

# 几种化学物质诱导马铃薯对早疫病的抗性 及其机理研究

刘 洋<sup>1</sup>, 蒋继志<sup>1</sup>, 杨发茂<sup>2</sup>, 宋海亮<sup>1</sup>

(1. 河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002; 2. 河北任丘市农业局植保站, 河北 任丘 062550)

**摘要:**以草酸, KCl, FeSO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 作为激发子, 就诱导马铃薯块茎对早疫病的抗性及其机理进行了初步研究。结果表明, 草酸, KCl, FeSO<sub>4</sub> 均可诱导马铃薯块茎产生对早疫病的抗性, 其中 20 mmol/L 草酸的保护率达到 49.38%, 80 mmol/L KCl 的保护率达到 52.94%, 40 mmol/L FeSO<sub>4</sub> 的保护率达到 51.51%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 不能诱导马铃薯块茎抗早疫病。经草酸、KCl、FeSO<sub>4</sub> 诱导处理后的马铃薯块茎中, POD, PAL, PPO 的活性明显高于对照, 表明化学物质可能通过提高这 3 种酶的活性来发挥其诱导抗病作用。

**关键词:**化学激发子; 马铃薯早疫病; 过氧化物酶; 苯丙氨酸解氨酶; 多酚氧化酶

**中图分类号:**S436.32 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2006)02-0113-05

## Resistance in Potato Against Early Blight and Its Mechanism Induced by Chemical Substances

LIU Yang<sup>1</sup>, JIANG Ji-zhi<sup>1</sup>, YANG Fa-mao<sup>2</sup>, SONG Hai-liang<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China;

2. Renqui Plant Protection Institute of Agricultural Bureau of Hebei Province, Renqui 062550, China)

**Abstract:** Oxalic acid, potassium chloride (KCl), ferrous sulfate (FeSO<sub>4</sub>) and dipotassium hydrogen phosphate (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) were used to induce resistance in potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) against early blight, respectively. The results were as follows: oxalic acid, KCl, and FeSO<sub>4</sub> were effective elicitors of inducing resistance in potato tubers against early blight, but K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> could not do that. Preliminary research on the induced resistance mechanisms showed that the activities of POD, PPO, PAL in potato tubers were enhanced by oxalic acid, KCl, and FeSO<sub>4</sub>, while they couldn't inhibit the growth of *Alternaria solani* *in vitro*.

**Key words:** Chemical elicitor; Potato early blight; POD; PAL; PPO

马铃薯早疫病是马铃薯生产中的常见病害<sup>[1]</sup>。近年来, 马铃薯早疫病频繁发生, 造成的经济损失越来越大, 引起人们的广泛重视。该病害由茄链格孢 (*Alternaria solani* (Ellis & Martin) Jones & Grou) 引起, 以为害叶片为主, 同时为害叶柄、茎和块茎, 因病原菌侵染叶片和损伤块茎, 造成马铃薯减产和储藏期的腐烂<sup>[1]</sup>。目前生产中对马铃薯早疫病的防治还主要集中在化学农药的使用上。由于化学农药极易对环境造成污染, 破坏生态平衡, 长期使用还会使病

原菌产生抗药性, 增加病害防治工作的难度。基于化学农药的诸多缺憾, 应对新的控制马铃薯早疫病的方法加以研究。近年来利用各种激发子诱导植物使其产生或增强抗病性已有许多报道<sup>[2,3]</sup>, 但诱导马铃薯抗早疫病的报道还不多见<sup>[4]</sup>。在本实验室利用生物源激发子诱导马铃薯抗早疫病的工作基础上<sup>[5,6]</sup>, 本研究就几种化学物质诱导马铃薯抗早疫病的效果以及诱导抗病机理进行了初步探讨。

收稿日期: 2005-12-01

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: 刘 洋(1979-), 男, 河北石家庄人, 在读硕士, 主要从事植物诱导抗病性研究; 蒋继志为通讯作者。

## 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(*A. solani*),本实验室保存菌种;草酸, KCl, FeSO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>。

### 1.2 方法

1.2.1 化学物质的制备 草酸用蒸馏水配成 40 mmol/L 的母液(KOH 调节 pH 至 6.2), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 用蒸馏水配成 100 mmol/L 的母液(KOH 调节 pH 至 8.8), KCl 用蒸馏水配成 100 mmol/L 的母液, FeSO<sub>4</sub> 用蒸馏水配成 100 mmol/L 的母液。稀释成所需浓度, 灭菌细菌过滤器过滤待用。

