

几种化学诱导物对黄瓜白粉病 抗性的诱导作用

陈喜文, 郝友进, 陈德富

(南开大学生物化学与分子生物学系, 天津 300071)

摘要: 在建立简单、有效、准确的叶圆片检测黄瓜白粉病抗性的基础上, 系统地比较了 7 种化学诱导物及其组合对黄瓜白粉病抗性的诱导作用。结果表明, 草酸、水杨酸、苦参碱、苯基硫脲、复合磷均能显著诱导黄瓜对白粉病的抗性。其诱导效果为草酸> 水杨酸> 苦参碱> 苯基硫脲> 复合磷, 氯化钾和硫酸锰的诱导效果不明显。当苯基硫脲、苦参碱与硫酸锰、氯化钾和复合磷分别组合时与单一诱导物相比, 诱导效果明显增强; 而当水杨酸、草酸与之组合时诱导效果明显减弱, 这可能与离子间相互作用有关。

关键词: 诱导抗性; 白粉病; 黄瓜; 化学物质

中图分类号: S432.2⁺6 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2000)04-0103-05

植物通过局部的或系统的, 自身的或诱导的机制来保护自身不受病原的侵害, 其中诱导抗性是由外源物作用于植物体, 激活植物防御反应的基因表达而引起的生理性免疫。研究发现, 不仅生物因子能诱导植物的抗病性^[1], 而且一些体外无杀菌作用的化学物质如苯基硫脲^[2]、草酸^[3]、水杨酸^[4]、BTH^[5]、2,6-二氯异烟酸(DCINA)^[6]也具有这种作用。张元恩等报道, 草酸喷施黄瓜不但对多种真菌病害产生系统抗性, 而且还可诱导对细菌和病毒病害的抗性^[2]。Wisniewaska 报道用 1~10 mg/mL 的水杨酸处理发芽大麦种子, 能显著地减少其苗期病害^[7]。但不同作者报道的结果不大相同, 究其原因主要是由于采用的药剂浓度、处理方式、试验材料和检测病害种类的不同, 诱导抗性效果也就不同。因此各种化学物质对诱导抗性的效果如何, 目前尚难统一定论。本研究将系统研究几种化学诱导物对黄瓜白粉病抗性的诱导作用, 以为生产实践中利用化学物质来提高黄瓜对白粉病的生理抗性提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

感白粉病黄瓜品种新泰密刺种子经 0.1% 升汞浸泡 10 min, 然后迅速用清水冲洗干净, 种植于花盆中。温度控制在 20~25 °C, 光照为 1 000 lx。

1.2 菌种

从田间采集白粉病的病叶, 用摩擦法接种至感病品种新泰密刺的叶片上, 以保存病原。

收稿日期: 2000-03-10

基金项目: 天津市 21 世纪青年科学基金项目(973704311) 部分内容。

作者简介: 陈喜文, (1966-), 女, 副教授, 博士, 主要从事植物生理的教学和研究工作。

1.3 药剂处理

根据文献报道和预备实验结果, 采用下列浓度的药剂处理: 5 mmol/L 的水杨酸(SA), 5 mmol/L 的苯基硫脲, 1 mmol/L 的苦参碱, 5 mmol/L 的草酸, 1 mmol/L 的复合磷(内含 K₂HPO₄, KH₂PO₄, Na₄P₂O₇, Na₃PO₄ 各 1 mmol/L), 10 mmol/L 的 MnSO₄ 和 10 mmol/L 的 KCl。

待幼苗的二片真叶充分展开后, 在待测的试剂中加入 0.05% 的吐温-80, 于晴天傍晚用毛笔涂抹于叶片上。对照用蒸馏水代替, 处理 60 h 后。收获叶片或直接做白粉病挑战接种检测。

1.4 病害检测方法

1.4.1 田间测试法 用摩擦法将白粉病的孢子挑战接种到药剂处理 60 h 后的叶片上。7 d 后统计发病情况。并依据以下分级标准^[8]进行病情指数计算。0 级: 无病症; 1 级: 少数抗病型病斑; 2 级: 多数抗病型病斑或感病型病斑; 3 级: 感病型病斑占叶面积的 1/3 以下; 4 级: 感病型病斑占叶面积的 1/3 至 1/2; 5 级: 感病型病斑面积超过叶面积的 2/3, 叶片黄化严重或干枯。

