

熊 岫, 杨宏仙, 涂 敏, 等. 马铃薯薯皮响应疮痂链霉菌感染的代谢组学分析及代谢产物抑菌研究[J]. 江苏农业科学, 2025, 53(6): 136–144.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.06.017

马铃薯薯皮响应疮痂链霉菌感染的代谢组学分析及代谢产物抑菌研究

熊 岫¹, 杨宏仙¹, 涂 敏³, 蔡海滨³, 张红骥², 于德才¹

(1. 云南农业大学植物保护学院, 云南昆明 650201; 2. 云南农业大学园林园艺学院/云南省蔬菜生物学重点实验室, 云南昆明 650201;
3. 中国热带农业科学院橡胶研究所, 海南海口 571101)

摘要:为探究疮痂链霉菌感染后马铃薯薯皮代谢物的表达差异及差异代谢物对疮痂链霉菌的抑菌作用,以马铃薯薯皮为材料,利用非靶向代谢组学分析马铃薯薯皮在疮痂链霉菌感染(PC)与未感染(CK)处理下代谢产物积累变化,同时结合抑菌试验,明确差异代谢物对疮痂链霉菌的抑菌效果。结果显示,致病链霉菌感染马铃薯后马铃薯薯皮代谢物产生显著变化,585 个差异代谢物显著上调,111 个显著下调,差异代谢物显著富集在嘧啶代谢、核苷酸代谢、酪氨酸代谢、氨酰-tRNA 生物合成和花色苷生物合成等代谢通路;抑菌试验结果表明,代谢物香豆素-3-羧酸和谷胱甘肽(还原型)对疮痂链霉菌具有明显的抑菌效果,代谢物浓度在 1 000 mg/L 时,代谢物对疮痂链霉菌的抑制效果最好,抑制率分别为 69.48%、60.93%。本研究阐释了马铃薯薯皮响应疮痂链霉菌感染的代谢变化,为探索马铃薯与疮痂链霉菌的互作机制提供依据,且筛选的马铃薯薯皮代谢物香豆素-3-羧酸和谷胱甘肽(还原型)可为马铃薯疮痂病植物源农药的研发提供参考。

关键词:疮痂链霉菌;马铃薯疮痂病;代谢组;差异代谢物;抑菌效果

中图分类号:S435.32 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)06-0136-09

作为马铃薯第四大病害的马铃薯疮痂病普遍流行,且逐年有加重的趋势^[1-2],在我国部分地区发

病率甚至高达 90%^[3],制约了我国马铃薯产业发展。疮痂链霉菌的 thaxtomins 致病岛(pathogenicity island, PAI)能在其他菌属中水平转移产生新致病种^[4],并且该病原菌可在土壤中存活多年,使得该病害较难防治。目前,化学药剂防治是最常用的,但会破坏环境,增强病菌抗药性。近年来,植物源农药由于对环境污染程度低,且不易产生抗药性,已成为病害防治的重要研究方向^[5]。杨帅等研究发现,植物源农药丁子香酚和苦参碱对马铃薯黑痣病菌和早疫病菌具有较好的抑制效果^[6]。彭静文等研究发现,植物源农药 5% 香芹酚水剂(AS)对马

收稿日期:2024-03-12

项目基金:国家自然科学基金(编号:32260718);海南省重点研发计划(编号:ZDYF2021XDNY291);云南省蔬菜生物学重点实验室建设项目(编号:202402AN360008);山西省马铃薯种业创新良种联合攻关项目(编号:YZGG05)。

作者简介:熊 岫(1998—),女,云南丽江人,硕士研究生,主要从事植物病理学研究。E-mail:298433027@qq.com。

通信作者:于德才,博士,副研究员,主要从事马铃薯有害生物防治研究,E-mail:yudecai111@163.com;张红骥,博士,研究员,主要从事马铃薯疮痂病病害研究,E-mail:zhanghongji111@163.com。

[16] Chen J, Li G H, Du Z Y, et al. Mapping of QTL conferring resistance to sharp eyespot (*Rhizoctonia cerealis*) in bread wheat at the adult plant growth stage[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 126(11): 2865–2878.

[17] 吴旭江, 刘业宇, 寿路路, 等. 小麦纹枯病抗性与农艺性状的相关分析[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2017, 38(4): 62–67.

[18] 冯雅岚, 熊 瑛, 张 均, 等. TCP 转录因子在植物发育和生物胁迫响应中的作用[J]. 植物生理学报, 2018, 54(5): 709–717.

[19] Hossain M K, Jena K K, Bhuiyan M A R, et al. Association between QTLs and morphological traits toward sheath blight resistance in rice

(*Oryza sativa* L.) [J]. Breeding Science, 2016, 66(4): 613–626.

[20] Zuo S M, Zhang Y F, Yin Y J, et al. Fine-mapping of qSB-9TQ, a gene conferring major quantitative resistance to rice sheath blight [J]. Molecular Breeding, 2014, 34(4): 2191–2203.

[21] Gervais L, Dedryver F, Morlais J Y, et al. Mapping of quantitative trait loci for field resistance to *Fusarium* head blight in an European winter wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2003, 106(6): 961–970.

[22] 张浩祯. 小麦株高基因 *TaPI4KA* 的分离与功能验证[D]. 泰安: 山东农业大学, 2023.

铃薯腐烂茎线虫具有很好的防治效果^[7]。刘甜甜等的研究表明,山苍子油对马铃薯晚疫病菌具有明显的抑制效果^[8]。由此可见,植物源农药在马铃薯病虫害的防治上具有广泛的应用前景。

在病原菌侵染时,植物会通过多种防御途径来进行自我保护^[9]。研究表明,植物在受到病原物侵染时能够合成大量代谢物质来抵御其侵害^[10]。张玉芝利用代谢组学筛选大丽轮枝菌感染棉花后产生的差异代谢物能明显抑制大丽轮枝菌的生长^[11]。张成省研究发现,黑胫病菌侵染烟草后产生的差异代谢物中对羟基苯甲酸、4-叔丁基苯酚、丁香酚、邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯、酒石酸、阿魏酸和月桂酸对黑胫病菌具有较强的抑菌活性^[12]。而在马铃薯中致病链霉菌只侵染马铃薯薯皮,在其侵染过程中薯皮的代谢物质会产生更加显著的变化,这些代谢物质可为马铃薯疮痂病的植物源农药研发提供参考。因此,本研究利用代谢组学技术,探明致病链霉菌侵染对马铃薯薯皮代谢物的影响,明确相关代谢物对疮痂链霉菌的抑菌效果,为全面解析马铃薯对疮痂链霉菌侵染的响应机制提供科学依据和理论指导,同时也为抗马铃薯疮痂病的植物源农药开发提供基础理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试马铃薯材料和供试菌株

