

不同温度型小麦幼苗期的抗锈性及其生理特性分析

程晶晶^a,周春菊^b,李 蓉^a,魏国荣^a,康振生^a,黄丽丽^a

(西北农林科技大学 a. 植保学院与陕西省农业分子生物学重点实验室, b. 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] **【目的】**明确冷、暖型小麦幼苗期的抗锈性,以及其叶绿素含量、细胞膜相对透性与抗病性的关系。**【方法】**以典型的冷型小麦品种陕 229、小偃 6 号和暖型小麦品种 NR9405 为供试材料,通过盆栽试验调查抗锈性指标,利用分光光度法和电导仪法测定小麦叶片叶绿素含量和细胞膜相对透性。**【结果】**所有供试小麦品种在人工接种条锈菌 CY29 后均表现为感病(反应型 3~4),但冷型小麦的抗锈性较暖型小麦强,表现为病害潜育期较长、花斑数较少、产孢期较短、产孢量较少。冷型小麦叶绿素含量下降较缓慢,细胞膜相对透性较低,细胞膜伤害率低。**【结论】**不同温度型小麦幼苗期抗条锈性与其生理特征密切相关。

[关键词] 冷型小麦;幼苗期;抗锈性;叶绿素含量;细胞膜透性

[中图分类号] S435.121.4⁺2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2009)02-0112-05

Resistance to stripe rust and its physiological analysis of different temperature typical wheat in seedling stage

CHENG Jing-jing^a, ZHOU Chun-ju^b, LI Rong^a, WEI Guo-rong^a,
KANG Zhen-sheng^a, HUANG Li-li^a

(a. College of Plant Protection and Shaanxi Key Lab of Molecular Biology for Agriculture, b. College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** The study confirmed the chlorophyll content, relative membrane permeability and resistance to stripe rust of the different temperature typical wheats including Shaan 229, Xiaoyan 6 and NR9405. **【Method】** The resistant index to stripe rust, chlorophyll content and relative membrane permeability were tested by the method of potted experiment, spectrophotometry and electric conductivity instrument in seedling stage. **【Result】** The results indicated that all of the tested varieties showed susceptibility to stripe rust. But the cooler typical wheat variety Shaan 229 showed longer latent period, less spores, shorter confinement, more leaf chlorophyll content, less relative membrane permeability compared with the warmer one NR9405 after inoculation with CY29. This indicated that there is close relation between the resistance of wheat varieties to stripe rust and physiological characteristics. **【Conclusion】** These results show that the resistance to stripe rust of different temperature typical wheat is closely related to its physiological characteristics.

Key words: cold type wheat; seedling stage; stripe rust; chlorophyll content; membrane permeability

对小麦群体冠层温度多年的连续观测发现,不同基因型小麦籽粒灌浆结实期的冠层温度存在差

* [收稿日期] 2008-04-02

[基金项目] 国家“973”项目(2006CB100203);国家科技支撑计划项目(2006BAD08A05);教育部长江学者和创新团队发展计划项目(200558);高等学校创新引智计划项目(B07049)

[作者简介] 程晶晶(1982—),女,河南洛阳人,在读硕士,主要从事小麦病害生态病理学研究。E-mail: jingjing82212@163.com

[通信作者] 黄丽丽(1961—),女,陕西周至人,教授,博士生导师,主要从事植物病害综合防治研究。

E-mail: huanglili@nwsuaf.edu.cn

异,以当地生产上大面积推广的小麦品种小偃 6 号为对照,冠层温度持续偏低或相当的小麦称之为冷型小麦;相反,持续偏高的称之为暖型小麦^[1]。进一步研究发现,冷型小麦叶片功能期、叶绿素含量、净光合速率及保护酶活性均明显优于暖型小麦,具有较明显的抗早衰能力,有利于小麦的高产和稳产^[2-3],而且冷型小麦对于干旱、阴雨、养分胁迫等逆境条件具有较强的适应性^[4-6]。

条锈病是小麦生产上最重要的病害之一,由于其分布广、传播快,流行年份往往给小麦生产造成重大损失^[7-8]。应用抗病品种是防治小麦病害最经济、有效和对环境安全的措施。但是新毒性小种不断产生,抗病品种的抗性容易丧失,又是造成病害流行和防治难的主要原因。因此,20 世纪 70 年代以来,国内外非常重视对其他类型抗锈性的研究利用,如持久抗性^[8]、成株抗性、慢锈性、高温抗锈性等,但对不同温度型小麦抗锈性的研究尚未见报道。

