

ADVANCES ON PLANT PATHOTOXINS

植物病原菌毒素研究进展

第一卷 VOLUME 1

董金皋 李树正 主编



中国科学技术出版社

4-53
2

ADVANCES ON PLANT PATHOTOXINS

植物病原菌毒素研究进展

第一卷 VOLUME 1

董金皋 李树正 主编

中国科学技术出版社

• 北京 •

图书在版编目 (CIP) 数据

植物病原菌毒素研究进展 第1卷/董金皋, 李树正主编. -北京: 中国科学技术出版社, 1997. 8

ISBN 7-5046-2221-4

I. 植… II. ①董… ②李… III. 植物-病原细菌-毒素-研究-文集 IV. S432.4-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (97) 第 17411 号

中国科学技术出版社出版

北京海淀区白石桥路 32 号 邮政编码: 100081

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

北京印刷学院实习工厂印刷

*

开本: 787×1092 毫米 1/16 印张: 16.125 字数: 375 千字

1997 年 8 月第 1 版 1997 年 8 月第 1 次印刷

印数: 1—500 册 定价: 55.00 元

序

寄生性植物病害中寄主植物和病原物的相互关系一直是植物病理学的核心领域。随着现代生物学的进展,寄主和病原物相互作用的生理生化研究也逐步深入,并形成更为专门的研究领域,其中在致病过程中病原物所产生的各种酶、毒素、激素等已引起人们的极大关注。毒素作为病原物产生的小分子化合物,国际上对其化学结构、致病机理以至分子生物学等进行了多方面的研究和探索。我国虽然起步较晚,但从 70 年代起就有河北农业大学、南京农业大学、沈阳农业大学以及一些其他科研教学单位对玉米大小斑病菌、棉花黄萎病菌和小麦根腐病菌等毒素开展了研究,取得了不少进展。进入 90 年代以后,曾组织了三次全国性会议。并于 1995 年成立了中国植物病理学会植物病原毒素学科组,迈入了一个新的时期。这次由董金皋和李树正等先生主编,汇集了全国近三十个单位,七十余位作者所完成的《植物病原菌毒素研究进展》第一卷就是一个例证。

我个人没有做过这方面的研究,只有些一般的知识。但作为一个植物病理学工作者,衷心祝愿本书的出版,能促进我国植物病原毒素的深入研究,丰富植物病理学科的内容,为病害防治提供新的探索途径。希望在积极参与国际交流与合作中,展示中国学者的新的探索和进展。

中国植物病理学会理事长 刘 仪
中国农业大学教授

1997 年 7 月 1 日

前 言

我国第一部植物病原菌毒素的专著——《植物病原菌毒素研究进展》(第一卷)的问世,标志着我国毒素的研究发展到一个新的阶段,它系统地总结了我国毒素工作的成果和国际上的研究动态。本书是由河北农业大学董金皋先生和南开大学李树正先生主编,并组织我国毒素工作者撰写了这一著作。

撰写本书的作者大都长期从事植物病理学、植物病理生理学、植物化学、农药学、微生物学等学科的教学和研究工作,尤其从事毒素研究多年,对寄主专化性毒素(HSTs)和非寄主专化性毒素(NHSTs)进行长期而有特色的探索,并有所发现与创新。

撰写本书的意图是,着重系统地介绍国内外有关毒素研究的近期成果,反映我国20余年来毒素研究的成果及发展趋向,总结我国毒素研究的新内容、新技术和毒素的应用经验,为完善菌物学中的一个分支学科菌毒学(Mycotoxicology)的新理论、新观点提供系统的理论基础。本书可供广大毒素工作者及其有关领域的教学和研究人员、研究生、大学生们以及生产、检疫部门的毒素检测人员参考。基于这一考虑,全国植物病原菌毒素学科组在中国植物病理学会的支持下,自1991年起先后在南京农业大学、上海农业科学院、沈阳农业大学举办了三次并将近期由河北农业大学主持举办第四次全国毒素学术研讨会并举办了一次毒素检测技术培训班,本书也可说是这项研讨的延续。在生物技术飞跃发展的时代,从浩瀚的文献中,要了解以往对植物病原菌毒素的研究精粹及今后发展趋向确非易事,作者愿为此尽最大努力,希望本书能满足读者在这一方面的需求。