丽薯六号马铃薯和疮痂链霉菌(*S. scabies*)均由云南农业大学马铃薯有害生物生态治理课题组提供。

1.2 供试培养基

燕麦培养基:燕麦(20 g)、琼脂(18 g)、蒸馏水 1 000 mL;

高氏一号培养基:可溶性淀粉(20 g)、KNO₃(1 g)、K₂HPO₄(0.5 g)、MgSO₄·7H₂O(0.5 g)、NaCl(0.5 g)、FeSO₄·7H₂O(0.01 g),蒸馏水 1 000 mL,pH 值为 7.4~7.6。

1.3 病原菌接种及病害调查

试验于 2023 年 1—6 月在西南生物多样性中心马铃薯有害生物生态治理实验室内进行。供试菌株 *S. scabies* 在燕麦培养基中 28 ℃ 黑暗培养 2 周后,向培养皿中加入适量的无菌蒸馏水,制成孢子悬浮液,孢子悬浮液混合后搅拌均匀,在显微镜下借助血球计数板调整孢子悬浮液的浓度,将孢子悬浮液直接接种在灭菌的盆栽中,使接种后的浓度为

10⁷ CFU/mL,对照的基质中混入等量的无菌水。所有盆栽白天平均温度控制在 24 ℃ 左右,晚间平均温度控制在 16~18 ℃。

收获后对所有薯块进行病害调查,马铃薯发病程度调查标准见表 1,计算病情指数:

病情指数 = (各病级块茎数 × 该病级数代表值) / (调查个体总和 × 最高病级数) × 100%。

表 1 马铃薯疮痂病分级标准

病级	病斑面积等级	病斑深度等级
0 级	无病斑	无病斑
1 级	病斑面积占整个薯块的 5% 以下	平状病斑
2 级	病斑面积占整个薯块的 6%~25%	病斑深度 1~2 mm 或凸状病斑
3 级	病斑面积占整个薯块的 26%~50%	病斑深度 2~3 mm
4 级	病斑面积占整个薯块的 51% 以上	病斑深度大于 3 mm

1.4 代谢组样品收集和检测

1.4.1 代谢组样品收集 马铃薯收获期采样,用双头刀片取下马铃薯薯皮,并快速置于液氮中进行速冻,-80 ℃ 保存备用。在冻干机中冷冻干燥,再用研磨仪研磨至粉末状,过滤样品,用于后续分析。

1.4.2 代谢组样品检测 使用超高效液相色谱(UPLC)和串联质谱(MS/MS)进行数据采集。

1.5 平板抑菌试验

采用牛津杯法对 3 种代谢物进行抑菌试验。在燕麦培养基上接种 200 μL 1 × 10⁶ CFU/mL 疮痂链霉菌菌液并涂抹均匀,在培养基中央均为 1 个直径 7.8 mm 的牛津杯,向牛津杯中滴加对应浓度的代谢物 100 μL,对照组为等量无菌水,重复 3 次。28 ℃ 培养 3 d,对菌圈直径进行调查并记录,抑制率计算公式如下:

抑制率 = (处理组抑菌直径 - 对照组抑菌直径) / 处理组抑菌直径 × 100%。

1.6 生长曲线测定

调整培养基内疮痂链霉菌浓度(1 × 10⁶ ~ 1 × 10⁷ CFU/mL),分别加入 10、100、1 000 mg/L 的代谢物,空白对照则加入等体积无菌水。28 ℃ 培养,每 12 h 取出 1 mL 菌液,测定菌液浓度,绘制生长曲线。

1.7 数据分析

利用 R (ComplexHeatmap) 2.8.0 制作相关图片;利用 SPSS 17.0 对抑菌活性相关试验数据进行分析;利用 GraphPad Prism 9.0 进行生长曲线作图。

