

·专论与综述·

植物诱导抗病激活剂

范志金,刘秀峰,刘凤丽,陈俊鹏,刘斌

(南开大学元素有机化学研究所元素有机化学国家重点实验室,天津 300071)

摘要:植物激活剂本身并无杀菌活性,但可诱导植物产生系统获得抗病性能,它具有全新的作用机制,是今后植物保护发展的重要研究方向,有很好的应用前景。

关键词:植物激活剂;系统获得抗病性;诱导抗性

中图分类号:TQ 452.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1008-1267(2005)01-0001-05

利用植物自身的防御系统来防病、治虫是今后农药发展的主要方向之一,植物自身防病抗虫性能的获得来自两个方面,一是作物品种自身的抗性,二是外界因素诱导产生的抗性,前者属于作物的抗病和抗虫性研究范畴,后者就是诱导抗性,化学物质的作用可以诱导产生抗性,这类化学物质称为植物激活剂。有关植物诱导抗病的研究主要集中在诱导抗病的作用机制和寻找新的植物激活剂两个方面^[1,2]。本文就植物激活剂的概念、种类以及产生诱导抗性的作用机制等方面的研究进展进行综述。

1 植物激活剂的概念及特点

植物受病原物诱导可以产生系统的抗病性能(ISR),也称系统获得性抗性(SAR)。除病原物外,某些化学物质也能诱导产生 SAR,这类化学物质就是植物抗病激活剂。另外,许多生物因子(包括真菌、细菌、病毒及其代谢物等)、物理因子(如机械损害、电磁处理、射线和热处理等)都能诱导植物的抗病反应。这些因子作为外源激发子刺激寄主受体产生防卫信号,并通过信号传递,激活或诱导植物防卫基因表达,其结果使植物免受病原物侵袭或降低因病原物侵染造成的损失。

植物抗病激活剂具有如下特点:A. 本身无显著的杀菌或抑菌作用或仅有很低的杀菌或抑菌活性,但能诱发植物自身的免疫系统抵御病害的侵袭。B. 作用机制完全突破了传统的直接杀菌和抗菌的模式。C. 植物抗病激活剂诱导产生的系统抗病性具有持效和广谱的特性,并可遗传给后代。D. 不会对病原菌产生选择压力,不易产生抗药性。E. 对不具有致病性的腐生菌、颞颥菌无影响,不污染环境,有利于维持生态系统中微生物之间复杂而又微妙的平衡

关系,是典型的生态型农药。F. 植物抗病激活剂诱导激活的抗病反应类似于作物的抗病品种,单子叶植物和双子叶植物均可经植物抗病激活剂诱导产生系统获得抗性。G. 植物抗病激活剂与常规杀菌剂联合使用具有相加或协同作用。H. 凭借自然诱发产生 SAR 在表达时间和表达水平上难以预测和控制。

2 植物激活剂的种类

迄今已经发现具有诱发植物 SAR 的化合物主要有:

2.1 苯并噻二唑(BTH)

汽巴-嘉基公司在研究开发磺酰脲除草剂时,获得了苯并[1,2,3]噻二唑-7-羧酸甲酯,并首次发现该化合物能激发植物产生 SAR,并对其构效关系进行了研究。BTH 能迅速被植物吸收和传导,激活植物抗性反应并影响病原菌生活史多个环节。BTH 能诱导植物内部的免疫机制,起到抗病、防病的作用并具有广谱特性。Sauerborn 等^[3]发现,用 40 mg·kg⁻¹ BTH 对向日葵浸种 36 h 可完全控制向日葵的根部恶性寄生杂草向日葵列当,其原理是 BTH 诱导根部合成了植物抗毒素 7-羟基-6 甲氧基香豆素和过氧化氢,但根部木质化作用没有提高。这一研究结果显示了植物激活剂的巨大潜在应用价值。

2.2 2,6-二氯异烟酸(INA)

