

根茎病害研究通讯

Communications in Plant Root and Stem Diseases Research

(2018 年第 1 期, 总第 59 期)

主办: 西南大学植物保护学院, 重庆烟草科学研究所

主编: 丁伟

2018 年 1 月 30 日

研究进展

CspC 在青枯雷尔氏菌 CQPS-1 致病及抗胁迫过程中的作用

CspC 是冷休克蛋白 (CSP) *CspA* 家族的成员之一。有报道指出, *CspC* 参与细菌转录抗终止作用并且能调节 *RpoS* 和 *UspA* 的表达, 此外, *CspC* 还在菌株抵抗环境胁迫如 NaCl、pH 和乙醇胁迫中起着重要作用。西南大学植物青枯病研究团队对基因 *cspC* 在菌株抗胁迫及致病过程中的作用进行了相关探究。我们成功构建了 CQPS-1 菌株的 *cspC* 缺陷型突变体菌株 ($\Delta cspC$), 从菌落形态上看, 突变株 $\Delta cspC$ 与野生型 CQPS-1 之间不存在明显差异 (图 1), 在丰富培养基中, 突变株 $\Delta cspC$ 与野生型 CQPS-1 的生长情况也不存在差异 (图 2)。通过回接烟草云烟 87, 来比较突变体菌株与野生型菌株的致病力差异情况, 由结果可知, 缺失 *cspC* 基因后菌株的致病力显著下降 (图 3), 由此可见, 基因 *cspC* 在青枯雷尔氏菌菌株 CQPS-1 的致病力过程中起到一定正调节作用。在比较了突变株与野生型菌株的生物膜及运动性后, 可知, 缺失 *cspC* 基因后菌株的生物膜未发生显著性变化 (图 4), 而运动性则表现出显著增强 (图 5)。从菌株在不同 pH 条件下的生长情况可知, 在酸性条件下 (pH=4.0), 缺失 *cspC* 基因后菌株的适应性更强, 而在碱性条件下 (pH=8.0 和 8.5), 缺失 *cspC* 基因后菌株的适应性降低 (图 6)。比较突变株与野生型菌株在含 1% NaCl 的培养基中的生长情况可知, 缺失 *cspC* 基因后菌株的渗透压敏感性降低 (图 7)。而在高温胁迫下, 突变株 $\Delta cspC$ 菌株的适应性降低。综上所述, 本研究团队明确了基因 *cspC* 在青枯雷尔氏菌菌株 CQPS-1 的致病及抗胁迫过程中存在一定作用, 而其具体的机制还有待进一步探究。

