

β - 氨基丁酸诱导甜 (辣) 椒抗疫病作用的研究

谢丙炎 李惠霞* 冯兰香

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要: 报道了用 β - 氨基丁酸 (DL- β - amino γ -butyric acid, BABA) 喷雾处理辣椒叶片和茎后的诱导抗疫病作用。研究证明: 高浓度 BABA (1 000 μ g/mL) 对离体辣椒疫霉菌无抗菌活性, 用其喷雾处理辣椒的茎叶所诱导的抗疫病作用可完全控制其危害; 用 BABA 诱导处理后 3 d 接种辣椒疫霉菌, 辣椒植株开始表达出较高的诱导抗性, 这种抗病作用可持续 20 d 以上, 并表现出与数量抗病性相似的特性。

关键词: 辣椒; 辣椒疫病; β - 氨基丁酸; 诱导抗性

中图分类号: S 641. 3; S 436. 418 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2002) 02-0137-04

辣椒疫病是由 *Phytophthora capsici* L. 引起的毁灭性土传病害, 常在短期内突发成灾, 生产上主要依靠杀菌剂进行防治。由于化学防治受多种环境因素的影响, 其有效性受到限制。不少研究证明, 野生辣椒抗疫病种质的抗性是由多基因控制的数量性状, 其转育难度极大, 迄今尚未育成抗疫病的甜 (辣) 椒品种^[1]。通过对辣椒抗疫病基因的 QTL 定位研究发现, 可诱导表达的抗病基因是抗病作用的主要组分之一, 并且在感病品种中也存在可诱导表达的抗病基因位点^[2]。因此, 开发利用辣椒抗病性的遗传潜能是实现疫病可持续治理的有效途径。

β - 氨基丁酸 (DL- β - amino γ -butyric acid, BABA) 是一种由番茄根系分泌的非蛋白氨基酸^[3]。已有研究发现 BABA 可诱导番茄、马铃薯、棉花、花生、西甜瓜、花椰菜、向日葵等作物对卵菌或真菌病害的系统获得抗病性 (Systemic acquired resistance, SAR)^[4]。Sunwoo 等^[5]虽然证明了 BABA 诱导辣椒抗疫病作用, 但迄今未见 BABA 诱导甜、辣椒抗疫病作用表达差异分析的报道。本文报道 BABA 对甜、辣椒抗疫病性的诱导作用。

1 材料与方法

1.1 供试品种、病原菌及化学药剂

供试的‘茄门’甜椒和‘931’辣椒均为高感疫病的品种, 其种子来自中国农科院蔬菜花卉所开发处。种子经 55℃温水浸种 10 min 后, 播种在装有灭菌土的育苗盘中, 于温室育苗。三片真叶期移入营养钵中, 每钵 1 株, 至 4 叶、8 叶、第二分枝期供试验用。

辣椒疫霉 (*Phytophthora capsici* L.) 菌株号为 PC48, 对供试的茄门甜椒和‘931’辣椒为强致病型。菌株的培养及其游动孢子悬浮液的制备按作者的方法^[5], 用无菌水配制成所需浓度的游动孢子悬浮液供接种用。

β - 氨基丁酸购自 Sigma 公司 (分析纯), 用双蒸灭菌水配成 10 000 μ g/mL 的母液, 试验时用双蒸灭菌水稀释至所需浓度。

1.2 BABA 对辣椒疫霉菌的离体活性测定

在灭菌后的 V₈ 汁碳酸钙琼脂培养基 (V₈CA: 100 mL 培养基含 V₈ 汁 100 mL, CaCO₃ 3 g, 琼脂 20 g)^[6]中, 加入经微孔滤膜 (Φ 0.22 μ m) 滤过的 BABA 液, 使培养基中 BABA 达到所需浓度, 冷却

收稿日期: 2001- 04- 27; 修回日期: 2001- 08- 07

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目; 国家‘863’高科技计划项目 (2001AA247012)

* 甘肃农业大学硕士研究生。

后制成平板, 对照为培养基中加入与 BABA 等量的灭菌水后制成平板。平板中央放入 V_8 CA 培养的辣椒疫霉菌块 ($\Phi 5$ mm), 24°C 下培养 5 d, 测定 BABA 对辣椒疫霉菌丝生长的影响。

