

# 不同抗性的黄瓜幼苗对接种霜霉病菌的生理响应

李丽霞, 付镇芳, 贺会强, 李玉红

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:**以黄瓜抗病品种“津春4号”和感病品种“长春密刺”为试材,在接种黄瓜霜霉病菌后0.5、1、2、4、7 d对叶片的丙二醛(MDA)、可溶性糖、可溶性蛋白含量和乙烯释放量进行了检测,并分析了这些生理变化与黄瓜霜霉病抗性之间的关系。结果表明:抗病品种黄瓜叶片中MDA含量、乙烯释放量低于感病品种,而可溶性糖、可溶性蛋白含量则高于感病品种。表明抗病品种比感病品种具有更强的防御能力和抗膜脂过氧化能力。

**关键词:**黄瓜;霜霉病;丙二醛;可溶性糖;可溶性蛋白;乙烯

**中图分类号:**S 642.204<sup>+</sup>.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)05-0025-03

霜霉病是黄瓜最严重的流行性病害,无论在露地和保护地均可发生,每年我国黄瓜生产都因霜霉病的发生而遭受巨大损失<sup>[1]</sup>。应用农药虽能减缓霜霉病的发生及蔓延,但会导致环境污染和农药残留等严重问题,而且长期使用农药,病原物对农药也产生了一定的抗药性,使防治更加困难,因此加强对黄瓜霜霉病的研究,提高黄瓜对霜霉病的抗性,对于黄瓜无公害生产,提升黄瓜产量和品质均具有重要的理论和现实意义<sup>[2]</sup>。

黄瓜霜霉病是由古巴假霜霉菌(*Pseudo peronospora cubensis*)引起的真菌性叶部病害。至今国内外对黄瓜霜霉病病原菌、寄主抗病性、抗病遗传和育种等方面的研究已取得了明显的进展<sup>[3-4]</sup>,但关于黄瓜感染霜霉病菌后发生的生理反应,特别是不同抗性品系之间的差异报道较少。为此,该试验选用2个对霜霉病抗性不同的黄瓜品种,比较了接种霜霉菌后丙二醛、可溶性蛋白、可溶性糖含量和乙烯释放量的变化,为深入研究黄瓜抗霜霉病生理机制和筛选抗病品种提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为黄瓜霜霉病抗性品种“津春4号”和易感品种“长春密刺”,将种子在培养箱中30℃催芽24 h后播种于装有牛粪和泥土(1:1)的营养钵中,室外培养,生长至第1片真叶展开时待用。供试霜霉病菌采自西北

农林科技大学园艺试验站自然发病的黄瓜叶片上。20℃保湿培养24 h,用毛笔蘸纯净水刷几下黄瓜叶片上新长出的霜霉菌孢子。接种时孢子悬浮液的浓度为10倍显微镜下每个视野含有10~15个孢子。

### 1.2 试验方法

待黄瓜幼苗第1片真叶展开时进行喷雾接种,接种幼苗在相对湿度100%、温度20℃下保湿24 h,然后在白天温度22~25℃、夜间温度18~20℃环境下生长,以喷清水为对照。分别在接种后0.5、1、2、4、7 d采集黄瓜幼苗的第1片真叶进行试验。

### 1.3 项目测定

病情指数的统计参考李宝聚等<sup>[6]</sup>的方法;丙二醛(MDA)含量测定采用TBA法<sup>[6]</sup>;乙烯测定采用气相色谱法<sup>[7]</sup>;可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝G-250法<sup>[8]</sup>。采用统计软件SAS 8.1和Excel 2003对试验数据计算处理并进行相关分析。为了叙述方便,在作图时分别用RT与RC表示抗性品种“津春4号”接种处理和对照,ST与SC表示易感品种“长春密刺”接种处理和对照。

## 2 结果与分析

### 2.1 供试品种接种霜霉菌后叶片病情指数的变化

在接种后第7天,对供试品种的病情指数进行了统计(表1)。结果表明,抗病品种“津春4号”的病情指数平均为45.6,感病品种“长春密刺”的病情指数平均为78.0。说明2个品种对霜霉病的抗性差异显著。

**表1 接种霜霉菌后抗/感黄瓜品种幼苗的病情指数**

Table 1 Disease index of cucumber seedlings in resistance/susceptible variety after inoculation with *Pseudoperonospora cubensis*

品种 Variety	病情指数 Disease index
“长春密刺” ‘Changchunmici’	78.0±13.9
“津春4号” ‘Jinchunsihao’	45.6±15.4*

注: \* 表示在1%水平上的显著性。

Note: \* means at 1% level signification.

