

马铃薯不同品种感染早疫病病菌后防御酶活性变化

台莲梅¹, 梁伟伶², 左豫虎^{1,*}, 金光辉¹, 靳学慧¹

¹黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江大庆 163319; ²黑龙江八五六农场, 黑龙江虎林 158418

摘要: 通过测定抗性不同的马铃薯品种接种和未接种情况下叶片内防御酶活性, 研究马铃薯品种对早疫病的抗性机制。结果表明, 在接种处理后, 各品种植株体内苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)和过氧化氢酶(CAT)活性均提高, 抗病品种酶活性增幅高于感病品种, 说明上述4种酶与品种抗性有一定的关联。

关键词: 马铃薯; 早疫病病菌; 防御酶; 抗病性

Changes of Defensive Enzymes Activity in Different Resistant Potato Varieties after Inoculated with *Alternaria solani*

TAI Lian-Mei¹, LIANG Wei-Ling², ZUO Yu-Hu^{1,*}, JIN Guang-Hui¹, JIN Xue-Hui¹

¹College of Agronomy, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China; ²856 of Farm, Heilongjiang Province, Hulin, Heilongjiang 158418, China

Abstract: Activity of defensive enzymes of leaves in different resistant potato varieties after inoculation and non-inoculation was analyzed. The results showed that the activities of PAL, POD, PPO and CAT increased in all of varieties after inoculation. The increase of enzyme activities in resistance was higher than those in susceptible. Significantly PAL, POD, PPO and CAT in potato varieties were correlated with resistance to early blight.

Key words: potato; *Alternaria solani*; defensive enzymes; disease resistance

马铃薯早疫病(potato early blight)是由茄链格孢菌(*Alternaria solani*)引起的对马铃薯危害比较严重的病害(Nachmias 等 1990)。该病在我国马铃薯产区均有不同程度发生, 且近年来呈上升趋势。据调查, 有的地块叶片发病率可达100%, 因植株提早枯死而导致严重减产。国外在诱导病菌产孢(Prasad 等 1973)、马铃薯抗性筛选(Caligari 和 Nachmias 1988)、田间病害防治(Pscheidt 和 Stevenson 1988)以及抗性机制(Shahbazi 等 2010)等方面均有报道, 而国内对此病研究在防治早疫病方面做过一些研究, 在寄主的抗性机制等方面研究较少(刘洋等 2006), 使抗病育种工作及抗性品种资源合理利用缺少足够的理论基础, 因此深入研究该病的抗性机制具有重要的实践和理论意义。本文从不同抗性品种与防御酶系活性变化的相互关系研究寄主的抗性机制。

材料与方 法

试验所用的马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)抗病品种为‘克新1号’、‘克新12号’; 感病品种为

‘东农303’、‘早大白’, 由本校实验室接种鉴定。上述品种脱毒原种一代, 由黑龙江省克山农场马铃薯研发中心提供。

孢悬液的制备采用如下方法。将PDA平板培养4 d的茄链格孢菌[*Alternaria solani* (Ell. et Mart.) Jones et Grout]切成菌块, 转接入水琼脂培养基平板内, 25 °C培养3 d, 产生分生孢子后, 用无菌水制成孢子悬浮液。将孢子悬浮液的浓度调整到约 2.5×10^4 个(孢子)·mL⁻¹。将马铃薯种薯, 经过催芽后播于直径17 cm的花盆中, 放在人工气候箱中培养, 待马铃薯植株生长到6叶时, 进行叶面喷雾接种, 以清水处理作为对照, 接种后保湿36 h。于接种后1、2、3、4、5和6 d取样, 用于酶活性测定, 每处理测定重复3次, 取平均值。采用DPS软件进行方差分析。

