

水杨酸对黄瓜几种酶活性及抗病性的诱导作用

李淑菊, 马德华, 庞金安, 霍振荣

(天津市黄瓜研究所, 天津 300192)

摘要: 黄瓜幼苗经水杨酸处理后, POD、PPO、PAL 3 种酶活性均有不同程度的变化, 与对照相比, POD 活性在处理 24 h 有明显提高, 以后一直呈上升趋势, 至 144 h 后较对照提高 193.0%。PPO 活性变化相对较小, 酶活性的明显提高在处理 48 h 以后, 处理后 144 h 时较对照提高 61.7%。PAL 在处理 72 h 时出现一个小的酶活性峰, 较对照提高 17.6%, 而后下降, 120 h 出现第 2 个活性峰, 较对照提高 30.8%。处理后 4 d 接种霜霉病菌, 调查结果表明: 第 1 真叶处理较对照病情指数降低 8.9%, 第 2 真叶处理较对照降低 22.1%。

关键词: 水杨酸; 过氧化物酶; 多酚氧化酶; 苯丙氨酸解氨酶; 黄瓜霜霉病; 诱导抗性

中图分类号: S432.2⁺6 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2000)02-0118-05

水杨酸(Salicylic acid, SA)是植物体内产生的一种简单的酚类物质, 它作为一种信号分子对一些重要的代谢过程起调控作用。现已发现水杨酸能改变某些植物的光周期诱导开花、增加抗氰呼吸、抑制乙烯合成, 尤其是能诱导多种植物对病毒、真菌及细菌病害产生抗性^[1]。一些生物及非生物因子均能诱导植物体内 SA 的积累^[2~4]。Metraux 对黄瓜第一真叶接种病原物的研究表明, 接种后 SA 开始增加的时间取决于接种的病原物的种类^[1]。SA 含量也因诱导因子的不同而不同^[3]。Rasmussen 用 *Pseudomonas syringae* pv *syngae*(丁香假单胞杆菌丁香致病变种)接种黄瓜叶片, 24 h 在韧皮部渗出物中检测出高浓度的 SA, 认为由 *P. syringae* pv *syngae* 引起的过敏性坏死反应是在短时间内获得诱导抗性的结果, 这种抗性的产生需要高浓度的水杨酸。进一步研究认为, SA 是植物体内产生的诱导抗性物质但不是诱导抗性产生的初始系统信号^[3]。人工接种 *P. syringae* pv *syngae* 后, SA 的产生早于 POD 活性的变化及诱导抗性的产生。由此认为 SA 诱导了过氧化物酶及其同功酶, 以及其他发病相关蛋白的产生, 进而诱导抗病性的产生。用 SA 处理植物可以诱导某些发病相关蛋白(Pathogenesis-related proteins)的产生, 并诱导对随后接种的病原物产生系统抗性^[1, 5, 6]。Okuno 用 SA 处理黄瓜第一真叶, 并于处理后 3~6 d 用 *Pseudoperonospora cubensis*(古巴假霜霉病菌)进行挑战接种, 结果使发病减轻 50%, 而处理后 24 h 进行挑战接种发病几乎没有变化。因此认为至少在处理 3 d 接种病原菌才可以表现诱导抗性^[5]。本文测定了水杨酸处理黄瓜幼苗叶片后不同时间的 POD、PPO、PAL 3 种与抗病密切相关的酶活性变化, 并于处理后 4 d 接种霜霉病菌(*Pseudoperonospora cubensis*), 观察 SA 对黄瓜霜霉病的诱导抗性, 并试图对 SA 诱导抗性的抗病机理作简单的探讨。

