

根茎病害研究通讯

Communications in Root and Stem Diseases Research

(2018 年第 3 期, 总第 61 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 3 月 31 日

研究进展

不同施用方式纳米钼对烟草生长的影响

纳米材料由于其独特的结构, 正在被应用在多领域范围内, 在植物保护领域, 纳米材料不仅可以控制病害, 还能作为肥料添加剂达到农作物产量的效果。纳米钼作为一种无毒, 价格较低的材料, 在农业应用中具有巨大潜力。但是纳米钼对烟草生长发育、生态环境安全和人类健康的影响少见研究。因此我们对 MoNPs 进行探索, 在叶面喷施和灌根两种处理条件下, 对移栽的 30 天的烟苗分别施加 10mL 0mg/L、25mg/L、100mg/L MoNPs 的分散液, 五天后重复一次, 在温室中培养 25d 后测定其生理生化指标。试验结果表明通过对比株高、鲜重、干重, 叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白质等含量发现, 灌根和叶面喷施不同浓度的 MoNPs, 能对烟纳米钼对烟苗生长的促进效果最为显著。



图 1 纳米钼处理 25 天后烟草的生长情况

(左-右: 灌根 0mg/L、25mg/L、100mg/L、叶面喷施 0mg/L、25mg/L、100mg/L)

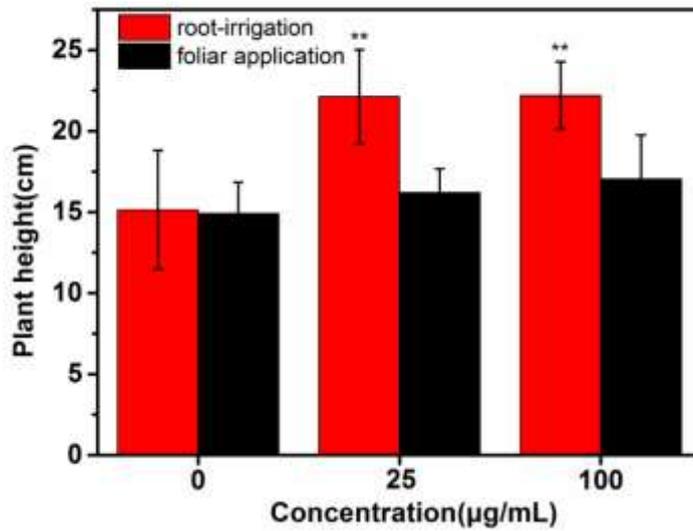


图 2 纳米钼处理 25 天后烟草的株高

(陈娟妮 供稿)

草酸对青枯雷尔氏菌侵染烟草的影响

青枯雷尔氏菌是一种能够引起植物青枯病的土传性病原细菌。病原菌长期在土壤以及植物残体中存活，一旦感应到寄主植物，通过伤口或自然孔口感染寄主植物，引发植物细菌性枯萎病。致病菌株侵染寄主发病分为三个阶段：根表面的定殖、根皮层的感染和木质部导管薄壁组织的感染和侵入，此致病过程是青枯菌协调复杂调控途径和多种致病因子的结果。青枯雷尔氏菌的趋化运动性在根部侵染及早期定殖过程中具有重要作用，对青枯雷尔氏菌适应环境和致病均有重要的意义。而根系分泌物作为信号物质，引诱病原菌向根部富集的趋化运动。有机酸是根系分泌物中的一种重要的化学引诱剂，草酸、苹果酸、柠檬酸、延胡索酸等是已被研究发现的可以作为趋化引诱剂刺激根际微生物向根部的趋化和运动活性，并定殖于寄主植物根部。先前的研究已经表明草酸在烟草根系中被大量分泌，且在离体试验中发现草酸可以促进青枯雷尔氏菌的生长及生物膜的形成，生物膜是病原菌在根部富集的表现，能够帮助病原菌适应环境，抵御外界不良环境。而趋化和运动性可以帮助病原菌寻找寄主并成功定殖于根部。所以我们进一步对草酸影响青枯雷尔氏菌侵染烟草的互作机制进行研究，包括草酸对青枯雷尔氏菌趋化活性、烟草根部定殖及烟草青枯病发生的影响。

采用毛细管法定量检测了不同浓度的草酸对青枯雷尔氏菌趋化性的影响。如图 1 所示，草酸在 150 µg/ml 浓度下能够显著地促进青枯菌的趋化活性，其中进入毛细管的青枯菌的数量分别达到 7.33×10^6 CFU ml⁻¹，显著高于对照与其他处理，并存在显著性差异 ($p < 0.05$)。此外，与对照相比，200 µg/ml 也能促进青枯雷尔氏菌的趋化活性，其中诱导青枯菌在毛细

