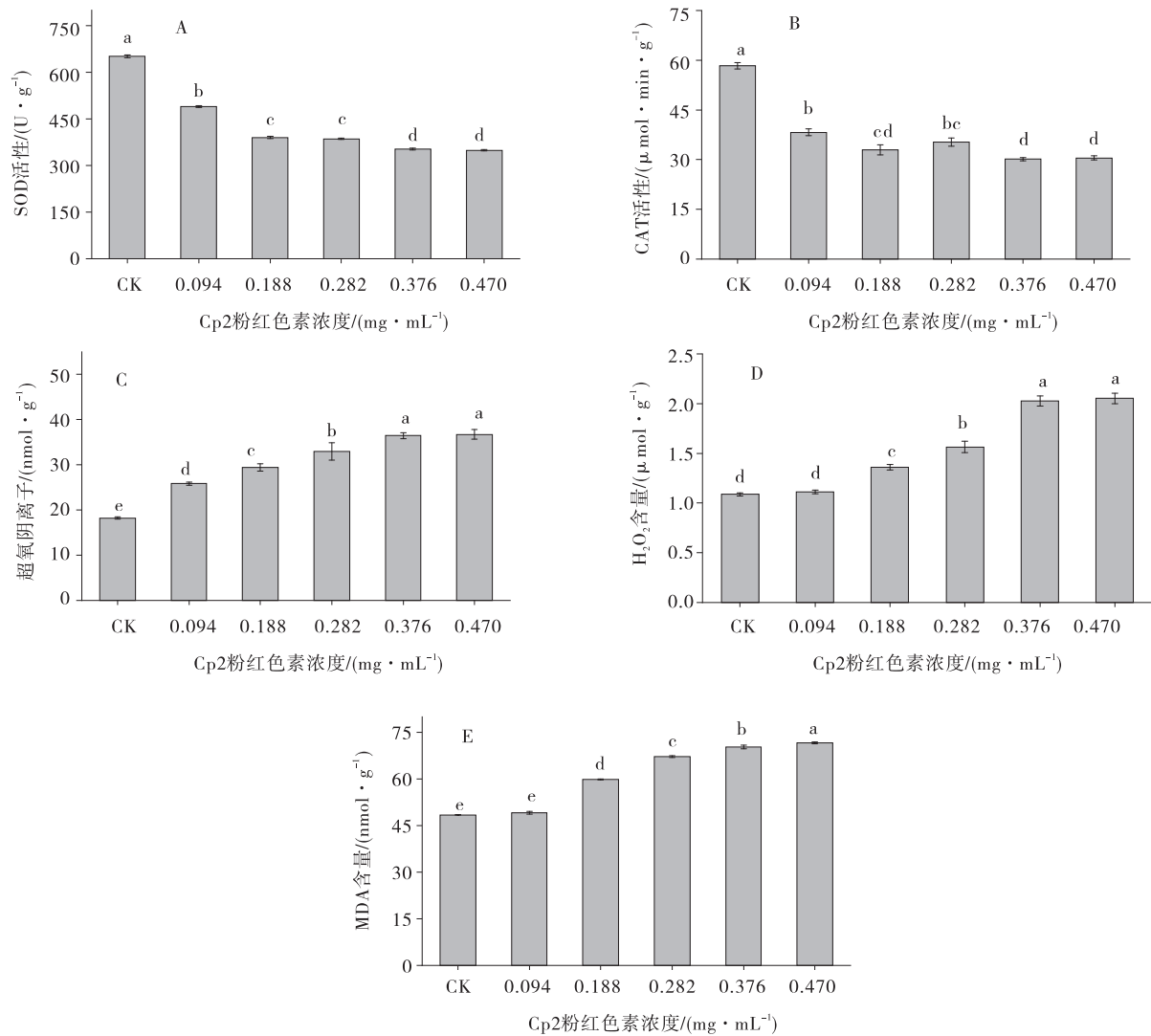
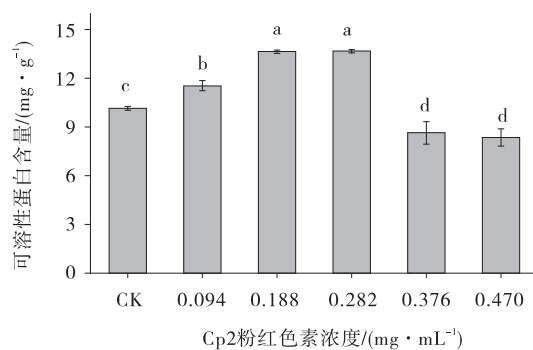
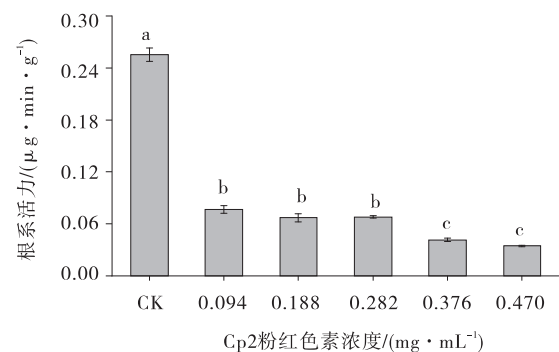