酶液的提取采用如下方法。取1.0 g马铃薯

收稿 2010-07-11 修定 2010-08-22

资助 黑龙江省科技厅(GB01B201)。

* 通讯作者(E-mail: zuoyuhu@163.com; Tel: 0459-8997858)。

叶片, 加入 5.0 mL 预冷的 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液 (pH 7.8), 冰浴下用研钵进行研磨, 将研磨后的样品装入离心管中, 0~4 °C 下用高速冷冻离心机 27 530×g 离心 20 min, 取上清液为粗酶液(郭振飞等 1998)。苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)活性测定参考薛应龙(1985)书中的方法; 过氧化物酶(peroxidase, POD)活性测定参考张龙翔(1997)书中的方法; 多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)活性测定参考朱广廉等(1990)书中方法; 过氧化氢酶(catalase, CAT)活性测定参考刘萍和李明军(2007)的方法。

实验结果

1 马铃薯叶片苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的变化

接种病菌后, 不同品种的马铃薯叶片组织PAL活性均呈上升趋势, 抗病品种PAL最大峰值高于感病品种(图1)。抗病品种‘克新1号’和‘克新12号’的PAL活性均在2 d达到最高峰, 随后PAL活性迅速下降; ‘克新1号’的PAL活性增幅最大, 峰值是其对照的2.11倍, ‘克新12号’的PAL活性最大峰值是其对照的1.67倍。感病品种‘早大白’和‘东农303’的PAL活性在3 d达到最高峰, 随后下降。‘早大白’的PAL最大活性值是其对照的1.65倍; ‘东农303’的PAL活性峰值是其对照的1.60倍。未接种处理的抗病品种‘克新1号’2 d时的PAL活性与1 d和6 d时的酶活性差异显著, 与3、4和5 d的酶活性差异不显著, 而其他品种‘克新12号’、‘早大白’和‘东农303’植株体内PAL活性变化不

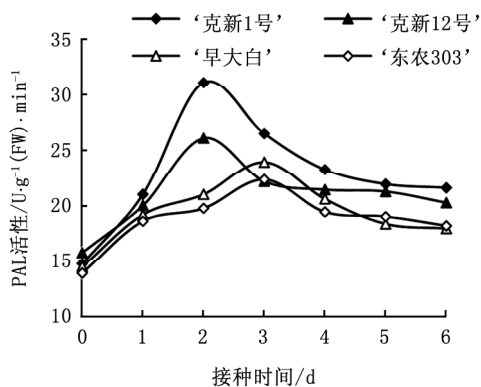


图1 接种处理后不同马铃薯品种PAL活性变化
Fig.1 Changes of PAL activity in different varieties of potato after inoculation

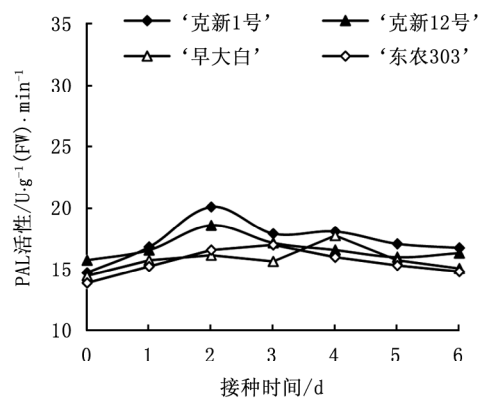


图2 未接种处理不同马铃薯品种PAL活性变化
Fig.2 Changes of PAL activity in different varieties of potato with non-inoculation

大, 不同时间的酶活性差异不显著(图2)。接种处理后, 抗病品种PAL活性在2~6 d与未接种处理的酶活性差异显著(数据未显示)。

2 马铃薯叶片过氧化物酶(POD)活性的变化

在未接种情况下, 抗病品种与感病品种酶活变化没有规律(图3)。接种后, 不同品种的马铃薯叶片组织POD活性均呈上升趋势(图4), 其中‘克新1号’、‘克新12号’和‘早大白’3个品种的马铃薯叶片中的POD活性均在3 d达到最高峰, ‘东农303’在4 d达到最高峰。‘克新1号’的POD活性增幅最大, 最大活性值是其对照的1.41倍; ‘克新12号’的POD最大活性值是其对照的1.31倍; ‘东农303’的POD最大活性值是其对照的1.26倍; ‘早

