

3 种化学物质诱导马铃薯块茎抗旱疫病的初步研究

高冬婷¹, 蒋继志¹, 刘 洋¹, 王凤春², 范继业³, 边瑞环⁴

(1. 河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002; 2. 河北省燕山科学试验站, 河北 唐山 064300;
3. 河北化工医药职业技术学院 制药工程系, 河北 石家庄 050000; 4. 河北农业大学 理学院, 河北 保定 071000)

摘要: 利用苯酚、对氨基苯甲酸和苯甲酸等 3 种芳香族类化合物作为激发子, 对马铃薯块茎抗旱疫病的效果进行了探讨, 同时分析了诱导处理后马铃薯块茎中与抗病性相关的酶活性的变化。结果表明, 供试的 3 种化合物均在较低浓度下具有较强的诱导抗病作用, 苯酚、苯甲酸和对氨基苯甲酸分别在 1, 0.01 和 5 mmol/L 时诱导的保护率最高, 分别达到 43.21%, 40.72% 和 28.75%, 均与对照差异极显著。经上述浓度的 3 种化合物诱导处理后的马铃薯块茎中, 过氧化物酶(POD)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性均有大幅度上升, 明显高于对照, 表明这些芳香族类化合物可能通过增加马铃薯体内 POD 和 PAL 的活性来发挥其诱导抗病作用。

关键词: 化学物质; 马铃薯; 过氧化物酶; 苯丙氨酸解氨酶

中图分类号: S532.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)01-0148-04

Preliminary Research on Inducing Resistance in Potato Tuber Against Early Blight with 3 Chemicals

GAO Dong-ting¹, JIANG Ji-zhi¹, LIU Yang¹, WANG Feng-chun²,
FAN Ji-ye³, BIAN Rui-huan⁴

(1. College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China; 2. Scientific Experimental Station of Yanshan, Tangshan 064300, China; 3. Department of Pharmaceutical Engineering, Hebei Chemical and Pharmaceutical Vocational Technology College, Shijiazhuang 050000, China; 4. College of Science, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China)

Abstract: Phenol, benzoic acid, and paraaminobenzoic acid, as the elicitors, were evaluated in lab of their efficiencies to induce potato tuber against early blight, and the change of resistance related enzymes were investigated in induced potato tuber. The results indicated that 3 chemicals could greatly enhance resistance of potato tuber to early blight at low concentrations. Protection rates induced by phenol (1 mmol/L), benzoic acid (0.01 mmol/L), and paraaminobenzoic acid (5 mmol/L) were 43.21%, 40.72%, and 28.75%, respectively. There were marked differences at 0.01 level comparison with control. The activities of peroxidase (POD) and phenylalanine (PAL) related to systemic resistance increased great extent in induced tubers comparing with the control. It seemed that the 3 chemicals could enhance resistance of tuber via activating POD and PAL.

Key words: Chemicals; Potato; POD; PAL

茄科茄属马铃薯栽培种(*Solanum tuberosum* L.), 为一年生草本块茎植物, 是世界四大粮食作物之一。我国每年种植马铃薯约 500 万 hm^2 , 年产量约 7000 万 t, 居世界第一, 且需求量还在不断增加^[1]。在马铃薯生产中, 晚疫病、早疫病等真菌病害时有发生, 每年均造成巨大损失。目前, 化学农药仍

然是主要防治手段, 但其污染环境、使病菌产生抗药性等问题也日益突出, 因此, 探讨新的病害防治途径迫在眉睫^[2]。近年来, 关于利用各种生物或非生物因素诱导植物增强其抗病性已有许多成功的报道^[3], 其中诱导马铃薯增强其抗病性也已有一些报道^[4], 但利用化学物质诱导马铃薯对真菌病害产生

收稿日期: 2006-10-29

基金项目: 河北省自然科学基金项目(300081); 河北省科学技术厅项目(96Z1102);

