

黑龙江省南瓜疫病菌毒素的研究

马丽艳,崔崇士,张耀伟

(东北农业大学园艺学院,哈尔滨 150030)

摘要:辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*)是黑龙江省南瓜疫病的病原菌,其在培养液中培养时可分泌毒素,该毒素能引起南瓜叶片产生水渍状褐腐斑,及幼苗的萎蔫,类似病原菌侵染后产生的症状。Plich's 培养液有利于 *P. capsici* 的生长和产毒,而胡萝卜汁培养液只是有利于其生长,不利于产毒。用稀释不同浓度的毒素液处理南瓜幼苗,其叶片中 POD 活性及 MDA 含量呈升高后又下降的趋势,但在整个处理时期内都比对照(蒸馏水)的含量高。这与用辣椒疫霉孢子悬浮液(5 000 个孢子/ml(毫升))处理的幼苗表现一致。这说明辣椒疫霉所分泌的毒素可能在其对南瓜的致病过程中起着重要的作用。

关键词:南瓜;辣椒疫霉毒素;POD 活性;MDA 含量

中图分类号:S642.1;S436.421.1⁺4 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2003)04-0052-02

南瓜是我国居民喜爱的重要蔬菜品种之一,其营养价值及药用价值日益受到人们的重视。近些年我国南瓜种植面积不断增加,该产业的发展受到南瓜病害的威胁,尤其是南瓜疫病,据调查在黑龙江省南瓜疫病造成的损失一般为 10%~30%,严重时近于绝产。文景之等鉴定黑龙江省南瓜疫病是由 *Phytophthora capsici* Leonian 引起的,该菌属鞭毛菌亚门疫霉属,被称为辣椒疫霉菌^[6]。该菌可分泌毒素,该毒素在对辣椒疫病的致病过程中起着重要的作用^[1],但在南瓜疫病中的作用还没有报道,为此我们做了以下的试验。

1 试验材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 2001 年 8 月在黑龙江省双鸭山宝山镇采集、分离并纯化,得到单孢菌株,经鉴定该菌亦为辣椒疫霉菌,在 CA 培养基上保存。

1.1.2 南瓜品种 南瓜感病品种 DX-1,由东北农业大学园艺学院大白菜籽用南瓜研究室提供。

1.1.3 液体培养基 Plich's 培养液:1 000 ml(毫升)培养液中含 KH_2PO_4 5 g(克), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.0 g(克),天门冬酰胺 1.0 g(克), VB_1 0.1 g(克),酵母浸膏 5 g(克),蔗糖 25 g(克)。胡萝卜汁培养液:用 200 g(克)胡萝卜切碎后,煮沸 30 min(分钟),经 2 层纱布过滤后用蒸馏水定容至 1 000 ml(毫升)。灭菌前 pH 调至 6.5。

1.2 方法

1.2.1 毒素的提取与纯化 方法参考文献 1 略有修改。

1.2.2 毒素组分的测定 用考马斯亮蓝染料比色法测定,以牛血清白蛋白做标准曲线。用蒽酮法测定糖的含量。

1.2.3 毒素对南瓜的致病性测定 幼苗浸渍法:用南瓜感病品种,第一片真叶完全展开,第二片真叶 1/2 展开的幼苗,经无菌水处理后,移入盛有毒素液的三角瓶中 24℃~26℃ 光照处理,观察其发病症状。离体叶片浸渍法:在培养皿中铺上一层滤纸并加 5 ml(毫升)致病毒素液使滤纸完全浸湿,用南瓜 DX-1,取 4 叶期的第 2 片叶,3 次重复,用 12 mm(毫米)的打孔器打成叶片圆盘,叶正面朝下平铺在滤纸上,在上面再铺一层小片滤纸,防止叶片翻卷。置 24℃~26℃ 光照培养箱中培养。观察叶片的病理变化。这两种方法都用蒸馏水、

未接菌的培养液及病原菌孢子悬浮液(5 000 个孢子/ml(毫升))做对照进行同步观察与测定。

1.2.4 毒素处理后对寄主 POD 活性、MDA 含量影响 酶提取液制备:取 2~3 叶期南瓜幼苗分别用稀释不同浓度的毒素溶液浸根,设蒸馏水及病原菌孢子悬浮液(5 000 个孢子/ml(毫升))为对照。在 24、32、40、48 h(小时)取样。POD 酶活性及 MDA 含量测定参照文献 4。

