

2,3-丁二醇对草地早熟禾褐斑病诱抗作用及抗病互作中寄主木质素的变化

刘兴菊¹, 马源², 马晖玲^{1*}, 史毅³

(1. 甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃省草业工程实验室, 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃 兰州 730070; 2. 青海大学畜牧兽医科学院, 青海 西宁 810016; 3. 甘肃农业大学林学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】探究外源诱导剂2,3-丁二醇(2,3-butanediol, 2,3-BD)是否能提高草地早熟禾对褐斑病菌(*Rhizoctonia solani*)的抗性。【方法】采用不同浓度2,3-BD对草地早熟禾进行诱导处理,通过人工接种的方法研究2,3-BD对早熟禾褐斑病的诱导抗性并进行病情评价,测定草地早熟禾木质素含量和木质素合成酶的活性。【结果】2,3-BD诱导显著降低草地早熟禾植株发病率,其中300 $\mu\text{mol/L}$ 浓度诱导下抗病效果最佳,早熟禾褐斑病发病率由90%降低到50%,诱导效果可达到74%,显著增强了植株对褐斑病的抗性($P < 0.05$)。2,3-BD对*R. solani*生长没有明显影响。2,3-BD诱导提高了草地早熟禾木质素合成酶PAL、4CL、POD、LAC的活性和木质素的生物合成($P < 0.05$),300 $\mu\text{mol/L}$ 浓度处理木质素含量最大。【结论】2,3-BD能显著提高草地早熟禾对褐斑病的抗性。

关键词: 2,3-丁二醇; 草地早熟禾; 褐斑病; 立枯丝核菌; 木质素

中图分类号: S688.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1009-5500(2025)02-0222-10

DOI: 10.13817/j.cnki.cycp.2025.02.025



草地早熟禾(*Poa pratensis*)是多年生早熟禾属草本植物,是一种典型的冷季型草坪草种。色泽鲜绿柔和、草质细腻柔软,生长年限和绿期较长,具有优良的草坪用价值。国内草坪业的快速发展,使得草地早熟禾被广泛地应用到各类草坪绿化,经济草坪建植中^[1]。病害的发生严重限制了草坪发展,褐斑病作为最具有危害性的草坪草病害之一,使草地早熟禾的应用范围受到很大程度限制。草地早熟禾褐斑病是由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)引起的一种真菌性土传病

害,世界范围内都有发生^[2]。该病害主要以菌丝和菌核的方式侵染植物,在高温和高湿的条件下容易大面积发生。在我国夏季,草坪很容易受到该病害的威胁,一般从侵染点开始向周围辐射状扩大,使草坪形成大面积的枯萎圈,造成的经济损失巨大,很大程度上限制了草坪业的发展^[3]。

草坪病害防治中占主导地位的还是化学防治,虽然短期内有较显著效果,同时也造成了很大的环境负担。近年来绿色环保理念的倡导和发展,生物防治和诱导植物抗病性被大量研究^[4]。其中,植物根际促生菌(PGPR)分泌的2,3-丁二醇(2,3-BD),被证明可以诱导植物的系统抗病性(Induced systemic resistance, ISR)^[5]。这种方式主要是通过激发植物自身的免疫系统来提高植物对病害的抗性。研究表明,2,3-BD可以诱导植物对褐斑病产生ISR抗性^[6]。植物细胞壁主要结构之一的木质素,是植物抗病过程中的重要化合物,它的沉积不仅能加强植物的结构牢固性,其本身对病原菌还有钝化和毒害作用^[2],对抵御病害的侵入

收稿日期: 2023-03-29; **修回日期:** 2023-04-20

基金资助: 国家自然科学基金项目(31360583); 青海省青年基金(2022-ZJ-979Q)

作者简介: 刘兴菊(1990-),女,甘肃白银,博士研究生。

E-mail: 1437415960@qq.com

*通信作者,研究方向为细胞工程和基因工程手段改良草地植物品种特性。

E-mail: mahl@gsau.edu.cn

有很大作用。2,3-BD 是否对褐斑病病原真菌 *R. solani* 的生长有抑制作用;是否能通过诱导作用促进木质素的大量合成来抵制病原菌的早期入侵,这方面还没有明确。

为更好地了解草地早熟禾感染 *R. solani*,以及 2,3-BD 诱导草地早熟禾响应 *R. solani* 感染的木质素合成早期防御反应。本文以 2,3-BD 作为诱导剂,用不同浓度梯度 2,3-BD 处理草地早熟禾幼苗,接种 *R. solani*,进行病情调查,并观察草地早熟禾的显微结构。旨在了解 2,3-BD 是否通过诱导木质素的合成来提高植物的抗病性,并确定 2,3-BD 诱导草地早熟禾抵抗褐斑病的最佳浓度。

1 材料和方法

1.1 2,3-BD 诱导草地早熟禾抗褐斑病的病情评价

1.1.1 供试样本准备 供试材料:草地早熟禾供试种子纳苏(Nassau)购自北京克劳沃草业技术开发中心(中国),病原菌 *R. solani* 购自中国科学院菌种保存中心(中国),诱导剂 2,3-BD 购自西亚试剂(中国)。

菌种制备:小麦粒用蒸馏水煮透并晾干表面水分,分装于组培瓶中于灭菌锅中进行彻底灭菌处理,再接入 *R. solani* 病原体,培养箱中培养至基质表面均匀长满菌丝,将其倒入托盘中在通风处阴干并粉碎为粉末,冷藏备用^[5]。

供试苗培育:选取饱满健康的早熟禾种子,经 70% 酒精(V/V, 1 min)和 20% NaClO (V/V, 20 min)依次消毒,再用无菌水冲洗干净后,于室温自然晾干。均匀地播种在育苗钵(10 cm×10 cm×12 cm)中,每钵种子 0.3 g。育苗钵内基质为高温灭菌土(大田土:蛭石=1:2),播种时,用无菌水将钵内基质湿润,之后将种子均匀撒在上面并覆土。放置在光照为 14 h/d、25℃,黑暗 10 h/d、20℃的恒温培养室内培养。

