

小麦网腥黑粉菌与光腥黑粉菌冬孢子的 红外光谱研究

龚报森¹ 商鸿生² 王旭²

(1 西北农业大学基础课部, 2 植保系, 陕西杨陵·712100)

摘要 测定了小麦网腥黑粉菌(*Tilletia caries* (DC.) Tul.)和光腥黑粉菌(*T. foetida* (Wallr.) Liro.)冬孢子的红外光谱, 获得了谱图。两种光谱的差异较大, 而同种的光谱则较为相似。光腥的光谱各吸收带的强度均较高, 且酰胺 I, II 两带的分离度较好; 网腥光谱的强度则较低, 酰胺 I, II 两带的分离度较差, 酰胺 II 呈现一个宽斜肩峰。据此, 可用于两种孢子的鉴别。

关键词 小麦网腥黑粉菌, 小麦光腥黑粉菌, 冬孢子, 红外光谱

中图分类号 O657.33, S435.121.44

1950年红外光谱技术问世后, 1952年Stevenson和Bolduan^[1]便把这项新技术应用到病原细菌鉴定研究中, 并指出利用细菌的红外光谱进行鉴定是一种有前途的手段。随后欧美各国的学者^[2,3]相继开展应用红外光谱技术对动物和人体致病细菌及大肠微生物进行鉴定的研究, 取得了较大的进展。1985年以来, Naumann等人^[4,5]采用快速傅立叶变换红外(FT-IR)光谱对病原细菌的光谱特征及其在细菌分类和鉴定中的应用作了较为系统的研究, 取得突破性的进展。但红外光谱法在小麦腥黑粉菌的分类和鉴定中的应用尚未见报道。

黑粉菌分类和鉴定一直是根据菌体的生物学形态特征进行的, 为了寻求一种简便、快速可靠的新方法, 本研究通过黑粉菌冬孢子红外光谱的测定及分析比较, 试图探讨其在分类研究和菌种鉴别工作中应用的可能性。

1 材料和方法

1.1 参试材料

参试材料是从国内采集到的小麦网腥黑粉病病穗标样4个, 光腥标样5个(表1), 标样编号后分装于牛皮纸袋中, 自然干燥后供试。

溴化钾: 光谱纯, 西安化学试剂厂, 用前在140℃下烘6h, 于干燥器中保存备用。

表1 参试菌株的地理来源

菌名	菌号	地理来源	菌名	菌号	地理来源
小麦网腥	01	甘肃 临潭	小麦光腥	04	新疆 伊犁
	03	河北 张家口		05	甘肃 和政
	06	新疆 哈密		10	甘肃 康乐
	09	新疆 库车		11	甘肃 夏河
		12		甘肃 卓民	

收稿日期: 1994-03-31.

1.2 仪器和方法

仪器 日立 260-10 型红外分光光度计, 仪器分辨率: 4 cm^{-1} , 扫描范围: $4000\sim 650\text{ cm}^{-1}$.

光谱记录 采用溴化钾压片法, 常规扫描方式进行记录. 具体制样方法是从病穗中取出麦粒, 用镊子和小刀剥去种皮, 得到纯净的小麦腥黑粉菌冬孢子. 称取冬孢子 2 mg 、溴化钾 150 mg , 置于玛瑙研钵中混合研细后移入锭片成型模腔内, 在 7.5 t/cm^2 压成锭片. 装入样品架并置于样品光路中, 参考光路放置纯溴化钾 (150 mg) 锭片便可测定.

光谱鉴定与生物学形态鉴定平行进行.

2 结果与讨论

图 1, 2 是直接测定两种小麦腥黑粉菌冬孢子得到的红外光谱图.

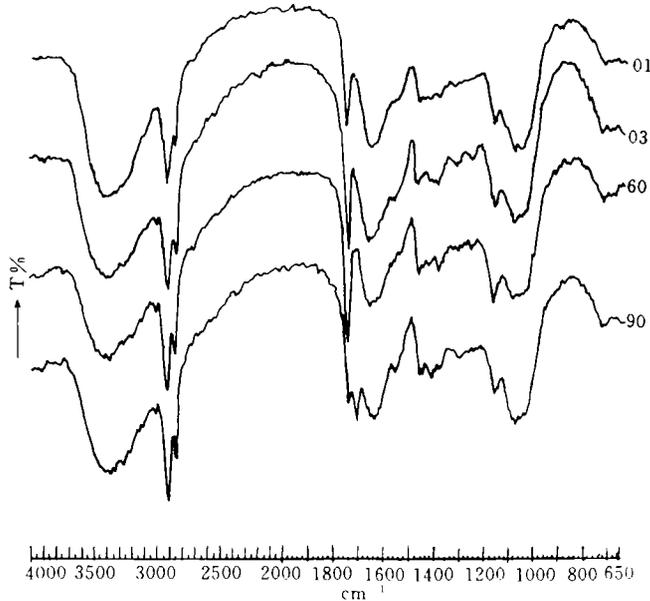


图 1 小麦腥黑粉菌冬孢子的红外光谱图

这些光谱是病原孢子的总化学成分(如蛋白质、脂肪酸、聚多糖、核酸及各种膜和细胞壁其它成分等)的综合反映, 像这样多组分混合物的光谱比单一纯粹化合物光谱要复杂得多, 有许多谱带由于各组分吸收带互相叠加而变得很宽, 使得许多组分的信息被埋藏在这些宽峰之下, 因而增加了解析图谱的困难. 尽管如此, 某些光谱范围总是被某些组分所支配的, 因此, 一些谱带还是可以被指出其所属官能团或某些化学组分的, 借此可获得较多的有用信息.