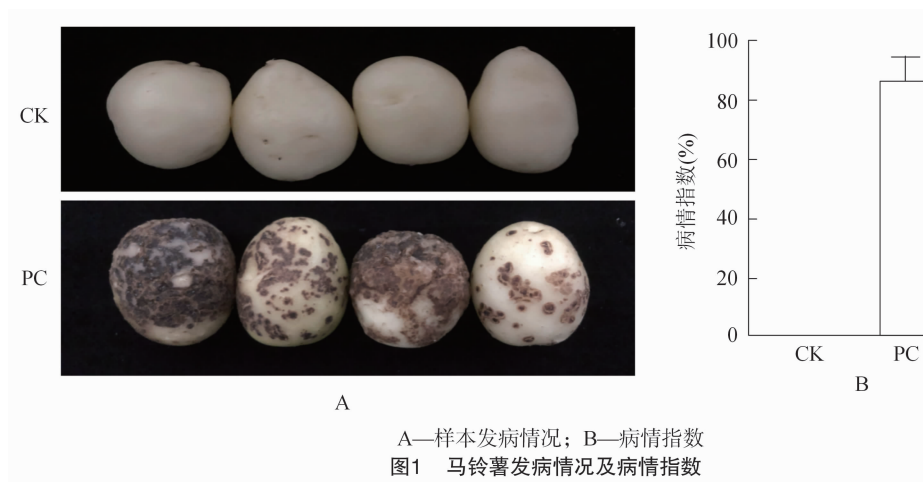
2 结果与分析

2.1 马铃薯发病情况

马铃薯接种疮痂链霉菌 45 d 后,马铃薯薯皮部

位出现病斑,呈褐色或者深褐色(图 1),并且发病严重的马铃薯薯皮上的多个病斑连成一片。对照组

无病斑出现,表皮健康光滑。经计算,疮痂链霉菌接种组(PC)的病情指数为 87%。

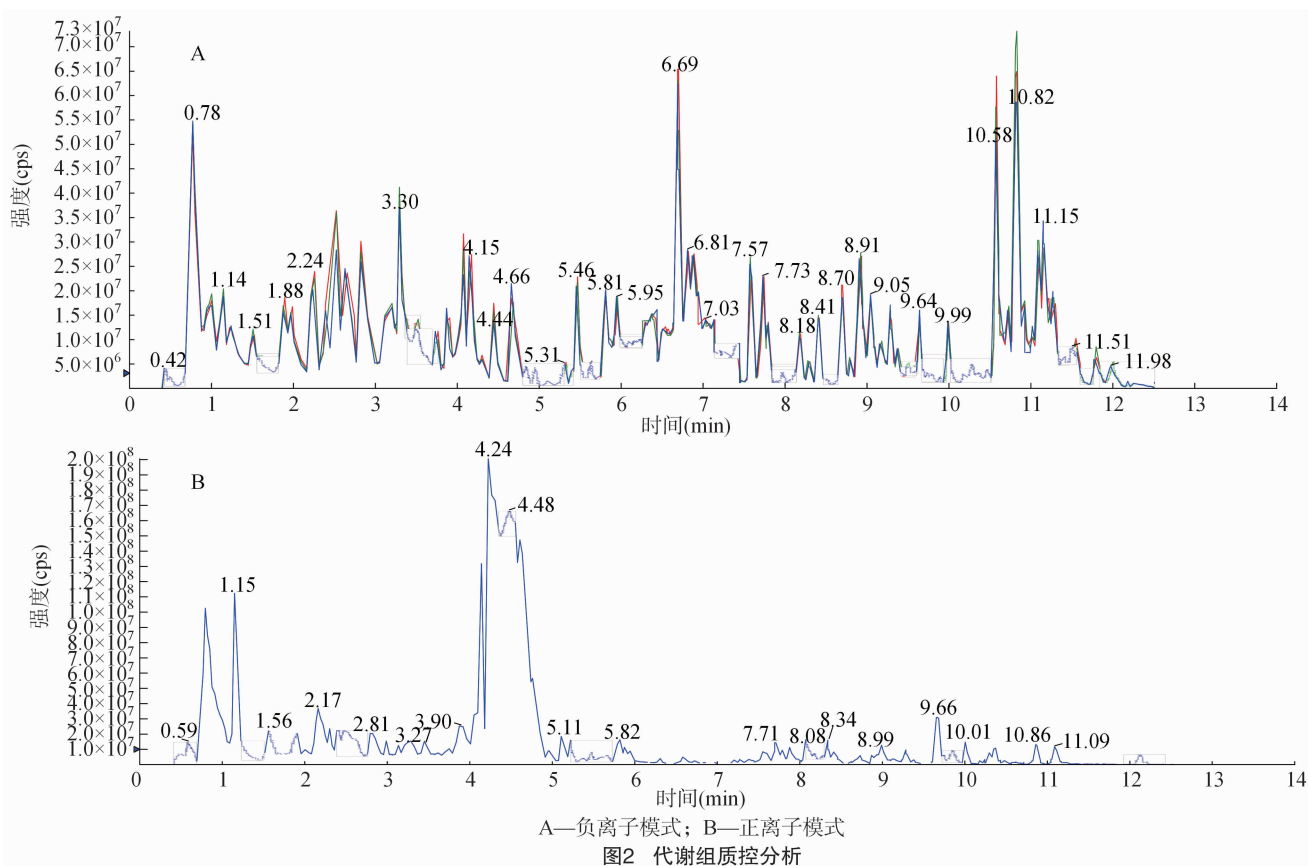


A—样本发病情况; B—病情指数
图1 马铃薯发病情况及病情指数

2.2 代谢组学分析

2.2.1 代谢组质控分析 总离子流色谱图(total ion current,简称 TIC)显示(图 2 - A、图 2 - B),样

品的谱峰保留时间及相应强度具有很好的重现性,说明整个试验操作和方法具有较高可靠性。

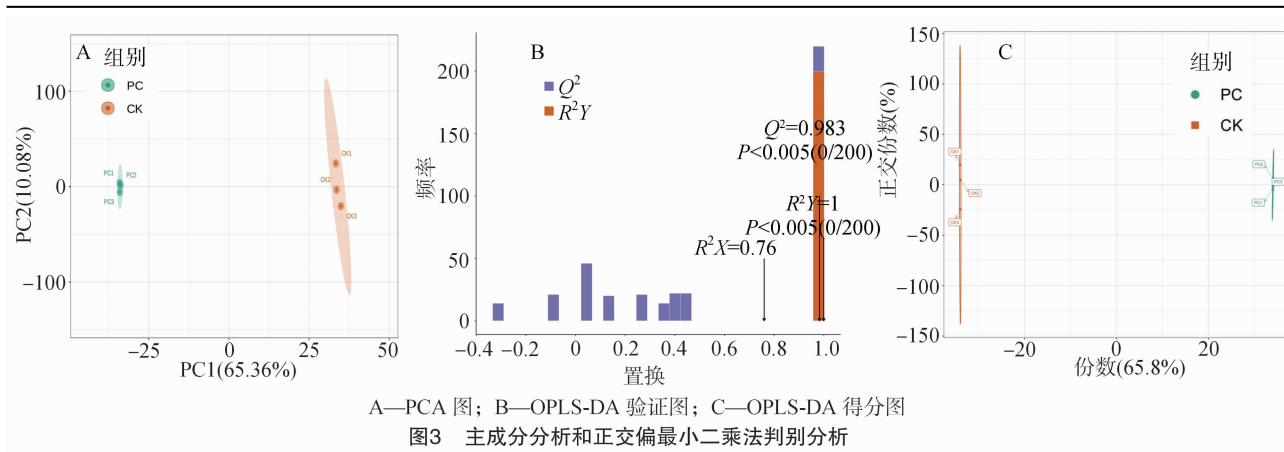


A—负离子模式; B—正离子模式
图2 代谢组质控分析

2.2.2 多元统计分析 采用多元统计分析方法对疮痂链霉菌侵染后的马铃薯薯皮次生代谢产物进行评价。主成分分析显示(图 3 - A),3 个重复的数据点紧密地分组或重叠,具有良好的重复性,PC1、PC2 分别为 57.36%、9.14%,组间样本呈分离趋

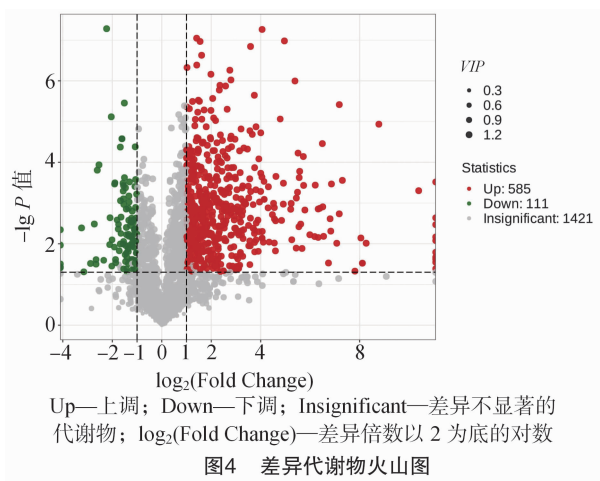
势,说明 2 组样本代谢物存在较大的差异。

采用 OPLS - DA 模型对差异代谢物进行统计分析,由图 3 - B 可知,原模型符合样本数据真实情况,可解释 2 组样本间的差异。OPLS - DA 评分图(图 3 - C)中,3 个重复分散在 y 轴上,说明了组内