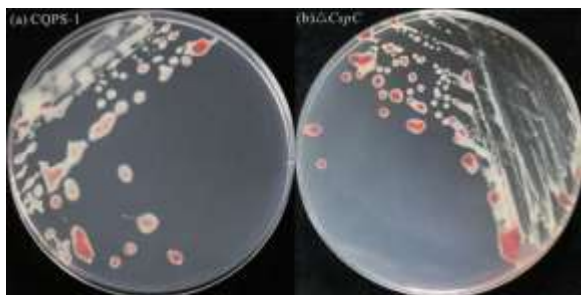


图1 菌株 $\Delta cspC$ 与CQPS-1的菌落形态

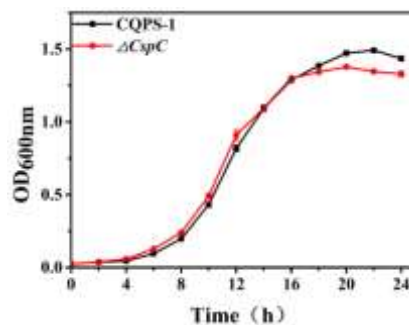


图2 菌株 $\Delta cspC$ 与CQPS-1生长曲线

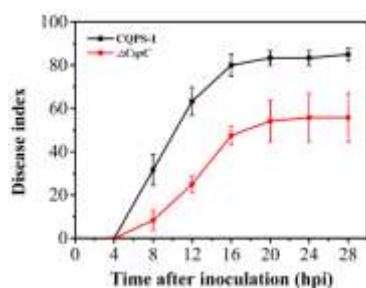


图3 病情指数比较

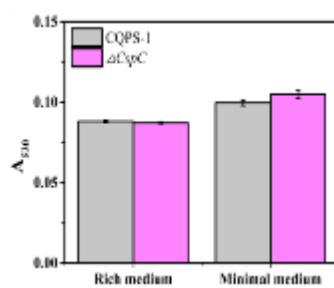


图4 生物膜形成情况比较

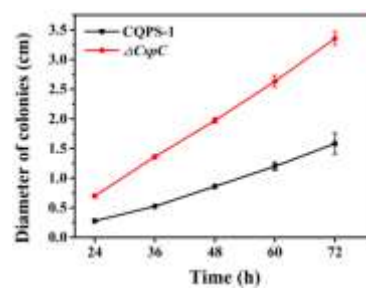


图5 运动性比较

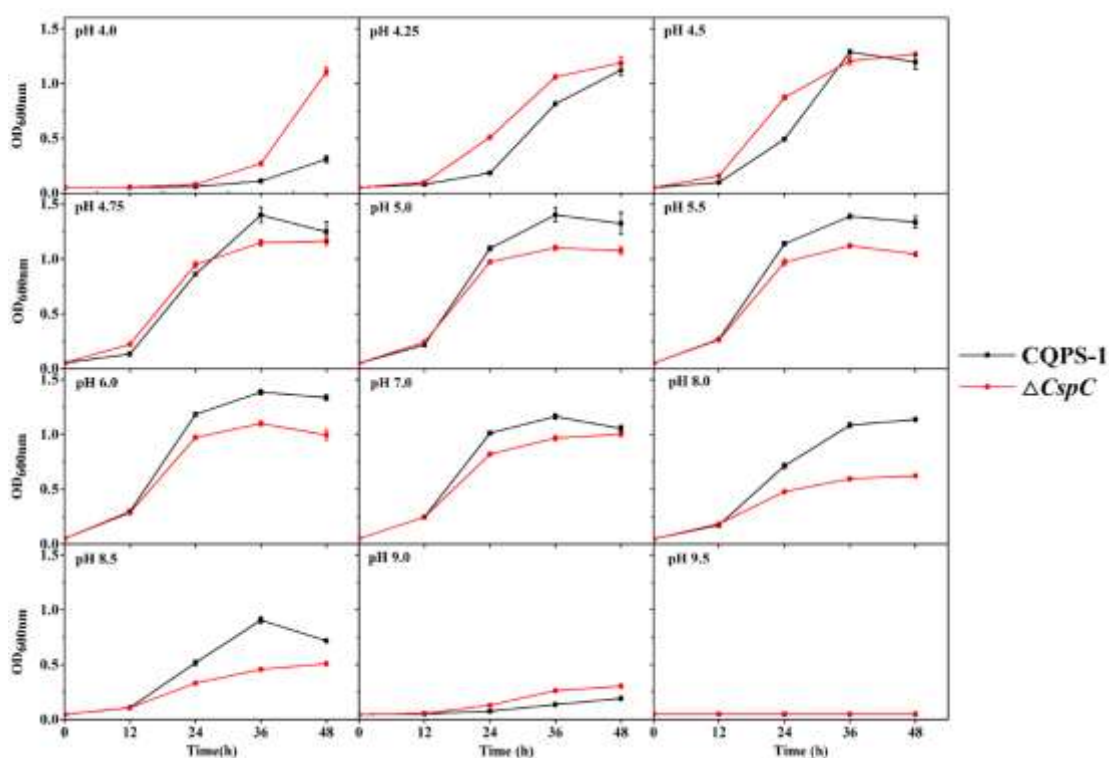


图6 突变体菌株 $\Delta cspC$ 与野生型菌株CQPS-1在不同pH条件下的生长情况

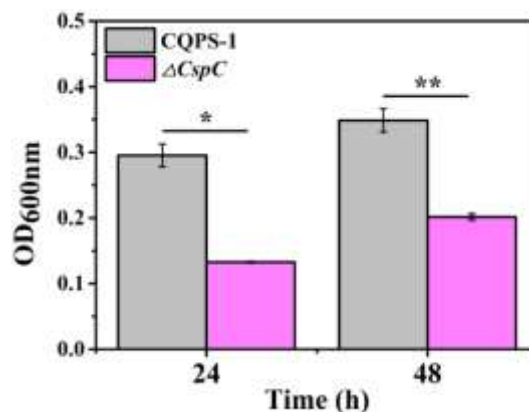
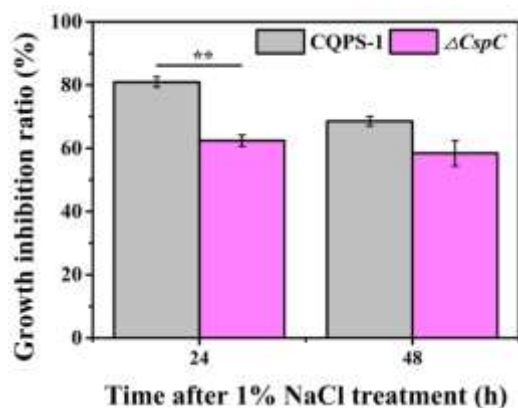


