

环境 pH 对枸杞根腐病菌致病性机制的初步分析

王欣怡¹ 何静^{1,2*} 王斌^{1,2} 张崇庆¹ 邱佳鸿¹ 吕忆楠¹ 张学敏¹ 来晨熙¹

(1. 甘肃农业大学林学院, 甘肃兰州 730070; 2. 甘肃省枸杞无害化栽培工程研究中心, 甘肃兰州 730070)

摘要: 由腐皮镰刀菌 *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. 引起的枸杞根腐病严重影响枸杞 *Lycium barbarum* L. 的产量和品质, 而环境 pH 与病原真菌生长、发育及致病力密切相关。本研究探究不同环境 pH 对腐皮镰刀菌生长和致病力的影响, 发现腐皮镰刀菌在 pH 值为 6~8 的条件下生长较好; pH 值为 3~5 的强酸和 pH 值为 10~11 的强碱环境均抑制其菌落生长, 降低生物量和产孢量, 延缓孢子萌发; 病斑直径在 pH 值为 5 的环境下显著高于 pH 值为 7 和 9 时, 表明酸性环境有利于其致病。对 pH 响应转录因子 FsPacC 的功能特征分析表明, *FsPacC* 基因全长 2 485 bp, 含有 3 个保守的 Cys₂His₂ 锌指结构域, 且 FsPacC 蛋白定位于细胞核内, 含有 108 个潜在的磷酸化位点, 不属于分泌蛋白。环境 pH 对 *FsPacC* 表达有显著影响, 酸性环境抑制 *FsPacC* 的表达, 而碱性环境诱导 *FsPacC* 的表达; 此外, 腐皮镰刀菌能够诱导中性环境的 pH 降低。研究结果表明, *FsPacC* 响应环境 pH 的变化且腐皮镰刀菌可以调节环境 pH。

关键词: 根腐病; 枸杞; 镰刀菌; 转录因子; 致病性

中图分类号: S763.11 文献标识码: A 文章编号: 2097-5279(2026)01-0056-09

Preliminary analysis of the mechanism of pathogenicity of wolfberry root rot pathogen under environmental pH conditions

Wang Xinyi¹ He Jing^{1,2*} Wang Bin^{1,2} Zhang Chongqing¹ Qiu Jiahong¹ Lyu Yinan¹ Zhang Xuemin¹ Lai Chenxi¹

(1. College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. Wolfberry Harmless Cultivation Engineering Research Center of Gansu Province, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Root rot caused by *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. poses a serious threat to the yield and quality of goji berry (*Lycium barbarum* L.), and ambient pH is closely related to the growth, development, and pathogenicity of pathogenic fungi. This study investigated the effects of different environmental pH levels on the growth and pathogenicity of *F. solani*. It was found that *F. solani* grew better under conditions of pH 6–8. Both strongly acidic (pH 3–5) and strongly alkaline (pH 10–11) environments inhibited its colony growth, reduced biomass and sporulation, and delayed spore germination. The lesion diameter at pH 5 was significantly larger than that at pH 7 and 9, indicating that an acidic environment favors its pathogenicity. Functional characterization of the pH-responsive transcription factor FsPacC showed that the *FsPacC* gene is 2 485 bp in full length and contains three conserved Cys₂His₂ zinc finger domains. The FsPacC protein is localized in the nucleus, contains 108 potential phosphorylation sites, and is not a secreted protein. Ambient pH significantly affected the expression of *FsPacC*; acidic conditions suppressed its expression, while alkaline conditions induced it. Furthermore, *F. solani* was able to reduce the pH of a neutral environment. The results demonstrate that *FsPacC* responds to changes in ambient pH and that *F. solani* can modulate the environmental pH.

Keywords: root rot; *Lycium barbarum* L.; *Fusarium*; transcription factor; pathogenicity

近年来,随着枸杞种植规模的持续扩大,病害发生频率呈逐年上升趋势,其中根腐病是枸杞栽培生产过程中极具破坏性的病害之一(He et al., 2023)。该病可造成植株萎蔫甚至死亡,不仅对枸杞的产量和品质造成严重威胁,更制约了枸杞产业的高质量

发展。枸杞根腐病的病原菌存在地域差异,但其优势致病菌群主要隶属于镰刀菌属 *Fusarium* (Bai et al., 2020)。已有研究表明,腐皮镰刀菌 *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. 是甘肃省枸杞产区的主要致病菌之一。该菌主要侵染 3 年生以上的枸杞植株根部,其菌

收稿日期: 2025-07-30; 修回日期: 2025-11-26。

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060341); 甘肃省科技厅乡村振兴专项(24CXNA018)。

* 通信作者: 何静(E-mail: hejing268@aliyun.com), 教授。

引文格式: 王欣怡, 何静, 王斌, 等. 2026. 环境 pH 对枸杞根腐病菌致病性机制的初步分析[J]. 树木医学, 3(1): 56-64.

Wang X Y, He J, Wang B, et al. 2026. Preliminary analysis of the mechanism of pathogenicity of wolfberry root rot pathogen under environmental pH conditions[J]. Tree Health, 3(1): 56-64.

丝可在根皮层和维管束组织内定殖并扩展,造成木质部导管阻塞,韧皮部结构破坏,进而阻碍水分和养分的吸收与运输(Pan et al., 2023; 张小彦等, 2020)。

环境 pH 是影响真菌生长、发育和致病性的关键环境因子之一(Wang et al., 2022)。它不仅调控病原菌菌丝生长、孢子形成与萌发等基本生物学过程,也直接参与调控致病相关基因的表达与毒性因子的分泌,从而影响病害的发生与发展(Liu et al., 2024)。多数病原真菌能够在较宽的 pH 范围内生长,最适生长 pH 多趋近中性(pH 6.5~7.5),强酸或强碱环境对其生命活动产生普遍的抑制效应。此外,同一病原菌在不同生态-宿主系统中可能表现出 pH 适应性的差异。已有研究表明,侵染烟草 *Nicotiana tabacum* L. 的腐皮镰刀菌菌株最适生长 pH 值为 6.0,而引起波萝蜜 *Artocarpus heterophyllus* Lam. 根腐病的腐皮镰刀菌最适生长 pH 值为 7.0(黄玉凤等, 2024; 罗敦文等, 2016),说明病原菌的 pH 适应性与其地理来源和寄主微环境密切相关。值得注意的是,枸杞在我国主要分布于内蒙古自治区、甘肃省、宁夏回族自治区、青海省、新疆维吾尔自治区等盐碱化区域,其耐盐碱特性突出,可在 pH 值为 8.45~9.50 的灰钙土及盐碱地正常生长并维持稳定产量(苏明等, 2025; 秦瑞杰, 2024)。在这一特殊生境下,腐皮镰刀菌可能已形成区别于其他来源地菌株的 pH 适应机制,这一特性与其生态分布和致病策略密切相关。

