

# 外源低聚糖、水杨酸诱导杨树抗病生理机制的研究

徐 擎<sup>1</sup>, 胡景江<sup>2\*</sup>, 薛盼盼<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 72100; 2. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨陵 72100)

**摘 要:**以杨树离体叶片为材料,研究了水杨酸、低聚糖对杨树抗病性的诱导作用。结果表明,水杨酸、低聚糖以及他们共同作用对杨树 PAL、木质素、 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶、HRGP 具有明显的诱导作用。水杨酸浓度为  $50\sim 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时诱导效果最显著( $P<0.05$ ),低聚糖浓度为  $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时诱导效果最佳( $P<0.05$ ),水杨酸的诱导效率高于低聚糖,二者交叉诱导的效率又高于各自单独诱导。接种试验进一步证明经激发子诱导之后杨树离体叶片的抗病性增强,明显抑制了夏孢子堆的生长,延长了潜育期。

**关键词:**水杨酸; 低聚糖; 杨树; 杨栅锈菌; 抗病性

**中图分类号:**S763.01      **文献标志码:**A      **文章编号:**1001-7461(2011)02-0119-05

## Physiological Mechanism of Salicylic Acid and Oligosaccharides Eliciting Resistance of Poplar to *Melampsora larici-populina*

XU Qing<sup>1</sup>, HU Jing-jiang<sup>2\*</sup>, XUE Pan-pan<sup>1</sup>

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;  
2. College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

**Abstract:** The induction of the elicitor to disease resistance of poplar was studied with the detached leaves. The results showed that salicylic acid, oligosaccharides and the co-induction could induce a significant increase in PAL, Lignin,  $\beta$ -1,3-glucanase, chitinase and HRGP. Optimal effects were achieved when the concentrations of salicylic acid and oligosaccharides were  $50\sim 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively. The inducing efficiency of salicylic acid was better than oligosaccharides, their co-induction efficiency was the best of all. The inoculation test on poplar detached leaves further proved that the disease resistance was enhanced, and poplar leaves induced notably restrained the growth of sporulation, the incubation period was extended.

**Key words:** salicylic acid; oligosaccharides; *Melampsora larici-populina*; disease resistance

低聚糖(oligosaccharide)是指含 2~20 个单糖分子的寡糖,它是一类有效的激发子,可有效地诱导植物抗病性,增强植物对病虫害的防御能力<sup>[1-3]</sup>,经壳聚糖诱导的水稻植物对稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)的抗性明显高于未经诱导的植株<sup>[4]</sup>。何培青<sup>[5]</sup>等研究发现,经壳聚糖诱导后的番茄叶中挥发性物质对番茄枯萎病(*Fusarium oxysporum*)的抑制率明显高于对照。

低聚糖对植物的多种病害均具有良好的防治效果,并具有不产生药害、安全无毒、使用剂量低等特点,已受到越来越多的关注。但大多数低聚糖抗病性研究仅仅停留在比较肤浅的层面,深层次的生理生化机制方面的研究做的并不多。

水杨酸(salicylic acid)简称 SA,是一种小分子酚类物质,并且普遍存在于植物体内,化学名称为邻羟基苯甲酸。其功效和 1989 年 Bayer 公司推出的

收稿日期:2010-01-23 修回日期:2010-04-30

基金项目:长江学者和创新团队发展计划(IRP0748)。

作者简介:徐擎,女,硕士研究生,主要从事森林病理学研究。

\* 通讯作者:胡景江,男,教授,主要从事植物逆境生理学研究。

阿司匹林相似,由此可见 SA 是植物组织中的一种天然活性物质。在医药上阿斯匹林可应用于治疗或预防心脏病及脑血栓、解热止痛、治疗风湿性关节炎及痛风等疾病。在诱导植物方面水杨酸也有多种重要生理作用,例如 SA 诱导某些植物开花,导致天南星科植物佛焰花序产热的生热素就是 SA,SA 能诱导植物对病原物如病毒、真菌及细菌等病害的抗病性,SA 还诱导植物对多种不良极端环境的抗逆性,并参与启动植物防卫反应的信号传递过程。低聚糖和水杨酸大多数研究仅限于农作物方面,对树木诱导抗病性及诱导机制研究的不多,本试验以杨树为材料,初步探究了低聚糖和水杨酸诱导杨树细胞抗病性的生理生化机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

