

宿根矮化病菌对甘蔗生长和内源激素的影响

陈明辉^{1,2} 黄杏^{1,2} 谢晓娜^{1,2} 杨丽涛^{1,2,3} 李杨瑞^{2,3,4} 陈保善^{1,2}

1. 广西大学农学院, 南宁 530005; 2. 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 南宁 530005;

3. 中国农业科学院甘蔗研究中心/广西农业科学院甘蔗研究所/农业部广西甘蔗生物技术与

遗传改良重点实验室/广西甘蔗遗传改良重点实验室, 南宁 530007;

4. 广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁 530007

摘要 甘蔗宿根矮化病(ratoon stunting disease, RSD)是由 *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* 引起的病害。为研究该病对甘蔗的生长和内源激素的影响, 选择2个甘蔗品种新台糖22号(ROC22)和果蔗(Badila), 采用桶栽种植分别进行3个处理: 感染RSD病菌蔗株进行52℃温汤脱菌处理30 min、感染RSD病菌蔗株、健康蔗株(对照), 在出苗后90、120、150、180 d测定株高和内源激素的含量, 并利用PCR检测确定感病和健康蔗株。结果表明: 感染RSD病菌蔗株的株高显著低于对照和温汤脱菌处理; 感染RSD病菌处理植株的赤霉素(GA₃)、生长素(IAA)含量明显低于对照和温汤脱菌处理, 而脱落酸(ABA)含量则相反, 感染RSD病菌处理的ABA含量明显高于对照和温汤脱菌处理; 对照和温汤脱菌处理的株高和激素含量差异不显著。

关键词 甘蔗; 宿根矮化病; 内源激素

中图分类号 S 432.4⁺2; S 566.1

文献标识码 A

文章编号 1000-2421(2013)03-0057-05

甘蔗宿根矮化病(ratoon stunting disease, RSD)是目前世界所有植蔗地区普遍发生的病害。该病是由寄居维管束木质部棒状杆菌属细菌 *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* 引起的^[1]。蔗株感染RSD病菌后, 常表现为蔗株矮化、蔗茎变细、宿根分蘖率降低, 且蔗株矮化会随甘蔗宿根年限延长而加重^[2]。由于细菌 *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* 难以分离、培养和检测, 故该病害可经种茎传播而导致病害迅速蔓延, 对甘蔗产量和品质影响极大。

甘蔗生长过程中, 不但受植物体内产生的各种酶变化的影响, 而且也受各种内源激素的调控。植物内源激素含量及其平衡是调控植物生长发育的重要因素^[3-4]。有关甘蔗内源激素变化与生长的关系研究已有报道^[5], 但针对甘蔗宿根矮化病胁迫下不同时期内激素含量变化研究尚未见报道。笔者以甘蔗品种新台糖22号(ROC22)和果蔗(Badila)的脱毒种茎为对照, 观察了温汤脱菌和感染RSD病菌种茎处理后, 不同时期株高以及植株体内生长素

(IAA)、赤霉素(GA₃)和脱落酸(ABA)含量的变化, 旨在揭示甘蔗宿根矮化病胁迫下甘蔗节间伸长与内源激素变化的关系, 为进一步研究其病原菌与甘蔗寄主互作关系和有效防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

2009年12月从广西大学农学院甘蔗实验田采集具典型疑似感染RSD病菌的甘蔗品种新台糖22号(ROC22)和果蔗(Badila)植株, 并从组培中心隔离温室中采集甘蔗品种ROC22和果蔗健康脱毒苗植株作为对照。取材料基部2~3节, 经过PCR检测^[6], 确定采集的病症植株感染了RSD病原菌, 健康脱毒苗植株没有感染RSD病原菌。对部分感染RSD病菌的种茎进行52℃、30 min温汤脱菌。于2010年3月12日以ROC22和果蔗的健康种茎为对照, 温汤脱菌种茎和感染RSD病菌种茎处理后桶栽种植, 每处理10桶, 每桶种植3株, 生长期进行常