真菌能够感应环境 pH 信号从而激活或抑制 pH 相关基因,通过分泌次级代谢产物等方式改变环境 pH 值,使其达到最适生存条件。病原真菌感应 pH 信号主要由 *PalA*、*PalB*、*PalC*、*PalF*、*PalI*、*PalH* (*pH adaptation locus A/B/C/F/I/H*) 和 *PacC* (*pH-associated transcription factor C*) 7 个基因介导,其中 *PalA/B/C/F/I/H* 编码的蛋白主要负责信号的感知和传递,而转录调控因子 *PacC* 则是 pH 信号响应途径的核心基因。*PacC* 可通过激活碱性条件下的表达基因、抑制酸性条件下的表达基因来调节真菌环境适应能力、次级代谢产物合成及致病力等多种生物过程(Jimdjio et al., 2021; Li et al., 2021),对多种病原菌的生长和致病力具有显著影响(Chen et al., 2018; Rasclé et al., 2018)。本研究通过探究不同环境 pH 值对腐皮镰刀菌生长的影响,预测 *FsPacC* 基因的结构和功能,分析该基因在不同 pH 条件下的表达水平以及腐皮镰刀菌对环境 pH 值的影响,旨在解析腐皮镰刀菌对环境 pH 值的适应性,以期深入理解环境 pH 值与腐皮镰刀菌致病力之间的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

枸杞根腐病菌 *F. solani* 在甘肃农业大学林学院森林保护实验室分离纯化并保存,经活化后转接至 PDA 培养基(Potato dextrose agar)斜面,放置于 0~4 °C 保存备用。

1.2 方法

1.2.1 不同 pH 条件下腐皮镰刀菌菌丝生长、生物量、产孢量和孢子萌发率测定

使用浓度为 1 mol/L 的 HCl 和 NaOH 将 PDA 培养基的 pH 值分别调节至 3、4、5、6、7、8、9、10、11, PDA 培养基琼脂用量均为 18 g/L。将 1 μ L 的腐皮镰刀菌孢子悬浮液(1×10^6 孢子/mL)接种于不同 pH 培养基的平板中心,28 °C 黑暗条件下培养 7 d。通过交叉法测量菌落直径,并收集菌丝用于测定生物量,每个 pH 梯度设 5 个重复(丁德东等, 2023)。培养 7 d 后,向平板中加入 10 mL 无菌水,使用灭菌涂布器轻柔刮取 PDA 平板表面的孢子,采用血球计数板进行计数统计产孢量。

取浓度为 1×10^6 孢子/mL 的腐皮镰刀菌孢子悬浮液 10 μ L,接种到 pH 值为 3~11 的 PDB 培养基(Potato dextrose broth)中,于 28 °C 黑暗条件下恒温培养。培养 12 h 后,在显微镜下观察孢子萌发情况,每次镜检统计 150~200 个孢子;以孢子芽管长度超过自身孢子长度 1/2 作为判定萌发标准,统计萌发孢子数量,按照萌发孢子数与镜检总孢子的比值计算孢子萌发率(Wang et al., 2022)。

1.2.2 不同 pH 条件下腐皮镰刀菌致病力测定

采用离体叶片穿刺接种法,测定不同 pH 环境下腐皮镰刀菌的致病力。用灭菌后的大头针在枸杞离体叶片表面穿刺,形成深度约 0.2 cm 的接种孔,随后在接种孔分别接种 1 μ L pH 值为 5、7、9 且浓度为 1×10^6 孢子/mL 的腐皮镰刀菌孢子悬浮液,同时设置空白对照组,在其接种孔内加入 1 μ L 无菌无酶水。接菌后将叶片置于 30 °C、相对湿度 80% 的恒温恒湿条件下培养,72 h 后观察并记录叶片发病情况,同时测量病斑直径(邓火兵等, 2024; Zhang et al., 2024)。

1.2.3 *FsPacC* 基因结构及保守序列分析

使用在线工具基因结构显示系统(Gene Structure Display Server, GSDS)对 *FsPacC* 基因的结构特征进行分析,并利用在线工具 SMART 预测 *FsPacC* 的保守结构域(刘文艳等, 2022)。在美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)数据库中检索并下载其

他致病菌中 *PacC* 基因编码的氨基酸序列, GenBank 登录号如表 1 所示, 使用 DNAMAN 软件对不同物种间的同源基因氨基酸序列进行比对。

表 1 菌株及 GenBank 登录号

Tab. 1 List of strains and their GenBank accession numbers

物种名称 Species name	蛋白登录号 Protein accession number
<i>Fusarium solani</i>	KAJ3469264.1
<i>Fusarium euwallaceae</i>	RSL98102.1
<i>Fusarium ambrosium</i>	RTE77740.1
<i>Fusarium coicis</i>	KAF5965209.1
<i>Fusarium globosum</i>	KAF5698280.1
<i>Aspergillus niger</i>	XP_001399922.1
<i>Colletotrichum aenigma</i>	XP_037178910.1
<i>Aspergillus ibericus</i>	XP_025576081.1
<i>Verticillium alfalfa</i>	XP_003001059.1
<i>Penicillium waksmanii</i>	XP_057128439.1
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	ACO55074.1

1.2.4 *FsPacC* 蛋白的系统进化树构建

使用 MEGA 7.0 软件, 基于邻接法 (Neighbor-joining method) 构建 *FsPacC* 蛋白的系统发育树。为了评估系统发育树的可靠性, 采用自助法 (bootstrap) 进行 1 000 次重复抽样检验, 其余分析参数均沿用默认设置 (Chen et al., 2020), 目标物种及 GenBank 登录号详见表 1。

1.2.5 *FsPacC* 蛋白结构与理化性质分析

利用在线分析平台 ExPASy 中的 ProtParam 工具, 预测 *FsPacC* 编码蛋白产物的相关理化性质, 包括分子量、等电点、氨基酸组成、稳定性预测等; 同时利用该平台的 ProtScal 工具, 分析 *FsPacC* 编码产物的疏水性和亲水性, 以评估其潜在的表面特性 (董晨等, 2024; 穆宣邑等, 2024); 利用在线网站 TMHMM 解析 *FsPacC* 的跨膜结构域, 深入了解其潜在的膜关联特性 (王珊珊等, 2024); 利用 SignalP 5.0 Server 工具对 *FsPacC* 信号肽进行预测, 为蛋白质的分泌机制或细胞定位提供重要线索; 利用 NetPhos 3.1 在线分析工具分析 *FsPacC* 磷酸化位点, 助力深入阐释其功能调控与信号传导过程 (刘霖等, 2021); 通过在线网站 Swiss-Modeling 对 *FsPacC* 的氨基酸序列进行蛋白质三级结构预测; 通过 PredictProtein 在线网站预测蛋白质在细胞内的潜在分布位置 (孟利娟等, 2024)。

