

硅和苯并噻二唑诱导烟草抗青枯病的机理分析

李盼盼¹, 丁伟^{*1,2}, 刘秋萍¹, 王丹¹, 王榕笙¹, 喻延¹, 张永强^{1,2}

1. 西南大学植物保护学院, 重庆市北碚区天生路2号 400715

2. 重庆烟草科学研究所, 重庆市北碚区天生路2号 400715

摘要:为了揭示叶面喷施矿质元素硅(Silicon, Si)和植物诱抗剂苯并噻二唑(Benzothiadiazole, BTH)对烟草抗青枯病的影响机制, 分析测定了Si和BTH处理后烟株根系青枯病菌及根茎叶的硅含量(质量分数)、叶片防御酶系活性、叶片抗性相关基因的表达量, 以及室内、田间烟草青枯病发病情况。结果表明, Si和BTH处理后的烟草根系青枯病菌含量[log(CFU)/g]均显著降低, 且Si处理能够显著增加烟草根系的硅含量; Si和BTH处理后烟株叶片中的防御酶系活性均增强, 其中Si处理可显著提高过氧化物酶(POD)与 β -1,3-葡聚糖酶(GLU)的活性, BTH处理能显著增强 β -1,3-葡聚糖酶(GLU)、多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性; Si和BTH处理对烟草抗性基因的表达量也有显著影响, *EFE26*、*ACC Oxidase*、*HIN1*和*PR2*的表达量均显著提高, 其中BTH处理后*PR1*、*PR1a/c*、*EFE26*、*ACC Oxidase*和*HIN1*的表达量显著高于Si处理, 而Si可显著提高*PR2*的表达量, 且显著高于BTH处理。Si是通过烟草根系硅含量的积累来抵抗青枯病菌的侵染, BTH则是以抗性相关基因表达量的显著提高来诱导烟草对青枯病的抗性。由此可见, 叶面施用Si和BTH是以不同的途径诱导烟草抵抗青枯病。

关键词: 苯并噻二唑; 硅; 烟草青枯病; 防御酶系; 抗性相关基因

中图分类号: S48 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-0861(2016)07-0023-08

Mechanism of silicon and BTH-induced resistance to tobacco bacterial wilt

LI Panpan¹, DING Wei^{*1,2}, LIU Qiuping¹, WANG Dan¹, WANG Rongsheng¹, YU Yan¹, ZHANG Yongqiang^{1,2}

1. College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China

2. Chongqing Tobacco Science Research Institute, Chongqing 400715, China

Abstract: To evaluate the effects of foliar spraying of two inducers (mineral elemental silicon, Si; plant elicitor benzothiadiazole, BTH) on tobacco bacterial wilt, the content of tobacco bacteria wilt pathogen in tobacco roots, the Si contents in tobacco roots, stalks and leaves, the activity of defense enzymes and the expressions of resistance genes in tobacco leaves and the incidence of tobacco bacteria wilt in laboratory and fields were analyzed after Si and BTH treatments. The results showed that the content of tobacco bacteria wilt pathogen in roots was significantly reduced by Si and BTH, and the Si content in the roots was significantly increased by the Si treatment. The activities of defense enzymes in leaves were also enhanced by the Si and BTH treatments, in which the activities of peroxidase (POD) and β -1,3-glucanase (GLU) were significantly promoted by the Si treatment, as did those of GLU, polyphenol oxidase (PPO) and phenylalanine ammonialyase (PAL) by BTH. The expressions of resistance genes (*EFE26*, *ACC Oxidase*, *HIN1* and *PR2*) in tobacco were significantly increased by

收稿日期: 2015-12-07 修回日期: 2016-01-22

基金项目: 中国烟草总公司重点项目“茄青枯病菌与烟草互作分子机制及其调控技术研究”(110201202002); 中国烟草总公司重庆市公司重点项目“烟草根茎病害系统控制技术集成与示范应用”(NY 20130501070005)。

作者简介: 李盼盼(1990—), 在读硕士研究生, 研究方向: 天然产物农药。E-mail: 1032688202@qq.com; 通讯作者: 丁伟, E-mail: dding818@163.com。

引文格式: 李盼盼, 丁伟, 刘秋萍, 等. 硅和苯并噻二唑诱导烟草抗青枯病的机理分析[J]. 烟草科技, 2016, 49(7): 23-30. (LI Panpan, DING Wei, LIU Qiuping, et al. Mechanism of silicon and BTH-induced resistance to tobacco bacterial wilt[J]. Tobacco Science & Technology, 2016, 49(7): 23-30.) DOI: 10.16135/j.issn1002-0861.20160704

both procedures, the expressions of *PR1*, *PR1a/c*, *EFE26*, *ACC Oxidase* and *HIN1* were significantly higher in tobacco treated with BTH; while the expression of *PR2* was significantly higher in tobacco treated with the Si treatment. Si induced the resistance to tobacco bacterial wilt through enhancing the Si accumulation in tobacco roots, as did BTH through promoting the expressions of resistance-related genes. In summary, this study demonstrated that foliar application of Si and BTH induced the resistance to tobacco bacterial wilt in tobacco in two different mechanisms.