2,6-二氯异烟酸及其甲酯衍生物可诱导植物黄瓜、水稻和其它多种植物对多种真菌、细菌和病毒的系統抗性。Peronospora parasitica 侵入 INA 处理的拟南芥时,侵入点细胞很快死亡,出现过敏反应;INA 能诱导烟草、黄瓜以及拟南芥植物体内病程相

关蛋白(PR 蛋白)基因的表达;INA 还能激活 β -1,3-葡聚糖、6-磷酸葡萄糖苷脱氢酶、几丁质酶的活性,但对与局部防卫反应相关的酶(如苯丙氨酸解氨酶、酸性蛋白酶、过氧化物酶、多酚氧化酶等)的活性无影响;INA 也能诱导水稻体内脂加氧酶(LOX)活性的提高。因此,INA 类似于许多生物诱导因子,能诱导植物的系统抗性,对与局部坏死相关的一些抗病因子无影响。类似的药剂还有非杀菌性的 N-氰甲基-2-氯异烟酰胺(NCI),它对稻瘟病有很好的预防效果,且持效期可达 30 d 以上。

2.3 烯丙异噻唑

烯丙异噻唑(3-烯丙氧基-2-苯丙异噻唑-1,1-二氧化物)是日本制果公司发现的稻瘟病防治药剂,还通兼防稻白叶枯病,药效可维持 40 d。烯丙异噻唑在离体条件下对稻瘟病几乎没有杀菌作用,最低抑菌浓度(MIC)值达 $800 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;但在植株上显示极高的防治效果。该药通过活化寄主植物的防卫系统诱导稻株体内分泌出 α -亚麻酸等数种高级脂肪酸,使得病程相关蛋白积累并提高与抗病性相关酶的活性等作用,从而诱导水稻的抗病性^[4]。此外,经烯丙异噻唑处理并接种稻瘟病菌后,稻株体内与木质素合成有关酶如过氧化物酶(POD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性明显提高,并引起木质素积累,对病原菌向邻近细胞扩展形成物理屏障,NCI 的作用机理与烯丙异噻唑基本相同^[5]。

2.4 水杨酸(SA)

SA 及其植物体内的代谢物对病原菌无直接的抗菌活性,向烟草叶片注入 SA 可提高烟草对烟草花叶病毒的抗病性; $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA 处理烟草,4 或 5 d 后接种软腐病菌,处理组侵染率为 0,对照组的侵染率为 40%;SA 还能诱导马铃薯、西红柿、黄瓜、水稻等十种植物的抗病性。另外,有些杀菌剂可通过诱导植物体内 SA 的积累来防治病害,如内吸性杀菌剂嘧菌胺能诱导烟草、豌豆等植物体内 SA 的积累,从而对病毒产生抗性。SA 是一种内源的诱导抗性反应的信号分子,能诱导烟草、拟南芥、黄瓜等植物体内病程相关蛋白基因的表达,分离得到的 SA-结合蛋白具有过氧化氢酶活性,SA 能抑制该酶的活性,从而使植物体内活性氧(ROS)积累,提高植物的抗病性。尽管 SA 能诱导植物的抗病性,但其在生产实践中的应用有一定困难,首先,外源 SA 进入植物体后,易与 β -葡萄糖苷等形成螯合物,不易在

韧皮部输导,所以只能保护药剂处理的组织,对未处理的部位无效;其次,SA 诱导抗性反应的有效浓度范围很窄,高浓度易引起药害。

2.5 β -氨基丁酸(BABA)

