

葡聚六糖诱导黄瓜体内水杨酸的积累及其与抗霜霉病关系的初步研究

李宝聚¹ 范海延^{1,2} 孙艳秋^{1,2} 石延霞¹

(¹中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081; ²沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 100161)

摘要: 通过盆栽试验表明, 葡聚六糖连续处理黄瓜幼苗 3 次后, 可以诱导黄瓜抗霜霉病, 防效可达 65.40%。通过反相 HPLC 法测定不同时间水杨酸含量表明, 葡聚六糖连续诱导处理黄瓜幼苗 3 次后水杨酸含量在诱导后 1 d 出现高峰, 且水杨酸含量在 8 d 内一直比对照略高。葡聚六糖仅处理 1 次时, 诱导叶 (第 1 片真叶) 水杨酸含量显著提高, 在诱导后 6 h 出现 1 个高峰, 而非诱导叶 (第 2 片真叶) 在 12 h 出现 1 个高峰。

关键词: 葡聚六糖; 黄瓜; 霜霉病; 诱导抗性; 水杨酸

中图分类号: S 642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 01-0115-03

Accumulation of Salicylic Acid in Cucumber Treated with Glucohexase and Its Relation to Systemic Acquired Resistance against Cucumber Downy Mildew

Li Baoju¹, Fan Haiyan^{1,2}, Sun Yanqiu^{1,2}, and Shi Yanxia¹

(¹Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ²College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: The potted test indicated that the glucohexase can induce the disease resistance of cucumber to cucumber downy mildew and protective effect was 65.40% after glucohexase inducing three times continuously. The content of salicylic acid in different time was assayed through reverse phase HPLC, which demonstrate that there is a peak in one day after glucohexase inducing the young cucumber three times continuously, and SA content is always much higher than control in eight days. When glucohexase treats only one time, SA content of induced leaf (the first euphyllis) increase remarkably, and there is a peak in six hours, but non-induced leaf (the second euphyllis) having a peak in twelve hours after induce treatment.

Key words: Glucohexase; Cucumber; Downy mildew; Induced resistance; Salicylic acid

1 目的、材料与方方法

水杨酸 (Salicylic acid, SA) 既是诱发系统抗性的信号物质, 也在植物抗病基因介导的抗性产生中起至关重要的作用。Malamy 等^[1]认为 SA 可以作为游离的信号物质传递, 内源 SA 可作为诱导植物防卫反应的信号分子。许多研究表明, 在系统获得抗性基因表达及系统获得抗性产生之前, 内源 SA 先积累, 许多诱抗因子诱导植物系统获得抗性需要通过积累 SA 的途径。关于葡聚六糖诱导剂对植株内源 SA 含量的影响迄今尚未见报道, 本研究以黄瓜为材料, 测定葡聚六糖诱导后黄瓜叶片中内源 SA 的积累情况及分析其在诱导黄瓜抗霜霉病中的作用, 以期为该新型植物系统获得性诱抗剂在田间应用提供理论依据。

收稿日期: 2004 - 04 - 22; 修回日期: 2004 - 09 - 15

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (2003CB114400); 国家自然科学基金项目 (30270910); 北京市自然科学基金重点项目 (6021004; 6001002)

黄瓜 (*Cucumis sativa* L.) 品种为‘山东密刺’, 种子催芽后播种在装有草炭土 蛭石为 1:2 (体积比) 的营养钵中, 放置在温室中培养, 在黄瓜幼苗 2 片真叶期时进行处理。葡聚六糖 (含量 96%, 由中国科学院生态环境研究中心提供) 的浓度为 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 同时加 Tween 80 表面活性剂, 以清水加 Tween 80 为对照, 叶面喷雾处理 3 次, 诱导间隔期为 7 d, 于最后 1 次诱导的第 2 天与对照一起用浓度为 $10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ 黄瓜霜霉菌孢子囊悬浮液进行喷雾接种, 保湿培养, 接种后第 4 天对照充分发病时进行第 1 次病情指数调查, 2 d 后再进行第 2 次调查。每处理 60 株, 试验重复 3 次。黄瓜霜霉病病情分级标准参照 GB/T 17980.26-2000 [2]。