图5 Cp2粉红色素对紫花苜蓿幼苗活性氧水平、抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响

Fig. 5 Effect of Cp2 pink pigment on Active oxygen level, Antioxidant enzyme activity and Malondialdehyde content of alfalfa seedlings

图6 Cp2粉红色素对紫花苜蓿幼苗可溶性蛋白含量的影响
Fig. 6 Effect of Cp2 pink pigment on soluble protein content of alfalfa seedlings图7 Cp2粉红色素对紫花苜蓿幼苗根系活力的影响
Fig. 7 Effect of Cp2 pink pigment on root activity of alfalfa seedlings

积、根总面积、地下鲜重、地下干重、根系活力)、叶绿素含量(叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素)和抗氧化酶活性(SOD、CAT)等 3 个层面的指标在 PC1 上投影较大,

即对 PC1 有较大的贡献,且和 PC1 呈正相关。而紫花苜蓿幼苗叶片相对电导率、植株氧化相关指标(O_2^- 、 H_2O_2 、MDA)、平均根直径等和 PC1 呈负相关(图 9)。

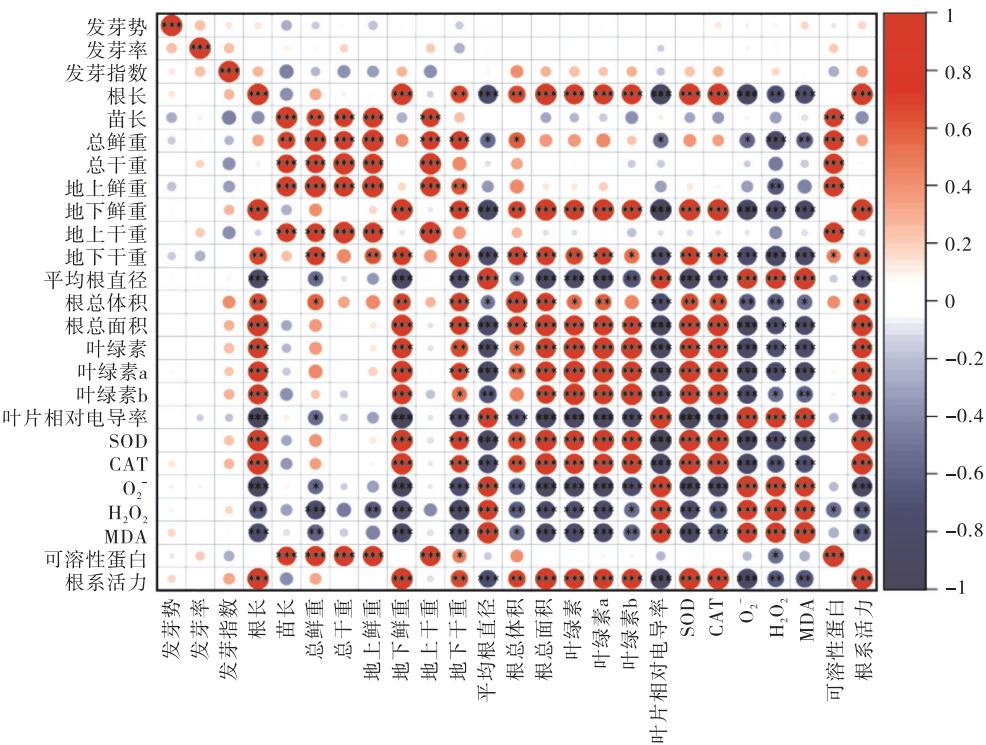


