

苹果果实中几种生物物质的含量与抗采后炭疽病的关系

檀根甲, 李增智*, 薛莲

安徽农业大学植物保护学院, 合肥 230036

摘要: 接种炭疽菌前与苹果果实品种的病情指数呈正相关的生物物质是果实中的可溶性总糖含量($r=0.9978$), 负相关的生物物质是果实中的木质素($r=-0.9811$)和绿原酸含量($r=-0.9939$), 接种前果实的总酸含量与品种的病情指数无关; 接种后 48 和 96 h 的寄主体内可溶性总糖和有机酸含量有增有减, 病情指数不同的品种变幅不同, 接种 96 h 后果实中总酸含量与品种的病情指数呈现负相关($r=-0.9412$), 木质素和绿原酸含量都呈上升趋势, 抗病品种的增幅高于感病品种。

关键词: 苹果炭疽病; 可溶性糖; 有机酸; 木质素; 绿原酸; 抗病性

Relationship between Contents of Some Biochemical Substance in Apple (*Malus domestica* Borkh) Fruits and Their Resistance to Apple Anthracnose Caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. et Sacc.

TAN Gen-Jia, LI Zeng-Zhi*, XUE Lian

School of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

Abstract: By means of biochemical methods, the total soluble sugar, organic acid, lignin and chlorogenic acid contents in apple (*Malus domestica*) fruits pre-infection and post-infection were measured, respectively. The relationship between the changes in these biochemical substances and the resistance of host were analyzed. The results showed that before inoculation the total soluble sugar content in fruits was positive relation to disease index of variety ($r=0.9978$), while the contents of lignin ($r=-0.9811$) and chlorogenic acid ($r=-0.9939$) in fruits were negative relation to disease index. After inoculation for 96 h, the organic acid content in apple fruits was also negative relation to disease index ($r=-0.9412$). After inoculation for 48 and 96 h, there were complicated changes in host, the total soluble sugar and organic acid contents sometimes increased and sometimes decreased; the scopes of change were not similar in different varieties. Meanwhile the lignin and chlorogenic acid contents always rised, the scope of increase in resistant variety was larger than that in susceptible ones.

Key words: apple anthracnose; soluble sugar; organic acid; lignin; chlorogenic acid; resistance

糖是植物光合作用的产物, 又是病原菌赖以生存的碳源。病原菌的侵染会引起寄主植物糖代谢的变化(张维一和毕阳 1996)。Horfall 曾研究过多种植物病害与植株中可溶性糖含量的关系, 并提出“高糖病害”和“低糖病害”的假说。苹果采后, 随着淀粉转化成糖, 果肉组织中可溶性糖含量提高, 果实组织衰老和物质泄漏增加, 导致炭疽菌可利用的营养物质增多, 从而引起病原菌从潜伏状态成为致病状态, 逐渐表现出病症。

酸性物质有利于细胞的木质化(冯晓元和田勇 1998), 抑制病菌在果实内的扩展。在贮藏期间, 苹果组织中 pH 值升高, 苯甲酸解离, 呈阴离子状态, 病菌恢复生长, 在果实内产生病痕。

木质素是高等植物重要的结构物质, 它的形

成与苯丙烷代谢产生的松柏醇有关, 松柏醇产生的甲基化醌与富含羟脯氨酸糖蛋白(HRGP)之间共价交错相连, 从而导致木质素在细胞壁中沉积(吴桂本等 2000)。木质化作用的病理功能是木质素可增强细胞壁的抗真菌机械侵入能力, 细胞壁的木质化后一方面使细胞壁加厚, 另一方面则是增加细胞壁的韧度; 细胞壁木质化可抵抗真菌酶的降解, 木质素在细胞壁多糖的酯化中改变壁多糖作为底物的适应能力; 其在细胞壁上沉积所形成的壁多糖的外壳, 可减少细胞壁降解酶与多糖接触