Keywords: Benzothiadiazole; Si; Tobacco bacterial wilt; Defense enzyme; Resistance-related gene

烟草青枯病是由青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的一种典型的植物维管束病害,广泛分布于热带、亚热带及某些温带产区,其寄主植物、致病力强弱及发病条件日趋多样化,并且已经有从低纬度低海拔温热地区向高纬度高海拔冷凉地区逐步蔓延的趋势^[1-2]。目前从化学药剂、生物防治、改善耕作制度及抗病育种等方面已开展了大量研究,但生产上采取的各种青枯病防治措施均存在着一定的不足及局限性^[3-4]。为此,探索环保、有效的青枯病防控措施刻不容缓。苯并噻二唑(Benzothiadiazole, BTH)本身及其在植物体内的代谢产物均无杀菌活性,但能够影响病原菌生活史中的多个环节。BTH可改变植株的生理生化途径,同时激活植物体内的抗病因子,从而诱导植物对病原物的抗性^[5]。BTH不仅可以通过模拟SA对信号起转导作用,而且还可通过改变过氧化物酶(POD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)和 β -1,3-葡聚糖酶(GLU)等活性及PR基因的表达产生PRP(病程相关蛋白)来诱导植物产生抗性^[6-7]。王涛等^[1]研究提出,施用BTH可降低烟叶青枯病病情指数,同时激活烟草体内防御酶系的活性。Soylu等^[7]研究表明,BTH处理除了诱导抗病性外,还能导致POD、PAL和GLU等活性发生变化,并且能诱导PR基因的表达产生PRP。Kohler等^[8]研究指出,BTH预处理不仅极大地增强了PAL基因的表达,而且也增加了胼胝质(胼胝质是一种以 β -1,3键结合的葡聚糖)含量。BTH可诱导砂糖橘CHI的活性,诱导烟草PAL的活性,以及增强黄瓜和番茄POD、PPO、PAL和GLU的活性^[9],进而增强植物对青枯病的抗病能力。Lawton等^[10]研究认为,BTH在拟南芥*Arabidopsis thaliana*中通过激活SAR起作用,BTH激活SAR途径是独立于乙烯和茉莉酸甲酯途径的。硅(Silicon, Si)主要积累于植物根系,在茎和叶中积累较少,根系硅含量与青枯病菌的数量成负相关。Si可在叶片细胞壁上产生诱导抗性^[11]。Kim等^[12]试验认为Si沉积形成角质-硅双层,使组织硅质化,进而形成机械障碍,阻碍病原菌的侵入和扩散。Dannon等^[11]研究指出,番茄

通过增施Si可显著降低青枯病的发病率, Si处理同时可诱导番茄产生抗青枯病的能力。Kurabachew等^[13]研究表明, Si处理后植物发病程度的降低归因于相关防御酶系活性的增加,如POD和PAL,这些酶在调节抗真菌化合物的产生和累积方面起着重要作用,如酚类代谢产物(木质素、抗毒素、病程相关蛋白)在感染青枯病的番茄上增加了相关抗性基因的表达。Kiirika等^[14]研究得出, Si和甲壳素联合处理后,涉及植物逆境反应的几丁质酶(CHT)和POD等防御酶系活性大幅度上调。以上研究发现植株的抗病水平与其防卫机制密切相关,关于Si、BTH与植株(番茄、水稻、拟南芥等)青枯病关系的研究相对较多,但有关在病原菌存在条件下Si和BTH如何降低烟草青枯病病害严重度,以及抗烟草青枯病的作用机理尚不清楚。为此,从诱导抗性角度出发,通过诱导调控措施达到防控烟草青枯病的目的^[15],并从植物相关防御酶系活性、硅含量及相关防御基因的表达量方面探索其作用机理,旨在为烟草青枯病的有效防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试诱导剂:天然活性硅(有效成分为 H_4SiO_4 , 美国太瑞国际科技有限公司);苯并噻二唑(Benzothiadiazole, 美国Sigma公司)。

供试烟草品种为云烟97,低抗烟草青枯病。烟苗来自西南大学植物保护学院天然产物农药实验室育苗基地,烟苗在昼夜温度为26℃/20℃,光周期为14 h光照/10 h黑暗的温室条件下培育。在烟草青枯病的病株残体上分离、鉴定所得的青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)由本实验室采自重庆市彭水润溪乡试验田。采用上海昕瑞仪器仪表有限公司WGZ-2-XJ细菌浊度计确定菌液浓度(约 10^8 cfu/mL)^[15]。

1.2 试验方法

1.2.1 温室试验

试验于2015年3~7月进行。共设置3个处

理,每处理 10 株烟苗,培养到四叶一心时进行诱导剂处理。共喷施两次,每次间隔 1 d。处理 1: BTH (1.0 mmol/L),全株喷施 BTH 溶液 20 mL,以叶面全部湿润为准;处理 2: Si (2.3 mmol/L),全株均匀喷施 Si 溶液 20 mL,以叶面全部湿润为准;处理 3: 对照 (CK),全株均匀喷施超纯水,以叶面全部湿润为准。喷施 1 d 后灌根青枯病菌,每株烟苗接种青枯病菌 10 mL (约 1×10^8 cfu/mL),置于人工气候箱中培养。