1.2.2 诱导方法 马铃薯块茎洗净后用 3% 次氯酸钠消毒 5 min, 无菌刀切成 2 cm × 2 cm × 0.5 cm 的薄片, 将薄片一面约 2 mm 浸入诱导物 30 min, 无菌水冲洗, 避光 25℃ 放置 3 d。无菌水诱导作对照。诱导处理后一部分切片用于测定其抗病性, 另一部分用于酶活测定。第 3 d 在用于测定抗病性的薄片中央接种已在 PDA 培养基上培养 7~9 d 的茄链格孢菌分生孢子悬浮液(2.7 × 10<sup>6</sup> 个/mL) 20 μL, 25℃ 暗培养。第 4 d 开始调查感病程度, 观察记载菌丝在薯块切片表面生长及为害情况, 统计发病面积。

1.2.3 酶的提取 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, 10 000 r/min, 0℃ 下离心 15 min, 上清液作为待测酶液冰冻保存。

1.2.4 酶活测定 过氧化物酶(POD)的测定参照高俊凤<sup>[7]</sup>的方法, 苯丙氨酸解氨酶(PAL)的测定参照胡景江<sup>[8]</sup>的方法, 多酚氧化酶(PPO)的测定参照袁庆华等<sup>[9]</sup>的方法进行。

1.2.5 保护率的计算 于接种后第 10 d 进行计算。

保护率 = (对照发病面积 - 处理发病面积) / 对照发病面积 × 100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 化学物质的诱导效果

4 种化学物质诱导马铃薯块茎抗旱疫病的结果列于表 1。草酸, KCl, FeSO<sub>4</sub> 在供试的各稀释浓度梯度下对马铃薯块茎均有诱导抗旱疫病效果, 但并没有随稀释浓度的增加而呈现递增趋势。其中, 草酸的最佳使用浓度为 20 mmol/L, 保护率达到 49.38%, 与对照相比差异显著; KCl 的最佳使用浓度为 80 mmol/L, 保护率可达 52.94%, 差异显著; FeSO<sub>4</sub> 的最佳使用浓度为 40 mmol/L, 保护率最高为 51.51%, 差异极显著; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 没有显示诱导马铃薯块茎抗旱疫病的效果, 80 mmol/L 时反而表现出明显的诱导感病作用。

表 1 4 种化学物质对马铃薯早疫病诱导效果

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

化学物质 Chemicals	浓度 (mmol/L) Thickness	发病面积 (mm <sup>2</sup> ) Colony area	保护率 (%) Inhibition ratio	SSR 检验 Statistic method of SSR		化学物质 Chemicals	浓度 (mmol/L) Thickness	发病面积 (mm <sup>2</sup> ) Colony area	保护率 (%) Inhibition ratio	SSR 检验 Statistic method of SSR	
				α = 0.05	α = 0.01					α = 0.05	α = 0.01
KCl	80	16.0	52.94	b	A	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	ck	23.8	-	b	B
	40	20.6	39.41	ab	A		40	26.6	-11.76	b	AB
	60	21.0	38.24	ab	A		60	29.2	-22.69	ab	AB
	100	21.8	35.88	ab	A		100	30.2	-26.89	ab	AB
	20	23.8	30.0	ab	A		20	31.0	-30.25	ab	AB
	ck	34.0	-	a	A		80	32.2	-35.29	a	A
FeSO <sub>4</sub>	40	16.0	51.51	c	B	草酸 Oxalic acid	20	16.2	49.38	b	A
	20	24.2	26.67	b	B		30	27.0	15.62	ab	A
	60	26.6	19.40	ab	AB		5	28.2	11.87	ab	A
	80	28.6	13.33	ab	AB		10	29.0	9.38	ab	A
	100	32.6	1.21	a	A		40	29.2	8.75	ab	A
	ck	33.0	-	a	A		ck	32.0	-	a	A