1.4.2 叶圆片法^[9] 取处理后 60 h 的真叶, 用打孔器取出直径为 9 mm 的叶圆片。正面朝上放置在添加 25 μg/mL 苯丙咪唑的 0.4% 的琼脂培养基上。每圆片中央接种 10×10 倍显微镜每视野含白粉病孢子囊 100~120 个的悬浮液 10 μL。接种后置于 20~25 ℃光照下培养。第 6, 9 d 调查感病程度。感病标准如下: 0 级: 叶圆片中央为标准绿色、未感染病菌; 1 级: 有可见菌丝或少量病斑(面积不超过整个叶圆片的 10%); 2 级: 病斑面积达到整个叶圆片的 30%, 并且有可见的发芽孢子; 3 级: 病斑或孢子体覆盖整个叶圆片。

并依据方中达植病研究方法^[10]计算每处理各皿的病情指数(DI), $DI = \frac{\sum(\text{病级株数} \times \text{代表值})}{\text{株数总和}} \times 100$ / 株数总和 × 发病最重级的代表值。

2 结果与分析

2.1 两种不同生物测试方法的比较

分别用田间检测法和叶圆片法对 5 mmol/L 的水杨酸诱导处理后植株与叶片进行白粉病抗性检测。结果发现, 两种检测方法所得结果基本相同(表 1), 无显著差异。相比之下, 田间检测法所需材料大, 田间占地多; 白粉病病菌易于在植株间相互传播蔓延, 造成植株材料的交叉感染, 很大程度上影响试验结果的准确性; 测试过程中采用摩擦接种, 接种量不易掌握和控制; 接种后的病菌感染程度受温度和湿度等条件影响很大。叶圆片法则不失为一种简单、有效的精确方法, 一个叶片大约可提供 15~20 个叶圆片, 试验所设的重复多, 所需材料量少, 病菌孢子浓度易于控制, 而且病菌感染时的温度、湿度和光照等都能得到严格的控制, 所得试验结果准确可靠、重复性好。所以我们在以后的试验中采用叶圆片法作为植物抗病程度的检测

表 1 两种不同生物测试方法的比较

生物测试方法		病情指数
田间测试法	ck	41.2
	SA	15.2
叶圆片法	ck	37.2
	SA	11.2

方法。

2.2 不同化学诱导物对黄瓜白粉病抗性的诱导作用

用不同化学诱导物处理黄瓜叶片，60 h 后收获叶片，用叶圆片法进行白粉病的挑战接种，结果列于表 2。草酸、水杨酸处理后病情指数下降最大，分别为 24.5，28.2，为对照组的 50.6% 和 58.3%，诱导效果最好；其次为苦参碱，病情指数为 31.7，为对照组的 65.5%；再次为苯基硫脲和复合磷，病情指数分别为 34.8 和 38.4，是对照的 71.9% 和 79.3%。氯化钾和硫酸锰诱导效果不明显，与对照相比无显著差异。

表 2 不同化学诱导物对黄瓜白粉病的诱导作用

化学诱导物	病情指数	与对照的百分比(%)	
ck	48.4	d	
水杨酸	28.2	a	58.3
苯基硫脲	34.8	bc	71.9
苦参碱	31.7	b	65.5
草 酸	24.5	a	50.6
硫酸锰	45.2	d	93.4
复合磷	38.4	c	79.3
氯化钾	44.6	d	92.1

2.3 不同化学诱导物的组合对黄瓜白粉病抗性的诱导作用

将有机和无机诱导物组合在一起，混合处理黄瓜叶片，用同样的方法进行白粉病抗性检测，结果列于表 3。当苯基硫脲、苦参碱分别与硫酸锰、氯化钾和复合磷组合时，其病情指数较单一有机诱导物显著下降，诱导效果明显增强；当水杨酸、草酸与硫酸锰、氯化钾和复合磷组合时，其病情指数较单一有机诱导物不仅没有下降，反而上升，诱导效果明显减弱。