诱导与接种:待幼苗长至 5~6 cm 左右时,用 2,3-BD 进行诱导处理(W:0 μmol/L, BD1:100 μmol/L, BD2:300 μmol/L, BD3:500 μmol/L),每钵用量为 40 mL。幼苗经诱导处理 7 d 后接种 *R. solani*,即将上述制备的菌种粉末均匀撒布,每钵各 0.3 g,如上述条件继续培养,每日观察病情。试验设 W+R(0 μmol/L 诱导—接菌)、BD1+R(100 μmol/L 诱导—接菌)、BD2+R(300 μmol/L 诱导—接菌)、BD3+R(500

μmol/L 诱导—接菌)和对照 CK 不进行诱导和接菌处理。

1.1.2 病情评价 5 个试验组于接菌后第 3、6、9 和 12 天对病情进行观察和评价,以植物叶片黄化率,即黄化叶片面积占植物叶片总面积的百分比来评价植物病情。

参考南志标^[6]牧草病害调查与评定方案,观病害发病情况。统计病叶率计算病情指数。草地早熟禾褐斑病分级标准:

表 1 病害分级标准
Table 1 Disease grading criteria

分级标准	症状
0 级	无症状
1 级	植株上有少量菌丝
2 级	0~40% 植株上有菌丝
3 级	40%~60% 植株有菌丝体生长并且有坏死的现象
4 级	60%~80% 植株有丰富的菌丝体和坏死现象
5 级	全部植株普遍感病

$$\text{植株发病率} = \frac{\text{发病株数}}{\text{总植株数}} \times 100\%$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病叶数} \times \text{各级代表值})}{\text{调查总叶数} \times \text{最高级代表值}} \times 100$$

$$\text{诱导抗病率} = \frac{\text{对照发病率} - \text{处理发病率}}{\text{对照发病率}} \times 100\%$$

1.2 2,3-BD 影响立枯丝核菌生长的观察

2,3-BD 浓度梯度的 PDA(Potato Dextrose Agar)平板培养基制备:马铃薯(200 g)切块用自来水(1 000 mL)煮 20~25 min 后过滤,滤液中加入 20 g 葡萄糖和 20 g 琼脂,加热溶解并定容至 1 000 mL,分装于 500 mL 三角瓶在 121℃灭菌锅中灭菌 26 min。灭菌后按浓度要求加入 2,3-BD 配制成浓度为 0、100、300 和 500 μmol/L 的 2,3-BD 培养基,再倒入培养皿。室温下放置 24 h 后观察是否有污染,保存备用。

接种:无污染的 PDA 平板培养基在无菌条件下接入 *R. solani* 培养物,石蜡封口膜封口。于光照 14 h/d、25℃,黑暗 10 h/d、20℃的恒温培养箱中培养,分别于第 3、5 和 7 天,对培养皿中菌丝的生长状态和显微结构分别进行观察拍照。

1.3 2,3-BD 诱导草地早熟禾抗褐斑病木质素含量测定

5个试验组于接菌后第3、6、9和12天,采集草地早熟禾叶片定量测定木质素含量,本试验采用溴乙酰法测定^[8]。

1.4 2,3-BD 诱导草地早熟禾抗褐斑病木质素含量测定

试验设对照CK(未诱导—未接菌),BD(300 $\mu\text{mol/L}$ 诱导—未接菌),W+R(未诱导—接菌)、BD+R(300 $\mu\text{mol/L}$ 诱导—接菌)共4各处理。于接菌后第3、6、9和12天,采集草地早熟禾叶片用比色法测定酶活性,包括苯丙氨酸解氨酶PAL,对香豆酸辅酶A连接酶4CL,过氧化物酶POD,漆酶LAC^[8]。

1.5 数据分析

采用IBM SPSS 29.0进行单因素方差(One-way ANOVA)分析,以及Duncan's新复极差法进行显著性差异比较($\alpha=0.05$)。采用Microsofe Excel 2019进行数据整理,GraphPad Prism 9.0进行绘图。

2 结果与分析

2.1 2,3-BD 对草地早熟禾抗褐斑病的诱抗作用

在接种病原菌后,草地早熟禾发病率在第3~12天逐渐持续上升,第12天上升显著,对照处理CK发病率从第3~12天一直为零(图1,2-A)。在接菌的第3天,W+R和BD1+R发病率已经分别达到20.37%和18.52%,植株叶表面出现了相对较多的菌丝体,BD2+R和BD3+R的发病率相对较低,分别是11.11%和12.96%,叶上有较少菌丝体出现,这两个处理的发病率显著低于前两个处理($P<0.05$)。病情指数显示出和发病率相同的显著性差异规律($P<0.05$) (图2-B)。3个诱导处理的诱导抗病率(图3)分别是25.03%、33.68%和31.79%,BD2+R处理诱导抗病率显著($P<0.05$)。

在接种病菌第6天,W+R和BD1+R处理发病率分别为50.00%和44.44%,二者之间没有显著差异,菌丝覆盖面积加大,植株低层叶片有少许黄化叶片开始出现。BD2+R处理发病率最低为25.92%,BD3+R为33.33%,二者之间差异不明显,但与W+R和BD1+R两个处理相比均有显著差异($P<0.05$)。BD2+R叶面菌丝覆盖量也有增加,但是没有出现叶

片黄化现象,生长情况较好。W+R和BD1+R病情指数为18.51和16.30(图2-B),明显高于BD2+R(7.41)和BD3+R(8.89) ($P<0.05$)。其中3个诱导处理的诱导抗病率显示(图3),BD2+R(60%)显著高于BD1+R(20%)和BD3+R(43%),后两者之间也有显著差异($P<0.05$)。

