



引用格式: 叶霏颖, 司二静, 鲁宗辉, 等. 外源茉莉酸甲酯诱导大麦叶斑病抗性研究[J]. 西北植物学报, 2024, 44(4): 0529-0538. [YE P Y, SI E J, LU Z H, et al. Induction of resistance to spot blotch in *Hordeum vulgare* L. by exogenous methyl jasmonate[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2024, 44(4): 0529-0538.] DOI:10.7606/j.issn.1000-4025.20230574

外源茉莉酸甲酯诱导大麦叶斑病抗性研究

叶霏颖^{1,2}, 司二静^{1,2}, 鲁宗辉^{1,2}, 汪军成^{1,2}, 王化俊^{1,2}, 孟亚雄^{1,2*}

(1 省部共建干旱生境作物学国家重点实验室, 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 兰州 730070; 2 甘肃农业大学 农学院, 兰州 730070)

摘要 【目的】探讨不同浓度外源茉莉酸甲酯(MeJA)诱导大麦抗叶斑病效应差异及其分子机制, 为应用 MeJA 防治大麦叶斑病提供理论依据。【方法】以‘蒙啤麦 3 号’大麦品种幼苗为材料, 设置不接菌(无菌水处理叶片)、接菌(无菌水处理叶片接种麦根腐平脐蠕孢菌)和接菌+MeJA(0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mmol/L MeJA 喷施叶片后接菌)3 组处理, 于三叶期调查叶斑病发病情况, 并据此筛选最适 MeJA 浓度, 然后测定不接菌、接菌及接菌+MeJA(最适浓度)下不同处理时间叶片的抗氧化酶、抗病相关酶活性、丙二醛含量、渗透调节物质含量以及相关基因表达水平。【结果】(1)叶面喷施外源 MeJA 提高了大麦对叶斑病的抗性, 1.5 mmol/L MeJA 处理叶片的病情指数较对照显著降低 19.03%, 诱导抗性效果最佳;(2)与单独接菌处理相比, 1.5 mmol/L MeJA 处理大麦叶片超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性均显著提高, 而其丙二醛、脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量显著降低, 同时受 MeJA 调控转录因子及编码抗病相关酶的基因表达量显著上调。【结论】外源喷施 1.5 mmol/L MeJA 通过调节抗病相关酶活性和渗透调节物质含量, 以及调控抗病相关酶基因及茉莉酸信号途径关键转录因子基因表达, 进而提高大麦植株的叶斑病抗性。

关键词 大麦; 茉莉酸甲酯; 叶斑病; 诱导抗性; 抗氧化酶

中图分类号 Q946.885⁺.9; Q945.78; S435.123

文献标志码 A

Induction of resistance to spot blotch in *Hordeum vulgare* L. by exogenous methyl jasmonate

YE Peiying^{1,2}, SI Erjing^{1,2}, LU Zonghui^{1,2},

WANG Juncheng^{1,2}, WANG Huajun^{1,2}, MENG Yaxiong^{1,2,*}

(1 State Key Laboratory of Arid Land Crop Science, Gansu Provincial Key Laboratory of Crop Improvement & Germplasm Enhancement, Lanzhou 730070, China; 2 College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract [Objective] The study aims to investigate the differential efficacy of anti-leaf spot in barley (*Hordeum vulgare* L.) of various concentrations of exogenous methyl jasmonate (MeJA) and understand the underlying mechanisms, thereby providing a foundation for the application of MeJA in controlling barley leaf spot. [Methods] We used ‘Mengpimai 3’ (MP3) seedlings as materials and conducted three different treatments: Inoculating the barley leaves with sterile water without any *Bipolaris sorokiniana* (the causal agent of the disease), inoculating the barley leaves with sterile water after treatment, and treating

收稿日期: 2023-09-05; 修改稿收到日期: 2023-12-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(31960426, 32160496); 国家大麦青稞产业技术体系项目(CARS-05-03B-03)

作者简介: 叶霏颖(1999—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事现代生物技术及其在作物遗传育种中的应用研究。E-mail: 1095430659@qq.com

* 通信作者: 孟亚雄, 研究员, 主要从事分子植物育种研究。E-mail: yxmengl@163.com

the barley leaves with different concentrations (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mmol/L) of methyl jasmonate (MeJA) before inoculation with the pathogen. The disease incidence was investigated at the three-leaf stage based on disease index to determine the optimal MeJA concentration. We measured antioxidant enzyme activities, anti-disease-related enzyme activities, malondialdehyde, proline, soluble sugar, and soluble protein contents, and the expression levels of related genes under no inoculating treatment, inoculation treatment, and inoculating + optimal MeJA concentration treatment. [Results] (1) Exogenous application of MeJA enhanced MP3 resistance against spot blotch, particularly at 1.5 mmol/L where there was a significant reduction of 19.03% ($P<0.05$) in disease index compared with control plants, indicating the most effective induction of resistance. (2) In comparison with inoculating treatment, barley leaves treated with 1.5 mmol/L MeJA exhibited significantly increased activities of superoxide, peroxidase, catalase, chitinase, and β -1,3-glucanases. Additionally, there was a significant decrease in malondialdehyde content as well as proline, soluble sugar, and soluble protein levels. Furthermore, the expression of MeJA-regulated transcription factors and genes encoding disease resistance-related enzymes were significantly upregulated. [Conclusion] Exogenous application of 1.5 mmol/L MeJA enhanced resistance against spot blotch in barley by regulating the activity of disease-related enzymes and the content of osmotic regulatory substances, as well as modulating the expression of genes encoding the disease-resistant enzymes and key transcription factors involved in jasmonic acid signaling pathway.

Key words *Hordeum vulgare* L.; methyl jasmonate; spot blotch; induced resistance; defense enzymes

大麦(*Hordeum vulgare* L.)在中国是仅次于水稻、小麦和玉米的谷物类粮食作物,在生长发育过程中常遭受到大麦叶斑病(barley spot blotch)的危害,导致籽粒产量和品质降低,极大地影响大麦的经济价值^[1-2]。大麦叶斑病是大麦生育期常见病害之一,是由禾旋孢腔菌[*Cochliobolus sativus*, 无性世代(*Bipolaris sorokiniana*)]引起的一种叶部真菌性病害^[3-4],目前主要通过抗性育种^[5-6]、生物防治、施用化学药剂进行防治。选育和种植抗病品种是最有效的防治策略,但是选育、推广抗病品种周期长,且目前已鉴定的叶斑病抗性基因数量较少,优势致病类型轮替常导致主栽品种丧失抗病性,缩短了主栽品种有效使用年限^[1,6]。外源激素能够诱导提高植物抗逆性,调节植物体内渗透物质积累,诱导植物体内相关抗逆基因表达^[7],已在苹果^[8]、小麦^[9]、梨^[10]等植物上得到应用。