1.2.1.1 烟株根系青枯病菌含量的测定

接种后第 3、5、7 天,每个处理随机抽取 3 株烟株根系进行青枯病菌含量的测定,除去烟株根系培养基质和地上部分,用蒸馏水洗净并用吸水纸吸干烟株根系表面的水分后,得到干净、完整的烟株根系,准确称取根系质量并记录。在装有 75% 乙醇的培养皿中浸泡烟株根系消毒 15 min。消毒后冲洗 5~6 次,吸干水分后于灭菌研钵中充分研磨烟株根系。取灭菌水 10 mL 加入研磨研钵中与烟株根系研磨物充分混匀,静置 5 min 吸取上清液 1 mL,即为烟株根系含菌悬浮液 (菌悬液)。对菌悬液进行 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 和 10^{-4} 的梯度稀释,并取菌悬液稀释液 0.1 mL 均匀涂布在 NA 培养基 (牛肉浸膏 3.0 g, 酵母浸膏 1.0 g, 蛋白胨 5.0 g, 葡萄糖 10.0 g, 琼脂 20.0 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 6.8~7.2; 121 °C 灭菌 15 min, 每 100 mL 加入 150 μ L TTC) 平板上,每个浓度重复 3 次,30 °C 培养 48 h 后,记录青枯病菌的菌落数,计算不同稀释梯度下菌悬液中青枯病菌数量,并计算根系青枯病菌含量 [$\log$ (CFU)/g]。

1.2.1.2 烟草根茎叶中硅含量的测定

接菌后 1、3 和 5 d,取烟草的根茎叶在 120 °C 烘箱中烘干 4 h,再分别取烘干的各部位烟草样品 10 mg 测定硅含量 (质量分数)。取 10 mg 研磨材料放入 1.5 mL 离心管中,参照 Novozamsky 等^[16]的方法测定硅含量,在波长 811 nm 处测定吸光度 (OD 值),以吸光度为纵坐标, Si 浓度为横坐标,得标准曲线。

1.2.1.3 Si 和 BTH 处理烟草防御酶系指标的测定

接菌后 1、2、3、4 和 5 d,取处理后的烟株相同部位烟叶,用于防御酶系活性的测定。参考阚光锋等^[17]的方法测定 POD 活性;参考李鑫等^[18]的方法测定 PPO 活性;参考郑世燕等^[15]的方法测定 PAL 活性;参考张国良等^[19]的方法测定 CHT 和 GLU 活性。

1.2.1.4 烟草相关防御基因表达量的测定

接菌后 3 d,取烟草同一部位叶片样品迅速用

液氮保存进行 RNA 提取和基因表达分析。总 RNA 用常规的 TRIzol 方法提取并纯化。PCR 反应条件参考刘爱荣等^[21]的方法。计算内标为烟草中 *EF1 α* 基因的荧光值,参照 Livak 等^[22]的 $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ 法计算基因相对表达水平,重复 3 次。参考 Dang 等^[20]的方法扩增基因的特异引物序列。

1.2.1.5 烟草室内控病效果的检测

试验处理同上,重复 3 次。室内病情调查:青枯病菌在接种到烟草幼苗后,对烟草的发病情况每天进行观察。在烟草上发现青枯病萎蔫症状后,参考国家标准 GB/23222—2008^[23]每两天在同一时间调查烟株发病情况 1 次,对照所有烟株基本枯死时调查结束。室内烟苗青枯病病情分级标准参考郑世燕等^[15]的方法,并计算发病率、病情指数和防治效果。

发病率 = 病株数 / 调查株数 $\times 100\%$

病情指数 = (发病株数 $\times$ 该病级代表值) / 调查总株数 $\times$ 最高级代表值 $\times 100$

防治效果 = (对照病情指数 - 处理病情指数) / 对照病情指数 $\times 100\%$

1.2.2 田间试验

试验于 2015 年 5~8 月进行。共设 3 个处理,各处理重复 3 次,共 9 个小区,每小区 75 株,不接种青枯雷尔氏菌,田间随机区组排列,四周设有保护行。处理 1: BTH (1.0 mmol/L),全株喷施 BTH 溶液 200 mL;处理 2: Si (2.3 mmol/L),全株均匀喷施 Si 溶液 200 mL;处理 3: 对照 (CK),全株均匀喷施超纯水。3 个处理均在烟苗移栽还苗后、团棵期和旺长期各喷施 1 次,共喷施 3 次,喷施均以叶面全部湿润为准。

根据国家标准 GB/23222—2008^[23]进行烟草青枯病发病情况调查,取样方法采用“对角线五点法”,每点挂牌调查 10 株,在烟田出现烟草青枯病时,对各小区青枯病的发病情况开始调查,每隔 5 d 调查 1 次,共调查 6 次,并计算各处理小区的发病率、病情指数和防治效果。

1.3 数据处理

采用 Excel 2013 进行试验数据处理,同时计算烟草青枯病的发病率及各相关防御酶系的活性,然后采用 SPSS17.0 统计软件用 Duncan 法进行差异显著性检验,并采用 Origin9 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 诱导剂处理对烟株根系青枯病菌含量的影响