红外光谱是分子振动吸收光谱. 同种类病原菌孢子的基本化学组成成分应是相同或相似的, 它们的红外光谱在外形上具有共同的特征, 不同种类病原菌孢子的光谱由于其化学组分的变异而显示出其谱形的特异性.

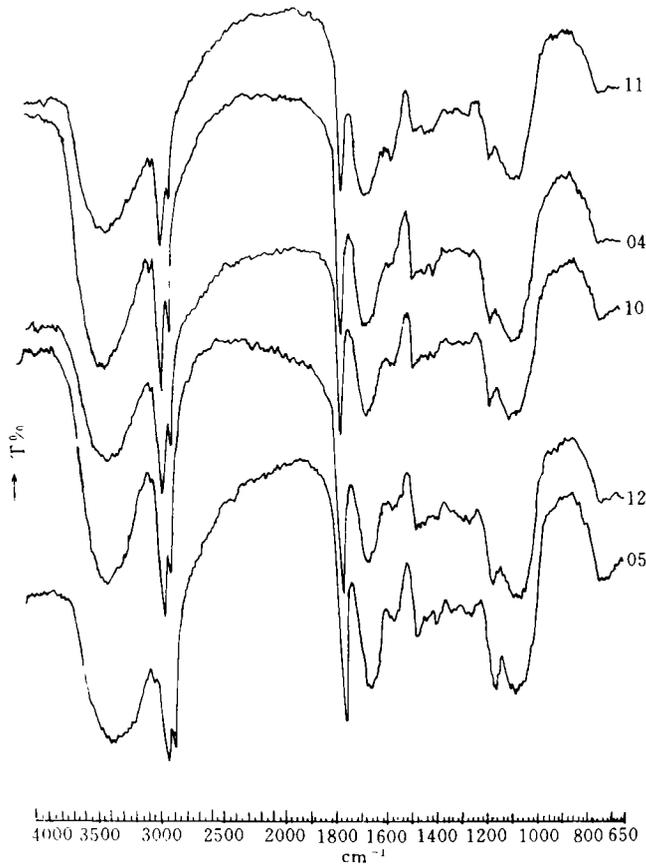


图2 小麦网腥黑粉菌冬孢子的红外光谱图

小麦网腥黑粉菌冬孢子的红外光谱(溴化钾压片法)的主要吸收带及其归属如下:

1) $3700 \sim 3000 \text{ cm}^{-1}$ 这一强而宽的吸收带,是典型的缔合羟基(OH)吸收带。主要反映出聚多糖、脂肪酸等组分的信息。此外,蛋白质中的氨基、酰胺基的N-H伸展振动吸收也在这一光谱范围,但这里已被宽大的羟基所掩埋而未显示或太弱小难以辨认。

2) $3000 \sim 2850 \text{ cm}^{-1}$ 此区的强谱带是典型的脂碳链(包括 $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}$)的C-H键的伸展振动吸收带,它反映来自脂肪酸和各种膜组分的亲水脂分子的信息。

3) 1740 cm^{-1} 是一个典型的羰基(C=O)吸收带,主要反映来自含羰基组分如羧酸脂类的信息。

4) $1690 \sim 1500 \text{ cm}^{-1}$ 这一光谱范围,通常称为酰胺区, $1690 \sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ 附近的谱带称为酰胺 I 带, $1550 \sim 1520 \text{ cm}^{-1}$ 带称为酰胺 II 带。前者是 $-\text{CONH}-$ 中的C=O伸展振动吸收;后者是 $-\text{CONH}-$ 中的C-N键的伸展振动和N-H键的弯曲振动吸收。这两谱

带反映来自蛋白质和多肽的信息。

5) $1500\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ 这是来自蛋白质、脂肪酸和磷酸携带物如核酸、磷脂等的混合光谱区,此组弱峰是这些组分的综合贡献。其中, 1460 cm^{-1} , 1380 cm^{-1} 谱带是来自 CH_3 , CH_2 的 C—H 键的弯曲振动吸收,是脂肪酸组分的相关吸收带。

6) $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$ 这是 C—O 键伸展振动吸收带,主要来自多糖组分的贡献,故称为多糖区。脂肪酸及其酯类组分的 C—O 键吸收也包含在其中。

