

黄瓜霜霉病菌致病作用与两种细胞壁降解酶关系初探

石延霞¹ 李宝聚¹ 刘学敏²⁽¹⁾ 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; ⁽²⁾ 东北农业大学植物保护系, 哈尔滨 150030

摘要: 从黄瓜发生霜霉病的叶片中提取到两种细胞壁降解酶: 羧甲基纤维素酶 (Cx) 和 β -葡萄糖苷酶, 二者活性显著高于对照, 证明在霜霉病菌侵染寄主过程中这两种细胞壁降解酶起到了关键作用。

关键词: 黄瓜; 霜霉病; 致病机理; 羧甲基纤维素酶 (Cx); β -葡萄糖苷酶

中图分类号: S 642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 04-0465-02

1 目的、材料与方 法

黄瓜霜霉病是黄瓜生产中的重要病害, 其传播流行速度很快, 对黄瓜生产威胁很大。国内外对黄瓜霜霉病菌的侵染条件均进行了详细的研究^[1~3], 但对于其机理的研究至今未见详细报道。作者从致病酶活性变化探索了与黄瓜霜霉病菌的致病关系, 为其进一步研究奠定了基础。

以‘山东密刺’为试材, 育苗后待幼苗长至 2 片真叶期接种霜霉病菌, 接种后定期取样, 每次均取未接种的为对照。每一处理选取 5~10 片叶, 剪碎后称取 1 g, 设 3 次重复。每一重复加入 1 mol/L NaCl 提取液 5 mL, 于 4℃ 条件下离心 15 min, 取上清液为酶粗提液, 测定羧甲基纤维素酶 (Cx) 和 β -葡萄糖苷酶活性, 按每处理的 3 次重复酶活性的平均值作图 (图 1)。

Cx 活性测定: 0.5 mL 酶液, 加 1 mL 柠檬酸缓冲液配制的含 0.51% 羧甲基纤维素溶液, 50℃ 酶解 30 min, 在 540 nm 处测定其活性。

β -葡萄糖苷酶活性测定: 0.5 mL 酶液, 加 1 mL 柠檬酸缓冲液配制的含 0.5% 水杨苷溶液, 50℃ 酶解 30 min, 在 540 nm 处测定其活性。

2 结果分析与讨论

2.1 β -葡萄糖苷酶活性的变化

发病黄瓜叶片中两种细胞壁降解酶活性显著提高。在接种后 12 h, β -葡萄糖苷酶活性即开始上升 (图 1), 到接种后第 2 天上升到一个小的峰值, 第 3 天时迅速下降, 这是由于病菌侵染激活了寄主的防御酶系, 导致寄主防御系统开始抑制细胞壁降解酶的活性; 随着病情的发展致病酶的活性开始占据主要地位, 到第 4 天又开始回升, 于接种第 6 天达到高峰, 之后下降。这表明接种第 6 天是 β -葡萄糖苷酶活性作用最明显时期, 这时寄主大部分组织被侵染, 此后由于寄主可供侵染组织减少而导致酶活下降。但在整个活性变化过程中, 接种处理的 β -葡萄糖苷酶活性始终高于对照。而对照 β -葡萄糖苷酶活性则保持在一个相对稳定的水平。

2.2 黄瓜叶片受霜霉病菌侵染后 Cx 酶活性的变化

黄瓜叶片在接种 12 h 后 Cx 酶活性也开始上升 (图 1), 随后下降, 第 2 天又开始上升, 到接种第 4 天达到活性高峰后又迅速下降。这一变化规律与 β -葡萄糖苷酶活性变化规律一致, 只是 Cx 活性高峰出现的早, 表明其对寄主细胞壁降解先于 β -葡萄糖苷酶的作用。Cx 降解了细胞壁纤维素大分子

收稿日期: 2002-09-05; 修回日期: 2002-12-25

基金项目: 北京市自然科学基金重点项目 (6001002); 国家“十五”攻关计划项目 (2001BA509B06)