植物在受到真菌侵染时,植物体内多种防御酶及渗透调节物质在响应过程中起重要调控作用。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)可有效提高植物自身的抗病能力,并能够抵御植物体内自由基和活性氧对寄主的危害。受胁迫植物组织器官膜脂过氧化而产生的丙二醛(MDA)含量可以代表细胞膜受损程度,其含量与抗病性呈负相关关系。脯氨酸(Pro)、可溶性糖(SS)、可溶性蛋白(SP)是植物遭受到外界胁迫时细胞内积累的主要渗透物质,通过积累这些物质可降低细

胞水势、维持细胞膜两侧渗透势,达到抵御逆境胁迫的目的^[11-12]。真菌细胞壁主要成分为葡萄糖和几丁质,受到真菌侵染时植物体内的几丁质酶(CTH)和 β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-GA)响应外界刺激,通过水解酶作用协同降解真菌细胞壁, β -1,3-GA和CTH结合对真菌生长具有强烈的抑制作用^[13]。

茉莉酸甲酯(MeJA)、茉莉酸(JA)以及其他茉莉酸衍生物统称为茉莉酸类化合物,作为植物激素和信号化合物可参与植物对病原菌及其他逆境胁迫的应答并进行信号传递^[11]。研究表明 MeJA 主要通过调节抗氧化酶、抗病相关酶系统及激活编码相关酶和转录因子的基因表达,抑制病原菌活性和诱导寄主产生免疫反应,以诱导植物的抗病作用,减缓病害发生,但是具体的诱导抗病分子机制还有待进一步研究。目前已有 MeJA 提高植物抗性的许多报道,如外源 MeJA 能够提高被菊姬长管蚜寄生菊花叶片的保护酶、防御酶活性及渗透性物质含量,增强菊花的抗蚜性^[14];外源 MeJA 能显著抑制小麦条锈菌夏孢子萌发及条锈菌胞间菌丝、吸器母细胞和吸器发育,侵染位点叶肉细胞呈抗性症状,从而诱导小麦幼苗产生抗病性^[15];MeJA 处理能够增强烟草对棉铃虫的抵御,显著提高棉铃虫取食叶叶片 PPO 活性、POD 活性及相关基因的表达量^[16];外源 MeJA 可以显著降低竹根姜的病情指数,提高对姜瘟病的抗性^[17];MeJA 也能够不同程度上提高盐胁迫下玉米幼苗抗氧化酶基因表达量,在转录水平上诱导

抗氧化酶基因表达,从而有效缓解盐胁迫^[18]。而茉莉酸 ZIM 结构域基因作为 JA 信号传导过程中的关键转录抑制因子,在小麦茎基腐病抗病品种中显著下调,在感病品种中上调表达, JAZ 基因下调表达降低对茉莉酸信号通路的抑制,提高茉莉酸诱导的下游抗病基因表达水平^[19-20]; WRKY57 与 WRKY33 竞争性地调控关键抑制子 JAZ1 和 JAZ5 的表达,削弱了 WRKY33 对灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*) 的抵抗能力^[19];拟南芥 NAC 家族中的 ATAF 1 和 ATAF 2 转录因子都受到茉莉酸信号的诱导,茉莉酸信号通过对 ATAF 1 和 ATAF 2 的调节提高植物对干旱、盐胁迫、灰霉病菌及其他一些病原体的抵抗能力^[21]。

目前,外源 MeJA 对植物抗病性影响的研究已经有一定进展,但是关于大麦的相关研究较少。‘蒙啤麦 3 号’大麦品种近年来在内蒙古河套地区大面积种植,在叶斑病抗性鉴定中广泛使用,其对不同优势致病类型的抗性表现出较大差异^[3]。本研究选用‘蒙啤麦 3 号’为试验材料,在前人对叶斑病侵染过程及抗病相关酶活性变化研究^[13,22]的基础上,除考察不同浓度外源 MeJA 对大麦抗叶斑病的影响外,还结合大麦的发病情况筛选出外源 MeJA 诱导抗病的最佳浓度,并综合分析大麦生理及抗病基因的调控变化,以拓展外源 MeJA 调控大麦抗叶斑病机制的认识,旨在为应用外源激素防治大麦叶斑病提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料培养及处理

供试材料为大麦品种‘蒙啤麦 3 号’。挑选籽粒饱满的种子,先用 70% 的酒精处理 30 s 后用无菌水冲洗,再用 5% 次氯酸钠浸泡处理 5 min,最后用无菌水冲洗 2 次后晾干,播种于装有幼苗生长基质 (121 ℃,灭菌 30 min) 的花盆中。供试菌株为大麦叶斑病菌株 Z14487 (甘肃农业大学麦类课题组保存)。

1.2 试验方法

1.2.1 浓度筛选与处理

研究设置 3 个处理:不接菌处理为无菌水处理大麦叶片后不接菌 (A 处理);接菌处理为无菌水处理大麦叶片后接菌 (B 处理);MeJA+接菌处理为 MeJA 处理大麦叶片后接菌 (C 处理)。MeJA+接菌处理中 MeJA 浓度设为 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mmol/L,出苗后每天傍晚均匀喷施激素,以叶面上

密布 1 层溶液而不下滴为标准,连续喷施 3 d。各处理设置 3 个生物学重复,每个重复 30 株幼苗。待第 2 片叶完全展开进行接种,将培养基上叶斑病孢子用毛刷轻轻刷入含有 0.25% Tween 的无菌水中,配成孢子悬浮液 (浓度为 1×10^4 个/mL),均匀喷施于大麦叶片,使用塑料薄膜密封后在黑暗中保湿 24 h,然后移至温室继续培养。待三叶期观察各处理的发病情况,并测定病情指数。

采样时间选择接菌后第 1,3,5,7,10 天,根据测定的病情指数和诱抗效果筛选出最适 MeJA 浓度。测定 A、B 和 C 处理 (最适浓度) 大麦叶片的 SOD、CAT、POD、CHT、 β -1,3-GA 活性和 MDA、可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸含量及相关抗病基因表达量。

1.2.2 病情指数和诱抗效果

于三叶期对不同浓度 MeJA 处理的大麦幼苗进行观察,统计各处理大麦发病等级,并分别计算病情指数和诱抗效果,取 3 个独立的生物学重复,每个重复 30 株幼苗。单株的发病情况参考 Fetch 等^[23] 0~9 级的标准,0 级为免疫型,9 级为高度感病型。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum (\text{各级病株数} \times \text{发病级数})}{\text{最高病级数} \times \text{调查总株数}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{诱抗效果} = \frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.3 大麦叶片生理生化指标测定

叶片 SOD 活性采用氮蓝四唑光还原法测定^[24],POD 活性采用愈创木酚法测定^[24],CAT 活性采用紫外吸收法测定^[24],MDA 含量采用硫代巴比妥酸法测定^[24],脯氨酸含量采用磺基水杨酸法测定^[24],可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定^[25],可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定^[25],几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶活性采用 Biobox 系列试剂盒测定 (北京盒子生工科技有限公司)。

