

几种化学诱导剂对番茄白粉病抗性的诱导作用

朱路路, 李 帅, 李景富, 许向阳, 姜景彬

(东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:以感白粉病番茄品种 09888 为试材, 分别用不同浓度的 β -氨基丁酸(BABA)、苯并噻二唑(BTH)、壳质糖(CTS)及硅酸钾(K_2SiO_3)喷雾处理番茄幼苗, 随后全株接种白粉菌, 研究其对番茄白粉病抗性的诱导作用。结果表明: BABA 和 BTH 的诱导效应最为明显, 诱导番茄对白粉病产生抗性, 显著降低了病情指数, 其最高相对防效分别达 67.50% 和 64.00%, 并提高了与抗病有关的过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)的活性。其中 BABA 的最佳诱导浓度为 500 mg/L, BTH 为 50 mg/L。

关键词:番茄白粉病; 诱导剂; 诱导抗病性

中图分类号:S 436.412.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)20-0109-03

番茄白粉病(*Oidium neolycopersici*)是番茄生产栽培中的主要病害之一, 其危害严重, 给育种者和农户都造成巨大的经济损失。目前, 喷施化学农药是防治此病害的主要途径, 但是, 化学药剂无疑带来环境污染和食品安全问题, 而且长期使用农药还会使病菌产生抗药性。因此, 寻求一种新的防治途径迫在眉睫。近年来, 利用抗病诱导剂诱导植物抗病性已成为一种潜在的防病方法。 β -氨基丁酸、苯并噻二唑、壳质糖及硅酸钾作为外源化学物质已经在多种作物的诱导抗病性中进行了研究^[1-4], 但其在番茄白粉病上的研究机理至今尚鲜见报道。

β -氨基丁酸(DL- β -amino-n-butyric acid, BABA)是由番茄根分泌的一种非蛋白类氨基酸, 已有研究报道, BABA 可诱导马铃薯、番茄、烟草、莴苣、豌豆、葡萄等获得系统抗性(Systemic Acquired Resistance, SAR)^[1]。苯并噻二唑(Benzothiadiazole, BTH)能诱导烟草、黄瓜、小麦和向日葵等多种作物产生 SAR^[2,5]。壳质糖(Chitosan, CTS)是甲壳质(Chitin)脱乙酰基后由 β -1,4-糖苷键链接起来的线性高分子化合物, 属氨基多糖类聚合物, 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^[3]。大量研究表明, 壳质糖可以诱导多种植物产生抗性^[6-8], 并且可诱导植

株产生抗性蛋白-病程相关蛋白(Pathogenesis related proteins, PRs)如 β -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶等, 可抑制病菌生长, 从而达到抵抗能力。硅元素是地球表面第二大富足元素, 但是它在植物中诱导抗病的作用却还不太清楚。近几年来, 大量研究试验利用硅抵抗植物真菌病害, 一些研究已经证实硅可以诱导番茄、黄瓜、芒果、葡萄、草莓和小麦对白粉病产生抗性^[4,9-10]。Cherif 等^[11]研究硅对黄瓜腐霉菌的诱导抗性时发现使用硅处理后, 植物体内积累了大量与抗性有关的几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶、 H_2O_2 、酚类物质。

该试验在番茄幼苗期喷雾不同浓度 BABA、BTH、CTS 和硅酸钾(K_2SiO_3), 并接种白粉菌, 研究了 4 种诱导剂对番茄抗白粉病的诱导能力, 以得出对番茄白粉病诱抗的最佳试剂及最佳浓度, 并研究了诱导剂对白粉病菌侵染下番茄的病情指数和防御酶活性的影响, 探讨诱导剂诱导番茄幼苗抗白粉病的效果及可能的生理机制, 以期在生产上对抗番茄白粉病提供新的解决思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

