

地蚕提取物诱导小麦抗条锈病的研究^{*}

王 阳¹, 尹晓飞¹, 徐智斌¹, 黄 洁², 李振岐¹, 宋纪蓉², 尹 涛²

(1 西北农林科技大学 植保学院, 陕西 杨凌 712100; 2 西北大学 化工学院, 陕西 西安 710069)

[摘 要] 以 650, 700, 750, 800, 850, 900 mL/L 乙醇的地蚕提取液进行了小麦诱导抗病性研究。结果表明, 900 mL/L 乙醇的地蚕提取液诱导抗性平均可达 80% 以上。提取液对小麦条锈菌夏孢子萌发无明显抑制作用。以 100× 的 900 mL/L 乙醇的地蚕提取液喷雾处理小麦叶片, 5 d 后接种小麦条锈病菌, 小麦叶片中苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)和超氧化物歧化酶(SOD)的活性均比对照有明显增加, 表明地蚕提取液产生诱导抗性的机制是激活了小麦本身的抗病性。

[关键词] 地蚕; 低聚糖; 小麦条锈病; 诱导抗病性

[中图分类号] S432.1 [文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)11-0045-03

植物病害防治有两条最基本途径, 一是利用植物的抗病性, 二是针对病原物使用各种杀菌剂, 前者是防治植物病害的最根本和最有效的途径。近年来, 随着小麦条锈菌新小种的出现和发展, 现有的主要小麦品种基本上已丧失了抗锈性, 小麦条锈病又开始流行, 给小麦生产造成了巨大损失。利用杀菌剂防治小麦病害, 容易产生抗药性, 同时又污染环境。因此, 生物防治是生产上迫切需要解决的问题^[1,2]。研究表明^[3,4], 低聚糖能诱导植物本身产生抗病性, 对环境无污染, 可同时防治多种病害。地蚕(*S tachyose geoban bycis*)又名草石蚕, 为多年生块茎植物, 碳水化合物含量 230 g/kg。本研究用乙醇溶液提取地蚕中的低聚糖, 研究其提取液对小麦条锈病的抗性。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试小麦品种为辉县红, 由西北农林科技大学植保学院植病研究所提供, 对所有小麦条锈菌生理小种均为高感。小麦条锈菌(*Puccinia striiformis f. sp. tritici*)采自田间自然发病的小麦植株, 在小麦品种辉县红上繁殖备用。

供试试剂: 用 650, 700, 750, 800, 850, 900 mL/L 乙醇提取地蚕粉, 提取物分别定为 A, B, C, D, E 和 F, 真空干燥后配成 10× 母液备用。粉锈宁为山东淄川柳泉农药厂生产的 20% WP。

1.2 试验方法

1.2.1 地蚕提取物对小麦条锈菌的抑制试验

(1) 苗期诱导抗性试验。将供试小麦种子消毒、浸种、催芽后盆栽, 每盆种植 15 株左右, 待幼苗长至一叶一心时, 用 100× 和 500× 的地蚕提取液(加 0.1% Tween-20)分别喷在小麦幼苗上, 使植株叶片湿润, 同时设清水和粉锈宁处理为对照(加 0.1% Tween-20)。处理 5 d 后, 用新繁殖的条锈菌夏孢子配成孢子水悬液以涂抹法接种, 保湿 24 h 后转入温室培养, 第 15 天记载各处理的发病率和严重度(严重度按照小麦条锈病 8 级标准记载), 计算病情指数及诱抗效果。诱抗效果以病情指数下降百分率表示, 诱抗效果 = (对照病情指数 - 处理病情指数) / 对照病情指数 × 100%。每个处理重复 3 次, 取平均值。

(2) 体外抑制试验。于一洁净载玻片上滴 100× 和 500× 地蚕提取液各 1 滴(对照用蒸馏水), 用接种针沾取条锈菌夏孢子少许抖落在液滴表面, 将载玻片翻转使成悬滴, 放入培养皿底部铺有浸湿吸水纸中的小玻棒上, 将培养皿放在 10~14℃ 下, 6~12 h 后检查孢子萌发情况, 以芽管长度超过孢子直径长度的 50% 作为已经萌发的孢子^[5]。

1.2.2 不同试剂处理后酶活性的测定 以 100× 900 mL/L 乙醇的地蚕提取液处理小麦幼苗, 5 d 后接种小麦条锈菌, 测定苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)和超氧化物歧化酶(SOD)的活性。

