

不同烟草品种响应 TMV 病程和 SA 涂抹中 ABA 的时空变化

顾厚武¹, 何宽信¹, 刘再强¹, 徐庆凯¹, 郭家明², 陈学平^{2*}

(1. 江西省烟草公司, 南昌 330025; 2. 中国科学技术大学烟草与健康研究中心, 合肥 230052)

摘要: 以筛选出的抗性资源 HZNH 和 Xanthi-nc 为抗性材料, 以品种 K358 为感病材料, 建立烟草对 TMV 的抗感实验系统。研究它们在 SAR (systemic acquired resistance) 过程中响应 TMV 病程中信号分子的时空变化。利用抗体检测 SAR 过程中烟草内源 ABA 含量变化, 发现接种 TMV 能够诱导烟草内源抗病品种 Xanthi-nc 具有较高的内源 ABA 含量, 并在处理后能够大幅度上升; 抗病品种 HZNH 具有较高的内源 ABA 含量, 在处理上升幅度不大; 感病品种 K358 内源 ABA 含量较低, 在处理上升幅度介于 2 个抗病品种之间。

关键词: TMV 抗性; 内源 ABA 含量; 烟草品种

中图分类号: S572; Q942.6

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2015)04-0583-03

Temporal and spatial variations of endogenous hormone ABA in three tobacco varieties challenged with TMV

GU Houwu¹, HE Kuanxin¹, LIU Zaiqiang¹, XU Qingkai¹, GUO Jiaming², CHEN Xueping²

(1. Jiangxi Province Tobacco Company, Nanchang 330025;

2. Tobacco and Health Research Central, University of Science and Technology of China, Hefei 230052)

Abstract: Two resistant varieties (Xanthi-nc and HZNH) and one susceptible variety (K358) were used to study SAR mechanism of tobacco in response to TMV and SA. After inoculated with TMV, the endogenous ABA content increased in all varieties, but a remarkable difference between resistance and sensitive varieties was observed. ABA content in Xanthi-nc variety had typical characteristics of SAR, showing a sharply increase than that of TMV-sensitive K358 variety. ABA content in HZNH was also high, but the increase range was smaller compared with in Xanthi-nc variety. ABA content in K358 was low, but an obvious increase after induction was still observed and the degree of increase was between the two resistant varieties, suggesting that hormone (ABA) plays an important role for SAR.

Key words: TMV resistance; endogenesis ABA content; tobacco varieties

植物具有一整套细胞学机制去保护自己抵御病原菌的侵袭。在许多情况下寄主识别病原菌产物从而激活过敏反应 (hypersensitive response, HR)。过敏反应是具有一系列特征的抗性反应, 如局部细胞死亡、产生超氧离子和过氧化氢、葡聚糖沉积、细胞壁增强、次生代谢产物和对微生物具有抗性活性的蛋白质的合成^[1-3]。HR 在表型上存在着差异, 从单细胞 HR 到扩散型坏死区域, 其主要作用是有效地限制病原菌在宿主体内的繁殖、定居及扩散。与这种局部反应相关的是, 经过几天到 1 周时间被侵染的植

物产生新的抗性, 从而对病原菌的再次侵染甚至其他病菌的感染均具有很强的抗性。这种抗性水平可以扩散到整个植株, 通常称为系统获得性抗性 (systemic acquired resistance, SAR)^[4-6]。在实现 SAR 过程中, 水杨酸 (SA)、茉莉酸 (JA)、乙烯 (CH₄)、过氧化氢 (H₂O₂) 和 ABA 等信号分子的转导起着至关重要的作用。不同的作物涉及到不同的信号分子, 烟草对 TMV 系统获得抗病性中的信号分子主要是水杨酸和过氧化氢, ABA 也参与其中。虽然已经有一些研究报道了这些信号分子的作用^[7], 但其时空变

收稿日期: 2014-04-15

基金项目: 江西省烟草公司“提高烟草可能性新型调节物质研制及应用”[赣烟(2011, 98号)]和池州市烟草公司“生物绿肥在生产中应用研究”项目(池烟2011, 11, 18)共同资助。