以中林美荷 (*Populus deltoides* × *P. nigra* 美洲黑杨 × 欧洲黑杨) 为供试杨树,取 1 a 生枝条截成 15 cm 长的插条,在清水中浸泡 3 d,用  $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  吡啶丁酸浸泡插条 6 h,插入沙土比例 2 : 1 的基质中,蚯蚓粪作为肥料 2 株 · 盆<sup>-1</sup>。

供试菌种为落叶松-杨栅锈菌 (*Melampsora larici-populina*) 的夏孢子,菌系为 Ts,由西北农林科技大学林学院森林病理实验室提供。

低聚糖通过降解壳聚糖制备,壳聚糖为国药包装,脱乙酰度为 90%。

水杨酸由天津化学试剂厂出品,分析纯,含量 ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ ) 不少于 99.5%,熔点 158.5~160.5 ℃。

### 1.2 方 法

1.2.1 低聚糖激发子的制备 采用氧化降解法,参照林强、马可立<sup>[6]</sup>的方法,取 20 g 壳聚糖分散于 400 mL 2% 乙酸溶液中,置于 1 000 mL 烧瓶,均匀搅拌使壳聚糖全部溶解,在 60 ℃ 恒温水浴中反应 6 h,反应进行 5.5 h 时,逐步滴加 10 mL 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。反应结束后,用 10% NaOH 溶液调整至 pH 7.5~8.5,抽滤,收集沉淀,并多次水洗洗涤,干燥,得水不溶性壳聚糖产品。滤液在 50 ℃ 减压浓缩,加入 3 倍体积 95% 无水乙醇,静置过夜,抽滤后,置于 60 ℃ 烘箱中烘干,制得水溶性壳聚糖。

1.2.2 离体叶片的诱导处理 以低聚壳聚糖和水杨酸为诱导物,采用叶盘法对供试杨树叶片进行诱导处理。采集叶龄和生理状态一致、大小相近、健康无病斑的杨树叶片,用直径 2 cm 的打孔器打出叶盘,经 70% 的酒精消毒 20 s,无菌水冲洗后,将不同浓度的诱物均匀喷洒于叶片上,每个处理 5 片鲜叶,

共 15 个处理,每个处理 3 个重复,对照用蒸馏水代替。在培养皿中培养,培养液用 hoagland 营养液,盖上保湿桶,置于恒温培养箱中,温度 25 ℃,湿度 80% 左右,12 h 光照,12 h 黑暗交替培养。

水杨酸诱导质量浓度分别为:0、10、50、100、500、1 000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;

低聚糖诱导质量浓度分别为:0.0、0.5、5.0、10.0、50.0、100.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;

水杨酸、低聚糖交叉诱导处理:先用水杨酸不同浓度依次诱导,24 h 后再用低聚糖不同浓度依次处理。诱导 48 h 后取样,全部样品置于 -15 ℃ 冰箱冷藏,待测抗病指标,以确定最适的诱导浓度。

根据上述试验结果,确定水杨酸和低聚糖诱导的最适浓度,并以此浓度对离体叶片进行诱导,按一定的时间间隔(12 h)取样测定抗性指标,研究诱导反应的动态变化。

1.2.3 病原菌挑战接种试验 采用叶盘法对供试寄主杨树进行落叶松-杨栅锈菌夏孢子人工接种处理。取叶龄和生理状态一致的杨树叶片,经消毒后在培养皿培养。1 号培养皿仅加营养液作为对照,2 号培养皿用浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的水杨酸诱导,3 号培养皿用浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的低聚糖诱导,诱导 48 h 后进行病原菌接种。将新鲜夏孢子配制成孢子悬液 ( $0.01 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ),采用涂抹法用玻璃棒将夏孢子均匀涂于叶片下表面,再将叶片置于含有 Hoagland 营养液的培养皿中培养,每种接种处理 5 个重复,每个重复 10 个叶片,以同样方法涂抹无菌水为对照。保湿桶保湿,温度 25 ℃。观察发病情况(孢子形成的潜育期(d) 和产孢量(个 ·  $\text{cm}^{-2}$ )。

