

# 不同化学诱抗剂对金银花叶片防御酶系的影响

刘喜存<sup>1,2</sup>, 刘红彦<sup>1\*</sup>, 倪云霞<sup>1</sup>, 刘玉霞<sup>1</sup>, 王 飞<sup>1</sup>

(1. 河南省农业科学院植物保护研究所, 郑州 450002; 2. 新乡市农业科学院, 新乡 453003)

**摘要** 用4种化学诱抗剂壳聚糖、草酸、硫酸亚铁和硅酸钠处理金银花,通过计算酶活性发展曲线下面积AUEAPC,分析了叶片防御酶系3种主要酶的活性变化情况。结果表明:4种诱抗剂处理中,壳聚糖处理的苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性最高,其次是草酸处理,两者差异极显著,并且极显著高于硅酸钠、硫酸亚铁处理和对照,而后3种处理间差异不显著;硫酸亚铁处理后,过氧化物酶(POD)的活性最高,极显著高于壳聚糖、草酸和硅酸钠处理,并且这4种诱抗剂处理POD的活性均极显著高于对照;但只有壳聚糖处理,多酚氧化酶(PPO)的活性极显著高于对照,其他3种诱抗剂处理的PPO活性极显著低于对照。壳聚糖、草酸、硫酸亚铁和硅酸钠处理后,3种酶的综合活性分别比对照提高71.1%、31.1%、11.7%和2.5%,与前期对金银花白粉病诱抗效果研究结论相一致。本研究初步从防御酶学角度分析了4种化学诱抗剂在金银花上的诱导抗病机制。

**关键词** 金银花; 化学诱抗剂; 防御酶系

**中图分类号** S 432.23

## Effects of different chemical inducers on the defense-related enzymes in honeysuckle

Liu Xicun<sup>1,2</sup>, Liu Hongyan<sup>1</sup>, Ni Yunxia<sup>1</sup>, Liu Yuxia<sup>1</sup>, Wang Fei<sup>1</sup>

(1. Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;

2. Xinxiang Academy of Agricultural Sciences, Xinxiang 453003, China)

**Abstract** The activities of three main kinds of defense-related enzymes in honeysuckle leaf were tested by the area under enzyme activity progress curve (AUEAPC) method after induction treatment using four chemical inducers chitosan, oxalic acid, ferrous sulfate ( $\text{FeSO}_4$ ) and sodium silicate. The results showed that the activities of phenylalanine aminolyase (PAL) was the highest followed by the oxalic acid treatment, which were significantly different from and more than the sodium silicate, ferrous sulfate treatments and the control, but the latter three treatments were not significantly different from each other. The activity of peroxidase (POD) in the ferrous sulfate treatment was significantly stronger than that of chitosan, oxalic acid and sodium silicate treatments, which were all remarkably higher than the control. But only the activity of polyphenol oxidase (PPO) increased significantly in the chitosan treatment. The others were significantly less than the control. The integrated activities of the three enzymes after induction treatments using the four inducers chitosan, oxalic acid, ferrous sulfate and sodium silicate were higher than those of the control by 71.1%, 31.1%, 11.7% and 2.5%, respectively, which was consistent with the earlier report about the effects of these inducers on the resistance to powdery mildew in honeysuckle. The mechanisms of induced resistance of these four chemical inducers in honeysuckle were analyzed on the basis of the activities of the three defense-related enzymes.

**Key words** honeysuckle; chemical inducer; defense enzymes

在植物抗病性研究中发现,苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)是

与植物抗病性密切相关的酶类,在植物的诱导抗性中起着重要的作用,它们甚至可作为鉴定植物抗病

水平的生理指标<sup>[1-2]</sup>。

白粉病(*Microsphaera linicerae* Wint. in Rabenh)是金银花的常发性重要病害,经过对多种化学诱抗剂诱导金银花抗白粉病效果的研究,筛选出了对金银花白粉病有一定诱导抗性的化学诱抗剂壳聚糖、草酸、硅酸钠和硫酸亚铁<sup>[3]</sup>。作者研究了这4种诱抗剂施用后对金银花叶片防御酶系苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)的影响,以探索其对金银花白粉病的诱导抗病机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试药剂

壳聚糖(MW<5000):济南海得贝海洋生物工程有限公司生产;

草酸:分析纯,莱阳化工实验厂生产;

硅酸钠:分析纯,天津市科密欧化学试剂开发中心生产;

硫酸亚铁:分析纯,天津市福晨化学试剂厂生产。

### 1.2 试验方法

试验安排在河南省农科院植保所试验田内,设置4个药剂处理,分别是壳聚糖1 g/L、草酸1 g/L、硅酸钠1.5 g/L、硫酸亚铁5 g/L,3次重复,对照采用清水处理。在金银花未发病时喷施供试药剂,对照与处理分别采未施药时及施药后连续7 d的叶片,用于PAL、PPO、POD的活性测定,测定时设置3次重复,最后对其变化平均值做成曲线图进行比较。取样时采取枝条稍部,生长大小一致、叶位相同的叶片为试验材料,将叶片用水洗净,液氮速冻后保存于-20℃冰箱备用。PAL、POD、PPO的提取和测定参考李合生方法<sup>[4]</sup>,略有改进。同时,参照AUDPC法<sup>[5]</sup>计算酶活性发展曲线下面积(the area under enzyme activity progress curve AUEAPC,简称为A值),以3种酶AUEAPC的综合增长率表示防御酶系综合活性的提高程度。