作者简介: 高冬婷(1981-), 女, 河北石家庄人, 在读硕士, 主要从事微生物代谢与生理研究

通讯作者: 蒋继志(1960-), 男, 宁夏中宁人, 教授, 主要从事植物逆境分子机理研究工作。

抗病性的报道还不多见^[5]。在河北大学生命科学实验室利用生物或非生物因素诱导马铃薯增强其抗真菌病害的研究中^[6-9], 已筛选出一些能显著诱导马铃薯抗早疫病的化学物质^[10], 本研究进一步就其中 3 种芳香族类化合物诱导马铃薯抗早疫病及其可能的机理进行了初步探讨。

1 材料和方法

1.1 材料

马铃薯商品薯(中薯 5 号), 购自市场; 茄链格孢 (*Alternaria solani* (Ellis & Martin) Jones & Grouet), 河北大学生命科学实验室保存菌种; 苯酚, 苯甲酸, 对氨基苯甲酸。

1.2 化学物质的制备

苯酚用去离子水配成 40 mmol/L 的母液, 对氨基苯甲酸用去离子水配成 50 mmol/L 的母液, 苯甲酸用去离子水配成 5 mmol/L 的母液, 3 种溶液均调整 pH 为 6.5。将母液稀释成所需浓度, 灭菌细菌过滤器过滤, 待用。

1.3 诱导方法

马铃薯块茎的诱导处理、病害统计及取样按照

文献[10] 的方法进行。

1.4 酶的提取

精确称取用于测定酶活的马铃薯块茎切片 1 g, 在 1 mL 酶提取液中冰浴研磨后, 10 000 r/min, 4℃, 离心 15 min, 上清液作为待测酶液冰冻保存。

1.5 酶活测定

过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 和苯丙氨酸解氨酶 (Phenylalanine, PAL) 的测定分别参照文献[11, 12] 的方法进行。

2 结果与分析

2.1 3 种化学物质的诱导抗病效果

3 种芳香族类化合物对马铃薯块茎抗早疫病的诱导效果列于表 1。在供试浓度范围内, 3 种化合物在较低浓度下均表现出较强的诱导抗病效果, 其中, 苯甲酸在 0.01 mmol/L 时保护率最高, 达到 40.72%, 与对照差异极显著; 苯酚的保护率在 1 mmol/L 时最高, 为 43.21%, 与对照差异极显著; 对氨基苯甲酸在 5 mmol/L 时保护率最高为 28.75%, 与对照差异极显著。保护率= [(对照发病面积- 处理发病面积) / 对照发病面积] × 100%, 于接种后第 10 天统计计算。

表 1 3 种化学物质对马铃薯抗早疫病的诱导效果

Tab 1 Induction of resistance in potato tuber against *A. solani* with 3 chemicals

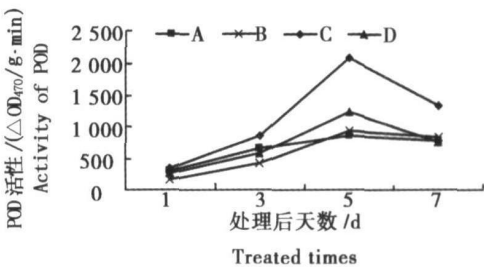
化学 物质 Chemicals	浓度 /(mmol/L) Concentration	发病面积 /mm ² Area	保护率/% Protection ratio	SSR 检验 SSR test α = 0.05 α = 0.01
苯甲酸 Benzoic Acid	0.01	199.7	40.72	c B
	0.05	278.0	17.37	b A
	5	287.4	14.37	ab A
	1	321.4	4.19	ab A
	0.1	326.3	2.99	a A
	CK	336.1	—	a A
对氨基 苯甲酸 Para Amino Benzoic Acid	5	230.5	28.57	b B
	0.1	282.0	12.42	b AB
	50	303.9	5.59	ab AB

化学 物质 Chemicals	浓度 /(mmol/L) Concentration	发病面积 /mm ² Area	保护率/% Protection ratio	SSR 检验 SSR test α = 0.05 α = 0.01
苯酚 Phenol	1	184.2	43.21	c B
	5	235.9	27.16	b B
	40	276.9	14.81	ab AB
	10	280.4	13.58	ab AB
	20	282.1	12.96	ab AB
	CK	324.6	—	a A
对氨基 苯甲酸 Para Amino Benzoic Acid	10	309.1	4.35	ab AB
	1	319.8	0.64	a A
	CK	321.7	—	a A