Si 和 BTH 处理并接菌后,烟株根系菌含量呈现逐渐积累的趋势,但其中 BTH 处理对烟株根系

菌含量增加的抑制效果最明显,见表1。接种病原菌后第7天BTH处理烟株根系的青枯病菌含量与其他处理差异显著;Si处理烟株根系的青枯病菌含量与BTH处理及对照间差异显著。

表1 Si和BTH处理的烟株根系青枯病菌含量比较^①
Tab.1 Contents of tobacco bacterial wilt pathogen in tobacco roots after Si and BTH treatments

处理	[log(CFU)·g ⁻¹]		
	接种病原菌后3 d	接种病原菌后5 d	接种病原菌后7 d
CK	6.13±0.98a	6.86±0.45a	8.03±0.90a
BTH	5.74±0.81b	6.38±0.38b	6.87±0.33c
Si	5.89±0.76b	6.69±0.63a	7.11±0.62b

注:①数据后带有不同小写字母者表示处理间差异达到P<0.05显著水平。下同。

2.2 诱导剂处理对烟草不同部位硅含量的影响
施用不同诱导剂处理结果(表2)表明,茎中各处理间及接种病原菌后1~5 d内硅含量差异不显著,叶中硅含量在各处理间及接种病原菌后1~5 d内差异不显著。根系硅含量在接种病原菌后1~5 d内各处理均呈现逐渐增加的趋势,且Si处理接种病原菌后第3天及第5天与第1天间存在显著差异,其他两处理接种病原菌后1~5 d内差异

表2 Si和BTH处理烟草根茎叶硅含量的比较^①
Tab.2 Contents of Si in tobacco roots, stalks and leaves after Si and BTH treatments

处理	茎		
	接种病原菌后1 d	接种病原菌后3 d	接种病原菌后5 d
CK	3.41±0.04aA	3.20±0.32aA	3.49±0.22aA
BTH	3.26±0.13aA	3.22±0.43aA	3.56±0.14aAB
Si	3.33±0.21aA	3.44±0.23aA	3.14±0.02aA
处理	叶		
	接种病原菌后1 d	接种病原菌后3 d	接种病原菌后5 d
CK	3.03±0.18aA	2.90±0.11aA	3.14±0.29aA
BTH	3.38±0.01aA	3.03±0.13aA	3.26±0.32aA
Si	3.63±0.22aA	3.33±0.27aA	3.44±0.15aA
处理	根系		
	接种病原菌后1 d	接种病原菌后3 d	接种病原菌后5 d
CK	3.11±0.14aA	4.51±0.12aAB	5.08±0.02aAB
BTH	2.92±0.23aA	4.23±0.43aAB	4.82±0.28aAB
Si	3.15±0.08aA	6.53±0.03bB	7.63±0.16bB

注:①小写字母表示垂直方向比较,大写字母表示水平方向的比较;数据后带有不同字母者表示处理间差异达到P<0.05显著水平。

不显著;根系硅含量在接种病原菌后第1天各处理间差异不显著, Si处理接种病原菌后第3天烟株根系硅含量比接种病原菌后第1天提高2.07倍,接种病原菌后第5天比第3天提高1.17倍,与BTH和对照间差异显著;BTH处理接种病原菌后第3天烟株根系硅含量比接种病原菌后第1天提高1.45倍,接种病原菌后第5天比第3天提高1.14倍,与Si处理间差异显著,但与对照间差异不显著;对照接种病原菌后第3天烟株根系硅含量比第1天提高1.45倍,第5天比第3天提高1.03倍,与Si处理间差异显著,但与BTH处理间差异不显著。

