

酶活性与枣树炭疽病抗性的关系研究

张 曦,宋晓斌*,史明欣

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

摘 要:为了探讨枣树炭疽病发生与不同枣品种酶活性的关系,研究了 6 个枣品种田间炭疽病发生时相关酶的活性。结果表明:不同枣品种炭疽病的发生率和病情指数不同,相关酶的活性明显不同。POD、SOD、PAL 等酶活性与品种抗性呈正相关,PPO 活性与品种抗病性呈极显著的负相关。6 个枣品种中,冬枣的 POD、PAL、SOD 活性最强,PPO 活性最弱;梨枣的 PPO 活性最强。酶活性与田间炭疽病发生的调查结果吻合,冬枣和大雪枣对炭疽病有较高抗性,梨枣易感染炭疽病,对该病的抗性不强。

关键词:枣品种;同工酶;抗性;炭疽病

中图分类号:S763.19 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2010)03-0114-04

Relationship between Isozyme Activity and Anti-anthrax of Jujube

ZHANG Xi, SONG Xiao-bin,SHI Ming-xin

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100,China)

Abstract: In order to investigate the relationship between isozyme activity and anti-anthrax of jujube, the activities of the POD, SOD, PAL and PPO and anthrax occurrence in field of six cultivars of jujube were studied. The results demonstrated that activities of different isozymes in different cultivars of jujube were significantly different. There existed a positive correlation between the isozyme activities of POD, SOD, PAL and varietal resistance, but the activity of PPO was to assume extremely significantly negative correlation. Dongzao POD, PAL, SOD activity were the strongest while the PPO activity was weakest and PPO activity of Lizao was the strongest. This was consistent with field anti-anthrax investigation, which demonstrated that the Dongzao and Daxuehao were the high anti-anthrax cultivars and the Lizao was the high sensitivity cultivar.

Key words: cultivars of jujube; isozyme; resistance; anthrax

枣树(*Zizyphus jujube*)是中国特有的果树,栽培历史悠久,现有面积 46.67 万 hm^2 ,占世界枣树面积的 98%^[1]。发展红枣对于治理水土流失、改善生态环境具有重要作用。随着枣树面积的进一步扩大,枣炭疽病的发生越来越普遍,严重影响红枣的产量和品质,成为限制枣果生产的主要因素之一^[2-5]。植物抗病反应与其体内苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)活性直接相关。PAL 是酚类物质及木质素等抗菌物质合成过程中最关键的酶;SOD 是防御超氧自由基对细胞伤

害的金属抗氧化酶,它能歧化超氧自由基的歧化反应;PPO 主要参与酚类氧化,是钝化病原物的呼吸酶,也是木质素前体的聚合酶,促进细胞壁木质化;POD 及其同工酶在 H_2O_2 清除、木质素及酚类物质合成等过程中起重要作用^[6-7]。因此,植物细胞内的 PAL、PPO 和 POD 活性水平可作为植物抗病性的生理指标。然而,田间枣树的发病程度在不同品种间表现出明显的差异,为了揭示其差异的原因,研究了 6 个枣树品种植株内 PAL、SOD、PPO 和 POD 活性的差异。

收稿日期:2009-10-20 修回日期:2009-11-18

基金项目:“西北农林科技大学清涧红枣试验站”项目(XTG-2009-15);国家“十一五”科技支撑项目(2006BAD08A1103-2)

作者简介:张曦,男,硕士研究生,主要从事植物病理学研究。

* 通讯作者:宋晓斌,男,副研究员,主要从事林木病理研究。E-mail: songxb88@yahoo.com.cn。

1 材料与方法

1.1 材料

测试材料为 3 a 生枣树,品种分别为晋枣、梨枣、大雪枣、木枣、灰枣和冬枣,选择装有同一营养土的相同规格花盆中发育基本一致(高、茎和长势)的植株,于 8 月份果实白熟期采样。

1.2 方法

1.2.1 病害调查 2008 年和 2009 年红枣白熟期内,分别在西北农林科技大学清涧红枣试验站示范园、清涧县岔口红枣园内和李家塔红枣园调查炭疽病的发生情况。每个品种在调查点抽取 5 株,在 4 个不同方向上随机抽取 20 个枣果,统计枣果总数、病果数,测量病斑大小。发病率按病果数占调查果数的百分率计算,按表 1 标准对病害进行分级,并计算病情指数^[8]。