收稿日期: 2012-10-08

基金项目: 国际合作项目(2009DFA30820, 2013DFA31600)、广西自然科学基金重点项目(2012GXNSFDA053011)、广西壮族自治区主席科技资金项目(11166-02)、广西自然科学基金创新团队项目(2011GXNSFF018002)、广西农业科学院创新团队项目(桂农科2011YT01)和广西科学研究与技术开发计划项目(桂科产1123008-1, 桂科能0815011)

陈明辉, 博士研究生。研究方向: 甘蔗与病害互作的生理生化与分子生物学。E-mail: cmh_abc@126.com

通讯作者: 杨丽涛, 博士, 教授。研究方向: 作物生理生化与分子生物学。E-mail: liyr@gxu.edu.cn

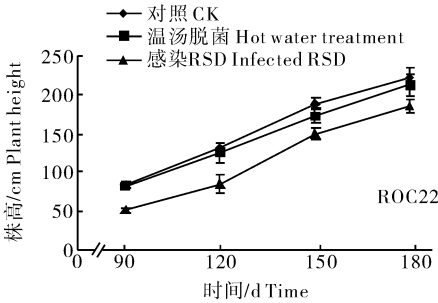
李杨瑞, 博士, 教授。研究方向: 作物生理生化与分子生物学。E-mail: liyr@gxaas.net

规管理。

1.2 测定方法

1)株高。每处理各选择生长一致的甘蔗 20 株，分别在出苗后 90、120、150、180 d 测定株高。

2)IAA、GA₃和 ABA 含量。分别在出苗后 90、120、150、180 d 取甘蔗基部 2~3 节茎 1.0 g，加 2 mL 样品提取液，在冰浴下研磨成匀浆，4 ℃ 下放置 4 h，4 500 r/min 冷冻离心 15 min，取上清液，过 C-18 固相萃取柱，真空干燥除去提取液中的甲醇，用样品稀释液溶解即得样品激素提取液。采用酶联免疫吸附分析法 (enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA)^[7]测定生长素 (IAA)、赤霉素 (GA₃) 和脱落酸 (ABA)。激素试剂盒购于中国农业大学作物化学控制实验室。每样品重复测定 3 次。



1.3 数据分析

采用 SPSS 15.0 软件和 Excel 2003 对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 甘蔗植株株高的比较

由图 1 可知，感染 RSD 病菌处理比对照的株高明显降低。ROC22 的感染 RSD 病菌处理在 90、120、150、180 d 分别比对照降低了 40.5%、35.4%、21.5%和 16.7%，而果蔗感染 RSD 病菌处理在 90、120、150、180 d 分别比对照降低了 44.7%、24.7%、28.3%和 19.4%，各个时期感染 RSD 病菌处理和对照差异均达到极显著水平，而温汤脱菌处理和对照差异不显著。

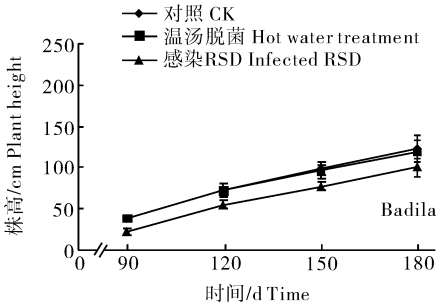


图 1 甘蔗品种新台糖 22 号和果蔗不同处理株高的变化

Fig. 1 The plant height of sugarcane varieties ROC22 and Badila in different treatments

2.2 甘蔗茎内源激素的比较

由图 2-A~B 可知，ROC22 各处理和对照的 GA₃含量在 90~180 d 内变化趋势一致，在 90~150 d 都有差异，但差异不显著；在 150~180 d，感染 RSD 病菌处理的 GA₃含量下降较快，比对照分别下降了 23.5% (ROC22) 和 21.2% (Badila)，差异极显著。由图 2-C~D 可知，2 个品种各处理 IAA 含量和对照一样，在 90~180 d 内都是先升高后降低的趋势；感染 RSD 病菌处理 IAA 含量在整个生长期都低于对照，差异极显著。由图 2-E 可知，在 90~180 d，ROC22 的感染 RSD 病菌处理 ABA 含量一直高于对照，差异极显著。由图 2-F 可知，果蔗的不同处理在 90~120 d 时 ABA 含量和对照差异不显著，120 d 以后，感染 RSD 病菌处理 ABA 含量快速上升，在 180 d 达到最高，比对照提高了 56.4%，差异极显著。ROC22 和 Badila 2 个品种温汤脱菌处理 IAA、GA₃和 ABA 的含量与对照差异不显著。

