

文章编号:1001-1498(2005)04-0436-05

杨树冰核细菌溃疡病寄主内源激素含量变化研究

毛得奖¹, 张爱霞², 朱亚玲³, 项存悌⁴

(1. 山东轻工业学院食品与生物工程学院, 山东 济南 250100; 2. 济南出入境检验检疫局, 山东 济南 250014; 3. 山东轻工业学院化学工程学院, 山东 济南 250100; 4. 东北林业大学森林资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:感染冰核细菌溃疡病的杨树树皮内源生长素(IAA)和玉米素(ZR)含量要高于未被感染的健壮杨树,而感染冰核细菌溃疡病的杨树树皮内源赤霉素(GA₄)和脱落酸(ABA)含量要低于未被感染的健壮杨树。内源激素的变化最终导致感染杨树患病部位肿茎形态结构的形成、略变活跃的生理状态以及抗寒能力的降低。

关键词:冰核细菌;杨树冰核细菌溃疡病;植物内源激素

中图分类号:S763.1 文献标识码:A

Study on Endogenous Phytohormone Changes in Poplar Hosts Infected by Ice Nucleation Active Bacterial Canker Disease

MAO De-jiang¹, ZHANG Ai-xia², ZHU Ya-ling³, XIANG Cun-ti⁴

(1. Department of Food and Bioengineering, Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250100, Shandong, China; 2. Jinan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Jinan 250014, Shandong, China; 3. Department of Chemistry, Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250100, Shandong, China; 4. Department of Forest Resource and Environment, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

Abstract: The content of endogenous phytohormone like auxin and zeatin (a kind of cytokinesin) was higher in infected bark than that of in healthy bark, while the content of endogenous gibberellin and abscisic acid dropped in the diseased bark. The changes of endogenous phytohormone finally resulted in the development of swollen stem, slightly more active physiological state and decrease of the resistance to cold.

Key words: INA bacterium; poplar ice nucleation active bacterial canker; endogenous phytohormone

植物内源激素的含量变化与其抗病性有一定的关系。生长素(IAA)在感染抗性组织中积累,它与体内Ca²⁺结合可诱导细胞壁可溶性果胶的形成,以抵抗病原物产生的果胶酶的降解作用。吲哚丁酸(IBA)、乙烯、IBA+乙烯对马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)的诱抗松材线虫病的效果达60%,而IBA+乙烯对黑松(*Pinus thunbergii* Parl.)苗的诱抗效果却为12.5%^[1],抗榆树枯萎病的榆树(*Ulmus pumila* Linn.)受侵染后比感病榆树更快地形成导管侵填体,可能与生长素IAA浓度提高有利于抗病障碍形成有关^[2]。

但是IAA的含量也可能预示感病性强。IAA含量越高,寄主的感病性就越强^[3]。在感病植株尤其可见到乙烯的大量合成。细胞分裂素可以激活过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的活性,抵抗不饱和酸氧化时产生的“活性氧”的毒害作用。许多病原也能引起植物内源激素含量的变化,如赤霉素就是首先从水稻恶苗病菌藤仓赤霉(*Gibberella fujikuroi* (Saw.) Wollenw.)的研究中发现的。早在1935年美国加州大学Thimann证明*Rhizopus strombosus*菌的培养液中含有IAA,不久又发现根癌细菌分泌IAA,并与植物肿瘤的冠瘿

收稿日期:2004-06-18

基金项目:国家“九五”攻关项目子专题“杨树溃疡病持续控制技术”(96-005-04-01-03)

作者简介:毛得奖(1971—),男,山东高密人,博士。现主要从事工业微生物培育与应用方面的研究。

病有关。迄今研究的病害中,IAA 代谢失调与植物的感病性相关。IAA 含量越高,寄主感病性越强。另外,多数感病植物其细胞分裂素含量有所提高,感病组织中脱落酸(ABA)的量也增多。