3种酶AUEAPC的综合增长率= $\Sigma[(\text{诱抗剂处理后每种酶的A值}-\text{对照A值})/\text{对照A值}]/3$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同化学诱抗剂诱导后金银花叶片 PAL 活性变化

测定了4种化学诱抗剂处理后连续7 d金银花叶片PAL的活性变化规律,结果见图1。可以看出,不同化学诱抗剂处理后金银花叶片中PAL活性都有一定变化。包括对照在内都是从第1天活性开

始上升,壳聚糖处理达到了10.05 U/g·h,但在第2天又都呈现出下降趋势,直到第4天。壳聚糖从第4天开始PAL活性又开始上升,第5天达到又一峰值,为14.03 U/g·h,且相对于其他几种处理PAL活性在一个很高的水平,并且一直持续到第7天活性仍达12.91 U/g·h。硅酸钠处理后PAL活性在第1天上升到最大值,为25.04 U/g·h。并且相对于其他几种处理变化最大,但在以后其变化规律却与对照无明显区别,硫酸亚铁、草酸变化规律也与对照无显著差异。

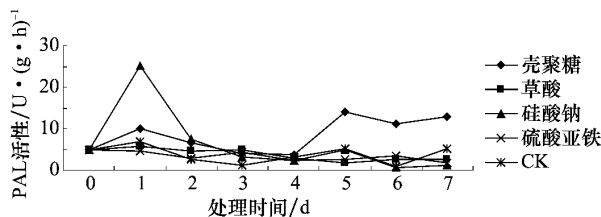


图1 不同化学诱抗剂处理后金银花叶片中PAL活性变化规律

### 2.2 不同化学诱抗剂诱导后金银花叶片 POD 活性变化

对4种化学诱抗剂处理后连续7 d金银花叶片的POD活性进行了测定(图2),壳聚糖、硅酸钠、草酸都是在处理后第2天达到小峰值后在第4天POD活性达到最高,分别为1.82 U/g·min、2.54 U/g·min、1.8 U/g·min,然后经过2 d的下降后又开始回升,分别达到1.6 U/g·min、1.04 U/g·min、1.58 U/g·min。其中草酸和壳聚糖在第7天又达到与第4天几乎同样的水平,依然比对照活性要高出0.5 U/g·min左右,硅酸钠却降低到与对照相同的水平,只为1.04 U/g·min。硫酸亚铁则是在第2天达到一个高峰后然后开始下降,到第5天又开始回升,第7天达到最高峰为3.04 U/g·min,且相对于其他处理都高,几乎是其他处理及对照的2~3倍。但总的来看,4种处理在前5天POD活性都比对照要强,其中壳聚糖、草酸、硫酸亚铁一直都处在比对照高的水平。

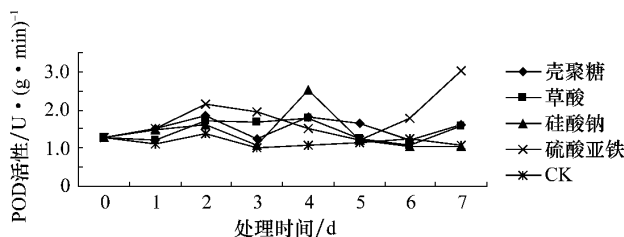


图2 不同化学诱抗剂处理后金银花叶片中POD活性变化规律

### 2.3 不同化学诱抗剂诱导后金银花叶片 PPO 活性变化

测定了 4 种化学诱抗剂处理后连续 7 d 内金银花叶片内 PPO 的活性变化规律,结果见图 3。在所有的处理中,只有壳聚糖相对于对照始终维持在较高的水平,平均为 183.45 U/g·min。而其他的 3 种处理即草酸、硅酸钠、硫酸亚铁在处理后的 PPO 活性都开始下降,并且在前 5 天几乎没有大的变化,且始终在对照之下,直到第 7 天才开始回升到与对照相当的水平,在 145 U/g·min 左右。