在此,我们必须认识到一个新学科的形成并非一朝一日之事,它是经过很早或很多学者的努力而逐步被人们识别与重视的。早在1866年Anto de Bary就认为植物病原物产生毒素和分泌毒素使植物发病,但遭到不少人的反驳,加之实验手段没有证实这一观点,直至1933年田中发现第一个寄主专化性毒素——梨黑斑病菌毒素之后,同样没有在植病界得到公认,然而当1946~1948年北美的燕麦遭到HV-toxin的侵袭引起毁灭性的疫病之后,才使植病界普遍重视,接着50~70年代发现了HC-toxin、HS-toxin和AK-toxin、AF-toxin等等,同时国际上还不断发现了NHSTs,例如棉花黄萎病菌毒素和小麦赤霉病菌毒素等。进入80年代,我国植病工作者在稻、麦、棉、玉米、蔬菜、果树上也发现了它们的主要致病菌毒素,并且对其毒力及致病机理、分析方法和毒素的利用等方面都先后作了报道,并在国际同行中占有一定的地位。从本书的内容可以阐明我国毒素的研究有其独特的研究方向,即从我国农业生产最严重的病害着手研究病菌毒素,从我国生产实际出发研究毒素的制备、毒素的作用机理以及毒素的抑制方法等取得了可喜的成果,从本书介绍的水稻稻瘟病菌、小麦赤霉病菌、棉花黄萎病菌、玉米大小斑和茎基腐病菌、禾谷全蚀病菌毒素的研究,都是我国“七五”和“八五”攻关的重大项目,这些病菌毒素的研究成果都已经处在国际先进行列,这些病害的病菌毒素占本书的篇幅也最大。

植物病原菌毒素的合成途径、对寄主植物的致萎或致病机理都是受病菌的产毒基因所支配,产毒基因的表达又与寄主植物的抗病基因所匹配,这一基因支配着是否接受毒素还是拒受毒素,这种基因对基因学说是长期以来形成的遗传学基础。寄主植物受到毒素的干扰最后导致发病,其程度取决于病原菌与寄主间的亲和程度,本书介绍的毒素对于寄主植物的致病或致毒作用,充分说明了病菌毒素与寄主之间的亲和关系,虽然有不少是NHSTs,但由于它的作用是依赖与寄主间的亲和性所控制,从而导致发病,造成减产。

我国近来研究毒素的重心已从毒素的分离、提取、生物活性测定发展为毒素的结构确定、毒素作用机理的研究,以期向毒素合成基因,调控毒素基因的表达和毒素受体的确定等分子生物学的纵深发展,以缩短与国际间的差距。本书的出版最能显示这种转变的标志,如董金泉等发表的玉米大小斑病菌毒素;陈捷等发表的玉米基腐病菌毒素以及李树正等发表的番茄早疫病菌毒素——茄交链孢酸的结构及其功能等内容充分阐明了这一点。

本书内容的特点:①不仅包含了我国重要农作物的重要病害的病菌毒素,而且也发表了国内外尚未报道的苹果腐烂病菌和禾谷全蚀病菌毒素;②内容新颖,层次清晰。既包括了毒素的新理论、致病机理、生物测定技术、毒素与杀菌剂的关系等专题评论,同时,也综合了稻、麦、棉、玉米等主要病害致病菌毒素研究现状,国外研究动态,更具体发表了近年来我国毒素的研究论文;③内容贯穿了病菌毒素对于寄主植物是一种致病或致毒因子,但它告示人们毒素可被调控,可用生物或非生物方法调控毒素的致病性和毒力的强弱,导致毒素处于病程中的劣势地位,从而达到防病治病的可能性,例如在本书中由南京农业大学报道的利用棉黄萎病菌激发子来降低病菌毒素的致萎力和南开大学元素所报道的交链孢酸解毒剂的研究等都说明了毒素的作用是可被人们调控的。④毒素不仅是寄主植物的致病或致毒因子,而且有一些毒素对人、畜是一种生命和健康的威胁剂,中国农业大学张国珍专门撰写了这一内容,也可为卫生医药界的研究人员作参考。

本书的第一部分是“专题评论”,主要由章元寿(南京农业大学)、董金泉(河北农业大学)、陈捷(沈阳农业大学)、李树正(南开大学)和张国珍(中国农业大学)等撰写,各自从各个不同的方面叙述毒素研究动态和新的观点;第二部分是“研究动态”,主要由黄梧芳(河北农业大学)、杨家书(沈阳农业大学)、吕金殿(陕西农科院)、张君成(广西农业大学)和刘胜毅(中国农科院)等撰写,综述了稻、麦、棉、玉米等主要农作物重要病害病菌毒素的研究现状和发展趋向;第三部分是“研究论文”,主要由刘思衡(福建农业大学)、吴新兰(吉林农科院)、姚建民(沈阳农业大学)、夏正俊(江苏农科院)、朱虹(中国军事医科院)、周长河(华中农业大学)、严红(北京市农科院)和闫芝芬(河北农科院)等撰写的小麦赤霉菌、棉花黄萎菌、玉米大小斑病菌、玉米茎腐病菌、禾谷全蚀病菌、苹果腐烂病菌和斑点落叶病菌、柑桔寄生疫霉病菌、番茄早疫病菌、核盘菌等病菌毒素的研究以及由李树正等报道的毒素交链孢酸的分离纯化、结构、抗菌活性和解毒剂的筛选研究等都充分说明我国的毒素研究已经进入了一个新的阶段。

本书全部内容由南京农业大学章元寿教授(中国植物病理学会病原菌毒素学科组主任)、河北农业大学黄梧芳教授(中国植物病理学会常务理事、河北省植物病理学会名誉理事长)统稿并撰写前言。本书的出版得到中国科学技术出版社、中国植物病理学会和河北省植物病理学会的大力支持,中国植物病理学会理事长、中国农业大学刘仪教授不弃草昧并抽出宝贵时间为本书作序,在此一并谨表衷心的感谢。