1.2.4 qRT-PCR 验证大麦叶片基因差异表达

为了进一步了解 1.5 mmol/L MeJA 处理下,CHT 和 MeJA 调控的蛋白及转录因子相关基因在转录水平上的表达特征,检测处理后第 1,3,5,7,10 天大麦叶片中 6 个基因的表达量,以 *Actin* 为内参基因,按照 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 计算基因的相对表达量,每个样品 3 次重复。植物总 RNA 提取采用艾科瑞生物有限公司试剂盒,cDNA 反转录采用天根生物科技有限公司试剂盒,引物由赛默飞世尔科技公司合成 (表 1)。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列
Table 1 Genes and real-time PCR primers

基因名称 Gene name	基因注释 Gene description	引物序列 Primer sequence (5'→3')
<i>Actin</i>	肌动蛋白 Actin	F: TCGAGCACGGTATCGTAAGC R: CTCAGTGAGCAACACAGGGT
<i>HORVU5Hr1G060730</i>	茉莉酸 ZIM 结构域蛋白 Jasmonate ZIM domain-containing protein	F: TGGCGCTGAGAACCATGG R: GGTTGAACGGCGAGGACA
<i>HORVU5Hr1G065420</i>	转录因子 WRKY33	F: TGGTATGGTCGAGGCCGA R: GAGGCTCGTGTCGATGG
<i>HORVU4Hr1G017430</i>	转录因子 NAC	F: ACCGCAAGTACCCCAACG R: GCTTGCCGCGTAGAAGA
<i>HORVU5Hr1G045650</i>	转录因子 NAC	F: AGGAGCACGAGCAGGAGA R: GGAAGTCTGCAGCTGGA
<i>HORVU0Hr1G016050</i>	几丁质酶 Chitinase	F: TGGAGTTGGGGGAGGAGG R: GTTGAGGTCCACGAGCCG
<i>HORVU5Hr1G074980</i>	过氧化物酶 Peroxidase	F: CTCCAGGGGCCCTTGTTG R: CGTTGGGGCACGTCTTCT

1.2.5 数据分析

采用 Excel 2021 进行数据整理及绘图,采用 SPSS 23.0 分析数据,应用 ANOVA 进行 Duncan’s 差异显著性多重比较($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 MeJA 对大麦苗期叶斑病抗性的诱导作用

随 MeJA 浓度增大,大麦植株的病情指数先降低后上升,而诱抗效果则先升高后降低,并在 1.5 mmol/L MeJA 处理下病情指数达到最低值(15.19),诱抗效果达到最高值(55.63%),且与其余浓度处理差异显著(表 2)。

表 2 不同浓度外源 MeJA 处理下大麦叶斑病
病情指数和诱抗效果

Table 2 Disease index and resistance induction efficiency
of spot blotch in barely under different concentrations
of exogenous MeJA

MeJA 浓度 MeJA concentration /(mmol/L)	病情指数 Disease index	诱抗效果 Induced resistance efficiency/%
0	34.22±1.02a	0
0.5	29.63±1.36b	13.42
1.0	21.67±1.67c	36.69
1.5	15.19±1.70d	55.63
2.0	20.28±1.27c	40.75
2.5	33.33±0.67a	2.60

注:同列不同小写字母表示处理之间在 0.05 水平存在显著性差异($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences among treatments at 0.05 level ($P<0.05$).

与 0 mmol/L MeJA 处理相比,各浓度 MeJA 处理植株病情指数均不同程度降低,除 2.5 mmol/L MeJA 处理外降幅均达到显著水平,1.5 mmol/L MeJA 处理病情指数降幅达到 55.62%;各浓度处理相比,1.5 mmol/L 处理病情指数显著低于 1.0,2.0 mmol/L 处理,后两者又显著低于 0.5 mmol/L MeJA 处理($P<0.05$)。说明 0.5~2.0 mmol/L MeJA 处理能够显著抑制大麦叶斑病的发生,减轻病害程度,其中 1.5 mmol/L MeJA 处理效果最佳。因此,选择 1.5 mmol/L MeJA 处理进行后续研究。

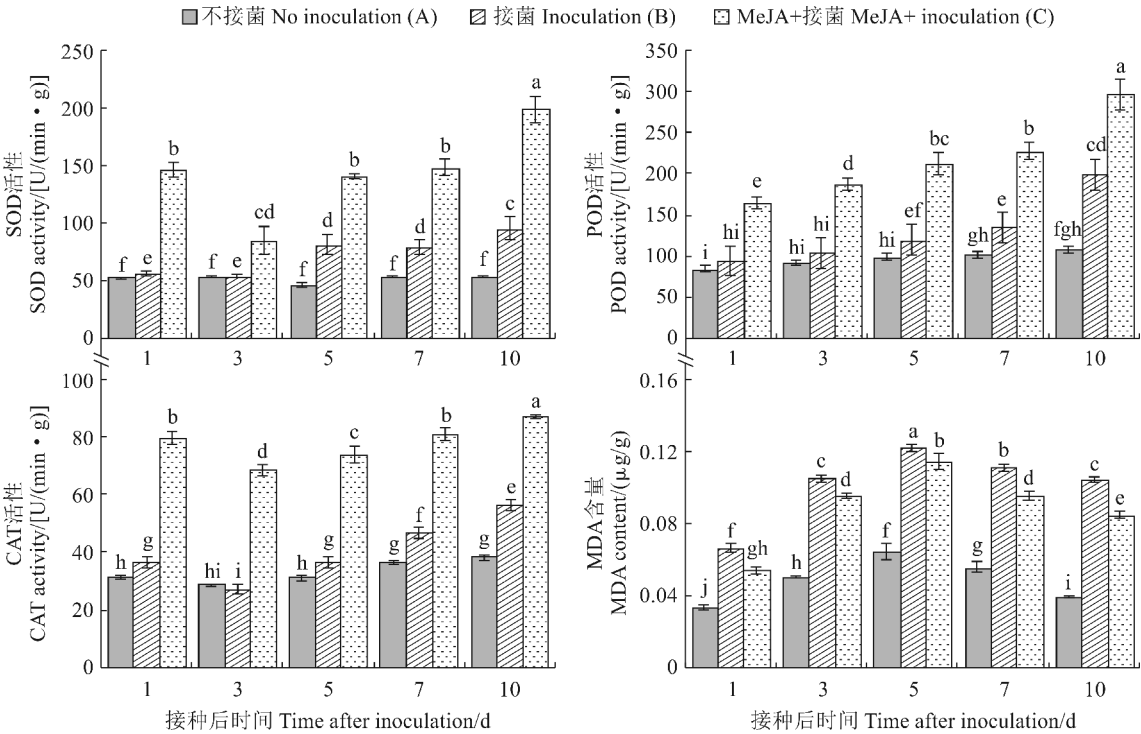
2.2 MeJA 对大麦叶片抗氧化酶活性及 MDA 含量的影响

图 1 显示,随着处理时间延长,大麦叶片 SOD 活性在不接菌处理(A 处理)中无显著变化,在单独接菌处理(B 处理)中基本呈上升趋势,并在第 5 天以后显著升高,而在 MeJA+接菌处理(C 处理)中呈现先降低后升高的趋势,在第 3 天时显著降至最低值[133.99 U/(min·g)],在第 10 天时达到最大值[198.68 U/(min·g)],并显著高于其余处理。

