

# 利用植物低聚糖改善小麦抗病性

李宏潮 冯 峰 王 虹 胡道芬 余 露\*

(北京市植物细胞工程实验室,北京 100081)

**摘 要** 采用从小麦细胞壁提取的低聚糖处理小麦的悬浮培养细胞和愈伤组织,并从这两种处理材料中都分离出抗毒素。这种通过低聚糖处理而诱导积累的抗毒素对小麦赤霉病菌具有较明显的抑菌作用。细胞学鉴定结果表明,抑菌作用的机制是抗毒素引起菌丝生长点膨大、破碎和解体,从而抑制了菌丝的正常增殖。同时,用低聚糖直接处理小麦的大田植株,适宜浓度的低聚糖可以降低锈病和白粉病感染麦株的程度,改善小麦品种的抗病性状。

**关键词** 小麦 低聚糖 抗毒素 抑菌作用 抗病性

小麦是世界上最重要的粮食作物之一,其产量受许多因子限制,其中一个重要的因素是病虫害的危害。世界各国因病菌侵染造成小麦减产的例子屡见不鲜,因此防治病虫害是获得小麦高产和稳产的重要措施。常规防治小麦病害的办法是施用化学农药,在生产中发挥了巨大的增产效果。但是施农药有无法克服的副作用,不但引起环境污染和土壤残毒,而且还会影响小麦的生长发育并降低籽粒的品质。解决这些难题的理想途径是采用生物防治方法。近年来国外开始研究利用植物低聚糖素改良植物自身的防御免疫系统,达到生物防治病虫害的效果。

低聚糖是从植物细胞壁或病原体细胞壁中提取分离出的一类新型植物激素,具有协调植物生长发育、繁殖和防御病害等功能<sup>[1]</sup>。国外研究人员在双子叶植物(如大豆等)上的研究结果证明,低聚糖能够促进苯丙氨酸解氨酶的活性以及苯丙酸类抗毒素(亦称植保素)在植物体内的生物合成和有效积累,进而改善植物的防病和抗病能力<sup>[3~7]</sup>。然而在禾本科植物,特别是在谷类作物上国内外尚无报道。

我们已从小麦细胞壁提取出具有生物活性的低聚糖,并对其在改善小麦抗病机制的方面进行了一系列研究。本文将介绍应用生物技术对低聚糖提高小麦抗病性的作用机制以及实际应用等方面的实验结果。

## 1 材料和方法

1.1 从冬小麦品种的种子胚和花药经过离体培养诱导产生大量的愈伤组织中,挑选生长迅速的愈伤组织团块用 MS 培养基继代并扩大增殖。半年后,用这些快速生长类型的愈伤组织建立起悬浮细胞培养。用水解酶降解悬浮细胞壁或愈伤组织的细胞壁,分离提取低聚糖<sup>[2]</sup>。

1.2 使用低聚糖分不同浓度处理小麦的离体培养细胞。而后参照 Ebel<sup>[6]</sup>的方法提取抗毒素备用。一定量的抗毒素溶于 5%乙醇溶液后加入土豆培养基,高压灭菌 25min。将小麦赤霉病(*Gibberella zeae* (Schw.) Petch)的菌丝(*Fusarium graminearum* Schwabe)取一小块(米粒大小)放在土豆培养基的中央,置于 20~22℃无光照培养,定期测定菌丝的生长速度。

1.3 取京花一号、京花三号和铭贤 169 三个小麦品种的种子,用  $5\mu\text{g/ml}$ 、 $20\mu\text{g/ml}$  和  $40\mu\text{g/ml}$  等浓度的低聚糖液浸泡 6h 后在大田播种,以不加低聚糖的蒸馏水处理作为对照。大田麦株发病前一周内用上述浓度的低聚糖液和蒸馏水喷洒麦株。在麦田发病盛期分两次调查病情。小麦条、叶锈病按病级(即感病反应型)、严重度和普遍率三个指标综合鉴定;白粉病则根据小麦上部和中部叶片的感病程度定病级。