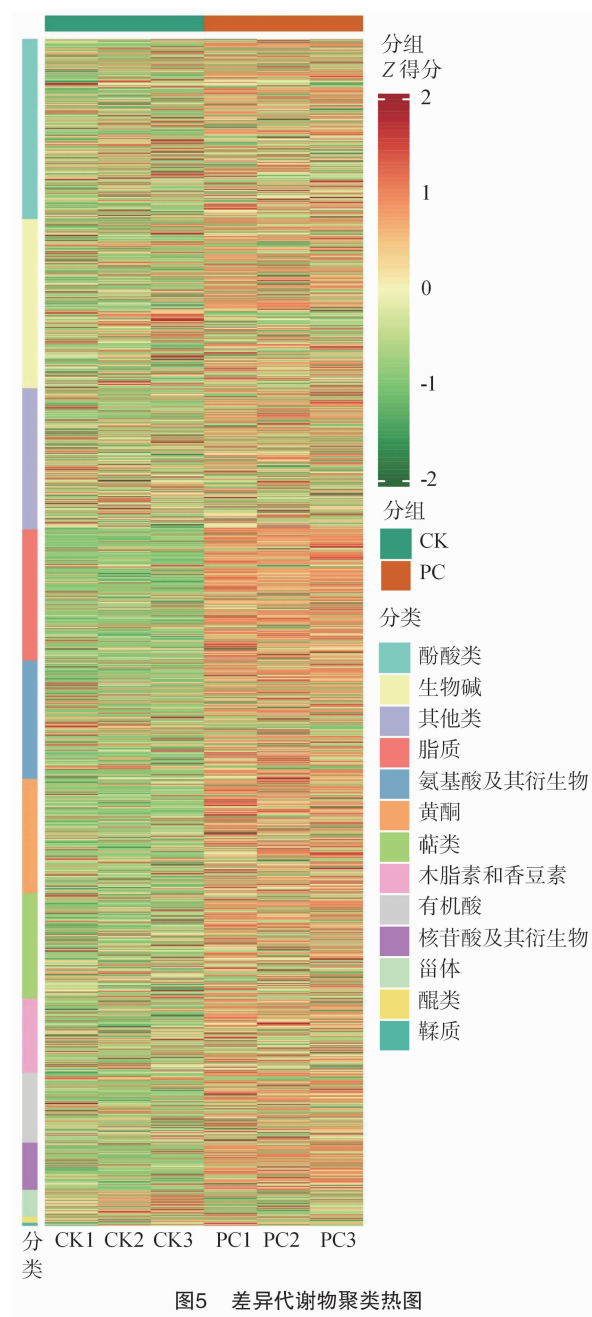
变异性,并且2组样品在 x 轴上有很大的变异性,进一步表明2组间的代谢物存在较大的差异。

2.2.3 差异代谢物筛选 根据 OPLS-DA 模型的 VIP 得分、FC 和 P 值 ($VIP > 1$, $FC \geq 2$ 和 $FC \leq 0.5$ 且 $P < 0.05$) 来筛选马铃薯疮痂病发生过程中的差异代谢物,共筛选到 696 个差异代谢物,其中 585 个差异代谢物显著上调,111 个差异代谢物显著下调(图4)。



对差异代谢物进行层次聚类,结果(图5)显示差异代谢物主要为酚酸类、氨基酸及其衍生物、脂质、生物碱、黄酮、萜类化合物、核苷酸及其衍生物、木脂素和香豆素、有机酸、醌类、鞣类等类别。

2.2.4 差异代谢物通路分析 进行 KEGG 富集分析(图6),筛选出 5 条差异显著的代谢通路(筛选条件:富集因子 > 0.1 , $P < 0.05$),分别为嘧啶代谢(pyrimidine metabolism)、核苷酸代谢(nucleotide metabolism)、酪氨酸代谢(tyrosine metabolism)、氨酰-tRNA 生物合成(aminoacyl-tRNA biosynthesis)和花色素苷生物合成(anthocyanin biosynthesis)。这些通路可能是马铃薯响应疮痂链霉菌感染的关键通路,对代谢通路中的所有差异代谢物进行聚类分



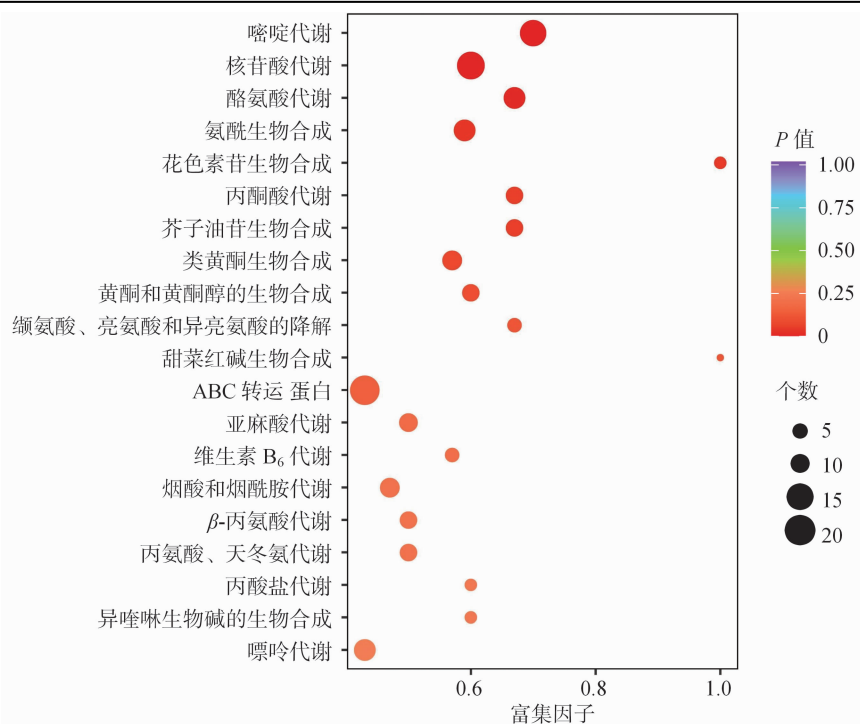


图6 差异代谢物 KEGG 富集图

析(通路中差异代谢物小于 5 个的未聚类展示)(图 7),结果表明,嘧啶代谢途径中胸苷、丙二酸、3-羟基丙酸、胞嘧啶、5,6-二氢尿嘧啶、胸腺嘧啶、尿苷 5'-单磷酸、尿嘧啶核苷、甲基丙二酸、 β -假尿苷、2-脱氧胞苷和 2-脱氧核糖-1-磷酸,酪氨酸代谢途径中 *L*-酪氨酸,氨酰-tRNA 生物合成途径中 10-甲酰四氢叶酸以及核苷酸代谢途径中 *L*-谷氨酰胺和腺苷-5'-单磷酸等在致病链霉菌感染后上调。