番茄品种为 09888(感病)由东北农业大学番茄研究所提供, 试验于玻璃温室中进行。

1.2 试验方法

1.2.1 诱导剂处理 BABA、BTH、CTS、 K_2SiO_3 分别用双蒸水配制, 其中 CTS 用柠檬酸作为溶剂。BABA 浓度分别为 250、500、1 000 mg/L; BTH 的浓度分别为 25、50、75 mg/L; CTS 的浓度分别为 20、40、60 mg/L; K_2SiO_3 浓度分别为 100、200、300 mg/L。待番茄幼苗长至 6 叶期开始进行喷雾处理, 以叶面湿润为准。以喷施等量清水为对照(CK)。每个处理设 3 个小区, 每个小区 20 株。

第一作者简介:朱路路(1987-), 女, 硕士, 研究方向为种质资源的研究和利用。E-mail: flytolulu@126.com

责任作者:李景富(1943-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事番茄遗传育种研究工作。E-mail: Lijf_2005@126.com

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划资助项目(2012BAD02B02-7)。

收稿日期:2013-05-15

1.2.2 白粉菌接种 接种白粉菌采自该温室自然发病的番茄植株,将白粉菌抖落于2片真叶展开期的番茄植株上进行培养,每隔15 d繁殖1批菌种,供试验用。4种试剂处理后分别间隔1、3、5、7、9、11、13 d后全株接种白粉菌,接种时用毛笔将白粉菌孢子刷入装有清水的玻璃杯中,配制孢子悬浮液为 4×10^4 个/mL进行喷雾接种。

1.2.3 白粉菌病情指数和诱导效果测定 4种试剂诱导处理后第15天对番茄幼苗进行病情调查,计算病情指数和相对防效。番茄白粉病的分级标准采用陈林年^[12]的6级分级标准:0级:不发病;1级:叶片有粉斑,茎秆、叶柄无病斑;2级:叶片有粉斑,叶柄病斑 $\leq 5\%$,茎秆上无病斑;3级:叶片有粉斑,叶柄病斑 $\leq 30\%$,茎秆上无病斑;4级:叶片有粉斑,叶柄病斑 $\geq 30\%$,茎秆上有病斑;5级:叶片干枯,叶柄上有病斑。

1.2.4 生理生化指标测定 分别于诱导后第2、5、8、11、14天剪取幼苗真叶,进行各项生理生化指标的测定。

1.3 项目测定

病情指数 $=100 \times \Sigma(\text{各级病叶数} \times \text{各级代表值}) / (\text{调查总叶数} \times \text{最高级代表值})$,相对防效 $(\%) = [(\text{对照病指} - \text{处理病指}) / \text{对照病指}] \times 100$ 。POD活性测定参照张龙翔等^[13]的方法。CAT活性测定参照Cakmak等^[14]的方法。

1.4 数据分析

试验数据采用SAS软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同诱导剂处理对番茄白粉病病情指数的影响

由表1可知,4种诱导剂处理的番茄幼苗在一定程度上都产生了抗性,与CK相比都达到极显著差异水平。

表1 不同诱导剂处理对番茄白粉病的病情指数的影响

Table 1 Effect of treated with different inducers on disease index of susceptible tomato

诱导剂	浓度	病情指数	相对防效
Inducers	Concentration/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	Disease index	Relative cure effect/%
BABA	250	28.00deE	58.00
	500	21.67eE	67.50
	1 000	28.33deDE	57.50
BTH	25	28.67cdCDE	57.00
	50	24.00deE	64.00
	75	26.00cdCDE	61.00
CTS	20	45.67bB	31.50
	40	39.67bcBC	40.50
	60	40.33bcBCD	39.50
K_2SiO_3	100	42.00bBC	37.00
	200	47.67bB	28.50
	300	42.33bBC	36.50
CK	—	66.67aA	—

注:小写字母表示在5%水平上差异显著;大写字母表示在1%水平上差异极显著。

Note: Lowercase letters indicate a significant level of 5%; uppercase letters indicate a significant level of 1%.