2.3 甘蔗茎中 ABA/IAA、ABA/GA₃的比值变化

ABA/IAA、ABA/GA₃的比值可以反映抑制生长激素与促进生长激素之间的相对平衡状态。由图 3-A 可知，ROC22 感染 RSD 病菌处理和对照 ABA/IAA 的比值变化趋势基本一致，峰值出现在 180 d，差异极显著；果蔗感染 RSD 病菌处理 ABA/IAA 的比值在 90~120 d 比对照 ABA/IAA 的比值稍高，两者差异不显著，但到 180 d 时，差异才达极显著 (图 3-B)。由图 3-C 可知，ROC22 感染 RSD 病菌处理 ABA/GA₃的比值在 90~180 d 都明显高于对照，峰值出现在 90 d 和 180 d，两者差异达到极显著水平；果蔗感染 RSD 病菌处理 ABA/GA₃的比值在 90~120 d 比对照稍高，两者差异不显著，而在 180 d，果蔗感染 RSD 病菌处理 ABA/GA₃的比值比对照显著升高，差异达到极显著水平 (图 3-D)。ROC22 和 Badila 2 个品种温汤脱菌处理 ABA/IAA 和 ABA/GA₃的比值与对照差异不显著。

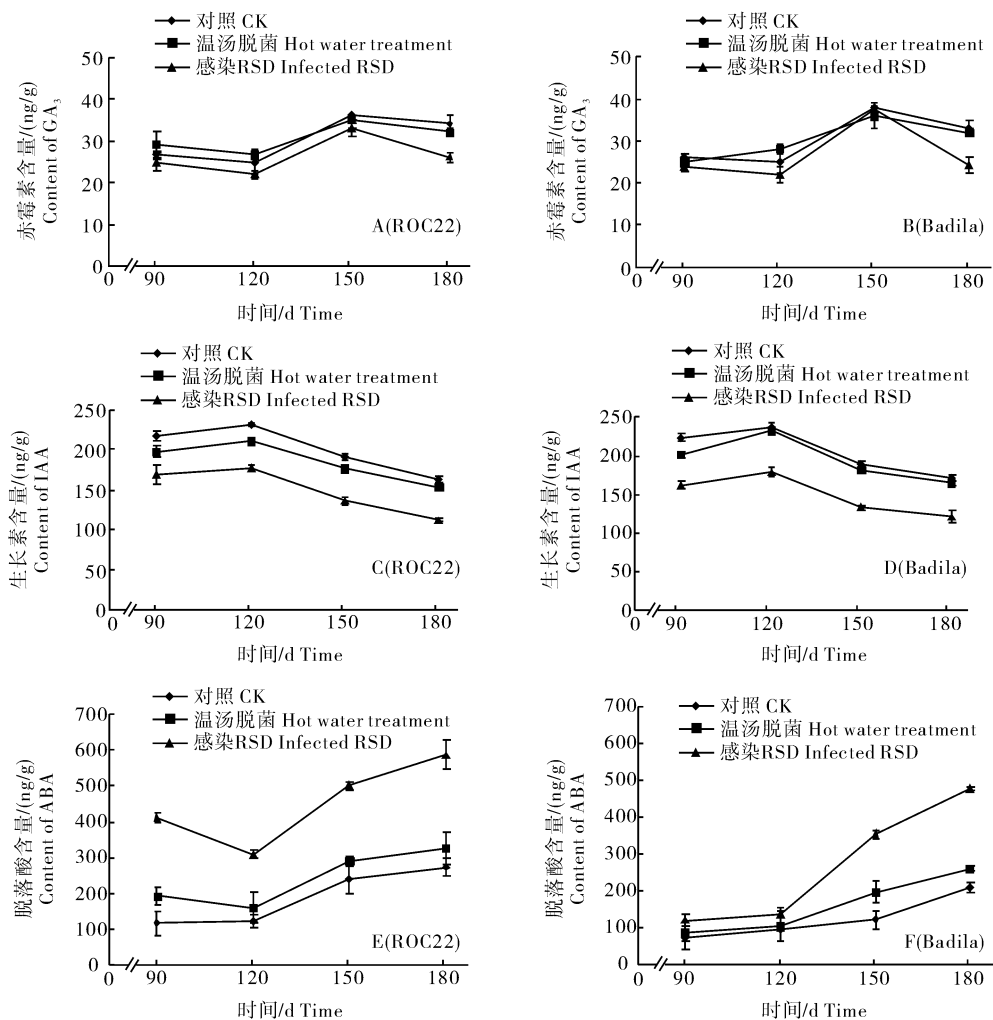


图 2 甘蔗品种新台糖 22 号和果蔗拉不同处理不同时期茎中内源激素的含量

Fig. 2 Endogenous hormone content in stalk of sugarcane varieties ROC22 and Badila in different treatments at different time