植物内源激素不仅影响植物的抗病性,而且也影响植物的形态发育和形态建成。生长素是调节木质部分化的主要因子;细胞分裂素诱导分生组织发端和分生细胞分化;赤霉素促进纤维的形成,赤霉素和生长素结合使用,可以有效地促进次生木质部中纤维分化;乙烯能促进树木韧皮部和木质部分化。生长素含量的多少直接控制了沿树轴木质部导管、管胞的大小和密度^[4]。植物受到病原物侵染之后,会产生许多由于激素失调而引起的症状。激素可由植物本身和/或病原物所产生,含量的变化是二者相互作用的结果。根癌土壤杆菌(*Agrobacterium tumefaciens* (Smith and Townsend) Conn.) 侵染植物引起冠瘿肿瘤的形成是由于根癌土壤杆菌中的 Ti 质粒的 T-DNA 上带有编码与生长素和细胞分裂素合成有关的酶的基因(分别为 *iaaM*, *iaaH* 和 *ipt*),当 T-DNA 整合进植物的基因组中并表达时,细胞过量、自主地合成生长素和细胞分裂素,导致不正常的细胞分裂,形成肿瘤^[5~9]。Bayer 综述了遗传瘤与冠瘿瘤发生过程中植物激素的研究情况^[10]。病原微生物侵染寄主植物后引起植物内源激素失调的研究报道虽然较多,但是杨树(*Populus* spp.) 被冰核细菌(Ice nucleation active bacteria, 简称 INA 细菌, *Pseudomonas syringae* van Hall.) 感染后其内源激素的变化情况尚未见报道。由于杨树感染冰核细菌之后产生溃疡症状的同时还伴生有枝干肿大增生瘤状的形态特征^[11,12],所以本文试图研究冰核细菌侵染杨树寄主之后引起植物内源激素变化的情况及与肿茎形态特征形成的关系。

1 材料和方法

1.1 实验材料

从黑龙江省肇东市五站镇苗圃实验地采回健康和患病的小黑杨 14(*Populus simonii* × *P. nigra* 14) 2 年生枝条(去掉大部分叶片以减少携带途中过多的水分蒸腾散失)。

1.2 实验方法

将病健枝条同时分别在 30、25、20、15、10 光照恒温培养箱中水培。自培养之日起每隔 5 d 取枝条剥取

树皮,准确称取 1 g,迅速放入夹链标本袋中 - 40 以下低温冷冻保存,等所有样品取完后一起处理。将所取样品加 6 mL 样品提取液(80% 甲醇,内含 1 mmol L⁻¹ BHT(二叔丁基对甲苯酚,为抗氧化剂))在冰浴下研磨成匀浆,完全转移至 10 mL 试管中,摇匀,放置提取 4 h。4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上清液;沉淀中加 1 mL 提取液,搅匀,置 4 下再浸提 1 h。离心,合并上清液并记录体积,残渣弃去。将上清液转入 5 mL 塑料离心管中,40 氮气吹干。用样品稀释液(100 mL 磷酸盐缓冲液(8.0 g NaCl, 0.2 g KH₂PO₄, 9.6 g Na₂HPO₄·12H₂O, 溶解定容至 1 000 mL, pH 值 7.5) 中加 0.1 mL Tween-20 和 0.1 g 白明胶)定容至 1.5 mL, 10 000 r·min⁻¹ 冷冻离心 10 min 除去沉淀,上清液用于间接酶联免疫吸附分析(ELISA)测定,具体参见何钟佩方法^[13]。

2 结果和分析

植物内源激素虽然种类不多,含量极微,但是它们却参与从生长到衰老的几乎所有的生理生化反应和过程,起着十分重要的调控作用。鉴于杨树冰核细菌溃疡病产生肿茎的特点和前人研究关于无机元素 K 与细胞分裂素之间关系的猜测^[14],测定杨树患病后组织中的各种内源激素水平,对于推测和研究病原细菌的致病机制有着重要的意义。本次实验测定了生长素(IAA)、赤霉素(GA₄)、玉米素(ZR)(细胞分裂素的一种)、脱落酸(ABA) 4 种内源激素,结果见图 1~4。