其中BTH和BABA的效果最为显著,在BABA和BTH处理上,不同浓度的溶液对番茄诱导抗性也有差异,其中BABA的最佳浓度为500 mg/L,在此浓度下达到了67.50%的相对防效;BTH的最佳浓度为50 mg/L,且其相对防效达64.00%,说明BABA和BTH能有效的诱导番茄抵抗白粉病的侵害。

2.2 BABA和BTH处理对番茄叶片过氧化氢酶(CAT)活性的影响

由图1可知,在诱导剂BABA和BTH处理初期叶片的CAT活性差别不大,在处理2 d后CAT活性迅速升高,明显高于CK,并且可以看出BABA和BTH处理上无明显差别。在BABA和BTH处理后第8天,CAT活性都达到最大值,其中BABA和BTH处理的CAT峰值分别比CK高62.16%和60.00%。第9天开始有下降趋势,说明诱导剂对番茄抵抗白粉病有一定的持续时间。

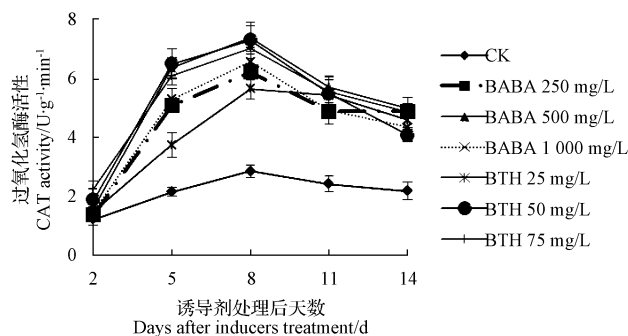


图1 BABA和BTH处理对番茄叶片CAT活性的影响

Fig. 1 Effects of BABA and BTH treatments on CAT activity in leaves of tomato

2.3 BABA和BTH处理对番茄叶片过氧化物酶(POD)活性的影响

由图2可知,BABA和BTH处理对番茄叶片中POD活性的影响变化趋势基本一致。在处理初期,POD活性随诱导剂处理时间延长而呈上升趋势,到达第8

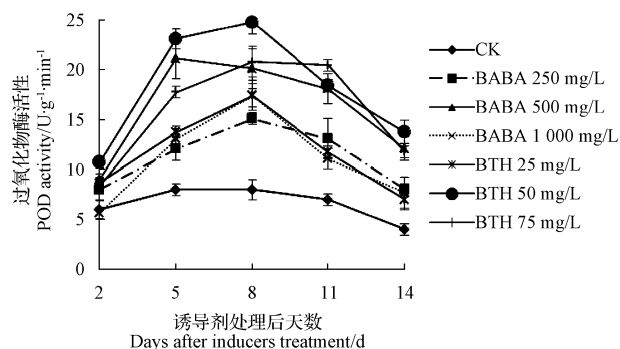


图2 BABA和BTH处理对番茄叶片POD活性的影响

Fig. 2 Effects of BABA and BTH treatment on POD activity in leaves of tomato

天,各自到达峰值,随后开始下降。500 mg/L BABA, 50 mg/L 以及 25 mg/L 的 BTH 处理的叶片 POD 活性相对高于其它浓度的处理。其中处理 2 d 后,BABA 和 BTH 处理的 POD 值分别比 CK 高 30.80%和 43.77%。第 8 天峰值分别比 CK 高 60.00%和 67.57%。

3 讨论

近年来,诱导剂 BABA、BTH、CTS、 K_2SiO_3 在多种作物的诱导抗病中已有一些研究,Yanar 等^[9]报道了 K_2SiO_3 可诱导大田番茄对白粉病产生抗性,而对该试验中的其它 3 种诱导剂是否可诱导番茄对白粉病产生抗性并未有相关报道。该试验结果表明,所选 4 种诱导剂都可以在一定程度上降低番茄的病情指数,其中 BABA 和 BTH 的诱导效果最佳,最佳诱导浓度分别为 500 mg/L 和 50 mg/L。诱导剂处理后能激发植物的防卫系统,与植物抗病相关的酶,如 POD、CAT、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、超氧化物歧化酶(SOD)等可以作为植物产生抗性的生理指标之一。该试验结果表明,喷施诱导剂 BABA 和 BTH 的番茄幼苗体内 POD 活性、CAT 活性明显高于 CK,并在诱导剂处理第 8 天达到高峰,诱导剂处理后的番茄可能就是通过提高这些防御酶的活性来抵抗病菌的侵入,从而产生抗性。但是,关于诱导剂可以诱导植物产生抗性的机理并没有一个确切的报道,不过大量报道都指出诱导剂诱导抗性时总会伴随一些生理生化反应,如活性氧的释放,一些病程相关蛋白(Pathogenesis related proteins, PRP/PRs),植保素的积累以及系统获得性抗性(SAR)的产生等反应来抵制病害入侵危害植物体。