由于植物病原菌毒素的研究、应用与技术的进展迅速,作者们的学识有限和实践经验匮乏,加之时间仓促,书中所存有的疏漏不妥之处,恳请读者批评和指正。

《植物病原菌毒素研究进展》编委会
中国植物病理学会病原毒素学科组
1997年7月1日

目 录

第一部分 专题评述

关于植物病原真菌毒素研究中几个问题的商榷	章元寿(3)
寄主选择性真菌毒素与植物病害特异性	董金皋(8)
植物病原菌毒素与杀菌剂开发	李树正(16)
植物病原菌毒素的致病机理	陈 捷(32)
植物病原真菌毒素对人、畜的毒性	张国珍 冯文利(51)
植物病原真菌毒素活性测定方法	董金皋 王江柱(61)

第二部分 研究动态

水稻稻瘟病菌毒素的研究现状	张君成(77)
小麦根腐病菌毒素的研究现状	杨家书 刘建华(87)
小麦赤霉病菌毒素的研究现状	邓福友 黄梧芳(93)
玉米叶斑病菌毒素的研究现状	董金皋 黄梧芳(102)
玉米茎基腐病菌毒素的研究现状	陈 捷(127)
玉米全蚀病菌毒素的研究现状	姚健民(135)
棉花枯黄萎病菌毒素的研究现状	吕金殿 赵小明(139)
苹果斑点落叶病菌毒素的研究现状	吴学仁 尹秀荣 白亚荣(153)
白菜黑斑病菌毒素的研究现状	樊慕贞 马振国 魏艳敏(158)
毒素草酸的致病作用与防治策略	刘胜毅 张建坤(164)

第三部分 研究论文

小麦赤霉菌粗毒素在测定小麦品种抗病性上的应用	刘思衡 廖海林 潘祥华(171)
玉米小斑病菌致病毒素与抗病突变体筛选	刘国胜 黄梧芳(176)

玉米穗腐病病原镰刀菌毒素的研究	吴新兰 胡吉成(183)
玉米大斑菌毒素产生及几种生物学特性与氮源的关系 ...	朱杰华 王江柱 刘庆锤等(187)
玉米茎腐病菌毒素对玉米幼苗胚根超微结构的影响	陈 捷 高洪敏 宋佐衡(190)
玉米黄斑病菌毒素研究	臧少先 赵来顺 杨军玉等(191)
禾谷全蚀菌毒素生物活性及应用的初步研究	姚健民 宋蒙娜(194)
棉花黄萎菌激发子抗 VD-毒素作用机理的初步探讨	袁红霞 章元寿 陈利锋(195)
毒素法苗期快速检测棉花品种抗黄萎病性研究	夏正俊 顾本康 吴蔼民(200)
苹果树腐烂病菌产毒条件及生物测定方法研究	王江柱 朱杰华 董金皋等(205)
苹果斑点落叶病菌毒素对苹果叶片 SOD 酶的影响	朱 虹 陆 敏 吴明勤等(210)
柑桔寄生疫霉毒素产生及生物测定	周长河 邓秀新(214)
交链孢酸的提纯与结构测定	李树正 岳东霞 刘 准等(218)
利用真菌毒素筛选抗旱疫病番茄材料的研究	严 红 李明远 蒋有绎等(222)
交链孢酸的抗菌活性及除草活性的研究	李树正 岳东霞 刘 准等(227)
交链孢酸解毒剂的研究	李树正 岳东霞 曾 强等(233)
稻瘟病菌致病毒素的活性测定及其影响条件	闫芝芬 张红心 崔四平等(239)
核盘菌自然弱毒株 EP-PN 草酸毒素产生的特性	李国庆 王道本 姜道宏等(245)

第一部分

专题评述

关于植物病原真菌毒素研究中几个问题的商榷

章元寿

南京农业大学植物保护系, 南京 210095

本世纪初, 当植物病理学还处于初期发展阶段时, 科学家们就开始注意到植物病原菌的另一个致病因子——毒素。在研究病原菌侵染植物及鉴别病原物在病程中的作用时, 人们发现毒素能产生所有或至少是多数的典型症状, 因而启发人们进一步去认识病原菌毒素的意义与作用地位。然而, 从 1946~1948 年北美的燕麦由于遭到维多利亚长蠕孢 (*Helminthosporium victoriae*) 的侵袭引起毁灭性的疫病以来, 揭示了毒素在引发病害中的决定性作用, 从而植病界对病原菌毒素的作用提出两种见解, 一种认为凡是病原菌都能产生致病毒素 (pathotoxins); 另一种认为毒素在病程中仅仅处于次要地位。从 80 年代起, 人们对于毒素的概念认识较为一致, 特别对于寄主专化性毒素 (host-specific toxins, HST) 有一个更为明确的定义: ①毒素是病原物的代谢产物, 但不属于酶类物质; ②毒素是对寄主植物组织有明显损伤作用的物质; ③毒素是在植物病害发生、发展过程中具有明显致病或致毒作用的物质; ④毒素是由孢子萌发产生的一类有致病作用的物质; ⑤毒素具有对病害的诱导作用, 即含有感染诱导因子 (susceptibility-inducing factor) 的作用。后两点是从 1988 年日、美两国部分学者于 HST 学术会议上专门对 HST 补充的定义。然而, 对非寄主专化性毒素 (non-host-specific toxins, NHST) 而言仅以前三点为明确的概念。目前所发表的论文以 NHST 为主体, 大约有 50 多种病原真菌都能产生 NHST, 有 20 种菌产生 HST。我国学者所发表的毒素论文绝大部分为 NHST, 研究的重点也在于农业生产上严重危害的真菌病害, 它们产生的毒素大部分为 NHST, 但其中也有的毒素中含有专化性组分, 例如河北农业大学董金皋等发表的玉米大斑病菌毒素中有专化性组分, 这种组分具有病菌小种与寄主品种间的专化性, 并初步明确了专化性组分的化学结构。