在相同处理时间下,大麦叶片 SOD 活性始终表现为 C>B>A 处理,且处理间均差异显著,C 处理叶片 SOD 活性在 1~10 d 内分别较 A、B 处理上升了 1.58~3.74 倍和 1.59~2.59 倍。同时,A、B、C 处理大麦叶片 POD 活性均随着处理时间延长而逐渐上升,并分别在处理第 7,5,3 天开始显著上升;在第 5~10 天,C 处理叶片 POD 活性分别比 A、B 处理显著升高了 2.15~2.75 倍和 1.49~1.78 倍,B 处理也不同程度的高于 A 处理,且在第 5~10 天达到显著水平。

另外,各处理大麦叶片 CAT 活性均随着处理时间延长而先降后升,并均在处理第 3 天和第 10 天达到最低值和最高值;在相同处理时间下,大麦叶片 CAT 活性基本表现为 C>B>A 处理的趋势,且处理之间差异大多达到显著水平,C 处理在第 1—10 天时较 B 处理显著提高了 1.54~2.53 倍,B 处理在第 5—10 天较 A 处理显著上升 0.68~1.05 倍($P<0.05$)。此外,在整个处理期间,各处理叶片 MDA 含量

均呈现明显先升后降的变化趋势,均在处理第 5 天达到最大值;在相同处理时间下,大麦叶片 MDA 含量均表现为 B>C>A 处理,且处理间均差异显著,C 处理较 B 处理平均降低 13.76%。以上结果说明接种大麦叶斑病菌能诱导叶片抗氧化酶活性和 MDA 含量显著升高,喷施外源茉莉酸甲酯能显著提高接菌株抗氧化酶活性,显著降低其 MDA 含量,有效减轻病菌伤害。



不同小写字母表示不同处理及不同处理时间之间在 0.05 水平存在显著性差异。下同。

图 1 MeJA 处理下大麦叶片抗氧化酶活性和 MDA 含量

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments or between treatment times at 0.05 level ($P<0.05$). The same as below.

Fig. 1 Antioxidant enzyme activities and MDA contents in leaves of barley seedling with different MeJA treatments

2.3 MeJA 对大麦叶片渗透调节物质含量的影响

如图 2 所示,各处理大麦叶片脯氨酸含量随着处理时间延长均呈现先上升后下降的变化趋势,A 处理在第 7 天、B 和 C 处理在第 5 天达到最大值,且处理期间的变化均达到显著水平;在相同时间下,叶片脯氨酸含量均表现为 B>C>A 处理,且处理间差异大多达到显著水平,其中 C 处理在第 1—10 天较 B 处理降低 32.37%~83.95%,平均降幅达到 71.35%。同时,在整个处理期间,A 和 B 处理叶片可溶性糖含量均呈逐渐升高趋势,而 C 处理则呈逐渐降低趋势,各处理变化均达到显著水平;在相同处理时间下,各处理可溶性糖含量在第 1—3 天表现为 C>B

>A 处理,在第 5—10 天表现为 B>C>A 处理,且同期处理间均差异显著,C 和 B 处理在第 1—10 天分别比 A 处理显著增加 40.43%~262.95%和 82.30%~91.28%。

另外,大麦叶片可溶性蛋白含量在 A 处理中呈上升趋势,在 B 和 C 处理中呈下降趋势,且在整个处理期间各处理变化均达显著水平;在相同处理时间下,叶片可溶性蛋白含量在第 1—3 天表现为 C 处理显著高于 A、B 处理,在第 5—10 天则 A 处理显著高于 B 和 C 处理($P<0.05$),C 处理可溶性蛋白含量在第 7 天时显著低于 B 处理,在第 10 天时显著高于 B 处理($P<0.05$)。

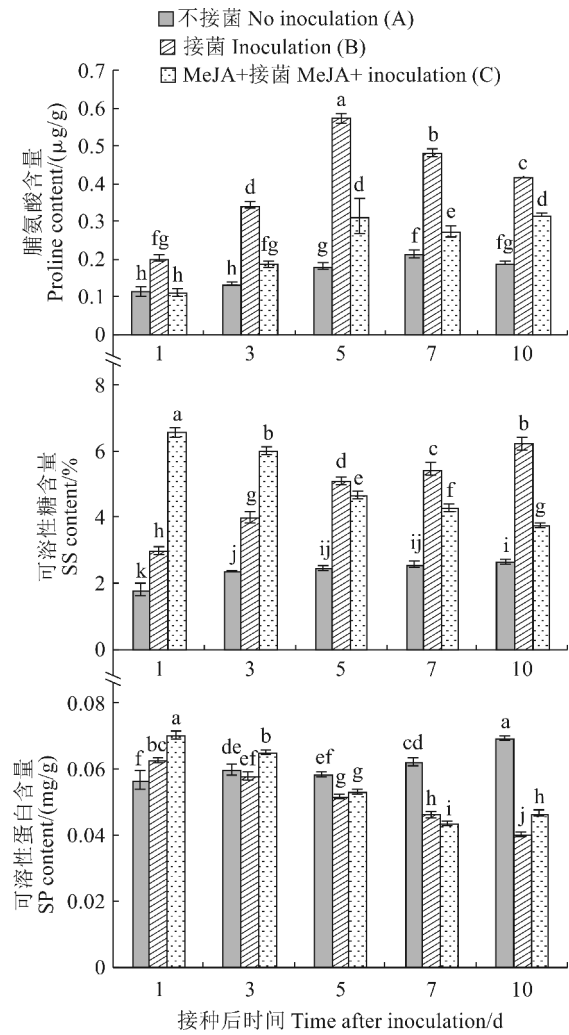


图2 MeJA处理下大麦叶片渗透调节物质含量
Fig.2 Osmotic regulator contents in barley leaves under different MeJA treatments

以上结果说明接种大麦叶斑病菌能够诱导大麦叶片的脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白的积累,喷施外源茉莉酸甲酯能在接种叶斑病菌初期诱导大麦迅速积累可溶性糖和可溶性蛋白,提升大麦幼苗的渗透调节物质含量,在接种初期增强大麦的抗病能力。

2.4 MeJA对大麦叶片 CHT 和 β -1,3-GA 活性的影响

大麦叶片几丁质酶(CHT)和 β -1,3 葡聚糖酶(β -1,3-GA)活性在 A 处理中均呈缓慢上升趋势, CHT 活性在第 3—10 天均比第 1 天显著增加,而 β -1,3-GA 活性则无显著变化;2 种酶活性在 C 处理下第 1 天时达到最大值,整体呈现下降趋势,在 B 处理下整体呈现上升趋势,且处理期间大多存在显著差异。在相同处理时间下,2 种酶活性在第 1—3 天表现为 C>B>A,在第 5—10 天则为 B>C>A,且各处理间大多存在显著差异,其中在第 5—10 天时 B 处理 CHT 和 β -1,3-GA 活性分别是 A 处理的 1.74~2.63 倍和 2.45~2.98 倍。以上结果说明外源 MeJA 可在短时间内被大麦植株吸收,并在喷施后迅速通过促进大麦 CHT 和 β -1,3-GA 活性升高增强大麦对叶斑病的抗性。