#### 1.2.4 抗病性生理指标的测定

苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定 参照王敬文<sup>[7]</sup>的方法,取经 -15 ℃ 冷冻固定后待测样品 1 g,加 4 倍重量预冷的  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  硼酸缓冲液 (pH 8.8,含 8 mmol 巯基乙醇)在冰浴中研磨匀浆,4 ℃ 下  $10\,000 \times \text{g}$  离心 30 min,上清液用于酶活性的检测。酶检测反应液组成:硼酸缓冲液 (pH 8.8) 3 mL, L-苯丙氨酸 (80 mmol) 1 mL,酶液 (稀释 10 倍) 1 mL。35 ℃ 下反应 60 min,  $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  HCl 终止酶活性。290 nm 处测 OD 值,以 OD 值变化 0.01 为 1 个酶活性单位(u)。

几丁质酶活性的测定 待测样品经 -15 ℃ 冷冻固的样品 1 g 加 3 倍重量(W/V)预冷的醋酸缓冲液 (pH 4.5) 研磨匀浆,  $10\,000 \times \text{g}$  离心 15 min (4 ℃),上清液即为酶粗提液。参照 T · Boller<sup>[8]</sup> 的方法,0.5 mL 酶液加 0.5 mL 胶状几丁质和 2 mL

醋酸缓冲液(pH 4.5), 35 °C 反应 1 h, 每组 3 个平行, 对照用等体积缓冲液代替底物。反应完毕置于沸水浴中灭活 5 min, 然后以 3 000 × g 离心 5 min, 测定上清液中的聚 N-乙酰葡萄糖胺的还原性残基。0.2 mL 反应上清液加 1.3 mL H<sub>2</sub>O 和 2 mL 铁氰化钾-碳酸钠试剂置于加塞试管中于沸水浴中煮沸 15 min。冷却后测定 OD<sub>420</sub>, 经 NAG(N-乙酰氨基葡萄糖)浓度-OD<sub>420</sub> 标准曲线计算几丁质酶活性。以每小时每克鲜组织产生 0.1 mg NAG 为 1 个酶活单位(u)。

**β-1,3-葡聚糖酶的测定** 参照史益敏<sup>[9]</sup>的方法, 取经-15 °C 冷冻固定待测样品 0.5 g, 加 2.5 mL 预冷的 0.05 mol · L<sup>-1</sup> 乙酸钠缓冲液(pH 5.0), 冰浴研磨匀浆, 4 °C 下 1 500 r · min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 取上清液再经 4 °C 5 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 上清液即为粗酶液。以昆布多糖(Sigma 公司)为反应底物, 按余永廷<sup>[10]</sup>的方法测定 β-1,3-葡聚糖酶活性, 在试管中加 300 μL 1 mg · mL<sup>-1</sup> 的昆布多糖和 300 μL 酶液, 37 °C 水浴保温 30 min 后立即加入 1 mL DNS 溶液终止反应, 混匀置沸水浴显色, 于 540 nm 比色, 以每分钟每克鲜样产生 1 μg N-还原糖为 1 个酶活性单位(u)。

**木质素含量的测定** 参照 X H. 波钦诺克<sup>[11]</sup>的方法, 取待测样 0.5 g, 用 1%(V/V) 醋酸、丙酮等分离出水溶性和脂溶性化合物, 用 72%(W/V) 硫酸水解除去纤维素和半纤维素, 用 0.085 mol · L<sup>-1</sup> 重铬酸钾-硫酸氧化水解样品中的木质素, 过量的重铬酸钾用碘量法滴定, 根据标准液的消耗量计算样品中木质素含量。

**富含羟脯氨酸糖蛋白(HRGP)含量的测定** 细胞壁的制备按周白云<sup>[12]</sup>所述的方法。细胞壁中 HRGP(Hydroxyproline-rich glycoprotein) 含量与羟脯氨酸(Hyp)含量成正相关, 因此本研究以 Hyp 含量代表 HRGP 的相对含量, Hyp 测定参照 Kivirikko<sup>[13]</sup> 的方法, 取 20 mg 细胞壁样品测定 Hyp 含量来代表 HRGP 的相对含量(mg · g<sup>-1</sup>)。

## 2 结果与分析

### 2.1 诱导物质量浓度与诱导效率的关系

2.1.1 用不同质量浓度水杨酸、低聚糖及二者交叉处理杨树离体叶片 48 h, 测定 PAL 活性的变化。

由表 1 可见, 水杨酸、低聚糖诱导物对杨树离体叶片的 PAL 活性具有明显的诱导作用, 并且诱导物的质量浓度对诱导效果影响显著( $P < 0.05$ ), PAL 活性随诱导浓度的增加呈先升高而后降低的趋势。