BABA 是从番茄根部渗出物中检出的一种含量不多的非蛋白质成份的氨基酸,该成份在离体条件下的抗菌活性极弱,但它可诱导多种作物对不同病害产生抗性,例如诱导烟草抵御 *Peronospora fabacina*,棉花抵御 *Verticillium*,番茄抵御 *Phytophthora infestans*,胡椒抵御 *Phytophthora capsici* 和 *Colletotrichum coccodes*,葡萄抵御 *Plasmopara viticola*,向日葵抵御 *Peronospora helianthi*,珍珠稗抵御 *Sclerospora graminicola*。谢丙炎等^[6]报道高浓度 1 000 ppm BABA 对离体辣椒疫霉病菌无抗菌活性,喷雾处理辣椒的茎叶所诱导的抗病作用可完全控制该病的危害;用 BABA 诱导处理后 3 d 接种辣椒疫霉病菌,辣椒植株开始表达出较高的诱导抗性,这种抗病作用可持续 20 d 以上,并表现出与数量抗病性相似的特性。

2.6 茉莉酸(JA)和茉莉酸甲酯(MJ)

茉莉酸和茉莉酸甲酯广泛存在于普通植物中,是高等植物体内的内源生长调节物质,具有促进、控制和抗病毒诱导三方面的生理功能,它能促进植物的呼吸、叶绿素降解、促进植物的光合作用、色素形成、花芽分化、种子萌发等,尤其是诱导植物体内抗毒素的合成,促进植物气孔关闭及叶片、卷须的自我保护^[7];当植物受到外界刺激时(如病虫害,草害,干旱及其它不利因素),体内的茉莉酸及其甲酯含量会迅速增加,并激活植物体内特殊酶的活性,产生具有特殊生理活性的次生代谢物质,从而提高植物自身抗虫、抗病及抗不利环境的能力。另外,它们对水稻和小麦可诱导颖花开放,能提高异株受粉率^[8]。

2.7 乙磷铝和无机盐及其它植物激活剂

乙磷铝是防治卵菌病害的药剂,该药剂在离体条件下抗菌活性很弱,但经乙磷铝处理的植物在病菌侵入时能迅速合成和积累类黄酮类植保素;其在植物体内的代谢产物—磷酸盐能刺激病原菌释放激发子诱导植保素的合成。但乙磷铝在离体条件下的抗菌活性与培养基的成分、磷酸盐的浓度等因素有关,在磷酸盐浓度较高的条件下,抑制疫霉菌生长的药剂浓度高于 $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;在低浓度磷酸盐条件下, $0.01 \sim 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的乙磷铝就能抑制疫霉的

生长。此外也有研究表明,乙磷铝可直接作用于病原菌。另外,其他无机盐如草酸盐和磷酸盐(K_3PO_4 、 K_2HPO_4 、 N_3PO_4 、 N_2HPO_4)^[9]和 $Ni(NO_3)_2$ 、2,2-二氯-3,3-二甲基环丙羧酸、化学除草剂(氟乐灵、黄乐灵、敌乐胺和脑苷脂)A、C 及其去葡萄糖产物 N-脂酰鞘氨醇也被证明具有诱导抗病性,寡糖素也能诱导玉米产生对 MDMV 的抗性。

3 产生诱导抗病作用的机制

3.1 产生诱导抗性的物理机制

植物细胞壁是植物抵御外来异物浸染的第一道有效屏障,当病原物浸染时,细胞壁部分被破坏,这可诱导植物细胞对细胞壁进行修复,结果导致这些非蛋白性物质在细胞壁中加速沉降,细胞壁加厚,因此,寄主细胞壁木质化是植物抗病反应的重要特征之一。木质素(一种重要的物理抗菌物质)的形成与苯丙烷代谢产生的松柏醇有关,松柏醇产生的甲基化醌与富含羟脯氨酸糖蛋白(HRGP)之间共价交错相连,导致木质素在细胞壁沉积,HRGP 作为木质化的模板,与木质素一起构成了致密、不可穿透的屏障,强固了细胞壁,防止了病菌的生长繁殖,从而保护细胞免受侵害。HRGP 是高等植物中特有的一种结构蛋白,其特点是它的羟脯氨酸含量高达 30%~40%。目前对其性质、结构、功能及其分子生物学均有广泛研究,HRGP 可在被各种病原物侵染的植物中积累,可被各种诱导因子所诱导,也可作为凝集素将病原菌固定在细胞壁上,阻止病原菌的入侵和扩展,同时也可作为木质素沉积的位点或结构屏障而在植物的抗病反应中起作用^[10],这就是植物激活剂产生诱导抗性的物理机制。

