

文章编号 :1003-8701(2003)02-0037-04

籽用南瓜苗期接种辣椒疫霉菌对 POD、PPO 活性影响的研究

周克琴¹ 崔崇士² 屈淑平²

(1. 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 哈尔滨 150040 ; 2. 东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030)

摘 要 :先对 29 份材料进行抗性鉴定后,对抗性不同的籽用南瓜材料进行酶活性分析。结果表明,在健康植株中,过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)活性在抗、感品种中差异不明显;病菌侵染后 POD 活性在感病材料中增长幅度大于在抗病材料中的增长幅度,但感病品种酶活性下降的幅度比抗病品种下降的快;PPO 活性在抗病材料中的增长幅度大于在感病材料中的增长幅度。接种后 POD、PPO 活性均是抗病品种高于感病品种,与抗病性呈正相关趋势。

关键词 :南瓜 疫病 POD PPO

中图分类号 :S642.1

文献标识码 :A

疫病是籽用南瓜生产上最主要的病害,在南瓜产区时有发生,严重时大面积枯死,果实腐烂,甚至绝产,严重地制约着籽用南瓜的生产。植物被病原菌侵染后,某些酶的活性发生变化,而酶活性变化可能与抗病性有关。辣椒被疫霉菌(*P.capsici*)侵染后过氧化物酶和多酚氧化酶活性都明显增加,并有新的 POD、PPO 酶带出现,而对于籽用南瓜抗性不同的材料被辣椒疫霉菌侵染后 POD、PPO 活性的变化还未见报道。因此,本文将对不同抗性南瓜品种感染疫霉菌后酶活性的变化规律进行研究,为南瓜疫病的防治、抗源筛选及抗病品种的选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

籽用南瓜 :由东北农业大学园艺学院籽用南瓜、白菜课题组提供 29 份籽用南瓜。

辣椒疫霉菌 :由东北农业大学农学院植保系提供,从桦南县田间南瓜植株上分离得到。

1.2 试验方法

南瓜苗的培养 :土壤经高温灭菌 2 h 后装入 10 cm × 10 cm 塑料营养钵中。播种前温汤浸种,27℃催芽 3 d 播种,覆土 2 cm 厚,盖无色塑料膜。拱土出苗后去掉塑料膜,正常管理。每处理 12 株,3 次重复。

菌种的培养和菌液的制备 :将保存在试管中 CA 培养基上的辣椒疫霉菌菌种活化,然后转接至 CA 平板上,置 24℃恒温培养箱中培养一周。接种前 3 ~ 4 d 用蒸馏水浸没培养基来诱导孢子形成。接种时配制浓度为游动孢子 1 250 个/mL 的孢子悬浮液。

不同抗性材料鉴定 :在植株达到 3 片真叶时,采用注射法接种,接种后保湿 48 h (相对湿度 100%),根据对 29 份材料鉴定的结果选出抗性不同的 4 份代表材料。

收稿日期 :2002-11-11

基金项目 :黑龙江省“九五”科技攻关项目

作者简介 :周克琴,辽宁省东辽县人,硕士,主要从事作物生理生态学研究。

取样法 选取 9 号 (R)、4 号 (MR)、26 号 (S)、11 号 (HS) 作为不同抗性代表材料 , 接种方法同上 , 分别于接种前、接种后 24、48、72 h 根茎部位取样。

POD 酶液提取 : 取根茎部 1 g , 剪碎置于研钵中 , 再加少许水和石英砂 , 研磨成匀浆。移入 100 mL 容量瓶中 , 取一定量离心沉淀 (4 000 r/min) , 取其上清液保存在冰箱 (或冷处) 备用。

POD 活性的测定 : 在 20 mL 刻度试管中 , 分别加入 pH5.0 醋酸缓冲液 1 mL、0.1% 邻甲氧基苯酚 (愈创木酚) 1 mL 及酶溶液 1 mL , 摇匀后置于 30℃ 恒温水浴中 5 min , 达平衡后立即加入 0.08% H₂O₂ 溶液 1 mL 并摇匀 , 1 min 后生成红棕色的 4-邻甲氧基苯酚溶液 , 立即倒入比色杯中 , 470 nm 处测定其消光值。酶的活性表示为 ΔO.D./min.g.fr.w.cm , 重复 3 次 , 并设对照 , 用 1 mL 蒸馏水代替 0.08% H₂O₂。样品中 POD 活性大小的计算公式如下 :

$$\Delta O.D_{470\text{ nm}}(\text{g.fr.w.cm.min})=O.D_{470\text{ nm}} \times N / (W \times T \times n \times d)$$

其中 , N 为酶粗提取液总体积 (mL) , W 为样品鲜重 (g) , T 为反应时间 (min) , n 为反应液所用酶初提液体积 (mL) , d 为比色皿的直径 (cm)。

PPO 酶液提取 : 称取剪碎混匀的新鲜南瓜苗根茎 2 g , 置于研钵中 , 加少量石英砂和 pH6.0 的正磷酸缓冲液 , 快速研磨成匀浆 , (先以冷水冷却) 装入 50 mL 容量瓶中 , 加缓冲液稀释至刻度 , 摇匀。取上清液(酶)备用。