本研究选用有代表性的冷、暖型小麦品种,观察条锈菌侵染条件下小麦幼苗期的抗病性表现,测定了小麦叶片叶绿素含量和细胞膜相对透性,探讨了抗锈性与其生理特性的关系,旨在完善冷型小麦理论,以期为西北干旱地区小麦抗病品种的选育及其利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料及仪器

供试小麦品种:冷型小麦为小偃 6 号和陕 229,暖型小麦为 NR9405,均由西北农林科技大学生命科学学院低温种质研究室提供。

供试菌种:小麦条锈菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)生理小种 29 号(CY29),在感病小麦品种铭贤 169 上纯化和隔离繁殖后备用。

仪器:UV-756 型分光光度计(上海光谱仪器有限公司),DDS-307 型电导仪(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 方 法

将供试小麦品种播于直径为 10 cm 的瓦质花盆内,每盆 25 粒,每品种播 24 盆,置温室 20 ℃ 培育。待第 1 片真叶展平、第 2 片叶露尖时(12 盆),用小麦条锈菌夏孢子悬浮液涂抹接种^[9],保湿桶内保湿 24 h,然后置于温度为 10~15 ℃、相对湿度 60%~80%、平均光照强度 10 000 lx、光照 16 h/d 的温室中培养。12 盆未接种的对照幼苗进行同样的保湿和培养。

1.2.1 抗锈性指标的鉴定 接种叶片的发病情况在发病充分后(约为接种后 15 d),根据常规方法调查反应型并记载,反应型分为 0,0;,1,2,3 和 4 共 6 级,0~0;级为免疫;1~2 级为抗病(R),3~4 级为感病(S)。

花斑数测定:自接种后第 7 天开始系统观察,待叶面花斑数停止增加时计数。

花斑期测定:从接种到叶面上出现花斑所需的时间,由系统调查确定。

潜育期测定:从接种到叶片上第一个夏孢子堆开裂所需的时间,由系统调查确定。

产孢期测定:叶片上第一个夏孢子堆开裂至所有夏孢子堆死亡的时间,由系统调查确定。

产孢量测定:从第一个夏孢子堆开裂开始,每天收集散裂的孢子粉,直到最后一个夏孢子堆死亡为止。收集完毕后,称量并计算其产孢量。

各处理固定调查 20 片叶(株)(挂牌标记)。试验重复 3 次。

1.2.2 叶绿素含量的测定 在接种后 1,3,5,7,8,9,11,13 d 分别各取样 1 次。每个品种随机取 9 片叶的中间部位,剪成 0.2 cm 片段,混匀后称取 0.1 g,放入 25 mL 棕色容量瓶内,用体积分数 80%丙酮定容至 25 mL 并浸提 24 h,取其浸提液,用 UV-756 型分光光度计比色测定,然后按 Arnon 公式计算叶绿素含量^[10]及叶绿素含量减小率。以不接种的健康叶片为对照,试验重复 3 次。

叶绿素含量减小率/%=(对照叶片叶绿素含量-接种叶片叶绿素含量)/对照叶片叶绿素含量×100%。

1.2.3 细胞膜相对透性的测定 在接种后第 1,3,5,7,8,9,11 d 分别各取样 1 次,取样方法同上,将样品放入盛有 30 mL 蒸馏水的小烧杯中,置于真空干燥器内抽气 10 min 后,室温静置 20 min,用 DDS-307 型电导仪测定其外渗液的电导值。然后,将烧杯放入沸水浴中 5 min,冷却至室温后,再测其外渗液的电导值。按公式计算细胞膜相对透性、细胞膜伤害率^[10]和细胞膜相对透性增大率。以不接种的健康叶片为对照,试验重复 3 次。

细胞膜相对透性增大率/%=(接种叶片细胞膜相对透性-对照叶片细胞膜相对透性)/对照叶片细胞膜相对透性×100%。

1.3 数据处理

采用 Excel2003 和 SAS V8 统计分析软件,对试验数据进行作图和方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同温度型小麦幼苗期的抗锈性测定结果