3.2 产生诱导抗性的信号传导机制

植物要产生系统性抗性,由植物在病原菌“激发子”产生的抗病信号必须由内源信号分子从受感染部位传导至整株植物,已证明,水杨酸、茉莉酸、乙烯和一氧化氮以及活性氧是参与有关信号传导的重要信号分子^[11],其信号传递过程可以分为 SA 依赖性途径和 JA/Et 依赖性的途径(也称 SA 非依赖性途径)。植物防御反应信号 SA 依赖性和 SA 非依赖途径可以产生交叉作用,因此,植物-病原菌间的识别和调控机理以及信号传导途径间的联系错综复杂,有待于植物抗病性分子生物学的进一步深入研究。

3.3 产生诱导抗性的生理生化机制

植物产生诱导抗性后,体内会产生一系列的生理生化指标变化,从而引起相应的防卫反应。即植物对病原物侵入的生理生化反应是以酶的催化活动来实现的,寄主防御酶可催化一些诱导型抗病物质的合成,间接影响寄主的抗病反应。与植物抗病物质的合成相关的酶主要有苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、香豆酶辅酶 A 联结酶(4CL)、多酚氧化酶(PPO)、几丁质酶、超氧化物歧化酶(SOD)、葡聚糖酶、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和一氧化氮合成酶(NOS)等。这些相关的抗病物质主要有植物保卫素、酚类和木质素、富含羟脯氨酸糖蛋白以及病程相关蛋白(PR-蛋白)^[12]等。

3.4 产生诱导抗性的分子生物学

SAR 产生的内在原因仍未达到充分了解,所有植物都含有抗真菌、细菌和病毒的潜在基因,有些并未表达,抗性的决定因素是基因表达的速度和数量以及环境对基因产物活性的影响。研究证明,由化学物质和病原物诱导的 SAR,具有相同的抗菌谱和相同的 SAR 基因,因此,不同途径产生的诱导抗性具有相同的本质即系统性、持久性和广谱性。在双子叶作物中,由病原物或化学物质诱导产生 SAR 的同时,还伴随有许多 SAR 基因编码的 mRNA 的累积。另外,在小麦植株上检测到 5 种由 BTH 诱导产生的 cDNA,分别命名为 cWCI-1 至 cWCI-5。WCI 基因诱导的动态研究发现,施用 BTH 几天后观测到的最大基因诱导量与抗病性的激活在时间上一致。对 BTH、INA 和 SA 激活 WCI 基因的特征比较证明,3 种化合物都是 WCI 基因的激活剂,只是激活水平和动态特性不同,SA 的激活水平最低,持续时间也最短,INA 和 BTH 则比较接近,但激活这些基因达到相同水平时,BTH 所用的浓度更低。因此,植物抗病性的激活与新基因的诱发之间存在高度的相关性。

一般认为,最先诱导表达的防卫基因是植保素合成的相关基因,其后是水解酶和 PR-蛋白相关基因,最后是与富含羟脯蛋白和木质素合成相关基因。外源激发子诱导植物产生的植保素如大豆素、菜豆素、蓖麻素等的合成和表达,主要依赖于苯丙氨酸解氨酶、4-香豆素辅酶 A 连接酶和苯基苯乙烯酮合成酶等相关基因的诱导表达。几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶等水解酶的基因表达是诱导抗性的主

要表现,诱导表达的病程相关蛋白已发现 5 种之多。

防卫基因的表达调控已有深入的研究^[13],植物基因能在诱导后表达,是因为在某些基因的上游存在化学可诱导的启动子(调节序列),现已证明烟草的一个基因启动子区,该基因编码 PR-1a 具有化学可诱导性,在水稻上也发现了一个可化学诱导的编码抗性基因的启动子。另外,抗性基因也可以是隐性的。