管的量达到 6.23×10^6 CFU ml⁻¹，但并不存在显著性差异。通过水培实验进一步评价不同浓度草酸作用下对青枯雷尔氏菌在烟草根部定殖的影响。实验结果表明，处理 3 d 后，在 100-200 $\mu\text{g/ml}$ 草酸能够显著地提高青枯菌在烟草根部的定殖量，并且与对照处理存在显著性差异 ($p < 0.05$)，且各浓度草酸诱导青枯菌在根部的定殖量分别是对照的 4.32 倍，10.8 倍和 9.11 倍 (图 2)。此外，50 $\mu\text{g/ml}$ 对青枯病菌的根部定殖没有显著的作用。采用室内盆栽方法测定了草酸处理下青枯雷尔氏菌对烟草侵染情况，试验结果表明，外源施用草酸，能够提高青枯病菌的侵染活性，促进烟草青枯病的发生程度。接菌后第 6 d，草酸各处理均开始发病，从第 6-14 d 是青枯病发生高峰期，在 14 d，各浓度草酸处理烟草青枯病病情指数分别为 76.25、80.25、90，显著高于对照 60。在接菌 19 d 后 150 $\mu\text{g/ml}$ 草酸处理烟草青枯病的病情指数为 100，而对照仅为 87.5 (图 3)。本研究发现烟草根系分泌物草酸能够诱导青枯菌的趋化活性，并提高其在根部的定殖量，进一步通过室内盆栽试验，发现草酸的处理能够加速青枯病的发生，发病高峰要显著高于对照，这一结果也与前期趋化、定殖等结论基本一致。

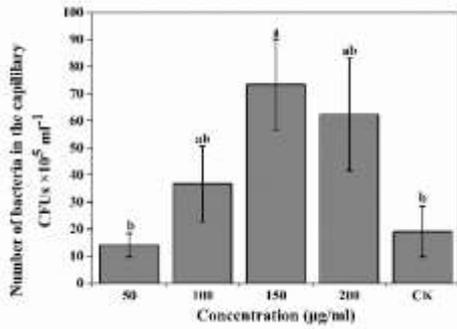


图 1 草酸对青枯雷尔氏菌趋化活性的影响

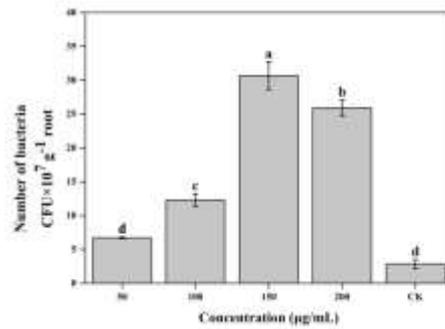


图 2 草酸对青枯雷尔氏菌在根部定殖的影响

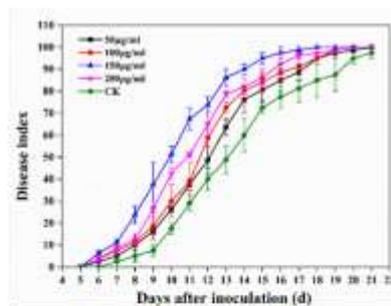


图 3 不同浓度草酸处理对烟草青枯病室内发病的影响

(王姣 供稿)

草酸生物活性的研究进展

草酸是植物体内普遍存在的一种次生代谢物质,是最简单的二元羧酸。据统计,在 113 种植物中只有 8 种植物不含草酸,其余的 105 种植物的草酸平均含量约为植物干重的 6.3%,个别植物如仙人掌中草酸含量高达 80%-90%。草酸在植物中有两种主要的存在方式,可溶性草酸和不可溶草酸,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+} 结合形成难溶性盐形态存在与植物中。一般认为草酸是碳类代谢的最终惰性产物,没有任何的生理作用。但越来越多的研究表明,草酸不仅可以调节植物体内的 Ca^{2+} 浓度及酸碱度,而且在植物应对生物胁迫和非生物胁迫中也发挥着重要的作用,调节着病原菌对寄主植物致病的过程。