PPO 活性的测定 : 取 0.2 mL 酶液 , 加 0.05 mol/L , pH=7.8 的磷酸缓冲液 2.9 mL , 0.1 mol/L 儿茶酚溶液 1.0 mL , 30℃ 下反应 10 min , 用 20% 的三氯乙酸终止反应 , 于 398 nm 下测定消光值。样品中 PPO 活性大小的计算公式如下 :

$$\Delta O.D_{398\text{ nm}}(\text{g.fr.w.cm.min})=O.D_{398\text{ nm}} \times N / (W \times T \times n \times d)$$

其中 , N 为酶粗提取液总体积 (mL) , W 为样品鲜重 (g) , T 为反应时间 (min) , n 为反应液所用酶粗提液体积 (mL) , d 为比色皿的直径 (cm)。

2 结果与分析

2.1 籽用南瓜抗性鉴定

从表 1 可以看出 , 在 29 份材料中筛选出抗性材料 1 份、中抗材料 5 份、感病材料 17 份、高感材料 6 份。

表 1 不同南瓜品种苗期抗病性鉴定结果

品种代号	发病率(%)	病情指数	抗感反应	品种代号	发病率(%)	病情指数	抗感反应
1	79.2	39.2	MR	16	66.3	40.1	MR
2	80.4	60.1	S	17	58.6	56.4	S
3	76.5	63.2	S	18	77.2	45.4	MR
4	66.4	42.8	MR	19	84.1	46.2	MR
5	84.2	62.3	S	20	91.1	78.1	HS
6	75.3	56.1	S	21	88.3	80.0	HS
7	77.1	61.0	S	22	68.4	57.0	S
8	90.0	62.8	S	24	88.1	75.1	HS
9	42.3	13.3	R	25	72.3	66.2	S
10	76.1	62.9	S	26	79.1	65.2	S
11	85.7	76.2	HS	27	84.4	73.3	S
12	90.0	84.3	HS	28	76.0	58.4	S
13	73.1	71.1	S	29	70.3	66.3	S
14	85.4	78.2	HS	30	80.2	62.5	S
15	70.2	56.2	S				

注 : 23 号材料未出苗。

2.2 过氧化酶活性的变化

由图 1 可以看出 ,健康植株 (即未接种时)的抗病品种 9 号和 4 号)茎中 POD 活性比感病品种 Q26 和 11 号)略高一些 ,但差异不明显。在接种后抗感品种的 PPO 活性均比接种前高 ;接种后 24 h 内各品种 POD 活性都缓慢升高 ,在接种后 24 ~ 48 h 之间抗感品种 POD 活性都急剧上升 ,但感病品种 PPO 活性增加的幅度比抗病品种大 ;接种后 48 h 时感病品种 Q26 号 ,11 号)POD 活性比抗病品种略高 ;在接种 48 h 以后 ,抗感品种酶活性均下降 ,但感病品种酶活性下降的幅度比抗病品种下降的快。

2.3 多酚氧化酶活性的变化

由图 2 可以看出 ,接种前抗病品种 4 号、9 号与感病品种 26 号 PPO 活性差异不大 ,与高感品种 11 号 PPO 活性差异比较大。接种后抗感品种 PPO 活性均升高 ,但抗病品种酶活性增加幅度比感病品种高 ;抗病品种在接种后 48 h 内 PPO 活性增加 ,在 48 h 以后酶活性下降 ;而感病品种在接种后 24 h 内 PPO 活性缓慢增加 ,在 24 h 以后酶活性下降。抗病品种 PPO 活性增加的幅度比感病品种增加的幅度大且时间长。

3 结 论

过氧化物酶是植物体内普遍存在的一种氧化还原酶 ,它可以催化植物体内许多化合物如脂肪酸、酚类物质等的氧化反应 ,同时还参与乙烯的生物合成等生理活动。因此 ,POD 活性的变化关系到植物体内其他生理生化反应的变化。接种病原菌后植物体内过氧化物酶活性发生变化是寄主的一种普遍性反应 ,而且大多数研究认为 ,过氧化物酶同植物抗病有密切关系。籽用南瓜被辣椒疫霉菌侵染后 ,抗感品种在植物体内 POD 活性均比侵染前有所增加 ,从而在一定程度上增强了许多化合物的氧化反应 ,并引起一系列生理生化活动 ,这是植株的一种积极反应 ,感病品种 POD 活性虽然上升的比较快 ,但下降的也比较快 ,这可能是其不抗病的原因。

多酚氧化酶是广泛存在于植物体内的一类末端氧化酶 ,它催化酚类物质的氧化反应 ,把酚类物质氧化成醌类物质。这些酶与植物的“愈伤反应”有密切关系 ,而且还与木质素及其它一些与酚有关的细胞组分的合成有关。在病原菌等外界因素的影响下 ,植物体内的多酚氧化酶的活性会发生变化。许多研究表明 PPO 的活性与植物抗病形成正相关 ,即 PPO 的活性越高 ,植物的抗病性越强。在本试验中植株接种疫霉菌后 ,抗感品种体内 PPO 活性都有所增加 ,抗性材料的 POD 增加的幅度要大于感病材料。但是 PPO 在抗病程度不同的材料中增加的幅度差别不明显。