水杨酸浓度为 100 mg · L<sup>-1</sup> 时 PAL 活性最高达到 235 u, 是对照的 3.58 倍; 低聚糖浓度为 10 mg · L<sup>-1</sup> 时 PAL 活性最高达到 195.3 u, 是对照的 2.98 倍; 而水杨酸(100 mg · L<sup>-1</sup>)、低聚糖(10 mg · L<sup>-1</sup>) 先后交叉诱导 PAL 活性最高达到 241.8 u 是对照的 3.69 倍。上述结果表明水杨酸的诱导效果明显高于低聚糖, 二者交叉诱导的效果高于各自单独诱导效果。

表 1 3 种处理方式对 PAL 活性的影响

Table 1 Effect of elicitor concentration on PAL

水杨酸		低聚糖		交叉处理
浓度/ (mg · L <sup>-1</sup> )	PAL/u	浓度/ (mg · L <sup>-1</sup> )	PAL/u	PAL/u
0	65.6d	0.0	65.6d	65.6d
10	110.2c	0.5	98.2c	172.3b
50	138.5b	5.0	102.7c	180.0b
100	235.0a	10.0	195.3a	241.8a
500	162.5b	50.0	152.7b	198.6b
1 000	52.1d	100.0	140.8b	119.0c

注: 同一列数据间字母相同表示差异不显著( $P = 0.05$ ), 下表同。

2.1.2 用不同质量浓度水杨酸、低聚糖及他们共同处理杨树离体叶片 48 h, 测定木质素的变化(表 2)。

由表 2 可见, 水杨酸、低聚糖诱导物对杨树离体叶片的木质素有显著的诱导作用( $P < 0.05$ ), 随着诱导浓度的增加木质素含量先增后减。水杨酸浓度为 100 mg · L<sup>-1</sup> 时木质素含量达到峰值 22.1 mg · g<sup>-1</sup>, 是对照的 1.28 倍, 水杨酸诱导浓度在 50 ~ 1 000 mg · L<sup>-1</sup> 范围之间时木质素含量差异不显著( $P > 0.05$ ); 低聚糖浓度为 10 mg · L<sup>-1</sup> 时木质素含量达到最大值 20.4 mg · g<sup>-1</sup>, 是对照的 1.19 倍; 而水杨酸(100 mg · L<sup>-1</sup>)、低聚糖(10 mg · L<sup>-1</sup>) 二者先后交叉诱导木质素含量达到最高 21.9 mg · g<sup>-1</sup>, 是对照的 1.27 倍。水杨酸诱导效果高于低聚糖, 二者交叉诱导效果普遍高于各自单独诱导, 但最高值低于水杨酸诱导的最高值。可能二者的互作过程存在一定的副作用, 阻碍了木质素的合成。

表 2 3 种处理方式对木质素的影响

Table 2 Effect of elicitor concentration on lignin

水杨酸		低聚糖		交叉处理
浓度/ (mg · L <sup>-1</sup> )	木质素/ (mg · g <sup>-1</sup> )	浓度/ (mg · L <sup>-1</sup> )	木质素/ (mg · g <sup>-1</sup> )	木质素/ (mg · g <sup>-1</sup> )
0	17.2c	0.0	17.2c	17.2c
10	20.0b	0.5	19.1b	20.9b
50	21.5a	5.0	19.7Ab	21.7a
100	22.1a	10.0	20.4a	21.9a
500	21.7a	50.0	17.0c	21.7a
1 000	21.3a	100.0	16.9c	21.1b

2.1.3 用不同质量浓度水杨酸、低聚糖及他们共同

处理杨树离体叶片 48 h, 测定  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性的变化(表 3)。

由表 3 可见, 水杨酸、低聚糖对杨树离体叶片的  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性有显著的诱导作用( $P < 0.05$ ), 随着诱导浓度的增加,  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性呈现明显的消长过程。水杨酸诱导浓度为  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性达到最大值 495 u, 是对照的 1.58 倍, 低聚糖诱导浓度为  $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性达到最大值 489 u, 是对照的 1.56 倍, 水杨酸( $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、低聚糖( $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 共同诱导时  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性达到最大值 500 u, 是对照的 1.60 倍。水杨酸的诱导效率显然高于低聚糖, 二者交叉诱导效果普遍高于他们单独诱导效率。 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性比其他指标的峰值提前出现。

