

# 氮氧自由基在松树与松材线虫互作中的调控作用研究

吴小芹, 俞禄珍, 刘 劼, 何龙喜, 叶建仁

(南京林业大学, 江苏省有害生物入侵预防与控制重点实验室, 南京 210037)

松材线虫病的致病机理目前尚不清楚。近年自由基被证实是启动植物抗感病反应的关键信号物质, 已成为病害发生机制研究的热点。然而对松树与松材线虫互作中氮氧自由基的功能研究报道较少。本研究从寄主与病原物互作早期氮氧自由基信号传入手, 研究不同抗性松树对松材线虫的抗感差异及其在病程中发生典型病变特征与自由基动态变化的关系, 发现抗性松树体内 NO 和 ROS 在接种早期应答反应较感病松树快, 后期积累量低, 且组织病变较感病松树轻, 病程发展慢, 表明不同抗性松树感染松材线虫后自由基变化与松树的组织病变密切相关。首次采用外源氮氧自由基探讨了自由基在松树对松材线虫入侵应答反应中的作用, 发现黑松受松材线虫侵染后, 黑松体内 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量均明显增加, 且 NO 含量的积累早于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 经 NO 供给剂硝普钠 (SNP) 或抑制剂 cPTIO 处理可明显升高或降低黑松体内 NO 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量, 且感病症状比仅接种松材线虫的黑松提前或推迟出现。同时采用外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 供给剂或抑制剂处理, 探讨 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对染虫黑松体内抗氧化保护酶系统和苯丙烷代谢途径的调控作用。研究表明, NO 作为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的上游信号分子, 通过调控抗氧化保护酶系统及苯丙烷代谢途径介导了松树对松材线虫入侵的应答反应, 并影响了病程的发展。同时对病程中生成自由基的关键物质及其相关特性进行研究, 表明 NOS 是黑松与松材线虫互作体系中 NO 合成的关键酶。进一步对 NOS 类型 (cNOS、iNOS) 分析发现, cNOS 是黑松体内 NO 积累的关键酶。对染虫黑松体内 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 产生的酶途径研究发现, 黑松受松材线虫侵染后, 体内黄嘌呤氧化酶 (XO) 活性与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量变化较一致; 进一步采用 XO 抑制剂处理后, 黑松体内 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量明显受抑制; NADPH 氧化酶抑制剂 DPI 处理也可明显抑制染虫黑松体内的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量。这表明, XO 和 NADPH 氧化酶是染虫黑松体内 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 产生的重要酶。本研究揭示了松树对松材线虫入侵应答反应中关键信号物质自由基在抗感病过程中的代谢变化及其调控作用, 这对深入分析松材线虫病的致病机理具有重要的科学意义和理论价值。

**关键词:** 松材线虫; 松树; 氮自由基; 氧自由基; 应答响应

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (30972369), 国家重点基础研究发展计划

(2009CB119200) 和江苏省高校自然科学研究项目 (11KJA22002)。