作者简介: 顾厚武, 农艺师。E-mail: 359216119@qq.com

* 通信作者: 陈学平, 博士, 教授。E-mail: chenxp08@ustc.edu.cn

化以及品种间的差异性未见报道。本研究采用特异抗体对病程过程中 ABA 进行测定,并分析品种间的差异性,以期探索 ABA 等在系统获得抗病性信号转导过程中的时空表达机理。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

信号转导部分参试品种为具有系统获得抗病性特性的品种 Xanthi-nc 和 HZNH,感病品种 K358。

1.2 试验方 法

1.2.1 样品处理 将上述品种采用常规方法育苗,烟苗长到 8 叶左右移栽到盆钵中,常规种植,当烟苗正常生长到 12 叶左右时,在烟株的第 5 叶上接种 TMV,进行 10 mmol·L⁻¹ SA 涂抹和 PBS 涂抹。每品种各处理 8 株,3 次重复。然后分别于处理后 2、4、6、8、12 和 24 h 取各处理叶和同侧上部叶 0.5 g 左右剪碎放置在小瓶中,加 5 mL 甲醇并封口,置于零下 20℃ 中保存待测。

1.2.2 测定方 法 ABA 的测定见参考文献[10]。

2 结果与分 析

2.1 不同处理对抗病烟草品种相关叶片中 ABA 含量的影响

抗病烟草品种 Xanthi-nc 和 HZNH 在接种 TMV 后,被侵染部位叶片组织中的内源激素 ABA 含量均大量上升(图 1 和图 3)。其中 Xanthi-nc ABA 含量上升显著,12 h 后可达到对照含量的 4.3 倍以上(图 1);而我国地方烟草资源 HZNH 内源 ABA 含量要比 Xanthi-nc 低得多,但其在感染 12 h 后也有较大的上升,12 h 后上升到其对照含量的 1.5 倍。在接种 24 h 后,Xanthi-nc 中 ABA 含量上升为对照的 2.1 倍,而 HZNH 仅上升为对照的 1.3 倍,两者 ABA 含量变化幅度存在明显的差异(图 1 和图 3)。

与接种叶相对应的上部叶片中 ABA 含量的变化虽然都呈现持上升的趋势,但两者之间存在差异。到接种 24 h 后,Xanthi-nc 中 ABA 含量上升为对照的 1.6 倍,而 HZNH 仅为对照的 1.13 倍。

对于 SA 处理后的上部叶,Xanthi-nc 的 ABA 含量开始在较低的水平,随后呈现大幅度上升,而 HZNH 开始就处于较高的水平,随后小幅度上升(图 2 和图 4)。2 个烟草品种的对照叶片 ABA 含量均没有出现较大的变化。

2.2 不同处理对感病品种 K358 叶片中 ABA 含量的影响

感病烟草品种 K358 在接种 TMV 后,被侵染部

位叶片组织中的内源激素 ABA 含量大量上升,在 12 h 后上升到其对照含量的 3.0 倍;在接种 24 h 后上升为对照的 1.9 倍,ABA 含量继续维持在较高的水平上(图 5)。尽管该品种 ABA 含量的上升幅度介于本实验 2 个抗性品种之间,但其绝对含量则低于抗病品种。

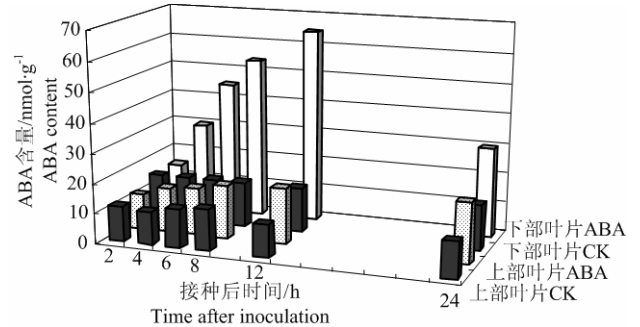


图 1 TMV 接种对烟草品种 Xanthi-nc 下部接种叶、上部叶片中 ABA 含量的影响

Figure 1 The changes of ABA in the inoculated and the upside leaves of tobacco after infected with TMV