这些研究结果揭示了诱导抗性本质,为我们从不同层次筛选抗病诱导剂提供检测手段。许多研究表明,BTH 扮演了类似 SA 的信号分子,在很多植物中能直接诱导一些病程相关蛋白的积累,但诱导 PR-蛋白的能力远远高于 SA,其用量仅为 SA 的百分之一,这说明不同化合物对植物诱导抗性的强度存在较大的差异,因此,合成和筛选新的抗病诱导剂存在巨大的潜力。

4 今后的发展方向

植物激活剂的应用在某种意义上说是完全符合 21 世纪对环保的要求,同时也是最经济有效的方法,因此,具有广阔的应用前景。加强有关植物激活剂的基础研究尤其是信号传导和相关分子机理的研究可以为其应用和创制研究提供理论指导,使得植物激活剂的创制工作定向化进行;另外,加强创制开发是找到环境友好新农药的重要途径;在新品种开发成功以前可以合理利用已有的植物激活剂,将其与其他的杀菌剂合理复配应用不仅可以提高现有杀菌的防效,还能降低其用量,扩大其杀菌谱。当然,利用基因工程技术向敏感植物导入单一的抗病基因或信号传导途径中能激发植物防御机制的基因,可以使植物的防卫反应强度提高或反应速度加快,从而增强植物的抗性水平,这就是植物广谱抗病基因工程育种,这一全新的途径,可取得一劳永逸的效果。近年来,模式植物拟南芥功能基因组学的研究和一批水稻抗病相关突变体的鉴定,使得人们更多、更好的应用植物广谱抗病植物基因工程看到了更多的希望。

因此,植物激活剂以及与植物激活剂相关的其他技术的应用将成为植物保护的重要手段,这对于解决传统化学农药的弊病必将起到巨大的推动作用。

5 国内存在的问题

国内有关植物激活剂的创制工作已经起步,在国内市场上也能见到诸如基因活化剂之类的产品(但多数产品缺乏理论研究的支持),因此,进行新颖的植物激活剂的研究开发对我国可持续农业的发展和农药创制将具有重要的指导意义和经济价值。由于植物激活剂在离体条件下无直接的杀菌或抑菌活性,传统的杀菌剂筛选方法不适合此类研究,即其诱导抗病生物活性筛选体系、生测方法、田间药效技术、混用及评测方法都需要进行相应的补充和调整、系统化和标准化,以免在活性化合物筛选时漏筛和对有效化合物作出不公正的评价,国内目前尚未建立与创制相互配套的筛选方法,因此,植物激活剂生物活性评价的筛选体系的建立也是当务之急。

另外,仅仅依靠诱导抗性防病,对提高作物产量是有限的;诱导抗性可能导致次生代谢产物的积累,尤其是植保素的积累,并对植物细胞产生毒害;诱导接种尤其是以病原菌作为诱导物时可能造成病害流行;在使用植物激活剂时,还应当考虑可能对植物的药害问题和防效的变化问题,有些诱导剂易使植物产生药害。因此,加强诱导剂剂型、用药方式、施用剂量以及复配制剂等方面的研究并使用种衣剂有利于充分发挥植物激活剂的优势。

参考文献:

- [1] Lee, M.W, Qi, M. Yang, Y. A novel jasmonic acid-induced rice myb gene associates with fungal infection and host cell death. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2001, 14:527-535.
- [2] France Gozzo, Systemic acquired resistance in crop protection:from nature to a chemical approach[J]. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51(16): 4487-4503.
- [3] Sauerborn J.H. Buschmann, K. Ghiasvand Ghiasi and K. H. Kogel, Benzothiazole activates resistance in sunflower (*Helianthus annuus*) to the root-parasitic weed *Orobancha cumana*. *Phytopathology*, 2002,92(1):59-64.
- [4] 马忠华,周明国,叶钟音,方中达,烯丙异噻唑刺激稻株体内超氧自由基产生与水稻抗稻瘟病的关系[J]. *植物病理学报*,1997,27(4):339-342.
- [5] Kohichiroh Seguchi, Mineko Kurotaki, Shigeko Sekido et al. Action mechanism of N-cynanomethyl-2-chloroisocotinic acid in controlling rice blast disease, *J. Pesti. Sci.*, 1992, 6(2): 107-113