**第一作者简介:**李丽霞(1986-),女,山西晋城人,在读硕士,研究方向为蔬菜生物技术与育种。

**责任作者:**李玉红(1973-),女,副教授,硕士生导师,现主要从事蔬菜种质资源与遗传育种等研究工作。

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31071791);西北农林科技大学基本科研业务费专项资金资助项目(QN2009011)。

**收稿日期:**2011-12-28

## 2.2 供试品种接种霜霉菌后叶片丙二醛含量的变化

由图 1 可知,在接种后 0.5~2 d 时,供试品种叶片的丙二醛(MDA)含量无显著性差异。在接种后 4 d MDA 含量迅速升高;到接种后 7 d 时 MDA 含量仍处于一个较高的水平,抗、感品种(RT、ST)MDA 含量差异显著。受霜霉病菌侵染的幼苗叶片,细胞内 MDA 含量的增加量,抗病品种“津春 4 号”低于易感品种“长春密刺”,说明抗病品种具有比感病品种更强的抗膜脂过氧化能力。

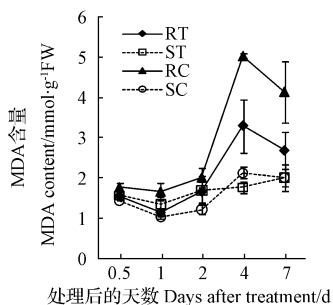


图 1 接种霜霉菌后黄瓜叶片丙二醛含量的变化

Fig. 1 The changes of MDA content of cucumber leaves inoculated with *Pseudoperonospora cubensis*

## 2.3 供试品种接种霜霉菌后叶片可溶性蛋白含量的变化

由图 2 可知,黄瓜叶片受霜霉病菌侵染后,抗病品种与易感品种可溶性蛋白含量存在差异。在接种后 0.5~2 d 时,抗、感品种的可溶性蛋白含量无显著差异,在接种后 4、7 d 时,抗、感品种叶片的可溶性蛋白含量与未接种对照相比显著增加,抗病品种“津春 4 号”的可溶性蛋白含量在接种后稍高于易感品种“长春密刺”,说明可溶性蛋白含量与霜霉菌胁迫及品种抗性存在相关性。

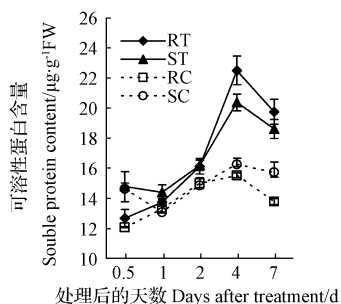


图 2 接种霜霉菌后黄瓜叶片可溶性蛋白含量的变化

Fig. 2 The changes of soluble protein of cucumber leaves inoculated with *Pseudoperonospora cubensis*

## 2.4 供试品种接种霜霉菌后叶片可溶性糖含量的变化

由图 3 可知,抗性黄瓜品种在接种霜霉病菌后可溶性糖含量存在显著差异,抗病品种“津春 4 号”叶片的可溶性糖含量在接种 1 d 后显著高于对照及易感品种“长春密刺”,而易感品种在接种霜霉病菌后可溶性糖含量反

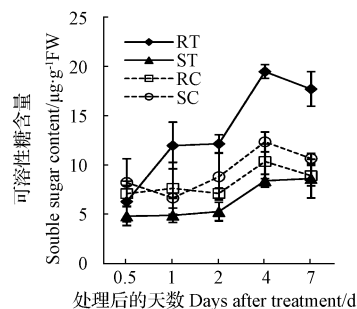


图 3 接种霜霉菌后黄瓜叶片可溶性糖含量的变化

Fig. 3 The changes of soluble sugar of cucumber leaves inoculated with *Pseudoperonospora cubensis*

而低于对照,说明黄瓜含糖量与抗病性之间密切相关。

## 2.5 供试品种接种霜霉菌后叶片内源乙烯释放量的变化

由图 4 可知,不同抗性品种的黄瓜幼苗叶片在接种霜霉病菌后 0.5~2 d 无显著性差异。在接种霜霉病菌后 4 d 抗感品种叶片乙烯释放量均达到最大,感病品种的乙烯释放量远高于抗性品种的乙烯释放量,这说明在受到病菌侵染时,感病品种比抗病品种更容易衰老。