1.2.6 *FsPacC* 在不同 pH 条件下的转录水平测定

为研究不同 pH 条件对 *FsPacC* 基因转录水平的影响, 将在 pH 值为 7、28 °C、160 r/min 条件下培养 36 h 的腐皮镰刀菌菌丝体, 分别转移至 pH 值为 3~11 的 PDB 培养基中继续振荡培养 15 min。随后用无菌纱布过滤收集菌丝, 液氮速冻后置于 -80 °C 冰箱中保存

备用。使用 OMEGA Fungal RNA Kit (R6840) 试剂盒分别提取各 pH 处理组菌丝体的总 RNA, 提取后进行质量检测, 检测项目包括 RNA 的浓度、纯度 (A260/A280 比值)。使用 Hifair® AdvanceFast One-step RT-gDNA Digestion SuperMix for qPCR 逆转录试剂盒合成 cDNA, 根据 *FsPacC* 基因的序列信息, 设计特异性引物, 内参基因为 β -actin。引物通过 Primer 5.0 软件设计, 由北京擎科生物科技股份有限公司合成, 引物序列见表 2。使用 Hieff® qPCR SYBR Green Master Mix 试剂盒进行 real-time PCR。反应体系: 10.0 μ L Hieff qPCR SYBR Green Master Mix, 上、下游引物各 0.4 μ L (10 μ mol/L), 0.8 μ L 模板 DNA, 8.4 μ L ddH₂O。每个样品进行 3 次重复。反应条件: 95 °C 预变性 300 s; 95 °C 10 s, 60 °C 30 s, 40 个循环。以 pH 值为 7 的处理为对照, 利用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 *FsPacC* 基因在不同 pH 条件下的相对表达量, 分析 pH 对 *FsPacC* 基因表达的影响 (Yuan et al., 2023; Yang et al., 2024; 郑杰等, 2023)。

表 2 PCR 扩增所用引物序列

Tab. 2 Primer sequences used for PCR amplification

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence
β -actin-F	CACCACCTTCAACTCCATCA
β -actin-R	TCGGAGAGACCAGGGTACAT
PacC-F	GCCACTCTGCTACCACAACCT
PacC-R	AGACTCGCTCGCCTTAGGA

1.2.7 振荡培养法测定腐皮镰刀菌在生长过程中对培养基 pH 的影响

腐皮镰刀菌菌丝体在 PDB (Potato dextrose broth) 培养基中振荡培养 24 h 后, 用 3 层无菌纱布过滤收集菌丝体, 随后将其放入铺有 3 层滤纸的布氏漏斗中, 连接抽滤瓶进行抽滤至恒重, 以充分去除菌丝体表面水分。为明确腐皮镰刀菌对环境 pH 的影响, 配制 75 mL 初始 pH 为 7 的 PDB 培养基, 灭菌冷却后接入 1 g 经抽滤处理后的菌丝体, 于 28 °C、160 r/min 条件下振荡培养, 分别在接种后 0、12、24、36、48、60、72 h 取样, 测定其 pH 值 (Townsend et al., 2020)。

1.3 数据分析

利用 Microsoft Excel 2019 和 IBM SPSS Statistics 26.0 软件进行数据处理, 采用 Duncan's 新复极差法进行显著性分析, 使用 Origin 2024 绘图。

2 结果与分析

2.1 环境 pH 对腐皮镰刀菌生长发育的影响

pH 值为 3~7 时, 腐皮镰刀菌菌落直径随 pH 升高逐渐增大, pH 值为 7 时达到最大; 当 pH 大于 7 时, 腐

皮镰刀菌的菌落生长又受到抑制, 菌落直径逐渐减小(图 1A、B)。同样, 生物量和产孢量也均呈现先上升后下降的趋势, 在 pH 值为 7 时达到最大; pH 值为 3 和 11 处理下, 腐皮镰刀菌生物量相比 pH 值为 7 时分别降低 69.97% 和 72.90%(图 1C)。pH 值为 7 时, 产孢量最大; pH 值为 11 时, 产孢量最小(图 1D)。培养 12 h 时, pH 值为 7 的条件下孢子萌发率达 97.83%, 但

pH 值为 10、11 时孢子萌发率仍低于 5.00%, 几乎完全抑制萌发, 表明中性环境适宜孢子萌发, 强碱环境显著抑制其萌发, 且碱性越强抑制作用越显著(图 1E)。上述结果表明, 环境 pH 可显著影响腐皮镰刀菌菌落直径、生物量、产孢量及孢子萌发率, pH 值为 7 是其最适宜生长的条件, 而强酸和强碱性条件均显著抑制腐皮镰刀菌生长。

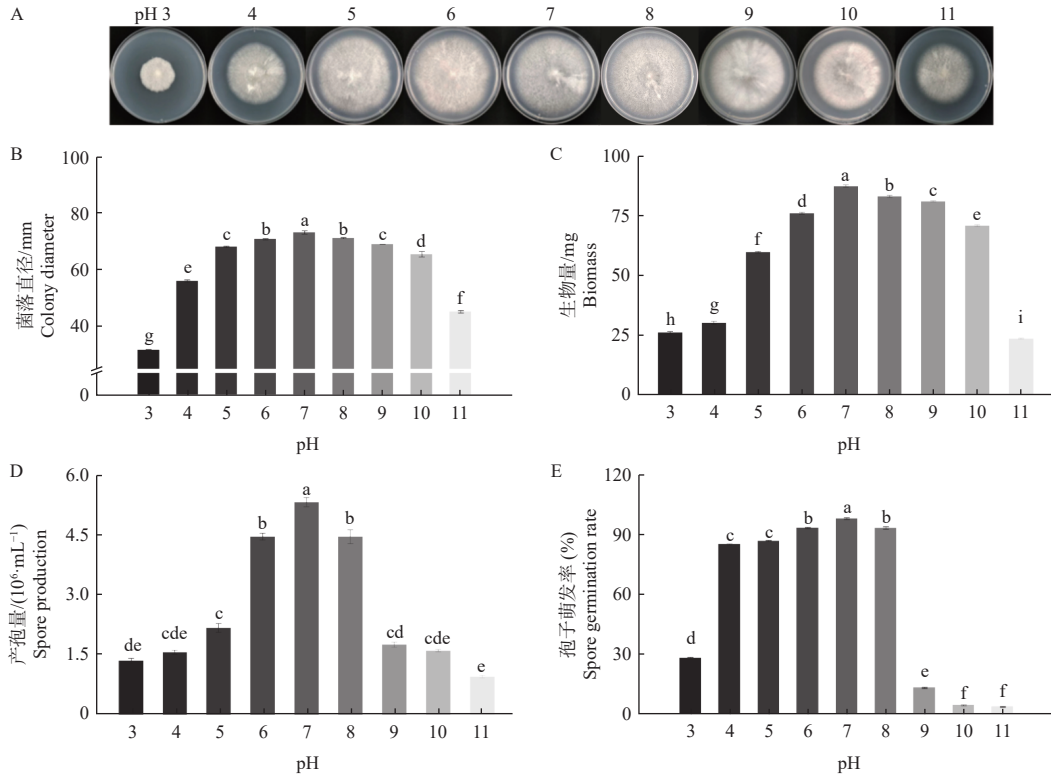


图 1 环境 pH 对腐皮镰刀菌生长发育的影响

Fig. 1 Effects of environmental pH on the growth and development of *F. solani*

注: A. 菌落形态; B. 菌落直径; C. 生物量; D. 产孢量; E. 孢子萌发率。竖线表示标准误差, 不同字母代表显著性差异 ($P < 0.05$), 下同。