在接种病菌第9天,W+R和BD1+R两个处理发病率分别是66.67%和64.81%,植株出现了大量的枯黄现象,黄叶数量明显增加。BD3+R发病率为53.70%,与前两者相比差异显著($P<0.05$),黄化叶片的数量也相对较多,BD2+R发病率仅为37.03%,但植株低层叶片也有枯黄的叶片出现。4个处理之间的病情指数与发病率有相同的差异性规律,BD2+R诱导处理为最低15.18,BD3+R次之为23.33,W+R和BD1+R分别为38.51和37.41。同时BD2+R的诱导抗病率最高,为60.57%,分别是BD1+R和BD3+R的4.73倍和1.54倍,差异显著($P<0.05$)。

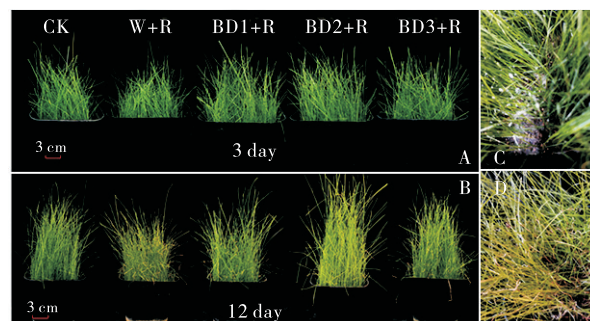


图1 不同浓度梯度2,3-BD诱导草地早熟禾响应*Rhizoctonia solani*侵染的表型特征

Fig. 1 Phenotypic characteristics of *Poa pratensis* in response to *Rhizoctonia solani* infection induced by different concentration gradients of 2,3-BD

注:A 接菌后第3天;B 接菌后第12天;C 第3天W+R处理菌丝覆盖情况;D 第12天W+R处理叶片;CK 对照,未进行诱导和接菌;W+R 0 $\mu\text{mol/L}$ 的2,3-BD诱导并接菌;BD1+R 100 $\mu\text{mol/L}$ 的2,3-BD诱导并接菌;BD2+R 300 $\mu\text{mol/L}$ 的2,3-BD诱导并接菌;BD3+R 500 $\mu\text{mol/L}$ 的2,3-BD诱导并接菌,下同。

接种第12天,W+R和BD1+R处理发病率达到了90.74%和85.19%,叶片表现出严重的病害现象,叶片枯萎严重。BD3+R发病率增加显著($P<0.05$),达到了70.37%,叶片枯死现象比较严重。BD2+R发

病率仅为 50%，显著低于其他处理($P<0.05$)，枯黄叶片数量也有明显增加，但相比较其他 3 个接菌处理，叶片病害症状较轻。同时 W+R 和 BD1+R 两个处理的病情指数分别升高到 73.33 和 65.18，BD3+R 为

40.00，BD2+R 病情指数仅为 17.78，显著性($P<0.05$)和发病率一致。BD2+R 诱导抗病率为最高，达 74.76%，分别是 BD1+R 和 BD3+R 的 5.56 倍和 1.72 倍，且差异显著($P<0.05$)。

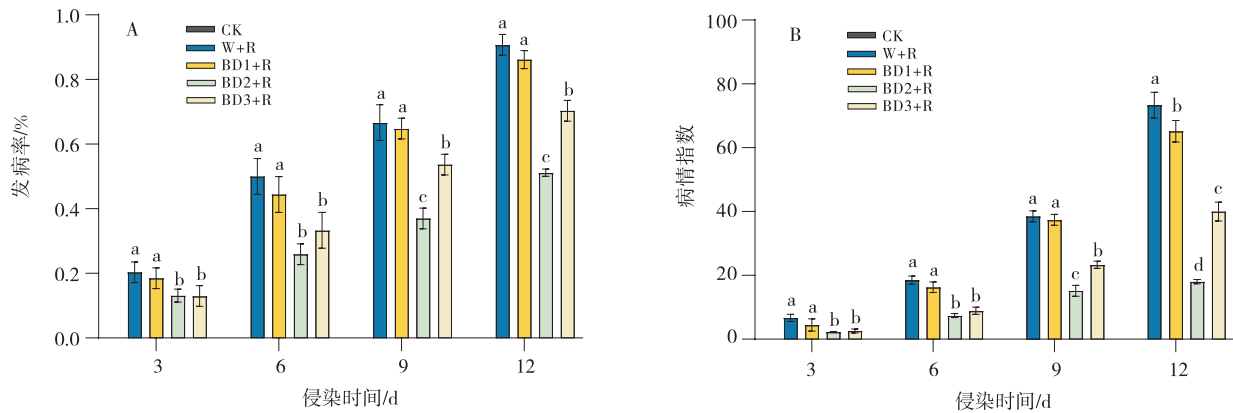


图 2 不同浓度梯度 2,3-BD 诱导草地早熟禾响应 *Rhizoctonia solani* 侵染的发病率和病情指数变化

Fig. 2 Changes of incidence rate and disease index of *Poa pratensis* in response to *Rhizoctonia solani* infection induced by different concentration gradients of 2,3-BD

注:不同小写字母表示同一时间不同处理间的差异显著($P<0.05$),下同。

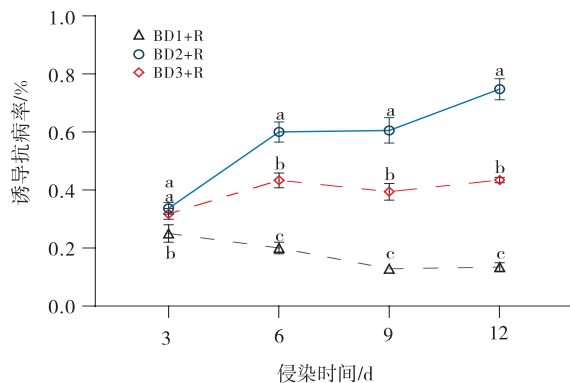


图 3 不同浓度梯度 2,3-BD 诱导草地早熟禾响应 *Rhizoctonia solani* 侵染的诱导抗病率变化

Fig. 3 Changes of induced disease resistance rate of *Poa pratensis* in response to *Rhizoctonia solani* infection induced by different concentration gradients of 2,3-BD