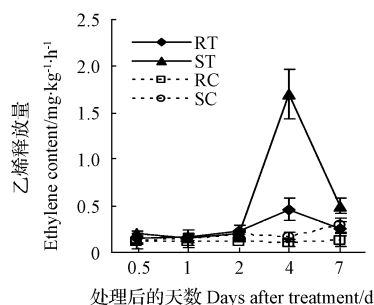


图 4 接种霜霉菌后黄瓜叶片乙烯释放量的变化

Fig. 4 The changes of ethylene content of cucumber leaves inoculated with *Pseudoperonospora cubensis*

## 3 讨论与结论

在寄主植物-病原真菌互作中,病原菌侵染可引起寄主植物产生大量的活性氧,直接攻击膜系统中的不饱和脂肪酸,从而启动脂类过氧化,而且真菌毒素可作用于细胞膜,引起  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  等离子渗漏,从而加剧膜脂过氧化<sup>[9]</sup>。MDA 作为膜脂过氧化作用的主要产物,其含量可反映膜脂过氧化作用的程度。该研究表明,膜脂过氧化产物 MDA 在接种霜霉病菌后 4 d 和 7 d 时,抗病品种的 MDA 含量低于感病品种,说明抗病品种具有比感病品种更强的抗膜脂过氧化能力,这与接种霜霉病菌后抗、感品种的发病症状表现和病情指数鉴定结果相吻合。因此在霜霉菌的胁迫下,黄瓜体内 MDA 的含量可作为一个抗性指标,这与王建明等<sup>[10]</sup>在西瓜枯萎病上的研究结果一致。

在接种霜霉病菌后,抗病品种“津春 4 号”的可溶性蛋白含量高于易感品种“长春密刺”。该试验结果表明,可

溶性蛋白含量的变化与抗病性之间有一定的关系,抗病品种在接种霜霉菌后可能诱导一些病程相关蛋白的表达,从而提高其抗病性。到目前为止,不少学者对植株在病害、逆境胁迫中糖的作用机理做了研究,指出糖是植物生长代谢最基础的物质,与植株抗病性关系密切。刘庆元等<sup>[11]</sup>认为黄瓜叶片内的可溶性糖含量越高,其对霜霉病的抗性就越强,否则抗性就越弱;而刘素萍等<sup>[12]</sup>对棉花枯萎病的研究表明,高的糖浓度有利于棉花枯萎菌丝的生长。该研究中抗、感品种在接种霜霉菌后可溶性糖含量变化差异显著,抗病品种可溶性糖含量显著高于感病品种,说明高糖抗病,低糖感病,这与刘庆元等<sup>[11]</sup>的研究报道一致。

乙烯作为一种植物激素,除了调控植物的生长发育外,还参与逆境条件下(如真菌、细菌、热害、冷害等)植物的胁迫反应。大量的试验结果表明,内源乙烯可作为植物抗病反应的信号分子,在介导不同类型的诱导抗性及其植物对病害的抗病反应中起重要作用。乙烯在抗病中的作用取决于寄主植物以及病原菌的种类<sup>[13]</sup>。目前普遍认为植物在遭受胁迫时释放乙烯有利于缓解胁迫的压力,但一些病原真菌和细菌能产生乙烯并作为一种毒力因子,从而提高这些病原侵染寄主植物的能力<sup>[14]</sup>。如Weingart等<sup>[15]</sup>发现细菌性斑点病菌在不能产生乙烯的大豆突变体上其侵染和增殖能力明显降低。在该研究中,黄瓜叶片在接种后未现霜霉病症状的1~2 d,抗、感品种乙烯释放量并无明显差异,在接种后第4天表现较明显发病症状时,可观察到抗病品种比感病品种发病轻、叶片黄化少,而此时抗病品种叶片乙烯释放量低于感病品种,说明乙烯的释放与感染霜霉病后黄瓜叶片的黄化有关,释放的乙烯加速了黄瓜叶片霜霉病的发展。

