

寡糖诱导向日葵抗锈病最佳浓度及时间筛选

康俊,王丽芳,景岚

(内蒙古农业大学农学院,内蒙古呼和浩特 010019)

摘要:向日葵锈病(*Puccinia helianthi* Schw.)是向日葵的主要病害,危害日益严重。利用诱导剂激活植物的抗病防卫反应,是防治植物病害的一种很好的途径。通过用寡糖诱导处理向日葵幼苗,对接种锈菌的幼苗病情指数与相对防效的测定,筛选寡糖最佳诱导浓度及最佳诱导时间。结果表明:100倍浓度寡糖诱导有较好的防效;寡糖诱导向日葵的最佳时间在接菌前1~2 d,2 d效果最佳。

关键词:寡糖;向日葵锈病;诱导浓度;诱导时间

中图分类号:S435.655

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)09-0056-03

在研究植物抗病性的同时,人们发现寡糖具有诱导植物产生抗病性的作用^[1-2],作为一种诱抗剂片段在植物中可作为早期信息分子,对植物的抗病菌侵染、生长发育、形态建成等有着重大影响^[3]。寡糖在浓度很低的情况下就可在植物中出现诱导显著的防卫反应,Sharp用化学合成法证明了此活性寡聚糖结构为 β -1,3葡萄糖苷,这也是迄今为止发现的最具有活性的物质,其用量在 $10\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 便可达到活性浓度,并且不同浓度的诱导活性也不同^[4]。赵小明的研究表明壳寡糖对棉花黄萎病、烟草花叶病毒病有诱抗效果,诱导抗病性效果与使用浓度有密切的关系^[5]。该试验采用寡糖诱导处理向日葵幼苗,通过对接种锈菌幼苗的病情指数与相对防效的测定,筛选寡糖最佳诱导浓度及最佳诱导时间。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用向日葵品种为益民花葵2号,对向日葵锈菌高度感染。试验药剂为0.5%复合寡糖抗病增产剂(主要成分为葡聚六糖),由中国科学院生态环境中心提供。

锈菌样本采自内蒙古向日葵锈病流行区,乌拉特前旗和呼和浩特市,经纯化、繁殖后备用。

1.2 夏孢子悬浮液的配制

将活化保存的菌样在室温条件下放置30~

60 min,用含有0.01%吐温20的蒸馏水配制成 10^5 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 夏孢子悬浮液,经磁力搅拌器充分搅拌后备用。

1.3 接种方法

将夏孢子涂到充分展开的子叶和第1、2片真叶背面上。接种后的植株置于相对湿度90%~100%、温度18~20℃的保湿桶内黑暗保湿24 h,促使夏孢子萌发侵入。保湿后在日温22℃,夜温18℃,相对湿度50%~60%条件下培养。

1.4 试验设计

1.4.1 不同浓度寡糖液对向日葵抗锈病的影响

供试向日葵种植在直径10 cm的花盆里,每盆5株,播深2 cm,试验共分6个处理,每处理30株,3次重复,当2片真叶完全展开时,将浓度分别为50、100、300、500、800倍寡糖液喷施向日葵幼苗直至叶面湿润,清水(CK)喷雾为对照,每隔1 d喷雾1次,连续3次,2 d后接种,10 d后对第1对真叶锈病病情指数进行统计^[6]。

1.4.2 最佳稀释浓度寡糖对向日葵抗病性的诱导

接菌前1、2、5、10、15 d和接菌后2、5 d处理向日葵幼苗的第1对真叶,清水喷雾为对照(CK)。每天观察接种植株锈病的发病情况,10 d后进行反应型调查,分别统计幼苗第1对真叶病情指数,数据用SPSS软件处理,t检验。

1.5 向日葵锈病严重度分级标准

严重度:即病叶上着生孢子堆的面积占整个叶片面积的百分率,用于表示病害发生的严重程度。参考小麦锈病,采用7级分级标准:

0:无孢子堆;1:孢子堆占叶面积 $\leq 5\%$;2:孢子堆占叶面积 $5\% \sim 10\%$;3:孢子堆占叶面积 $11\% \sim 25\%$;4:孢子堆占叶面积 $26\% \sim 40\%$;5:孢子堆占叶面积 $41\% \sim 65\%$;6:孢子堆占叶面积 $> 65\%$ 。

收稿日期:2010-06-29

基金项目:国家向日葵产业技术体系建设资助项目(Nycytx-21)