感病指数=
$$\frac{\sum(\text{各级病果数} \times \text{各级代表值})}{\text{调查总果数} \times \text{最高一级代表值}} \times 100$$

表 1 枣果病害分级标准

Table 1 Grading standards of diseased fruit

等级	代表值	病斑直径 (X)/cm	参考指数	程度
I	0	X=0	枣果无病斑	—
II	1	0<X≤0.2	1 个受害斑块	+
III	2	0.2<X≤0.3	2~3 个受害斑块	++
IV	3	0.3<X≤0.5	4~5 个受害斑块	+++
V	4	X>0.5	6 个以上受害斑块	++++

1.2.2 测定方法 选取不同枣品种树冠中部不同方位的枣吊第一片叶,采摘后用塑料袋密封并标记。测试材料用纯净水冲洗后晾干,按照不同酶测定所需的材料用量称量后,置于研钵内,加入液氮,并按照 POD、PPO、SOD 和 PAL 测定方法的要求,加入不同的佐剂后研磨,定容至不同酶测定所需的容量,而在不同转速条件下离心,取上清液,在不同波长的紫外分光光度计下,分别测定 POD、PPO、SOD 和 PAL 活性。POD 活性采用愈创木酚法测定^[9],PPO 活性采用邻苯二酚法测定,SOD 活性采用抑制光化学还原法测定^[10],PAL 活性采用 Tris-Hcl 法测定。

2 结果与分析

2.1 不同枣品种炭疽病的发生情况

由表 2 可以看出,晋枣和木枣果实炭疽病的病果率分别为 10.5%和 9.5%,病情指数分别 5.75 和 6.37,在调查的 6 个品种中处于中间水平,且这 2 个品种的病果率、病情指数的差异不显著。除此之外,其余品种间均存在着显著差异。其中,梨枣和灰枣

果实炭疽病发生严重,病果率均达到 20%以上,病情指数分别达到 15.63 和 12.38,差异显著。大雪枣和冬枣果实炭疽病最轻,病果率差异显著,而病情指数差异不显著。

表 2 不同枣品种抗病性^①

Table 2 Disease resistance analysis of different tested jujubes

品种	病果率 /%	各级病果数					发病 指数
		I	II	III	IV	V	
晋枣	10.5a	179	3	13	3	2	5.75a
大雪枣	0b	200	0	0	0	0	0b
木枣	9.5a	181	4	3	7	5	6.37a
灰枣	20.5c	159	11	9	14	7	12.38c
冬枣	1.5d	197	2	0	1	0	0.63b
梨枣	25.0e	150	9	18	12	11	15.63e

①同列不同小写字母表示差异显著(p<0.05)。

2.2 不同枣品种 POD 酶活性

从图 1 可以看出,枣品种不同,POD 活性不同。其中,冬枣的 POD 活性最高,达到 358 U·g⁻¹·h⁻¹,其次是大雪枣,晋枣和木枣 POD 活性接近,灰枣的 POD 活性较弱,梨枣酶活性最弱,为 132 U·g⁻¹·h⁻¹。

图 1 不同枣品种 POD 活性

Fig. 1 POD activity of different cultivars of jujubes

过氧化物酶广泛存在于植物中,在植物不同生长发育时期和不同组织器官内,过氧化物酶的酶谱带数及活性有很大变化^[11]。其活性高时,植物体内 H₂O₂ 含量下降,从而使其对抗性物质的氧化作用降低。同时,能够促进酚类物质合成。酚类物质是植物体内重要的抗性物质,其含量较高时,植物对病害的防御能力提高。

2.3 不同枣品种 SOD 活性

由图 2 可知,各个枣品种的 SOD 酶活性在不同品种间存在明显的差异。冬枣的 SOD 酶活性最强,达到 226 U·g⁻¹,其次为大雪枣,晋枣和木枣的 SOD 活性比较接近,灰枣的 SOD 活性较弱,梨枣的 SOD 活性最低。