图8 紫花苜蓿幼苗各指标间相关性分析

Fig. 8 Correlation analysis of various indexes of alfalfa seedlings

注：*在 0.05 水平上显著相关；**在 0.01 水平上显著相关；***在 0.001 水平上显著相关。

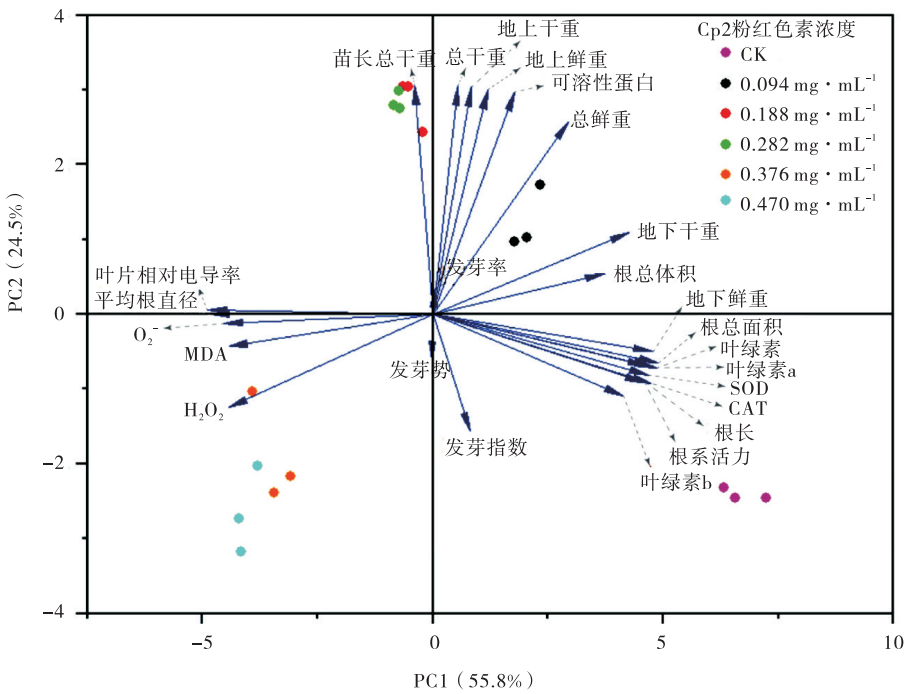


图9 紫花苜蓿幼苗各指标间主成分分析

Fig. 9 Principal component analysis of various indexes of alfalfa seedlings

3 讨论

3.1 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿种子萌发的影响

种子在高等植物生命周期中占据着关键地位,新

个体建立的成功与否取决于种子对环境反应的生理生化特征^[23]。桃色欧文氏菌 Cp2 粉红色素处理过的紫花苜蓿种子的发芽势、发芽率和发芽指数与对照相比差异不显著,该结果表明桃色欧文氏菌 Cp2 粉红色

素对紫花苜蓿种子萌发没有显著影响。这可能是由于种子的萌发过程涉及一系列组织的生理和形态发生过程^[24],而该过程对环境因子的依赖是极为紧密的,温度和水分的可用性显著影响种子萌发阶段降解胚乳储存资源所需的酶活性^[25],环境因子同样影响赤霉素(GA)和脱落酸(ABA)的含量进而控制种子的萌发^[26],桃色欧文氏菌 Cp2 粉红色素在环境因子(温度、光照、水分、氧气等)中的微小作用可能不足以影响紫花苜蓿种子的萌发过程。