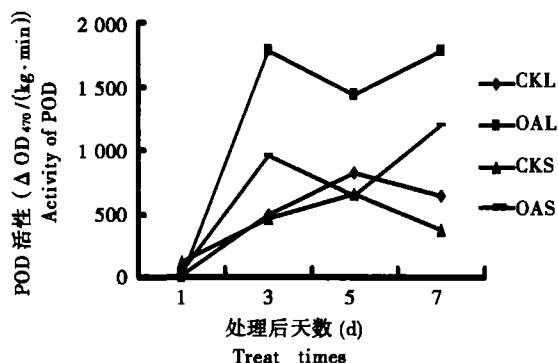
### 2.2 化学物质对马铃薯块茎 POD, PAL, PPO 的活性影响

根据诱导抗病效果, 选取最适浓度的草酸、KCl 和 FeSO<sub>4</sub> 处理马铃薯块茎后进行酶活测定, 无菌水处理作对照。结果见图 1~9。

草酸处理马铃薯块茎后 3 种酶活的变化如图 1~3 所示。POD 活性在诱导薯块的诱导端于第 3 d

出现一个高峰值, 较对照提高 287.60%, 此后有所下降, 第 7 d 再次升高, 较对照提高 175.83% (图 1)。PAL 在处理诱导薯块与对照薯块的活性水平基本相近, 甚至低于对照 (图 2)。PPO 活性在处理 1 d 开始下降, 5 d 后诱导薯块的诱导端酶活迅速提高, 第 7 d 达到最大值, 较对照提高 83.95% (图 3)。说明草酸处理对 POD 与 PPO 活性有促进作用, 对 PAL

活性有抑制作用。



CKL 对照薯块诱导端;CKS 对照薯块处理端;

OAL 诱导薯块诱导端;OAS 诱导薯块处理端,图 2,3 同

CKL Induced terminal of controlled tuber;CKS Treated terminal of controlled tuber;OAL Induced terminal of induced tuber;

OAS Treated terminal of induced tuber, the same as Fig.2,3

图 1 20 mmol/L 草酸处理马铃薯块茎后 POD 活性的变化

Fig.1 The effects of oxalic acid on the activity of POD in potato tubers

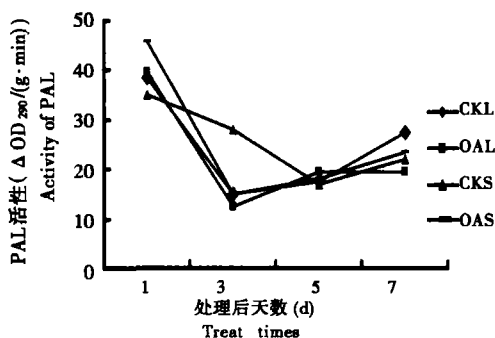


图 2 20 mmol/L 草酸处理马铃薯块茎后 PAL 活性的变化

Fig.2 The effects of oxalic acid on the activity of PAL in potato tubers

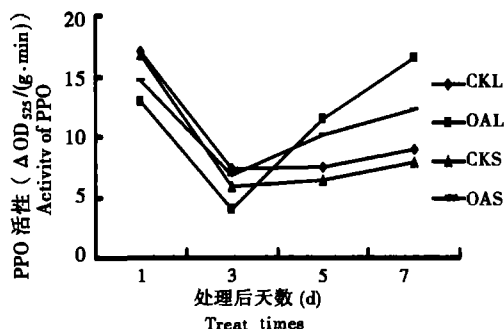
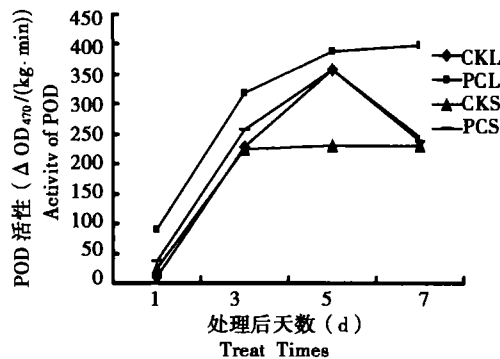


图 3 20 mmol/L 草酸处理马铃薯块茎后 PPO 活性变化

Fig.3 The effects of oxalic acid on the activity of PPO in potato tubers

KCl 处理马铃薯块茎后对 3 种酶活的影响见图 4~6。POD 活性在处理 7 d 内诱导薯块的诱导端酶活水平始终高于对照,第 7 d 达到最大值,较对照提高 62.59%(图 4)。PAL 活性在处理初期,诱导薯块



CKL 对照薯块诱导端;CKS 对照薯块处理端;

PCL 诱导薯块诱导端;PCS 诱导薯块处理端,图 5,6 同

CKL Induced terminal of controlled tuber;CKS Treated terminal of controlled tuber;PCL Induced terminal of induced tuber;

PCS Treated terminal of induced tuber, the same as Fig.5,6

图 4 80 mmol/L KCl 处理马铃薯块茎后 POD 活性的变化  
Fig.4 The effects of KCl on the activity of POD in potato tubers

