

## 研究报告 Original Papers

不同品种猕猴桃的蔗糖酶及 $\alpha$ -淀粉酶活性与抗溃疡病的关系李淼<sup>1</sup> 檀根甲<sup>1,\*</sup> 李瑶<sup>2</sup> 承河元<sup>1</sup> 邱坤<sup>1</sup> 韩翔<sup>1</sup>安徽农业大学<sup>1</sup> 植物保护学院, <sup>2</sup>园艺学院, 合肥 230036

**摘要** 抗病品种猕猴桃的枝条和叶片中蔗糖酶活性始终低于感病品种。自然发病后, 感、抗病品种枝条与叶片中蔗糖酶活性都呈上升趋势, 但感病品种比抗病品种酶活性上升得更快, 增幅较大, 抗病品种蔗糖酶活性增幅不明显。 $\alpha$ -淀粉酶活性的变化规律基本上与蔗糖酶一致。抗感病品种均有3条 $\alpha$ -淀粉酶同工酶谱带。自然感病后, 抗病品种枝条及叶片的酶带增加不明显, 仅多1条极弱的酶带; 感病品种没有明显变化。

**关键词** 猕猴桃; 溃疡病; 蔗糖酶;  $\alpha$ -淀粉酶; 抗病性

## Invertase and $\alpha$ -Amylase Activities and Their Relationship with Bacterial Canker (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidae*) in Kiwifruit of Different Cultivars

LI Miao<sup>1</sup>, TAN Gen-Jia<sup>1,\*</sup>, LI Yao<sup>2</sup>, CHENG He-Yuan<sup>1</sup>, QIU Kun<sup>1</sup>, HAN Xiang<sup>1</sup><sup>1</sup>College of Plant Protection, <sup>2</sup>College of Horticulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036

**Abstract** Invertase and  $\alpha$ -amylase activities in the annual twig and foliage of resistant cultivars of kiwifruit (*Actinidia chinensis*) were lower than those of susceptible cultivars before infection. After infection, invertase and  $\alpha$ -amylase activities in the annual twig and foliage all increased, but the increment of invertase and  $\alpha$ -amylase activities in susceptible cultivars was higher than that in resistant cultivars. Three distinct bands of  $\alpha$ -amylase isozyme appeared in both resistant and susceptible cultivars pre-infection, and after natural infection, only one light band in resistant cultivars was obtained, and no changes in susceptible cultivars were recorded.

**Key words** kiwifruit; bacterial canker; invertase;  $\alpha$ -amylase; disease resistance

猕猴桃溃疡病(*Pseudomonas syringae* pv. *actinidae*)是由假单胞杆菌引起的一种细菌性病害<sup>[1]</sup>, 于1980年在美国加利福尼亚州和日本神州静冈县首次发现, 我国湖南东山峰农场1986年发生此病, 安徽省岳西县主簿镇双丰猕猴桃场也于1990年发现有植株感染溃疡病菌, 继而大面积死亡<sup>[2]</sup>。猕猴桃溃疡病来势凶猛, 具有暴发性、毁灭性的特点, 造成的经济损失相当严重。因此, 研究猕猴桃抗细菌性溃疡病有一定的经济意义。

一般来说, 植物病原菌侵入植物体后, 会影响寄主的生长与发育, 引起寄主植物体内发生由酶类作用实现的种种生理生化变化。另外一方面, 寄主的各级防御酶系则可以诱导一些抗病物质的合成, 间接调控寄主的抗病反应。对于溃疡病菌侵染猕猴桃后猕猴桃植株内有关酶类活性及其同工酶谱带变化规律以及其与抗病性的关系, 国

内很少有报道。本文研究蔗糖酶和 $\alpha$ -淀粉酶同工酶在猕猴桃品种抗溃疡病中的作用, 以期能为鉴定猕猴桃品种抗性和抗病育种提供参考。

### 材料与方法

在海拔高度为720 m的岳西县主簿镇猕猴桃(*Actinidia chinensis*)良种园选择猕猴桃品种金魁、早鲜、魁蜜、秦美、华美2号、金丰, 于展叶孕蕾期采取健康的和发病的一年生枝条与成叶为材料; 同时, 在本校园艺场猕猴桃园采取金魁、金