3.2 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗生长及生理的影响

欧文氏菌属来源的多数革兰氏阴性细菌是大多数植物中的细菌病原体,它们部署了大量的毒力因子来干扰寄主细胞,细菌利用这些毒力因子逃避、克服或抑制抗病原微生物植物的防御,并引起叶果斑点、枯黄萎蔫、溃疡和腐烂等细菌性病害的特征症状^[27]。本试验以浓度梯度的桃色欧文氏菌 Cp2 粉红色素处理紫花苜蓿,结果表明随着 Cp2 粉红色素浓度的升高,紫花苜蓿幼苗叶片黄化、整株枯萎,这与植物病原细菌造成的病害特征相类似,并且紫花苜蓿幼苗的生长和生理指标同样表明植株的发育受到了抑制。因此,桃色欧文氏菌 Cp2 粉红色素有可能是该病原细菌所产生的潜在毒力因子之一。据 Arrebola 等^[28]的报道,丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)分泌的毒素能够诱导感病植物产生褪绿和黄化症状的发生;据 Hall 等^[29]的报道,铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)产生的吩嗪类物质绿脓菌素是一种重要的毒力因子,一定浓度的绿脓菌素对藻类的生长有抑制作用,并且这种抑制作用随着绿脓菌素浓度的升高而增强^[30];金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)所产金黄色素^[31]对于其致病性既是必要的也是充分的;新生隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)黑色素^[32]的产生提高了它在巨噬细胞包裹下的存活;产紫罗兰素的某种细菌所分泌的紫色素显示出对原生动物的急性毒性以此提高其生存机制^[33]。

通过对不同浓度 Cp2 粉红色素处理下的紫花苜蓿幼苗生长指标的测定,结果表明 Cp2 粉红色素显著抑制紫花苜蓿幼苗根系的发育,使根系向着渐短渐粗的趋势发展。这可能是因为植物病原细菌来源的 Cp2

粉红色素含有部分毒素的性质,它作用于线粒体、质膜等部位,对超微结构造成损坏、改变细胞膜的通透性^[34],因而造成紫花苜蓿幼苗根系发育受阻。紫花苜蓿幼苗地上部分黄化、萎蔫症状的产生也有可能是因为地下部分根系发育受阻间接导致的结果,紫花苜蓿幼苗地上部分光合作用形成的糖类等物质可能无法被根系完全吸收,或因为根系受损因而养分输送不到根系,因此光合作用形成的养分被地上部分所利用进而造就了地上部分苗长和干重的累积;而随着 Cp2 粉红色素浓度的逐渐升高,紫花苜蓿幼苗根系可能失去了运输水分和养分等物质的功能,因此地上部分出现黄化、萎蔫的症状。

通过测定与植物抗逆相关的生理指标,以此探究紫花苜蓿幼苗在 Cp2 粉红色素影响下的生理反应。结果表明 Cp2 粉红色素诱导紫花苜蓿幼苗体内活性氧的升高,并使抗氧化酶的活性显著降低。活性氧(Reactive oxygen species, ROS)能够参与植物细胞的新陈代谢,但是其在植物受到胁迫时的过量生产^[35]可能是紫花苜蓿幼苗体内活性氧迸发的原因。同时,ROS 的过量累积能够对细胞实体(如碳水化合物、脂肪、核酸和蛋白质等)造成光氧化损伤^[36],从而引起植物细胞的氧化应激导致其死亡^[37];ROS 的大量爆发还能对抗氧化防御系统造成严重负担^[38],这可能是紫花苜蓿幼苗体内抗氧化酶活性下降的原因之一。迷人而危险的有色病原体含有独特的化学色素分子,这些分子作为毒力因子对微生物的繁殖和生长提供各种有效的帮助^[39],桃色欧文氏菌 Cp2 粉红色素有可能是该病原细菌产生的潜在毒力因子之一,能够加剧对寄主的侵染过程进而为其生存扩繁给予支持。

4 结论

桃色欧文氏菌 Cp2 粉红色素对紫花苜蓿幼苗的生长具有抑制作用,随着浓度的升高抑制作用增强,同时 Cp2 粉红色素能够引起紫花苜蓿幼苗体内氧化应激并使抗氧化酶的活性显著降低。

参考文献:

- [1] Chen L, Beiyuan J, Hu W, *et al.* Phytoremediation of potentially toxic elements (PTEs) contaminated soils using alfalfa (*Medicago sativa* L.): a comprehensive review[J].