* [收稿日期] 2003-10-14

[基金项目] 西北农林科技大学“挑战杯”科技创新基金

[作者简介] 王 阳(1973-), 女, 上海崇明人, 助理研究员, 在读博士, 主要从事植物免疫学研究。

[通讯作者] 李振岐(1922-), 男, 河北遵化人, 教授, 院士, 主要从事植物病理和植物免疫学研究。

苯丙氨酸解氨酶的提取及活性测定参照薛应龙等^[6]的方法进行(以每克鲜重每小时的OD₂₉₀值每增加0.01为1个酶活性单位,下同)。

多酚氧化酶的提取及活性测定参照朱广廉等^[7]的方法进行。

超氧化物歧化酶的提取及活性测定参照朱广廉等^[7]的方法,以抑制氮蓝四唑(NBT)还原50%酶量为1个酶活力单位,以缓冲液代替酶液的处理为空白对照,酶活性的计算:酶活性(U/L)=2(OD₅₆₀空白-OD₅₆₀处理)/OD₅₆₀空白。

2 结果与分析

2.1 地蚕提取液诱导抗性的筛选

从表1可以看出,小麦叶片经地蚕提取液处理和接种小麦条锈菌后,小麦条锈病的严重度和病情指数均有所下降,650,700和900 mL/L乙醇的地蚕提取液处理后的诱抗效果均达到70%以上,其中以900 mL/L乙醇的地蚕提取液的诱抗效果最好,第1叶和第2叶的诱抗效果均在80%以上。说明地蚕中含有功能性的低聚糖,用乙醇提取后处理小麦幼苗能提高小麦抗锈性。

表1 地蚕提取液诱导小麦抗条锈性的效果

Table 1 The result of induced resistance of wheat stripe rust by *S tachyose* extracts at various concentration

处理 Treatment	第1叶 The first leaf				第2叶 The second leaf			
	发病率/% Disease percent	严重度/% Severity	病情指数 Disease index (D I)	诱抗效果/% Effect of induced resistance	发病率/% Disease percent	严重度/% Severity	病情指数 Disease index (D I)	诱抗效果/% Effect of induced resistance
清水 Water(CK ₁)	100	66.0	66.0	-	100	26.5	26.5	-
50 μg/mL 粉锈宁 Triadimefon(CK ₂)	54.54	8.75	4.77	92.77	63.64	5.57	3.54	86.62
A 100×	54.55	26.00	14.18	78.52	45.45	12.00	5.45	79.43
A 500×	46.70	37.14	17.33	73.74	46.7	12.86	6.00	77.36
B 100×	55.60	18.10	10.06	83.32	52.2	13.08	6.83	74.23
B 500×	55.60	20.00	11.12	83.15	55.6	14.10	7.83	70.45
C 100×	80.00	65.00	52.00	21.21	80.0	14.38	11.5	56.60
C 500×	92.31	51.67	47.69	27.74	76.92	6.600	5.08	80.83
D 100×	70.00	58.57	41.00	37.88	60.00	24.17	14.5	45.28
D 500×	90.91	58.00	52.73	20.11	90.91	13.50	12.3	53.70
E 100×	80.00	55.00	44.00	33.33	73.33	14.50	10.73	59.51
E 500×	100.0	58.00	58.00	12.12	60.00	24.17	14.5	45.28
F 100×	76.92	12.71	9.780	85.18	39.23	8.890	3.49	86.70
F 500×	76.92	13.67	10.51	84.08	43.75	12.03	5.26	80.15

注:A,B,C,D,E,F分别为地蚕的650,700,750,800,850,900 mL/L乙醇提取液。

Note: The alcohol concentration of A, B, C, D, E, F is 650, 700, 750, 800, 850, 900 mL/L, respectively.

2.2 地蚕提取液对条锈菌的体外抑制试验

在100×的地蚕提取液F中,条锈菌夏孢子的萌发率为28.1%,在500×的地蚕提取液中,条锈菌夏孢子的萌发率为27.8%,而清水对照为28.6%,说明地蚕提取液对小麦条锈菌无杀菌活性。

2.3 地蚕提取液对酶活性的影响

2.3.1 对PAL活性的影响

表2 地蚕提取液对小麦叶片PAL, PPO和SOD活性的影响

Table 2 Changes of PAL, PPO and SOD activity in wheat leaf after the treatment of *S tachyose* extract

采样时间/d Days after treatment	PAL (OD · g ⁻¹ · h ⁻¹)		PPO (OD · g ⁻¹ · min ⁻¹)		SOD (OD · g ⁻¹ · min ⁻¹)	
	CK	处理 Treatment	CK	处理 Treatment	CK	处理 Treatment
1	0.048	0.056	0.732	0.738	0.296	0.126
3	0.066	0.096	0.450	0.510	0.269	0.429
5	0.054	0.072	0.390	0.378	0.583	0.961
7	0.054	0.076	0.440	0.398	0.669	0.584
9	0.078	0.088	0.406	0.550	0.664	0.589
11	0.050	0.076	0.390	0.470	0.522	0.439

地蚕提取液处理后接种小麦条锈菌,第1天PAL活性与对照相比变化不大,随后PAL活性不断增加,在第3天达到峰值,然后开始下降,第5天又开始缓慢回升,到第9天达到另一个峰值后下降。处理后叶片中PAL活性比对照高1.5~2倍。