2.3 诱导剂处理对烟草叶片中防御酶系活性的影响

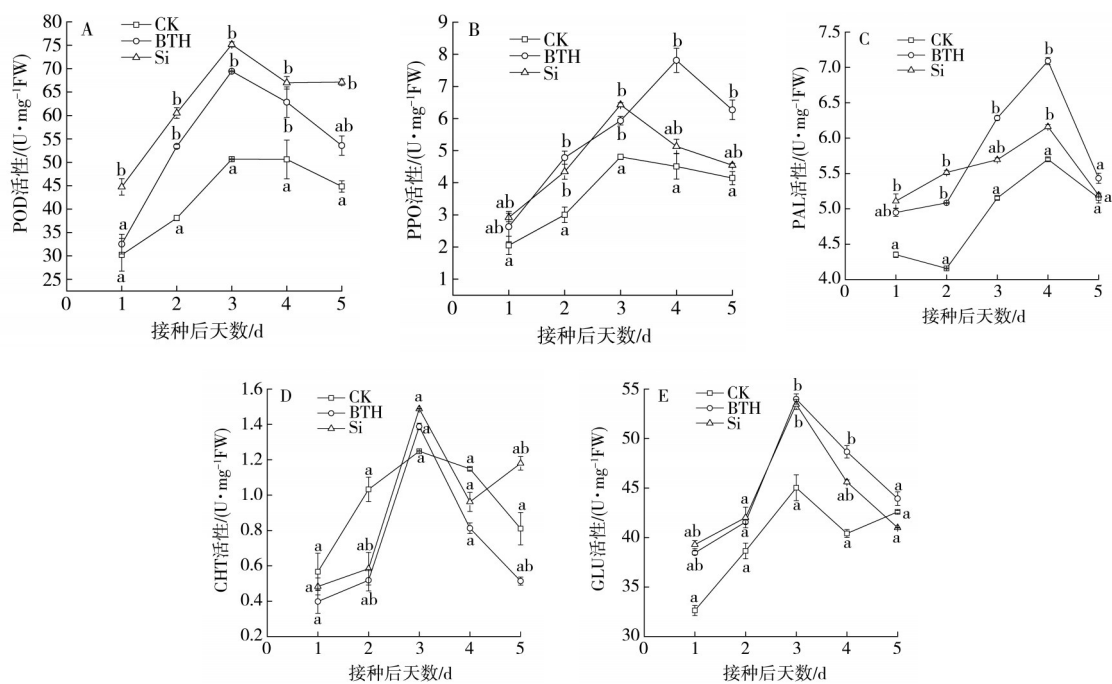
烟叶喷施Si和BTH处理感染青枯病菌烟草体内POD的活性均显著提高且在接种病原菌后第3天达到峰值,呈现先上升后下降的趋势。Si和BTH二者相比,其中Si处理POD活性最高,并在接种病原菌后第3天Si和BTH处理与对照相比分别提高1.48和1.37倍,两处理间差异不显著,但两者与对照间差异显著(图1A)。

烟叶喷施Si和BTH处理可不同程度地促进感染青枯病菌烟草体内PPO活性的增强,且Si和BTH处理均呈现先上升后下降的趋势。BTH处理PPO活性在接种病原菌后第4天最高,比对照增加1.63倍,与对照间差异显著;Si处理PPO活性在接种病原菌后第3天最高,比对照提高1.34倍,与对照间差异显著;Si和BTH处理间差异不显著(图1B)。

烟叶喷施BTH和Si处理后,烟草体内PAL活性均有一定程度提高,且在接种病原菌后第4天达到峰值,呈现先上升后下降的趋势。BTH处理接种病原菌后第4天PAL活性比对照提高1.22倍,与对照间差异显著;Si处理比对照增加1.11倍,且与对照间差异显著(图1C)。

烟叶喷施Si和BTH处理后,对烟草体内CHT活性均有一定程度的影响,且在接种病原菌后第3天达到峰值,呈现先上升后下降的趋势。Si和BTH处理接种病原菌后CHT活性比对照分别提高1.19和1.11倍,但三者间差异不显著(图1D)。

烟叶喷施Si和BTH处理后,烟草体内GLU活性均有一定程度的提高,且在接种病原菌后第3天达到峰值,呈现先上升后下降的趋势,且Si和BTH处理比对照分别提高了1.18和1.20倍,两处理间差异不显著,但与对照间差异显著(图1E)。



同列不同小写字母表示处理间差异达到 $P<0.05$ 显著水平,下同

图 1 Si 和 BTH 处理的烟草防御酶系活性比较

Fig.1 Activities of tobacco defense enzymes after Si and BTH treatments

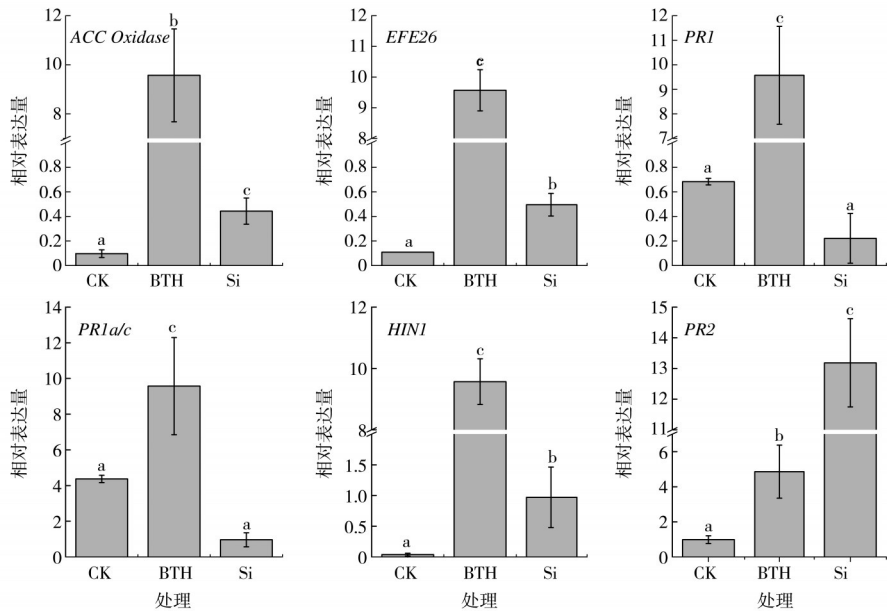
2.4 诱导剂处理对烟草抗性基因表达量的影响

取喷施诱导剂并接种青枯病菌 3 d 后的烟草叶片抗性基因的表达量见图 2。BTH 处理叶片中 SA 途径的 *PR1* 基因和 *PR1a/c* 基因、ET 途径的 *EFE26* 基因和 *ACC Oxidase* 基因以及 HR 的 *HIN1* 基因的表达量均显著高于 Si 处理和对照; Si 处理叶片中 SA 途径的 *PR2* 基因的表达量显著高于 BTH