- Chemosphere, 2022, 293: 133—577.
- [2] Bouton J H. An overview of the role of lucerne (*Medicago sativa* L.) in pastoral agriculture[J]. Crop and Pasture Science, 2012, 63(9): 734—738.
- [3] 南志标. 我国的苜蓿病害及其综合防治体系[J]. 动物科学与动物医学, 2001(4): 81—84.
- [4] Adeolu M, Alnajjar S, Naushad S, *et al.* Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘*Enterobacteriales*’: proposal for *Enterobacterales* ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66(12): 5575—5599.
- [5] Zhang Z, Nan Z. *Erwinia persicina*, a possible new necrosis and wilt threat to forage or grain legumes production [J]. European Journal of Plant Pathology, 2014, 139(2): 349—358.
- [6] Gálvez L, Gil—Serna J, García—Díaz M, *et al.* First report of a garlic bulb rot caused by *Erwinia persicina* in Europe[J]. Plant Disease, 2015, 99(5): 723.
- [7] Cho H, Park J Y, Kim Y K, *et al.* Whole—genome sequence of *Erwinia persicina* b64, which causes pink soft rot in onions[J]. Microbiology Resource Announcements, 2019, 8(1): 17—18.
- [8] Yan J J, Lin Z Y, Wang R Q, *et al.* First Report of *Erwinia persicina* causing pink disease in *Flammulina velutipes* (Enoki Mushroom) in China [J]. Plant Disease, 2019, 103(5): 1014.
- [9] Nechwatal J, Theil S. *Erwinia persicina* associated with a pink rot of parsley root in Germany [J]. Journal of Plant Diseases and Protection, 2019, 126(2): 161—167.
- [10] 张振粉. 紫花苜蓿种带细菌及其致病性[D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
- [11] Zhang Y, Liu X, Li X, *et al.* Physicochemical properties and antibiosis activity of the pink pigment of *Erwinia persicina* Cp2[J]. Agriculture, 2022, 12(10): 1641.
- [12] 中华人民共和国国家市场监督管理总局, 中国国家标准化管理委员会. 草种子检验规程—发芽试验 GB/T 2930.4—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [13] 张士敏, 赵骄阳, 朱慧森, 等. 硒对不同品种紫花苜蓿发芽阶段物质转化和形态建成的影响[J]. 草业学报, 2023, 32(4): 79—90.
- [14] 姚博, 张振粉, 师尚礼, 等. 一种植物种子发芽及幼苗胁迫实验装置: CN213368566U[P]. 2021-06-08.
- [15] 陈雅琦, 苏楷淇, 李春杰. 盐胁迫对2种冷季型草坪草幼苗生长和生理特性的影响[J]. 草原与草坪, 2021, 41(3): 32—40.
- [16] 张宏, 黄荣, 姚博, 等. 桃色欧文氏菌 Cp2 脂多糖对紫花苜蓿幼苗生长的影响[J]. 草地学报, 2023, 31(2): 615—622.
- [17] Yu X, Wang T, Zhu M, *et al.* Transcriptome and physiological analyses for revealing genes involved in wheat response to endoplasmic reticulum stress [J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 1—22.
- [18] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都: 四川出版集团, 2003.
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [20] Campion E M, Loughran S T, Walls D. Protein quantitation and analysis of purity [J]. Protein Chromatography: Methods and Protocols, 2011, 681: 229—258.
- [21] Satterfield C N, Bonnell A H. Interferences in titanium sulfate method for hydrogen peroxide [J]. Analytical Chemistry, 1955, 27(7): 1174—1175.
- [22] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990(6): 55—57.
- [23] El—Maarouf—Bouteau H. The seed and the metabolism regulation[J]. Biology, 2022, 11(2): 168—169.
- [24] Khaeim H, Kende Z, Jolánkai M, *et al.* Impact of temperature and water on seed germination and seedling growth of maize (*Zea mays* L.) [J]. Agronomy, 2022, 12(2): 397—398.
- [25] Prerna D I, Govindaraju K, Tamilselvan S, *et al.* Influence of nanoscale micro—nutrient α -Fe₂O₃ on seed germination, seedling growth, translocation, physiological effects and yield of rice (*Oryza sativa*) and maize (*Zea mays*) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 162: 564—580.
- [26] Han C, Yang P. Studies on the molecular mechanisms of seed germination [J]. Proteomics, 2015, 15(10): 1671—1679.
- [27] Prasannath K. Pathogenicity and virulence factors of phyto-bacteria [J]. Scholars Academic Journal of Biosciences,