Notes: A. Colony morphology; B. Colony diameter; C. Biomass; D. Sporulation; E. Spore germination rate. Bars indicate the standard error. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$), the same below.

2.2 不同 pH 对腐皮镰刀菌致病力的影响

腐皮镰刀菌在不同 pH 环境中, 其致病力表现出显著差异(图 2)。在 pH 值为 5 的环境条件下, 其致

病力较强, 病斑直径高于 pH 值为 7 时 44.7%, 病斑中心为深褐色至黑色坏死区, 边缘有较宽的浅褐色浸润带, 病斑内部可见灰白色菌丝层。pH 值为 7 时, 病

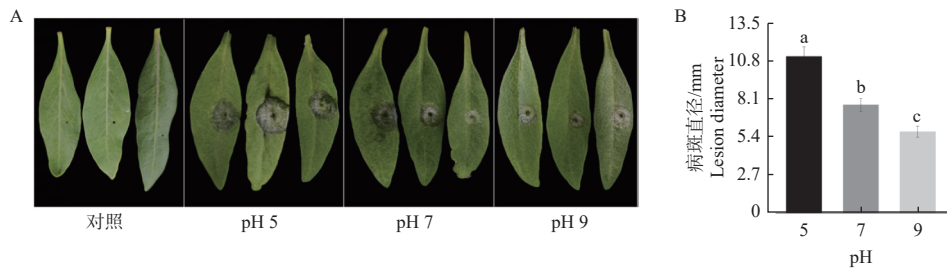


图 2 不同 pH 对腐皮镰刀菌致病力的影响

Fig. 2 Effects of different pH on the pathogenicity of *F. solani*

注: A. 不同 pH 条件下叶片的病害表型对比; B. 病斑直径统计。

Notes: A. Comparison of leaf disease phenotypes under different pH conditions; B. Statistics of the lesion diameter.

斑为规则近圆形,病斑中心坏死区颜色相对较浅,边缘有窄的深褐色界限带;而在 pH 值为 9 的条件下,病斑中心坏死区小,病斑表面几乎无肉眼可见菌丝。上述结果表明,腐皮镰刀菌在酸性环境下的致病力强于碱性环境。

2.3 *FsPacC* 基因结构及编码蛋白保守结构域

FsPacC 基因的全长为 2 485 bp, 含有 3 个保守的 Cys₂His₂ 锌指结构域(图 3A)。通过与 *F. ambrosium*、

F. coicis、*F. globosum*、*Aspergillus niger*、*Colletotrichum aenigma*、*A. ibericus*、*Verticillium alfalfae* 等真菌的 *PacC* 基因编码的氨基酸序列进行比对,发现 *FsPacC* 具有较高的保守性(图 3B)。所有参与比对的序列均包含 3 个保守的 Cys₂His₂ 锌指结构域,属 C₂H₂ 锌指蛋白家族,这些蛋白可能具有类似的功能和结构特征。系统发育分析显示,腐皮镰刀菌与 *F. ambrosium* 亲缘关系较近(图 3C)。

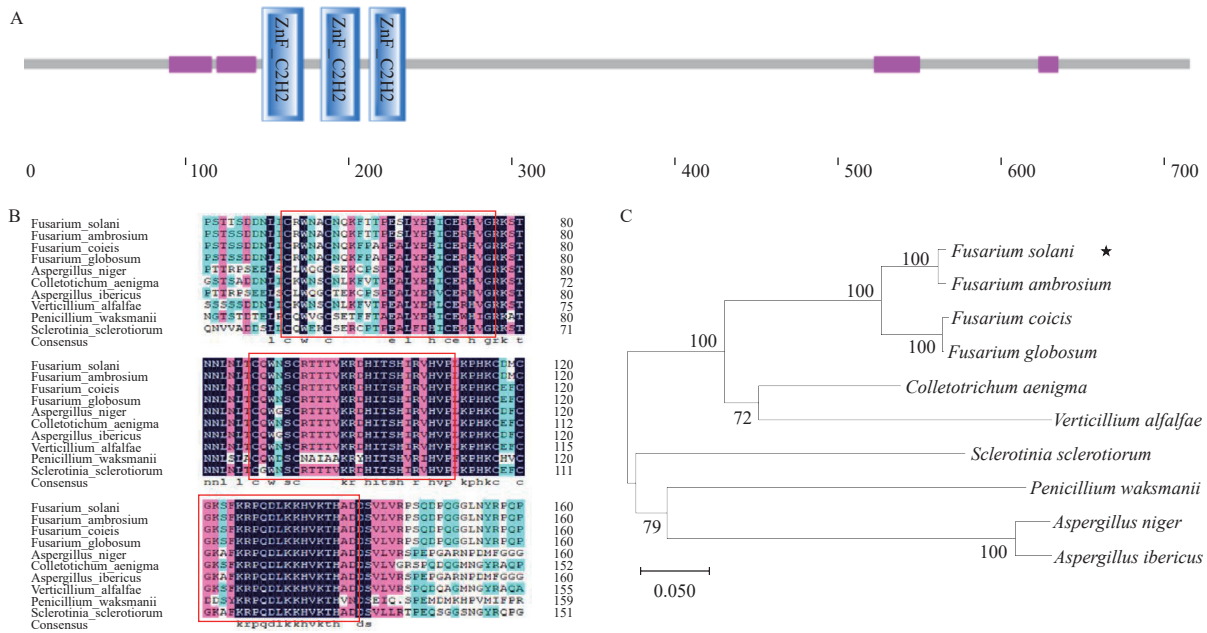


图 3 *FsPacC* 基因的序列特征与系统发育分析

Fig. 3 Sequence characteristics and phylogenetic analysis of the *FsPacC* gene

注: A. *FsPacC* 保守结构域预测; B. *FsPacC* 与其他真菌 *PacC* 的蛋白氨基酸比对; C. *FsPacC* 与其他真菌 *PacC* 的亲缘关系。

Notes: A. Prediction of conserved domain of *FsPacC*; B. Amino acid alignment of *FsPacC* and *PacC* proteins from other fungi; C. Phylogenetic relationship between *FsPacC* and *PacC* from other fungi.