1.3 不同浓度 BABA 诱导辣椒抗病性的测定

将 BABA 配制成系列浓度的水溶液, 加 Tween 20 至最终浓度为 0.05%, 将其喷雾至 8 叶期椒苗上, 直至植株叶片全部湿润。对照用 0.05% Tween 20 的清水喷雾, 每处理 30 株, 处理 3 d 后的椒苗采用灌根法注入 5 mL 约 10^5 个/mL 浓度的游动孢子悬浮液, 适温保湿 24 h, 分别于接种后 7 d 调查发病情况, 发病严重度分级标准按林柏青^[7]的方法。

1.4 BABA 诱导辣椒抗病性的持效期测定

配制 1 000 $\mu\text{g/mL}$ BABA 溶液喷雾处理茄门甜椒、931 辣椒的 8 叶期幼苗, 以喷清水作对照, 处理后分别于 1、3、8、12、16 和 20 d 接种, 每次接种后 7 d 记载病情。诱抗效果的计算方法为: 诱抗效果 = $[(\text{对照病指} - \text{处理病指}) / \text{对照病指}] \times 100$ 。

1.5 BABA 诱导不同生育期甜椒抗病性差异的测定

在高感品种茄门甜椒苗 4 叶、8 叶、第 2 分枝期用浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的 BABA 溶液分别喷雾, 以清水作对照, 诱导处理 3 d 后接种, 接种后 1、3、5、7、9、11 d 记载病情, 计算诱抗效果。

1.6 BABA 处理后甜椒对不同接种体浓度的反应测定

用 1 000 $\mu\text{g/mL}$ BABA 溶液处理 4 叶期高感品种茄门甜椒苗, 3 d 后分别向茎基部土壤中注入 5 mL 浓度为 10 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 10^6 个孢子/mL 的游动孢子悬浮液, 并于 7 d 调查发病情况, 计算诱抗效果。

2 结果与分析

2.1 BABA 对辣椒疫霉菌丝生长的影响

辣椒疫霉菌在含 BABA 终浓度为 250 ~ 2 500 $\mu\text{g/mL}$ 的 V_8 CA 培养基上培养 5 d 后发现, 平板上辣椒疫霉菌 PC48 的菌丝生长速度、扩散形状和颜色等与不含 BABA 的对照基本相同, 这表明在该浓度范围内 BABA 对辣椒疫霉菌的生长速度和其它性状没有影响, 即 BABA 对疫霉菌丝没有直接抑制作用。

2.2 不同浓度 BABA 对辣椒抗病性表达的影响

用不同浓度 BABA 喷雾处理 3 d 后接种辣椒疫霉菌, 茄门甜椒、931 辣椒植株的发病情况和诱抗效果 (图 1) 表明, BABA 的浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的诱抗效果为 80% 以上, 并且对甜椒、辣椒的诱抗无差异; BABA 的浓度为 2 000 和 2 500 $\mu\text{g/mL}$ 的诱抗效果虽然达到 100%, 但处理后的甜、辣椒叶片均出现轻微退绿状药害, 因此最佳的处理浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3 BABA 诱导辣椒抗病性的持效期

8 叶期辣椒经 1 000 $\mu\text{g/mL}$ BABA 喷雾处理, 分别于其后 1、3、8、12、16、20 d 用灌根法接种 10^5 个/mL 浓度的辣椒疫霉菌孢子悬浮液, 其诱抗效果表明 (图 2), BABA 处理后 3 d 即可产生对

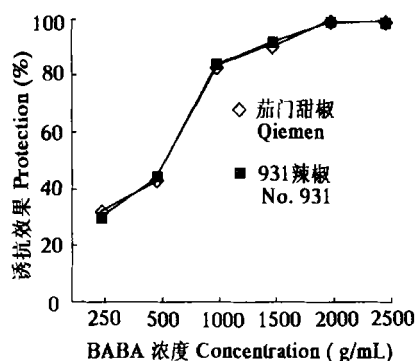


图 1 不同浓度 BABA 对辣椒抗病作用的诱导效果

Fig. 1 Protection of pepper plants against *Phytophthora capsici* infection by various dosages of DL- β amino n butyric acid (BABA)

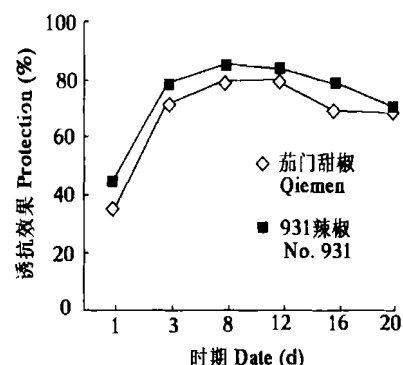


图 2 BABA 诱导辣椒抗病性的持效期

Fig. 2 Duration of chemical treatment on protection of pepper plants against *Phytophthora capsici* infection by DL- β amino n butyric acid (BABA)