7) $900\sim 700\text{ cm}^{-1}$ 这是红外光谱图的“指纹”区,此区的谱带均很弱,目前尚无法认出这些谱带的归属及其来自何种孢子组分。但每一个样品在此区都显示出各自的独特谱形,即使是属于同种的不同菌株的谱形也不完全相同。

以上 7 个谱带区在两种病原孢子光谱中均有吸收,这是它们的共性。

比较网腥和光腥的红外光谱可见,在光谱吸收强度上存在明显的差别。光腥的谱带吸收强度较高,网腥的谱带强度较低。表明两类孢子内含物质的化学组成有差别,或者是各组分比例不同,由于各组分之间的相互影响,引起对红外光吸收的敏感性和谱带重叠程度有差异,使得光谱吸收强度不相同。此外,两类病原孢子的光谱图中,酰胺区的谱带有较大的差别,在光腥孢子的谱图中,酰胺 I、II 两谱带除了较高的吸收强度外,二者的分离度比较好,两谱带明显可见。网腥的酰胺 I、II 两带的强度和分离度均较差,酰胺 I 已成为一个宽斜肩状峰。这种差别可能是由于两类孢子所含的蛋白质种类和蛋白质的构象(α -螺旋、 β -折叠、自由卷曲)的差异所造成的。

根据网腥和光腥两类冬孢子红外光谱的上述特征,利用获得的已知标准谱图与未知样品的谱图作对照,可以快速区别和鉴定出它们各自所属的种类,结果与生物学形态鉴定结果相一致。

值得注意的是,在不同地理来源的同种孢子光谱中,酰胺 I、II 带和 $1500\sim 1200\text{ cm}^{-1}$ 区域的混合吸收带都存在着程度不同的差别,表明这些样品的蛋白质、核酸、磷脂及脂肪酸等组分的组成及次级化学结构有所变化,是什么原因造成这种差异,目前尚不清楚。在图 1 的 09 号样品光谱中,在 1740 cm^{-1} 和 1710 cm^{-1} 处呈现两个羰基峰,前者属酯类羰基,后者属脂肪酸类羰基,表明这一菌株孢子内含物中有较多的游离脂肪酸组分,而脂肪酸酯组分相对较少,是何种原因引起这一变化的,亦未弄清楚。这些问题有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Stevenson H J R, Bolduan O E A. Infrared spectrophotometry as a means for identification of bacteria. *Science*, 1952, (116): 111~113
- 2 Levine S, Stevenson H J R, Bordner R H. Identification of glycogen in whole bacterial cells by infrared spectrophotometry. *Science*, 1953, (118): 141~142
- 3 Riddle J W, Kabler P W, Kenner B A et al. Bacterial identification by infrared spectro-photometry. *J Bacteriol*, 1956, (72): 593~603
- 4 Naumann D. The ultra differentiation and identification of pathogenic bacteria using FT-IR techniques, in spie, fourier and computerized infrared spectroscopy. 1985, (553): 268~269

- 5 Naumann D, Fuala V, Labischinski H et al. The rapid differentiation and identification of pathogenic bacteria using fourier transform infrared spectroscopic and multivariate statistical analysis. *J molecular structure*, 1988, (174): 165~170

The Infrared Spectra of Teliospores of *Tilletia Caries* and *T. foetida*

Gong Baosen Shang Hongsheng Wang Xu

(Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract The infrared spectra of Teliospores of *Tilletia caries* (DC.) Tul. and *T. foetida* (Wallr.) Liro. and recorded. Greater distinction exists in different species spectra. The bands of amide I and amide II of *T. foetida* show higher intensity and clearer separation than those of *T. caries*. Therefore, this can be used for rapid differentiation and identification of different species. The result above is in agreement with that of morphological identification.

Key words *Tilletia caries*, *Tilletia foetida*, Teliospore, IR-spectrum

西瓜新品种“西农八号”在全国评比中再次夺冠

1994年7月1日在合肥市举行了“全国超金钟冠龙西瓜新品种现场观摩及评奖大会”。经全国瓜协三年多年田间试验及室内鉴定,我校“瓜类遗传育种研究室”主任王鸣教授主持选育的“西农八号”西瓜新品种以最高得分荣获中国园艺学会颁发的“金瓜杯”奖和荣誉证书。

1994年9月1日中央电视台第二套节目《农业教育与科技》栏目以“西农八号再次夺冠”为题,对我校王鸣教授主持选育的西瓜新品种“西农八号”在“全国超金钟冠龙西瓜品种评比”中以最高得分荣获“金瓜杯”奖作了报道。

该品种果型大、座果力强、高产、稳产(亩产万斤左右),含糖量高且梯度小,品质极优,贮运性好,抗病性强,可适度连作。其综合经济性状全面超过进口“金钟冠龙”。种子价格低,不但可以节约进口种子的外汇,减少农民开支,而且可创造更大经济效益。“西农八号”适应性特强,经多点多年试验示范,在全国南北各地均表现优良,可在全国大面积推广,逐步取代进口“金钟冠龙”。该品种目前已成为我国最受欢迎的中晚熟西瓜新品种。

(李汉章)