

雪霉叶枯病菌毒素对小麦叶片 PAL 活性的影响*

王保通¹ 梁耀琦² 袁文焕¹

(1 陕西省植物保护研究, 陕西杨陵 712100) (2 陕西省植物保护工作站, 西安 710000)

摘 要 用不同抗雪霉叶枯病的小麦品种, 分别接种雪霉叶枯菌粗毒素液和分生孢子, 测定了小麦叶内苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的变化, 初步讨论了毒素在病害发生过程中的致病机理。结果表明: 粗毒素液和分子孢子都有提高 PAL 活性的作用, 但二者刺激的强度不同, 毒素处理大于分生孢子接种, 抗病品种大于感病品种。测定不同浓度粗毒素液处理的小麦叶片 PAL 活性表明, 小麦叶片用40%的粗毒素液处理, 叶内 PAL 活性值最高, 低浓度的毒素液刺激 PAL 活性产生, 而高浓度的粗毒素液抑制叶内 PAL 活性。

关键词 小麦, 雪霉叶枯菌, 毒素, 苯丙氨酸解氨酶

中图分类号 S435.121.48

小麦雪霉叶枯病 *Gerlachia nivalis* (Ces. es Sacc.) Gans and Mull 自60年代发现以来, 已成为我国北方冬麦区的又一大病害。关于该菌的形态、培养性状以及其对温度、光照、化学药剂的反应、生理分化等方面的研究已见报道, 也有学者对该病从侵染循环、发病条件及防治措施等方面进行了研究^[1], 宁毓华等研究了该菌毒素的提取方法并用毒素检验了不同抗性的小麦品种对粗毒素的抗性反应^[2]。但关于该病生理生化方面的研究尚未见报道。为了弄清该病的生化抗病机理, 作者测定了不同抗性小麦品种在接种粗毒素和分生孢子后小麦叶内的一系列生化指标。本文介绍在接种情况下, 寄主叶内苯丙氨酸解氨酶活性的变化。

1 材料与方 法

供试品种、菌种及培育 供试小麦 (*Triticum aestivum* L.) 为抗病品种小偃6号和感病品种偃师9号。小麦雪霉叶枯菌为关中大田采集的致病性强、产孢量大的单孢分离纯化菌种, 在 PDA 培养基上繁殖到产生大量桔红色分生孢子后, 置冰箱(4℃)中备用。小麦育苗采用常规土培法, 待第二叶长出后, 用分子孢子悬浮液或粗毒素滤液喷雾接种, 保湿24 h, 置于光照生长箱(16±1℃)中培育, 光强8000~10000 lx, 光照16 h/d。各品种均以未接种为对照。

测定方法 毒素的提取采用文献[2]的方法; 苯丙氨酸解氨酶的测定用薛应友等的方法^[3]加以改进, 取0.5 g 小麦叶片(第二叶)加0.1 mol/L 硼酸缓冲液(pH8.8, 含1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L 巯基乙醇)冰浴研磨, 四层纱布过滤, 48000 r/min 4℃离心20 min, 取上清液加含0.02 mol/L L-苯丙氨酸的0.1 mol/L 硼酸缓冲液, 置40℃水浴1 h, 加

收稿日期: 1995-06-22

* 国家“八五”攻关项目。

6 mol/L HCl 终止反应,再加氯仿萃取(以除去叶绿素干扰),8000 r/min 离心,吸取一定量的氯仿提取液(下层),置沸水浴中蒸干,加定量双蒸水溶解,用754型紫外分光光度计在290 nm 下测吸收值,以每克鲜重每小时的 OD 值表示酶活性。

2 结 果

2.1 接种品种的致病性反应

小偃6号接种粗毒素液后12 h,接种叶比未接种叶颜色黄,有失绿症状;24 h 后表现为水渍状斑纹,叶脉变黄,以后逐渐扩大到全叶。接种分生孢子悬浮液后24 h,可看到叶片上产生很多极小的斑点,之后小斑点逐渐扩大形成明显的病斑,病斑椭圆形,边缘较明显。偃师9号接种粗毒素液后,症状出现基本同小偃6号,只是叶片变黄的症状较小偃6号快;接种分生孢子悬浮液后,形成的小斑点迅速形成小病斑,而且病斑扩展快,边缘界限不明显,表现为典型的感病类型。而小偃6号表现中抗—抗病类型反应。