从植株生长的整体状况来看(图 1),接种病原菌 *R. solani* 后随时间延长,植株表型发生很大变化,叶片黄化的同时对株高也有显著影响。病害严重的处理其植株株高普遍低于对照,施用 2,3-BD 对草地早熟禾的影响比较明显。BD2+R (300 $\mu\text{mol/L}$) 处理的诱导浓度对草地早熟禾响应 *R. solani* 侵染表现出最佳效果,此浓度下植株生长旺盛,株高明显高于其他处理,即使在病害胁迫条件下,植株仍然有较强的生长活力。

2.2 2,3-BD 对立枯丝核菌生长的影响

R. solani 在添加了梯度浓度 2,3-BD 诱导剂的 PDA 平板上均表现一致(图 4)。病菌生长迅速,生长初期的菌丝呈白色,从生长点开始呈辐射状向四周扩散,在生长第 3 天时覆盖培养基(直径 10 cm)的 1/2 面积,菌丝白色。当生长到第 5 天时,已经长满整个培养基,并且菌丝开始变成褐色,有明显的菌核生成,随着时间的加长,褐色加深,有大量的菌核形成,整个培养基均有菌核团结构,靠近初始生长点尤其明显,颜色呈黑褐色。

添加不同浓度 2,3-BD 诱导剂培养的 *R. solani*,其结构和生长状况没有明显的差异。初生的菌丝体相对较短(图 5-A),菌丝细胞相对较小,较粗,形状为桶状,透明,与母细胞菌丝之间近直角分支,在分支处有明显的缢缩,附近有一个隔膜形成,初期也有少量菌核形成。生长第 5 天时,*R. solani* 菌丝体与前期相比有较大差异(图 5-B),形成较多的菌核,菌丝开始变成黄色,有一些菌丝出现念珠状细胞。生长后期的菌丝均呈细而长的形态(图 5-C),细胞壁明显增厚,缢缩处和隔膜也不明显,菌丝颜色也逐渐变成褐色,形成了比较粗壮的念珠状菌丝。很多菌丝的顶端长出大量多核细胞,这些多核细胞聚集形成了明显的菌核团,成熟的菌核呈褐色或者黑褐色。

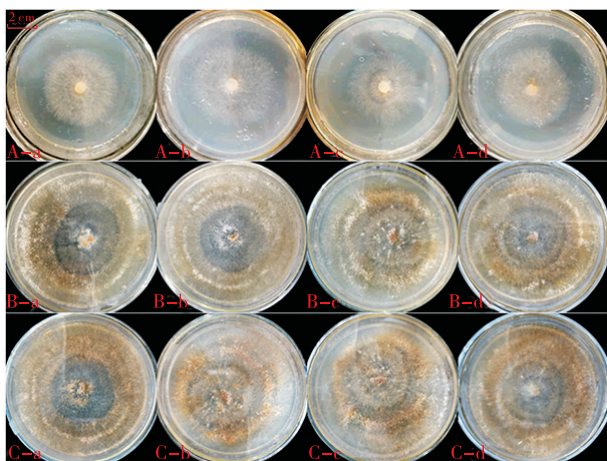


图4 立枯丝核菌在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上的生长情况

Fig. 4 Growth of *Rhizoctonia solani* on potato glucose agar medium

注:A 生长第3天,菌丝白色;B 生长第5天,菌丝褐色,大量菌核生成;C 生长第7天,菌丝深褐色,大量深褐色菌核;a 2,3-BD(0 μmol/L)处理;b 2,3-BD(100 μmol/L)处理;c 2,3-BD(300 μmol/L)处理;d 2,3-BD(500 μmol/L)处理。

2.3 2,3-BD 诱导后草地早熟禾木质素变化

草地早熟禾叶片接种 *R. solani* 后,随时间延长,CK 木质素含量基本没有明显较大变化,4个接菌处理的木质素含量相比对照 CK 均有显著性增加 ($P < 0.05$),总体呈上升趋势(图6)。在第9和12天木质素含量增加最明显。其中第3天时,CK 木质素含量为 20.33%,各接菌处理木质素含量均有显著增加

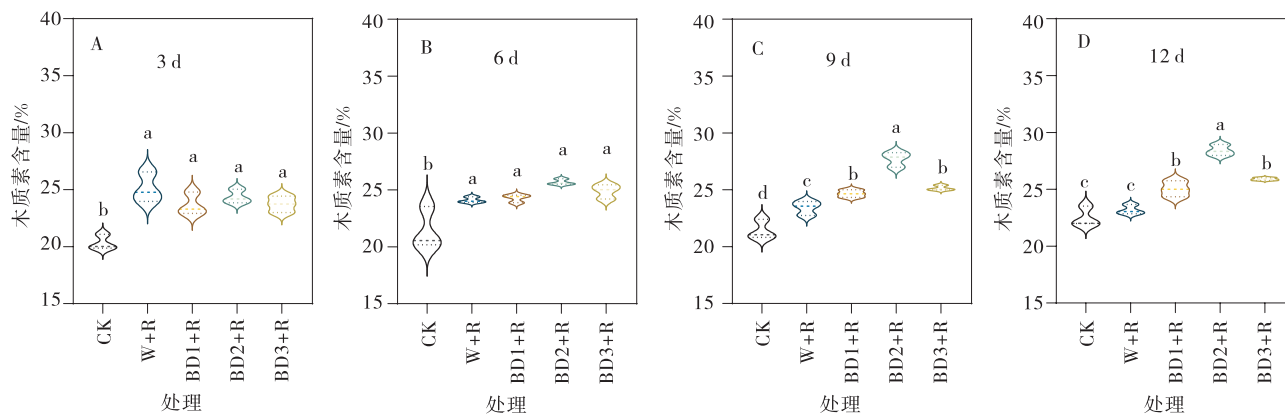


图6 不同浓度梯度 2,3-BD 诱导草地早熟禾响应 *Rhizoctonia solani* 侵染的木质素含量变化

Fig. 6 Changes in lignin content of *Poa pratensis* in response to *Rhizoctonia solani* infection induced by different concentration gradients of 2,3-BD