由表 1 可见,冷、暖型小麦对 CY29 均表现感病,其反应型均为 3~4 型,但潜育期、花斑数、产孢

期和产孢量均差异显著,其中冷型小麦陕 229 的病害潜育期最长,花斑数最少,产孢期最短,产孢量最少;而暖型小麦 NR9405 的病害潜育期最短,花斑数最多,产孢期最长,产孢量最多。

表 1 不同温度型小麦幼苗期的抗锈性鉴定结果

Table 1 Resistance of different temperature typical wheat to stripe rust in seedling stage

小麦品种 Variety	潜育期/d Latent period	单叶花斑数 Spot number	产孢期/d Confinement	单叶产孢量/mg Quantities of spores	花斑期/d Days of spot appearance	反应型 Infection type
陕 229 Shaan 229	15.88 A	10.25 C	21.01 C	0.05 C	8	3~4
小偃 6 号 Xiaoyan 6	14.67 B	13.70 B	23.31 B	0.25 B	7	3~4
NR9405	13.39 C	17.43 A	25.74 A	0.35 A	7	3~4

注:表中数据为 3 次重复的平均值;同列数据后标不同大写字母表示差异显著($P=0.05$)。
Note:The data in the table are the average of 60 seedlings in three individual experiments. Means with the different letter in the same column are significantly different at $P=0.05$ level.

2.2 条锈菌侵染对不同温度型小麦叶片叶绿素含量的影响

从表 2 可以看出,在不接种条锈菌时,供试的 3 个冷、暖型小麦品种叶片叶绿素含量无显著性差异;同一品种在检测时段内,其叶绿素含量差异也不显著。在接种 CY29 后,冷型小麦陕 229 叶片叶绿素含量在第 8 天显著降低,而小偃 6 号和暖型小麦 NR9405 在第 7 天显著降低,这和花斑期测定结果相吻合,即 3 个小麦品种叶片的叶绿素含量均从花斑期(即显症初期)开始明显降低,说明从花斑期开始病菌对寄主的破坏作用表现明显;但从花斑期开始,冷型小麦叶片的叶绿素含量显著高于暖型小麦 NR9405,而 2 个冷型小麦品种叶片叶绿素含量变化没有显著差异。从花斑期开始,3 个供试小麦品种叶片的叶绿素含量均较不接种对照明显下降,但从

图 1 可以看出,冷型小麦陕 229 和小偃 6 号叶片的叶绿素含量较对照下降幅度小,而暖型小麦 NR9405 的下降幅度相对较大。

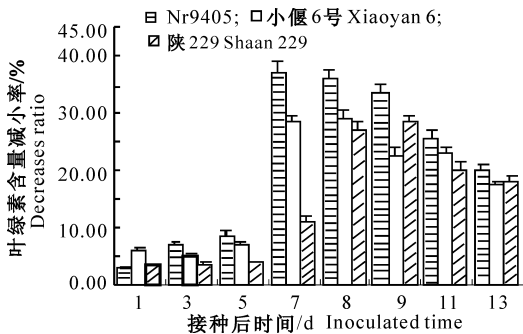


图 1 条锈菌侵染后冷、暖型小麦幼苗期叶片叶绿素含量的变化

Fig. 1 Decreases ratio of chlorophyll content in the leaves of wheat under stripe rust infection

表 2 条锈菌侵染对冷、暖型小麦幼苗期叶片叶绿素含量的影响

Table 2 Effect of stripe rust on chlorophyll content in the leaves of wheat

品种 Variety	处理 Treatment	接种后时间/d Time after inoculation								mg/g
		1	3	5	7	8	9	11	13	
陕 229 Shaan 229	未接种 Control	1.40 aA	1.65 aA	1.83 aA	1.68 aA	1.70 aA	1.72 aA	1.48 aA	1.37 aA	
	接种 Inoculation	1.35 aA	1.59 aA	1.76 aA	1.49 aA	1.24 aB	1.23 aB	1.18 aB	1.12 aB	
小偃 6 号 Xiaoyan 6	未接种 Control	1.43 aA	1.66 aA	1.71 aA	1.79 aA	1.78 aA	1.62 aA	1.56 aA	1.43 aA	
	接种 Inoculation	1.34 aA	1.58 aA	1.59 aA	1.28 aB	1.26 aB	1.25 aB	1.20 aB	1.18 aB	
NR9405	未接种 Control	1.33 aA	1.59 aA	1.72 aA	1.83 aA	1.78 aA	1.52 aA	1.29 aA	1.10 aA	
	接种 Inoculation	1.29 aA	1.48 aA	1.57 aA	1.15 bB	1.14 bB	1.01 bB	0.96 bB	0.88 bB	