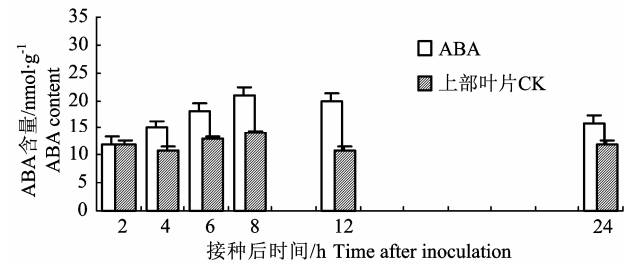


图 2 10 mmol·L⁻¹ 水杨酸处理下部叶片后烟草品种 Xanthi-nc 上部叶片内源 ABA 含量的变化

Figure 2 The changes of ABA in the upper leaves of tobacco variety Xanthi-nc after treated the lower leaves with 10 mmol·L⁻¹ SA

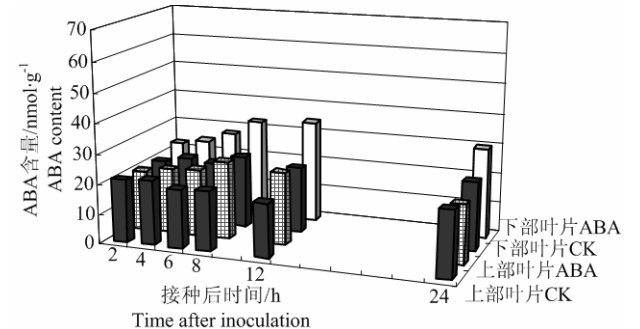


图 3 接种 TMV 对烟草品种 HZNH 下部接种叶、上部叶片中的 ABA 含量的影响

Figure 3 Effects of TMV on ABA content in the leaves inoculated with TMV and the upside leaves of tobacco variety HZNH

SA 处理感病品种 K358 后,上部叶 ABA 含量有较大幅度的上升(图 6),但其绝对含量也没有抗病品种的高。与抗病品种 HZNH 的相似的是,在处

理后 8 h 上部叶 ABA 含量达到高峰, 12 h 有所下降, 24 h 又有所上升。

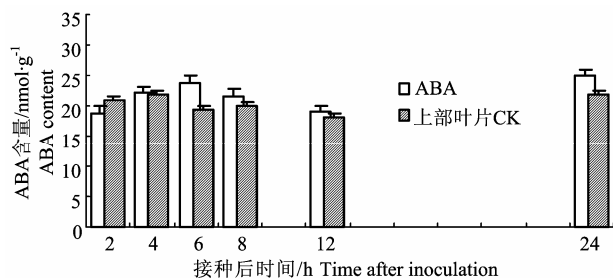


图 4 10 mmol·L⁻¹水杨酸处理下部叶片后烟草品种 HZNH 上部叶片内 ABA 含量的变化动态

Figure 4 Dynamic changes of ABA content in the upper leaves of tobacco variety HZNH after treated the lower leaves with 10 mmol·L⁻¹ SA

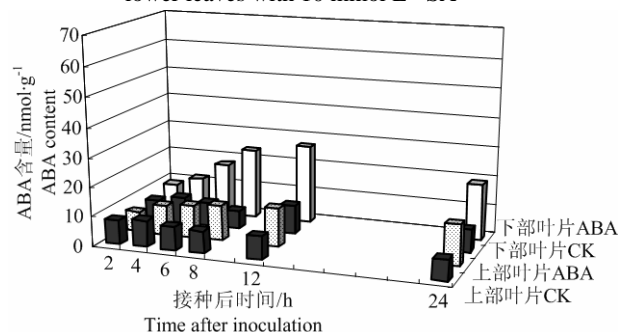


图 5 TMV 接种对 K358 品种烟草下部接种叶、上部叶片中的 ABA 含量的影响

Figure 5 The changes of ABA content in the leaves inoculated with TMV and the upper leaves of tobacco variety K358

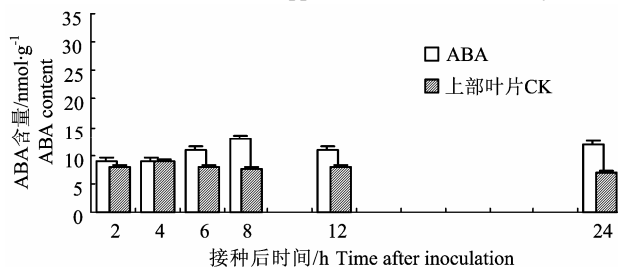


图 6 10 mmol·L⁻¹水杨酸处理下部叶片后烟草品种 K358 上部叶片内源 ABA 含量的变化动态

Figure 6 Dynamic change of ABA content in the upper leaves of tobacco variety K358 after treated the lower leaves with 10 mmol·L⁻¹ SA