- 2013,1(1):24—33.
- [28] Arrebola E, Cazorla F M, Perez—García A, *et al.* Chemical and metabolic aspects of antimetabolite toxins produced by *Pseudomonas syringae* pathovars [J]. *Toxins*, 2011,3(9):1089—1110.
- [29] Hall S, McDermott C, Anoopkumar—Dukie S, *et al.* Cellular effects of pyocyanin, a secreted virulence factor of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Toxins*, 2016,8(8):236.
- [30] 李雁宾, 龚良玉, 王修林, 等. 细菌产绿脓菌素对东海原甲藻生长的影响 [J]. *海洋环境科学*, 2005(3):33—36.
- [31] Liu G Y, Essex A, Buchanan J T, *et al.* *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through its antioxidant activity [J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2005, 202 (2) : 209—215.
- [32] Mednick A J, Nosanchuk J D, Casadevall A. Melanization of *Cryptococcus neoformans* affects lung inflammatory responses during cryptococcal infection [J]. *Infection and Immunity*, 2005,73(4):2012—2019.
- [33] Matz C, Deines P, Boenigk J, *et al.* Impact of violacein—producing bacteria on survival and feeding of bacterivorous nanoflagellates [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004,70(3):1593—1599.
- [34] 赵根, 郭璐, 叶建仁, 等. 细菌毒素在植物细菌侵染性病害中的致病作用 [J]. *黑龙江农业科学*, 2018(9) : 151—155.
- [35] Raja V, Majeed U, Kang H, *et al.* Abiotic stress: Interplay between ROS, hormones and MAPKs [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2017,137:142—157.
- [36] Mansoor S, Ali Wani O, Lone J K, *et al.* Reactive oxygen species in plants: from source to sink [J]. *Antioxidants*, 2022,11(2):225.
- [37] Gechev T S, Breusegem F V, Stone J M, *et al.* Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death [J]. *Bioessays*, 2006, 28(11):1091—1101.
- [38] Lamb C, Dixon R A. The oxidative burst in plant disease resistance [J]. *Annual review of plant biology*, 1997, 48 (1):251—275.
- [39] Ni S, Li B, Xu Y, *et al.* Targeting virulence factors as an antimicrobial approach: pigment inhibitors [J]. *Medicinal Research Reviews*, 2020,40(1):293—338.

Effects of pink pigment from *Erwinia persicina* Cp2 on seed germination and seedling growth physiology of *Medicago sativa*

TIAN Wang-jun, HE Lin-xin, CHEN Hai-yan, ZHAO Liang, JIN Zhen-hai,
ZHANG Zhen-fen*

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: 【Objective】 This study investigates the effects of the pink pigment produced by *Erwinia persicina* Cp2 on seed germination and seedling growth physiology in alfalfa (*Medicago sativa* ‘Juneng 551’). 【Method】 Different concentrations of Cp2 pink pigment (0, 0.094, 0.188, 0.282, 0.376, 0.470 mg/mL) were applied to alfalfa seeds, and various indicators related to germination, seedling growth and physiological characteristics were measured. 【Result】 The findings indicate that: 1) Cp2 pink pigment did not significantly affect seed germination. 2) There was a concentration—dependent effect on seedling growth; with the increase of Cp2 pink pigment concentration, symptoms of leaf yellowing and wilting became more pronounced. The root systems of alfalfa seedlings tended to be shorter and

thicker, with significantly lower chlorophyll content compared to the control (CK). The root length and chlorophyll content decreased to their lowest levels, while the relative electrical conductivity of leaves peaked at the 0.470 mg/mL treatment. 3) Compared to the control, Cp2 pink pigment significantly decreased the activities of superoxide dismutase and catalase in alfalfa seedlings. Treatments at concentrations of 0.188~0.470 mg/mL induced significant increases in superoxide anion, hydrogen peroxide, and malondialdehyde levels. 4) Correlation and principal component analysis revealed substantial differences in seedling growth due to different concentrations of Cp2 pink pigment, primarily reflected in the inhibition of root growth, chlorophyll degradation, and reduced antioxidant enzyme activities. **【Conclusion】** In summary, the pink pigment secreted by *Erwinia persicina* Cp2 significantly inhibits the growth and development of alfalfa seedlings. These results provide a theoretical foundation for understanding the pathogenic mechanism of *Erwinia persicina* Cp2 and for developing control strategies against bacterial disease in alfalfa.

Key words: *Medicago sativa*; seed germination; seedling growth; correlation analysis; principal component analysis

(责任编辑:靳奇峰)