收稿 2007-07-19 修订 2007-09-03

资助 安徽省学术与技术带头人项目和安徽省教育厅重点科研项目(KJ2007A095)。

* 通讯作者(E-mail: zzli@ahau.edu.cn)。

的机会;壁的木质化可限制真菌酶和真菌毒素向寄主的扩散,同时限制病菌从寄主体内吸取水分和营养物质,因而饥饿的真菌不能生长;木质素生物合成过程中产生的低分子量的酚类前体物和自由基,可降低真菌膜、酶、毒素生物活性。许多酚类物质都有真菌毒性,可以钝化真菌的生长点,限制真菌生长。真菌菌丝可以吸收木质素,而真菌壁上含有几丁质、纤维素及多糖,因而可以作为木质素沉积的底物,使菌丝顶端木质化而不能生长。

酚类物质与抗病性之间关系的报道也很多(Hammers-Chimidt等1982)。有研究表明,大多数植物酚类物质及其氧化产物都能抑制病原菌的生长,并认为这是抗病性的机制之一。绿原酸是苹果体内的一种酚类化合物,是由苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)控制的苯丙酸类代谢产物,在苹果抗病中起作用,外源绿原酸可抑制过氧化物酶(peroxidase, POD)活性,而激活PAL(秦国政等2003),可能会诱导苹果抗病性。

影响苹果果实轮纹病抗病性的寄主因素中,果实总糖含量与果实发病呈正相关,而果实总酚含量、总酸度、果皮和果肉中的钙含量均与果实发病呈负相关(刘海英等2003)。酚类物质对抵抗病菌侵入和扩展都有作用,而酸类物质主要抑制病菌在果实内的扩展(刘海英等2003)。本文研究苹果抗炭疽菌侵染中究竟是哪些生化物质起作用,以期能为抗病品种选育和病害综合治理提供参考。

材料与方 法

采后苹果(*Malus domestica* Borkh)果实,共5个品种:‘红富士’、‘黄金帅’、‘乔纳金’、‘嘎啦’、‘辽伏’,从合肥市周谷堆水果批发市场购买。苹果炭疽菌[*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. et Sacc.]菌株由本校植物病理教研室提供。

每个品种的成熟期果实用菌丝圆片作皮孔刺伤贴菌处理,每个处理设3次重复,每个重复10个果实,每个果实接种3点。处理后置于25℃下保湿48h。刺伤接种后5d,按Hammers-Chimidt等(1982)分级标准调查和计算病情指数。用新复

极差法进行显著性方差分析,品种抗性按以下标准分级:0级,未发病;1级,病斑直径<5mm,且病斑向果心扩展的距离<1mm;2级,病斑直径=5~10mm,且病斑向果心扩展的距离=1~5mm;3级,病斑直径>10mm,或病斑向果心扩展的距离>5mm。

病情指数(%)= (各级病果数×各级代表值)/(调查总果数×最高级代表值)×100。

可溶性总糖、有机酸、木质素、绿原酸含量按波钦诺克(1981)书中的方法测定。

结果与讨论

1 不同品种苹果果实的抗病性

从表1可以看出,5个品种苹果果实病情指数差异明显,方差分析达极显著水平($P=0.01$)。根据发病程度,可将其抗性分为4类:‘红富士’果实发病最重,最易感病;‘嘎啦’、‘乔纳金’次之,呈中度感染;‘辽伏’果实发病程度较轻,抗病性中等;‘黄金帅’果实发生过敏性坏死反应(hypersensitive reaction, HR),抗病性最高。

表1 不同品种苹果果实对炭疽菌的抗性

Table 1 The resistance of different apple varieties to apple anthracnose

品种	病情指数/%	抗性等级
‘红富士’	86.67 ^A	易感病
‘嘎啦’	66.67 ^B	中等感病
‘乔纳金’	58.33 ^B	中等感病
‘辽伏’	32.22 ^C	中等抗病
‘黄金帅’	12.22 ^D	抗病

表中同列相同字母表示 Duncan 新复极差检验在 $P=0.01$ 水平上差异不显著。

2 几种生化物质含量的变化

从表2可以看出,不同品种间果实中可溶性总糖含量差异显著,感病品种‘红富士’最高(22.04%),抗病品种‘黄金帅’最低(9.10%)。接种前果实中可溶性总糖含量与品种病情指数呈显著正相关,相关系数(r)高达0.9978;接种48h后,果实中可溶性总糖含量有的品种升高,有的品种降低,此时大多数果实还未发病显症;接种