2.2 3 种化学物质对马铃薯块茎 POD, PAL 的活性影响

根据诱导抗病效果, 选取最适浓度的苯酚、对氨基苯甲酸和苯甲酸处理马铃薯块茎后进行酶活测定, 无菌水处理作对照。

苯酚处理马铃薯块茎后对 2 种酶活的影响见图 1 和 2。诱导处理后 1 d, 处理组诱导端 POD 的活性开始升高, 且活性水平始终高于对照, 第 5 天达到最大值, 较对照提高 165.90% (图 1)。诱导处理后 1 d, 处理组诱导端 PAL 的活性开始缓慢升高, 3 d 后活性迅速升高, 且活性水平始终高于对照, 较对照提高 559.39% (图 2)。说明苯酚对上述 2 种酶活性均有不同程度的促进作用。



A. 对照薯块诱导端; B. 对照薯块非诱导端; C. 处理薯块诱导端; D. 处理薯块非诱导端。图 2~ 6 同

A. Induced terminal of controlled tuber; B. Treated terminal of controlled tuber; C. Induced terminal of induced tuber; D. Treated terminal of induced tuber. The same as Fig. 2~ 6

图 1 1 mmol/L 苯酚处理马铃薯块茎后对 POD 活性变化
Fig 1 The effect of Phenol on the activity of POD in potato tuber

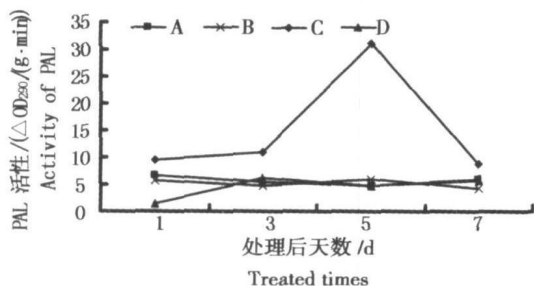


图 2 1 mmol/L 苯酚处理马铃薯块茎后对 PAL 活性变化

Fig 2 The effect of Phenol on the activity of PAL in potato tuber

对氨基苯甲酸诱导处理马铃薯块茎后对 2 种酶活性均有一定的促进作用(图 3, 4)。处理组诱导端 POD 活性水平第 3 天有所下降, 低于对照, 3 d 后始终保持上升, 第 7 天达到最大值, 较对照提高 212.43% (图 3)。处理组诱导端 PAL 活性水平第 5 天达到最大值, 较对照提高 80.31%, 之后迅速下降 (图 4)。

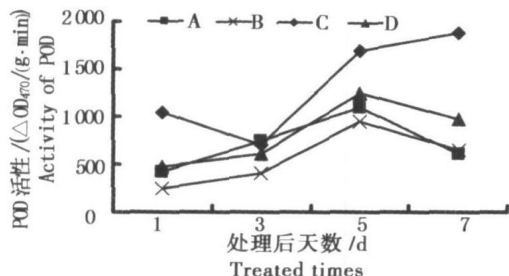


图 3 5 mmol/L 对氨基苯甲酸处理马铃薯块茎后对 POD 活性变化

Fig 3 The effect of Para Amino Benzoic Acid on the activity of POD in potato tuber

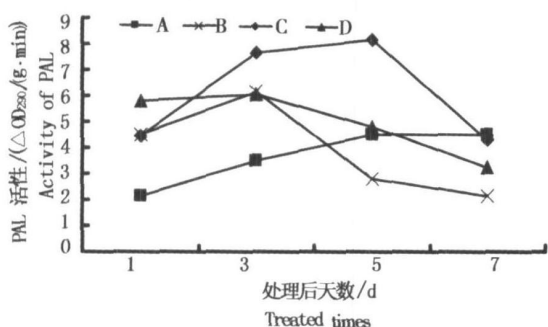


图 4 5 mmol/L 对氨基苯甲酸处理马铃薯块茎后对 PAL 活性变化

Fig 4 The effect of Para Amino Benzoic Acid on the activity of PAL in potato tuber