2 结果与分析

2.1 毒素的提取

用 Plich's 培养液提取的毒素处理南瓜幼苗,发病症状明显。子叶萎蔫,第 1 片真叶边缘萎蔫,并呈现褐色病斑。而用胡萝卜汁提取的毒素处理南瓜幼苗时,并未见明显的症状,说明胡萝卜汁不利于辣椒疫霉产毒。以下的试验均用 Plich's 培养液提取的毒素液处理。

2.2 毒素蛋白含量测定

经考马斯亮蓝 G-250 法测定毒素的蛋白质含量及蒽酮法测定糖分,结果如下:

毒素组分	含量(μg/ml)	百分比
蛋白质	204.6	80.6%
糖分	49.25	19.4%

2.3 毒素对南瓜的致病性

2.3.1 离体叶片浸渍法 用 Plich's 培养液培养,提取的辣椒疫霉毒素,处理南瓜 4 叶期的幼苗的第 2 片叶,处理 72 h(小时)后,叶片圆盘出现明显症状。叶片出现水浸状病斑,最后腐烂。这与用辣椒疫霉孢子悬浮液处理的叶片圆盘出现的症状相似。而蒸馏水和未接菌的空白培养液处理的离体叶片未出现病状。

2.3.2 幼苗浸渍法 Plich's 培养液提取的辣椒疫霉毒素处理南瓜 2~3 叶期的幼苗,24 h(小时)后幼苗开始表现萎蔫症状,子叶开始下垂,48 h(小时)后叶片边缘出现黄色至黑褐色病斑,72 h(小时)后黑褐色病斑增大,整个幼苗呈现萎蔫症状,真叶下垂。而未接菌的空白培养液与蒸馏水症状不明显。

2.4 毒素处理南瓜幼苗后 POD 活性及 MDA 含量的变化

2.4.1 POD 活性的变化 南瓜幼苗经不同浓度的毒素处理后,POD 活性在总体上呈倒“V”字型,在处理 32 h(小时)后出现活性高峰。这与用辣椒疫霉孢子悬浮液(5 000 个孢子/ml

收稿日期:2003-04-20

(毫升))处理的幼苗表现一致。不管是毒素,还是病原菌,处理后 POD 活性都表现比对照(蒸馏水)高,蒸馏水处理 POD 活性在整个处理时间内都趋于平缓状态(如图 1 所示)。

2.4.2 MDA 含量的变化 南瓜幼苗经不同浓度的毒素及辣椒疫霉孢子悬浮液处理后,其叶片中 MDA 含量呈升高后又下降的趋势,但在整个处理时期内都比对照(蒸馏水)的含量高,蒸馏水处理 MDA 含量处于很低的水平,并且在整个处理时期内都趋于平缓状态。而稀释 10 倍的毒素液前期 MDA 含量略低于稀释 50 倍毒素液,而后期明显高于稀释 50 倍的毒素液。说明毒素浓度越高,对南瓜幼苗叶片的伤害越大(如图 2 所示)。

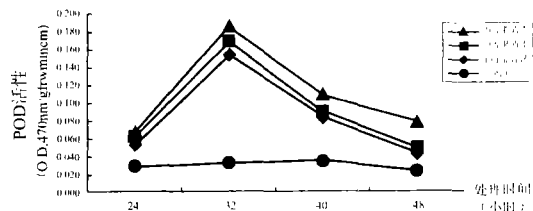


图 1 不同处理南瓜幼苗后 POD 活性变化

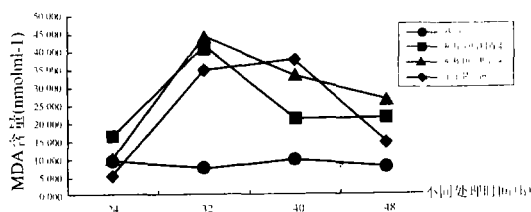


图 2 不同处理南瓜幼苗后 MDA 含量的变化

3 讨论

辣椒疫霉菌产生的毒素属于非寄主专化性的,但其在辣椒上对抗感品种的差异很明显^[1]。本文用辣椒疫霉菌毒素处

理南瓜后,能够引起南瓜叶片产生水渍状褐腐斑,与病原菌侵染南瓜后形成的病斑相似,该毒素在南瓜发病过程中,对南瓜幼苗的致萎作用很强,这两点原因证明辣椒疫霉菌毒素很可能在南瓜疫病致病过程中起重要作用。