2.2.5 抗病相关代谢物筛选 根据差异代谢物差异倍数(fold change,简称 FC)大小进行排列,筛选出上调前 10 位的代谢物(图 8-A),选择其中的谷胱甘肽(还原型)(图 8-B)和香豆素-3-羧酸(图 8-C)进行进一步抑菌研究。

2.3 代谢产物抑菌分析

2.3.1 代谢物对疮痂链霉菌的抑制效果 将筛选出的差异代谢物进行疮痂链霉菌抑菌试验,发现香豆素-3-羧酸和谷胱甘肽(还原型)对疮痂链霉菌具有明显的抑制效果(图 9),且抑制效果与代谢物浓度相关,代谢物浓度在 10、100 mg/L 时抑菌圈不明显,在 1 000 mg/L 时,抑菌圈明显,且在该浓度下 2 种代谢物对疮痂链霉菌的抑制率分别为 69.48%、60.93%(表 2),说明代谢物浓度在 1 000 mg/L 时对疮痂链霉菌的抑制效果最好。

2.3.2 疮痂链霉菌的生长曲线 疮痂链霉菌在 2 种代谢物的处理下生长曲线见图 10。由图 10 可知,对照组(CK)的菌落数量升高速度最快,2 种代谢物浓度在 1 000 mg/L 时菌落数量升高速度最慢,到达峰值后开始变得平缓并且逐渐下降,2 种代谢物对疮痂链霉菌生长曲线的影响趋势与平板试验结果一致。

3 讨论

植物感染病原物后启动防御反应^[13],活性氧(ROS)积累过量,对植物产生毒害,因此植物也会增强抗氧化系统来有效提高植物的抗性^[14-15]。研究表明,花色素苷类色素具有抗氧化作用^[16],并且还能抑制活性氧的传播^[17],在本研究中,疮痂链霉菌侵染马铃薯薯皮后花色素苷生物合成通路中的矢车菊素-3-O-芸香糖苷和天竺葵素-3-O-芸香糖苷等花青素类差异代谢物显著上调。因此,本研究认为花色素苷生物合成通路是马铃薯响应疮痂链霉菌侵染的重要通路。

在本研究中,疮痂链霉菌侵染马铃薯薯皮后香豆素-3-羧酸显著上调,香豆素-3-羧酸是合成香豆素和其他香豆素衍生物的重要前体,也是重要的香豆素衍生物^[18],研究表明香豆素化合物可清除活性氧保护植物^[19]。Fernández 等研究发现,羟化

香豆酸类化合物能抑制革兰氏阳性菌^[20]。此外,疮痂链霉菌侵染马铃薯薯皮后谷胱甘肽(还原型)也显著上调,谷胱甘肽有还原型(GSH)和氧化型

(GSSG),生理条件下 GSH 为主^[21],谷胱甘肽是谷氧还蛋白系统的重要组成部分之一^[22],谷氧还蛋白系统是植物体内氧化还原系统的主要组成部分之一,在