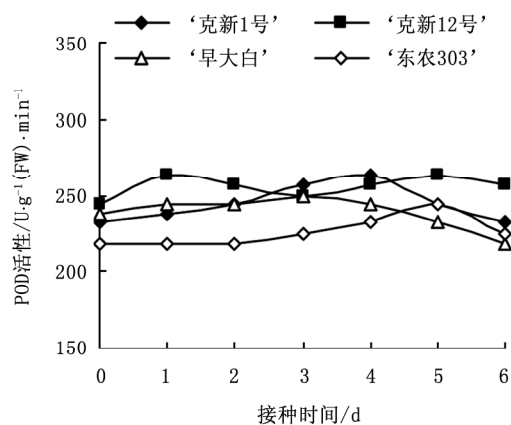


图3 未接种处理不同马铃薯品种POD活性变化
Fig.3 Changes of POD activity in the different varieties of potato with non-inoculation

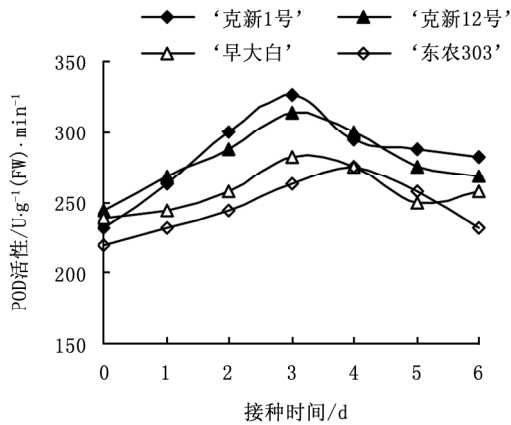


图4 接种处理后不同马铃薯品种 POD 活性变化
Fig.4 Changes of POD activity in the different varieties of potato after inoculation

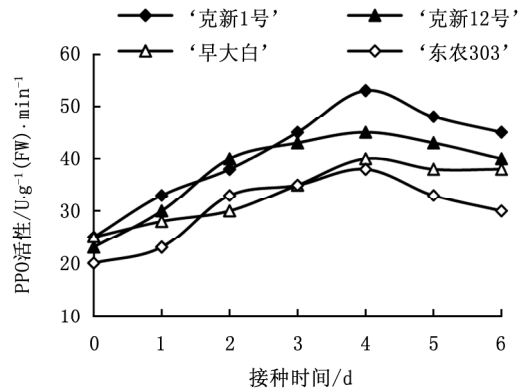


图6 接种后不同马铃薯品种 PPO 活性变化
Fig.6 Changes of PPO activity in the different varieties of potato after inoculation

大白’的POD活性增幅最小,最大活性值是其对照的1.18倍。接种后抗病品种的POD活性高于感病品种,在1~4 d经方差分析差异显著(数据未显示)。

3 马铃薯叶片多酚氧化酶(PPO)活性的变化

未接种的4个供试品种植株体内PPO活性变化幅度不大(图5)。接种后,不同品种的马铃薯叶片组织PPO活性均呈上升趋势(图6),4个品种的马铃薯叶片中的PPO活性均在4 d达到最高峰。接种后,抗病品种‘克新1号’的PPO活性增幅最大,最大峰值是其对照的2.10倍;抗病品种‘克新12号’的PPO最大峰值是其对照的2.00倍;感病品种‘东农303’的PPO最大峰值是其对照的1.88倍;感病品种‘早大白’的PPO活性增幅最小,其峰值是对照的1.60倍。接种后无论抗病品种还是感病品种