处理和对照。

2.5 诱导剂处理对烟草室内发病率的影响

在一定程度上,喷施不同诱导剂均可有效减轻烟草青枯病发生的严重度(图 3)。BTH 处理发病率最低,其次为 Si 处理。在接种病原菌后第 20 天, Si 和 BTH 处理烟草青枯病的发病率分别为 40% 和 30%, 分别比对照降低 40% 和 70%。喷施两



柱状图上带有不同小写字母着表示处理间差异达到 $P<0.05$ 显著水平

图 2 Si 和 BTH 处理的烟草叶片抗性基因表达量比较

Fig.2 Expressions of tobacco resistance genes after Si and BTH treatments

种诱导剂对烟草青枯病均有一定的控病效果,且两者间差异显著,对青枯病控病效果较好的诱导剂为BTH,Si处理次之。

2.6 诱导剂处理对大田烟草发病率的的影响

对处理区烟草青枯病发病情况进行调查,发现喷施Si和BTH均可降低烟草青枯病的田间发病率和病情指数。田间试验结果(图4)表明,青枯病发病最重的为对照区,与Si和BTH处理间存在显

著差异;青枯病发病最轻的为BTH处理,Si处理次之,两处理间存在显著差异,在8月8日调查Si和BTH处理烟草青枯病的发病率分别为60%和46.67%,比对照分别降低13.33%和26.66%。喷施不同诱导剂对烟草青枯病均有一定的控病效果,且差异显著,对青枯病控病效果最好的为BTH处理,Si处理次之,Si和BTH对烟草青枯病的最好控病效果分别为40.00%和66.67%。

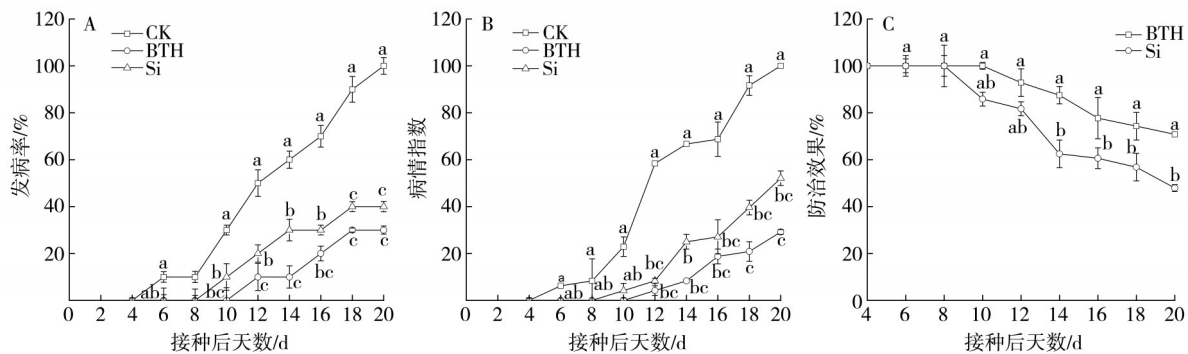


图3 Si和BTH处理的烟草室内发病情况比较

Fig.3 Incidences of tobacco bacteria wilt in laboratory after Si and BTH treatments

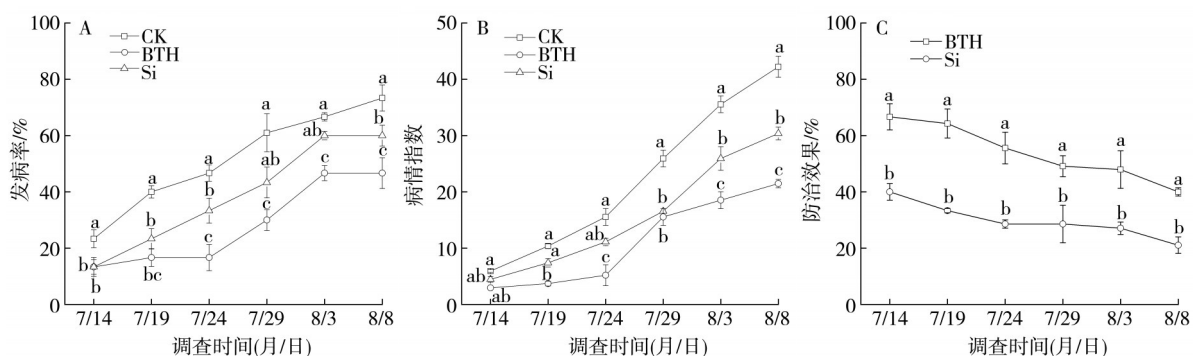


图4 Si和BTH处理的田间青枯病发病情况比较

Fig.4 Incidences of tobacco bacteria wilt in fields after Si and BTH treatments

3 结论与讨论

没有直接抑菌效果的Si和BTH单施于烟株上对烟草青枯病的发生有显著的减缓作用。Si和BTH处理均能显著提高烟草对青枯病的控制效果,其中BTH控病效果显著;在青枯病发病严重的烟田喷施Si和BTH可较有效控制烟草青枯病的发生;Si和BTH处理可显著提高感染青枯病烟株体内POD、PPO、PAL、CHT和GLU活性,并显著降低病原菌含量,抗性相关基因*PR1*、*PR1a/c*、*HIN1*、*ACC Oxidase*、*EFE26*和*PR2*的表达量也显著提高;Si处理还显著提高感染青枯病烟草根系硅含量。Si和BTH控制烟草青枯病的可能原因:

(1)在接菌后,BTH处理可有效地控制烟草青枯病的发生,在烟株发病初期可显著提高烟株体内POD、PPO、PAL、CHT和GLU活性,POD活性的显著提高促使木质素和植保素的合成,从而提高烟株抵抗病原菌侵入的能力;PAL能增加胍胍质的量,同时与木质素的累积呈正相关;PPO能将酚类物质氧化成对病原物有毒的醌类物质,抵抗病菌的入侵主要是通过可催化木质素及其他酚类氧化产物的生成进而形成保护性屏蔽;CHT对细菌的毒害作用是对细胞壁的肽聚糖进行分解,同时对转葡萄糖基反应进行催化;GLU多与CHT协同转入植物,增强抑菌活性和植物抗病性。同时诱导SA信号传导途径*PR1a/c*基因(CHT)的表达量上

调,与生理指标 CHT 及 GLU 活性的测定结果一致;SA 信号传导途径 *PR1*、*PR1a/c* (CHT) 基因表达的蛋白均为 SAR 标志蛋白,*PR1*、*PR1a/c* 表达量显著上调,有助于 SAR 对烟草青枯病的防御;过敏反应应答机制中的 *HIN1* 基因为相应 Spm(精氨)的蛋白诱导基因,而 Spm 可作为信号参与 HR 反应,*HIN1* 基因表达量显著上调,对烟草抗青枯病起一定的辅助作用;*ACC Oxidase*、*EFE26* 基因编码的蛋白均为乙烯合成途径的关键酶,*ACC Oxidase*、*EFE26* 表达量显著上调,有利于 ET 信号的传导,从而提高烟草对青枯病的抗性;在一定范围内使烟株处于激活状态,BTH 处理烟株体内 POD、PPO、PAL、CHT 和 GLU 活性越高,*PR1*、*PR1a/c*、*HIN1*、*ACC Oxidase* 和 *EFE26* 表达量上调越明显,对烟草青枯病的控病效果越好。

(2)接菌后,Si 可显著降低烟草青枯病的发病率,其控病效果显著提高;在烟株发病初期可显著提高烟株体内 POD、PPO、PAL、CHT 和 GLU 活性;*PR2* 为 SAR 和植物抗病基因介导反应中的标志基因,*PR2* 基因的表达量显著上调有助于 SA 信号的传导;烟草茎叶中硅的积累量变化不大,烟草各处理根系硅积累量随着时间的推移均显著增强,其中 Si 处理根系的硅积累量最大,烟株根系硅含量的增加在烟草青枯病的控病方面起着一定的促进作用,可沉积形成角质-硅双层,使细胞壁加厚,进而阻止病原菌的侵入;在一定范围内 Si 处理烟株体内 POD、PPO、PAL、CHT 和 GLU 活性越高,*PR2* 表达量上调越明显,硅含量增加越显著,对烟草青枯病的控病效果越好。

综上所述,Si 和 BTH 在诱导烟草抗青枯病的途径上存在着差异:单施 Si 可显著诱导烟草抗青枯病的原因主要是烟草根系硅含量的积累,使根系的细胞壁加厚,避免了病原菌对烟草的侵染;单施 BTH 则是通过提高烟草抗性相关基因表达量进而有效的诱导烟草对青枯病产生抗性。Si 与 BTH 是通过不同的途径诱导烟草抗青枯病。