近些年来, 国内、外毒素研究工作者关于对水稻稻瘟病菌、小麦赤霉病菌、棉花黄萎病菌、玉米大小斑病菌和一些果树、蔬菜、瓜类上造成叶斑类型的炭疽病菌、褐斑病菌等毒素开展了深入的研究, 特别是分子生物学的研究促进了毒素研究的纵深发展。然而, 学术上出现的一些问题谨请同行们共同探讨。

I. 毒素名词的变迁

自 80 年代中叶以来, 正值我国研究真菌毒素的兴旺时期, 也是日、美及欧洲各国研究毒素 (HST) 的发展时期, 人们对真菌危害动物、人类后产生的毒素统称为真菌毒素 (mycotoxins), 这一名词一直应用至现在, 例如危害人类引发各种癌变的黄曲霉毒素 (aflatoxin) 和引发人和动物呕吐的赤霉病菌毒素 (DON) 等, 这类毒素人们称为 mycotoxin (真菌毒素), 但人们对真菌危害植物引发各种植物病害的真菌毒素却称为 pathotoxins (致病毒素), 有人甚至定这类毒素为 phytotoxins (植物毒素), 例如 1983 年美国 Callow, JA 和 1986 年美国 Goodman, RN 等以及日本西村都认为危害植物引发植物

发病的毒素应定为 pathotoxin 或 phytotoxin。到了 90 年代, 由于镰刀菌属的一些种如尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)、串珠镰刀菌 (*F. moniliforme*)、拟枝孢镰刀菌 (*F. sporotrichioides*) 和雪腐镰刀菌 (*F. nivale*) 等都能产生一些对人、畜有毒的 T-2 毒素、玉米赤霉烯酮等毒素, 但又对植物具有毒性, 正如英国伦敦大学 Strange, RN 认为的那样, 人们统称为这类真菌毒素为 mycotoxins。因此, 目前无论是对人、畜或对植物危害而产生毒素的名称均可称为 mycotoxins, 查阅文献索引均以 mycotoxins 的栏目去发现和收集真菌毒素的研究内容, 即关键词为“mycotoxins”, 并非是“pathotoxins”, 更没有“phytotoxins”出现。但要指出的是人们泛指毒素“toxins”, 则包括所有来自病原真菌、病原细菌等代谢产物的毒素。

II. 真菌毒素与菌毒学科的形成

真菌毒素 (mycotoxin) 是属于菌物界 (Mycetalia) 中真菌门 (Eumycota) 内某些真菌产生的代谢产物, 包括壶菌、接合菌、子囊菌、担子菌以及地衣、蘑菇等大型真菌产生的毒素, 不包括裸菌和卵菌毒素。这是一种新的分类系统, 我国在 1993 年成立中国菌物学会时明确提出这一新的分类系统, 因此, 研究菌物的科学称为菌物学 (Mycology)。以前将 Fungus (复数 Fungi) 译为“真菌”, 将 Mycology 译为“真菌学”, 正如裘维蕃先生所指出的那样, 这是翻译上的失误, 现在该是得到纠正的时候了。

危害人、畜健康直至可致死的黄曲霉毒素, 其毒性比起极毒的砒霜的毒性还要高 5 倍; 还有对人、畜健康具有破坏作用的镰刀菌毒素、青霉菌毒素等, 这类毒素与植物病原真菌毒素的合成机理相同, 都是一类病原真菌的次生代谢产物。然而, 关于另一类大型真菌毒蘑菇的毒性物质, 对于人、畜破坏与致死的能力也很强, 它们都是一类毒性多肽化合物, 如毒伞肽、毒蝇碱、蟾素色胺、花盖毒伞、马鞍酸等, 这类毒性物质就包含在蘑菇组织内, 并非是菌的次生代谢物, 这显然与一般真菌毒素的概念有其明显差别的, 它们的合成途径是有区别的。因此, 不符合真菌毒素的定义, 而是毒性物质, 但仍然是菌本身产生的物质, 是由毒蘑菇组织产生的毒性物质, 称之为“菌毒”, 包括毒素及毒性物质的内容, 所以人们拟将毒蘑菇的研究归入到真菌毒素的泛指范畴。