PPO的活性明显高于对照,方差分析,在2~6 d差异显著(数据未显示);接种后抗病品种的酶活性高于感病品种的酶活性。

4 马铃薯叶片过氧化氢酶(CAT)活性的变化

未接种的4个供试品种马铃薯植株体内CAT活性变化不大,抗病品种与感病品种之间CAT活性变化无规律(图7)。不同品种接种后的早期和后期均有CAT活性波峰出现(图8),抗病品种‘克新1号’在1 d,‘克新12号’CAT活性在2 d出现峰值,与其对照的酶活性差异显著(数据未显示)。抗病品种‘克新1号’和‘克新12号’CAT活性在4 d再次出现高峰,并且达到最大值,与其对照的酶活性差异显著。感病品种‘东农303’的CAT活性也在4 d达到最高峰,与其对照的酶活性差异显著。感

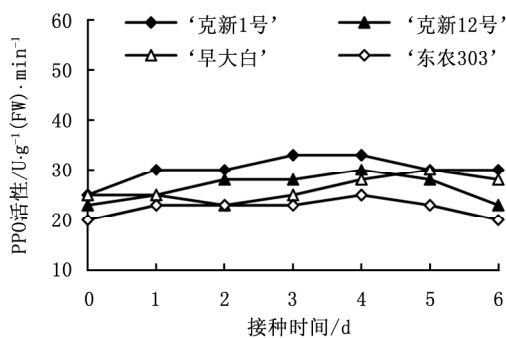


图5 未接种不同马铃薯品种 PPO 活性变化
Fig.5 Changes of PPO activity in different varieties of potato with non-inoculation

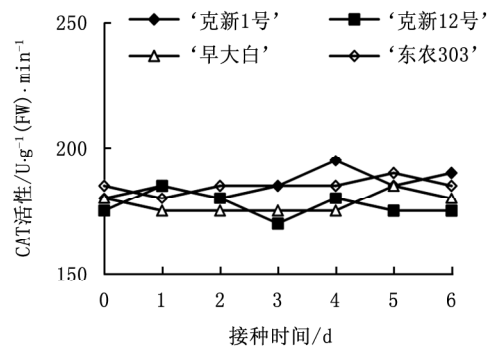


图7 未接种不同马铃薯品种 CAT 活性变化
Fig.7 Changes of CAT activity in the different varieties of potato with non-inoculation

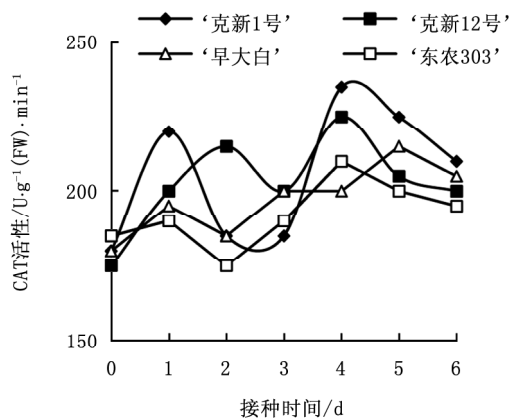


图8 接种后不同马铃薯品种CAT活性变化
Fig.8 Changes of CAT activity in the different varieties of potato after inoculation

病品种‘早大白’的CAT活性在5 d达到最高峰,与其对照的酶活性差异显著。接种后,‘克新1号’的CAT活性峰值最大,CAT最大活性值是其对照的1.31倍,‘克新12号’的CAT最大活性值是其对照的1.29倍;‘早大白’的CAT最大活性值是其对照的1.19倍;‘东农303’的CAT活性增幅最小,CAT最大活性值是其对照的1.14倍。总之,抗病品种的CAT活性峰值高于感病品种。