第一作者简介:康俊(1982-),女,内蒙古自治区集宁市人,硕士,从事植物免疫学研究。E-mail:kang_jun@163.com。

通讯作者:景岚(1971-),内蒙古自治区呼和浩特市人,博士,副教授,主要从事植物病理学研究。E-mail:jinglan71@126.com。

1.6 病情指数与防效计算

感染指数 = $\sum [(病级叶数 \times 代表数值) / (叶片总和 \times 发病最重级的代表值)] \times 100$

相对防效 / % = $[(对照平均病情指数 - 处理平均病情指数) / 对照平均病情指数] \times 100$

2 结果与分析

2.1 寡糖诱导向日葵抗锈病最佳浓度的筛选

由表 1 可知,不同稀释浓度的寡糖液喷雾向日葵后,叶片病情指数与对照相比都有减少,稀释浓度为 50 和 100 倍液时,幼苗锈病病情指数与 CK 差异极显著,相对防效较好,而 50 倍液处理使向日葵叶片产生明显的斑点状失绿和灼烧等药害症状,100 倍液寡糖处理的叶片未有明显损伤,锈病病情指数低,相对防效较高。

表 1 不同浓度寡糖处理对向日葵锈病病情指数及防效影响 %

处理浓度	50	100	300	500	800	CK
病情指数	40.87**	55.20**	65.60*	70.56*	77.91	80.80
相对防效	49.41	31.68	18.81	12.67	3.59	—

注:*表示在 5%水平上的显著性;**表示在 1%水平上的显著性。下同。

2.2 寡糖诱导向日葵抗锈病最佳时间的筛选

由表 2 可知,寡糖处理后不同时间接种锈菌,叶片的病情指数较对照均有降低。接种锈病菌前 5、10、15 d 寡糖处理后,叶片的病情指数降低不明显;接种锈病菌前 1、2 d 寡糖处理叶片的病情指数降低与对照差异显著,说明寡糖诱导向日葵产生对锈病抗性的时间在处理后 1~2 d,2 d 效果最佳,病情指数为 53.2%,与对照比较差异极显著。接种锈病前 5 d,处理的相对防效仅为 9.1%,防效不明显,而接种后 2 d 再用寡糖处理,叶片的病情指数为 68.2%,与对照相比降低,差异显著,具有一定的防效。说明,寡糖诱导剂对锈菌有一定的抑制作用,但其诱导抗性更为明显,持效期大约是 10 d。

表 2 稀释 100 倍液寡糖不同时间处理对向日葵锈病病情指数及防效的影响 %

处理时间	病情指数		相对防效	
	寡糖	CK	寡糖	CK
2 d 后	68.2*	78.6	13.2	—
5 d 后	77.2	80.8	4.4	—
1 d 前	62.9*	79.4	20.7	—
2 d 前	53.2**	80.0	33.5	—
5 d 前	69.9	76.3	9.1	—
10 d 前	76.3	78.9	3.2	—
15 d 前	70.2	74.0	5.1	—

3 结论与讨论

该研究结果表明,寡糖对向日葵抗锈病有明显的诱导作用,100 倍寡糖液诱导处理可以使向日葵叶片的病情指数大大降低,寡糖喷雾处理后 1 d 就有抗性表达,2 d 后抗性表达到一个相当强的水平,有效期可达 10 d。寡糖的诱抗作用已得到广泛证实,也有报道证实寡糖不仅具有诱导抗病的作用,而且具有抗菌作用^[7-12]。该试验也表明寡糖诱导剂对锈菌有一定的抑制作用,在接种后 2 d 再用寡糖处理,仍具有一定的防治效果,其相对防效为 13.2%。

具有生物活性的寡聚糖片段,它作为重要的信号分子,在寄主—病原相互作用中以及植物的发育过程中均起着重要的调节作用。商文静^[13]证明了壳寡糖可以诱导烟草对 TMV 的侵染产生系统诱导抗病性,减轻了病毒侵染引起的系统症状,显症期推迟 3~7 d,侵染点显著减少,平均发病严重度降低了 80%以上,诱导处理后 24 h 即可表现出抗病效应,持效期达 9 d 以上。郭成瑾也得到了同样的结果^[14]。植物反应是一个系统反应过程,寡糖激发子在这一过程中起到关键的信号传递作用,目前还没有一个完整的反应模型^[15]。因此,寡聚糖类生物药剂诱导抗病性的机理值得进一步深入研究,以期全面揭示其诱导抗病性机制。

参考文献:

- [1] Benhamou N. Ultrastructural and cytochemical aspects of chitosan on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, agent of tomato crown and root rot[J]. Phytopathology, 1992,82(10):1185-1193.
- [2] 于汉寿,张益民,陈永营,等. 水溶性壳聚糖对小麦和油菜几丁质酶的诱导作用[J]. 江苏农业学报,1999,15(2):67-70.
- [3] 范海延,李宝聚,吕春茂,等. 寡糖诱导植物抗病性研究进展[J]. 生物技术通报,2002,18(6):14-18.
- [4] Sharp J K, Albersheim P, Ossowski P, et al. Comparison of the structures and elicitor activities of a synthetic and a mycelial-wall-derived hexa (beta-D-glucopyranosyl)-D-glucitol[J]. Journal of Biological Chemistry, 1984,259(18):11341-11345.
- [5] 赵小明. 壳寡糖诱导植物抗病性及其诱抗机理的初步研究[D]. 北京:中国科学院研究生院,2006.
- [6] 张建平,李子钦,王立新. 内蒙古向日葵锈病菌生理小种的种类及优势小种[J]. 华北农学报,1996,11(1):128-132.
- [7] 刘晓宇,刘志恒,吕淑霞. 壳寡糖对植物病原真菌的抑制作用[J]. 安徽农业科学,2005,33(2):225-282.
- [8] 何培青,蒋万枫,张金灿,等. 壳寡糖对番茄叶挥发性抗真菌物质及植保素日齐素的诱导效应[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版),2004,34(6):1008-1012.
- [9] 徐俊光,赵小明,白雪芳,等. 两种海洋寡糖对植物病原真菌

- 的抑制作用[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(2): 153-155.
- [10] Rabea E I, Badawy M E T, Stevens C V, et al. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action[J]. Biomacromolecules, 2003, 4(6): 1457-1465.
- [11] Hirano S, Nagao N. Effects of chitosan, pectic acid, lysozyme, and chitinas on the growth of several phytopathogens[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1989, 53: 3065-3066.
- [12] 景岚, 康俊, 王丽芳, 等. 寡糖诱导向日葵抗锈病超微结构[J]. 中国农业科学, 2009, 42(2): 350-355.
- [13] 商文静. 壳寡糖对烟草花叶病毒的诱导抗病作用和体外抑制作用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.
- [14] 郭成瑾. 壳寡糖诱导烟草抗烟草花叶病毒研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.
- [15] 王松, 姜国良, 李立德, 等. 寡糖诱导植物防卫反应研究进展[J]. 海洋科学, 2003, 27(3): 8-12.

Screening of Optimum Concentration and Time on Sunflower Resistance to Rust Disease Induced by Oligosaccharide

KANG Jun, WANG Li-fang, JING Lan

(Agronomy College of Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019)

Abstract: Sunflower rust is one of the major diseases of sunflower and is increasingly serious. A good way to prevent and control of plant diseases is to use the elicitor to induce activation of defense responses of plants. In this study, through spraying sunflower seedlings leaves with different concentration oligosaccharide and at different time before or after inoculation with pathogen, the optimum inducing concentration and time were screened. The results showed that the effect of 100-fold dilution on the disease development was the best. The best inducing results were obtained with oligosaccharide treatment 1 to 2 days before inoculation, and 2 days was the best inducing time.

Key words: oligosaccharide; *Puccinia helianthi* Schw.; inducing concentration; inducing time

(上接第 25 页)

A Preliminary Study on Germplasm Resource in Sunflower

XIANG Li-jun¹, LEI Zhong-hua¹, SHI Bi-xian¹, WANG Qin²

(1. Industrial Crops Institute of Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi, Xinjiang 830091; 2. Regimental Farm No. 63 of Agricultural Division No. 4, Xinjiang Production and Construction Corps, Yili, Xinjiang 83500; 3. Xinjiang Changnong Seed Limited Company, Changji, Xinjiang 831100)

Abstract: The study on some Xinjiang local area varieties and 20 introduced resources were conducted including plant height, stem diameter, vegetation period, grain weight per plant, thousand seed weight, kernel percentage, oil content for heritability, coefficient of variation and the relationship on some Xinjiang local area varieties and 20 introduced resources. The results indicated that the coefficient of variation of grain weight per plant was the maximum(40.85%), coefficient of variation of vegetation period was the minimum(4.83%). A variation was affected by germplasm resource type and uniformity of material. The variation and inheritance of sunflower characters were explored preliminarily, giving the scientific evaluation of the use of such resources and providing the basis for developing parents.

Key words: characters; coefficient of variation; heritability