图 7 1% NaCl 对两种菌株的生长抑制率比较 图 8 38℃条件下两种菌株的生长情况比较

(刘颖 供稿)

草酸对青枯雷尔氏菌生长的影响

草酸是一种简单的低分子量的二元羧酸，在绿藻、真菌、地衣和植物体内广泛存在，约占植物干重的 3%~10%，被认为是碳类代谢最终的惰性产物。草酸在植物中存在 2 种形态：可溶性草酸和不可溶性草酸。可溶性草酸主要与 Na^+ 、 K^+ 和 NH_4^+ 结合存在，而不溶性草酸主要与 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Fe^{2+} 结合形成固体结晶。草酸在植物体内的积累受到很多因素的影响，包括物种、品种和施肥等，甚至在同一个物种的不同品种之间草酸含量也存在很大差异。

前期的研究发现草酸的分泌与烟草品种抗性有关，对烟草青枯病抗性越强的品种草酸分泌越少，草酸的分泌与烟草品种抗性成反比。那么在离体条件下，草酸对青枯雷尔氏菌的生长有什么影响？因此，我们通过在 B 培养基、基础培养基、NA 平板上，外源添加 50 $\mu\text{g/ml}$ 、100 $\mu\text{g/ml}$ 、150 $\mu\text{g/ml}$ 、200 $\mu\text{g/ml}$ 不同浓度的草酸，测定对青枯雷尔氏菌生长的影响。结果表明，在 B 培养基中（图 1 和 2），接菌 12 h 后，100-200 $\mu\text{g/ml}$ 草酸对青枯雷尔氏菌的生长具有显著的刺激作用，50 $\mu\text{g/ml}$ 草酸对青枯雷尔氏菌的生长具有一定程度的刺激作用，但并未与对照达到显著性差异。培养 24 h 后，与对照相比，4 个浓度下的草酸对青枯雷尔氏菌的生长均有显著的刺激的作用。总之，在营养培养条件下，50-200 $\mu\text{g/ml}$ 范围内的草酸可以显著刺激青枯雷尔氏菌的生长。而在基础培养基中，接菌 12 h 和 24 h 后，所设浓度下的草酸对青枯雷尔氏菌的生长没有显著的刺激作用，且各处理均低于对照处理。在 NA 平板上，100-200 $\mu\text{g/ml}$ 草酸可以显著促进青枯雷尔氏菌在 NA 平板上生长，与对照相比，分别增加了 19.22%，17.36%及 14.6%，但是菌落形态变小。总的来说，草酸在营养培养基条件下可以促进青枯雷尔氏菌的生长，但在营养匮乏条件下对青枯雷尔氏菌的生长没有显著的影响。

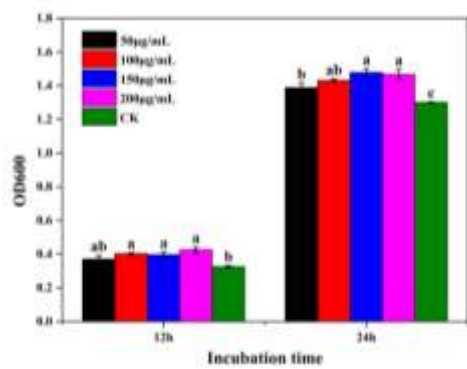


图 1 草酸对青枯菌生长的影响 (B 培养基)

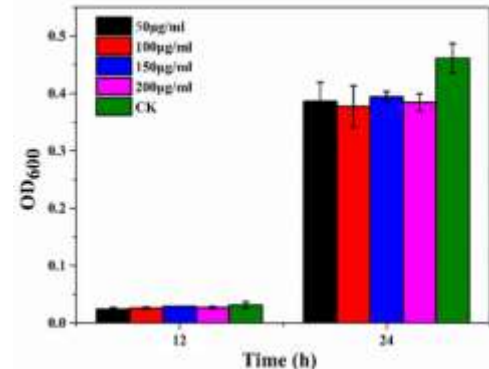


图 2 草酸对青枯菌生长的影响 (基础培养基)