表 3 不同化学诱导物组合对黄瓜白粉病抗性的诱导作用

化合诱导物的组合	病情指数	与单一有机物的百分比(%)	
ck	50.5		
水杨酸	28.5		
水杨酸+ 硫酸锰	30.2	106.0	
水杨酸+ 氯化钾+ 复合磷	33.5	117.5	
苯基硫脲	40.2		
苯基硫脲+ 硫酸锰	33.5	83.3	
苯基硫脲+ 氯化钾+ 复合磷	28.4	70.6	
苦参碱	32.4		
苦参碱+ 硫酸锰	26.2	80.9	
苦参碱+ 氯化钾+ 复合磷	23.8	73.5	
草酸	24.5		
草酸+ 硫酸锰	28.5	116.3	
草酸+ 氯化钾+ 复合磷	30.8	125.7	

3 讨论

植物抗病研究中，病害检测方法至关重要，就黄瓜白粉病而言，由于病菌孢子很容易通过风力来传播，在进行田间测试时，就必须有严格的隔离条件来控制孢子的传播。白粉病的发病受湿度影响很大，田间测试要想获得稳定可靠的数据实属不易。叶圆片法不失为一种简便、有效的准确方法。病菌感染的条件如孢子浓度、湿度、温度、光照都可得到人为的控制，因此可望发展成为黄瓜白粉病抗性筛选的主要方法。

一些在体外无杀菌作用的化学物质诱导植物产生抗病性，但不同作者报道结果不同，各种化学物质诱导效果到底如何，目前尚未见统一报道。本试验系统地研究了我们能收集到的

7种化学物质对黄瓜白粉病的诱导作用, 并首次报道了将无机物和有机物组合的诱导效果。采用化学物质激活植物抗病基因或促使植物产生抗菌物质, 使其产生或增强对病害的抗性, 不仅可能解决抗病品种选育跟不上病菌变异速度, 农药防治受气候和自身条件的限制等问题, 而且可为发展新一代无公害农药、减轻环境污染开辟一条新途径。

参考文献:

- [1] Anderson A J. Isolation from three species of colletotrichum of Glucan-containing Polysaccharides that elicit browning and Phytoalexin production in bean[J]. Phytopathology, 1978, 68: 188- 194.
- [2] 张元恩, 刘英惠. 非杀菌剂化合物防治瓜类病害的研究[J]. 植物病理学报, 1992, 22(3): 241- 244.
- [3] Kessmann H. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals [J]. Annu Rev Phytopathol, 1994, 32: 439- 459.
- [4] 张宗申, 彭新湘. 非生物诱抗剂草酸对黄瓜叶片中过氧化酶的系统诱导作用[J]. 植物病理学报, 1998, 28(1): 145- 150.
- [5] Schweizer P, Schlagenhauf E, Schaffrath U, *et al.* Different patterns of host genes are induced in rice by pseudomonas syringae, a biological inducer of resistance, and the chemical inducer benzothiazole (BTH) [J]. European Journal of Plant Pathology, 1999, 105(7): 659- 665.
- [6] Kogel K H, Huckelhoven R. Superoxide generation in chemically activated resistance of barley in response to inoculation with the powdery mildew fungus [J]. J Phytopathology, 1999, 147(1): 1- 4.
- [7] Wisniewska H, Chelkowski J. Influence of exogenic salicylic acid on Fusarium seedling blight reduction in barley [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 1999, 21(10): 63- 66.
- [8] 侯 锋. 黄瓜[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1999. 217- 218.
- [9] Cohen R. A leaf disk assay for detection of melons to *Sphaerotheca fuliginea* race[J]. Plant Dis, 1993, 77: 513- 517.
- [10] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998. 11- 12.

Effect of Several Chemicals on Induction of Resistance to *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht)

CHEN Xi-wen, HAO You-jin, CHEN De-fu

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: After comparing two different methods for the induced resistance to *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht), the leaf-disc method was established and was considered as a simpler, more effective and more accurate method than field identification method. Then seven chemicals and their combinations were systemically compared the induction effect on resistance to *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht). The results showed that OAA, SA, matrine, PTU, complex phosphorus showed significant induction effect, whereas their effect is OAA > SA > matrine > PTU > complex phosphorus. KCl and MnSO₄ did not show the significant induction effect. When combined the organic inducers with inorganic inducers, the results showed that the combination of PTU, matrine with MnSO₄, KCl or complex phosphorus respectively, the induction effect were significantly enhanced, whereas SA and OAA combined with inorganic inducers, the induction effect were significantly reduced. This may be related to the interaction between ions.

Key Words: Induced resistance; *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht); Cucumber (*Cucumis sativus* var Xintaimici); Chemicals