## 2 结果与分析

### 2.1 从经过低聚糖处理的小麦细胞中分离出抗毒素

这种由低聚糖诱导积累的抗毒素对小麦赤霉病病原菌的繁殖和生长表现出一定程度的抑制作用,比较直观地反映出了低聚糖改善了小麦对赤霉病的抗性。结果显示,在低聚糖诱导产生的抗毒素处理中,赤霉菌丝生长比对照明显缓慢,其菌丝细弱稀疏,菌落较小,扩展慢。

### 2.2 抗毒素抑菌作用之细胞学分析

用光学显微镜观察时发现:经过低聚糖处理细胞后提取的抗毒素明显地造成菌丝非正常生长,尤其是引起菌丝的生长点膨大、畸形和破碎解体(见图),最终导致菌丝的生长、增殖速度下降。

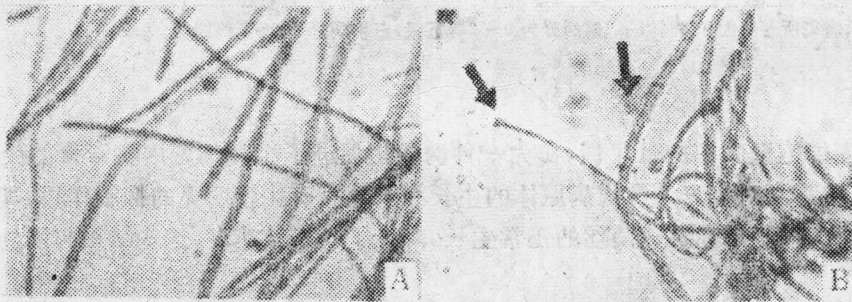


图 抗毒素抑制作用的细胞学鉴定(重复三次)

A 为对照的菌丝  $\times 450$ ; B 为抗毒素处理的菌丝,箭头所示菌丝生长点膨大、破碎  $\times 450$

利用低聚糖处理小麦的悬浮培养细胞和愈伤组织后获得的抗毒素处理实验结果都验证了这种抑菌作用。

### 2.3 用不同浓度的低聚糖处理大田小麦

用不同浓度的低聚糖液直接处理大田小麦植株后,对三个品种感染锈病和白粉病的调查结果录于附表。从表中可见,适宜浓度的低聚糖可以较明显地提高小麦品种的抗病能力。据植株对条、叶锈病和白粉病的感染反应综合分析,以  $40\mu\text{g/ml}$  低聚糖的作用最强,  $20\mu\text{g/ml}$  次之,  $5\mu\text{g/ml}$  只有微小作用或无作用。  $40\mu\text{g/ml}$  低聚糖处理麦株后,能使小麦品种从重感病提高到中抗水平。例如铭贤 169 从感染条锈病的最高级(4 级)下降到 2 级,严重度和普遍率也都相应降低,即从重感病变为中等水平的抗病;京花 1 号从 3 级降至 2 级,也达到中抗程度。对于白粉病,  $40\mu\text{g/ml}$  低聚糖使京花 1 号和京花 3 号小麦品种从 3 级降至 2 级,均获得中抗能力。

表 低聚糖处理小麦植株后病害调查结果

品 种		条 锈 病						叶 锈 病			白 粉 病	
		病 级		严重度 (%)		普遍率 (%)		病 级	严重度 (%)	普遍率 (%)	病 级	
		6/2	6/8	6/2	6/8	6/2	6/8	6/8	6/8	6/8	6/2	6/8
京 花 一 号	0(对照)		4		40		80	3	40	80		3
	5		4		40		60	3	40	60		3
	20		3		40		60	2	20	40		3
	40		2		10		40	2	10	40		2
铭 贤 一 六 九	0(对照)	3	3	20	25	60	80	3	30	80	3	3
	5	3	3	25	25	60	70	3	30	80	3	3
	20	2	2	10	15	30	40	2	10	60	2	2
	40	2	2	5	5	10	20	2	5	40	2	2
京 花 三 号	0(对照)	2	2	5	20	5	30	3	40	80	3	3
	20	2	2	t	5	5	10	3	25	60	2	3
	40	1	1	t	t	5	5	3	20	40	2	2

