

外源壳聚糖对霜霉病胁迫下黄瓜幼苗抗性指标的影响

顾丽婧¹, 李朝辉², 乔永旭¹

(1.唐山师范学院 生命科学系, 河北 唐山 063000; 2.唐山市植物检疫站, 河北 唐山 063000)

摘要:为研究外源壳聚糖(CTS)对黄瓜幼苗抗霜霉病的诱导作用,采用菌悬液叶面喷洒的方法,测定了黄瓜幼苗在白粉病菌侵染下叶绿素含量,过氧化氢酶(CAT)活性,丙二醛(MDA)含量,脯氨酸含量,可溶性糖和蛋白含量的变化。结果表明:CTS处理增加了黄瓜幼苗的叶绿素、可溶性糖和蛋白的含量,提高了CAT的活性,降低了MDA和游离脯氨酸的含量,说明CTS有利于提高黄瓜幼苗对霜霉病菌的抗性,其最适浓度为150 mg/L。

关键词:霜霉病胁迫;壳聚糖;黄瓜幼苗;抗性

中图分类号:S 482.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)05-0164-03

壳聚糖(Chitosan, CTS)为氨基多糖类聚合物,可调节植物基因的开放与关闭,促进植物细胞活化和蛋白质合成,刺激植物快速生长^[1]。也可作为土壤改良剂、植物生长调节剂、种子包衣剂、果蔬保鲜剂和杀菌剂等,尤其在抑制植物病害方面已逐渐成为研究的热点。大量研究表明,CTS可诱导植物产生抵御病原物质的抗性蛋白^[2],这是CTS在植物抗病害方面比较独特的一点^[3]。Ghaouth 则认为0.1、0.4 mg/mL的CTS可诱导黄瓜根和叶组织产生抗菌的水解酶类,致使入侵的病原真菌细胞壁松弛,细胞解体^[4],对植物病原微生物,如病原细菌、病毒、类病毒和病原真菌等还有直接抑制作用。

霜霉病(*Pseudoperonospora cubensis*)是我国保护地春、秋黄瓜栽培中的常见病害,该病发生早、传播快、危害重,造成产量损失通常在20%以上,严重时可达50%^[5]。化学农药虽能快速有效起到一定的防治作用,但同时也带来了环境污染和抗药性等一系列问题,严重影响人类健康。现以黄瓜幼苗为试材,探讨不同浓度的CTS对霜霉病菌侵染下黄瓜幼苗叶绿素含量、防御酶活性及游离脯氨酸、可溶性糖和蛋白含量的影响,为利用CTS诱导黄瓜幼苗抗霜霉病提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黄瓜品种选用“唐山秋宝1号”(唐山市农业科学研究院科技开发中心),CTS的分子量为3 000。

1.2 试验方法

1.2.1 材料培养 选取颗粒饱满一致的黄瓜种子,用0.1%的高锰酸钾溶液浸泡30 min,无菌水冲洗干净。再用温水浸泡3 h,28℃温箱催芽,每天用无菌水冲洗2次。3~4 d后,挑选发芽一致的种子播种于普通温室,育苗基质为沙土:蛭石=3:2。

1.2.2 材料处理 将材料分成5组,分别为1:空白处理(CK);2:霜霉病胁迫处理(T₁);3:100 mg/L CTS+霜霉病胁迫(T₂);4:150 mg/L CTS+霜霉病胁迫(T₃);5:200 mg/L CTS+霜霉病胁迫(T₄)。当黄瓜幼苗第2片真叶初展时,用不同浓度的CTS溶液对T₂~T₄黄瓜幼苗进行均匀喷洒,CK用等量蒸馏水喷施。第2天,对T₁~T₄接种霜霉病菌,病菌从田间黄瓜霜霉病病叶采集,配成浓度为40倍镜下10个以上孢子囊的菌悬液,将植株第2片真叶完全浸没于孢子悬浮液中约5 s。每组处理10株,重复3次,分别取6、12 h和1、2、3、4、5 d的黄瓜幼苗叶片,称重后立即放入液氮中保存供测定使用。