表 3 3 种处理方式对  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性的影响

Table 3 Effect of elicitor concentration on  $\beta$ -1,3-glucanase

水杨酸		低聚糖		交叉处理
浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$\beta$ -1,3-葡 聚糖酶/u	浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$\beta$ -1,3-葡 聚糖酶/u	$\beta$ -1,3-葡 聚糖酶/u
0	313e	0.0	313d	313e
10	377c	0.5	421b	449b
50	495a	5.0	489a	500a
100	402b	10.0	480a	412c
500	347d	50.0	367c	390c
1 000	330de	100.0	320d	347d

2.1.4 用不同质量浓度水杨酸、低聚糖及他们共同处理杨树离体叶片 48 h, 测定几丁质酶活性的变化。

由表 4 可见, 水杨酸、低聚糖对杨树离体叶片诱导作用显著增强( $P < 0.05$ ), 并随诱导浓度的增加诱导效率先增后减。水杨酸诱导浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时几丁质酶活性最大达到 2.43 u, 是对照的 1.90 倍, 低聚糖诱导浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时几丁质酶活性最大达到 2.34 u, 是对照的 1.83 倍, 水杨酸( $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、低聚糖( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 交叉诱导时几丁质酶活性达到最大值 2.44 u, 是对照的 1.91 倍。水杨酸的诱导效率高于低聚糖, 二者交叉诱导的效果普遍高于各自单独诱导效果。

表 4 3 种处理方式对几丁质酶活性的影响

Table 4 Effect of elicitor concentration on chitinase

水杨酸		低聚糖		交叉处理
浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	几丁质酶 /u	浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	几丁质酶 /u	几丁质酶 /u
0	1.28d	0.0	1.28e	1.28d
10	1.64c	0.5	1.55cd	1.68c
50	2.08b	5.0	1.99b	2.17b
100	2.43a	10.0	2.34a	2.44a
500	2.25Aab	50.0	1.73c	2.25b
1 000	1.81c	100.0	1.52d	1.68c

2.1.5 用不同质量浓度水杨酸、低聚糖及他们共同处理杨树离体叶片 48 h, 测定 HRGP 活性的变化(表 5)。

由表 5 可见, 水杨酸、低聚糖对杨树离体叶片的 HRGP 的诱导效果显著( $P < 0.05$ ), 诱导效率随诱导浓度的增加有呈现先增加后减小的规律。水杨酸的诱导浓度为  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时诱导效率达到峰值  $42.7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 是对照的 2.16 倍, 低聚糖诱导浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时诱导效率达到峰值  $37.2 \text{ u}$ , 是对照的 1.88 倍, 水杨酸( $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、低聚糖( $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 交叉诱导, 诱导效率达到峰值  $48.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 是对照的 2.45 倍。结果表明水杨酸的诱导效率均高于低聚糖的诱导效果, 二者交叉的诱导效果均高于他们单独的诱导效率。

表 5 3 种处理方式对 HRGP 活性的影响

Table 5 Effect of elicitor concentration on HRGP

水杨酸		低聚糖		交叉处理
浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	HRGP/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	HRGP/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	HRGP/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )
0	19.8e	0.0	19.8e	19.8d
10	26.5d	0.5	23.6d	28.5c
50	42.7a	5.0	35.1b	48.6a
100	37.2b	10.0	37.2a	37.8b
500	31.6c	50.0	28.8c	39.4b
1 000	25.5d	100.0	24.5d	27.0c

## 2.2 诱导物对杨树离体叶片抗病性的诱导

供试叶片经水杨酸、低聚糖诱导 48 h 后进行病原菌接种, 保湿保温培养, 观察发病情况(孢子形成的潜育期(d) 和产孢量( $\text{个} \cdot \text{cm}^{-2}$ ))(表 6)。

由表 6 可知, 低聚糖、水杨酸处理 2 d 之后接种潜育期比没有处理的推迟了 2 d, 而且明显抑制了孢子堆的生长, 都比对照显著减少, 水杨酸处理的又比低聚糖处理的孢子堆少, 说明水杨酸处理抗病效果比低聚糖好。

表 6 不同激发子处理杨树叶盘接种后潜育期和产孢量对照

Table 6 Incubation period and sporulation of different elicitors on poplar blade

处理	潜育期 /d	产孢量 /( $\text{个} \cdot \text{cm}^{-2}$ )
对照 CK	8	10
低聚糖 /( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	10	3
水杨酸 /( $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	10	2