3 讨论

植物各种内源激素合成都需要一定的环境条件,当环境条件不利时,会阻碍某种内源激素的合成而影响其生长发育。水稻矮缩病毒(rice dwarf virus, RDV)侵染水稻后,植株生长迟缓、变矮,是由于内根-贝壳杉烯氧化酶的表达受到影响,影响了赤霉素(GA₃)的合成,病株的赤霉素含量降低^[8]。赤霉素主要通过调节 β-葡萄糖苷酶、β-甘露糖苷酶、α-半乳糖苷酶等一系列酶的活性最终达到促进节间伸长的效果^[5]。本试验结果表明,当甘蔗感染 RSD 病菌后,植株节间伸长生长受到抑制,感染 RSD 病菌处理茎内 GA₃含量在伸长初期和对照差异不大,而在 180 d 比对照显著降低。

根据机械损伤、病原物侵染可引起生长素

(IAA)氧化酶活性增强或 IAA 含量下降可知,由各种病原侵染引起的寄主局部或全株 IAA 的非正常降解作用十分普遍^[9]。病原物侵染泡桐可造成体内游离 IAA 含量下降,主要是通过干扰寄主代谢造成的,由此引起的植株矮化、生根能力降低和丛枝则可能与 IAA 或 GA 水平下降有关^[10]。细菌产生的 IAA-赖氨酸合成酶可催化游离 IAA 与赖氨酸合成结合态 IAA 而失去生长素活性^[11]。研究表明生长素信号途径的减弱有助于提高植物的抗病性^[12]。本试验结果表明,甘蔗感染 RSD 病菌后,茎内 IAA 含量在各个时期显著低于对照。

脱落酸(ABA)作为一种重要的胁迫激素的观点已被人们广泛接受,逆境下植物启动 ABA 合成系统,合成大量 ABA 以调控植物的正常生理代谢^[13]。ABA是逆境中的正信号,逆境可促进 ABA