从图 1a~e 可以看出,各温度处理下的病、健株在测定过程中 IAA 含量(鲜质量比,以下同)都是先上升,10 d 左右达到最大值,然后下降,在 15~20 d 之后趋向平缓。每一温度条件下病株的内源 IAA 含量略高于健株。虽然数值差异不显著,但却在整个测定过程中都呈现这种差异。病、健株之间基本一致的变动规律说明病害对植株的影响有其相对的独立性,与生长条件改变及温度间的互作用不明显。

从图 2a~e 可看出,尽管在差值上并没有达到显著的程度,但各温度处理在整个测定过程中都是患病株的 ZR 略高于健康株。虽然各温度处理间的 ZR 含量随时间的变化缺乏比较有规律的一致性,但同一温度处理内病、健株间基本一致的变动规律再次说明病害对植株的影响有其相对的独立性,与生长条件改变及温度间的互作用不明显。

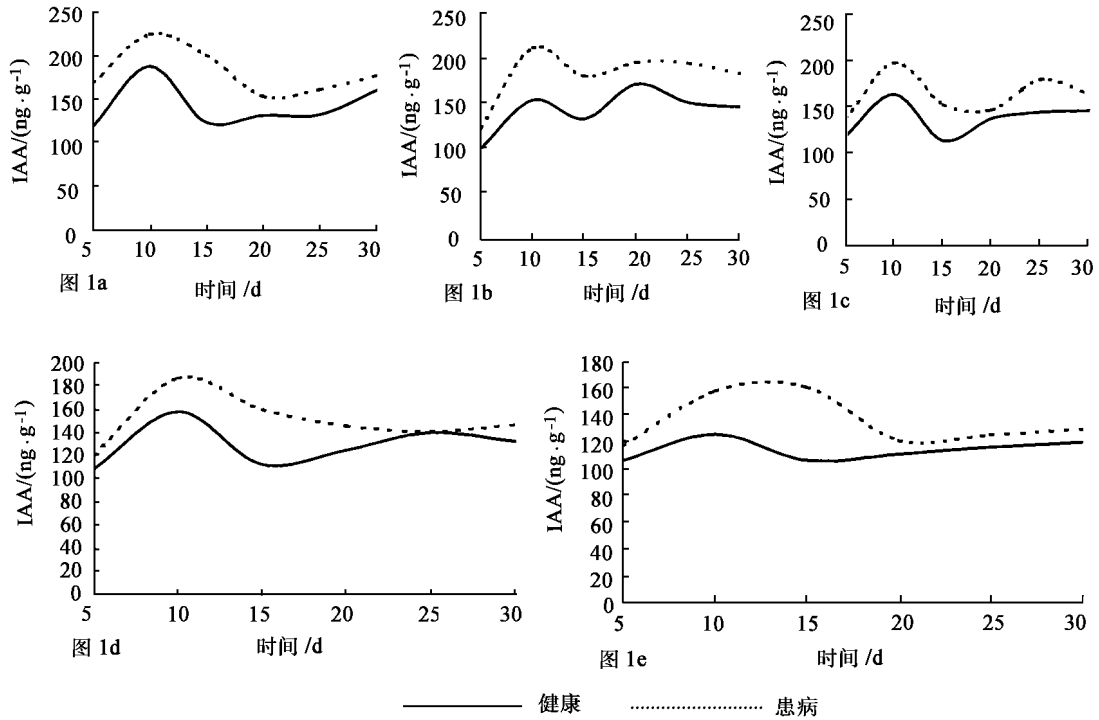


图 1 小黑杨 14 树皮的内源 IAA 含量(图 1 - a,b,c,d,e 分别代表 30 , 25 , 20 , 15 , 10 温度处理)