2.4 *FsPacC* 蛋白的理化性质

FsPacC 蛋白理化性质如表 3 所示。*FsPacC* 蛋白的分子式为 C₃₃₈₉H₅₂₅₉N₁₀₁₃O₁₀₇₁S₂₈, 分子量为 78 227.86, 理论等电点 (Isoelectric point, pI) 为 9.23, 说明该蛋白质富含碱性氨基酸。*FsPacC* 蛋白中正电荷氨基酸残基 (Arg+Lys) 的数量为 71 个, 负电荷氨基酸残基 (Asp+Glu) 为 57 个。因此, 该蛋白表现为整体带正电。脂溶性指数 (Aliphatic index) 为 52.67, 表明该蛋白具有较强的脂溶性, 更易在脂质环境中溶解。蛋白的不稳定指数 (II) 为 72.74, 远高于 40, 表明 *FsPacC* 蛋白属于不稳定蛋白。总体亲水性评分 (GRAVY) 为 -0.778, 表明该蛋白具有亲水性。

2.5 *FsPacC* 蛋白的生物信息学特性预测

亲疏水性预测结果表明, *FsPacC* 第 48 位氨基酸的疏水性最强, 最大值为 1.789; 而第 641 位氨基酸的亲水性最强, 最小值为 -3.589。该蛋白序列中亲水性

氨基酸多于疏水性氨基酸, 推测 *FsPacC* 为亲水性蛋白, 该结果与其理化性质分析结果一致(图 4A)。跨膜结构域分析结果表明, *FsPacC* 蛋白不包含明显的跨膜区域或膜内结构, 推测该蛋白并非膜蛋白, 其定位不涉及细胞膜的任何结构(图 4B)。

表 3 *FsPacC* 蛋白理化性质分析

Tab. 3 Analysis of physicochemical properties of *FsPacC*

一级结构特征 Primary structure	<i>FsPacC</i>
氨基酸总数 Number of amino acids	716
分子量 Molecular weight	78 227.86
分子式 Formula	C ₃₃₈₉ H ₅₂₅₉ N ₁₀₁₃ O ₁₀₇₁ S ₂₈
等电点 PI	9.23
正电荷残基数目 (Arg + Lys)	71
负电荷残基数目 (Asp + Glu)	57
不稳定指数 (II)	72.74
脂溶性指数 Aliphatic index	52.67
总体亲水性评分 (GRAVY)	-0.778

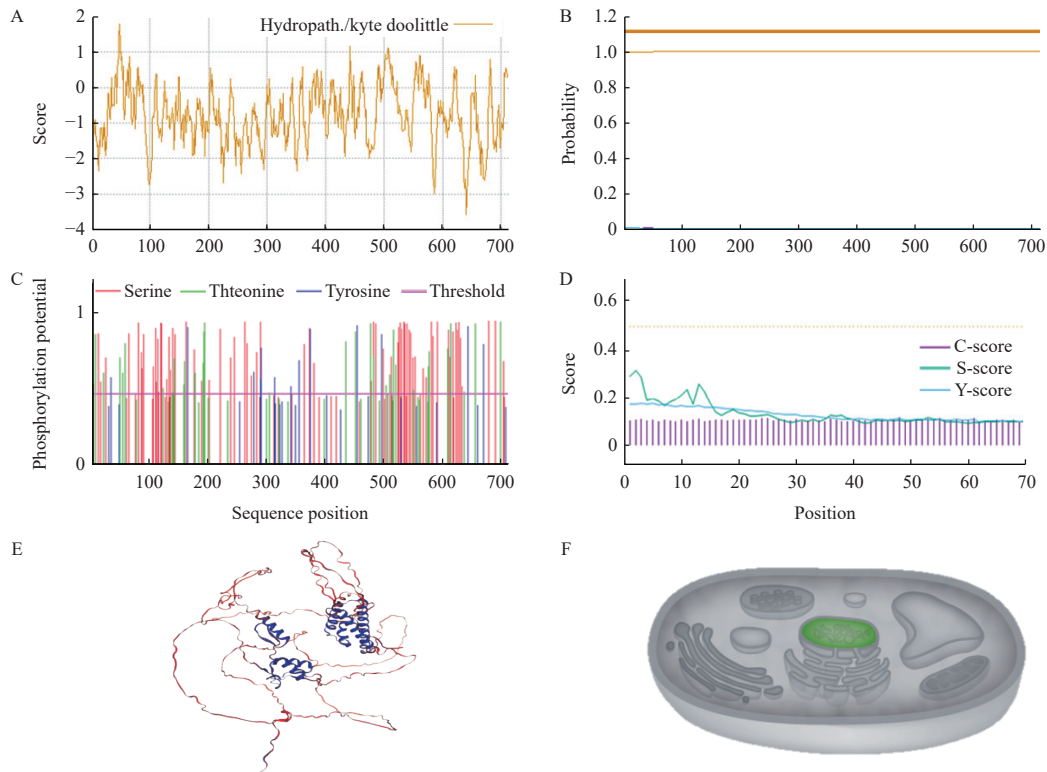


图4 FsPacC 蛋白生物信息学特征预测结果

Fig. 4 The predicted bioinformatic characteristics of the FsPacC protein

注: A. FsPacC 蛋白亲疏水性分析; B. 跨膜结构域; C. 蛋白磷酸化位点; D. 信号肽; E. 三级结构; F. 亚细胞定位。

Notes: A. Hydrophilicity and hydrophobicity analysis of FsPacC protein; B. Prediction of transmembrane domain; C. Protein phosphorylation site; D. Signal peptide; E. Tertiary structure; F. Subcellular localization.