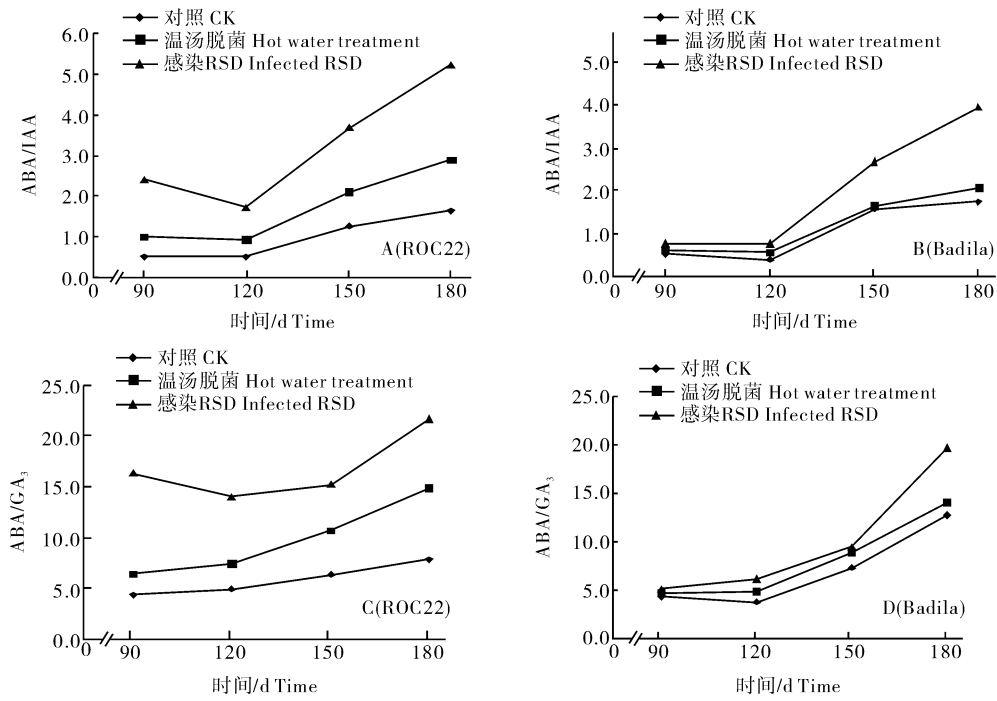


图 3 甘蔗品种新台糖 22 号和果蔗不同处理不同时期茎中 ABA/IAA 和 ABA/GA₃ 的比值

Fig. 3 ABA/IAA and ABA/GA₃ ratio in stalk of sugarcane varieties ROC22 and Badila in different treatments at different time

的重新合成或对原 ABA 的再分配,从而提高 ABA 的局部浓度来提高作物的抗逆性^[14]。引起甘蔗宿根矮化病的病原菌是 *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*,其基因组中的一些区域 GC 含量会发生改变并形成基因岛^[15]。这些基因岛包含 ABA 合成酶基因,ABA 合成酶基因与植物的矮化有关,并且能够减少宿根蔗的分蘖^[16]。本研究结果也表明,在 RSD 胁迫下,ROC22 感染 RSD 病菌处理茎内 ABA 含量在各个时期显著高于对照。果蔗感染 RSD 病菌处理茎内 ABA 含量在伸长初期和对照差异不大,但随着生长期的延长,到 180 d 时,两者差异达到极显著水平。温汤脱菌处理植株茎内 IAA、GA₃ 和 ABA 含量在各个时期和对照差异不显著,说明 52 ℃、30 min 条件下温汤脱菌处理可以消除或抑制 RSD 病原菌的活动,能起到有效防治 RSD 的作用。

在逆境条件下,生长素和赤霉素的含量随着逆境条件的变化而变化,这也是植物对逆境条件适应性反应的表现。为促进逆境条件下植物的正常生长发育,生长素和赤霉素都应和脱落酸形成一种适合的平衡关系。ABA/IAA、ABA/GA₃ 的比值比对照显著增高,说明在 RSD 胁迫下,生长素、赤霉素和脱落酸的变化是相互关联的,而促进生长的激素与抑制生长的激素的平衡状态决定甘蔗茎的增粗和伸长效果。

参 考 文 献

[1] DAVIS M J, DEAN J L. Comparison of diagnostic techniques for determining incidence of ratoon stunting disease of sugarcane in Florida [J]. Plant Dis, 1984, 68: 896-899.

[2] GRISHAM M P. Effect on ratoon stunting disease on yield of sugarcane grown in multiple three-year plantings [J]. Phytopathology, 1991, 81: 337-340.

[3] 樊金娟, 李雪梅, 阮燕萍, 等. 杂交水稻及其亲本灌浆过程中内源激素含量的变化 [J]. 植物生理学通讯, 2004, 40 (2): 146-148.

[4] 陈俊伟, 谢鸣, 秦巧平. 植物糖信号与激素信号之间的联系 [J]. 植物生理学通讯, 2004, 41 (3): 279-285.

[5] 吴建明, 李杨瑞, 王爱勤, 等. 赤霉素诱导甘蔗节间伸长的效应与相关酶活性的关系 [J]. 西北植物学报, 2010, 30 (5): 962-967.