收稿 2004-06-16 修定 2004-12-07  
资助 安徽省重点科研项目和安徽省教育厅自然科学基金项目(95-农-18)。  
\*通讯作者(E-mail: tgj63@163.com, Tel: 0551-2823795-3312)。

丰、海沃德同样组织器官作为不同生境下的对照。

品种抗病性鉴定采用园间自然发病定点调查的方法<sup>[3,4]</sup>。分别于1993、1996和2002年2~7月间选取有代表性的园区(岳西主薄双丰猕猴桃品种园与本校园艺场猕猴桃园),在病园定5区,每区定点调查15株猕猴桃植株,每旬调查1次,计算发病率、严重度和病情指数。并于发病高峰期,调查病园内各个品种的发病率、死亡率和病情指数。根据品种的抗性分级,发病株在0%~5%为高抗,5%~10%为中抗,20%~35%为中感,40%~60%为感病,70%~100%为高感,同时根据田间自然鉴定的结果确定抗性反应。

提取蔗糖酶时,分别切取不同品种的病、健枝条韧皮部、叶片叶肉(剔除叶脉),称叶样、枝样各1.0 g,加10 mL 0.1 mol·L<sup>-1</sup>磷酸柠檬酸缓冲液(pH 6.0),冰冻后研磨匀浆,4℃下以3 000×g离心10 min,上清液为酶液。置于4℃冰箱中保存备用<sup>[5]</sup>。

提取α-淀粉酶的取样方法同蔗糖酶。称取1.0 g样品,加4 mL预冷的0.1 mol·L<sup>-1</sup>磷酸缓冲液(含1%聚乙烯吡咯烷酮和15 mmol·L<sup>-1</sup>巯基乙醇,pH 7.0),用少量石英砂在冰浴中研磨成匀

浆。以12 000×g离心30 min,上清液即为所需的酶液。置于4℃冰箱中保存备用<sup>[6]</sup>。

酶活性用721紫外-可见分光光度计测定,酶活单位以ΔOD·g<sup>-1</sup>(FW)·min<sup>-1</sup>表示。

蔗糖酶活性测定参考文献6的方法。以热杀死的酶液为对照,每处理重复3次。以葡萄糖在20~80 mmol·L<sup>-1</sup>浓度范围内作标准曲线,以每克鲜重每小时葡萄糖含量变化1 μmol·L<sup>-1</sup>为1个酶活性单位。

α-淀粉酶活性测定参照文献7的方法,略加修改。0.2 mL极限糊精加0.2 mL酶液于37℃中保温5 min后,加入0.5 mL I<sub>2</sub>-KI溶液中止反应。再加2 mL水,于620 nm处测定OD值。对照以pH 7.0的磷酸缓冲液代替酶液。以于620 nm引起光密度降低10%价定为1个酶活单位。

## 实验结果

### 1 不同品种猕猴桃对溃疡病的抗性表现

从表1可知,金丰高度感病,属高感品种;金魁高度抗病,属高抗品种;朝鲜中度抗病;魁蜜中度感病。这表明,栽培抗病品种是控制猕猴桃溃疡病的关键措施。

表1 不同品种猕猴桃对溃疡病的抗性

Table 1 The investigations of kiwifruit cultivars to bacterial canker disease resistance

品种	发病株率/%			死亡株率/%			抗性反应
	1993年	1996年	2002年	1993年	1996年	2002年	
金魁	0	0	3.0	0	0	0	高抗
朝鲜	10.5	5.35	3.29	2.6	—	0	中抗
魁蜜	63.6	20.30	18.7	54.5	—	0	中感
金丰	99.9	40.13	36.9	99.9	—	0	高感

### 2 不同品种猕猴桃感染溃疡病菌后的蔗糖酶活性变化

从表2、3和图1可以看出:(1)不同抗性猕猴桃品种之间蔗糖酶活性差异显著。不同抗性猕猴桃品种枝条与叶片中的蔗糖酶活性变化规律相同,均是抗病品种的蔗糖酶活性始终低于感病品种。自然感染溃疡病菌后,感抗病品种枝条与叶片中蔗糖酶活性都有一定程度的增强,感病品种