1 材料和方法

试验于 1998 年 4 月在天津市黄瓜研究所进行。

1.1 材料

选用感霜霉病黄瓜品种北京小刺(来自天津市黄瓜研究所)。取饱满种子 200 粒, 用 0.1% 的升汞消毒 10 min 后, 清水冲洗干净于 28 ℃温箱中催芽, 出芽后播于消毒的砾石营养钵中。于温室中育苗, 白天温度 25 ℃, 夜间温度 15 ℃左右。分别于出苗后及处理前各浇 1 次营养液。100 株用于 SA 处理, 100 株作对照。处理及对照各留 50 株用于酶活性测定, 另 50 株用于接种霜霉病。

1.2 水杨酸处理

SA 用 1 mol/L NaOH 溶解后配成浓度为 2.5 mmol/L, pH 为 7.0 的溶液, 当第一真叶完全展开, 第二真叶未完全展开(播种后 25 d)时, 将 SA 溶液用喷雾器均匀的喷于第一真叶, 每片叶约 3 mL, 以喷清水为对照。

1.3 酶液的提取及测定

分别于处理前及处理后 24, 48, 72, 96, 120, 144 h 取样(第一真叶)进行酶液的提取及 POD、PPO、PAL 酶活性测定。并于处理后 144 h 对处理及对照的第一真叶(处理叶)及第二真叶(非处理叶)分别取样, 进行酶液的提取及测定。酶液的提取及测定参照李靖^[7]的方法进行, 酶活力单位= ΔOD 值/(mg•min)。

1.4 接种病原菌

于 SA 处理后 4 d 在处理及对照植株第一、二真叶同时接种霜霉病菌, 接种浓度为 10 000 孢子囊/mL, 接种温度为 18~ 22 ℃, 接种后保湿 16 h, 以后夜间保湿, 于接种后 5 d 调查处理及对照发病情况, 根据病斑占叶面积的比例将病情分为 0, 1, 2, 3, 4, 5 级, 然后计算病情指数。

病情指数=
$$\frac{\sum(\text{病级叶数} \times \text{代表数值})}{\text{叶数总和} \times \text{发病最重级的代表值}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 SA 处理前后三种酶活性变化

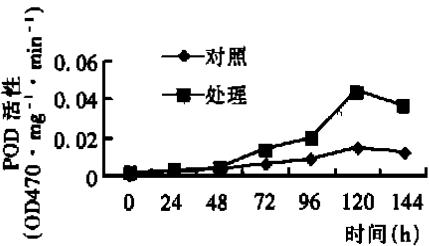


图 1 SA 处理前后不同时间 POD 活性变化

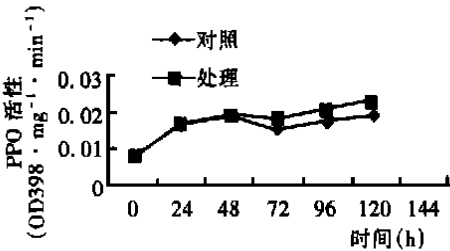


图 2 SA 处理前后不同时间 PPO 活性变化

从图 1~ 4 中可以看出, 经 SA 处理的第一真叶 3 种酶活性均有不同程度的变化, 以 POD

活性变化最早, 提高幅度最大。处理后 24 h 即较对照提高 25. 9%, 48 h 后开始有较大幅度的提高, 且一直呈上升趋势, 至 144 h 时处理较对照提高 193. 0%; PPO 活性变化相对较小, 明显变化在处理 48 h 以后, 72 h 时较对照提高 20. 0%, 以后变化较小, 120 h 后又发生明显变化, 至 144 h PPO 活性较对照提高 62. 0%; PAL 活性变化与其他 2 种酶活性的变化有所不同, 在处理 72 h 出现一个活性峰值, 较对照提高 17. 6%, 而后下降, 至 120 h 时出现第二个活性峰, 较对照提高 30. 8%, 以后下降。与此同时, 我们还测定了处理株未喷布 SA 的第二真叶的 POD、PPO、PAL 活性, 144 h 时 3 种酶活性, 较对照分别提高 60. 2%、36. 5%、6. 67%, 虽低于喷布 SA 的第一真叶, 但充分说明幼苗经 SA 处理后, 诱导了系统酶活性的变化。