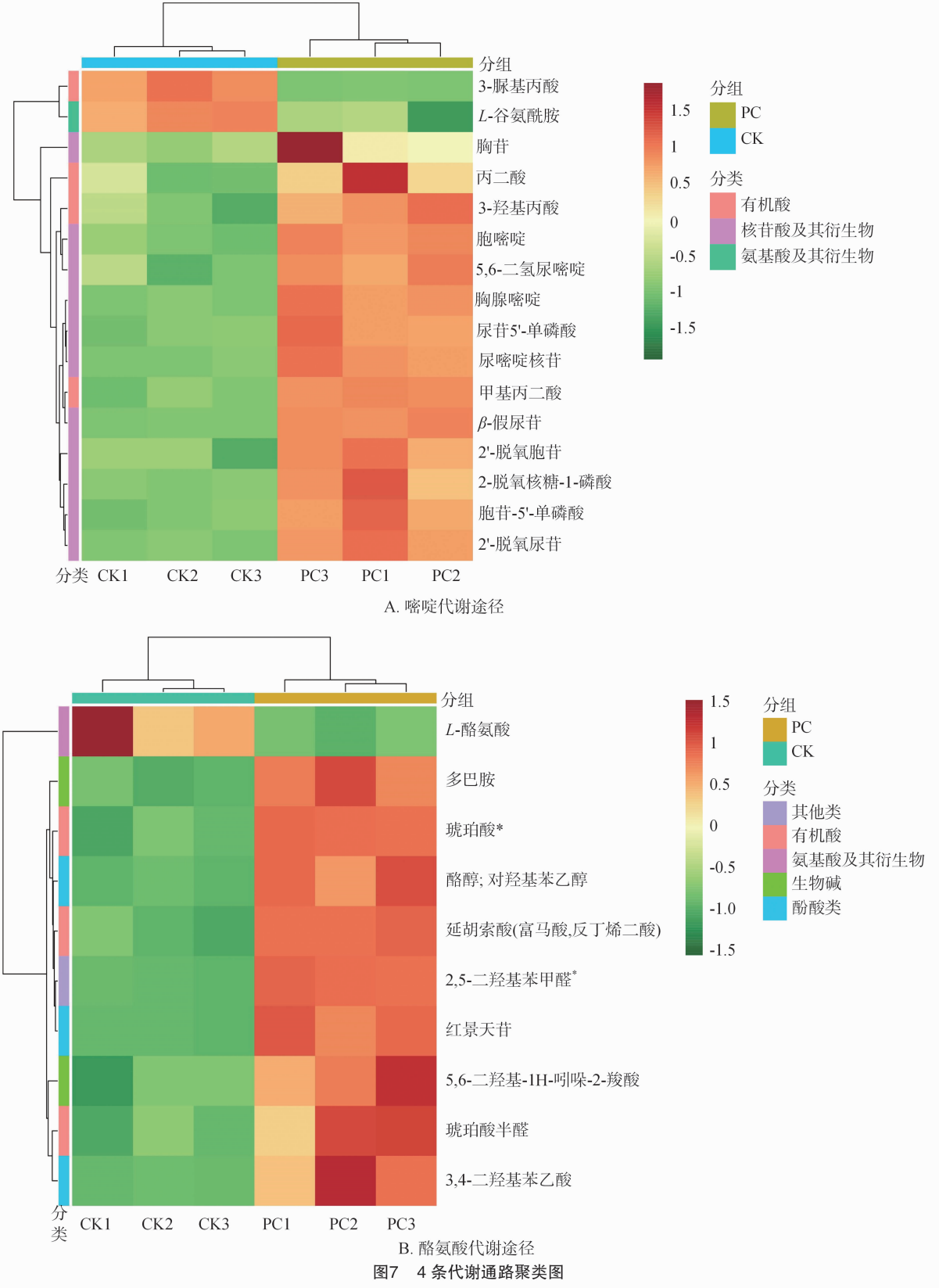
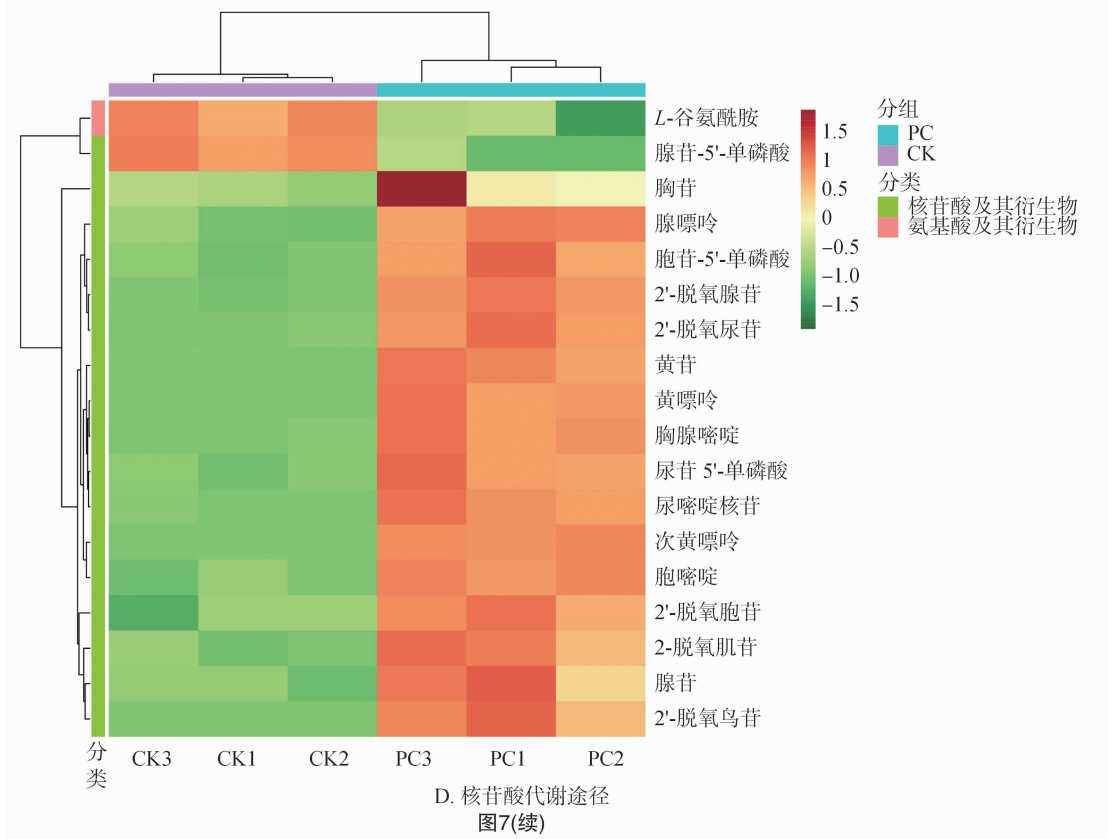
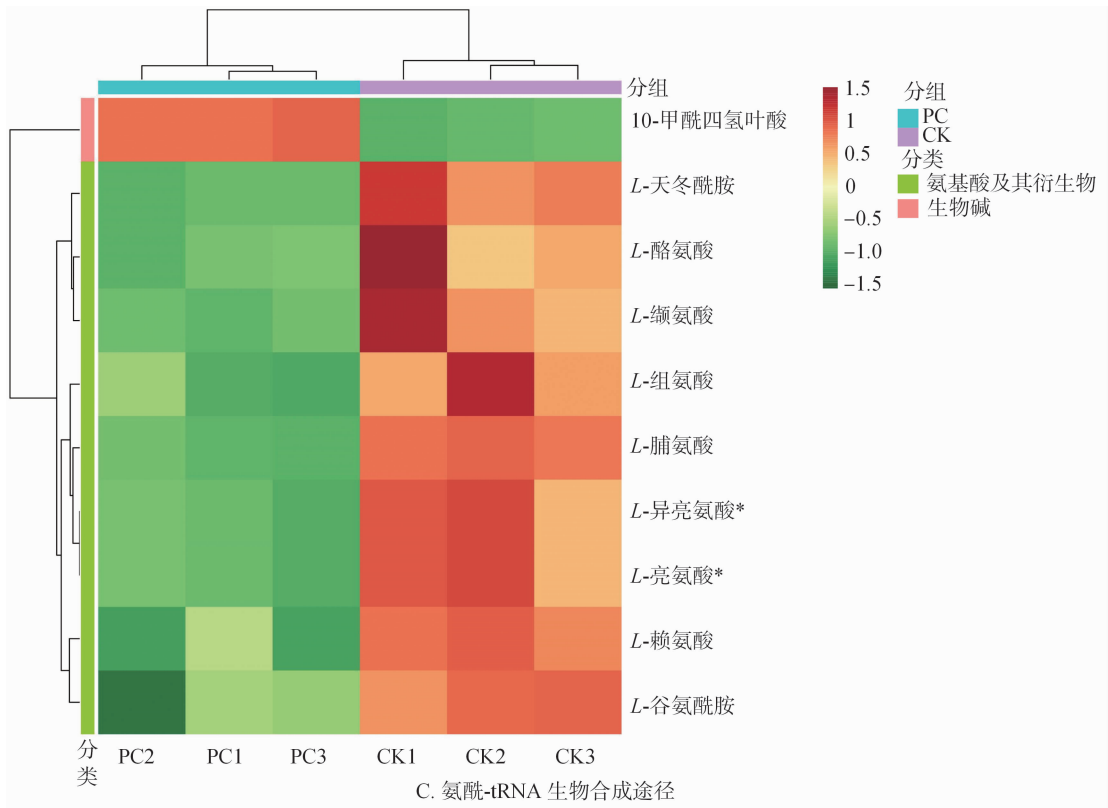