注: t 表示病斑所占叶面积 5% 以下, 锈病分为 0~4 等五级, 白粉病分为 0~3 等四级。

### 3 讨论

从小麦细胞壁降解的低聚糖, 作为一种诱导物促进了小麦细胞内抗毒素的生物合成和有效积累。而抗毒素对小麦赤霉病病原体的生长和增殖具有比较明显的抑制作用, 其抑菌机制是抗毒素阻碍和抑制了赤霉病菌丝的正常生长, 降低了其增长速度。这些结果与国外的有关报道相似<sup>[8,9]</sup>。

低聚糖在细胞水平上改善小麦防御功能的有益作用最终在小麦的植株上也获得了相应的表达。结合作者对低聚糖影响小麦苯丙氨酸解氨酶活性的研究结果, 从而使低聚糖提高小麦抗病性的效果从小麦的代谢和生化、细胞、植株等不同研究途径都得到证实。

低聚糖在大田条件下, 能够促使小麦品种从重感病改善到具有中等抗病能力, 而且对条锈、叶锈和白粉病均能达到中等程度的抗性。因此推测低聚糖似乎是通过调控小麦体内的防御机制使其获得了抵抗多种病害的复合抗性, 或者是被利用的低聚糖包含对小麦病原菌不同作用性质的多种类型。

从分子、细胞、植株诸水平的综合分析, 作者认为低聚糖提高小麦抗病性的机制是: 首先刺激并提高该植株体内苯丙氨酸解氨酶活性, 进而激发和增强抗毒素的合成与作用, 最终导致生理和细胞基础上的抗病性在植株整体上表现出来。

本研究在一定程度上肯定了低聚糖改善小麦抗病性的有益效果, 为其实际应用提供了研究依据。对于应用低聚糖防治植物病害的探索具有参考价值。

## 参 考 文 献

- 1 李宏潮等. 新型的植物调节因子——低聚糖素. 北京农业科学, 1989(1): 16~17
- 2 李宏潮等. 植物低聚糖提取和生物活性鉴定. 华北农学报, 1992, 7(1): 60~64
- 3 皮特·沃伯希姆原著, 刘英译. 低聚糖素, 科学, 1986(1): 16~26
- 4 Albersheim P, Valent BS. Host-pathogen interaction in plants. Plants, when exposed to oligosaccharides of fungal origin, defend themselves by accumulating antibiotics. J Cell Biol, 1978, (78): 627~643
- 5 Davis KR et al. A polygalacturonic acid lyase isolated from *Erwinia carotovora* is an elicitor of phytoalexins in soybeans. Plant Physiol, 1982, (69): 136~142
- 6 Ebel J et al. Host-pathogen interaction. Plant Physiol, 1976, (57): 775~779
- 7 Kurosaki F et al. Phytoalexin production in cultured carrot cells treated with pectinolytic enzymes. Phytochemistry, 1985, (24): 1479~1480
- 8 Smith DA. Observation on the fungitoxicity of the phytoalexin, kievitone. Phytopathology, 1978, (58): 81~87
- 9 Smith DA and Bull CA. Kievitone—a membranolytic phytoalexin? In Proceedings of the Third International Congress of Plant Pathology, Parey, Berlin, 1978, 245

## Improvement of Wheat Resistance to Diseases by Use of Plant Oligosaccharides Extracted from Wheat Cell Wall

Li Hongchao      Feng Feng      Wang Hong      Hu Daofen      Yu Lu

(Beijing Plant Cell Bioengineering Laboratory, Beijing)

**Abstract** Plant oligosaccharides extracted from wheat cell wall was used to treat the suspension-cultured cells and calli of the crop, and subsequently phytoalexins were isolated from the treated materials. The phytoalexin induced and accumulated through oligosaccharides treatment possessed a relatively significant inhibition to the wheat headblight (*Gibberella zeae* (Schw.) Petch, *Fusarium graminearum* Schwabe). Cytological examinations indicated that the mentioned inhibition was originated from the fact that phytoalexins made the hyphal tips swollen, disorganized and broken, resulting in inhibition of the pathogen propagation. Meanwhile, the oligosaccharides were also applied to treat wheat plants in fields. The oligosaccharides at suitable concentration were capable of lessening the infection of rust and powdery mildew diseases to wheat plants, thus improving disease-resistance of the wheat varieties.

**Key words:** Wheat; Oligosaccharide; Phytoalexin; Inhibition effect; Disease resistance