注:表中数据为 3 次重复试验的平均值。小写字母表示品种之间差异显著;大写字母表示同一品种在检测时段的差异显著性;不同字母表示差异显著($P=0.05$)。表 3 同。
Note:The data in the table are the average of three replications. Different small letters represent significant difference among the different varieties. Different capital letters represent significant difference among the different time after inoculation ($P=0.05$).

2.3 条锈菌侵染对不同温度型小麦叶片细胞膜相对透性的影响

由表 3 可以看出,在不接种条锈菌时,供试的 3

个冷、暖型小麦品种叶片细胞膜相对透性没有显著性差异;同一品种在检测时段内,其细胞膜相对透性有变化,但无显著性差异。在接种 CY29 后,冷型小

麦陕 229 叶片细胞膜相对透性第 8 天显著升高,而小偃 6 号和暖型小麦 NR9405 第 7 天显著升高,即 3 个小麦品种叶片的细胞膜相对透性也均从花斑期(即显症初期)开始显著升高,且随着侵染时间的延长,呈不断升高的趋势;但从接种后第 1 天开始,暖型小麦 NR9405 叶片的细胞膜相对透性显著高于冷型小麦(陕 229 和小偃 6 号);而 2 个冷型小麦品种叶片细胞膜相对透性无显著差异。说明从花斑期开

始病菌使寄主细胞的膜系统明显受损,但从接种后第 1 天开始,病菌对暖型小麦膜系统的损害明显高于冷型小麦。3 个供试小麦品种叶片的细胞膜相对透性从花斑期开始均较不接菌对照明显增加,但冷型小麦陕 229 和小偃 6 号小麦幼苗期叶片细胞膜相对透性增大率较小,而暖型小麦 NR9405 相对较大(图 2)。冷型小麦陕 229 的细胞膜伤害率最小,暖型小麦 NR9405 的细胞膜伤害率最大(图 3)。

表 3 条锈菌侵染对冷、暖型小麦幼苗期叶片细胞膜相对透性的影响

Table 3 Effect of stripe rust on plasma membrane relative permeability in the leaves of wheat

品种 Variety	处理 Treatment	接种后时间/d Time after inoculation							%
		1	3	5	7	8	9	11	
陕 229 Shaan 229	未接种 Control	8.06 aB	8.20 aB	8.26 aB	8.40 aB	8.42 aB	8.52 aB	8.59 aB	
	接种 Inoculation	8.13 bB	8.27 bB	8.32 bB	8.72 bB	9.42 bA	9.47 bA	9.60 bA	
小偃 6 号 Xiaoyan 6	未接种 Control	8.03 aB	8.28 aB	8.24 aB	8.34 aB	8.38 aB	8.51 aB	8.56 aB	
	接种 Inoculation	8.18 bB	8.32 bB	8.38 bB	9.07 bA	9.51 bA	9.60 bA	9.74 bA	
NR9405	未接种 Control	8.22 aB	8.41 aB	8.46 aB	8.42 aB	8.54 aB	8.60 aB	8.63 aB	
	接种 Inoculation	8.64 aB	8.72 aB	8.80 aB	10.47 aA	10.49 aA	10.53 aA	10.56 aA	

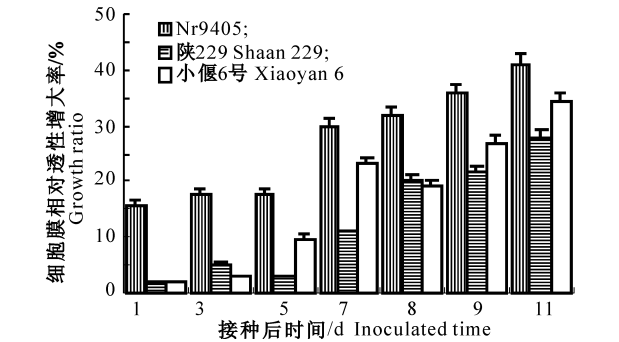


图 2 条锈菌侵染后冷、暖型小麦幼苗期叶片细胞膜相对透性增大率的变化

Fig. 2 Growth ratio of plasma membrane relative permeability of wheat under stripe rust infection