一个新学科的形成是在研究与发现同一种类型的新内容当中逐步形成和逐步成熟起来的, 特别是对人、畜有毒的真菌和毒蘑菇大型真菌不断的发现, 仅我国新发现有 20 余种毒蘑菇产生的毒素, 对人、畜有毒的五大类毒素即胃肠类型、精神型、溶血型、肝脏损害型和光过敏皮炎型等。从毒素的化学结构也可以分为 11 类, 还有的化学结构暂不明。再者, 对人、畜有毒的镰刀菌毒素、曲霉毒素和青霉毒素不断地新发现, 加之植物病原真菌毒素, 特别是非寄主专化性毒素种类的不断涌现和寄主专化性毒素的分子生物学研究进展等原因, 自然而然地形成了一个新学科, 即“菌毒学” (Mycotoxicology)。正如裘维蕃先生预言的那样, “菌毒学”是菌物学 (Mycology) 下的一个小分支学科, 它的形成是在植病学家特别是植病生理生化学工作者的努力研究中自然凝聚而成的。

III. 毒素的专化性与非专化性

业已证明 HST 对寄主是具有选择性或专化性的, 即菌的种或小种与寄主植物的种或栽

培品种之间的互作关系,换言之 HST 是由病原真菌产生的一类对其寄主植物种或栽培品种具有特异性生理活性和高度专化性作用位点的代谢物,这类毒素在很低浓度水平下就能引起寄主植物的特异性反应,即能反映寄主植物对产生毒素病原真菌的抗性或敏感性差异。所以 HST 被认为是植物的致病因子(pathogenicity factor)。

而 NHST 对寄主植物具有非选择性或非专化性,仅仅是一类对其寄主植物种或栽培品种具有一定生理活性和非专化性作用位点的代谢物。这类毒素在一定浓度下也能引起寄主植物的敏感性反应,这种反应也能区别植物抗病性程度上的差异,这类毒素在植物病程中仅仅加剧病情恶化和加重症状表现,所以仅具有病害的次生决定因子或称为毒力因子(virulence factor)。

实验证明有不少病原真菌虽然能产生 HST,但在合成的过程中同时也有 NHST 组分产生,例如日本名古屋大学报道的 AK-toxin,90 年代初又报道了除 AK-toxin 外,梨黑斑病菌还能产生细链格孢酮酸(tenuazonic acid)的 NHST 组分,明确指出在孢子萌芽过程中不会产生这种毒素,因此它不是一种 HST。

近些年来,有一些菌产生的 NHST 中,其中可以分离到 HST 组分,例如 1989 年英国 Buchner 等从 VD-toxin 中分离出 1KD 的专化性毒性肽,而且表明 2 号小种的大丽轮枝菌毒素对 Ve 基因的番茄品种有强致病性,1 号小种的毒素对 Ve 基因番茄不致病,说明小种与品种间的互作是专化性的。随之不久,日本佐藤等在研究稻瘟病菌的毒素中,发现从分生孢子萌发液中提取到一种可以诱发对水稻本来不致病的链格孢菌孢子萌发,并可使水稻叶片上形成大量形似稻瘟病菌的坏死斑,却在其他植物上不引起坏死,因而认为这种由稻瘟菌孢子萌发产生的毒素物质具有诱导感病性的能力,说明稻瘟病菌能产生专化性毒素的可能性。又有实验表明,在稻胡麻斑病菌产生的非寄主专化性毒素中的蛇孢腔菌素的 A 组分,在 $3\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度时可以诱导水稻对非病原菌(链格孢菌)的敏感性,说明 A 组分可能是该毒素的 HST 组分。近来,我国河北农业大学报道的玉米大斑病菌毒素中也具有 HST 组分,且该组分与玉米品种间具有专化性互作关系。以上这些实例说明在病原真菌的 HST 中包含有 NHST 组分,在 NHST 中也同样包含有 HST 组分。因此,当这类毒素被认为 HST 时,不能忽视其中杂有 NHST 的存在,在被认为 NHST 时,也不能忽略其中杂有 HST 组分的存在,所以,在研究毒性机理或致病机理时,必须看清这一点,或者必须分清、区分或提纯各自组分,若是 HST 组分,应按照 HST 一套作用途径进行实验,在研究与寄主植物间的互作时,就要考虑到植物受体的专一性还是非专一性,也要考虑到毒素是起致病作用或仅仅是致毒作用或仅仅被看成是一种外源物质对寄主植物的干扰。

IV. 毒素和真菌激发子、抑制子之间的关系

A. 定义及作用

毒素是真菌的次生代谢产物,而激发子和抑制子是真菌细胞壁的组成成分(Doke 等, 1991)。所谓激发子(elicitor)是指诱发寄主植物防卫反应的一些来源于生物或非生物物质的统称。在此,本文指的是能产生毒素的病原真菌的胞壁组分,其化学成分一般为糖蛋白,分子量约在 5000Da 以上(Vidhyaseharan, 1988)。所谓抑制子(suppressor)是指抑制激发子作用和阻碍植物保卫素合成与积累的功能物质,日本西村称它是毒素的一种,实