诱导剂诱导植物对病害产生抗性有着十分重要的现实应用价值,其最为重要的因素是不会对环境造成污染,为开辟新型植物抗性药物提供参考。但是关于诱导剂诱导抗性在大田生产中还需大量试验,以及其作用机制还需要进一步深入研究。

参考文献

- [1] Cohen Y, Rubin A, Vaknin M. Post infection application of DL-3-amino-n-butyric acid (BABA) induces multiple forms of resistance against *Bremia lactucae* in lettuce[J]. Eur J Plant Pathol, 2011, 130: 13-27.
- [2] Grolach J, Volrath S, Knauf-Beiter G, et al. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat[J]. Plant Cell, 1996, 8(4): 629-643.
- [3] 尚庆茂, 张志刚, 宋士清, 等. 壳质糖诱导黄瓜幼苗抗灰霉病[J]. 植物保护学报, 2007(4): 36-140.
- [4] Bowen P, Menzies J, Ehret D. Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grape leaves[J]. J Am Soc Hort Sci, 1992, 117(6): 906-912.
- [5] Tosi L, Luigetti R, Zazzerini A. Benzothiadiazole induces resistance to *Plasmopara helianthi* in sunflower plants[J]. Journal of Phytopathology, 1999, 147(6): 365-370.
- [6] 马鹏鹏, 何立千. 壳质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.
- [7] Bol J F, Linthorst H J M, Cornelissen B J C. Plant pathogenesis related proteins induced by virus infection[J]. Annu Rev Phytopathol, 1990(28): 113-138.
- [8] Broekaert W F, Van P J, Allen A K, et al. Comparison of some molecular enzymatic and antifungal properties of chitinases from thorn apple, tobacco and wheat[J]. Physiological and Molecular Plant Pathol, 1988, 33: 319-331.
- [9] Yanar Y, Yanar D, Gebologlu N. Control of powdery mildew (*Leveillula taurica*) on tomato by foliar sprays of liquid potassium silicate(K_2SiO_3)[J]. Afr J Biotechnol Vol, 2011, 10(16): 3121-3125.
- [10] Reuveni M, Harpaz M, Reuveni R. Integrated control of powdery mildew on field-grown mango trees by foliar sprays of mono-potassium phosphate fertilizer, sterol inhibitor fungicides and the strobilurin Kresoxym-methyl[J]. Eur J Plant Pathol, 1998, 104: 853-860.
- [11] Cherif M, Asselin A, Belanger R R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp[J]. Phytopathology, 1994, 84: 236-242.
- [12] 陈林年, 张玉梅, 史登玉, 等. 不同药剂防治加工番茄白粉病试验研究初报[J]. 农业科技与信息, 2007(2): 30-31.
- [13] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化试验方法和技术[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1997.
- [14] Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of super-oxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves[J]. Plant Physiol, 1992, 98: 1222-1227.

Study on the Resistance Induced by Several Chemicals Against Powdery Mildew in Tomato

ZHU Lu-lu, LI Shuai, LI Jing-fu, XU Xiang-yang, JIANG Jing-bin

(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: Taking tomato variety 09888 which was susceptible to tomato powder mildew as material, the induced resistance of different concentrations of β -amino butyric acid (BABA), benzothiadiazole (BTH), chitin sugar (CTS) and potassium silicate(K_2SiO_3) to tomato powder mildew were investigated. Four chemicals were spraying at seedling stage and then the whole plant was inoculated with powdery mildew. The results showed that the inductive effect of BABA and BTH were the most obvious and the biggest relative cure effect were 67.50% and 64.00% respectively. BABA and BTH can induce tomato resistant to powdery mildew and improve the activities of disease-related enzymes, such as catalase (CAT) and peroxidase (POD). The effects of 500 mg/L BABA and 50 mg/L BTH were significantly better than others.

Key words: tomato powdery mildew; inducer; induced resistance