过氧化物酶(Peroxidase, POD)与抗病性密切相关,在马铃薯、烟草、黄瓜等作物中均发现 POD 在病菌侵染后活性明显增加。其作用与细胞壁的加固有关,在细胞壁组分的生物合成中起重要作用,如木质素及伸展蛋白(HRGPs)的形成,以及有报道在病原菌侵染后 POD 在细胞壁多聚物的交联反应中起作用。POD 活性先升高后降低,且比对照蒸馏水处理明显增加,与病原菌孢子悬浮液接种后 POD 活性变化有相似的趋势,这与新疆甜瓜经疫霉菌毒素诱导后 POD 活性变化趋势相似^[5],说明该毒素可能在南瓜致病过程中起着重要的作用。

丙二醛是植物细胞膜质过氧化产物之一。是反映生物膜损伤程度的重要生化指标之一,图 2 结果表明,稀释成不同浓度的毒素和病原菌处理南瓜幼苗后,叶片中 MDA 含量明显高于健康植株,这将导致生物膜的损伤和组织的破坏。这说明毒素对南瓜幼苗有一定的伤害作用。

参考文献:

- [1] 谢丙炎,朱国仁.辣椒疫霉致病毒素[J].菌物系统,1997,16(4):274~280.
- [2] 张淑珍.大豆疫霉根腐病菌毒素及其诱导抗性机制的研究[D].博士学位论文,2002.
- [3] 李冠,马剑.新疆甜瓜疫霉菌毒素的分离及其致病效应(简报)[J].植物生理学通讯,1995,31(2):112~114.
- [4] 董金皋,王江柱.植物病原真菌毒素活性测定方法[C].植物病原菌研究进展,61~73.
- [5] 高鸣宇,蒋萍,李冠.新疆甜瓜经疫霉菌毒素诱导后酶活性的变化(简报)[J].植物生理学通讯,1998,34(4):256~258.
- [6] 文景芝,贾文香等.黑龙江省南瓜死秧烂秧病原菌的研究[J].东北农业大学学报,1997,28(3):223~227.

北方寒地温室桃缺锌性生理障碍及防止对策

李忠贤¹,薛志有²,白胜林³,高桂生³,刘景占³

随着农业产业结构的调整,双鸭山市一些浅山区的坡地上,栽培了一些温室桃,由于浅山区坡地上土壤多为砾底暗棕壤,栽培不当导致锌的吸收量低,出现了缺锌现象。对此,我们进行了系统的观察和矫治工作,收到了较好的效果,现将其主要症状,发病原因及矫治技术简介如下。

1 症状

叶片褪绿,从基部叶开始向上发展为花叶,叶片变狭窄,叶小,皱缩,枝梢近顶部叶由于枝梢节间缩短而簇生,呈莲座状,由下而上落叶。枝梢节间缩短。病枝以下可再发新梢,新梢初期生长正常,但后期细弱,变形,颜色不均,随着生长先端节间缩短。花芽少,果实小,畸形,无食用价值。

2 发病原因

砾底暗棕壤的土层较浅部分使桃树立地条件不好,加上栽树时没有针对性地挖大挖深树坑(穴)和回填黑土,生长过程中导致根系伸展不开,卷曲,吸收微量营养元素不良,最终

缺锌。

3 矫治技术

3.1 栽树时有针对性地挖大挖深树坑(穴),要回填黑土,增施有机肥,要特别注意配施足量的锌肥,每株树施 100 g~150 g(克)硫酸锌,与回填的黑土和增施的有机肥混匀,填入树坑(穴),为树创造一个良好的立地条件,一般土壤施锌肥,肥效期较长,可维持 3~5 年。

3.2 也可花后 20 d(天)喷 0.1%~0.2% 的硫酸锌溶液或 300 mg/L(毫克/升)的环烷酸锌溶液。

3.3 在病枝下端健部 10 cm(厘米)左右处涂抹 0.5% 硫酸锌溶液,环枝涂抹一圈,环涂部位长 15 cm~30 cm(厘米),也会收到满意的疗效。疗效可维持 2~3 年。

(1. 黑龙江省双鸭山市种子管理处,155100;2. 黑龙江省集贤县农业技术推广中心,155900;3. 黑龙江省双鸭山市蔬菜研究所,155100)