1.2.3 生理指标测定 叶绿素含量采用80%丙酮法测定^[6];过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外分光光度法^[7];MDA含量采用硫代巴比妥酸比色法测定^[8];脯氨酸含量采用磺基水杨酸提取茚三酮显色法测定^[9];可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[10];可溶性蛋白含量用考马斯亮蓝比色法测定^[11]。

2 结果与分析

2.1 CTS对霜霉病胁迫下黄瓜幼苗叶绿素含量影响

由图1可知,霜霉病胁迫下黄瓜幼苗的叶绿素含量逐渐降低。2 d内下降缓慢,以后下降幅度增加。CTS处理4 d内,随着浓度的提高,植株叶绿素含量逐渐升高。4 d至胁迫结束,其叶绿素含量由高到低依次为T₃,

第一作者简介:顾丽婧(1976-),女,山西汾阳人,硕士,讲师,现主要从事生物防治方面的研究工作。

基金项目:唐山师范学院发展基金资助项目(09D04)。

收稿日期:2009-12-14

T₄, T₂。霜霉病胁迫结束时分别达到了最高值。100、150、200 mg/L CTS 处理+霜霉病胁迫与只进行霜霉病胁迫相比, 叶绿素含量提高了11.1%、23.0%和22.2%。

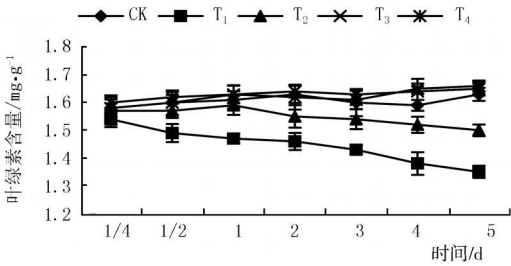


图1 CTS 对霜霉病胁迫下黄瓜幼苗叶绿素含量的影响

2.2 CTS 对霜霉病害胁迫下黄瓜幼苗 CAT 活性的影响

由图 2 可知, 霜霉病胁迫下黄瓜幼苗的 CAT 活性呈下降趋势。施用 CTS 能明显延缓 CAT 活性的下降, 不同浓度对 CAT 活性的影响不同, 其中 150、200 mg/L 的 CTS 比 100 mg/L 的更能减缓霜霉病胁迫下 CAT 活性的下降。

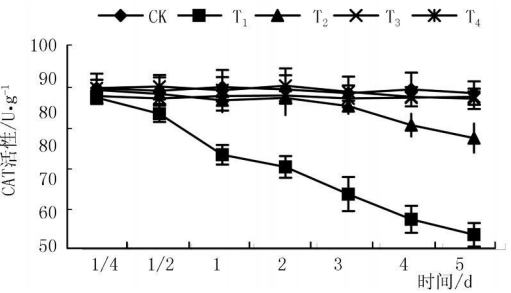


图2 CTS 对霜霉病胁迫下黄瓜幼苗 CAT 活性的影响

2.3 CTS 对霜霉病害胁迫下黄瓜幼苗 MDA 含量影响

由图 3 可知, 霜霉病胁迫下幼苗的 MDA 含量呈上升趋势。1 d 内增加缓慢, 之后上升显著。CTS 处理能明显减缓霜霉病胁迫下 MDA 上升。其中 150、200 mg/L 的 CTS 能明显缓解 MDA 的上升幅度, 且 200 mg/L 的 CTS 处理的效果最好。

2.4 CTS 对霜霉病害胁迫黄瓜幼苗游离脯氨酸含量影响

由图 4 可知, 霜霉病胁迫下, 黄瓜幼苗的游离脯氨酸含量持续增加。CTS 处理后, 植株的游离脯氨酸含量均明显增加, 不同 CTS 浓度下其增加的幅度差异不大。

2.5 CTS 对霜霉病害胁迫黄瓜幼苗可溶性蛋白含量影响

由图 5 可知, 霜霉病害胁迫下黄瓜幼苗可溶性蛋白含量呈增加的趋势, 在霜霉病胁迫初期, 其含量与 CK 比较无明显变化。2 d 后逐渐上升。在测定的各个时期, 均以 150 mg/L CTS 处理的可溶性蛋白含量最高, 以第 4、5 天最为明显, 与只进行霜霉病胁迫相比分别增加了