2.5 MeJA对大麦 JA 相关基因相对表达量的影响

各 MeJA 处理大麦叶片中 6 个 JA 相关基因相对表达量在 A 处理过程中均无显著变化(图 4)。HORVU5Hr1G060730(JAZ)的表达量在 B 处理第 1—10 天呈现先下降后上升的趋势,而在 C 处理下逐渐降低,且大多变化显著;在处理第 3—10 天,B 和 C 处理表达量均较 A 处理显著降低,C 处理又低于同期 B 处理,且在第 3 天和第 10 天差异显著。

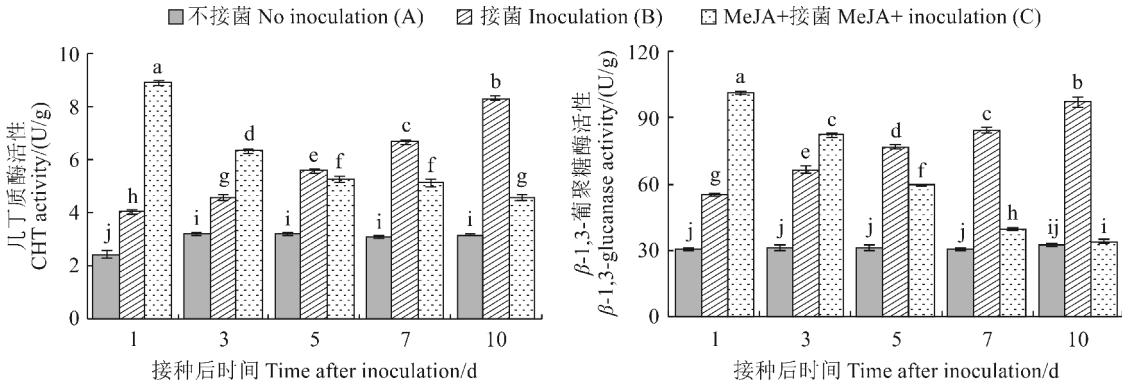


图3 MeJA处理下大麦叶片几丁质酶和 β -1,3 葡聚糖酶活性
Fig.3 CHT and β -1,3-glucanase activities in barley leaves under different MeJA treatments

HORVU5Hr1G065420 (WRKY)、HORVU4-Hr1G017430 (NAC)、HORVU5Hr1G045650 (NAC) 相对表达量在 B 和 C 处理第 1—10 天均呈现逐渐

上升趋势;在相同时间下,各基因表达量均表现为 C>B>A 处理,且除第 1 天外处理间差异均达到显著水平,C 处理在第 10 天时分别较 B 处理显著提高

38.28%、37.53%、36.65%。*HORVU0Hr1G016050* (*CHT*)和 *HORVU5Hr1G074980* (*POD*) 基因表达量在 B 和 C 处理下均随处理时间延长呈现先升后降的变化趋势,并分别在第 3 天和第 5 天达到最大值,且处理期间变化显著;在相同处理时间下,基因表达量均表现为 C>B>A 处理,且处理间差异均达到显著水平,C 处理 *CHT* 相应基因的表达量在第 3

天时比 B 处理显著增加 15.25%,其 *POD* 相应基因表达量在第 5 天时较 B 处理显著提高 12.17%,*CHT* 和 *POD* 活性变化与相关基因变化趋势一致。这表明外源 MeJA 可以调控叶斑病菌侵染下大麦幼苗叶片编码 *NAC*、*WRKY*、*CHT* 和 *POD* 基因表达上调,编码 *JAZ* 基因表达下调,提高 *CHT* 和 *POD* 活性,增强大麦幼苗叶片对叶斑病的抗性。