- [6] 谢丙炎,李惠霞,冯兰香, β -氨基丁酸诱导甜(辣)椒抗疫病作用的研究,园艺学报,2002,29(2):137-140.
- [7] Preston CA, Laue G, Baldwin IT. Methyl Jasmonate is blowing in the wind, but can it act as a plant airborne signal, *Biochemical Systematics and Ecology*, 2001, 29(10):1007-1023.
- [8] 刘世家,夏凯,曾晓春等. 茉莉酸甲酯对小麦颖花开放的诱导效应及其受水杨酸的抑制[J]. 作物学报,2001,27(1):123-126.
- [9] Walters D.R, Murray, D.C., Induction of systemic resistance to rust in *Vicia faba* by phosphate and EDTA:effects of calcium. *Plant Pathology*, 1992, 41:444-448.
- [10] 胡景江,朱玮,文建雷,杨树细胞壁 HRGP 和木质素的诱导积累与其对溃疡病抗性的关系[J].植物病理学报,1999,29(2):151-156.
- [11] Delaney T.P., Genetic dissection of aquired resistance to disease. *Plant Physiol.*, 1997, 113:5-12.
- [12] Kim, Soonok, Il-pyung Ahn, Chan-Ho, Park, et al. Molecular characterization of the cDNA encoding an acidic isoform of PR-1 protein in rice. *Mol. Cells*, 2001, 11(1): 151-121.
- [13] 董汉松, 植物抗病防卫基因表达调控与诱导抗性遗传的机制[J]. 植物病理学报,1996,26:289-293.

Induced resistance of plant activiator

FAN Zhi-jin, LIU Xiu-feng, LIU Feng-li, CHEN Jun-peng, LIU Bin

(*Institute of Elemento Organic Chemistry, Nankai University, State Key Laboratory of Elemento Organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071*)

Abstract: Plant activator itself has no fungicide activity, but they can induce plants to have systemic acquired resistance against a wide spectrum of pathogens. It possessed new mode of action and will become one of the most important discipline in plant protection. Plant activator has prospect of application in the near future.

Key words: Plant activator; Systemic acquired resistance; Induced resistance.

《中国粉体工业》征订启事

本刊由中国新材料产业发展促进委员会和中国粉体网主办,以庞大的信息网络和先进的传递手段,灵敏、快速、准确地传递粉体信息,是社会各界及时了解粉体行业发展和国内外行情动态的窗口,信息交流的平台。

主要内容有:重点宣传与粉体工业相关的国家产业政策;评述粉体行业现状及前景;敏锐追踪粉体行业的热点及难点;实时报道粉体行业科技、经济、市场动态;推广新产品、新技术、新成果;发布供求信息;展示企业风采。本刊所有信息通过中国粉体网向国内外发布,实现网、刊互动。

本刊为国际标准大 16K,月刊,每月 15 日出版发行,全年 12 期,订费 120 元(含邮寄费)。面向全国,自办发行,滚动订阅,需订阅的单位和个人请从邮局或银行汇款至《中国粉体工业》编辑部付信涛收。

地址:北京市海淀区中关村南大街 12 号百成科技楼 邮编:100081 联系人:付信涛

电话:010-62130691,62110169 传真:010-62110169 电子邮箱:powderbjb@163.com

开户行:工行北京市中关村支行成府路分理处

帐号:0200095709200003982 户名:北京青科新材技术开发中心