疫病的抗性, 随着时间的推移, 其抗性变化波动不大, BABA 处理后 16 d 和 20 d 的诱抗效果在 70% 以上, 因此在本试验条件下, BABA 诱导抗性持久期至少有 20 d。

2.4 BABA 对不同生育期甜椒的诱导效果

4 叶期、8 叶期、第二分枝期的茄门甜椒经 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ BABA 喷雾后 3 d 用灌根法接种 10^5 个/ mL 的疫霉菌游动孢子悬浮液, 其病情指数与诱抗效果 (图 3) 表明, 随着生育期的增长, BABA 对甜椒的诱抗效果也随之增强, 接种后 11 d, 4 叶期、8 叶期、第二分枝期的诱抗效果分别为 23.3 %、77.8 % 和 85.7 %, 且都未见任何可见的药害症状; 在该条件下, 8 叶期甜椒经 BABA 处理后能取得较为理想的诱抗效果。

2.5 不同接种体浓度对 BABA 诱导甜椒抗病性表达的影响

分别用游动孢子 10 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 和 10^6 个/ mL 接种 BABA 处理后 3 d 的 4 叶期甜椒幼苗病情指数和诱抗效果 (表 1) 显示, 用游动孢子 $10 \sim 10^3$ 个/ mL 浓度接种, 诱抗效果达到 75% 以上, 而用游动孢子 $10^4 \sim 10^6$ 个/ mL 接种体的诱抗效果均低于 35%, 这说明 BABA 诱导甜椒抗病性与数量抗病性表达相似, 随着接种体浓度的增加, 其诱抗效果随之减弱。

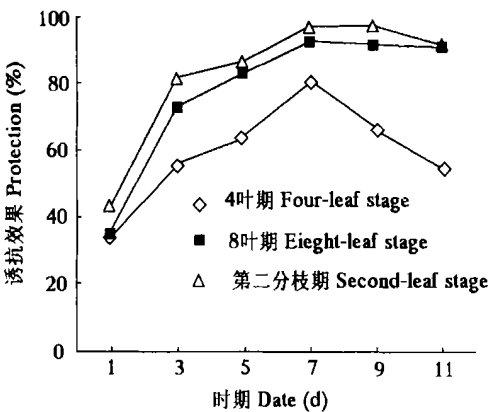


图3 不同生育期对 BABA 诱导甜椒抗病性表达的影响
Fig 3 Effect of plant growth stages on protection of pepper plant (cv.) against *Phytophthora capsici* infection by DL- β - amino n- butyric acid (BABA)

表1 不同接种体浓度对 BABA 诱导茄门甜椒抗疫病作用的影响

Table 1 Effects of challenge inoculation of pepper plants (cv.) against <i>Phytophthora capsici</i> infection by DL- β - amino n- butyric acid			
接种浓度 Concentration of inoculation (zoospores / mL)	病情指数 Disease index		诱抗效果 Induced resistance (%)
	水 Water (Control)	处理 Treatment	
10	53.3	10.0	81.2
10^2	75.0	13.6	81.9
10^3	76.0	18.3	75.9
10^4	80.0	52.4	34.5
10^5	96.0	64.0	33.3
10^6	100.0	68.0	32.0

3 讨论

β - 氨基丁酸是一种对环境安全、具有高效诱抗作用的非蛋白氨基酸^[8]。已有研究证明 BABA 可诱导番茄、马铃薯、棉花、花生、西甜瓜、花椰菜、向日葵等作物对卵菌或真菌病害的系统获得抗病性 (Systemic acquired resistance, SAR)^[4], 本试验结果表明, BABA 对甜辣椒的最佳诱抗浓度为 500~ 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 略低于诱导番茄幼苗抗晚疫病的适宜浓度^[9], 但高于诱导葡萄抗霜霉病的最佳浓度范围^[4]。BABA 的诱抗效果受辣椒生育期的影响, 随着生育期的增加, 诱抗效果也随之增强, 8 叶期辣椒经 BABA 处理后, 能获得理想的抗性效果, 4 叶期次之, 第二枝分期则更为理想。BABA 处理后的诱抗效果, 抗性表现所需的间隔期以及持久期等因不同的植物病害系统而异。辣椒经 BABA 处理, 抗性表达的间隔期为 3 d, 这种抗性效果可保持 20 d, 与 BABA 诱导葡萄抗霜霉相比, 表达较慢, 但持续时间较长。因此, BABA 是一种应用前途极为广泛的植物化学诱抗剂。