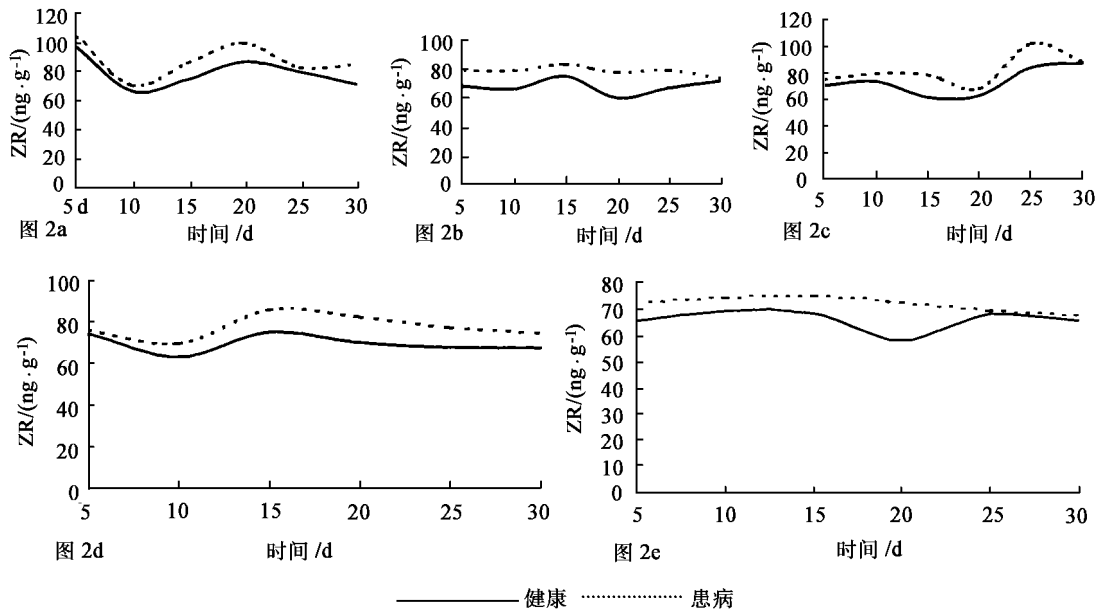


图 2 小黑杨 14 树皮的内源 ZR 含量(图 2 - a,b,c,d,e 分别代表 30 , 25 , 20 , 15 , 10 温度处理)

从图 3a ~ e 可以看出,测定过程中,每一温度处理的小黑杨 14 内源赤霉素(GA₄)含量波动都比较大。但是 5 个不同温度处理间在变动规律及数值大小上没有明显的差异,这说明小黑杨 14 内源赤霉素含量在较大的温度变动幅度内变化不大。尽管在差值上并没有达

到显著的程度,但是各温度处理在整个测定过程中都是患病株的 GA₄ 略低于健康植株。同一温度处理内病、健康株之间基本一致的变动规律也说明病害对植株的影响有其相对的独立性,与生长条件改变及温度间的相互作用不明显。