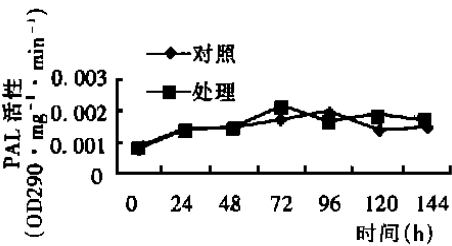


图3 SA 处理前后不同时间 PAL 活性变化

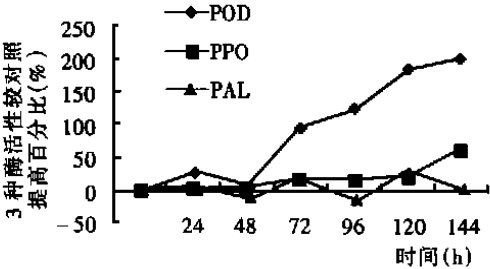


图4 处理后三种酶活性较对照提高百分比

2. 2 SA 诱导对霜霉病的系统抗性

处理后 4 d, 在处理株和对照株第一、二真叶人工接种黄瓜霜霉病菌, 接种后 5 d 第一、二真叶的病情指数如图 5。可以看出, 经 SA 处理的黄瓜幼苗叶片对霜霉病的抗病性较对照有所提高, 处理的第一真叶病情指数较对照降低 8. 9%, SA 还诱导了处理株未喷布 SA 的第二真叶对霜霉病的抗性, 病情指数较对照降低 22. 1%, 比第一真叶还低 13. 2 个百分点。说明 SA 诱导了黄瓜对霜霉病的系统抗病性, 且诱导抗性效果非处理的第一真叶好于处理的第一真叶。

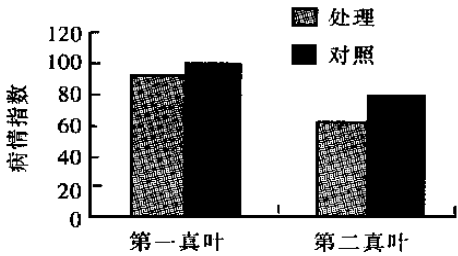


图5 处理及对照的发病情况

3 讨论

从结果可以看出, 黄瓜幼苗经 SA 处理后 3 种酶活性均有不同程度的变化, 以 POD 活性提高较早且提高幅度大, 其它 2 种酶活性变化较小; SA 处理后可以诱导系统酶活性的提高, 酶活性变化第一真叶高于第二真叶; SA 处理后诱导了植株对霜霉病的系统抗性, 诱导抗性效果第二真叶好于第一真叶。

PAL 是参与酚代谢主要的酶之一, 其活性与酚的合成有关。POD、PPO 参与酚的氧化, 形成对病菌毒性较高的醌类物质; 并参与木质素的合成, 使细胞壁增厚来抵御病菌的侵入和扩展从而抑制发病。

SA 虽然不是诱导抗性产生的最初系统信号, 但却是诱导抗性产生的重要因素。SA 处理

黄瓜幼苗后, 诱导了与抗病相关的 POD、PPO、PAL 酶活性的变化。其中以 POD 活性变化最早, 在处理 24 h 酶活性发生明显变化, 这点与 Rasmussen 的结果相似^[3]。他认为 POD 活性的提高是诱导抗性最初阶段的标志^[3]。POD 活性处理 48 h 后开始大幅度提高, 并一直呈上升趋势, 至 144 h 增加到最高, POD 活性的这种持续增高, 增加了醌类及木质素等抗病物质的合成, 从而抑制发病。PAL 参与酚的合成, 在处理 72 h 出现活性峰而后活性下降, 可能是在处理前期催化了酚的合成, 为在 POD、PPO 催化下进一步生成醌类物质打下了基础, 本试验中表示 PAL 活性的 OD 值较低, 可能是反应时间长所致。PPO 活性变化相对较小, 在诱导抗性中的作用不及 POD, POD 在诱导抗性中起主要作用。SA 处理所诱导的抗病性可能是通过诱导与抗病性相关的酶活性的提高来实现的。一些其他与发病相关的蛋白质如几丁质酶及 β -1, 3 葡聚糖酶等被认为与诱导抗性有关, 由于本试验未曾涉及, 在此不详细讨论。