指其功能与毒素相同,但其来源不同,并非是次生代谢产物。例如由豌豆黑斑病菌(*M. pinodes*)感染豌豆之后,就因为该菌产生的F5因子阻碍了豌豆素的合成,导致寄主发病,起着与毒素一样的作用,使寄主严重发病。

B. 与受体间的识别作用

毒素、激发子、抑制子与植物受体间的识别作用机理是近年来人们研究的热点之一;HST与植物受体间的识别作用研究较早,1974年Strobel就报道了寄主细胞膜上有毒素结合蛋白受体(receptor),这种受体蛋白有4个相同的亚基,其分子量为48000,抗、感品种的亚基的氨基酸组成不同。之后,很长一段时间进展不快,原因是人们应用示踪原子标记毒素与植物受体相结合的状况时分不清有多少个结合点,甚至在细胞膜和细胞内各细胞器均有放射性标记点,不易说明受体位点的正确性,人们设法运用免疫抗体与免疫抗体和示踪原子相结合的方法来克服上述弊病(Pyoyum, 1991),不久,Otani等发现了AK-toxin在寄主植物梨细胞膜上的特异性SH-蛋白受体;Wolpart和Macko发现了HV-toxin在燕麦细胞膜上的毒素结合蛋白受体的分子量为 10×10^4 ,而抗病品种就没有这种特异性蛋白受体;Dewey等也发现了HMT-toxin作用在玉米线粒体膜上具有 13×10^3 的毒素结合多肽受体。但至今没有报道在NHST中HST的受体位点和受体蛋白,以上报道的都是HST的受体蛋白或受体多肽,这些受体说明都与毒素具有专化性或选择性的特点。

真菌细胞壁激发子的分离鉴定起始于1990年的Takeuchi等,他们研究了大豆疫霉菌胞壁激发子是 β -3,6-葡聚糖,它能识别大豆细胞膜的受体位点,并确定这一专化性激发子在大豆细胞膜上的结合位点是一种可逆的单一的结合位点。事后,有一些论文都报道了疫霉菌其他种的细胞强激发子的分离鉴定,同时,又扩展到豌豆黑斑病菌胞壁激发子在与寄主胞膜的作用下产生豌豆素(Doke等, 1991)。最近,南京农业大学从小麦赤霉病菌和棉花黄萎病菌的胞壁中分离到可以诱发防御酶系活性和植保素棉酚等物质积累,这类激发子也能降低毒素对棉苗的致萎力和延迟棉苗发病。人们不仅从植物病原真菌中分离到激发子,还可以用非病原的酵母菌胞壁的浸提液作为激发子来防除大豆和莴苣的灰霉病和立枯病(Reglinski, 1995)。然而,关于分离与鉴定激发子在植物体上的受体方面的报道很少,也就是说激发子与植物受体间的专化性结合位点没有报道在量上的关系,但较有突破性进展的是Yanada, T等人从豌豆上危害的褐纹病菌(*M. pinode*)分离到的激发子能诱导植物产生防卫反应的2个调控基因,即PSPAL1和PSPAL2,并确定了这2个基因核苷酸序列。1993年Kamoun, S等也用了疫霉菌的胞外蛋白作为激发子对茄科和十字花科植物进行诱导寄主抗性作用,发现在疫霉菌中也有不能产生激发子的种,这是由于真菌体内不能编码elicitor基因(parA1)的缘故。

激发子与受体间经识别作用后,寄主体即迅速产生第二信使来传递膜受体上的信号,使之到达植物细胞核,最后导致植保素的形成与积累。然而,真菌的抑制子(suppressor)均具有专化性抑制子的特性,抑制子的作用方式主要通过寄主原生质膜上的受体位点相结合,从而阻止了激发子与受体的结合。在与寄主成为亲和型体系的情况下,抑制子作用占为优势,导致寄主发病;在与寄主非亲和型体系情况下,抑制子作用处于劣势,激发子占优势、寄主产生过敏性反应,最后形成植保素等抗性物质,导致寄主抗病。例如1993年Sanchez, LM等从疫霉菌胞壁组分中分离到抑制子,鉴定为一种低分子量的葡聚糖,它能抑

制番茄、烟草和甜椒由于 elicitor 诱导出的 O_2^- 物质, 导致发病, 如果消除了抑制子作用, 此时 elicitor 就占优势, 植物就对疫霉病产生抗性。

C. 毒素在竞争受体中的能力

上面已经讨论到毒素的受体位点问题。业已证明毒素(主要指 HST)可以识别寄主细胞膜或细胞器膜上的结合位点, 毒素与抑制子虽然性质不同, 但导致植物发病的功能是一致的。