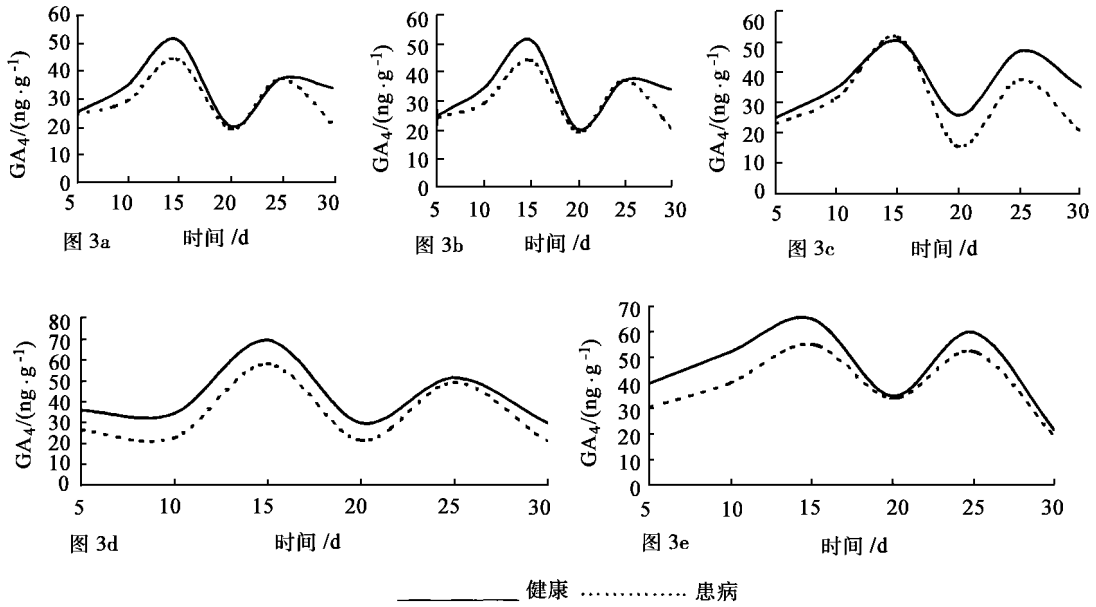


图 3 小黑杨 14 树皮的内源 GA₄ 含量(图 3 - a,b,c,d,e 分别代表 30 , 25 , 20 , 15 , 10 温度处理)

从图 4a ~ e 可看出,小黑杨 14 感染冰核细菌溃疡病初期,内源脱落酸含量降低了。在 25 和 30 条件下,病、健小黑杨 14 内源脱落酸含量在前 15 d 经历了一次较大的波动后,逐渐趋向平稳,并维持在绝对含量较低(<300 ng·g⁻¹)的水平上。而在 20 以下时,随

着水培时间的延长,病、健株的内源 ABA 含量都在逐渐上升,温度越低,上升的幅度越大。如 10 条件下的健康小黑杨 14 在第 30 天测定时内源 ABA 含量接近于 2 000 ng·g⁻¹,约为开始时的 10 倍。这说明温度对植株内源 ABA 含量的绝对水平影响比较大。

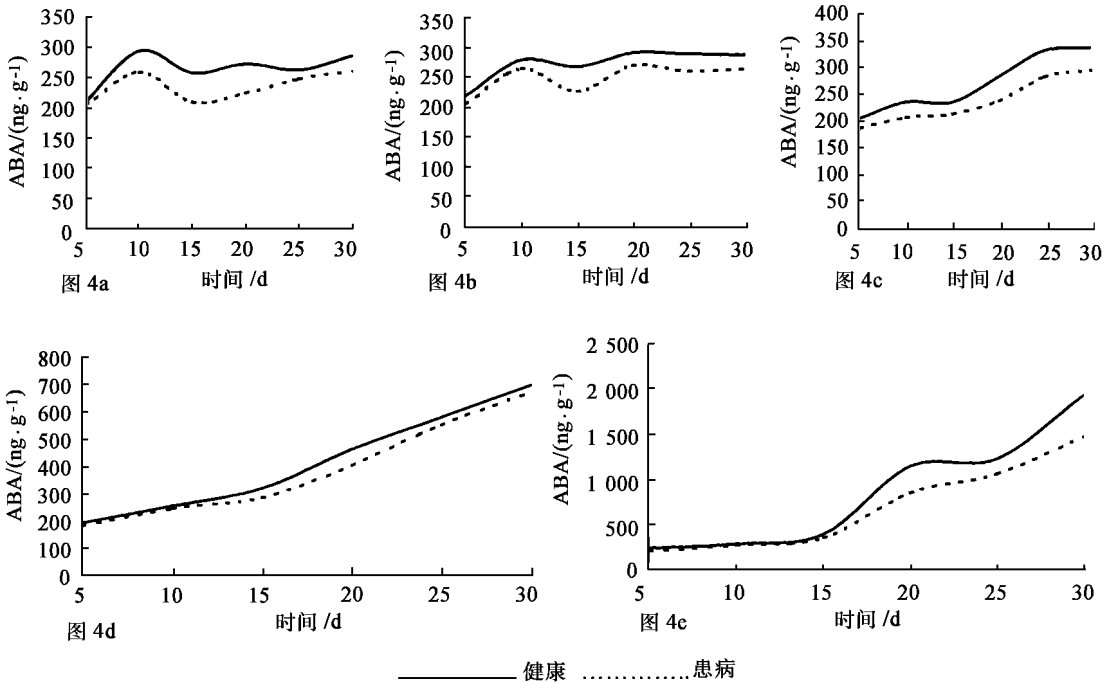


图 4 小黑杨 14 树皮的内源 ABA 含量(图 4 - a,b,c,d,e 分别代表 30 , 25 , 20 , 15 , 10 温度处理)