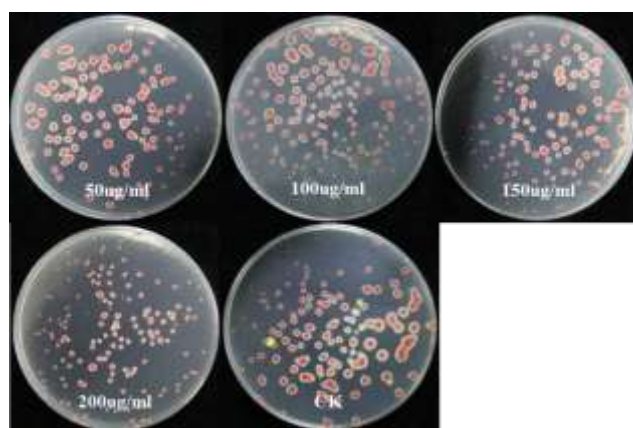


图 3 草酸对青枯雷尔氏菌菌落生长的影响

表 1 NA 平板上的青枯雷尔氏菌菌落数

草酸浓度 (μg/ml)	菌落数
50	125±3.5b
100	147±2.3a
150	144.7±3.8a
200	141.3±2.3a
CK	123.3±2.3b

(王姣 供稿)

在根际环境中根系分泌物的化学屏障作用

植物在其生长过程中,不断与根际周围微生物进行互作,也受到土壤病原微生物的侵染,然而在植物面临侵染过程也不断的进行自我防卫,其中根系分泌物在植物抵御病原菌中扮演着重要作用,是植物根际环境重要的化学屏障。

植物根尖是抗生素、植保素分泌,抵御病原生物侵染的重要部位,也是最容易被侵染区域,如根尖的伸长区、分生区、根冠区等。在根尖部位,主要通过三种途径进行病原菌防御(图1), (1) 边缘细胞独立的形成保护屏障,阻止病原菌渗透与侵染; (2) 由多糖、蛋白、胞外 DNA 形成的根表粘液层进行防御; (3) 分泌并释放能够抑制或者直接杀死病原菌的高分子或低分子有机化合物^[1]。其中低分子化合物主要包括萜类化合物, 苯丙烷类化合物, 苯并类化合物及酚类, 迷迭香酸, 异黄酮类化合物, 色氨酸衍生的次生代谢物, 豌豆素等, 边缘细胞蛋白主要是抗菌酶, 胞外 DNA, 组蛋白, 胞外蛋白, 水解酶、肽酶和氧化酵素^[2]。Walker 等研究表明当紫花罗勒受到绿脓假单胞菌侵染后, 根系分泌大量的咖啡酸酯类化合物迷迭香酸, 而这种物质室内测定下表现出显著的抑菌活性^[3], 250 μM 浓度时还能够有效的抑制疫霉菌、曲霉菌、瓜果腐霉菌、丝核菌等菌丝生长^[4]。大麦在禾谷镰刀菌的侵染诱导下, 根系能够分泌出大量的苯丙烷类化合物, 如甲氧基肉桂酸、香豆酸、阿魏酸、丁香酸、香草酸, 且在 100 μM 浓度下 5 种化合物均能够抑制禾谷镰刀菌的孢子萌发, 对根部进行观察也发现在病原菌侵染后, 根部外观颜色逐渐加深变黑, 木质化程度逐渐加剧, 表明植物在受到病原菌侵染后会合成并释放进行抑菌防御^[5]。

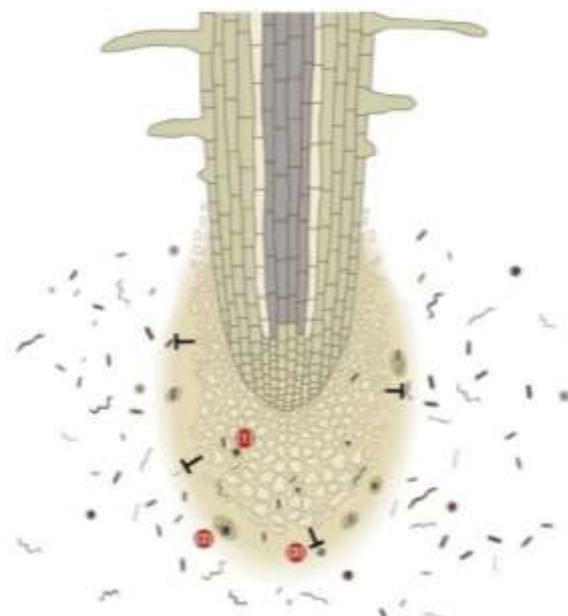


图 1 植物根尖部位的边缘细胞与根系分泌物的防御病害机制 (引自 Baetz) ^[1]