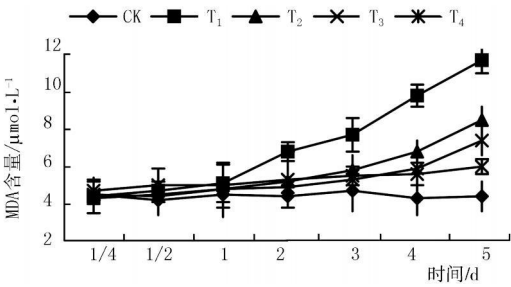


图3 CTS 对霜霉病胁迫下黄瓜幼苗 MDA 含量的影响

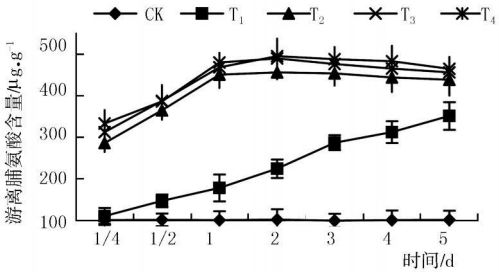


图4 CTS 对霜霉病胁迫下黄瓜幼苗游离脯氨酸含量的影响

19.9%和 18.9%。在 100、200 mg/L CTS 处理的比较来看, 二者数值没有明显变化。说明 150 mg/L CTS 为影响黄瓜幼苗可溶性蛋白含量的最佳浓度。

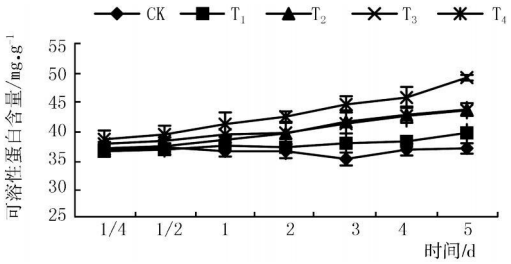


图5 CTS 对霜霉病胁迫下黄瓜幼苗可溶性蛋白含量的影响

2.6 CTS 对霜霉病害胁迫下黄瓜幼苗可溶性糖含量影响

由图 6 知, 可溶性糖含量与可溶性蛋白的变化相似, 都是随着霜霉病胁迫时间的延长而增加。CTS 处理后的可溶性糖含量均有一定程度的上升。在测量的各个时期, 黄瓜幼苗可溶性糖含量由高到低均为 T₃、T₄、T₂。三者在霜霉病胁迫的 2 d 内其含量上升缓慢。2 d 后上升幅度增加。在第 5 天, 100、150、200 mg/L CTS 与霜霉病胁迫相比, 可溶性糖分别增加了 4.3%、18.9%和 9.8%。说明 150 mg/L CTS 为影响黄瓜幼苗可溶性糖的最佳浓度。

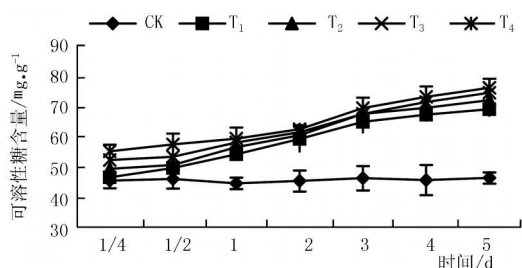


图6 CTS对霜霉病胁迫下黄瓜幼苗可溶性糖含量的影响

3 结论与讨论

叶绿素含量关系到植物光合作用的强度,其含量与光和速率呈正相关^[12]。研究表明,霜霉病胁迫下黄瓜幼苗的叶绿素含量呈下降趋势。不同浓度CTS处理后,其含量均有不同程度的升高。其中以150 mg/L CTS的变化最显著,说明150 mg/L CTS是对霜霉病危害下黄瓜幼苗叶绿素含量的最佳浓度。CAT是植物体内清除H₂O₂的主要酶之一^[13]。该研究中,霜霉病胁迫下,黄瓜幼苗CAT活性随着胁迫时间的延长而下降,通过CTS处理的CAT活性均有所提高,短时间内以100 mg/L CTS浓度最佳,高浓度CTS在胁迫初期会抑制CAT活性,但可长时间保持CAT活性。MDA是细胞膜脂质过氧化的主要产物之一,其含量的高低是细胞膜脂质过氧化的强弱和质膜破坏程度的重要指标。经CTS处理后,MDA含量均有一定程度的下降。