2.3.2 对 PPO 活性的影响 由表 2 可以看出, 地蚕提取液处理后 1~5 d PPO 活性呈下降趋势, 在 5~9 d 总体呈上升趋势。接种后 1~11 d, 处理 PPO 活性大部分高于对照。在第 6 天处理的酶活性为同期清水对照的 1.4 倍, 在第 9 天为 1.3 倍。

2.3.3 对 SOD 活性的影响 由表 2 可见, 在处理后的第 1 天, 小麦幼苗 SOD 活性低于对照, 随后不断上升, 在第 5 天处理的 SOD 活性(0.961) 远大于相应的清水对照(0.583), 为其的 1.6 倍。从第 7 天开始, 地蚕提取液处理的 SOD 活性一直略低于清水对照。

3 结论与讨论

1) 余露等^[8]研究发现, 低聚糖处理能提高对小麦赤霉病的抗病性, 并已在生产上推广应用。本研究结果表明, 地蚕提取物在离体条件下, 对小麦条锈菌

夏孢子没有杀菌活性, 喷施小麦叶片后能明显提高小麦的抗锈性, 表明地蚕中提取的低聚糖能诱导小麦产生抗病性, 有望开发成为一种诱抗剂。

2) 陈庆河等^[9]、Farkas 等^[10]的研究表明, PAL 是植物抗病代谢(莽草酸途径)的关键酶和限速酶, 在木质素的积累、植保素和酚类物质的合成中起重要的作用, PPO 也是植保素、酚类物质合成的重要酶。因此, PAL, PPO 活性的增加, 对植物的抗病非常有利。Mehdy^[11]研究表明, SOD 是寄主植物细胞内抵御活性氧伤害的主要保护酶类, 在清除活性氧、阻止活性氧的形成等方面起着重要作用, 其活性可间接反映植物体内活性氧代谢的变化, 与植物抗病性密切相关。本研究结果表明, 地蚕提取物处理后, 小麦叶片内与植物抗病有关的 PAL, PPO 和 SOD 活性增强, 说明地蚕提取物诱导小麦抗锈性的机制可能是激活了植物本身的抗病代谢过程。

[参考文献]

- [1] Sticher L, Mauch M, Van B, Metraux J P. Systemic acquired resistance[J]. Annual Rev Phytopathol, 1997, 35: 235- 270
- [2] 张元恩. 植物诱导抗病性研究进展[J]. 生物防治通报, 1987, 3(2): 88- 90
- [3] 李宏潮, 冯 峰, 王 虹. 利用植物低聚糖素改善小麦抗病性[J]. 华北农学报, 1993, 8(2): 6- 9
- [4] 李宏潮, 王 虹, 胡道芬, 等. 植物低聚糖提取和生物活性鉴定[J]. 华北农学报, 1992, 7(1): 60- 64
- [5] 李振岐, 曾士迈. 中国小麦锈病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002
- [6] 薛应龙. 苯丙氨酸解氨酶在植物抗病中的作用[M]. 北京: 科学出版社, 1984
- [7] 朱广廉, 钟海文, 张海琴. 植物生理学实验[M]. 北京: 科学出版社, 1990
- [8] 余 露, 李 纬, 谭 健, 等. 低聚糖提高小麦的抗病性及其应用于防治小麦赤霉病的研究[J]. 生物工程进展, 1995, 15(6): 36- 39
- [9] 陈庆河, 翁启勇, 胡方平. 青枯病原细菌无毒菌株诱导番茄防御酶系及粗提液抑菌活性的影响[J]. 植物病理学报, 2003, 33(4): 334- 337
- [10] Farkas G L, Stahmann A. On the nature of change in peroxidase isoenzymes in bean leaves in tomato plants of south bean mosaic virus[J]. Phytopathology, 1996, 56: 669- 677
- [11] Mehdy M C. Active oxygen species in plant defense against pathogens[J]. Plant Physiology, 1994, 105: 467- 472

Studies on the induced resistance of *S taylorae geoban by cis* extracts to stripe rust of wheat

WANG Yang¹, Y IN Xiao-fei¹, XU Zhi-bin¹, HUANG Jie²,
L I Zhen-qi¹, SONG Ji-rong², Y IN tao²

(1 College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 College of Chemical Engineering, Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069, China)

Abstract: Extracts from *S taylorae geoban by cis* were studied on resistance induction of wheat leaves. After the inoculation of urediospores (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) on wheat, the disease index of extract by 900 mL/L alcohol reduced 80%. The extracts didn't restrain the germination of spores apparently. The activities of phenylalanine ammonia lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO), superoxide dismutase (SOD) in treated leaves are to be raised with different degree after inoculation of urediospores. It seems that *S taylorae geoban by cis* extracts would induce resistance to stripe rust in wheat leaves through activating the plant defense reaction.

Key words: *S taylorae geoban by cis*; oligosaccharide; wheat stripe rust; resistance induction