增加更明显,增幅较大,而抗病品种增幅不明显。所有品种枝条中的酶活性增加量高于叶片。由此可看出,蔗糖酶活性与猕猴桃品种抗溃疡病机制有一定的关系。(2)不同生境下金丰叶片蔗糖酶活性差异显著(图1)。不同抗性猕猴桃品种枝条与叶片中的蔗糖酶活性变化规律相同,也是抗病品种始终低于感病品种。不同生态地区同一猕猴桃品种体内蔗糖酶活性不同。高海拔地区的岳西种

表2 不同品种猕猴桃感染溃疡病菌后蔗糖酶活性变化

Table 2 Changes in invertase activity in different cultivars of kiwifruit after infection by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidae*

品种	酶活性/ $\Delta\text{OD}\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{min}^{-1}$					
	枝条			叶片		
	未染病	染病	增加量	未染病	染病	增加量
金魁	2.416	2.685	0.27 <sup>Aa</sup>	1.682	1.684	0.002 <sup>Aa</sup>
早鲜	3.013	3.343	0.33 <sup>Aa</sup>	1.794	1.797	0.003 <sup>Aa</sup>
魁蜜	3.894	4.397	0.50 <sup>Aa</sup>	1.794	1.814	0.02 <sup>Bb</sup>
金丰	5.972	7.969	2.00 <sup>Bb</sup>	2.991	3.891	0.90 <sup>Cc</sup>

不同小写和大写字母分别表示同一列在 0.05 和 0.01 水平下差异显著, 相同字母的差异不显著。表 3~5 同此。

表3 不同生育期猕猴桃品种蔗糖酶活性变化(合肥地区)

Table 3 Changes in invertase activity in different growth periods of kiwifruit (Hefei region)

品种	酶活性/ $\Delta\text{OD}\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{min}^{-1}$			
	萌芽期		展叶期	
	健枝	健芽	健枝	健芽
金魁	2.117 <sup>Aa</sup>	1.576 <sup>Aa</sup>	2.401 <sup>Aa</sup>	1.588 <sup>Aa</sup>
金丰	4.716 <sup>Bb</sup>	3.453 <sup>Bb</sup>	5.954 <sup>Bb</sup>	4.999 <sup>Bb</sup>

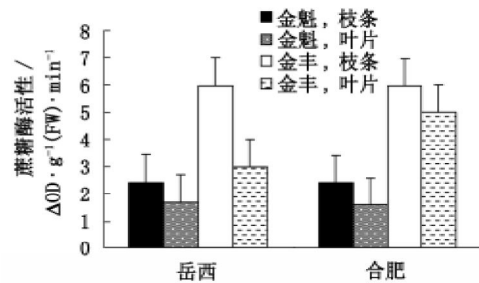


图1 不同生境下生长的猕猴桃蔗糖酶的活性变化  
Fig. 1 Changes in invertase activity of kiwifruit cultivars in different conditions

植的金魁、金丰品种体内蔗糖酶活性相对高于低海拔地区的合肥, 枝条中的蔗糖酶活性高于叶片。这可能是山区昼夜温差大, 导致猕猴桃体内碳代谢较旺盛之故。(3)位于低海拔地区的合肥, 不同抗性猕猴桃品种之间蔗糖酶活性同样差异显著(表3)。不同抗性猕猴桃品种枝条、幼芽、叶片中的蔗糖酶活性变化规律相同: 感病品种高于抗

病品种, 枝条中的高些, 幼芽中的较低。

### 3 不同品种猕猴桃感染溃疡病菌后 $\alpha$ -淀粉酶活性变化

从表4、5和图2可见:(1)位于低海拔地区的合肥, 不同抗性猕猴桃品种之间 $\alpha$ -淀粉酶活性也有差异(表5)。不同抗性猕猴桃品种枝条、幼芽、叶片中的 $\alpha$ -淀粉酶活性变化规律相同: 感

表4 不同猕猴桃品种感染溃疡病菌后 $\alpha$ -淀粉酶活性变化

Table 4 Changes in  $\alpha$ -amylase activity of kiwifruit cultivars after infection by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidae*