96 h后,所有品种果实中可溶性总糖含量都上升,总体上是感病品种增幅高于抗病品种,此时大多数果实已经出现病斑。‘乔纳金’与‘嘎啦’的病情指数差异不显著,接种炭疽菌后‘乔纳金’果实中可溶性总糖含量一直上升,高出‘嘎啦’。这显示了可溶性糖含量与抗病性有关,但可溶性糖包括果糖、葡萄糖、蔗糖等,究竟是其中哪一种糖与抗性密切有关,还待进一步阐明(李森等 2005b)。

表2 接种炭疽菌前后苹果果实中可溶性总糖含量的变化
Table 2 Changes in total soluble sugar content in apple fruits before and after inoculation of *C. gloeosporioides*

品种	病情指数 /%	果实中可溶性总糖含量 /%		
		接种前	接种 48 h 后	接种 96 h 后
‘红富士’	86.67 ^A	22.04 ^a	18.60 ^a	20.96 ^a
‘嘎啦’	66.67 ^B	18.50 ^b	15.67 ^b	17.33 ^b
‘乔纳金’	58.33 ^B	17.67 ^b	18.40 ^a	18.68 ^b
‘辽伏’	32.22 ^C	12.40 ^c	11.62 ^c	12.43 ^c
‘黄金帅’	12.22 ^D	9.10 ^d	9.33 ^d	9.66 ^d

表中同列相同大写字母表示新复极差检验在 $P=0.01$ 水平上差异不显著,小写字母表示在 $P=0.05$ 水平上差异不显著。下表同此。

从表3可以看出,接种炭疽菌后,苹果果实中总酸含量也出现上升和下降2种状态。接种前的总酸含量与品种抗性之间无规律可循,而接种96 h后果实总酸含量与品种病情指数呈负相关($r=-0.9412$)。一般认为,酸类物质是植物体内的抗菌性物质(张维一和毕阳 1996),有机酸含量高显

表3 接种炭疽菌前后苹果果实中有机酸含量的变化
Table 3 Changes in organic acid content in apple fruits before and after inoculation of *C. gloeosporioides*

品种	病情指数 /%	果实中总酸含量 /%		
		接种前	接种 48 h 后	接种 96 h 后
‘红富士’	86.67 ^A	0.14 ^c	0.19 ^b	0.16 ^c
‘嘎啦’	66.67 ^B	0.22 ^b	0.18 ^b	0.17 ^c
‘乔纳金’	58.33 ^B	0.07 ^c	0.12 ^b	0.21 ^c
‘辽伏’	32.22 ^C	0.45 ^a	0.40 ^a	0.36 ^b
‘黄金帅’	12.22 ^D	0.23 ^b	0.35 ^a	0.43 ^a

然有利于细胞的木质化,从而可抑制果实内病菌的扩展。

从表4可以看出,果实中木质素含量与品种病情指数显著负相关($r=-0.9811$),抗性品种的木质素含量较高。接种48 h后,抗、感品种的木质素含量都上升,抗性品种的增幅大;接种96 h后,感病品种‘红富士’的木质素含量略有下降,但仍比未接种的果实高,抗病品种的则继续大幅度增加。与前人的研究结果(Denoyes-Rothan等 2003; Bailey等 1996; 骆桂芬等 1995; 李森等 2005a)一致。果实感病后木质素的含量高于健康果实,由此体现了木质素诱导抗病的作用。

表4 接种炭疽菌前后苹果果实中木质素含量的变化
Table 4 Changes in lignin content in apple fruits before and after inoculation of *C. gloeosporioides*

品种	病情指数 /%	果实中木质素含量 /%		
		接种前	接种 48 h 后	接种 96 h 后
‘红富士’	86.67 ^A	0.78 ^c	0.98 ^d	0.90 ^d
‘嘎啦’	66.67 ^B	0.98 ^b	1.22 ^c	1.48 ^c
‘乔纳金’	58.33 ^B	1.04 ^b	1.29 ^c	1.56 ^c
‘辽伏’	32.22 ^C	1.56 ^a	2.01 ^b	2.87 ^b
‘黄金帅’	12.22 ^D	1.81 ^a	2.44 ^a	3.27 ^a