游离脯氨酸、可溶性蛋白和糖类是植物体内3种重要的渗透调节物质。当植株受到病害胁迫时,植物体内常积累大量的游离脯氨酸、可溶性蛋白和糖类,使植物保持一定的含水量和膨压,以维持细胞正常的功

能^[14],这在该试验中体现的非常明显。霜霉病害胁迫下,黄瓜幼苗的游离脯氨酸、可溶性蛋白和糖类的含量均升高。经CTS处理后,其含量均有一定程度的升高,其中以150 mg/L的浓度为最佳。

参考文献

- [1] 杜昱光,白雪芳,虞星炬,等.寡聚糖类物质生理活性的研究[J].中国生化药物杂志,1997,18(5):268-270.
- [2] 马鹏鹏,何立干.壳聚糖对植物病害的抑制作用研究进展[J].天然产物研究与开发,2001,13(6):82-86.
- [3] 张宓,谭天伟,袁会珠,等.壳聚糖杀虫与壳低聚糖抑菌活性研究[J].北京化工大学学报,2003,30(4):13-16.
- [4] 马鹏鹏,何立干,高天洲.不同脱乙酰度壳聚糖对植物病原细菌的抑制作用研究[J].北京联合大学学报(自然科学版),2003,17(3):28-31.
- [5] 蒲丽,康占海,蒋家珍,等.SO₂作为杀菌剂防治黄瓜灰霉病的研究[J].植物病理学报,2005,35(6):186-187.
- [6] 李茂富,李绍鹏,赵雄峰.壳聚糖提高香蕉幼苗抗冷性的效应[J].植物生理学通讯,2005,41(4):464-466.
- [7] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版公司,2000:36-38.
- [8] 王根轩,杨成德,梁厚果.蚕豆针叶发育与衰老过程中超氧化物歧化酶活性与丙二醛含量变化[J].植物生理学报,1989,15(1):13-17.
- [9] 张殿忠,汪沛洪,赵云.测定小麦叶片中脯氨酸含量的方法[J].植物生理学通讯,1990(4):62-65.
- [10] 西北农业大学植物生理生化教研组.植物生理学实验指导[M].西安:陕西科学技术出版社,1987:51-55.
- [11] 高俊凤.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2006:74-75.
- [12] 张殿忠,汪沛洪,赵云.测定小麦叶片中脯氨酸含量的方法[J].植物生理学通讯,1990(4):62-65.
- [13] 张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导[M].3版.北京:高等教育出版社,2000:72-73.
- [14] 李林峰,刘新田.干旱胁迫对桉树幼苗的生长和某些生理生态特性的影响[J].西北林学院学报,2003,19(1):14-17.

Effects of Exogenous Chitosan on the Resistance of Cucumber Seedlings under *Pseudoperonospora cubensis* Stress

GU Li-qiang¹, LI Zhao-hui², QIAO Yong-xu¹

(1. Tangshan Teachers College, Tangshan, Hebei 063000; 2. Tangshan Plant Quarantine Station, Tangshan, Hebei 063000)

Abstract: The study was to reveal effects of exogenous chitosan on the resistance of cucumber seedlings (Qiubao No. 1) under *Pseudoperonospora cubensis* stress. To measure the content of chlorophyll, MDA, proline, soluble protein and sugar, and the activity of CAT. The results showed that in the treatment of chitosan can increased the content of chlorophyll, proline, the activity of CAT, and reduced the content of MDA, increased the content of soluble protein and sugar, chitosan were beneficial to the cucumber seedlings against *Pseudoperonospora cubensis*. 150 mg/L were the optimal concentration of Chitosan.

Key words: *Pseudoperonospora cubensis* stress; exogenous chitosan; cucumber seedlings; resistance