苯甲酸处理马铃薯块茎后 2 种酶活的变化如图 5, 6 所示。处理组诱导端 POD 活性水平在第 5 天呈现最大值, 与对照相比提高幅度为 183.22%, 而后变化虽呈下降趋势, 但始终高于对照 (图 5)。处理组诱导端 PAL 活性水平经过 1 d 的迟滞期, 然后开始迅速上升, 第 5 天出现最大值, 较对照提高 41.58% (图 6)。说明苯甲酸处理对 POD 与 PAL 活

性均有促进作用。

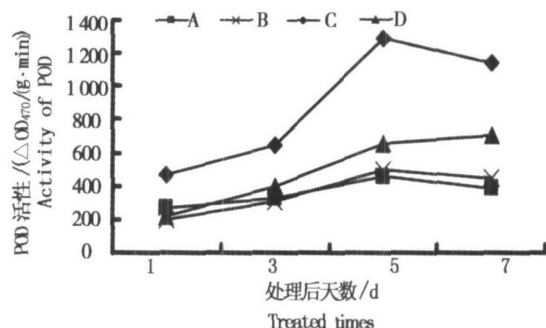


图 5 0.01 mmol/L 苯甲酸处理马铃薯块茎后对 POD 活性变化

Fig 5 The effect of Benzoic Acid on the activity of POD in potato tuber

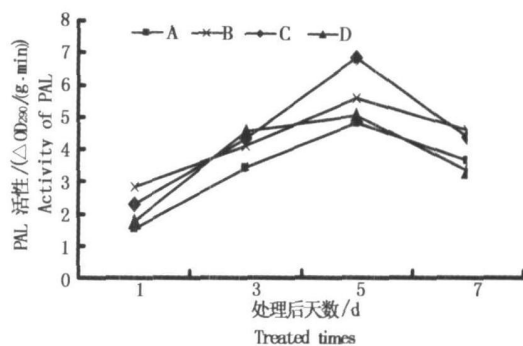


图 6 0.01 mmol/L 苯甲酸处理马铃薯块茎后对 PAL 活性变化

Fig 6 The effect of Para Amino Benzoic Acid on the activity of PAL in potato tuber

3 结论与讨论

化学诱抗剂因其成本低廉、防效稳定、不受环境影响, 同时又易于工业化大规模生产, 因而受到越来越多的重视, 已知约有 100 多种天然的无机、有机或合成化合物被作为诱抗剂进行了研究^[14], 其中 BTH (Benzoethiadiazole) 已经被作为一种新型农药商品化生产而投放市场^[15]。刘太国等^[16]用苯酚、水杨酸、草酸、 K_2HPO_4 等不同浓度的非或弱杀菌化学物质诱导烟草后, 较低浓度的处理均获得了对病毒病 (TMV) 较好的抗性, 与对照 (喷蒸馏水) 相比均达到了 0.05 水平的显著差异甚至 0.01 水平的极显著差异, 其中用 1.035 g/kg 浓度的相对诱导效果达 20.006 7。云兴福^[17]等对黄瓜植株根部施用苯酚、无水对氨基苯磺酸等化学物质, 均可以产生对植株病害的部分诱导免疫效果, 他们认为芳香族类化学物质是黄瓜根部诱导产生诱导免疫的基本物质。但苯酚、苯甲酸、对氨基苯甲酸诱导植物增强其抗病性的机理尚未见报道, 同时利用这 3 种化学物质诱导马铃薯抗真菌病害也未见报道。本试验中, 苯酚、苯

甲酸和对氨基苯甲酸分别在 1, 0.01 和 5 mmol/L 时诱导的保护率最高, 分别达到 43.21%, 40.72% 和 28.75%, 均与对照达到 0.01 水平的极显著差异。这 3 种化合物均在较低浓度下即能显著诱导植物增强抗病性, 这与刘国太等报道的结果一致, 表明芳香族类化合物在诱导植物抗病性方面可能有较大的应用潜力。