2.4 2,3-BD 诱导后草地早熟禾木质素合成酶的变化

草地早熟禾叶片 PAL 酶活性随接菌后时间延长,呈明显上升趋势(图7),其中,BD+R 处理叶片 PAL

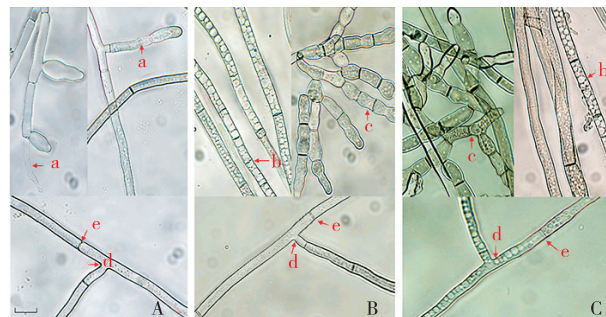


图5 立枯丝核菌菌丝生长变化

Fig. 5 Growth changes of *Rhizoctonia solani* mycelium

注:A 菌丝生长第3天;B 菌丝生长第5天;C 菌丝生长第7天;a 新生菌丝;b 念珠状菌丝;c 菌核;d 缢缩处;e 隔膜。

($P < 0.05$)。W+R 最大,为 25.11%,BD2+R 次之,为 24.36%。第6天时,木质素含量相对第3天增加幅度较小,BD2+R 最高,为 25.68%,与其他3个接菌处理与 CK 相比没有显著差异 ($P > 0.05$)。第9天时各处理木质素含量变化较大。BD1+R 和 BD3+R 之间差异不显著,其他各处理之间均有显著差异 ($P < 0.05$)。BD2+R 最高,为 27.71%,分别是 CK、W+R、BD1+R 和 BD3+R 的 1.29、1.18、1.12 和 1.10 倍。第12天时,BD2+R 木质素含量(28.41%)依然显著高于其他处理 ($P < 0.05$)。BD1+R 和 BD3+R 次之,CK 和 W+R 最低。其中 W+R 木质素含量相对于第3天有显著降低,仅为 23.12%。

酶活性第3~12天一直显著高于其他3个处理 ($P < 0.05$)。在第9天时出现了最高值,分别是 W+R、BD 和 CK 的 1.56、2.15 和 4.49 倍。W+R 处理酶活性第3~12天持续较 BD+R 低,但显著高于两个未接菌处

理($P<0.05$),第12天时活性最高。BD处理PAL酶活性呈持续上升趋势,其活性也显著高于CK($P<0.05$)。

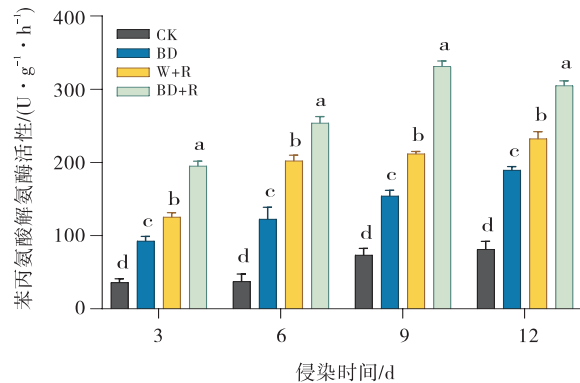


图7 2,3-BD诱导对草地早熟禾响应 *Rhizoctonia solani* 侵染苯丙氨酸解氨酶PAL活性的影响

Fig. 7 Effect of 2,3-BD induction on phenylalanine ammonia lyase activity of *Poa pratensis* in response to *Rhizoctonia solani* infection

草地早熟禾叶片4CL酶活性随接菌后时间延长,显示出明显上升趋势,两个接菌处理的植株中酶活性显著较高($P<0.05$)(图8)。其中,BD+R处理酶活在前期第3~6天较低,第9~12天时大幅度上升,且显著高于其他3个处理($P<0.05$),第12天时活性依然最高,分别是W+R、BD和CK的1.33、2.14和2.53倍。W+R处理酶活性第3~9天持续增高,第12天时有稍微降低趋势,其中第3~6天显著高于BD+R,第9~12天又显著低于BD+R($P<0.05$),但显著高于两个未接菌处理。第9天最高,分别是BD+R、BD和CK的0.88、1.73和2.11倍。BD处理叶片4CL酶活性在第3~12天均显著高于CK($P<0.05$)。CK与BD处理酶活性没有显著差异。

草地早熟禾叶片POD酶活性随接菌后时间延长,两个接菌处理呈现为上升趋势,且显著高于未接菌处理($P<0.05$)(图9)。BD+R处理叶片POD酶活性第3~12天持续上升,第9天时上升最为明显,第12天时最高,分别是W+R、BD和CK的1.26、1.81和1.92倍。W+R处理叶片酶活性第3~6天上升之后又逐渐下降,相比其他处理活性显著较高($P<0.05$),第9~12天低于BD+R($P<0.05$)。第6天时出现峰值分别是BD+R、BD和CK的1.35、1.64和1.82倍。BD和CK处理POD酶活性整体变化趋势不明显。

草地早熟禾叶片LAC酶活性随接菌后时间延长,

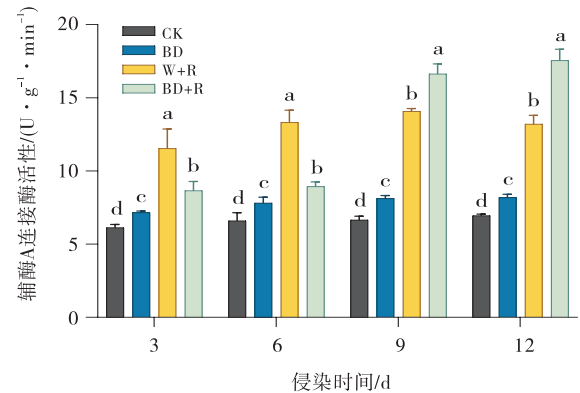


图8 2,3-BD诱导对草地早熟禾响应 *Rhizoctonia solani* 侵染香豆酸辅酶A连接酶4CL活性的影响

Fig. 8 Effect of 2,3-BD induction on 4-coumarate CoA ligase activity of *Poa pratensis* in response to *Rhizoctonia solani* infection