然而, 近年来的报道似乎混淆了人们对于毒素的基本概念与含意。1991 年 Mayana 等用 HV-toxin 处理 PC-2 基因的燕麦品种, 发现可诱发出用该菌激发子所诱导的高达 10 倍量的植物保卫素之后, 不断发表有关毒素作为激发子来诱导植保素积累的报告或防御酶系活性的提高, 如 1993 年 Ehrenshaft 等用 Cercosporin 可以诱导寄主植物产生抗性蛋白。Moussatos 等(1994)用 AAL-toxin 的 $0.015\mu\text{mol/L}$ 的浓度可以诱导番茄体内 ACC 的产生, 进而合成乙烯提高植物抗病性。1992 年南京农业大学徐大高等用棉花黄萎病菌毒素作用棉苗, 可以诱发棉苗体内 PAL、PO 和 PPO 等的活性进而导致植保素棉酚的合成与积累, 我国还有人应用稻瘟菌毒素和小麦雪叶枯病菌(*Gerlachia nivalis*)毒素刺激小麦体内 PAL 活性, 发现与菌体孢子一样均可诱发 PAL 活性的提高。以上这些实例说明毒素可以作为激发子来处理植物, 导致植物体内增加抗病性物质, 这说明毒素与受体间起着相互识别的作用。虽然 NHST 没有特异性位点, 但很可能这些 NHST 对于寄主来说仅仅是一种异物干扰, 然而这种“异物”也能与激发子一样可以启动植物细胞抗性酶系的增加, 导致植保素的合成与积累。然而, 这种功能是非持久性的, 因为毒素毕竟是一种致病或致毒因子, 又能发挥类似抑制子功能导致植物发病。所以, 笔者认为无论是 HST 还是 NHST, 它们都具有激发子和抑制子的双重功能, 关键是人们如何有效地调控毒素, 使毒素导向激发子功能或者降低毒素具有抑制子的作用, 以期将病原真菌毒素对植物致病或致毒作用减弱到最低限度, 掌握毒素与植物互作中在什么阶段起激发子功能、什么阶段又起抑制子的作用, 企图将毒素为人类所利用, 不但不会致病或者少致病、致毒, 最后达到防病治病的目的。

V. 参考文献

- [1] 章元寿主编. 植物病理生理学. 南京: 江苏科技出版社, 1996
- [2] 陈捷主编. 植物病理生理学. 沈阳: 辽宁科技出版社, 1994
- [3] 奥八郎, 等. 植物感染生理学最近の进步. 感染生理学最近の进步刊行会, 名古屋, 1991
- [4] 董金泉, 李正平, 等. 玉米大斑菌毒素组分分析. 植物病理学报, 1996, 26 (2): 139~144
- [5] 高必达, 陈捷, 等. 第五届国际植物病理学会论文摘要集. 沈阳: 辽宁科技出版社, 1994
- [6] Goodman RN, *et al.* The Biochemistry and Physiology of Plant Disease. University of Missouri Press, 1986
- [7] Callow JA, *et al.* Biochemical Plant Pathology New York, Wiley, 1983
- [8] Scheffer RP. Toxins and Plant Pathogenesis Academic Press, Australia, 1983
- [9] Strange RN. Plant Disease Control, Chapman & Hall, 1993
- [10] Vidhyasekaran P. Physiology of Disease Resistance in Plant. CRC Press Inc. Boca Baton. Florida. 1988
- [11] Yoder OC, Nishimura S. Host-specific Toxin, Tottri Univ. Press. 1989

寄主选择性真菌毒素与植物病害特异性^①

董金皋

河北农业大学植物保护系, 保定 071001

在寄主与病原菌相互作用的复杂过程中, 病原菌可以产生三类物质(致病因子, pathogenic factors)使寄主植物发病, 出现症状。这三类物质是: ①生长调节剂(growth regulators)——引起寄主细胞异常分裂, 出现畸型、徒长、丛生等症状; ②酶类(enzymes)——溶解寄主细胞的细胞壁、膜, 造成腐烂等症状; ③毒素(toxins)——使寄主植物中毒, 出现叶斑、萎蔫等症状。人们常把这三类物质喻为病原物战胜寄主的三大武器。

I. 植物病原真菌毒素概念及演变

植物病原物能够产生对其寄主植物有毒物质的概念开始于19世纪末期, 当时人们称这些有毒物质为植物毒素(phytotoxin), 以别于动物毒素(animal toxin, 如蛇毒、蜂毒、蝎毒等), 不过这一概念一出现就引起人们的诸多误解, 如有人认为植物毒素应该是由植物产生的有毒物质, 而不应该是由寄生于植物上的微生物产生。后来 Wheeler 和 Luke (1963) 把那些在植物病害中起重要病因作用的毒素称为致病毒素(pathotoxin), 此概念表明由病原微生物产生的这些对寄主植物来说的致病因子不仅表现它们的毒性(toxicity), 即对寄主植物有毒; 更重要的是它们的致病活性(pathogenic activity), 即可引起寄主植物类似于产生菌相同或相似的危害症状。此外, 就其毒素的范围而言, 人们也争论纷纷: 有人认为广义的致病毒素应该原指一切由病原物产生的对寄主植物有毒的物质, 即包括酶类、生长调节剂, 但更多的学者却认为毒素应该是除去酶类和生长调节剂以外的由病原菌产生的对寄主植物有毒的物质的总称。随着研究的深入和认识的提高, 人们一致认为毒素的概念应包括以下几层意思: ①由病原微生物产生的但不属于酶类和生长调节物质的一类重要化合物; ②在低浓度下具有很强的生理活性(包括毒性和致病活性); ③在活体内(in vivo)和活体外(in vitro)均可产生; ④对寄主植物具很强的损伤和破坏作用, 即是一类重要的致病因子或致毒因子。