Fig. 1 Root border cells and their exudates in root tip resistance against pathogens

萜类化合物中也是一类重要的抑菌活性物质,其中植物激素独脚金内酯除能够诱导菌丝的延伸扩展之外,独脚金内酯类似物 GR24 还具有显著的抑制真菌的活性^[6]。稻壳酮 A 与 B 是双萜类抗菌性物质,由水稻幼苗产生并释放到根际^[7]。在水稻受到稻瘟病菌侵染后,诱导靶标叶片大量积累稻壳酮 A,通过外源添加稻壳酮 A 也能够显著降低稻瘟病病斑的产生^[8]。

多种不同科类植物均能够产生属于自身特殊的防御性物质,如豆科植物的异黄酮类化合物,茄科植物的倍半萜类化合物,十字花科植物的芥子油甙,禾本科植物的苯并恶嗪酮类化合物等^[9]。如十字花科植物中的芥子油苷储存于细胞液泡中,病原微生物侵染后芥子油苷在黑芥子硫苷酸酶的催化下形成异硫氰酸盐、硫氰酸酯、腈类化合物,最终产生抑菌效果^[10]。

细胞外蛋白也是根尖保护屏障的重要组成,这些蛋白能够有效对病原微生物细胞进行粘合、诱捕、集聚,还可以作为抗菌蛋白直接抑制、排斥或杀死病原菌,最大程度限制病原菌在根部的快速侵染^[11]。通过蛋白组学分析,根冠与边缘细胞附近的胞外蛋白超过 100 种,包括压力与防御相关蛋白,肌动蛋白等,一旦与病原菌互作,胞外蛋白如水解酶、肽酶、过氧化氢酶等会作为抗菌性物质不断的在根际进行聚集,维护植物健康^[12]。

(李石力 供稿)

参考文献:

- [1] Baetz U, Martinoia E. Root exudates: the hidden part of plant defense[J]. Trends in Plant Science, 2014, 19(2): 90-98.
- [2] Berendsen RL, Pieterse CM, Bakker PA. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. Trends Plant Sci, 2012, 17(8): 478-486.
- [3] Walker TS, Bais HP, Deziel E, Schweizer HP, Rahme LG, Fall R, Vivanco JM. *Pseudomonas aeruginosa*-plant root interactions. Pathogenicity, biofilm formation, and root exudation[J]. Plant Physiology, 2004, 134(1): 320-331.
- [4] Bais HP, Walker TS, Schweizer HP, Vivanco JA. Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2002, 40(11): 983-995.
- [5] Lanoue A, Burlat V, Henkes GJ, Koch I, Schurr U, Röse USR. De novo biosynthesis of defense root exudates in response to *Fusarium* attack in barley[J]. New Phytologist, 2010, 185(2): 577-588.
- [151] Dor E, Joel DM, Kapulnik Y, Koltai H, Hershenhorn J. The synthetic strigolactone GR24 influences the growth pattern of phytopathogenic fungi[J]. Planta, 2011, 234(2): 419-427.
- [6] Kato-Noguchi H, Ino T, Ota K. Secretion of momilactone A from rice roots to the rhizosphere[J]. J Plant Physiol, 2008, 165(7): 691-696.
- [7] Hasegawa M, Mitsuhara I, Seo S, Imai T, Koga J, Okada K, Yamane H, Ohashi Y. Phytoalexin

- Accumulation in the Interaction Between Rice and the Blast Fungus[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2010, 23(8): 1000-1011.
- [8] Dixon RA. Natural products and plant disease resistance[J]. *Nature*, 2001, 411(6839): 843-847.
- [9] Halkier BA, Gershenzon, J. Biology and biochemistry of glucosinolate[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57: 303-333.
- [10] Wen FS, VanEtten HD, Tsaprailis G, Hawes MC. Extracellular proteins in pea root tip and border cell exudates[J]. *Plant Physiology*, 2007, 143(2): 773-783.
- [11] De-la-Pena C, Badri DV, Lei ZT, Watson BS, Brandao MM, Silva-Filho MC, Sumner LW, Vivanco JM. Root Secretion of Defense-related Proteins Is Development-dependent and Correlated with Flowering Time[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, 285(40): 30654-30665.
- [12] De-la-Pena C, Lei Z, Watson BS, Sumner LW, Vivanco JM. Root-microbe communication through protein secretion[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(37): 25247-25255.