细胞内的生理过程极易引起 pH 的变化,因此需要一些调节机制来调节细胞的 pH。一般认为有机酸在这种调节机制中起着主要的作用。硝酸还原和阳离子吸收都会消耗大量的 H^+ 离子,而有机酸在该过程中可以作为 H^+ 的供体,而当有机酸给出大量的 H^+ 后,势必会导致有机阴离子的大量累积而影响细胞的渗透势。有研究资料表明,在一些植物中,苹果酸是 H^+ 的主要供体,而草酸作为有机酸具有同样的生理功能,草酸比苹果酸具有更强的电荷平衡能力,它既可以给出 H^+ ,阴离子又可与 Ca^{2+} 结合生成沉淀而不影响细胞的渗透势。所以,草酸被认为是最理想的 H^+ 供体。有研究发现,细胞代谢时的 pH 变化与草酸含量密切相关。此外,草酸也是有机阴离子的重要抗衡离子,为了平衡细胞内的电荷平衡和膜内外的渗透压,细胞通过合成有机酸或通过有机酸有选择运载无机阳离子来实现,而可溶性草酸盐也可能是膨压和渗透调节的重要物质。根系分泌有机酸同时也是导致土壤酸化的元凶之一,有些植物残体或凋落物,在分解过程中产生的致酸物质,可以引起土壤酸化。土壤矿物分解和阳离子溶出随植物根系大量有机酸的分泌加速,使得土壤溶液中阳离子易淋失,加快土壤酸化。

草酸也参与钙离子的调节。在植物体中存在不同形态及大小的草酸钙晶体。草酸钙的形成可以保证植物可以有效控制离子态的草酸和钙,过多草酸和钙在植物体内的积累都会对植物本身产生毒害作用。已有大量的研究表明草酸钙的形成是许多植物组织和器官中调节钙浓度的一种机制。由于钙在信号转导和细胞的其它生化过程中起着重要作用,而细胞钙的调节是严格控制的,所以草酸钙的形成不是一种简单的沉淀现象,而是包括了细胞生长、晶体形成以及产生专一性亚细胞器官等一系列过程共同协调的结果。草酸钙在缺钙条件下可以释放钙以满足植物的生长,因此,可以说在许多植物中草酸钙晶体是作为活动的钙源,可以调节植物组织和器官中的钙供应。

草酸可以增强植物的抗性,主要可以分为在生物胁迫和非生物胁迫两个方面。

在生物胁迫方面,在一些植物中,内源草酸无论是可溶态还是草酸钙晶体对植物都具有

保护作用。高含量的可溶态草酸能抑制吮吸类昆虫的活性，这可能是由于可溶态草酸增加了酸度影响其味觉，而且吸收进入体内后影响钙的有效性及其代谢。在一些植物中草酸钙晶体的功能也被认为是一种防御机制。晶体能够直接引起食草动物或人皮肤的灼痛感，其防御机制是晶体直接刺穿皮肤的保护层后，其所带的毒素进入伤口处从而引起更强的伤害。外源草酸也对植物具有明显的保护作用。草酸和草酸氧化酶在植物生长中起着很独特且重要的作用，草酸氧化产生的过氧化氢能影响细胞壁的伸展性，进而影响细胞的生长。产生的过氧化氢可以抵御真菌的入侵，在提供强氧化剂的同时也可以作为一种信号诱导其它的防御机制保护植物组织免受侵害。有资料表明草酸可显著诱导植物的系统抗病性，其作用机理是由于草酸能诱导植物的防卫反应，特别是对不同形态过氧化酶的诱导作用可能是其增强抗病性的主要原因。

在非生物胁迫方面，草酸可以活化养分离子，在磷缺乏时，某些双子叶植物(特别是非菌根类植物)具有向根际土壤大量分泌草酸的能力，这些有机酸根离子可与铁(Fe^{2+} , Fe^{3+})、铝(Al^{3+})、钙(Ca^{2+})等金属离子通过络合/螯合形成金属阳离子-有机酸型络合物，促进难溶态磷化合物中磷的释放，缓解土壤中有效磷的缺乏。草酸能够加速土壤矿物的风化，提高铁、磷等营养元素的有效性。外源草酸可显著促进植物对 Fe^{3+} EDTA 的还原，其机理可能是当草酸与 Fe^{3+} 形成草酸铁螯合态时，这种底物更适应根、叶中铁还原酶的作用。其次，草酸可以缓解重金属毒害。过量的金属（铝，镓，锌，镉或铅）会诱导有机酸（如苹果酸，柠檬酸，草酸）的分泌，这些有机酸可与金属形成稳定复合物的螯合剂来减轻对根的毒性。