该研究表明,霜霉菌侵染后抗病品种叶片MDA含量、乙烯释放量明显低于感病品种,而可溶性蛋白及可溶性糖含量均比感病品种高,说明抗病黄瓜幼苗在受到霜霉菌侵染后能较快地启动防卫反应并具有较强的自

我恢复能力。植物与病原物的互作是一个非常复杂的系统,不同植物、不同品种对相应病原物的抗病机制可能各不相同。今后需从转录水平、蛋白质表达水平等方面对黄瓜霜霉病的抗病机制进行探讨,以便从深层面上解析黄瓜与霜霉菌的互作机制。

### 参考文献

- [1] 邢彩云,胡锐,李丽霞,等. 黄瓜霜霉病的发生与综合防治[J]. 中国瓜菜,2011,24(2):56-58.
- [2] 李玉红,程智慧,陈鹏,等. 苯并噻二唑(BTH)诱导黄瓜幼苗对霜霉病抗性的研究[J]. 园艺学报,2006,33(2):278-282.
- [3] 刘艳玲,张艳菊,蔡宁,等. 黄瓜霜霉病病原与抗病性研究进展[J]. 东北农业大学学报,2009,40(4):127-131.
- [4] 王丽娟,孙彩玉,牛德,等. 黄瓜抗霜霉病的分子生物学研究进展[J]. 中国蔬菜,2010(24):10-13.
- [5] 李宝聚,彭仁,彭霞薇,等. 高温调控对黄瓜霜霉病菌侵染的影响[J]. 生态学报,2001,21(11):1796-1801.
- [6] 孙群,胡景江. 植物生理研究技术[M]. 杨凌:西北农林科技大学出版社,2006:165-170.
- [7] 邓军,林秀琴,韦焕琪,等. 毛细管柱气象色谱法测定橡胶树乳胶中的乙烯含量及变化[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2009,38(6):600-602.
- [8] 陈毓荃. 生物化学实验方法与技术[M]. 北京:科学出版社,2002:71-73.
- [9] 房保海,张广民,迟长凤,等. 烟草低头黑病菌毒素对烟草丙二醛含量和某些防御酶的动态影响[J]. 植物病理学报,2004,34(1):27-31.
- [10] 王建明,张作刚,郭春绒,等. 枯萎病菌对西瓜不同抗感品种丙二醛含量及某些保护酶活性的影响[J]. 植物病理学报,2001,31(2):152-156.
- [11] 刘庆元,张穗,李久禄,等. 黄瓜品种对霜霉病的抗性机理[J]. 华北农学报,1993,8(1):70-75.
- [12] 刘素萍,王汝贤,张荣,等. 根系分泌物中糖和氨基酸对棉花枯萎菌的影响[J]. 西北农业大学学报,1998,26(6):30-35.
- [13] Van Loon Leendert C, Geraats Bart P J, Linthorst Huub J M. Ethylene as a modulator of disease resistance in plants[J]. Trends in Plant Science, 2006,11(4):184-191.
- [14] Chagué V, Danit LV, Siewers V, et al. Ethylene sensing and gene activation in *Botrytis cinerea*: a missing link in ethylene regulation of fungus-plant interactions Mol[J]. Plant-Microbe Interact, 2006,19:33-42.
- [15] Weingart H, Ullrich H, Geider K, et al. The role of ethylene production in virulence of *Pseudomonas syringae* pvs. *glycinea* and *phaseolicola* [J]. Phytopathology, 2001,91:511-518.

## Physiological Response of Cucumber Seedlings After *Pseudoperonospora cubensis* Inoculation

LI Li-xia, FU Zhen-fang, HE Hui-qiang, LI Yu-hong

(College of Horticulture, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shanxi 712100)

**Abstract:** Taking cucumber resistant variety ‘Jinchusihao’ and susceptible variety ‘Changchunmici’ as test material, the changes of malondialdehyde (MDA), soluble sugar, soluble protein and ethylene content on cucumber seedlings after inoculated with *Pseudoperonospora cubensis* 0.5, 1, 2, 4, 7 d were analyzed, and relations between these physiological changes and resistance against downy mildew were also studied. The results showed that the contents of MDA and ethylene in resistant variety were lower, while the contents of soluble sugar and soluble protein were higher than that of susceptible variety. It demonstrated that resistant variety possessed stronger protective ability and was more resistant to membrane lipid peroxidation.

**Key words:** cucumber; downy mildew; MDA; soluble sugar; soluble protein; ethylene