2.2 粗毒素液对寄主叶片 PAL 活性影响

将粗毒素原液分别稀释为原液的20%,40%,60%,80%,100% 5个浓度。分别接种供试的小麦幼苗,培养保湿24 h 后取样测定叶片的PAL 活性(图1)。由图1可见,用40%的毒素液接种小麦叶片,叶内 PAL 活性值最高,低于或高于40%毒素液处理的叶片,叶内 PAL 活性均低于这个值。而且随着毒素浓度进一步提高,PAL 活性也随之下降。说明低浓度的毒素刺激叶内 PAL 活性产生,而高浓度的粗毒素液抑制叶内 PAL 活性。在本试验毒素浓度范围内,抗病品种小偃6号叶内 PAL 活性均高于感病品种偃师9号。

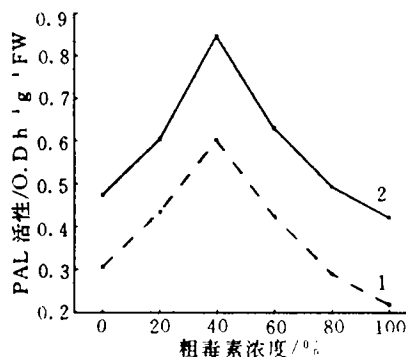


图1 不同浓度毒素对叶内 PAL 活性影响
1. 小偃6号;2. 偃师9号

2.3 分生孢子与粗毒素分别接种后叶片 PAL 活性的变化

分别用雪霉叶枯病菌分生孢子悬浮液与粗毒素(40%)接种小麦叶片后12,24,96 h,测定叶内 PAL 活性(图2)发现,不论是抗病品种还是感病品种,接种后叶内 PAL 活性均高于对照,到96 h 后接近或低于对照。用粗毒素接种后,寄主叶片 PAL 活性增加得早,且增加幅度大;在接种后12 h 与对照差值达最大,之后逐渐下降,直至96 h 接近或低于对照。用分生孢子接种后,寄主叶内 PAL 活性在12 h 只有少量增加,到24 h 迅速增加到最大值,之后缓慢降低,直到接种后96 h。与用粗毒素液接种相比,分生孢子接种后叶内 PAL 活性增加较慢,降低也较慢;从 PAL 活性值看,在接种前期(12,24 h)用粗毒素液接种的值高于分生孢子(图3)。表明小麦雪霉叶枯菌主要是通过毒素来影响寄主叶内防御酶 PAL 活性的。分生孢子接种后萌发产生菌丝侵入寄主叶片,同时产生毒素,通过毒素危害寄主细胞,又刺激了寄主体内的 PAL 活性,从而启动了寄主体内抵御病菌侵害的生化途径。