不过 Mayana 等(1988)用 HV—毒素(由燕麦维多利亚疫病菌 *Helminthosporium victoriae* 产生的一种真菌毒素)处理带 PC-2 基因(感染冠锈病菌 *Puccinia coronata*)的燕麦品种, 发现可诱导出比该病菌激发子(elicitor)高达10倍量的植保素(phytoalexin), 从而对毒素仅对寄主植物有毒害作用这一概念提出质疑。而且证据越来越多, 如 Ehrenshaft 等(1993)发现大豆紫斑病菌毒素(cercosporin)可以诱导植物产生抗性蛋白; Moussatos 等(1994)用 $0.015\mu\text{mol/L}$ 的 AAL—毒素(番茄茎枯病菌产生的毒素)可诱导

①本文承蒙中国工程院院士、中国农业大学植保系曾士迈教授和南京农业大学章元寿教授审阅, 特此感谢!

番茄植株体内产生 ACC (1-氨基环丙烷-1-羧酸) 进而合成乙烯, 从而提高了植物的抗病性; 有人发现小麦雪叶枯病菌 (*Gerlachia nivals*) 产生的毒素与分生孢子一样可以刺激 PAL 的活性; 章元寿等 (1995) 也发现由小麦赤霉病菌产生的 DON 与赤霉菌激发子一样诱导 PAL 活性等等。上述研究似乎动摇了人们原先对毒素概念的理解, 可见毒素用上述几点来定义已不确切, 应该理解毒素的双重作用: 即对寄主植物可以是致病的、致毒的; 但有时也是有益的, 只不过是毒素在植物体内何时以及什么阶段可达到致毒致病? 而又在何阶段可诱导寄主植物产生抗病性而已, 诸如此类的问题尚需深入研究和探讨。

那么何为真菌毒素? 简言之, 真菌毒素是由植物病原真菌产生的一类对寄主植物有毒的代谢产物, 即真菌与寄主植物互作中的重要致病因子。长期以来, 植病学家和化学家一直对那些重要的致病毒素进行了分离、纯化和化学结构鉴定, 发现除了 Tomas (1990) 报道的由小麦黑斑病菌 (*Pyrenophora tritici-repentis*) 产生的毒素外, 大多属于低分子量的次生代谢产物 (Kohmoto 和 Otani, 1991), 主要包括: 环状肽类 (cyclic peptides)、类萜烯化合物 (terpenoids)、低聚糖 (oligosaccharides)、聚乙醇酰 (polyketide) 和生物碱类等, 这些化合物在各自的致病过程中均起着重要作用。

II. 寄主选择性毒素与寄主非选择性毒素的特征

在植物病原真菌毒素中, 人们常常根据它们与寄主植物之间的特异性互作 (即有无选择性或专化性) 将毒素分为两大类, 即寄主选择性 (专化性) 毒素 (host-selective toxin, 简称 HSTs) 和寄主非选择性 (非专化性) 毒素 (non-host-selective toxin, 简称 NHSTs)。

A. 寄主非选择性毒素

这类毒素是由病原菌产生的一类对其寄主或非寄主植物种或栽培品种具有一定生理活性和非专化性作用位点的代谢产物。它们具有以下特征: ①这类毒素对病原物的寄主和非寄主均有一定的毒性, 即致毒范围很广 (如菜豆毒素可为害 10 多种植物); ②病原物产生的这类毒素虽对其寄主有一定的选择能力, 即对寄主种或栽培品种有一定的毒性或致病力, 但有时寄主植物对毒素的敏感性和对其产生菌的感病性无相关关系, 因此寄主植物的抗病基因与控制对毒素的敏感性基因可能不是一个; ③寄主植物上无毒素高度专化的作用位点。迄今为止, 已发现寄主非选择性植物病原真菌毒素近 60 种。

B. 寄主选择性毒素

这类毒素是由病原微生物产生的一类对其寄主植物种或栽培品种具有特异性生理活性和高度专化性作用位点的代谢产物。它们具有以下特征: ①毒素和其产生菌具有类似的寄主选择性, 而寄主植物本身对毒素的敏感性与对毒素产生菌的感病性是高度相关的, 也就是说控制寄主植物对毒素敏感性的基因就是对病原物感病性的基因; ②病原菌致病性的强弱与病原菌的产毒能力高度正相关; ③病原菌产生的毒素与病原菌本身一样可以诱发感病寄主产生典型病害症状, 这类毒素对寄主选择性 (专化性) 极强, 如 HV—毒素对感病燕麦品种 (稀释 1000 万倍可致病) 与对抗病燕麦品种 (稀释 25 倍以下才可致病), 相比致病效果相差 40 万倍; ④毒素在感病寄主上有特异性的作用位点, 如在 Tcms 玉米线粒体上有一 13×10^3 的蛋白质可以与 HMT—毒素特异性结合。