参考文献:

1 任华中, 沈火林. 辣椒抗疫病遗传与育种研究进展. 中国农业大学学报, 1996, 22 (3): 21~ 23
2 Lefebvre V, Palloix A. Both epistatic and additive effects of QTLs are involved polygenic induced resistance to disease: a case study, the interaction pepper *Phytophthora capsici* Leonian. Theor. Appl. Genet., 1996, 93: 503~ 511
3 Gamliel A, Katan J. Influence of seed and root exudates on fluorescent pseudomonas and fungi in solarized soil. Phytopathology, 1992, 82: 320~ 327
4 Cohen Y, Reuveni M, Baider A. Local and systemic activity of BABA (DL- β - amino n- butyric acid) against *Plasmopara viticola* in grapevines. Eur. J. Plant Pathol., 1994, 10: 321~ 328

- J Plant Pathol., 1999, 105: 351~ 361
- 5 Sunwoo J Y, Lee Y K, Hwang B K. Induced resistance against *Phytophthora capsici* in pepper plants in response to DL- β -amino- γ -butyric acid. Eur. J. Plant Pathol., 1996, 102: 663~ 670
- 6 谢丙炎, 朱国仁. 辣椒疫霉致病毒素. 菌物系统, 1997, 16 (4): 274~ 280
- 7 林柏青. 辣椒苗期人工接种抗疫病鉴定技术. 见: 李树德主编. 中国主要蔬菜抗病育种研究进展. 北京: 科学出版社, 1995. 539 ~ 540
- 8 李惠霞, 谢丙炎, 冯兰香. 植物化学诱抗剂的研现状与展望. 园艺学报, 2000, 27 (增刊): 539~ 545
- 9 Cohen Y. Local and systemic control of *Phytophthora infestans* in tomato plants by DL- β -amino- γ -butyric acid. Phytopathology, 1999, 84: 55~ 59

Induction of Resistance to *Phytophthora capsici* in Pepper Plants by DL- β -amino- γ -butyric acid

Xie Bingyan, Li Huixia, and Feng Lanxiang

(Institute of Vegetable and Flower, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: DL- β -amino- γ -butyric acid (BABA) that was applied as a foliar spray to pepper plants induced resistance to a challenge infection with *Phytophthora capsici*. A relatively high concentration of BABA at 1 000 μ g/mL, which had no antifungal activity in vitro against *P. capsici*, was required to induce resistance against *Phytophthora* blight with a foliar and stem spray, thus leading to complete control of the disease. About 3 days interval between BABA-treatment and challenge inoculation was sufficient to induce resistance in pepper plants, and the induced resistance could be retained more than 20 days after BABA-treatment. High inoculum levels of *P. capsici* caused *Phytophthora* development slowly in pepper foliar treated with BABA, especially at early plant growth stage, which suggests that the induced resistance in pepper plants may be more quantitative rather than qualitative.

Key words: Pepper; *Phytophthora* blight; BABA; Induced resistance

中国园艺学会第九届第二次常务理事扩大会议纪要

会议于 2001 年 1 月 24 日在中国农业科学院蔬菜花卉研究所由朱德蔚理事长主持召开。讨论决定的主要内容有:

1. 增补中国园艺学会设施园艺分会会长张志斌为学会常务理事, 中国园艺学会蔬菜产业化分会会长王有田为学会理事、常务理事, 江苏省园艺学会理事长常有宏为学会常务理事。
2. 确认了中国园艺学会果树、蔬菜、观赏园艺、西瓜甜瓜四个专业委员会的挂靠单位和各专业委员会主任、副主任、委员和秘书。
3. 通过了中国园艺学会第九届各工作委员会 (国际学术交流、国内学术交流、科学普及、教育、组织、编辑、青年、财务) 主任、副主任和委员的名单。
4. 讨论通过了学会和各专业委员会、分会 2002 年的活动计划。
5. 传达中国科协和国家民政部关于学会二级组织整顿文件。根据文件精神, 讨论了中国园艺学会二级组织整顿的初步意见, 待请示中国科协后再定。
6. 会议一致同意相重扬为本届学会名誉理事长。