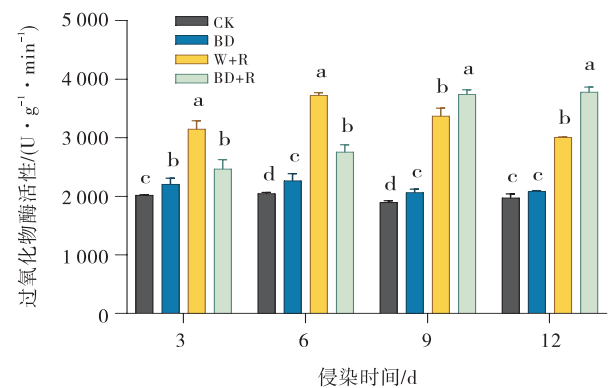


图9 2,3-BD诱导对草地早熟禾响应 *Rhizoctonia solani* 侵染过氧化物酶POD活性的影响

Fig. 9 Effect of 2,3-BD induction on peroxidase activity of *Poa pratensis* in response to *Rhizoctonia solani* infection

呈现出显著上升趋势。两个接菌处理酶活性显著高于未接菌的两个处理($P<0.05$)(图10)。其中,BD+R处理LAC酶活性第3~12天持续上升,第6~12天显著高于其他3个处理($P<0.05$),第12天时最高,分别是W+R、BD和CK的1.07、1.94和1.82倍。W+R处理LAC酶活性第3~6天没有显著变化,第9天活性升高,第9~12天同样变化不明显。BD处理LAC酶活性第3~12天有上升趋势,但不明显,且始终显著低于CK($P<0.05$)。CK处理LAC酶活性在第3~12天内几乎没有明显变化($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 2,3-BD对草地早熟禾抗褐斑病的诱抗作用

褐斑病具有广泛性和快速传播的特性,一般在发病初期不能得到有效的防控,使病害开始大面积发

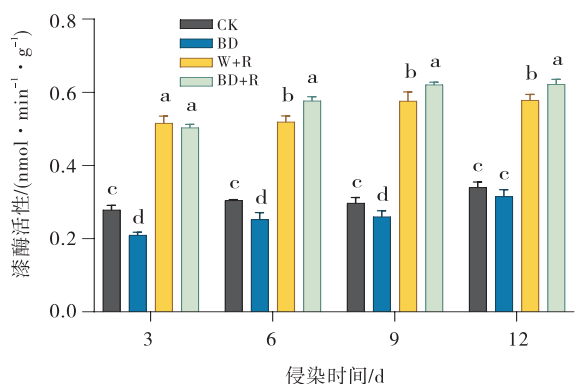


图10 2,3-BD诱导对草地早熟禾响应 *Rhizoctonia solani* 侵染漆酶LAC活性的影响

Fig. 10 Effect of 2,3-BD induction on laccase activity of *Poa pratensis* in response to *Rhizoctonia solani* infection

展。这也是众多草坪病害防治中最大的难题。本试验中,用不同浓度诱导剂2,3-BD激发草地早熟禾对褐斑病的抗病反应。2,3-BD能显著提高早熟禾对病原的抗性,其中,100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下诱抗率最高只有25.03%。500 $\mu\text{mol/L}$ 诱导抗病效果较高能达到43.45%,此浓度下植株前期病叶率较低,后期快速增加。这一现象可能是高浓度2,3-BD激活了植物的免疫反应,并产生一些抗菌代谢物,但由于浓度太高,反而会产生抑制作用,使得植株生长活力不够,所以导致后期病叶率增加快速。施加300 $\mu\text{mol/L}$ 的2,3-BD后草地早熟禾表现出最佳诱抗效果,诱导抗病率达到了74%,发病率由90%以上降低到50%。说明300 $\mu\text{mol/L}$ 的2,3-BD诱导有效地降低了病害的发生和快速扩展。且该浓度下,株高明显高于其他浓度,说明2,3-BD诱导促进了植株的生长,而高生长活力的植株不容易被病原菌侵染,或被感染的叶片很快被新生的叶片代替,从而表现出较好的抗病性。

之前对2,3-BD的研究中发现,2,3-BD能有效地诱导匍匐翦股颖对褐斑病的抗性,抗病率能达到78%^[10],和本文研究结果一致。史毅等^[4]通过转录组研究表明2,3-BD是通过诱导匍匐翦股颖ISR的抗病机制抵御病原入侵。芽孢杆菌(*Bacillus*)可以诱导植物辣椒对枯萎病产生抗性,对植物的防御相关酶活性和相关酶基因表达分析均有显著影响^[11]。而2,3-BD也是芽孢杆菌主要分泌物之一。林青^[12]指出豆角根际细菌D8不仅能提高番茄对番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)、灰霉病菌(*Botrytis cinerea*)和青枯病菌

(*Pseudomonas solanacearum*)的防治效果,还对番茄的生长有促生效果,能提高植株发芽率并促进幼苗生长,茉莉酸含量显著上升说明是通过激活植株的ISR机制,达到抗病效果。这与本研究的试验结果有相似之处。同样,用PGPR提高了黄瓜对黄瓜棒孢叶斑病菌(*Corynespora cassiicola*)的防治效果,同时也促进了植物快速生长^[12]。

如果2,3-BD对病原菌有杀菌效果,它的施用也能有效地抑制病害发生。但是从本试验结果可以看出,2,3-BD对病原菌的生长没有显著影响,通过对PDA平板培养的表型观察和菌丝的显微结构观察,都没有观察到被抑制生长或致死的现象。说明2,3-BD不是直接对病原菌作用,而是通过诱导方式,激活了植物的ISR诱导途径提高植物抗病性,从而降低了病害对植物的为害。