SOD 是存在于植物体内的一类对自由基具有清除功能的蛋白酶,是生物体防御氧毒性的关键。对照 6 个枣树品种田间炭疽病发生的严重程度可以看出,SOD 活性在冬枣植株中表现最高,该品种田

间炭疽病的发生率和严重程度均最低,表明该品种在田间对炭疽病的抗性最强;梨枣 SOD 活性最低,炭疽病的发生率和严重程度在该品种的表现最高,说明梨枣在 6 个测试品种中对炭疽病的抗性最低。

图 2 不同枣品种 SOD 活性

Fig. 2 SOD activity of different cultivars of jujubes

2.4 不同枣品种 PPO 活性

从图 3 可以看出,梨枣的 PPO 活性最强,达到 $2.26\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$,灰枣 PPO 活性次之,木枣和晋枣的 PPO 活性中等,大雪枣的酶活性较弱,冬枣的酶活性最弱,为 $0.93\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

在植物体内,PPO 的催化作用能够使酚类物质被氧化成为醌类,从而导致植物组织褐变,甚至坏死,形成过敏性坏死现象^[12]。这种褐变是植物自身抗性的表现,在植物遭到外来生物侵害时,活性越强的植株其褐变或者坏死现象愈严重。从梨枣炭疽病发生情况可以看出,病斑有时虽小,但坏死面积却比较大,这种现象很可能就是多酚氧化酶在病害发生时表现出自我保卫反应的结果。

图 3 不同枣品种 PPO 活性

Fig. 3 PPO activity of different cultivars of jujubes

2.5 不同枣品种 PAL 活性

研究结果(图 4)表明,PAL 活性在 6 个品种中各不相同。冬枣的 PAL 的活性最强,其他品种 PAL 活性由大到小依次为大雪枣、晋枣、木枣、灰枣和梨枣。

PAL 是连接植物初级代谢和苯丙烷类代谢、催化苯丙烷类代谢第 1 步反应的酶,是苯丙烷类代谢的关键酶。在 PAL 参与下,通过该途径可以直接或间接生成含苯丙烷骨架的物质。苯丙烷类代谢可生成类黄酮、木质素等多种次生代谢产物,这些次生产物在植物生长发育、抗病、抗逆反应中起着重要作

用^[13]。把 6 个品种的 PAL 测定结果与田间炭疽病发生情况联系起来分析,可以看出,冬枣和大雪枣的 PAL 活性高,田间炭疽病的发生率和病情指数均较低;梨枣和灰枣的 PAL 活性较低,田间炭疽病的发生率和病情指数均较高,表明 PAL 活性能够反映枣果对炭疽病的抗性,可以作为测定枣树抗炭疽病的生理指标之一。

图 4 不同枣品种 PAL 活性

Fig. 4 PAL activity of different cultivars of jujubes

3 结论与讨论

过氧化物酶是植物在逆境条件下酶促防御系统的关键酶之一,它与超氧化物歧化酶、过氧化氢酶相互协调,清除过剩的自由基,使体内自由基维持在正常的动态水平,以提高植物的抗逆性^[14]。如果以相关抗性酶活性作为衡量枣树品种对炭疽病抗性的指标,在测定的 6 个品种中,冬枣和大雪枣的 POD、SOD、PAL 活性相对较强,理论上这 2 个品种对炭疽病的抗性应该较强,田间调查的结果表明这 2 个品种炭疽病的发生率和病情指数均低于其他品种。梨枣和灰枣的 POD、SOD、PAL 活性相对较弱,理论上这 2 品种对炭疽病的抗性应该较弱,田间调查结果表明,这 2 个品种炭疽病发生率和病情指数均高于其他品种,理论上和田间抗病结果基本吻合。但是冬枣和大雪枣的 PPO 活性较弱,理论上抗病性应该相对弱一些,但是田间炭疽病发生结果与此相反,表现出较高的抗炭疽病性状,这一点与有些文献的报道相反^[12]。笔者认为,PPO 活性弱可能不会出现过强的过敏反应,形成大的坏死性组织,反而使病斑在外观上不会太大;也可能由于在田间调查时,很难区分炭疽病斑痕与品种抗炭疽病形成的坏死性斑痕,在诊断上把二者都按照病斑进行了处理。