[6] PAN Y B, GRISHAM M P, BURNER D M, et al. A polymerase chain reaction protocol for the detection of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, the causal bacterium of ratoon stunting disease [J]. Plant Dis, 1998, 82: 258-290.

[7] 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, 1992: 60-68.

[8] ZHU S, GAO F, CAO X, et al. The rice dwarf virus P2 protein interacts with ent-Kaurene oxidases *in vivo*, leading to reduced biosynthesis of gibberellins and rice dwarf symptoms [J]. Plant Physiol, 2005, 139 (4): 1935-1945.

[9] THORNBURY R W, LI X. Wounding *Nicotiana tabacum* leaves causes a decline in endogenous indole-3-acetic acid [J]. Plant

- Physiol, 1991, 96: 802-805.
- [10] 田国忠, 张锡津, 罗飞. 感染植原体的泡桐组培苗体内吲哚乙酸氧化酶的组织印迹定位. 中国植物病理学会第六届代表大会学术年会论文选编[C]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998: 278-279.
- [11] MISAGH I J. Physiology and biochemistry of plant-pathogen interactions [M]. New York: Plenum Press, 1982: 113-130.
- [12] NAVARRO L, DUNOYER P, JAY F, et al. A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling [J]. Science, 2006, 312: 436-439.
- [13] MAUCH-MANI B, MAUCH F. The role of abscisic acid in plant-pathogen interactions [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2005, 8: 409-414.
- [14] 陈珈, 朱美君. 玉米根微粒体 ABA 结合蛋白的性质及逆境胁迫的影响[J]. 植物生理学报, 1996, 22(1): 63-68.
- [15] MONTERO-VITORELLO C B, CAMARGO L E A, VAN SLUYS M A, et al. The genome sequence of the gram-positive sugarcane pathogen *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2004, 17: 827-836.
- [16] KAO J, DAMANN K J. *In situ* localisation and morphology of the bacterium associated with ratoon stunting disease of sugarcane [J]. Canadian Journal of Botany, 1980, 58: 310-315.

Effects of ratoon stunting disease on growth and endogenous hormone in sugarcane

CHEN Ming-hui^{1,2} HUANG Xing^{1,2} XIE Xiao-na^{1,2} YANG Li-tao^{1,2,3}

LI Yang-rui^{2,3,4} CHEN Bao-shan^{1,2}

1. College of Agronomy, Guangxi University, Nanning 530005, China;

2. State Key Laboratory of Subtropical Bioresources Conservation and Utilization, Nanning 530005;

3. Sugarcane Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Sugarcane Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Sugarcane Biotechnology and Genetic Improvement (Guangxi), Ministry of Agriculture/Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement, Nanning 530007, China;

4. Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Laboratory, Nanning 530007, China

Abstract Ratoon stunting disease (RSD) of sugarcane (*Saccharum* spp. Hyb.), caused by bacterium *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx), is one of the most important economically damaging diseases worldwide. The objective of the present study was to determine the effects of RSD on plant growth and the endogenous hormone levels in sugarcane stalks. Two mechanical cane varieties (i. e. sugar cane variety of ROC22 and chewing cane variety of Badila) were selected as the plant materials and RSD infection was determined by using PCR reaction. The seedcane were grown in pots, and three treatments were done: pathogen-free seedcane as control; seedcane with thermal treatment; RSD infected seedcane were treated at 52 °C for 30 min; RSD infected seedcane. During the experiment, the plant heights were investigated, and the endogenous hormone levels in cane stalks were analyzed after planting in 90, 120, 150 and 180 d, respectively. The results showed that: the plant heights of the RSD infected seedcane were significantly lower than those of the control and the thermal treatment. The contents of GA₃ and IAA were obviously lower in the RSD infected seedcane than those in the control and the thermal treatment in contrast to the content of ABA which was higher in the infected seedcane treatment as compared with the control and the thermal treatment; two cane varieties showed the same patterns and there was no significant difference between the control and the thermal treatment in plant height and endogenous hormone levels. Therefore, the thermal therapy is efficient to control RSD in sugarcane.

Key words sugarcane; ratoon stunting disease (RSD); endogenous hormone