图7 4条代谢通路聚类图



植物抗氧化过程中具有重要作用^[23]。研究表明,谷胱甘肽参与了植物生物和非生物胁迫^[24]。Hiruma 等的研究表明,GSH 与拟南芥对炭疽菌的抗性相

关^[25];Kovacs 等研究发现,增加 GSH 浓度可提高拟南芥对丁香假单胞菌的抗性^[26]。因此,本研究认为香豆素-3-羧酸和谷胱甘肽(还原型)是马铃薯响

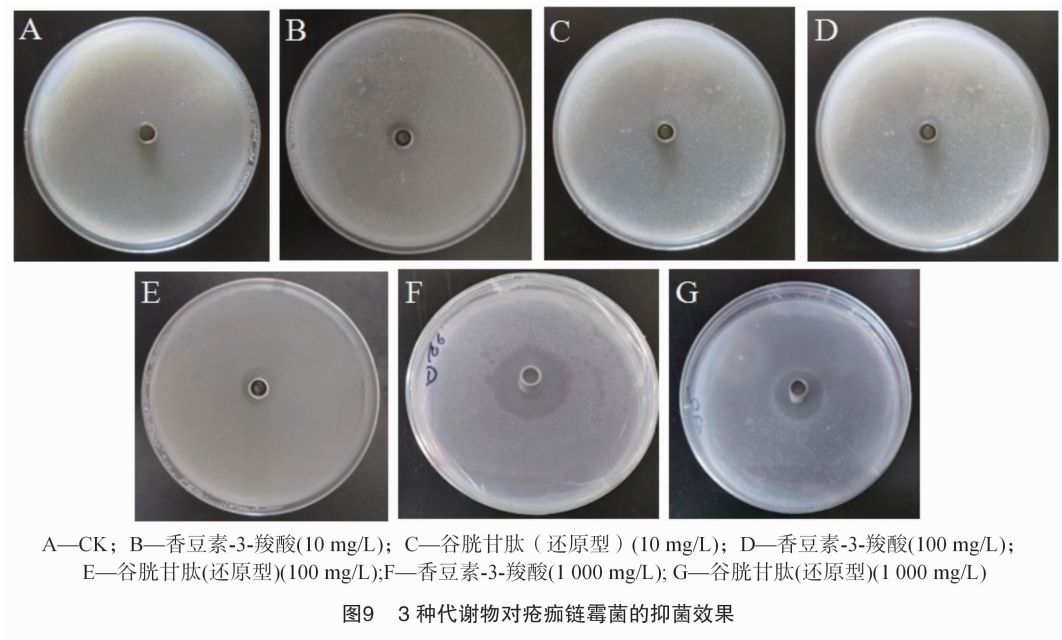
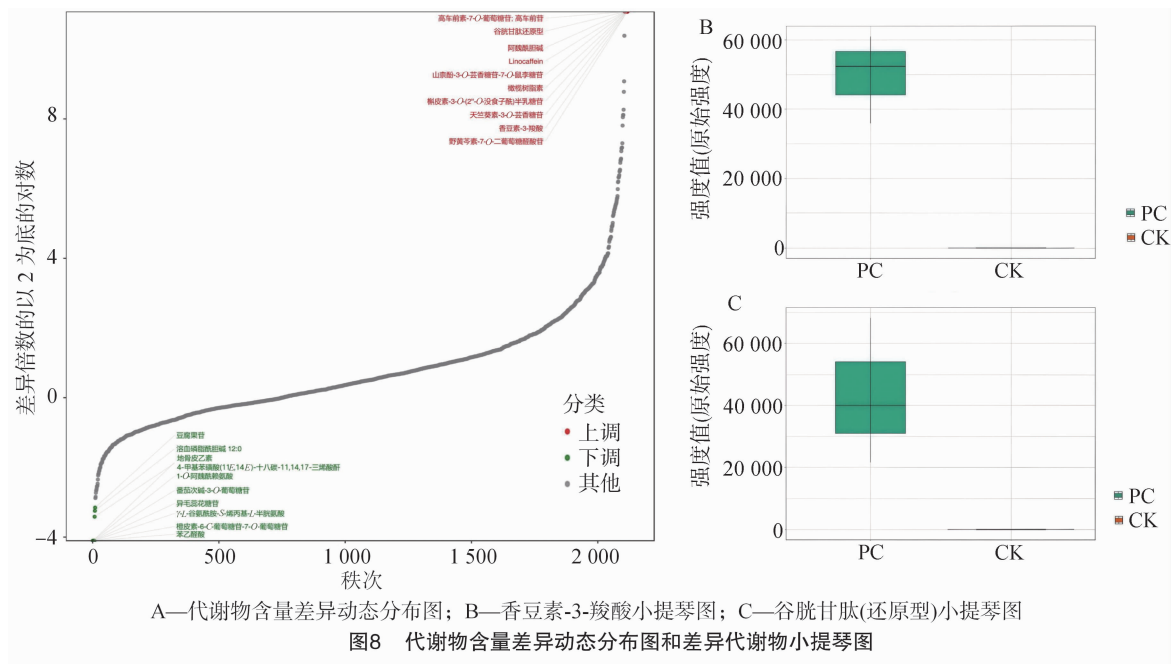


表 2 3 种代谢物对疮痂链霉菌的抑菌作用

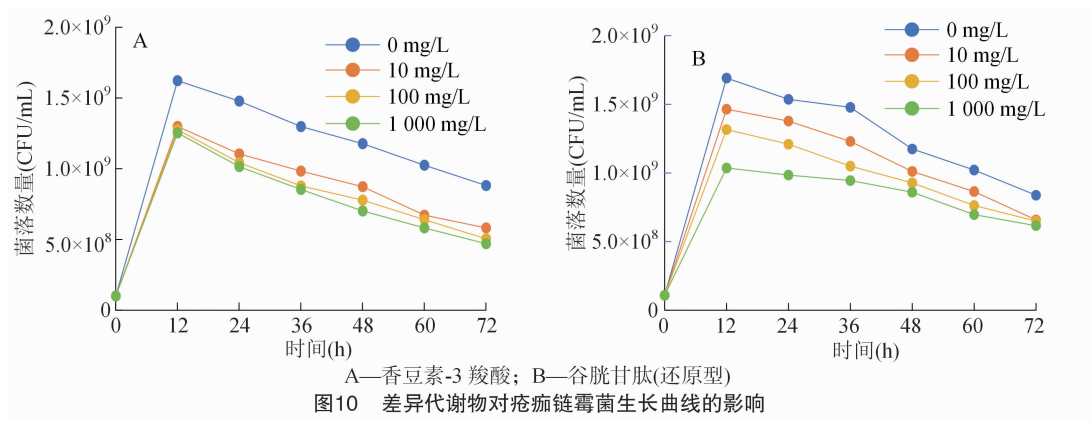
代谢物	浓度 (mg/L)	抑菌圈直径 (mm)	抑制率 (%)
香豆素-3-羧酸	0 (CK)	7.80c	—
	10	10.33 ± 0.58b	24.36 ± 4.10c
	100	11.67 ± 0.58b	33.03 ± 3.41b
	1 000	25.67 ± 2.08a	69.48 ± 2.40a
谷胱甘肽(还原型)	0 (CK)	7.80d	—
	10	10.00c	22.00c
	100	11.67 ± 0.58b	33.03 ± 3.41b
	1 000	20.00 ± 1.00a	60.93 ± 1.96a