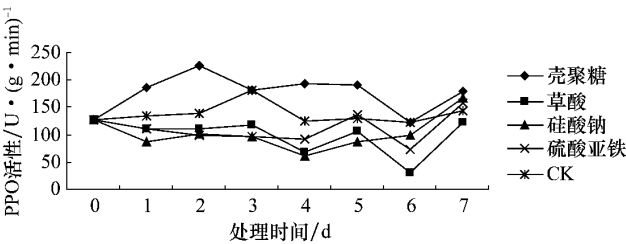


图 3 不同化学诱抗剂处理后金银花叶片中 PPO 活性变化规律

### 2.4 不同化学诱抗剂诱导后金银花叶片 PAL、POD、PPO 的 AUEAPC 分析

以 AUEAPC 为评价指标进行比较,发现在对 PAL 的影响上,硅酸钠、硫酸亚铁处理和对照 AUEAPC 值差异不显著,而壳聚糖和草酸处理的 AUEAPC 值差异极显著,并且分别比对照、硅酸钠和硫酸亚铁处理高 151.9%、122.5%、136.5% 和 99.7%、76.4%、87.5%,达极显著水平。硫酸亚铁处理对 POD 的活性影响最大,其次是壳聚糖、草酸和硅酸钠,均极显著高于对照。壳聚糖处理对 PPO 的活性影响最大,AUEAPC 值比对照高 29.6%,其他 3 种诱抗剂处理则导致酶活性降低(表 1)。壳聚糖、草酸、硅酸钠和硫酸亚铁处理,3 种酶的综合活性分别比对照提高 71.1%、31.1%、2.5% 和 11.7%。

表 1 不同诱抗剂处理后金银花叶片防御酶系的 AUEAPC 值<sup>1)</sup>

| 处理   | PAL      | POD      | PPO         | 3 种酶 AUEAPC 综合增长率/% |
|------|----------|----------|-------------|---------------------|
| 壳聚糖  | 58.24 aA | 10.74 bB | 1 257.77 aA | 71.1                |
| 草酸   | 46.18 bB | 10.17 cC | 668.10 eE   | 31.1                |
| 硅酸钠  | 26.18 cC | 10.11 cC | 682.23 dD   | 2.5                 |
| 硫酸亚铁 | 24.63 cC | 12.31 aA | 753.19 cC   | 11.7                |
| CK   | 23.12 cC | 8.15 dD  | 970.65 bB   | /                   |

1) 同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著;不同大写字母表示在 0.01 水平差异显著。

### 3 结论与讨论

诱导木质化作为一种抗病防卫反应,很早就被确

定为抗病机制之一。而 PAL 和 POD 是参与木质素合成最常见的酶。PAL 催化的苯丙氨酸向肉桂酸的转变是木质素诱导合成的起点,是植保素和木质素合成的第一个关键酶;POD 首先可以催化木质素前体经氧化聚合作用形成木质素,同时它还可以催化木质素与壁多糖及壁蛋白(HRGP)以共价键结合,形成一定构架,以便木质素进一步积累<sup>[6]</sup>。在本试验中,壳聚糖、草酸、硅酸钠和硫酸亚铁处理,PAL 和 POD 的 AUEAPC 值均高于对照,说明这些化学诱抗剂处理能提高 PAL 和 POD 的活性,激活植物防御体系,抵御病菌的侵染,使金银花表现出诱导抗病性。

PPO 能将酚类物质氧化成对病原菌有毒性的醌类物质<sup>[7]</sup>,因此也常作为植株抗病性的指标之一<sup>[8]</sup>。胡瑞波提出 PPO 与小麦抗病性密切相关<sup>[9]</sup>。在本试验中,壳聚糖处理还能提高 PPO 的活性,而其他 3 种诱抗剂处理,PPO 的活性降低。在植物抗病性评价研究中,病害发展曲线下面积(AUDPC)常用来作为评价品种慢抗性的指标,本文尝试用这种方法计算酶活性发展曲线下面积(AUEAPC),用于反映植物防御酶系单个酶某一时段的总活性,以 3 种酶 AUEAPC 的综合增长率表示防御酶系综合活性的提高程度。从一个方面解释了 4 种诱抗剂中壳聚糖诱导抗病性效果最好的原因。本试验从植物防御酶系 3 种主要酶的活性变化,初步分析了 4 种化学诱抗剂的作用机制。彻底阐明这些诱抗剂在金银花上的诱抗机理,还需要进一步从组织化学和组织结构学方面进行证实。

### 参考文献

[1] 翟彩霞,马春红,秦君,等.植物诱导抗病性的常规鉴定[J].中国农学通报,2004,20(5):222-224.

[2] 叶茂炳,徐朗莱,徐雍奎,等.苯丙氨酸解氨酶和绿原酸与小麦抗赤霉病性的关系[J].南京农业大学学报,1990,13(3):103-107.

[3] 刘喜存,刘新涛,刘玉霞,等.化学诱抗剂诱导金银花抗白粉病效果研究[J].植物保护,2006,6:59-62.

[4] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.

[5] 王锡锋,张忠山,刘红彦,等.河南农家小麦品种资源抗、慢白粉病性鉴定[J].河南农业大学学报,1996,30(2):160-163,174.

[6] 董汉松.植物诱导抗病性原理和研究[M].北京:科学出版社,1995:163-164.

[7] 铃木直治.近代植物病理化学[M].张际中,齐显章,许泳峰,等译.上海:上海科学技术出版社,1985:38-134.

[8] 于凤鸣.葡萄抗感霜霉病品种三项生化指标的比较(简报)[J].河北农业技术师范学院学报,1998,12(2):68-70.

[9] 胡瑞波,田纪春.小麦多酚氧化酶研究进展[J].麦类作物学报,2004,24(1):81-85.