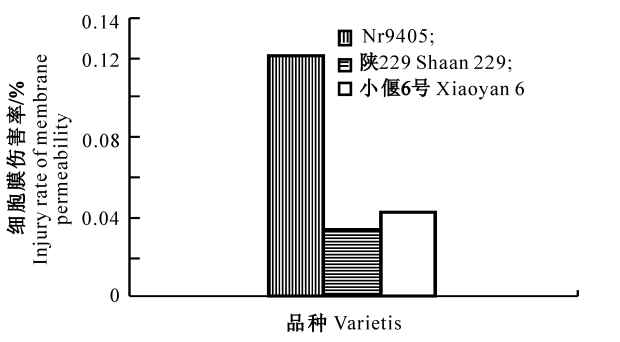


图 3 条锈菌侵染后冷、暖型小麦幼苗期叶片细胞膜平均伤害率

Fig. 3 Average injury rate of membrane permeability under stripe rust infection

3 结 论

本研究选用典型的冷、暖型小麦品种,对其幼苗期抗锈性组分进行了研究,发现冷、暖型小麦在幼苗期均表现为感病,但其潜育期、花斑数、产孢期和产孢量差异显著。与暖型小麦 NR9405 相比,冷型小麦陕 229 和小偃 6 号具有潜伏期长、花斑数少、产孢期短、产孢量少的特点,由此说明,在幼苗期冷型小麦陕 229 和小偃 6 号的抗锈性强于暖型小麦 NR9405。生理特性分析表明,条锈菌侵染后,冷型小麦叶片的叶绿素含量下降较缓慢、细胞膜相对透性增大幅度较低、细胞膜伤害率低。

4 讨 论

当病原物侵染植物后,引起叶绿体的解体或叶绿素合成受到抑制,导致叶绿素含量降低。因此,叶绿素含量的高低能客观地反映植物抗病性的强弱^[11-12]。本研究发现,在人工接种条锈菌后,冷、暖型小麦幼苗叶片的叶绿素含量均明显下降,这与李玥仁等^[13]的研究结果一致。但冷型小麦陕 229 和小偃 6 号叶片的叶绿素含量下降幅度较小,暖型小麦 NR9405 下降幅度较大,说明叶绿素含量与冷、暖型小麦的抗锈性密切相关^[14]。

当病原菌侵入寄主植物体内时,其毒素对植物细胞膜系统也产生一定程度的损伤。随着细胞膜的

损伤,植物组织中的 K^+ 、 Na^+ 等离子发生渗漏,并且随着毒素浓度的增大,离子渗漏加剧,引起细胞内外环境中电导率增高^[15]。电导率的变化可反映出质膜受伤害的程度,而植物细胞膜透性是评定植物对病原菌反应的指标之一。冷、暖型小麦幼苗在人工接种条锈菌后,叶片细胞膜相对透性均明显增大,但冷型小麦细胞膜相对透性增大的幅度小于暖型小麦,说明与暖型小麦 NR9405 相比,冷型小麦小偃 6 号和陕 229 对条锈菌有较强的抵抗能力。

在条锈菌侵染条件下,幼苗期冷型小麦仍具有较为优良的生理特性,这与前人在正常条件下和逆境胁迫条件下对冷型小麦的研究趋势基本一致^[2-6]。说明冷型小麦不仅在逆境胁迫条件下有优良的表现,而且幼苗期其抗锈性及机能也略强于暖型小麦。因此,进一步明确冷型小麦在成株期及田间的抗锈性及其机理,对促进小麦抗病育种具有重要指导意义。

[参考文献]