从表5可以看出,果实中绿原酸含量与品种病情指数显著负相关,相关系数(r)为 -0.9939 ,抗病品种‘黄金帅’果实中绿原酸含量最高,为0.045%。接种炭疽菌后,果实中绿原酸含量都略有上升,抗病品种的增幅高于感病品种。

总之,与不同品种苹果炭疽病病情指数呈正

表5 接种炭疽菌前后苹果果实中绿原酸含量的变化
Table 5 Changes in chlorogenic acid content in apple fruits before and after inoculation of *C. gloeosporioides*

品种	病情指数 /%	果实中绿原酸含量 /%		
		接种前	接种 48 h 后	接种 96 h 后
‘红富士’	86.67 ^A	0.015 ^c	0.018 ^c	0.019 ^d
‘嘎啦’	66.67 ^B	0.025 ^b	0.030 ^b	0.033 ^c
‘乔纳金’	58.33 ^B	0.028 ^b	0.031 ^b	0.033 ^c
‘辽伏’	32.22 ^C	0.038 ^a	0.045 ^a	0.057 ^b
‘黄金帅’	12.22 ^D	0.045 ^a	0.053 ^a	0.066 ^a

相关的生化物质是果实中的可溶性总糖含量, 负相关的生化物质是果实中的木质素和绿原酸含量, 果实中总酸含量与品种病情指数无关, 但接种 96 h 后果实中总酸含量与品种病情指数表现为负相关, 其相关系数(r)都在 0.9 以上, 以糖的相关性为最显著, 高达 0.9978。

参考文献

- 冯晓元, 田勇(1998). 温度和气体成分对苹果采后致病真菌生长的影响. 果树科学, 15 (3): 270~272
- 李森, 檀根甲, 李瑶, 承河元(2005a). 猴桃品种中糖分及木质素含量与抗溃疡病的关系. 植物保护学报, 32 (2): 138~142
- 李森, 檀根甲, 李瑶, 承河元, 邱坤, 韩翔(2005b). 不同品种猕猴桃的蔗糖酶及 α -淀粉酶活性与抗溃疡病的关系. 植物生理学通讯, 41 (2): 148~152
- 刘海英, 李川, 范永山(2003). 影响苹果果实轮纹病抗性的寄主因素及相关性分析. 河北农业大学学报, 26 (1): 56~60
- 骆桂芬, 皱艳华, 张伟(1995). 黄瓜叶片中木质素含量与抗霜霉病的关系. 吉林农业大学学报, 17 (2): 18~21
- 秦国政, 田世平, 刘海波(2003). 拮抗菌与病原菌处理对采后桃果实多酚氧化酶及苯丙氨酸解氨酶的诱导. 中国农业科学, 36 (1): 89~93
- 吴桂本, 刘传德, 王培松, 王继秋(2000). 苹果轮纹病和炭疽病发生规律的研究. 莱阳农学院学报, 17 (2): 86~92
- 张维一, 毕阳(1996). 果蔬采后病害与控制. 北京: 中国农业出版社
- 波钦诺克 XH 著. 荆家海, 丁钟荣译(1981). 植物生物化学分析方法. 北京: 科学出版社
- Bailey JA, Nash C, Morgan LW, O'Connell RJ, Tebbeest DO (1996). Molecular taxonomy of *Colletotrichum* species causing anthracnose on the Malvaceae. *Phytopathology*, 86: 1076~1083
- Denoyes-Rothan B, Guerin G, Delye C, Smith B, Mine D, Mayman M, Freeman S (2003). Genetic diversity and pathogenic variability among isolates of *Colletotrichum* species from strawberry. *Phytopathology*, 93: 219~228
- Hammers-Chimidt R, Nuckles EM, Kuc J (1982). Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiol Plant Pathol*, 20: 73~82