磷酸化位点预测结果显示, FsPacC 蛋白全长肽链中共有 108 个潜在的磷酸化位点, 其中丝氨酸的磷酸化位点为 48 个, 苏氨酸的磷酸化位点为 36 个, 酪氨酸的磷酸化位点为 24 个, 表明 FsPacC 蛋白可能在其功能发挥过程中涉及多种磷酸化调控机制(图 4C)。信号肽预测结果显示, FsPacC 蛋白不含信号肽, 表明其不属于分泌蛋白(图 4D)。二级结构预测结果显示, FsPacC 蛋白包含 110 个 α -螺旋(占比 15.4%)、16 个延伸链(占比 2.2%)以及 590 个无规则卷曲(占比 82.4%)。无规则卷曲占主导地位, 表明该蛋白的大部分区域处于松散和无序状态。三级结构的预测结果表明, 该蛋白的最终折叠可能存在一定的结构灵活性(图 4E)。亚细胞定位预测结果表明, FsPacC 蛋白主要定位于细胞核内, 推测其可能发挥关键的调控作用或功能(图 4F)。

2.6 FsPacC 在不同环境 pH 下的表达分析

随着 pH 值升高, FsPacC 的表达量呈现出先上升后下降的趋势, 在 pH 值为 10 时达到峰值。与 pH 值为 7 时相比, 在 pH 值为 3~6 的酸性环境下, FsPacC 的相对表达量均受到显著抑制; 而在 pH 值为 8~10 的碱性环境下, FsPacC 的相对表达量显著增加。然而,

在 pH 值为 11 的强碱性环境中, FsPacC 的相对表达量又再次受到显著抑制(图 5)。结果表明, 环境 pH 值对 FsPacC 的表达具有显著影响, 总体呈现出碱性诱导、酸性抑制的特征。

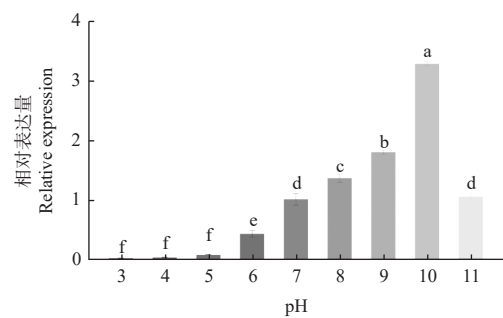


图5 不同 pH 对 FsPacC 表达量的影响

Fig. 5 Effects of different pH on the expression level of FsPacC

2.7 腐皮镰刀菌对环境 pH 的影响

为进一步评估腐皮镰刀菌生长和代谢活动对培养基 pH 的影响, 连续测定了接种后 0、12、24、36、48、60、72 h 的 pH。结果表明, 随着培养时间的延长, pH 呈现出逐渐下降的趋势, 接种后 60 h 时降至最低, 低于初始 pH 26.7%; 72 h 时 pH 轻微回升, 但仍显著低于

初始 pH 值(图 6)。表明腐皮镰刀菌在培养过程中可诱导环境 pH 降低,推测这可能与其产生酸性代谢产物有关。

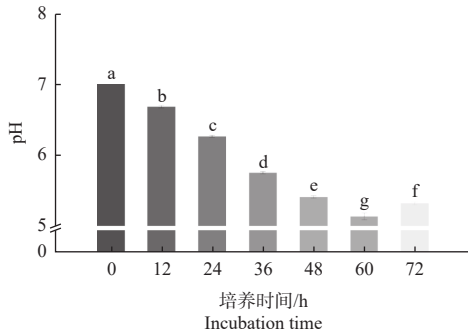


图 6 腐皮镰刀菌对环境 pH 的影响
Fig. 6 Effects of *F. solani* on environmental pH

3 讨论

本研究发现,腐皮镰刀菌在 pH 值为 5 的条件下致病力较强,该结果与最适生长 pH 存在差异。推测酸性条件可能通过诱导致病相关因子的表达或活性增强致病力,为自身侵染、增殖创造有利条件,而中性条件更利于菌体自身的增殖。病原菌的最适生长 pH 与最强致病力 pH 不一致的现象在多种病原菌中得到广泛体现。例如,桃褐腐病原菌 *Monilinia fructicola* G.Winter 的生长代谢最适 pH 值为 5,而与侵染致病密切相关的纤维素酶和果胶酶的最适产酶 pH 值分别为 6 和 7(宋丹丹等, 2017)。pH 值为 5 和 10 的条件下,层出镰刀菌 *F. proliferatum* Matsush. 的菌丝生长速率无显著差异,但病斑直径在 pH 值为 10 条件下显著减小,这主要是碱性环境下调了细胞壁降解酶(cell wall degrading enzymes, CWDEs)等致病因子的表达,显著削弱了其致病力(Li et al., 2017)。前人研究结果表明,病原菌致病力与菌丝生长速率无稳定的正相关关系,其致病因子还受到环境条件的调控与影响。据此本研究推测, pH 值为 5 的条件下,腐皮镰刀菌无需启动高耗能的碱性适应通路, *FsPacC* 基因表达处于较低水平,侵染效率高,病斑面积最大;而在 pH 值为 7 和 9 的中性和偏碱性环境下,该菌需耗费更多能量与物质来适应环境以维持自身生长, *FsPacC* 被强烈诱导表达,病斑面积减小。

转录因子 PacC 是 pH 信号通路的关键调节因子,在病原真菌生长、代谢和适应环境的过程中发挥重要作用(Li et al., 2021; Barda et al., 2020)。磷酸化是蛋白质翻译后修饰的重要方式之一,涉及 ATP 的磷酸基团转移到蛋白质的特定氨基酸残基(如丝氨酸、

苏氨酸和酪氨酸)上(Zhu et al., 2024),参与细胞信号转导、细胞周期调控以及生长发育等过程。磷酸化位点分析表明, *FsPacC* 含有多处磷酸化位点,推测其可被多种激酶在不同位点进行磷酸化修饰,从而参与到多个信号传导途径中,实现对 *FsPacC* 功能的复杂调控(Gu et al., 2022)。例如,在酸性条件下低表达时,可能通过减少磷酸化修饰来减弱对致病相关基因的抑制作用,从而增强致病性;而在碱性条件下高表达时,可能通过磷酸化激活碱性适应相关基因的表达,这种高耗能过程可能导致其致病力减弱(聂铭等, 2024)。亚细胞定位预测结果显示, *FsPacC* 蛋白主要定位于细胞核内,进一步支持了其作为转录因子的潜在功能,可能在核内调控与 pH 响应相关的基因表达。

PacC 作为环境 pH 调控因子,在多种病原真菌中发挥着关键作用(Li et al., 2021)。本研究发现,在酸性条件下, *FsPacC* 的表达量显著下调,而在碱性条件下, *FsPacC* 表达量显著上调,且在 pH 值为 10 的处理组中表达量最高,呈现“酸性抑制-弱碱激活-强碱失调”的响应。碱性环境能显著诱导 *FsPacC* 的高水平表达,表明 *FsPacC* 为 1 个碱性诱导基因,这与前人在指状青霉 *P. digitatum* Pers.(冯越等, 2022)、扩展青霉 *P. expansum* Link(Chen et al., 2018)、构巢曲霉 *A. nidulans* Eidam(Picazo and Espeso, 2024)和灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* Pers.(Rascle et al., 2024)中的研究结果类似。已有研究显示,病原真菌还能够通过改变宿主组织 pH 来增强其侵染能力。其中一些真菌通过分泌氨使宿主 pH 升高,这类真菌被称为“碱化真菌”;而另一些则通过分泌有机酸使宿主 pH 降低,被称为“酸化真菌”(Jiao et al., 2022)。例如,硫色镰刀菌 *F. sulphureum* Schldl.通过代谢分泌物影响宿主 pH 促进其侵染过程(Liu et al., 2024)。本研究中,腐皮镰刀菌在培养过程中可导致环境 pH 降低,这可能与它能够产生酸性代谢产物相关,从而创造有利于增强其致病力的环境条件。