后。 β -葡萄糖苷酶降解低聚糖, 因而其活性表达在时间上迟于 Cx 的表达。

黄瓜霜霉病菌的致病机理问题至今未见有关报道, 本文从黄瓜发病叶片中获得黄瓜霜霉病菌的致病酶 Cx 和 β -葡萄糖苷酶, 结果说明二者在发病黄瓜叶片中均表现出高的活性, 且经重复试验证明活性较稳定。本文为专性寄生菌致病机理的研究提供了方法。而有关霜霉病菌侵入寄主之后的致病过程则仍然需要更深入的研究, 以便更加明确霜霉病菌的致病过程, 从而为研究防治霜霉病的新技术提供依据。

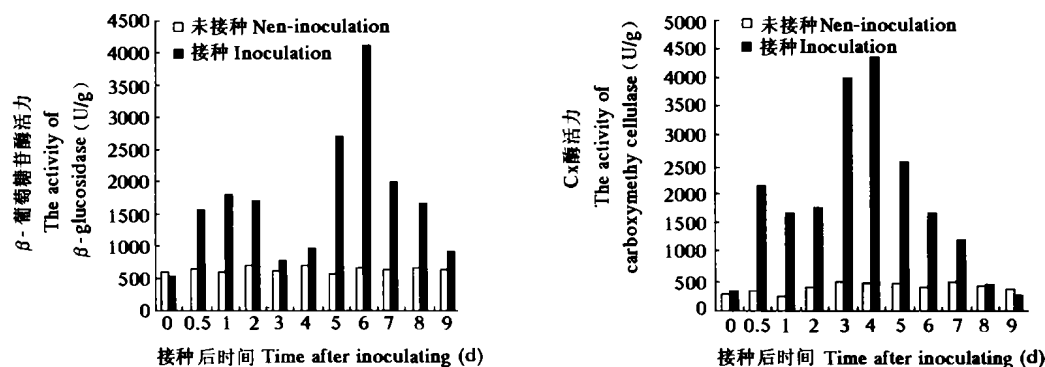


图1 黄瓜接种霜霉病菌后 β -葡萄糖苷酶和 Cx 酶活性的变化

Fig. 1 Active change of β -glucosidase and carboxymethyl cellulase

参考文献:

- 1 Cohen Y. The combined effects of temperature, leaf, wetness and inoculum concentration on infection of cucumbers with *Pseudoperonospora cubensis*. Can. J. Bot., 1977, 55: 1478 ~ 1487
- 2 陈捷, 高洪敏, 朱有, 等. 黄瓜腐霉菌苗期猝倒病致病机制的研究. 植物病理学报, 1996, 26 (1): 55 ~ 61
- 3 李宝聚, 李风云. 黄瓜黑星病菌致病机理的研究 2: 细胞壁降解酶及其在致病中的作用. 植物病理学报, 2000, 30 (1): 13 ~ 18

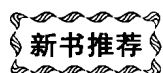
The Relation of Pathogenesis Action by *Pseudoperonospora cubensis* and Two Sort of Zymin in Cucumber

Shi Yanxia¹, Li Baoju¹, and Liu Xuemin²

(¹ Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ² Department of Plant Protection, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The zymin was extracted from cucumber leaf infected by *Pseudoperonospora cubensis*. Among zymin, carboxymethyl cellulase and β -glucosidase showed higher activity than control. This conclusion testified two kinds of cellulase acted as key action while the pathogen was invading host. This research offered foundation in theory for studying the pathogenesis mechanism of *P. cubensis*.

Key words: *Pseudoperonospora cubensis*; Cx; β -glucosidase



新书推荐

《分子克隆实验指南》(第三版)

作者对图书内容进行了全面升级, 修订了试验的每条方案, 增加了大量新的材料, 拓宽了所涉及试验的领域。前面的章节描述了一些基本的技术, 后面的几章是关于 cDNA 克隆和外显子截留、核酸探针的使用、突变和 DNA 测序的介绍。最后的章节主要解决筛选表达文库、克隆基因在原核和真核细胞的表达、转录物和蛋白质分析、探测蛋白质与蛋白质的相互作用, 附录中包含了试剂、载体、培养基、技术支持等基本信息。定价: 187 元 (上、下册, 含邮资)。

购书者请汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。