SA 还诱导了未处理的第二真叶 3 种酶活性的提高及抗病性的提高。虽然处理后 144 h 与对照相比第一真叶(处理叶) 3 种酶活性变化高于第二真叶(非处理叶), 但第二真叶的诱导抗病效果好于第一真叶。Okuno 在用生物因子及非生物因子诱导的对黄瓜霜霉病(*P. cubensis*) 的抗性中得到相同的结论^[5]。诱导抗性信号在植株体内的传导及其所诱发的生物合成是极其复杂的过程, 此外植株对病原物的抗病性除与抗病性相关的酶活性的变化有关外, 还与叶片的结构、叶片内糖、蛋白质及其它物质的含量有关, 因此有待进一步研究。

SA 处理后虽然抗病性有所提高, 但其诱导抗性效果与 Okuno 的结果相差甚远^[5]。这可能与所选用的品种北京小刺为高感品种有关。

参考文献:

- [1] 原永兵, 刘成连, 鞠志国. 水杨酸对苹果叶片中过氧化氢的调节及其机制[J]. 园艺学报, 1997, 24(3): 220–224.
- [2] 李兆亮, 原永兵, 鞠志国, 等. 细菌性角斑病菌诱导黄瓜叶片水杨酸的积累[J]. 植物学报, 1997, 39(11): 1010–1014.
- [3] Rasmussen J B, Hammerschmidt R, Zook M N. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv *syringae* [J]. Plant Physiol, 1991, 97: 1342–1347.
- [4] Mewly P, Molders W, Buchala A, et al. Local and systemic biosynthesis of salicylic acid in infected cucumber plants[J]. Plant Physiol, 1995, 109: 1107–1114.
- [5] Okuno T, Nakayama M, Okajima N, et al. Systemic resistance to downy mildew and appearance of acid soluble proteins in cucumber leaves treated with biotic and abiotic inducers[J]. Ann Phytopath Soc Japan, 1991, 57: 203–211.
- [6] Reglinski T, Poole P R, Whitaker G, et al. Induced resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in kiwifruit leaves[J]. Plant Pathology, 1997, 46: 716–721.
- [7] 李靖, 利容干, 袁文静, 等. 黄瓜感染霜霉菌叶片中一些酶活性的变化[J]. 植物病理学报, 1991, 21(4): 278–283.

Induced Effect of Salicylic Acid on the Activity of Several Enzymes and Disease Resistance of Cucumber

LI Shir ju, MA De hua, PANG Jir an, HU O Zheer rong

(Tianjin Cucumber Research Institute, Tianjin, 300192, China)

Abstract: Cucumber seedlings were treated with SA at two-leave stage with one real leave expanded and the other real leave unexpanded. The activity of POD, PPO and PAL changed in different level after treatment. The activity of POD changed obviously at 24 h after treatment, and increased steadily, till 144 h after treatment it increased 193% as compared with control. However the changes of PPO activity were less than that of POD. The activity of PPO increased by 61.7% 144 h after treatment. The PAL activity reached a little peak 72 h after treatment and then declined, another peak appeared in 120 h after treatment. Inoculation with *Pseudoperonospora cubensis* 4 d after treatment, the results show that the disease index of the first and the second real leaves were reduced by 8.9% and 22.1% respectively.

Key words: Salicylic acid; POD; PPO; PAL; Cucumber downy mildew; Induced resistance