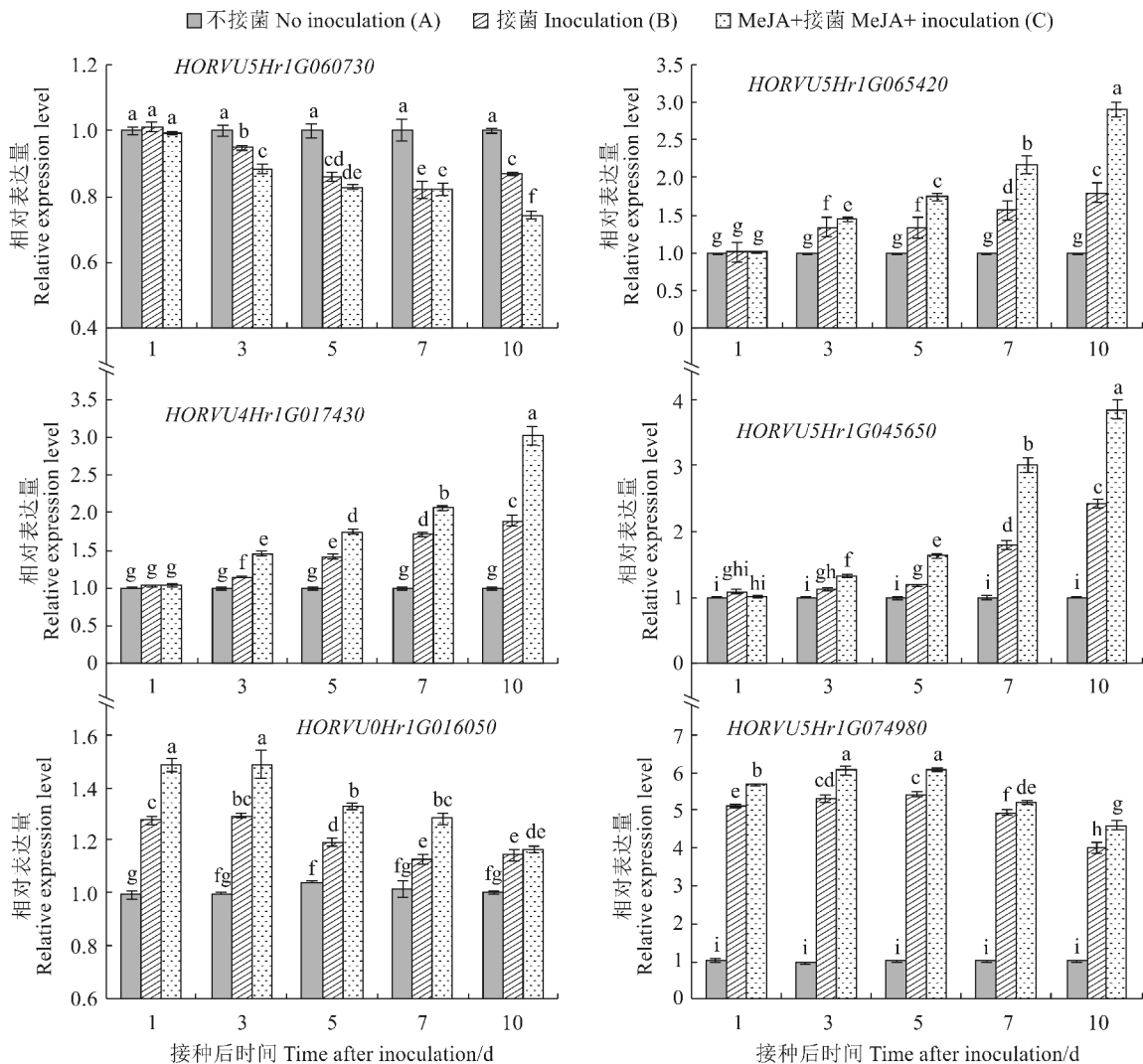


图 4 外源 MeJA 处理下大麦叶片 JA 相关基因表达量

Fig. 4 Expression levels of genes related to jasmonic acid in barley leaves with different MeJA treatments

3 讨论

MeJA 作为内源信号分子具有提高植物抵御病原菌侵入和抵抗逆境胁迫的能力。蔚慧欣等^[15]报道外施 2.0 mmol/L MeJA 对小麦的条锈病诱导抗性最强,王雅等^[26]探讨了喷施不同浓度 MeJA 对大白菜根肿病诱导抗性,刘海颖等^[27]发现 10 mmol/L 外源水杨酸可将大麦条纹病发病率及病情指数降到

最低。本研究通过对病情指数和诱抗效果测定,发现外源 MeJA 对大麦叶斑病的最佳防治浓度为 1.5 mmol/L,并在筛选的过程中发现 MeJA 在诱导大麦抗病中存在与上述研究结果类似的浓度效应,过高或过低 MeJA 浓度均不利于提高大麦的抗病性。

MeJA 与植物抗逆性密切相关,植物受到外界胁迫后,体内抗氧化系统遭到破坏,生长发育受阻。外源 MeJA 处理可以提高植物体内相关抗氧化酶活

性,诱导渗透调节物质的积累,降低 MDA 含量,提高植物抵御不良生长环境的能力^[20,28-29]。首先,本研究发现,在叶斑病菌侵染后,大麦叶片 SOD、POD、CAT 活性较不接种处理平均增幅分别达 31.94%、32.36%、21.20%,即大麦自身对致病菌的侵染存在一定抗性;与接种处理相比,外源 MeJA 诱导后的大麦叶片 SOD、POD、CAT 等抗氧化酶活性平均增幅分别达 94.31%、70.42%、99.94%,其叶片 CHT、 β -1,3-GA 活性在处理第 1—3 天平均增幅分别达 79.52%、53.76%,这与外源 MeJA 增强小麦^[9]、草莓^[30]、圣女果^[31]中酶活性的效果相似。外源 MeJA 能诱导植物启动自身防御系统,降低体内活性氧含量,有效减少大麦细胞的氧化损伤,同时通过调控 CHT 和 β -1,3-GA 活性,促进水解真菌细胞壁,抑制真菌生长,从而限制病原菌侵染及扩散。其次,本研究中外源 MeJA 处理下大麦植株叶片 MDA、可溶性糖和可溶性蛋白含量随处理时间延长均呈现下降趋势,在单独接菌处理下表现出上升趋势,而叶片中脯氨酸含量在 2 个处理中均呈现先上升后下降趋势,但 MeJA 处理含量显著低于接菌处理,说明叶斑病诱导的渗透调节作用主要通过脯氨酸的积累来实现,这与黄志磊等^[22]研究结果不同,可能由于外源激素-寄主-病原菌之间的互作关系复杂,对渗透调节物质的诱导作用不同所致。另外,本研究中叶片 MDA 含量下降说明外源 MeJA 能诱导大麦修复膜脂损伤,减轻发病程度。叶片脯氨酸及其他渗透物质含量在第 5 天后降低也说明渗透调节程度降低,植株在后期遭受真菌侵染程度降低,证明 MeJA 能有效诱导大麦自身抗病性。

目前关于 MeJA 调控植物抗病性的研究已有一些报道^[31],但对于 MeJA 诱导抗病基因表达方面还没有深入的研究。本研究中检测了编码抗病相关酶及 JA 关键转录因子 JAZ、WRKY 和 NAC 的相关基因表达的变化。CHT 能够水解菌丝生长初期细胞壁中的几丁质,对真菌具有广谱抗性,受到病原菌侵害时,植物体内含量极低甚至不表达的几丁质酶活性迅速提高^[32]。高梦烛等^[33]研究发现油菜素内脂(BR)处理的水稻叶片中几丁质酶活性提高,过表达株系抗病能力增强,说明 BR 通过激活几丁质酶信号系统,加速真菌细胞壁的水解,提高水稻抗病能力。POD 等抗氧化酶能有效清除过量累积的活性氧,减轻逆境对植物细胞的伤害。白如意等^[34]研究表明适宜浓度褪黑素可以提高南瓜叶片抗氧化酶活

性,增强南瓜幼苗耐低温性能。干旱胁迫下喷施 5-ALA 后,玉米 POD 活性及其基因相对表达量增加,从而提高玉米幼苗对干旱胁迫的抗性^[35]。本研究的外源 MeJA 处理中大麦叶片 CHT 和 POD 活性随处理时间延长整体呈现逐渐降低的趋势,编码 CHT 和 POD 相关基因表达量变化趋势与酶活性变化基本一致,这与前人研究^[34-35]相符,表明 MeJA 能通过激活抗病相关酶活性来提高对叶斑病的抗性。

Duan 等^[36]在小麦茎基腐病研究中发现 JAZ 类基因下调表达解除对茉莉酸信号通路的抑制,提高下游抗病基因的表达水平。Jiang 等^[19]研究表明 WRKY57 与 WRKY33 竞争性地调控关键抑制子 JAZ1 和 JAZ5 的表达,削弱了 WRKY33 对灰霉菌(*Botrytis cinerea*)的抵抗能力。本试验研究表明 JAZ 类基因表达量在 MeJA 诱导后较单独接菌处理显著降低,WRKY 类基因在 MeJA 诱导后表达量较单独接菌处理显著升高,这一结果与 Jiang 等^[19]和 Duan 等^[36]的研究结果相吻合。NAC 转录因子受到 MeJA 的调控并参与植物受到病原菌侵染后引发的抗病反应。陈琪等^[37]研究发现柑橘果实上瞬时过表达 CsNAC2 能够有效减轻果实绿霉病的发病,发病率和病斑直径都显著降低。Shan 等^[38]发现香蕉感染炭疽病菌后,体内 MaNAC1、MaNAC2 和 MaNAC5 基因的表达都显著上调,3 个转录因子都能够激发病程相关蛋白表达,从而提高香蕉对炭疽病的抗性。本研究发现 NAC 类基因在 MeJA 诱导后表达量较单独接菌处理显著升高,与陈琪等^[37]和 Shan 等^[38]的研究结果一致。以上结果表明外源 MeJA 诱导 NAC、WRKY 类基因表达上调,WRKY 基因抑制 JAZ 基因的表达,提高下游抗病基因的表达,从而提高大麦叶斑病的抗病性。