3.2 2,3-BD诱导对草地早熟禾木质素积累的影响

木质素是植物细胞壁主要成分之一,也是植物加强自身结构牢固性的主要物质之一。当植物面对外界胁迫时,细胞壁木质素能发挥出消除干扰的部分作用。胁迫产生时植物会快速进行木质素合成以加强防御。黄熊娟^[13]使用不同浓度诱抗剂氨基寡糖素后可显著提高苦瓜对苦瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *momordicae*)的抗性,试验中诱导剂的使用明显使木质素合成量增多,通过与其他防御因子一起提高了植物抗逆性。本研究中,不同浓度梯度2,3-BD诱导草地早熟禾响应 *R. solani* 入侵时,植株体内木质素大量积累。且发生在相对较短的时期内。接种病原菌前期就有木质素大量积累,表明植物细胞壁的木质化是受到不相容病原体感染后的立即防御反应。Goh^[14]研究结果与本文相似,并指出木质素入侵早期就有木质素大量合成。主要是因为木质素合成通常积累在初始侵染点有乳突生成的地方,或者在已侵入的细胞周围发生木质化,能够快速形成一种不可降解的机械屏障,从而抑制或延迟病原的渗透和细胞壁降解酶向细胞内的进一步渗透,从而降低寄主植物对病原攻击的敏感性^[15]。

试验中未诱导植株接菌后木质素先快速积累,后期木质素含量显著降低,可能是感染后期由于病害加重,参与木质素化过程的细胞壁结合酚类物质和苯丙

类代谢物受到抑制,或参与木质素合成的底物优先用于黄酮类物质、酚类物质和其他植保素物质的合成,从而使木质素合成受到影响。植物组织被损坏也能造成合成减弱。正如其他研究所被脆叶病菌感染的枣树叶片中,木质素合成规律和本文所述情况一致^[16]。诱导剂 2,3-BD 能促进植物体内木质素合成,并通过加强植物的结构防御提高植物抗性。例如,通过施用赤霉素 GA3 对胡萝卜的生长有明显影响,使胡萝卜木质素含量增加,木质部薄壁组织明显加厚,木质化程度较高,同时合成木质素的相关基因也上调表达^[17]。

3.3 2,3-BD 诱导对草地早熟禾木质素合成酶的影响

在植株感染 *R. solani* 后检测到木质素生物合成酶的活性增加,诱导植株中 PAL、4CL、POD 和 LAC 活性感染前期增加缓慢,后期有较大幅度增加。未诱导植株接菌后 PAL 和 LAC 酶活性持续上升,而 4CL 和 POD 活性前期持续增加,之后逐渐降低。这种酶活性的降低可能是由于感染后期病情的加重导致组织转录后修饰效率下降^[18]。同时,只做诱导的植株中 PAL、4CL 和 POD 酶活性均显著高于对照,可能是由于通过 ISR 机制预先诱导了木质素的积累以加强植物细胞结构。或者是因为此浓度下的诱导剂促进了植物的快速生长,才表现出这些酶活性的提高。

研究指出,用草酸可诱导紫花苜蓿对霜霉病菌 (*Pseudoperonospora poracubensis*) 的抗性, PAL 酶活性显著升高^[19]。SA 和 JA 通过调控木质素合成增加植物对病原的抗性^[20]。过氧化物酶 POD 和 LAC 一起参与木质素单体的聚合过程,形成复杂的木质素^[21]。白梨果实发育早期, LAC 参与梨肉中石细胞的木质素积累过程^[22]。青稞高抗和易感品系接种大麦黄矮病毒 (Barley Yellow Dwarf Virus), 使 POD 酶活性显著提高,且抗性品系的酶活增高幅度显著高于易感品系^[23]。草地早熟禾抗性品种在响应白粉病菌 (*Blumeria graminis*) 侵染过程中 POD、PAL 和 4CL 酶活性显著高于易感品种,且木质素也有大量积累^[24]。这些结果与本文相同,说明木质素在植物抗病过程中能有效控制病害的快速发生,与之合成相关酶活性也显著升高^[25-26]。本研究中诱导剂 2,3-BD 有效加强了这一过

程,这也是诱导植物病害率较低的主要原因之一。

4 结论

本文采用不同浓度 2,3-BD 诱导草地早熟禾对褐斑病的抗性。病情评价结果显示,2,3-BD 能诱导草地早熟禾植株对褐斑病的抗性,显著降低植株发病率。同时,2,3-BD 对病原菌的生长无影响,它通过激发植物自身的防御功能来抵抗病原菌侵染。诱导剂也能促进植株抗病过程中木质素的大量积累。其中 300 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下诱导抗病效果最佳,木质素积累量也最多。此浓度下草地早熟禾叶片木质素合成相关酶活性在抗病过程中也显著增加。说明诱导剂 2,3-BD 能诱导早熟禾对褐斑病的抗性,有效控制病害的快速发生。

参考文献:

- [1] 牛奎举,金小煜,李慧萍,等. 甘肃野生草地早熟禾萌发期抗旱性鉴定与评价[J]. 草地学报,2016,24(5):1041—1049.
- [2] 刘兴菊. 2,3-BD 诱导匍匐剪股颖抗褐斑病叶片结构及细胞壁变化的研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2018.
- [3] 欧阳路平. 草地早熟禾对立枯丝核菌侵染的生理响应机制研究[D]. 北京:北京林业大学,2015.
- [4] 党英侨,王小艺,杨忠岐. 中国林业害虫生物防治研究进展[J]. 中国森林病虫,2022,41(5):6—13.
- [5] Shi Y, Niu K J, Ma H L. Transcriptome analysis of creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*) infected with *Rhizoctonia solani* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(17): 3323—3336.
- [6] 张露露,刘兴菊,马源,等. 7个常用草地早熟禾品种对立枯丝核菌侵染的生理响应[J]. 草原与草坪,2022,42(3): 81—90.
- [7] 南志标. 草坪草病害综合防治体系[M]//陈佐忠. 面向 21 世纪的中国草坪科学与草坪业. 北京:中国农业出版社,1999:193—202.
- [8] Liang R, Zhao J, Li B, et al. Implantable and degradable antioxidant poly(ϵ -caprolactone)-lignin nanofiber membrane for effective osteoarthritis treatment [J]. Biomaterials, 2020, 230(1): 119601.
- [9] 董文科,马祥,毛春晖,等. 10个草地早熟禾品种对白粉病的抗性评价及生理特性分析[J]. 草原与草坪,2020,40(3):47—56.