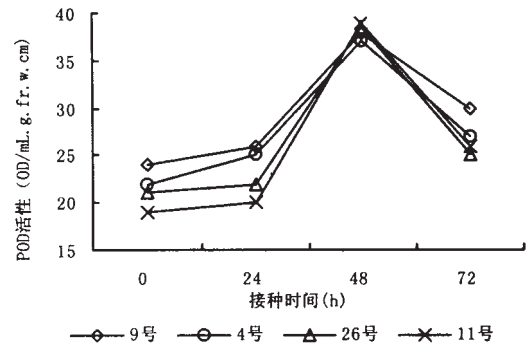


图 1 不同抗性品种接种后 POD 活性的变化

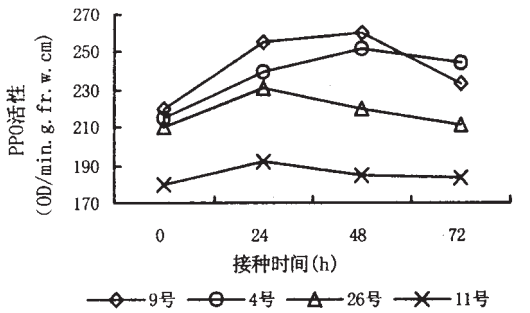


图 2 不同抗性材料接种后 PPO 活性的变化

在南瓜接种辣椒疫霉菌后，总的趋势是过氧化物酶和过氧化氢酶活性均是抗病品种高于感病品种。因此，这两种酶活性与南瓜对疫病的抗性呈正相关趋势，对其复杂的作用机制有待于进一步研究。

参考文献：

[1] 冉莹青,利容千,王建波.辣椒感染疫霉菌后几种酶活性及同工酶谱带变化[J].植物病理学报,1997,27:56.
[2] 高鸣宇,蒋萍,李冠.新建甜瓜经疫霉菌素诱导后酶活性的变化(简报)[J].植物生理学通讯,1998,34(4):256-258.
[3] 薛应龙.植物生理学实验手册[M].上海:上海科学技术出版社,1985.
[4] 张宪政,谭桂如.植物生理学实验技术[M].沈阳:辽宁科学技术出版社,1989.
[5] 云兴福.黄瓜组织中几个酶活性与其对霜霉病抗性的关系[J].华北农学报,1995,10(1):92-98.
[6] 靳华芬.小麦抗感白粉病的不同品种过氧化物酶的比较研究[J].植物学报,1985,27(2):222-224.
[7] 许启新.黄瓜苗期过氧化物活性的变化与抗枯萎病的关系[J].上海农业学报,1994,10(3):58-62.
[8] 王春台,等.紫外分光光度法测定过氧化氢酶的活性[J].华中农业大学学报,1995,14(12):111-114.
[9] 李靖,利荣千,袁文静.黄瓜感染霜酶病菌叶片中一些酶活性的变化[J].植物病理学报,1991,21(4):277-282.
[10] Lovrekovich L, et al. The inporatance of peroxidase in the wildfire disease. Phytopathology, 1968, 58: 193-198.
[11] Reuveni R, et al. Peroxidase activity as a biochemical marker for resestance of muskmelon (*Cucumis melo*) to *Pseudoperonospora cubensis*. Phytopathology, 1992, 82: 749-753.
[12] Alazar M D, et al. Peroxidase isoenzyme in the defense respone of *Capsicum annum* to *Phytophthora capsici*. Physiol. Planta., 1995.

Study on the Changes of POD and PPO Activity of Squash Seedling After Inoculation with *Phytophthora Capsici*

ZHOU Ke-qin¹, CUI Chong-shi², QU Shu-ping²

(1. Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, CAS, Harbin 150040;
2. College of Horticulture, Nertheast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: A test was carried out to identify the resistance to *P. capsici* of 29 samples, and the enzyme activity of squash materials with different resistance was analyzed. The results showed that: in healthy plants, there is not significant difference of POD and PPO activity between resistant and susceptibl materials. After infection, there is a bigger increase of POD activity in susceptible materials than that in resistant materials; but there is a bigger increase of PPO activity in resistant materials than that in susceptible materials. After inoculation, POD and PPO activity of resistant materials are higher than that of susceptible materials, which are related positively to disease resistance.

Key words: Squash; *Phytophthora capsici*; POD ; PPO

出售奶牛信息

我站有一批优质奶牛急待出售,质优价廉,望有意投资奶牛养殖业的单位及个人前来考察选购。本站负责接送,免费提供食宿,代办运输及检疫。
联系人:刘庆华 电话:0350-3672016 手机:(0)13096579635
地址:山西省忻州市忻府区曹张乡 邮编:034016