讨 论

关于防御酶与植物抗病性的相关性报道不同。有的研究报道,POD、PPO和PAL的活性变化同寄主抗性呈正相关(李淑菊等2003;吕秀兰等2004),而另一些报道则表明它们的变化同寄主抗性关系不存在相关性或呈负相关(王敬文和薛应龙1982)。刘洋等(2006)研究表明,经草酸、KCl、FeSO₄诱导处理后的马铃薯块茎中,POD、PAL和PPO的活性明显高于对照,表明化学物质可能通过提高这3种酶的活性来发挥其诱导抗早疫病作用。Shahbazi等(2010)报道,POD的活性和总酚的含量与马铃薯品种抗性有关联。本试验中,选取了抗病品种‘克新1号’、‘克新12号’和感病品种‘东农303’、‘早大白’4个抗性不同的马铃薯品种,结果发现PAL、POD和PPO的活性变化与马铃薯品种的抗性有一定的关联,一般品种在侵染后的2~4 d内酶活达到最高峰,且抗病品种高于感病品种。与

陈捷等(2002)对玉米弯孢叶斑病,李靖等(1991)对黄瓜霜霉病的研究结果相一致。说明PAL、POD和PPO可能在本病害的抗性机制中发挥着重要作用。

CAT是植物体内清除自由基的一个重要酶,具有清除活性自由基(ROS)的作用,可促进一些抗性反应,从而最终导致对病原菌的抗性。本试验发现,在接种病菌后,不同抗性的CAT活性均增强,抗病品种明显高于感病品种,并出现2个酶活高峰,可能在寄主抗侵入和抗扩展发挥一定的作用。

参考文献

- 陈捷, 蔺瑞明, 高增贵, 薛春生, 鄢洪海, 郭红莲(2002). 玉米弯孢叶斑病菌毒素对寄主防御酶活性的影响及诱导抗性效应. 植物病理学报, 32 (1): 43~48
- 郭振飞, 卢少石, 李宝盛, 李明启(1998). 三唑酮对绿豆幼苗叶片衰老的延缓作用. 植物学报, 40 (5): 442~447
- 李靖, 利容千, 袁文静(1991). 黄瓜感染霜霉病菌叶片中一些酶活性的变化. 植物病理学报, 21 (4): 277~283
- 李淑菊, 马德华, 庞金安, 霍振荣(2003). 黄瓜感染黑星病菌后的生理变化及抗病性的产生. 华北农学报, 18 (3): 74~77
- 刘萍, 李明军(2007). 植物生理学实验技术. 北京: 科学出版社, 128~129
- 刘洋, 蒋继志, 杨发茂, 宋海亮(2006). 几种化学物质诱导马铃薯对早疫病的抗性及其机理研究. 华北农学报, 21 (2): 113~117
- 吕秀兰, 苟琳, 龚荣高, 张光伦(2004). 葡萄品种对霜霉病抗性鉴定的生化指标研究. 植物病理学报, 34 (6): 512~517
- 王敬文, 薛应龙(1982). 植物苯丙氨酸解氨酶的研究 III. 植物生理学报, 8 (3): 237~244
- 薛应龙(1985). 植物生理学实验手册. 上海: 上海科技出版社, 191~192
- 张龙翔(1997). 生化实验方法和技术(第1版). 北京: 高等教育出版社, 154~157
- 朱广廉, 钟海文, 张爱琴(1990). 植物生理学实验. 北京: 北京大学出版社, 37~39
- Caligari PDS, Nachmias A (1988). Screening for field resistance to early blight (*Alternaria solani*) in potatoes. Pot Res, 31: 451~460
- Nachmias A, Caligari PDS, Ben-Tullila Z, Livescu L (1990). Disease assessment of early blight in potatoes in semi-arid zones. Pot Res, 33: 441~448
- Prasad B, Dutt BL, Nagaich BB (1973). Inducing sporulation in *Alternaria solani* I effect of water treatment. Mycopath Mycol Appl, 49 (2-3): 141~146
- Pscheidt JW, Stevenson WR (1988). The critical period for control of early blight (*Alternaria solani*) of potato. Am Pot J, 65: 425~436
- Shahbazi H, Aminian H, Sahebani N, Halterman DA (2010). Biochemical evaluation of resistance responses of potato to different isolates of *Alternaria solani*. Phytopathology, 100 (5): 454~459