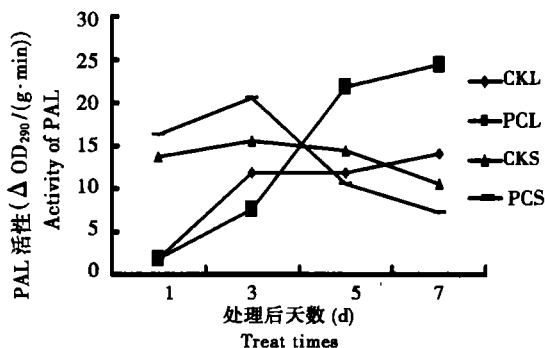


图 5 80 mmol/L KCl 处理马铃薯块茎后 PAL 活性的变化

Fig.5 The effects of KCl on the activity of PAL in potato tubers

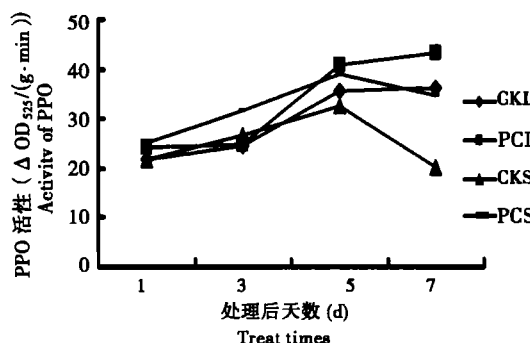
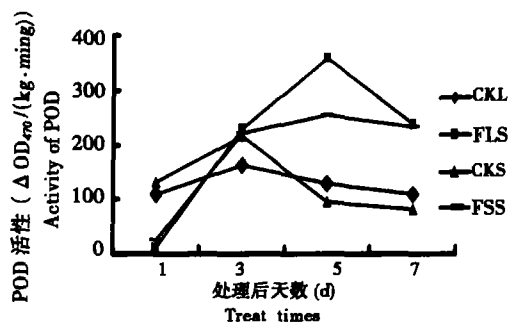


图 6 80 mmol/L KCl 处理马铃薯块茎后 PPO 活性变化

Fig.6 The effects of KCl on the activity of PPO in potato tubers

的处理端高于对照,而诱导端低于对照,5 d 后处理端活性下降,诱导端活性升高,在第 7 d 达到最大值,较对照提高 73.78%(图 5)。PPO 活性在处理后期诱导薯块与对照薯块基本相同或略高于对照,在第 7 d 时诱导薯块的诱导端较对照薯块的诱导端酶活提高了 24.60%(图 6)。说明 KCl 对上述 3 种酶活性均有不

同程度的促进作用。



CKL 对照薯块诱导端;CKS 对照薯块处理端;  
FSL 诱导薯块诱导端;FSS 诱导薯块处理端;图 8,9 同

CKL Induced terminal of controlled tuber;CKS Treated terminal of controlled tuber;FSL Induced terminal of induced tuber;  
FSS Treated terminal of induced tuber, the same as Fig. 8,9

图 7 40mmol/L  $\text{FeSO}_4$  处理马铃薯块茎后 POD 活性的变化

Fig.7 The effects of  $\text{FeSO}_4$  on the activity of POD in potato tubers

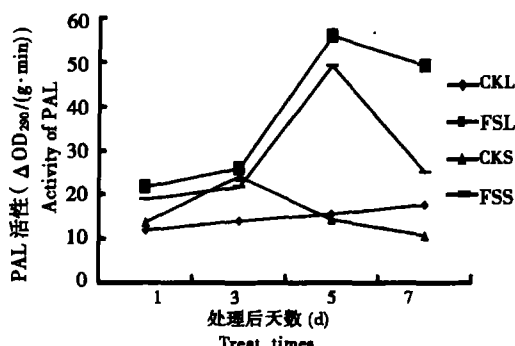


图 8 40 mmol/L  $\text{FeSO}_4$  处理马铃薯块茎后 PAL 活性的变化

Fig.8 The effects of  $\text{FeSO}_4$  on the activity of PAL in potato tubers

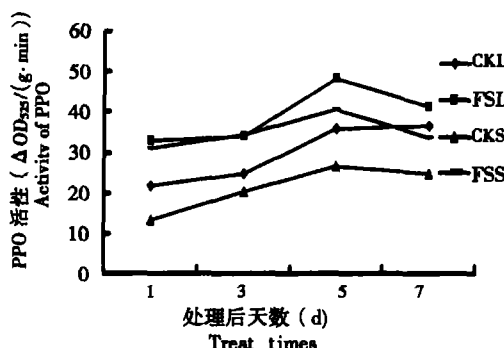


图 9 40 mmol/L  $\text{FeSO}_4$  处理马铃薯块茎后 PPO 活性变化

Fig.9 The effects of  $\text{FeSO}_4$  on the activity of PPO in potato tubers

$\text{FeSO}_4$  诱导处理马铃薯块茎后对 3 种酶活性均有一定的促进作用(图 7~9)。POD 活性在诱导处理后初期,诱导薯块的诱导端低于对照薯块诱导端,3 d 后活性开始迅速提高,第 5 d 出现最大值,较对照提高 175.65% (图 7)。PAL 活性在处理 7 d