品种	酶活性/ $\Delta\text{OD}\cdot\text{g}^{-1}(\text{FW})\cdot\text{min}^{-1}$					
	枝条			叶片		
	未染病	染病	增加量	未染病	染病	增加量
金魁	4.326	4.691	0.37 <sup>Aa</sup>	3.247	3.139	0.12 <sup>Aa</sup>
早鲜	5.105	5.587	0.48 <sup>Aa</sup>	3.445	3.575	0.13 <sup>Aa</sup>
魁蜜	7.042	7.895	0.85 <sup>Bb</sup>	4.441	4.881	0.44 <sup>Aa</sup>
金丰	8.953	12.330	3.38 <sup>Cc</sup>	6.978	9.464	2.49 <sup>Bb</sup>

表5 不同生育期的不同品种猕猴桃的 $\alpha$ -淀粉酶活性变化  
Table 5 Changes in  $\alpha$ -amylase activity of different kiwifruit cultivars in different growth periods

品种	酶活性/ $\Delta OD \cdot g^{-1}(FW) \cdot min^{-1}$			
	萌芽期		展叶期	
	健枝	健芽	健枝	健芽
金魁	3.774 <sup>Aa</sup>	3.043 <sup>Aa</sup>	4.282 <sup>Aa</sup>	3.024 <sup>Aa</sup>
金丰	7.873 <sup>Bb</sup>	7.869 <sup>Bb</sup>	8.261 <sup>Bb</sup>	6.723 <sup>Bb</sup>

材料为合肥地区生长的猕猴桃。

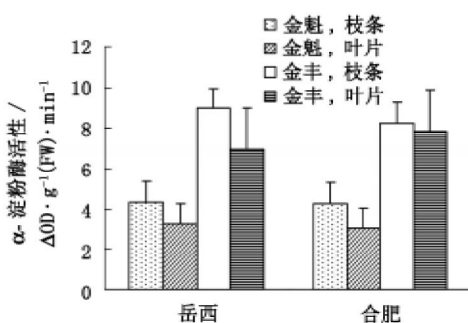


图2 不同生境生长的猕猴桃的 $\alpha$ -淀粉酶活性的变化  
Fig. 2 Changes in  $\alpha$ -amylase activity of kiwifruit cultivars in different conditions

病品种高于抗病品种, 枝条中的高些, 叶片中较低。(2)不同生境下猕猴桃品种之间 $\alpha$ -淀粉酶活性也差异显著(图2)。不同抗性猕猴桃品种枝条与叶片中的 $\alpha$ -淀粉酶活性变化规律相同, 也是抗病品种 $\alpha$ -淀粉酶活性始终低于感病品种。不同生态地区同一猕猴桃品种体内不同。高海拔地区岳西种植的金魁、金丰品种的 $\alpha$ -淀粉酶活性相对高于低海拔的合肥的, 枝条中的 $\alpha$ -淀粉酶活性也均高于叶片。

## 讨 论

近年来, 关于蔗糖酶与植物抗病性之间的关系看法不一。有研究表明, 病原菌的侵染会引起寄主植物糖代谢的变化<sup>[8~11]</sup>, 而本文结果表明, 猕猴桃受溃疡菌侵染后, 蔗糖酶活性增大。众所周知, 蔗糖酶是一种水解酶类, 可催化猕猴桃枝条和叶片中的蔗糖水解为单糖。本文结果显示,

感病品种枝条、叶片中蔗糖酶活性均高于抗病品种, 枝条中的酶活性大于叶片中的。说明感病品种枝条与叶片中多糖向单糖转化量高于抗病品种, 而溃疡菌所需的碳源正是单糖, 因此可促使溃疡菌在感病品种中增殖加快。宋凤鸣等<sup>[8]</sup>认为, 棉花抗枯萎病表现为抗病品种棉苗蔗糖酶活性均低于感病品种棉苗的酶活性。本文结果与此种看法是相吻合的, 在猕猴桃展叶期内, 枝条、叶片中蔗糖酶参与抗侵染和抗增殖两个过程, 表现为对病菌呈现抗侵染和抗增殖的抑制作用。