注:CK 为加入等体积的无菌水。同一代谢同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

应疮痂链霉菌侵染的重要代谢物质。

4 结论

嘧啶代谢、核苷酸代谢、酪氨酸代谢、氨酰-tRNA 生物合成和花色素苷生物合成等代谢通路可能是马铃薯响应疮痂链霉菌侵染的关键通路,尤其是花色素苷生物合成通路,参与了植物抗氧化反应。马铃薯薯皮代谢产物香豆素-3-羧酸和谷胱甘肽(还原型)是马铃薯响应疮痂链霉菌侵染的重要代谢物质,对疮痂链霉菌具有抑制作用,可为马铃薯疮痂病植物源农药的研发提供理论参考。



参考文献:

- [1] 胡金雪, 相从超, 封志明, 等. 河北二季作区马铃薯主要病害发生情况及防控对策[J]. 黑龙江农业科学, 2022(2): 121-124.
- [2] 杨鑫, 赖振光, 樊吴静, 等. 马铃薯疮痂病不同抗性品种发病与健康块茎内生细菌群落结构及多样性[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(14): 134-140.
- [3] 梁宏杰, 吕和平, 高彦萍, 等. 98%棉隆在马铃薯原原种生产中对疮痂病的防治效果[J]. 农药, 2021, 60(2): 150-153.
- [4] 李爽, 杨美军, 张云, 等. 马铃薯疮痂病研究进展[J]. 中国马铃薯, 2018, 32(4): 240-248.
- [5] 杨欣蕊, 廖艳凤, 赵鹏飞, 等. 植物源农药及其开发利用研究进展[J]. 南方农业, 2022, 16(11): 33-36.
- [6] 杨帅, 王文重, 魏琪, 等. 植物源农药丁子香酚与苦参碱对两种马铃薯主要病害的毒力测定及评价[J]. 黑龙江农业科学, 2021(11): 35-38.
- [7] 彭静文, 赵远征, 王真, 等. 防治马铃薯腐烂茎线虫病的植物源药剂筛选[J]. 河南农业科学, 2022, 51(4): 95-102.
- [8] 刘甜甜, 张星, 熊兴耀, 等. 25%山苍子油水乳剂的研发及其对马铃薯晚疫病菌的防治效果[J]. 河南农业科学, 2020, 49(10): 85-91.
- [9] 王诗宇, 王志兴, 张丽丽, 等. 植物防御反应的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(19): 39-45.
- [10] 吴劲松. 植物对病原微生物的“化学防御”: 植保素的生物合成及其分子调控机制[J]. 应用生态学报, 2020, 31(7): 2161-2167.
- [11] 张玉芝. 转录组和代谢组分析陆地棉对大丽轮枝菌的防御反应[D]. 郑州: 河南农业大学, 2023: 45-46.
- [12] 张成省. 烟草根系分泌物介导的黑胥病抗性机制研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020: 32.
- [13] 董海丽, 井金学. 活性氧和一氧化氮在植物抗病反应中的作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(1): 161-166.
- [14] 张梦如, 杨玉梅, 成蕴秀, 等. 植物活性氧的产生及其作用和危害[J]. 西北植物学报, 2014, 34(9): 1916-1926.
- [15] 卢园, 李瑞娟, 赵娜, 等. 硅对镉胁迫下玉米生长和抗氧化防御系统的影响[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(20): 77-84.
- [16] 吴映梅, 徐龙泉, 浦绍敏, 等. 黑莓中总花色苷的提取工艺优化及其抗氧化性和抑菌性的研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(11): 95-102.
- [17] Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, et al. Reactive oxygen gene network of plants[J]. Trends in Plant Science, 2004, 9(10): 490-498.
- [18] 谭荣, 李本鹏, 蒋向辉, 等. 长毛风毛菊中总香豆素的提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(5): 906-911.
- [19] Weissenböck G, Hedrich R, Sachs G. Secondary phenolic products in isolated guard cell, epidermal cell and mesophyll cell protoplasts from pea (*Pisum sativum* L.) leaves: distribution and determination[J]. Protoplasma, 1986, 134(2): 141-148.
- [20] Fernández M A, García M D, Sáenz M T. Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of *Scrophularia frutescens* and *Scrophularia sambucifolia* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 1996, 53(1): 11-14.
- [21] 王海梅, 田启威, 杨仕平. 谷胱甘肽和二氧化锰的氧化还原反应在生物领域上的应用[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2020, 49(2): 203-218.
- [22] 张硕, 王硕, 韩胜芳, 等. 植物中谷氧还蛋白研究进展[J]. 华北农学报, 2021, 36(增刊1): 202-209.
- [23] 金芮民, 郝思迪, 董官勇, 等. 根瘤菌 PP3 对水黄皮抗氧化系统应激镍胁迫的影响[J]. 微生物学通报, 2024, 51(5): 1626-1640.
- [24] Navrot N, Collin V, Gualberto J, et al. Plant glutathione peroxidases are functional peroxiredoxins distributed in several subcellular compartments and regulated during biotic and abiotic stresses[J]. Plant Physiology, 2006, 142(4): 1364-1379.
- [25] Hiruma K, Fukunaga S, Bednarek P, et al. Glutathione and tryptophan metabolism are required for *Arabidopsis* immunity during the hypersensitive response to hemibiotrophs[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(23): 9589-9594.
- [26] Kovacs I, Durner J, Lindermayr C. Crosstalk between nitric oxide and glutathione is required for nonexpressor of pathogenesis-related genes 1 (npr1)-dependent defense signaling in *Arabidopsis thaliana* [J]. New Phytologist, 2015, 208(3): 860-872.