内,诱导薯块的诱导端水平始终高于对照薯块诱导端,第 5 d 达到最大值,较对照提高 288.14% (图 8)。PPO 活性在处理诱导薯块的诱导端也始终高于对照薯块诱导端,第 5 d 达到最大值,较对照提高了 35.94% (图 9)。

### 3 结论与讨论

自从发现一些化学物质能诱导植物抗病以来,人们就注意到这可能是植物病害防治中可供选择的新途径<sup>[10]</sup>。化学诱抗剂具有成本低廉、防效稳定、不受环境影响、易于工业化生产等优点,因而受到广泛的重视。目前已知研究较多的化学诱导剂有无机化合物、天然有机化合物和一些合成化合物,约 100 多种<sup>[10]</sup>。其中草酸, KCl,  $\text{FeSO}_4$  和  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  在黄瓜等许多种植物中已被证实有诱导抗病作用<sup>[1,10]</sup>,但在马铃薯抗病性中未见有报道。本研究表明,草酸, KCl,  $\text{FeSO}_4$  这 3 种化学物质均可诱导马铃薯对早疫病产生抗性,与在其他植物中的大多数研究相一致;而  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  在本试验中未表现出诱导抗病作用,与在其他植物中的研究不一致,原因有待进一步研究分析。

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性的变化,其中 POD, PAL, PPO 这 3 种酶活性的升高与植株抗病性的提高是呈正相关的<sup>[11]</sup>,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<sup>[12]</sup>。杨荣金等用草酸诱导处理黄瓜抗炭疽病,发现经草酸处理的叶片 POD 活性明显提高<sup>[13]</sup>。张宗申等用草酸诱导处理黄瓜叶片,结果显示叶片中 PAL 活性没有上升<sup>[14]</sup>,与本试验中草酸处理马铃薯块茎后 POD 活性有所上升, PAL 活性受到抑制的结果基本一致。KCl 和  $\text{FeSO}_4$  诱导处理植物后,有关 POD, PPO, PAL 活性的变化很少有报道。本试验中用不同浓度的 KCl 和  $\text{FeSO}_4$  处理马铃薯块茎后, POD, PPO, PAL 活性均有不同程度的提高,其中以 POD 活性提高较早且提高幅度较大,这点与李淑菊等所做的黄瓜幼苗经水杨酸处理后 POD 活性变化结果相似<sup>[15]</sup>。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,草酸, KCl,  $\text{FeSO}_4$  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] Kloepper J W, Schroth M N. Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora [J]. *Phytopathology*, 1981, 71: 1020 - 1024.
- [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 - 6.
- [3] 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.
- [4] Coquoz J L, Buchala A J, Meuwly P H. Arachidonic acid induces local but not systemic synthesis of salicylic acid and confers systemic resistance in potato plants to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani* [J]. *Phytopathology*, 1995, 85: 1219 - 1224.
- [5] 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.
- [6] 马立如, 赵丽坤, 蒋继志, 等. 生物源激发子诱导马铃薯抗真菌病害研究进展 [J]. *河北农业大学学报*, 2002, 25(增刊): 187 - 189.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 袁庆华, 桂 枝, 张文淑. 苜蓿抗感褐斑病品种内超氧化物歧化酶、过氧化物酶和多酚氧化酶活性的比较 [J]. *草业学报*, 2002, 11(2): 100 - 104.
- [10] 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.
- [11] 贾显禄, 王振中, 王 平. 水稻与稻瘟病菌非亲和性互动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.
- [12] 余叔文. 植物生理与分子生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 1992. 417 - 430.
- [13] 杨荣金, 彭新湘, 姜子德, 等. 草酸诱导黄瓜抗炭疽病的机理研究 [J]. *植物病理学报*, 2002, 30(2): 153 - 157.
- [14] 张宗申, 彭新湘, 姜子德, 等. 草酸对黄瓜叶片中几种与抗病有关酶的系统诱导作用 [J]. *华南农业大学学报*, 1998, 19(1): 16 - 20.
- [15] 李淑菊, 马德华, 庞金安, 等. 水杨酸对黄瓜几种酶活性及抗病性的诱导作用 [J]. *华北农学报*, 2000, 15(2): 118 - 122.