对植物诱导抗病机理的研究, 目前主要侧重在分析植物体内一些与抗病性相关酶活的变化, 其中 POD, PAL 这两种酶活性的升高与植株抗病性的提高是呈正相关的, 甚至有人认为可以将其作为衡量植物抗病性强弱的生理指标之一^[18]。苯酚、对氨基苯甲酸和苯甲酸诱导处理植物后, 有关 POD, PAL 活性的变化很少有报道, 本试验用这 3 种化学物质处理马铃薯块茎后, POD, PAL 的活性均有大幅度上升, 明显高于对照, 其中 POD 活性提高幅度较大, 这与许多相关报道结果相似。化学物质诱导植物产生或增强抗病性的机理应该是多方面的, 除了与抗病性相关的一些酶发生变化之外, 还有组织结构、其他抗菌物质等也会相应发生变化, 因此, 苯酚、对氨基苯甲酸和苯甲酸这 3 种化学物质诱导马铃薯块茎产生抗病性的生理本质仍需进一步深入探讨。

参考文献:

- [1] 魏延安. 世界马铃薯产业发展现状及特点[J]. 世界农业, 2005(3): 29– 32.
- [2] Hammerschmidt R, Metraux J P, Loon L C. Inducing resistance: a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000[J]. European Journal of Plant Pathology, 2001, 107(1): 1– 6.
- [3] 潘亚清, 史淑芝. 植物的诱导抗病性研究进展[J]. 中国农学通报, 2005, 21(8): 366– 369.
- [4] 蒋继志, 史娟, 赵丽坤, 等. 几种植物提取物诱导马铃薯对致病疫霉的抗性[J]. 植物病理学报, 2001, 31(2): 144– 151.
- [5] 刘洋, 蒋继志, 杨发茂, 等. 几种化学物质诱导马铃薯抗早疫病及其机理的研究[J]. 华北农学报, 2006, 21(2): 113– 117.
- [6] 马立如. 生物源激发子诱导马铃薯抗早疫病的研究[D]. 保定: 河北大学硕士学位论文, 2002.
- [7] 郝志敏. 植物源激发子诱导马铃薯抗晚疫病机理的研究[D]. 保定: 河北大学硕士学位论文, 2005.
- [8] 金红, 岳东霞, 周良焱, 等. 利用类甜蛋白基因诱导表达提高马铃薯对晚疫病的抗性研究[J]. 华北农学报, 2001, 16(1): 67– 72.
- [9] 金红, 罗智敏, 陈峥, 等. 马铃薯抗晚疫病基因工程育种研究[J]. 华北农学报, 2005, 20(1): 46– 51.
- [10] 蒋继志, 吴素玉, 赵丽坤. 非生物因子诱导马铃薯块茎对立枯丝核菌的抗性[J]. 河北大学学报, 2005, 25(2): 167– 172.
- [11] 刘洋. 化学物质诱导马铃薯抗真菌病害及其机理的研究[D]. 保定: 河北大学硕士学位论文, 2006.
- [12] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 陕西: 世界图书出版西安公司, 2000: 192– 199.
- [13] 胡景江, 文建雷, 景耀, 等. 杨树体内苯丙烷代谢与其对溃疡病抗性的关系[J]. 植物病理学报, 1992, 22(2): 185– 188.
- [14] 李惠霞, 谢丙炎, 冯兰香. 植物化学诱抗剂的研究现状与展望[J]. 园艺学报, 2000, 27(增刊): 539– 545.
- [15] Colsonhanks E S, Deverall B J. Effect of 2, 6-dichloroisonicotinic acid, its formulation materials and benzothiadiazole, on systemic resistance to *Alternaria* leaf spot in cotton[J]. Plant Cell, 2000, 49(2): 171– 178.
- [16] 刘太国, 李永锦, 石延霞, 等. 非(弱)杀菌化学物质诱导烟草对病毒病(TMV)抗性的研究[J]. 东北农业大学学报, 2002, 33(2): 129– 133.
- [17] 云兴福, 韩立志. 黄瓜根部施用化学物质对其霜霉病诱导抗性的研究[J]. 生态农业研究, 1996, 4(2): 59– 62.
- [18] 贾显禄, 王振中, 王平. 水稻与稻瘟病菌非亲和性互作中重要防御酶活性变化规律研究[J]. 植物病理学报, 2002, 32(3): 206– 213.