4 结 论

喷施 MeJA 能在一定程度上缓解大麦植株叶斑病发病程度,增强大麦对叶斑病的抗性,其中 1.5 mmol/L MeJA 的效果最为显著;1.5 mmol/L MeJA 能显著诱导提高大麦叶片 SOD、POD、CAT、CHT 和 β -1,3-GA 等酶活性以及叶片脯氨酸含量,降低 MDA、可溶性糖和可溶性蛋白含量;另外,1.5 mmol/L MeJA 处理能诱导编码 CHT 和 POD 的基因上调,JAZ 基因表达下调,NAC、WRKY 基因表达上调,从而降低了大麦叶斑病的发病程度。

参考文献:

[1] 孙逸凡, 黄志磊, 李葆春, 等. 大麦种质资源抗叶斑病评价[J]. 中国农业科技导报, 2022, 24(11): 43-54.
SUN Y F, HUANG Z L, LI B C, *et al.* Evaluation on resistance of barley germplasm resources to leaf spot disease[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2022, 24(11): 43-54.

[2] 曲洁琼, 张毅, 杨庆丽, 等. 大麦种质抗叶斑病鉴定和全基因组关联分析[J]. 农业生物技术学报, 2022, 30(12): 2267-2278.
QU J Q, ZHANG Y, YANG Q L, *et al.* Identification of barley germplasm resistance to leaf spot and genome-wide association study[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2022, 30(12): 2267-2278.

[3] 郭焕强. 大麦叶斑病菌鉴别品种体系组建及其毒性分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.

[4] 郭焕强, 王文峰, 姚全杰, 等. 大麦主栽品种亲缘系数和对叶斑病的抗性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(4): 586-598.
GUO H Q, WANG W F, YAO Q J, *et al.* Analysis on coefficient of parentage of major barley varieties and their spot blotch resistance[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17(4): 586-598.

[5] 苟金玉, 孙丹, 尚佳薇, 等. 大麦抗蠕孢叶斑病遗传资源鉴定及主要抗病类型分析[J]. 植物病理学报, 2024, 54(1): 137-146.
GOU J Y, SUN D, SHANG J W, *et al.* Identification of resistant barley genetic resources to *Bipolaris sorokiniana* and analyses on main resistance types[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2024, 54(1): 137-146.

[6] 庞云星, 陈琳, 郭焕强, 等. 61份大麦种质资源对蠕孢菌叶斑病的抗性鉴定[J]. 植物病理学报, 2020, 50(5): 602-609.
PANG Y X, CHEN L, GUO H Q, *et al.* Evaluation of resistance in 61 barley germplasm accessions to spot blotch caused by *Bipolaris sorokiniana*[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2020, 50(5): 602-609.

[7] 张钰, 陈慧, 王改萍. 外源 ABA 对楸树幼苗 NaCl 胁迫的缓解效应及其生长生理响应特征[J]. 西北植物学报, 2023, 43(6): 996-1005.
ZHANG Y, CHEN H, WANG G P. Alleviating effects of exogenous ABA on *Catalpa bungei* seedlings under NaCl stress and growth physiological response characteristics[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(6): 996-1005.

[8] 孙嘉茂, 崔全石, 王语晴, 等. 苹果采前喷施 EBR 与 MeJA 对采后品质的影响[J]. 园艺学报, 2022, 49(10): 2236-2248.
SUN J M, CUI Q S, WANG Y Q, *et al.* Effects of EBR and MeJA spraying on postharvest quality of apple[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2022, 49(10): 2236-2248.

[9] 冯文静, 高巍, 孙苗苗, 等. 茉莉酸甲酯对小麦幼苗生长及镉积累的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(5): 933-942.
FENG W J, GAO W, SUN M M, *et al.* Effects of methyl jasmonate on the growth and cadmium accumulation of wheat seedlings[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(5): 933-942.

[10] 吴帆, 肖刘华, 赵显阳, 等. 外源茉莉酸甲酯处理对梨果实青霉病和贮藏品质的影响[J]. 江西农业大学学报, 2021, 43(6): 1250-1258.
WU F, XIAO L H, ZHAO X Y, *et al.* Effects of exogenous methyl jasmonate treatment on blue mold and storage quality of pear fruit[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2021, 43(6): 1250-1258.

[11] LIECHTI R, FARMER E E. The jasmonate pathway[J]. *Science*, 2002, 296(5573): 1649-1650.

[12] 薄晓培, 王梦馨, 崔林, 等. 茶树 3 类渗透调节物质与冬春低温相关性及其品种间的差异评价[J]. 中国农业科学, 2016, 49(19): 3807-3817.
BO X P, WANG M X, CUI L, *et al.* Evaluation on correlations of three kinds of osmoregulation substances in tea fresh leaves with low temperature during winter and spring respectively and their difference among cultivars[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(19): 3807-3817.

[13] 杨庆丽, 张毅, 祁天涛, 等. 大麦叶斑病菌侵染过程及几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性变化的研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2023, 58(1): 122-129.
YANG Q L, ZHANG Y, QI T T, *et al.* Study on infection process of *Bipolaris sorokiniana* on barley leaf and the resulting changes of chitinase and β -1,3-glucanase activities[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2023, 58(1): 122-129.

[14] 樊婕, 张雪莹, 孙宪芝, 等. 茉莉酸甲酯对菊花抗蚜性的影响[J]. 应用生态学报, 2020, 31(12): 4197-4205.
FAN J, ZHANG X Y, SUN X Z, *et al.* Effect of methyl jasmonate on aphid resistance of chrysanthemum[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(12): 4197-4205.

[15] 蔚慧欣, 高利, 刘太国, 等. 外源茉莉酸甲酯诱导小麦抗条锈病的研究[J]. 植物病理学报, 2016, 46(2): 190-197.
YU H X, GAO L, LIU T G, *et al.* Preliminary study on resistance of wheat to stripe rust induced by methyl jasmonate[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2016, 46(2): 190-197.

[16] 王俊斌, 王海凤, 崔新仪, 等. 茉莉酸甲酯对烟草抵御棉铃虫的诱导作用[J]. 中国农学通报, 2010, 26(17): 277-280.
WANG J B, WANG H F, CUI X Y, *et al.* Inducement of methyl jasmonate on resistance of tobacco to cotton bollworms[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(17): 277-280.

[17] 周大祥, 熊书. 外源茉莉酸甲酯诱导‘竹根姜’对青枯菌的抗性[J]. 西北植物学报, 2015, 35(7): 1415-1420.
ZHOU D X, XIONG S. Resistance of ‘Zhugenjiang’ ginger to *Ralstonia solanacearum* induced by exogenous MeJA[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2015, 35(7): 1415-1420.