水杨酸含量参照徐幼平等 [3] 的方法测定。葡聚六糖连续诱导处理黄瓜 3 次后不同时间 (0、1、2、4、6、8 d) 选取第 1 片和第 2 片真叶混合测定; 葡聚六糖仅处理黄瓜第 1 片真叶后不同时间 (0、6、12、24、48、72 h) 分别测定处理叶 (第 1 片真叶) 和非处理叶 (第 2 片真叶) 水杨酸含量变化。

2 结果分析与讨论

2.1 葡聚六糖诱导黄瓜抗霜霉病的研究

盆栽试验表明 (表 1), 葡聚六糖能够诱导黄瓜抵抗霜霉菌的侵染, 两次调查结果表明, 当葡聚六糖浓度为 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 连续诱导 3 次时, 对霜霉病的防治效果可达 60% 以上。本试验中, 对照和诱导处理的黄瓜苗在接种后 3 d 均显病症, 对照发病进程快, 于接种后 9 d 病叶即枯烂, 而诱导处理的病情进展缓慢, 由此可知诱导抗性可持续 8 d。

表 1 葡聚六糖对黄瓜抗霜霉病的影响

Table 1 Effect of glucohexaose on induced resistance against *Pseudoperonospora cubensis*

处理 Treatment	接种后第 4 天 Fourth day after inoculation		接种后第 6 天 Sixth day after inoculation	
	病情指数 Disease index	防治效果 Protective effect (%)	病情指数 Disease index	防治效果 Protective effect (%)
$10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	9.97	65.40	13.78	60.61
对照 Control	28.82	—	34.99	—

2.2 葡聚六糖连续 3 次诱导处理后黄瓜叶片水杨酸含量变化

许多研究表明, 内源 SA 含量增加是植物系统获得抗性所必需的。关于葡聚六糖诱导后黄瓜内源 SA 的变化尚未见报道。从图 1 可看出, 用 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 葡聚六糖连续诱导处理 3 次后, 黄瓜叶片 SA 含量显著增加, SA 含量在诱导后 1 d 出现高峰, 达到 $3.203 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$, 增加了 156%, 以后逐渐下降, 但在 8 d 内一直保持比对照 SA 含量略高的水平, 这与黄瓜诱导抗性的形成相一致。

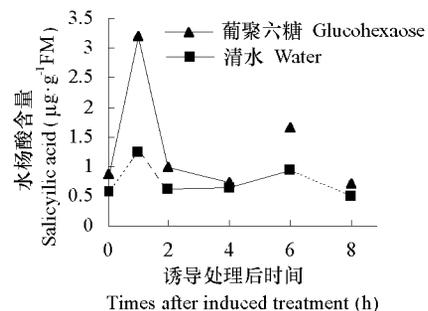


图 1 葡聚六糖诱导处理黄瓜叶片水杨酸含量变化
Fig. 1 Time course of salicylic acid content in leaves of cucumber after induce treatment with glucohexaose

2.3 葡聚六糖仅诱导处理黄瓜第 1 片真叶后水杨酸含量的变化

从图 2 可以看出, 用 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 葡聚六糖诱导处理黄瓜第 1 片真叶后, SA 含量在诱导后 6 h 出现高峰, 达 $5.62 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$, 比对照增加了 23.28 倍, 在 12 h 下降, 随后增加, 到 24 h 时出现第 2 个高峰, 此时 SA 含量比对照增加了 12.84 倍。经第 1 片真叶诱导处理后长出的未诱导处理的第 2 片真叶 SA 含量也发生积累, 6 h 时 SA 含量开始上升, 12 h 达到高峰, 比对照增加了 6.34 倍, 随后下降。当第 1 片真叶经诱导处理后在 12 h SA 含量下降时, 正是未经诱导处理的第 2 片真叶 SA 达到高峰之时, 推测第 2 片真叶 SA 含量增加一部分是从第 1 片真叶运输来的, 其余部分则是未诱导叶片本身合成, 这与李兆亮等 [4] 的报道吻合。