淀粉酶是植物体内水解淀粉的专一酶类, 包括 $\alpha$ -淀粉酶与 $\beta$ -淀粉酶<sup>[12]</sup>。 $\alpha$ -淀粉酶作为淀粉酶的主要种类, 可以水解淀粉分子的 $\alpha$ -1, 1链, 将长链迅速分解成短链的糊精, 淀粉粘性因而迅速降低。当其作用于直链淀粉分子时, 先将直链淀粉迅速分解为麦芽糖、麦芽三糖和分子量较大的寡糖, 然后再慢慢水解为葡萄糖和麦芽糖。因此它有可能在猕猴桃植株迅速水解淀粉阶段发挥作用<sup>[13, 14]</sup>。本文结果揭示, 不同抗性猕猴桃品种的 $\alpha$ -淀粉酶活性差异显著。不同抗性猕猴桃品种枝条与叶片中的 $\alpha$ -淀粉酶活性变化规律相同, 均是抗病品种始终低于感病品种。自然感染溃疡病菌后, 感抗病品种枝条与叶片中 $\alpha$ -淀粉酶活性都有一定程度的增加, 感病品种增加更明显, 增幅较大, 而抗病品种增幅不大。所有品种枝条中的酶活性增加量均高于叶片。变化趋势与蔗糖酶的活性一致。据此我们初步认为, 在猕猴桃自然感染溃疡病期间, 枝条、叶片细胞内淀粉和果胶物质在酶的作用下逐渐降解, 淀粉作为细胞内容物对细胞可能是起维持细胞正常膨压的作用, 当淀粉在淀粉酶的作用下水解后转化为可溶性糖时即会引起细胞膨力下降, 导致枝条溃疡、叶片显症。由此可以看出,  $\alpha$ -淀粉酶与猕猴桃品种抗溃疡病机制有关, 它可能对溃疡病菌有一定的抑制作用。

## 参考文献

- 1 方炎祖, 魏凯编著. 猕猴桃病虫害及其防治. 北京: 科学普及出版社, 1992
- 2 承河元, 李瑶, 万嗣堃等. 安徽省猕猴桃溃疡病菌鉴定. 安徽

- 农业大学学报, 1995, 22(3): 219~223
- 3 李瑶, 承河元, 方书苗等. 猕猴桃细菌性溃疡病流行预测初探. 应用生态学报, 2001, 12(3): 355~358
- 4 李瑶, 承河元, 方书苗等. 猕猴桃溃疡病流行的生态因子及药剂对病菌的抑菌作用. 应用生态学报, 2001, 12(3): 359~362
- 5 沈业寿, 谢继锋, 储苏. 魔芋感染软腐病后多酚氧化酶和蔗糖酶活性的变化. 安徽农业科学, 2001, 29(5): 611~612
- 6 上海市植物生理学会主编. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985
- 7 韩雅珊. 食品化学实验指导. 北京: 北京农业大学出版社, 1992
- 8 宋凤鸣, 郑重, 葛秀春. 棉花感染枯萎病后糖含量及蔗糖酶活性的变化及其与抗病性关系. 浙江农业学报, 1996, 8(2): 91~95
- 9 Gibbs AF, Varma A, Woods RD. Effect of sugar content of *Poa pratensis* on hemlinthosporium leaf spot. *Physiol Plant Pathol*, 1972, 2: 279~287
- 10 Heisteruber D, Schulte P, Moerschbacher BM. Soluble carbohydrates and invertase activity in stem rust-infected, resistant and susceptible near-isogenic wheat leaves. *Physiol Mol Plant Pathol*, 1994, 44: 111~123
- 11 Hwang BK, Heitefuss R. Sugar composition and acid invertase activity in spring barley plants in relation to adult-plant resistance to powdery mildew. *Phytopathology*, 1986, 76: 365~369
- 12 陈玲, 向小奇, 陈军等. 猕猴桃果实采后 $\alpha$ -淀粉酶活性的变化. 吉首大学学报(自然科学版), 1998, 19(1): 39~40
- 13 王贵裕, 韩雅珊, 于栋. 猕猴桃软化过程中阶段性专一酶活性变化的研究. 植物学报, 1995, 37(3): 198~203
- 14 贺军民, 余小平, 王仲田等. 猕猴桃采后不同部位淀粉酶和多聚半乳糖醛酸酶活性的变化. 陕西师范大学学报(自然科学版), 1997, 25(4): 120~121