- [1] 张嵩午. 小麦温型现象研究[J]. 应用生态学报, 1997, 8(4): 471-474.
Zhang S W. Temperature type phenomenon of wheat [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 1997, 8(4): 471-474. (in Chinese)
- [2] 张嵩午, 王长发, 周春菊. 冷型小麦的表现特征及其和代谢功能的关联 [J]. 华北农业学报, 1999, 14(3): 42-48.
Zhang S W, Wang C F, Zhou C J. Phenomenal characteristics of cold typical wheat and their relation to metabolic function [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 1999, 14(3): 42-48. (in Chinese)
- [3] 张嵩午, 王长发. 小麦冷源及其性状特征的研究 [J]. 中国农业科学, 2001, 34(1): 40-45.
Zhang S W, Wang C F. Study on wheat cold source and its characters [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2001, 34(1): 40-45. (in Chinese)
- [4] 张嵩午, 王长发, 冯佰利, 等. 灾害性天气下小麦低温种质的性状表现 [J]. 自然科学进展, 2001, 11(10): 1068-1073.
Zhang S W, Wang C F, Feng B L, et al. Some traits of low temperature germplasm wheat under extremely unfavorable weather conditions [J]. Progress in Natural Science, 2001, 11(10): 1068-1073. (in Chinese)
- [5] 张嵩午, 王长发, 冯佰利, 等. 冷型小麦对于干旱和阴雨的双重适应性 [J]. 生态学报, 2004, 24(4): 680-686.
Zhang S W, Wang C F, Feng B L, et al. Double adaptability of cold type wheat to drought and rainy weather [J]. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(4): 680-686. (in Chinese)
- [6] 周春菊, 张嵩午, 王林权. 不同施肥条件下冷、暖型小麦旗叶光

- 合生理特性的研究[J]. 西北植物学报, 2006, 26(12): 2511-2516.
- Zhou C J, Zhang S W, Wang L Q. Photosynthetic and physiological characters of the flag leaves in cold and warm types of wheat in different fertilization modes [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia, 2006, 26(12): 2511-2516. (in Chinese)
- [7] 李明菊, 于亚雄, 伍少云, 等. 小麦品种抗条锈性测定初报[J]. 云南农业大学学报, 2004, 19(2): 161-166.
Li M J, Yu Y X, Wu S Y, et al. Preliminary report of test of resistance to stripe rust of wheat varieties in Yunnan [J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2004, 19(2): 161-166. (in Chinese)
- [8] 李振岐, 曾士迈. 中国小麦锈病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 41-50.
Li Z Q, Zeng S M. Wheat stripe rust in China[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2002: 41-50. (in Chinese)
- [9] 李振岐, 商鸿生. 小麦锈病及其防治[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989.
Li Z Q, Shang H S. Wheat stripe rust and control[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1989. (in Chinese)
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
Gao J F. Technology of plant-physiology experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006. (in Chinese)
- [11] 高必达, 陈捷. 生理植物病理学[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
Gao B D, Chen J. Plant pathology physiology [M]. Beijing: Science Press, 2006. (in Chinese)
- [12] 欧志远. 叶绿素含量与植物抗病性的关系[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(6): 134-135.
Ou Z Y. The relation between the contents of chlorophyll and the resistance to diseases of plant [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2007, 13(6): 134-135. (in Chinese)
- [13] 李羽仁, 商鸿生. 条锈菌侵染对小麦光合作用和蒸腾作用的影响 [J]. 麦类作物学报, 2001, 21(2): 51-56.
Li Y R, Shang H S. Effect of stripe rust infection on photosynthesis and transpiration of wheat [J]. Journal of Triticeae Crops, 2001, 21(2): 51-56. (in Chinese)
- [14] 林晓萍. 白粉病侵染对苜蓿叶片叶绿素含量的影响[J]. 甘肃农业科技, 2005(7): 63-64.
Lin X P. Effect of powdery mildew on chlorophyll content in the leaves of alfalfa [J]. Gansu Agricultural Science and Technology, 2005(7): 63-64. (in Chinese)
- [15] 储玲, 刘登义, 王友保, 等. 铜污染对三叶草幼苗生长及活性氧代谢影响的研究 [J]. 应用生态学报, 2004, 15(1): 119-122.
Chu L, Liu D Y, Wang Y B, et al. Effect of copper pollution on seedling growth and activate oxygen metabolism of trifolium pratense [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2004, 15(1): 119-122. (in Chinese)