3 讨论

综合病、健小黑杨 14 四种内源激素的含量变化可

知,由于病害的影响,患病小黑杨 14 的生长素、玉米素含量比健康植株略微偏高,赤霉素和脱落酸含量比健康小黑杨 14 有了稍微的降低。尽管从数值上看含量

相差的并不显著,但贯穿几乎每一次测定的含量差异的稳定性说明病害对植株的内源激素水平产生了比较稳定的影响,只是影响的程度不大,这可能是病害还只是处在初期阶段,对植物的正常生理功能还未造成严重的影响。患病后生长素和玉米素的增高,可能是寄主对病害作出的激素生理响应,但考虑到杨树冰核细菌引起杨树产生肿茎的特殊症状,这两种激素的这种变化便也有可能和症状的形成有关系。赤霉素的生理作用是促进细胞伸长,结合在显微解剖时观察到木射线薄壁细胞变粗变短的结果,患病株赤霉素的减少很可能是这种变化的原因之一。脱落酸的变化结果也与水培过程中枝条的生根发芽情况相一致:25 和 30 条件下的水培条逐渐生根,枝上萌出新芽和叶;20 条件下的水培条在后期有少数一部分生出细根;而 15 和 10 条件下的枝条则始终没有生根。低温条件下的脱落酸的高水平积累很可能是抑制生根的主要因素。同时,患病株的生长素和细胞分裂素水平高,脱落酸水平低,会使植株处在一种比健康植株稍微活跃的生理状态,抗寒能力比健康植株减弱了。这种推测与患病杨树树皮经低温冷冻处理后电解质渗出率比健康植株高的结果是相符合的。

参考文献:

- [1] 葛明宏,徐福元. 激素、钙、水杨酸和铵诱导马尾松、黑松抗松材线虫病的研究[J]. 江苏林业科技,1999,26(1):7~12,61
- [2] Quелlette GB, Dioux D. Anatomical and physiological aspects of resistance to dutch elm disease[A]. In: Blanchette R A, Biggs A R. Defense Mechanisms of Woody Plants against Fungi[M]. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1992: 257~307
- [3] 方中达,陆家云,叶钟音,等. 中国农业百科全书(植物病理学卷)[M]. 北京:农业出版社,1996
- [4] 沈惠娟. 植物激素与木材形成[J]. 林业科学,1996,32(2):165~169
- [5] 李雄彪,吴绮. 植物细胞壁[M]. 北京:北京大学出版社,1993
- [6] 余叔文. 植物生理与分子生物学[M]. 北京:科学出版社,1992:397~399
- [7] G 卡尔, J S 舍尔. 植物肿瘤的分子生物学[M]. 樊梦康,徐杏阳译. 北京:科学出版社,1988
- [8] 刘良式. 植物分子遗传学[M]. 北京:科学出版社,1998
- [9] 贾士荣. T-DNA 转移机理[M]. 植物生理学通讯,1994,30(4):306~312
- [10] Bayer M H. Phytohormone und pflanzliche Tumorgenese[J]. Beitr Biol Pflanz, 1977, 53:1~54
- [11] 朴春根,晁龙军,曾大鹏,等. 冰核活性细菌引致杨树冻伤的初步研究[J]. 林业科学研究,1996,9(增刊):15~18
- [12] 晁龙军,吕全,贾秀珍,等. 生物冰核研究与应用的现状和前景[J]. 林业科学研究,2001,14(4):446~454
- [13] 何钟佩. 农作物化学控制实验指导[M]. 北京:北京农业大学出版社,1993
- [14] 李春江. 杨树细菌溃疡病寄主诱导抗性及相关植物生理的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,1995
- [1] 葛明宏,徐福元. 激素、钙、水杨酸和铵诱导马尾松、黑松抗松材