[18] 王芳, 周娟, 黄兴华, 等. 外源 MeJA 对盐胁迫下玉米幼苗生长及抗氧化酶基因表达的影响[J]. 玉米科学, 2022, 30(2): 75-81.
WANG F, ZHOU J, HUANG X H. Effects of exogenous MeJA on growth and antioxidant enzyme gene expression of maize seedlings under salt stress[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2022, 30(2): 75-81.

[19] JIANG Y, YU D. The WRKY57 transcription factor affects

the expression of jasmonate ZIM-domain genes transcriptionally to compromise *Botrytis cinerea* resistance[J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(4): 2771-2782.

[20] PING D, MEILING Z, AIGUO W, *et al.* Exogenous methyl jasmonate enhanced the antioxidant capacity of *Malus baccata* by stimulating jasmonate signalling under suboptimal low root-zone temperature [J]. *Scientia Horticulturae*, 2023, 321.

[21] DELESSERT C, KAZAN K, WILSON I W, *et al.* The transcription factor ATAF2 represses the expression of pathogenesis-related genes in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2005, 43(5): 745-757.

[22] 黄志磊, 李葆春, 汪军成, 等. 不同抗性大麦品种对叶斑病的生理响应及主成分分析[J]. 麦类作物学报, 2019, 39(5): 605-612.

HUANG Z L, LI B C, WANG J C, *et al.* Physiological response and its principal component analysis of two barley varieties with different resistances to *Bipolaris sorokiniana* [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2019, 39(5): 605-612.

[23] FETCH T G, STEFFENSON B J. Identification of *Cochliobolus sativus* isolates expressing differential virulence on two-row barley genotypes from North Dakota[J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1994, 16(3): 202-206.

[24] 王三根. 植物生理生化[M]. 北京: 中国林业出版社, 2013.

[25] 曹建康. 果蔬采后生理生化实验指导 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007.

[26] 王雅, 肖晨, 董军, 等. 外源 MeJA 对大白菜根肿病的诱导作用及机制初探[J]. 北方园艺, 2022(3): 1-8.

WANG Y, XIAO C, DONG J, *et al.* Preliminary study on the mechanism and induction effects of exogenous MeJA on Chinese cabbage under the stress of clubroot [J]. *Northern Horticulture*, 2022(3): 1-8.

[27] 刘海颖, 司二静, 郭铭, 等. 外源水杨酸诱导大麦对条纹病的抗性研究[J]. 植物病理学报, 2022, 52(4): 658-668.

LIU H Y, SI E J, GUO M, *et al.* Resistance of barley to *Pyrenophora graminea* induced by exogenous salicylic acid [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2022, 52(4): 658-668.

[28] 李巧峡, 潘朝朝, 黄小霞, 等. 外源 MeJA 对紫花地丁生长及其生理生化的影响[J]. 草业科学, 2021, 38(6): 1078-1086.

LI Q X, PAN C C, HUANG X X, *et al.* Effects of exogenous MeJA on growth, physiology and biochemistry of *Viola yedoensis* [J]. *Pratacultural Science*, 2021, 38(6): 1078-1086.

[29] 陈运梁, 邹竹荣, 杨双龙, 等. 外源茉莉酸甲酯对盐胁迫下小桐子幼苗渗透调节和脯氨酸代谢的影响[J]. 西北植物学报, 2023, 43(5): 794-804.

CHEN Y L, ZOU Z R, YANG S L, *et al.* Effect of exogenous methyl jasmonate on osmotic adjustment capacity and proline metabolism of *Jatropha curcas* seedlings under salt stress [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(5): 794-804.

[30] 张福生, 何成芳, 朱鸿杰, 等. 外源茉莉酸甲酯对草莓采后冷藏期间品质和抗氧化能力的影响[J]. 农产品加工, 2015(7): 1-4.

ZHANG F S, HE C F, ZHU H J, *et al.* Effects of exogenous methyl jasmonate on postharvest decay and antioxidant capacity of strawberries during cold period [J]. *Farm Products Processing*, 2015(7): 1-4.

[31] 罗吉庆, 张永杰, 吴艾频, 等. 外源茉莉酸甲酯和异亮氨酸对灰霉菌侵染后圣女果抗病性酶酶活的影响[J]. 食品科学技术学报, 2021, 39(4): 123-130.

LUO J Q, ZHANG Y J, WU A P, *et al.* Effects of exogenous methyl jasmonate and isoleucine on resistance related enzyme activity of cherry tomatoes after *Botrytis cinerea* infection [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2021, 39(4): 123-130.

[32] 陈冬阳, 杨明明, 高翔, 等. 普通小麦几丁质酶基因的克隆与表达分析[J]. 麦类作物学报, 2016, 36(5): 539-548.

CHEN D Y, YANG M M, GAO X, *et al.* Cloning and expression analysis of chitinase genes in common wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2016, 36(5): 539-548.

[33] 高梦烛, 耿同茹, 高静, 等. 油菜素内酯调控蛋白 OsCHRLK 在水稻抗真菌过程中的功能[J]. 河北农业大学学报, 2016, 39(2): 53-69.

GAO M Z, GENG T R, GAO J, *et al.* The role of BR regulated protein OsCHRLK to the fungus resistance in rice (*Oryza sativa*) [J]. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 2016, 39(2): 53-69.

[34] 白如意, 宋希梅, 沈健, 等. 叶面喷施褪黑素对低温胁迫下南瓜幼苗生长和生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2023, 43(5): 805-813.

BAI R Y, SONG X M, SHEN J, *et al.* Effect of foliar spraying melatonin on growth and physiological characteristics of pumpkin seedlings under cold stress [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(5): 805-813.

[35] 王鹏, 杨奥军, 冯志进, 等. 外源 5-ALA 对干旱胁迫下玉米幼苗生长的缓解效应及抗氧化酶基因表达的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2022, 40(4): 1-9.

WANG P, YANG A J, FENG Z J, *et al.* Effects of exogenous 5-ALA on growth of maize seedlings and expression of antioxidant enzyme genes under drought stress [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2022, 40(4): 1-9.

[36] DUAN S, JIN J, GAO Y, *et al.* Integrated transcriptome and metabolite profiling highlights the role of benzoxazinoids in wheat resistance against *Fusarium* crown rot [J]. *The Crop Journal*, 2022, 10(2): 407-417.

[37] 陈琪, 李婷, 陈佳琳, 等. 柑橘 CsNAC2 在果实绿霉病抗病性中的功能和机制研究[J]. 园艺学报, 2023, 50(12): 2701-2712.

CHEN Q, LI T, CHEN J L, *et al.* Studies on function and mechanism of CsNAC2 transcription factor in resistance to green mold in citrus [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2023, 50(12): 2701-2712.

[38] SHAN W, CHEN J Y, KUANG J F, *et al.* Banana fruit NAC transcription factor MaNAC5 cooperates with MaWRKYs to enhance the expression of pathogenesis-related genes against *Colletotrichum musae* [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2016, 17(3): 330-338.