3 小结与讨论

用 2 个具有 SAR 特性的烟草品种 (Xanthi-nc 和 HZNH) 和一个感病品种 (K358) 为材料, 研究它们对 TMV 和 SA 响应的内源 ABA 的时空表达。结果表明, 抗病品种 Xanthi-nc 具有较高的内源 ABA 含量, 并在处理后能够大幅度上升; 抗病品种 HZNH 具有较高的内源 ABA 含量, 在处理上升幅度不大; 感病品种 K358 内源 ABA 含量较低, 在处理上升

幅度介于 2 个抗病品种之间。

Shirasu 等认为植物体内存在由 SA 和病原菌共同控制的非特异性病原信号放大及防卫反应激活的调控机制^[8]。在本研究中也发现, 比起感病品种中相应的变化来, 具有典型 SAR 性状的 Xanthi-nc 品种其体内与抗病和逆境有关的 ABA 对 TMV 的响应要显著而强烈得多, 暗示抗性烟草品种对外界病原刺激信号的响应更敏感, 推测这可能是其表现 SAR 性状的一个生理基础。然而, 不同的遗传型间存在一些差异。本研究中的黄花烟地方品种 HZNH 在 TMV 接种和涂抹 SA 处理后内源 ABA 变化幅度不仅小于抗病品种 Xanthi-nc, 而且小于感病品种 K358, 但其绝对含量较高。这或许意味着在生物体内复杂的生理生化代谢中, 相互之间存在一定的关联度, 遗传背景差异可能会影响着植物对病原菌和环境响应。

尽管 Xanthi-nc 和 HZNH 都具有 SAR 特性, 但在响应 TMV 和外源 SA 处理时表现出一定的差异, 包括病斑大小和数目^[9], 内源 ABA 表达的时间和上升幅度, 相关酶活的变化及 PR 蛋白表达差异等^[10]。来自于烟属 2 个不同种本身在遗传背景上存在的差异或许导致了与 SAR 相关性状的差异。这暗示植物抗病性研究的结果与其相应材料的遗传背景密切相关, 有些结论或许不具有普遍性。

参考文献:

- [1] Van Loon L C. Pathogenesis-related proteins[J]. *Plant Molecular Biology*, 1985, 4(2/3): 111-116.
- [2] 李德红, 潘瑞焱. 水杨酸在植物体内的作用[J]. *植物生理学通讯*, 1995, 31(2): 144-149.
- [3] 蔡新忠, 郑重. 水杨酸在植物抗病反应中的作用[J]. *植物生理学通讯*, 1998, 34(4): 297-304.
- [4] Zhou F, Kurth J, Wei F, et al. Cell-autonomous expression of barley Mla1 confers race-specific resistance to the powdery mildew fungus via a Rar1-independent signaling pathway[J]. *The Plant Cell*, 2001, 13(2): 337-350.
- [5] Collins N C, Webb C A, Seah S, et al. The isolation and mapping of disease resistance gene analogs in Maize[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1998, 11(10): 968-978.
- [6] Low P S and Merida J R. The oxidative burst in plant defense: Function and signal transduction[J]. *Physiologia Plantarum*, 1996, 96: 533-542.
- [7] Keen N T. The molecular biology of disease resistance[J]. *Molecular Biology*, 1992, 19(1): 109-1228.
- [8] Shirasu K, Nakajima H, Rajasekhar V K, et al. Salicylic acid potentiation of antagonist-dependent gain control amplifying pathogen signals in the activation of defense mechanisms[J]. *The Plant Cell*, 1997, 2(9): 261-270.
- [9] 陈学平, 夏凯, 孔繁明, 等. 若干烟草品种对 TMV 抗性差异的比较研究[J]. *中国烟草科学*, 2001(1): 1-310.
- [10] 陈学平. 烟草对 TMV 系统获得抗病性信号转导生理生化机理及特异烟草资源抗性基因的分离[D]. 南京: 南京农业大学, 2001.