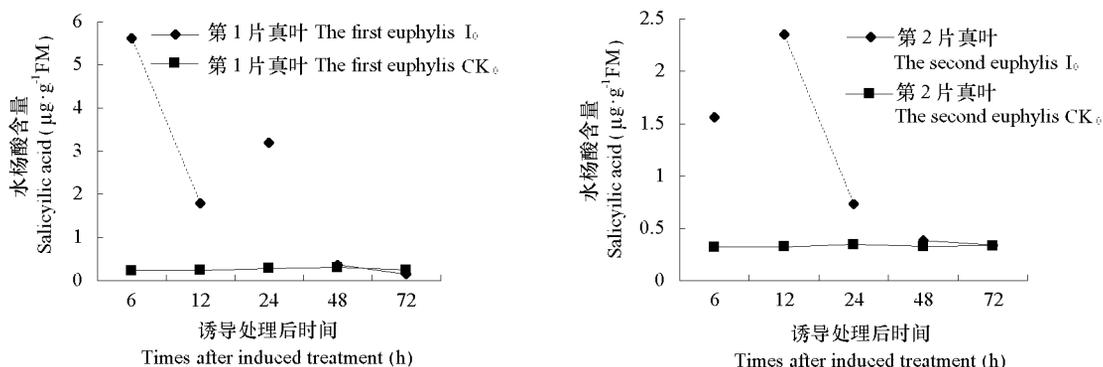


图2 葡聚六糖诱导处理黄瓜第1片真叶后水杨酸含量的变化

I₀: 10 µg·mL⁻¹葡聚六糖处理; CK₀: 清水处理。

Fig. 2 Time course of salicylic acid content in leaves of cucumber after induce treatment in the first euphyllis with glucohexaose

I₀: Treatment with 10 µg·mL⁻¹ glucohexaose; CK₀: Treatment with water

综上所述，葡聚六糖诱导处理后，黄瓜体内的SA含量并不是持续上升，而是有一个高水平的动态变化。黄瓜对霜霉病的抗性与SA含量密切相关，葡聚六糖诱导后抗性的形成与SA的诱导积累在时序上是一致的，随SA含量的增加，抗性逐渐增强，表明SA可能是黄瓜抗霜霉病形成中的信号分子，它可在植株内传导。葡聚六糖诱导后黄瓜叶片内积累SA，并且可能转化为结合态贮存下来，当SA积累到一定量，在受到病原物侵染时SA释放出来发挥信号分子作用，诱导植物系统获得抗性，从而抵制病原菌的入侵。

参考文献：

- Malamy J, Carr J P, Klessig D F. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science*, 1990, 250: 1002~1004
- GB/T 17980.26-2000. 农药田间药效试验准则(一)
GB/T 17980.26-2000. Pesticide guidelines for the field efficacy trials () (in Chinese)
- 徐幼平, 马志超, 蔡新忠. 反相高效液相色谱测定番茄组织中的水杨酸. *植物生理学通讯*, 1997, 33 (1): 49~52
Xu Y P, Ma Z C, Cai X Z. Determination of salicylic acid in tomato by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Plant Physiology Communications*, 1997, 33 (1): 49~52 (in Chinese)
- 李兆亮, 原永兵, 鞠志国, 刘连成, 曹宗巽. 细菌性角斑病诱导黄瓜叶片水杨酸的积累. *植物学报*, 1997, 39 (11): 1010~1014
Li Z L, Yuan Y B, Ju Z G, Liu L C, Cao Z X (Tsao TH). *Pseudomonas syringae* PV. lachymans induced accumulation of salicylic acid. *Acta Botanica Sinica*, 1997, 39 (11): 1010~1014 (in Chinese)

新书推荐

《英汉生物学词汇》(第二版)

本书是《英汉生物学词汇》1983年版的增修订本，是一部综合生物学各分支学科词汇的大型工具书。收有动物学、植物学、人体解剖学、组织胚胎学、微生物学、遗传学、细胞学、生物化学、生物物理学、时间生物学、生物工程、分子生物学、生态学等学科以及医学、农学的词汇，共约130000条。定价：99元(含邮费)。

《英汉园艺学词典》 章文才主编

该词典共收集专业词汇约两万条，按照全、新、准、精的收词原则，收录了园艺科学的基本词汇和与园艺科学有密切联系的基础科学和边缘科学词汇，其中从现代外文书刊中摘录的拼合新词约100多条。为了便于检索，本词典将主要的果树、蔬菜、花卉种名，按植物属分类汇编。可供我国园艺界的教学、科研、生产方面的专业人员和广大园艺工作者参考使用。定价：23元(含邮费)。

购书者请通过邮局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。