大雪枣的田间感病指数为零,可能与调查时间有关。大雪枣为晚熟品种,成熟期一般为 10 月下旬,温度、湿度等环境条件已不适合炭疽病原菌的生长和发生,不易感病。

本研究仅是初步结果,旨在探讨酶活性与抗性之间的关系,利用田间调查结果与各个枣品种的酶活性进行对比。具体的酶活性与抗病性的关系有待

于接菌后分阶段取样测定酶活性变化与炭疽病的发生过程,做进一步研究。

参考文献：

[1] 代丽,刘孟军,甄文超,等. 中国枣树研究论文的统计与分析[J]. 河北农业大学学报,2000,23 (1):40- 43.
DAI L,LIU M J,ZHEN W C,*et al.* The statistics and analysis on research papers about Chinese jujube[J]. Journal of Agricultural University of Hebei,2000,23 (1):40- 43.

[2] SHARMA M,MAJUMDAR V L. Some new post-harvest diseases of ber fruits in India[J]. India Phytopathology,1994,45 (3):415.

[3] 魏天军,魏象廷. 中国枣果实病害研究进展[J]. 西北农业学报, 2006,15(1):88-94.
WEI T J,WEI X T. Advances in research on diseases of Chinese jujube fruits[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica,2006,15(1):88-94.

[4] 孙永安,师宗舜,王煨时. 大枣炭疽病的研究[J]. 中国果树, 1984(2):40-44,50.

[5] 岑贞陆,谢玲,黄思良,等. 大青枣炭疽病的病原鉴定及其生物学特性研究[J]. 中国农学通报, 2002,18(3):48-51.
CEN Z L,XIE L ,HUANG S L,*et al.* Study on the identification and biological properties of the anthracnose pathogen of Indian jujube[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2002, 18(3):48-51.

[6] JOSEPH L M,TAN T K,WONG S M,*et al.* Antlfungal effects of hydrogen peroxide and peroxidase oil spore germination and mycelial growth of *Pseudoeemaspora sgeeies*[J]. Canadian Journal Botany,1998,76(12):2119-2124.

[7] 蒋选利,李振岐,康振生. 过氧化物酶与植物抗病性研究进展[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2001,29(6):124-129.
JIANG X L,LI Z Q,KANG Z S. The recent progress of re-

search on peroxidase in plant disease resistance[J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition, 2001,29(6):124-129.

[8] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1996.

[9] 张志良. 植物生理学实验指导 [M]. 2 版. 北京:高等教育出版社, 1990. 44, 160, 165.

[10] 袁勤生,陈浩,周刚宏. 超氧化物歧化酶测活方法的比较[J]. 中国药学,1994(11):26-28.
YUAN Q S, CHEN H, ZHOU G H,*et al.* Comparison of assay methods of SOD[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 1994(11):26-28.

[11] 梁艳荣,胡晓红,张颖力. 植物过氧化物酶生理功能研究进展[J]. 内蒙古农业大学学报,2003,24(6):110-113.
LIANG Y R,HU X H,ZHANG Y L,*et al.* Prdgress on physiological function research of plant peroxidase[J]. Journal of Inner Mongolia Agricultural University,2003,24(6):110-113.

[12] 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.
HU R B,TIAN J C. Review on wheat polyphenol oxidase (PPO) [J]. Acta Tritical Crops,2004,24(1):81-85.

[13] 郭文硕. 杉木对炭疽病的抗性与苯丙氨酸解氨酶的关系[J]. 应用与环境生物学报, 2002(6):8.
GUO W S. Relation between Chinese fir resistance to *Glomerella cingulata* and *Phenylalanine mmonia* Lyase[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2002 (6):8.

[14] 史莹华,王成章,张伟毅. 光周期对秋眠型苜蓿 Vernal SOD、POD 活性的影响[J]. 中国草地报,2009,31(4):107-110.
SHI Y H,WANG C Z,ZHANG W Y. Effects of photoperiod on SOD and POD activities in fall dormancy alfalfa(*Medicago sativa* L. cv. Vernal) [J]. Chinese Journal of Grassland, 2009,31(4):107-110.