- [10] 房媛媛. 2,3-丁二醇与 2R,3R-丁二醇诱导匍匐剪股颖抗褐斑病及其防御反应研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2015.
- [11] 赵志祥,严婉荣,王宝,等. 芽孢杆菌 Ya-1 诱导辣椒防御酶活性提高和相关抗病基因的表达[J]. 分子植物育种,2022,20(8):2699—2706.
- [12] 林青,史应武,王玮,等. 一株系统抗性诱导细菌 D8 的鉴定及其对新疆加工番茄促生防病效果初探[J]. 西北农业学报,2023,32(3):450—457.
- [13] 李翠霞,韩亚梅,薛制国,等. 16 个黄瓜品种对棒孢叶斑病的抗病性鉴定[J]. 河北科技师范学院学报,2021,35(2):42—46.
- [14] 黄熊娟,黄如葵,冯诚诚,等. 氨基寡糖素对苦瓜枯萎病的抗性诱导作用[J]. 西南农业学报,2022,35(11):2544—2553.
- [15] Goh K M. Induction of defence response in lignin biosynthesis of *Elaeisguineensis* during an interaction with *Ganoderma boninense* [D]. Kuala Lumpur: University of Nottingham Malaysia Campus,2016.
- [16] Moura J C M S, Bonine C A V, Viana J O F, *et al.* Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants[J]. Journal of integrative plant biology,2010,52(4):360—376.
- [17] Saidi M N, Bouaziz D, Hammami I, *et al.* Alterations in lignin content and phenylpropanoids pathway in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissues affected by brittle leaf disease[J]. Plant science,2013,211:8—16.
- [18] Wang G L, Que F, Xu Z S, *et al.* Exogenous gibberellin enhances secondary xylem development and lignification in carrot taproot[J]. Protoplasma,2017,254:839—848.
- [19] Ballester A R, Lafuente M T, González—Candelas L. Citrus phenylpropanoids and defence against pathogens. Part II: Gene expression and metabolite accumulation in the response of fruits to *Penicillium digitatum* infection [J]. Food Chemistry,2013,136(1):285—291.
- [20] 李克梅,张芯伪,王丽丽,等. 草酸诱导紫花苜蓿对霜霉病的抗性[J]. 草业科学,2015,32(1):36—40.
- [21] 邹丽. 水杨酸、茉莉酸对水稻木质素合成调控的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2014.
- [22] Fagerstedt K V, Kukkola E M, Koistinen V V T, *et al.* Cell wall lignin is polymerised by class III secreted plant peroxidases in Norway spruce[J]. Journal of integrative plant biology,2010,52(2):186—194.
- [23] Cheng X, Li G, Ma C, *et al.* Comprehensive genome-wide analysis of the pear (*Pyrus bretschneideri*) laccase gene (*PbLAC*) family and functional identification of *PbLAC1* involved in lignin biosynthesis [J]. PLoS one,2019,14(2):e0210892.
- [24] 羊海珍,顿珠加布,旺姆,等. 不同抗性青稞材料接种大麦黄矮病毒后防御酶活性变化研究[J]. 安徽农业科学,2023,51(2):27—29.
- [25] 董文科. 草地早熟禾抗白粉病机理研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2020.
- [26] 高鹏华,王其刚,晏慧君,等. 外源激素对灰霉菌胁迫下月季花器官生理生化指标的影响[J]. 西南农业学报,2022,35(5):1166—1172.
- [27] 弓德强,黄训才,黄光平,等. 茉莉酸甲酯处理对采后芒果果实抗病性的影响[J]. 热带作物学报,2016,37(12):2294—2299.

2,3-butanediol induced resistance to brown patch and changes in host lignification during resistance interactions in *Poa pratensis*

LIU Xing-ju¹, MA Yuan², MA Hui-ling^{1*}, SHI Yi³

(1. College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China; 2. Academy of Animal and Veterinary Sciences, Qinghai University, Xining 810016, China. 3. College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: 【Objective】 This study aims to investigate whether the exogenous inducer 2, 3-butanediol can enhance the resistance of *Poa pratensis* to brown patch. 【Method】 Used different concentrations of gradient inducer 2, 3-BD to induce *Poa pratensis*, and studied its resistance to brown patch and disease evaluation by artificial inoculation. On this basis, lignin content and lignin synthase activity were determined. 【Result】 The results showed that 2, 3-BD induction significantly reduced the incidence rate of *Poa pratensis*, and 300 $\mu\text{mol/L}$ concentration induced the best disease resistance effect, which could reduce the incidence rate of *Poa pratensis* brown patch from 90% to 50%, and the induction effect could reach 74%, significantly enhancing the resistance of plants to brown patch ($P < 0.05$). It was found that 2, 3-BD did no significant effect on the growth of *Rhizoctonia solani*. The induction of 2, 3-BD enhanced the activities of PAL, 4CL, POD and LAC lignin synthases and the biosynthesis of lignin in bluegrass ($P < 0.05$), and the lignin content was the highest when treated at a concentration of 300 $\mu\text{mol/L}$. 【Conclusion】 2, 3-BD can significantly improve the resistance of *Poa pratensis* to brown patch.

Key words: 2;3-butanediol; *Poa pratensis*; brown patch; *Rhizoctonia solani*; lignin

(责任编辑:刘建荣)