4 结论

枸杞根腐病菌腐皮镰刀菌的最适生长 pH 为 7,强酸和强碱环境均能抑制其菌落生长,并降低生物量和产孢量,延缓孢子萌发;而该菌的致病力在 pH 值为 5 的条件下最强,表明酸性环境有利于其致病。转录因子 PacC 是 pH 信号通路的关键调节因子,腐皮镰刀菌中 *FsPacC* 基因全长 2 485 bp,含有 3 个保守的 Cys₂His₂ 锌指结构域,属不稳定亲水性蛋白,无跨膜

结构域, 非膜蛋白, 据此推测其可能定位于细胞核。环境 pH 对 *FsPacC* 表达有显著影响, 酸性环境抑制该基因的表达, 而碱性环境则显著诱导其表达。后续研究将通过构建 *FsPacC* 基因敲除突变株, 深入解析其在调控病原菌 pH 适应性和致病力中的核心作用, 从而为靶向 pH 信号通路的病害防控策略提供理论依据。

参 考 文 献

- 邓火兵, 尤海霞, 黄梅梅, 等. 2024. 尖孢镰刀菌古巴专化型铜伴侣蛋白 FocCCS1 的功能分析[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 53(6): 732–741.
- Deng H B, You H X, Huang M M, et al. 2024. Functional analysis on copper chaperone FocCCS1 in *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University(Natural Science Edition), 53(6): 732–741. (in Chinese)
- 丁德东, 赵吉桃, 何静, 等. 2023. 马铃薯糖苷生物碱对腐皮镰刀菌呼吸作用及其活性氧代谢的影响[J]. 微生物学通报, 50(7): 2937–2949.
- Ding D D, Zhao J T, He J, et al. 2023. Potato glycoalkaloids affect the respiration and reactive oxygen species metabolism of *Fusarium solani*[J]. Microbiology China, 50(7): 2937–2949. (in Chinese)
- 董晨, 郑雪文, 王弋, 等. 2024. 荔枝 *GRF* 基因家族的全基因组鉴定及表达分析[J]. 热带生物学报, 15(2): 190–197.
- Dong C, Zheng X W, Wang Y, et al. 2024. Genome-wide identification and expression analysis of *GRF* gene family in litchi[J]. Journal of Tropical Biology, 15(2): 190–197. (in Chinese)
- 冯越, 张美红, 李笑影, 等. 2022. 柑橘采后病原菌意大利青霉 *PacC* 基因的克隆及表达分析[J]. 食品工业科技, 43(4): 145–152.
- Feng Y, Zhang M H, Li X Y, et al. 2022. Cloning and expression analysis of *PacC* from *Penicillium italicum* of citrus fruits postharvest pathogen[J]. Science and Technology of Food Industry, 43(4): 145–152. (in Chinese)
- 黄玉凤, 李菲, 汪汉成, 等. 2024. 烟草镰刀菌根腐病原生物学特性及其优势种的代谢表型特征[J]. 江苏农业科学, 52(7): 124–132.
- Huang Y F, Li F, Wang H C, et al. 2024. Biological characterization of pathogen from tobacco *Fusarium* root rot and metabolic phenotype of its dominant species[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 52(7): 124–132. (in Chinese)
- 刘霖, 许睿儿, 程紫涵, 等. 2021. 小黑杨 *ERF723* 基因的克隆、表达及生物信息学分析[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 41(6): 24–31.
- Liu L, Xu R E, Cheng Z H, et al. 2021. Cloning, expression and bioinformatics analysis of *ERF723* gene in *Populus simonii* × *P. nigra*[J]. Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 41(6): 24–31. (in Chinese)
- 刘文艳, 刘春方, 滕瑞敏, 等. 2022. 茶树生物钟基因 *CsCCA1* 的鉴定及对光合特性的影响[J]. 植物生理学报, 58(3): 554–564.
- Liu W Y, Liu C F, Teng R M, et al. 2022 Identification of circadian clock gene *CsCCA1* and its effect on photosynthetic characteristics in tea plant[J]. Plant Physiology Journal, 58(3): 554–564. (in Chinese)
- 罗敦文, 何舒, 郭利军, 等. 2016. 海南省菠萝蜜根腐病原菌鉴定及生物学特性分析[J]. 分子植物育种, 14(8): 2205–2212.
- Luo D W, He S, Guo L J, et al. 2016. Identification and biological characteristics of the pathogens causing root rot disease of *Artocarpus heterophyllus* lam in Hainan province[J]. Molecular Plant Breeding, 14(8): 2205–2212. (in Chinese)
- 孟利娟, 咎新艺, 杨雨蒙, 等. 2024. 灰葡萄孢菌 *BcGLS* 基因的克隆、生物信息学分析及逆境胁迫下转录表达分析[J]. 食品与发酵工业, 50(18): 169–176.
- Meng L J, Zan X Y, Yang Y M, et al. 2024. Cloning and bioinformatic analysis of *BcGLS* gene in *Botrytis cinerea* and transcriptional expression analysis[J]. Food and Fermentation Industries, 50(18): 169–176. (in Chinese)
- 穆宣邑, 于莉婧, 程紫涵, 等. 2024. 小黑杨转录因子 *PsnWRKY23* 基因的克隆及盐胁迫功能分析[J/OL]. 分子植物育种: 1–13. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240717.1719.014>.
- Mu X Y, Yu L J, Cheng Z H, et al. 2024. Cloning and salt stress function analysis of the transcription factor *WRKY23* gene of *Populus simonii* × *P. nigra*. [J]. Molecular Plant Breeding: 1–13. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240717.1719.014>. (in Chinese)
- 聂铭, 杨裕然, 李振轮. 2024. 微生物胞内外 pH 稳态维持机制研究进展[J]. 微生物学报, 64(1): 1–13.
- Nie M, Yang Y R, Li Z L. 2024. Research progress in the mechanisms of maintaining intracellular and extracellular pH homeostasis in microorganisms[J]. Acta Microbiologica Sinica, 64(1): 1–13. (in Chinese)
- 秦瑞杰. 白银滩枸杞红[N]. 人民日报, 2024–05–06(015).
- 宋丹丹, 孔庆军, 李鸿彬, 等. 2017. 蟠桃褐腐病原菌生物学特性及细胞壁降解酶活性[J]. 食品科学, 38(10): 42–48.
- Song D D, Kong Q J, Li H B, et al. 2017. Biological characteristics and cell wall degrading enzyme activities of flat peach brown rot pathogen[J]. Food Science, 38(10): 42–48. (in Chinese)
- 苏明, 刘萍涛, 洪自强, 等. 2025. 盐碱地有机肥与微生物菌肥复配施用对有机枸杞叶片生理特性及产量、品质的影响[J]. 中国农学通报, 41(19): 87–94.
- Su M, Liu P T, Hong Z Q, et al. 2025. Effects of compound application of organic fertilizer and microbial fertilizer on leaves physiological characteristics and yield and quality of organic *Lycium barbarum* in Saline and Alkaline land[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 41(19): 87–94. (in Chinese)
- 王珊珊, 王瑞, 樊二勤, 等. 2024. 楸树 *DELLA* 基因家族生信分析及 *CbuGRAS9* 的功能分析[J]. 植物研究, 44(1): 139–151.
- Wang S S, Wang R, Fan E Q, et al. 2024. Bioinformatics analysis of *CbuDELLAs* gene family and functional analysis of *CbuGRAS9*[J]. Bulletin of Botanical Research, 44(1): 139–151. (in Chinese)
- 张小彦, 何静, 侯彩霞, 等. 2020. 枸杞根腐病菌拮抗菌株的筛选与鉴定[J]. 浙江农业学报, 32(5): 858–865.
- Zhang X Y, He J, Hou C X, et al. 2020. Screening and identification of antagonistic strains of wolfberry root rot[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 32(5): 858–865. (in Chinese)
- 郑杰, 谭小丽, 胡近近, 等. 2023. 柑橘酸腐病菌 *PacC* 的生物信息学分析及其响应 pH 值的表达模式[J]. 食品科学, 44(22): 108–115.
- Zheng J, Tan X L, Hu J J, et al. 2023. Bioinformatics analysis of *PacC* gene of *Geotrichum citri-aurantii* isolated from citrus fruit and its expression