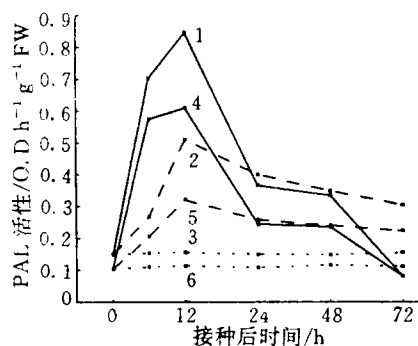


图2 不同接种物对叶内 PAL 活性的影响

1. 毒素, 抗病品种; 2. 分生孢子, 抗病品种;
3. 对照, 抗病品种; 4. 毒素, 感病品种;
5. 分生孢子, 感病品种; 6. 对照, 感病品种

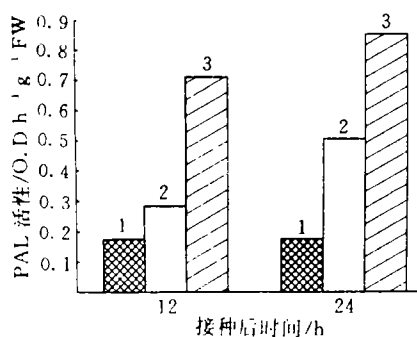


图3 接种后不同时间内 PAL 的变化

品种: 小偃6号

1. 对照; 2. 分生孢子; 3. 毒素

3 讨 论

雪霉叶枯菌在培养过程中能产生致病毒素^[2]。毒素可以对小麦根、茎、叶的生长发生毒害。本试验中,粗毒素培养液与病原菌分生孢子接种同样能使小麦受害,刺激 PAL 活性增高,且增高的幅度前者大于后者。此外,用分生孢子接种感染的效应比毒素处理的晚(图 2,3),显然这是由于孢子萌发生长需要一个过程,所产生的毒素需要一段时间才能积累到一定浓度。虽然目前还不能肯定雪霉叶枯病的症状完全是由雪霉叶枯菌毒素造成,然而毒素的作用至少反映了雪霉叶枯病菌感染致病的某些特征,如刺激木质素合成代谢途径中一系列酶的活性。这与前人在研究马铃薯晚疫病病菌毒素时得到的结果类似^[4]。

由于目前尚未发现真正抗雪霉叶枯菌的小麦品种,所以对该病的抗病育种与抗病机制的研究存在一定难度。本研究采用的小偃6号品种严格地说是一个中度抗性品种。为了区分中抗与感病品种,本文中暂名为抗病品种,因为目前还没有发现真正意义上的抗病品种。从试验结果看,小偃6号和偃师9号对相同剂量的病原菌感染和毒素处理的反应强度是有差异的,抗病品种的 PAL 活性高于感病品种。这与对马铃薯晚疫病病菌毒素的研究结果类似^[4],而与对玉米大、小斑病菌毒素的研究结果不同^[5]。但如果从接种处理比对照的增加值来看,抗病品种与感病品种间又没有显著差异。这可能是因为试验所选的抗病品种在机理上仍与感病品种类似。

参 考 文 献

- 1 王保通. 陕西省小麦雪霉叶枯病研究现状. 植物保护, 1992, 18(2): 33~25
- 2 宁毓华, 冯益民, 杨 桦等. 小麦雪霉叶枯菌粗毒素的提取及其致病性鉴定方法研究. 西北农业学报, 1992, 1(4): 15~18
- 3 薛应龙. 植物生理学实验手册. 上海, 上海科技出版社, 1985: 375~379
- 4 王敬之, 薛应龙. 植物苯丙氨酸解氨酶研究 I. 植物生理学报, 1982, 8(1): 35~43

- 5 王敬之,薛应龙. 植物苯丙氨酸解氨酶研究Ⅱ. 植物生理学报,1982,8(3):23~24
- 6 刘汉文,何 昆. 小麦雪霉叶枯病菌的生理生化研究. 陕西农业科学,1986(4):26~27
- 7 商鸿生,齐艳红. 小麦雪霉叶枯病菌的侵染过程. 植物病理学报,1983(3):155~159
- 8 Moerschbacher B M, Noll U, Ocampo C A. Lignin biosynthetic enzymes in stem rust infected, resistant and susceptible nearisogenic wheat lines. Physiol Mol Plant Pathol, 1988, 33:33~46

Effect of *Gerlachia nivalis* Toxin on Phenylalanine Ammonia-lyase Activity of Wheat Leaves

Wang Baotong Liang Yaoqi Yuan Wenhuan

(Shaanxi Institute of Plant Protection, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The changes of PAL activity of wheat leaves were measured with the treatment of *Gerlachia nivalis* toxin and infected with the conidium. The PAL activity in toxin-treated wheat leaves increased more markedly than when they were infected with the pathogen *G. nivalis*. The increase of PAL level was greater in resistance variety than in susceptible one. The PAL activity was the greatest when wheat leaves were treated with 40% crude toxin.

Key words wheat, *Gerlachia nivalis*, toxin, phenylalanine ammonia-lyase (PAL)