参考文献

- [1] 王涛,陈泽鹏,万树青,等. 苯并噻二唑(BTH)诱导烟草抗青枯病活性与抗病机理研究[J]. 中国烟草学报,2008,14(增刊1):29-32.
WANG Tao, CHEN Zepeng, WAN Shuqing, et al. Studies on resistance induced by benzothiadiazole (BTH) against *Pseudomonas solanacearum* and its resistant mechanism[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2008, 14 (Suppl 1):29-32.
- [2] 李林章,谢从华,柳俊. 茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)分子生物学基础及其致病机制[J]. 中国马铃薯,2005,19(5):290-294.
LI Linzhang, XIE Conghua, LIU Jun. Molecular biology and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* [J]. Chinese Potato Journal, 2005, 19(5):290-294.
- [3] Ghareeb H, Bozsó Z, Ott P G, et al. Transcriptome of silicon-induced resistance against *Ralstonia solanacearum* in the silicon non-accumulator tomato implicates priming effect [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2011, 75(3):83-89.
- [4] 孔凡玉. 烟草青枯病的综合防治[J]. 烟草科技,2003(4):42-43.
KONG Fanyu. Integrated control of tobacco bacterial wilt disease [J]. Tobacco Science & Technology, 2003(4):42-43.
- [5] 陈泽鹏,王涛,陈伟明,等. 烟草抗青枯病的药剂诱导效应与抑菌增效作用[J]. 烟草科技,2011(1):74-78.
CHEN Zepeng, WANG Tao, CHEN Weiming, et al. Inductive effect and synergism of fungicides against tobacco bacterial wilt disease [J]. Tobacco Science & Technology, 2011(1):74-78.
- [6] Gozzo F. Systemic acquired resistance in crop protection: from nature to a chemical approach [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(16):4487-4503.
- [7] Soyulu S, Baysal Ö, Mine Soyulu E. Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-S-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedlings [J]. Plant Science, 2003, 165(5):1069-1075.
- [8] Kohler A, Schwindling S, Conrath U. Benzothiadiazole-induced priming for potentiated responses to pathogen infection, wounding, and infiltration of water into leaves requires the *NPRI/NIMI* gene in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2002, 128(3):1046-1056.
- [9] 王莉. BTH 诱导黄瓜和番茄对主要病害的抗性研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学,2005.
WANG Li. Benzothiadiazole-induced resistance in cucumber and tomato against primary diseases [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2005.
- [10] Lawton K A, Friedrich L, Hunt M, et al. Benzothiadiazole induces disease resistance in *Arabidopsis* by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway [J]. The Plant Journal, 1996, 10(1):71-82.
- [11] Dannon E A, Wydra K. Interaction between silicon amendment, bacterial wilt development and phenotype of *Ralstonia solanacearum* in tomato genotypes [J]. Physiological Molecular Plant Pathology, 2004, 64(5):233-243.
- [12] Kim S G, Kim K W, Park E W, et al. Silicon-induced

- cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast [J]. *Genetics and Resistance*, 2002, 92(10): 1095–1103.
- [13] Kurabachew H, Wydra K. Induction of systemic resistance and defense-related enzymes after elicitation of resistance by rhizobacteria and silicon application against *Ralstonia solanacearum* in tomato (*Solanum lycopersicum*) [J]. *Crop Protection*, 2014, 57: 1–7.
- [14] Kiirika L M, Stahl F, Wydra K. Phenotypic and molecular characterization of resistance induction by single and combined application of chitosan and silicon in tomato against *Ralstonia Solanacearum* [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2013, 81: 1–12.
- [15] 郑世燕, 丁伟, 杜根平, 等. 增施矿质营养对烟草青枯病的控病效果及其作用机理 [J]. *中国农业科学*, 2014, 47(6): 1099–1110.
ZHENG Shiyan, DING Wei, DU Genping, et al. Control efficacy and action mechanism of mineral nutrition on tobacco bacterial wilt [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(6): 1099–1110.
- [16] Novozamsky I, Van Eck R, Houba V J G. A rapid determination of silicon in plant material [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1984, 15(3): 205–211.
- [17] 阚光锋, 张广民, 房保海, 等. 烟草野火病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*) 对烟草细胞内 5 种防御酶系统的影响 [J]. *山东农业大学学报 (自然科学版)*, 2002, 33(1): 28–31.
KAN Guangfeng, ZHANG Guangmin, FANG Baohai, et al. The effects of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* on the defendant enzymes in tobacco cells [J]. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)*, 2002, 33(1): 28–31.
- [18] 李鑫. 矿质元素调控烟草抗 PVY^N 生理生化及分子机制研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2009: 51–55.
- LI Xin. The physiological, biochemical and molecular mechanism of mineral elements regulating tobacco resistant to PVY^N [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2009: 51–55.
- [19] 张国良, 丁原, 王清清, 等. 硅对水稻几丁质酶和 β -1, 3-葡聚糖酶活性的影响及其与抗纹枯病的关系 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2010, 16(3): 598–604.
ZHANG Guoliang, DING Yuan, WANG Qingqing, et al. Effects of silicon on chitinase and β -1, 3-glucanase activities of rice infected by *Rhizoctonia solani* and its relation to resistance [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2010, 16(3): 598–604.
- [20] Dang F F, Wang Y N, She J J, et al. Overexpression of *CaWRKY27*, a subgroup IIe WRKY transcription factor of *Capsicum annuum*, positively regulates tobacco resistance to *Ralstonia solanacearum* infection [J]. *Physiologia Plantarum*, 2014, 150(3): 397–411.
- [21] 刘爱荣, 陈双臣, 陈凯, 等. 哈茨木霉对黄瓜尖孢镰刀菌的抑制作用和抗性相关基因表达 [J]. *植物保护学报*, 2010, 37(3): 249–254.
LIU Airong, CHEN Shuangchen, CHEN Kai, et al. Antagonism effect of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum* on cucumber and related genes expression analysis [J]. *Journal of Plant Protection*, 2010, 37(3): 249–254.
- [22] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402–408.
- [23] GB/T 23222—2008 烟草病虫害分级及调查方法 [S].
GB/T 23222—2008 Grade and investigation method of tobacco diseases and insect pests [S].

责任编辑 董志坚