- pattern in response to pH[J]. *Food Science*, 44(22): 108–115. (in Chinese)
- Bai L C, Li X J, Cao Y T, *et al.* 2020. *Fusarium culmorum* and *Fusarium equiseti* causing root rot disease on *Lycium barbarum* (goji berry) in China[J]. *Plant Disease*, 104(11): 3066.
- Barda O, Maor U, Sadhasivam S, *et al.* 2020. The pH-responsive transcription factor PacC governs pathogenicity and ochratoxin a biosynthesis in *Aspergillus carbonarius*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 11: 210.
- Chen C J, Chen H, Zhang Y, *et al.* 2020. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 13(8): 1194–1202.
- Chen Y, Li B Q, Xu X D, *et al.* 2018. The pH-responsive PacC transcription factor plays pivotal roles in virulence and patulin biosynthesis in *Penicillium expansum*[J]. *Environmental Microbiology*, 20(11): 4063–4078.
- Gu Q, Wang Y J, Zhao X Z, *et al.* 2022. Inhibition of histone acetyltransferase GCN5 by a transcription factor FgPacC controls fungal adaption to host-derived iron stress[J]. *Nucleic Acids Research*, 50(11): 6190–6210.
- He J, Zhang X Y, Wang Q H, *et al.* 2023. Optimization of the fermentation conditions of *Metarhizium robertsii* and its biological control of wolfberry root rot disease[J]. *Microorganisms*, 11(10): 2380.
- Jiao W X, Liu X, Li Y Y, *et al.* 2022. Organic acid, a virulence factor for pathogenic fungi, causing postharvest decay in fruits[J]. *Molecular Plant Pathology*, 23(2): 304–312.
- Jimdjio C K, Xue H L, Bi Y, *et al.* 2021. Effect of ambient pH on growth, pathogenicity, and patulin production of *Penicillium expansum*[J]. *Toxins*, 13(8): 550.
- Li B Q, Chen Y, Tian S P. 2021. Function of pH-dependent transcription factor PacC in regulating development, pathogenicity, and mycotoxin biosynthesis of phytopathogenic fungi[J]. *The FEBS Journal*, 289(7): 1723–1730.
- Li T T, Wu Q X, Wang Y, *et al.* 2017. Application of proteomics for the investigation of the effect of initial pH on pathogenic mechanisms of *Fusarium proliferatum* on banana fruit[J]. *Frontiers in Microbiology*, 8: 2327.
- Liu Q L, Yang L, Xue H L, *et al.* 2024. Effects of ambient pH on the growth and development, pathogenicity, and diacetoxyscirpenol accumulation of muskmelon fruit caused by *Fusarium sulphureum*[J]. *Journal of Fungi*, 10(11): 765.
- Pan C, Yang K L, Erhumwunsee F, *et al.* 2023. Antifungal activity of perillaldehyde on *Fusarium solani* and its control effect on postharvest decay of sweet potatoes[J]. *Journal of Fungi*, 9(2): 257.
- Picazo I, Espeso E A. 2024. Interconnections between the Cation/Alkaline pH-Responsive SlT and the Ambient pH Response of PacC/Pal Pathways in *Aspergillus nidulans*[J]. *Cells*, 13(7): 651.
- Rasclé C, Dieryckx C, Dupuy J W, *et al.* 2018. The pH regulator PacC: A host-dependent virulence factor in *Botrytis cinerea*[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 10(5): 555–568.
- Rasclé C, Malbert B, Goncalves I, *et al.* 2024. Transcriptomic changes in the PacC transcription factor deletion mutant of the plant pathogenic fungus *Botrytis cinerea* under acidic and neutral conditions[J]. *BMC Genomic Data*, 25(1): 87.
- Townsend R V, Rioux R A, Kabbage M, *et al.* 2020. Oxalic acid production in *Clavireedia jacksonii* is dictated by pH, host tissue, and xylan[J]. *Frontiers in Microbiology*, 11: 1732.
- Wang B, Han Z H, Gong D, *et al.* 2022. The pH signalling transcription factor PacC modulate growth, development, stress response and pathogenicity of *Trichothecium roseum*[J]. *Environmental Microbiology*, 24(3): 1608–1621.
- Yang D, Luo L, Liu Y D, *et al.* 2024. O-mannosyltransferase CfPmt4 regulates the growth, development and pathogenicity of *Colletotrichum fructicola*[J]. *Journal of Fungi*, 10(5): 330.
- Yuan X X, Meng K X, Shi S W, *et al.* 2023. Trans-2-hexenal inhibits the growth of imazalil-resistant *Penicillium digitatum* Pdw03 and delays green mold in postharvest *Citrus*[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 199: 112304.
- Zhang M Y, Li F H, Meng F L. 2024. Functional characterization of the sterol-synthesis-related gene *CgCYP51* in the poplar anthracnose-causing fungus *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. *Forests*, 15(11): 1888.
- Zhu Y T, Zong Y Y, Gong D, *et al.* 2024. PacC mediates spatial regulation of the phospholipid metabolism in the apple fruit-*Penicillium expansum* interaction[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 208: 112666.