草酸是真菌侵染寄主植物中重要的致病因子。大量分泌的草酸能够迅速降低植物细胞内的 pH 值，迅速降低的 pH 值一方面抑制了植物中抗病相关酶以及基因的活性，激活了许多细胞壁降解酶（最适 $\text{pH}<5$ ）的活性，加速了寄主植物细胞降解，有利于病害的发生。另一方面，低的 pH 环境对植物细胞有着直接毒害的作用，导致细胞通透性改变，破坏叶绿体、线粒体的结构，引起电解质丧失，加速了植物细胞死亡，从而为病原菌提供了充足的营养和生长条件。最后，低 pH 能够影响真菌基因的表达，如在核盘菌中，对 pH 敏感的并有致病作用的核盘菌转录因子 *pacl* 的表达会随着的变化不断改变，从而影响核盘菌的致病性。其次，草酸的物理阻塞作用。草酸与细胞内的钙离子结合，能够形成微溶的草酸钙沉淀，该沉淀有可能堵塞导管或者维管束，造成植物的萎蔫，降低植物的抗病性。草酸与半乳糖醛酸酶协同作用分解螯合了钙离子的果胶质，半乳糖醛酸酶不能单独水解中胶层中螯合了钙离子的果胶质，必须要做草酸的协同作用下才可以完成水解过程。草酸还会影响寄主植物的氧化迸发。氧化迸发是一种非常重要的植物早期防卫反应，它在低 pH 下受到抑制，从而降低植物的抗病反应。草酸在病原细菌致病过程中也发挥了重要的作用，研究发现草酸可以促进青枯雷尔氏菌的生物膜形成，且能诱导青枯雷尔氏菌的运动和趋化活性，且草酸的大量分泌导致根际环境 pH 降低更利于青枯雷尔氏菌的增殖，从而促进青枯雷尔氏菌的侵染并致病。

草酸作为根系分泌的有机酸中酸性最强的酸，其酸性约为醋酸的 4 倍。草酸的作用，包

括调节 pH, 活化养分分子, 解重金属毒害及调控植物抗性, 在病原菌致病中也扮演了重要的角色。那么, 去研究草酸在病原细菌和寄主植物互作中扮演的角色, 以及其导致的根际范围内的酸化对病原细菌致病的影响值得深入研究。

(王姣 供稿)

叶际微生物学 (Phyllosphere Microbiology) 的应用前景

应用叶际微生物学的一个突出领域就是改善植物健康, 增加植物生物量的产量和避免生物量损失。许多植物叶片上的细菌病原体在感染植株前就定植于植物表面, 并且细菌病原体群体的大小与病害严重性相关。表明可以通过减少病原体数量保护植物健康, 那么, 抑制病原体增殖的可能机制包括利用微生物对营养和空间的竞争, 抗菌和刺激系统性宿主反应。制定植物保护新战略的关键在于需要深入了解植物圈中微生物的群落结构和多营养相互作用的主要驱动因素, 生物防治应用还将依据于基础研究。也就是说, 我们越了解植物圈细菌的作用和重要性, 我们就能越好地预测和预防病原体感染。另一个潜力领域是使用叶际微生物从空气中去除挥发性污染物 (如苯酚或苯) 的植物修复 (也称为植物修复)。

叶际是一种非常适合研究生态学的基本原理的模型系统, 特别是由于其易于实验和可视化检查, 并且这个研究领域具有对诸如植物健康和大气化学等不同领域产生影响的潜力。目前对病原-植物相互作用的研究仍很活跃; 然而, 人们也越来越意识到原微生物群的重要性及其在微生物-微生物和宿主-微生物相互作用中的作用。在确定叶际群落成员和附生体适性性状方面已经取得了实质性进展。几年前不可能的新方法, 比如基于下一代测序技术的群落分析, 以及蛋白质基因组学和原蛋白基因组学, 正在帮助我们理解微生物群落是如何形成的, 并为假设-驱动的研究确定新的目标, 目的在于发现对叶际微生物的生存和生长都很重要的新的蛋白质功能。因此利用互补的方法研究叶际微生物及其在宏观和微观层面相互作用是很有需要的。

许多重要问题仍未得到解答。在叶际中, 微生物群落结构中最主要的驱动力是什么? 是否有认知效应? 微生物群落是稳定或易受干扰? 密切相关的微生物基因型是如何在叶际中共存的? 微生物对寄主植物的影响是什么? 旨在回答这些问题的未来研究将增进我们对叶际微生物居住者的了解, 并将增加与这些微生物有关的生物技术应用的潜力。在理想的情况下, 这些研究工作应该会增加在叶际中检测到的所有系统分类单元代表模式菌株的基因组序列的可用性。这些菌株将允许设计合成微生物群落, 并且还将使基因研究获得相互作用的直接实验证据, 并将已经在(和将要在)环境条件下进行的观察与可追踪到分子水平的观察联系起来。

译自 Vorholt, J. A. "Microbial life in the phyllosphere." *Nature Reviews Microbiology*

(程浅 供稿)