## 3 结论与讨论

植物对病原物的抗性可以通过外源因子的诱导

产生,诱导剂以某种方式改变了植物代谢,启动植物防卫反应的信号传递过程使植物产生了局部或系统的抗性,其也可能对寄生物起作用,干扰致病过程及孢子形成,损坏寄主和寄生物之间的识别,破坏侵入。使植物产生抗病性的因子有很多,不同类型的激发子对其诱导的机理和效率是不一样的。通过本试验可以得出,水杨酸和低聚糖对植物的诱导效果在一定浓度范围内是随浓度增加而增加的,但高于这个浓度范围反而减小,水杨酸诱导的最佳浓度范围为 $50\sim 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,低聚糖诱导的最佳浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,并且水杨酸的诱导效率明显高于低聚糖,他们共同诱导的效率又高于他们单独诱导的效率。接种试验进一步证明了上述2种诱导物能诱导杨树叶片产生抗病性,明显抑制了孢子堆的生长,而水杨酸诱导抗病效果比低聚糖好。

对于诱导物诱导植物抗病反应的过程中,作为酚代谢物的主要酶-苯丙氨酸解氨酶(PAL)是苯丙烷类代谢途径的调节酶和限速酶,可催化苯丙氨基脱氨基后产生肉桂酸并最终转化为木质素、黄酮、异黄酮等次生酚类物质,许多物质具有强烈的抑制病原菌的活性。病程相关蛋白-几丁质酶、 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶也显著增强,这类酶分子量小、呈酸性、稳定性好、多数能分泌到病原菌的细胞壁将其分解。木质素和HRGP也迅速积累,木栓化增强了细胞壁对真菌酶的抵抗能力,HRGP主要作为细胞壁上的大分子实现多糖(如果胶、纤维素)与多酚类物质(如木质素、木栓质)的连接以及细胞间的连接,促进细胞壁木质化,从而对病原物侵染和扩展起机械屏障作用。

#### 参考文献:

- [1] 赵小明,杜昱光,白雪芳. 氨基寡糖素诱导作物抗病毒病药效试验[J]. 中国农学通报,2004,20(4):245-247.
- [2] ROBY D,GADDLE A. TOPPAN A. Effects of chitosan,pectic acid,Lysozyme,and chitinase on the growth of several phytopathogens[J]. Agric Biol Chem,1989,53(11):3065-3066.
- [3] LAFONTAINE P J,BENHAMOU N. Chitosan treatment:an emerging strategy for enhancing resistance of greenhouse tomato plants of infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. Radicis-lycopersici[J]. Biocontrol Sci. Technol,1996,6:111-124.
- [4] 宁伟,刘志学,李群,等. 壳聚糖诱导水稻过敏性细胞及抗病性提高[J]. 植物生理学通讯,2003,39(5):441-443.
- [5] 何培青,蒋万枫,张金灿,等. 壳寡糖对番茄叶挥发性抗真菌物质及植保素日齐素的诱导效应[J]. 中国海洋大学学报,2004,34(6):1008-1012.  
HE P Q,JIANG W F,ZHANG J C, et al . Induction of anti-pathogenic volatiles and phytoalexin rishitin in leaves of *Lycopersicon esculentum* by oligochitosan[J]. Periodical of Ocean University of China,2004,34(6):1008-1012. (in Chinese)
- [6] 林强,马可立. 纤维素酶-过氧化氢降解法制备低聚壳聚糖的研究[J]. 试验与技术,2003,6(27):7-10.
- [7] 王敬文,薛应龙. 植物苯丙氨酸解氨酶的研究 II. 苯丙氨酸解氨酶在抗马铃薯晚疫病中的作用[J]. 植物生理学报,1982,8(1):35-43.
- [8] BOLLER T,GEHRI A,MAUCH F, et al. Chitinase in bean leaves:induction by ethylene,purification,properties,and possible function[J]. Planta,1983,157:22-31.
- [9] 史益敏.  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性的测定[M]//. 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学指南. 北京:科学出版社,1999:128-129.
- [10] 余永廷,谢媛媛,黄丽丽,等. 不同碳、氮源组合对小麦全蚀病菌产生胞外 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶的影响[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,2(2):110-111.  
YU Y T,XIE Y Y,HUANG L L, et al. Effects of different combinations of carbon and nitrogen sources in MS medium on activities of extracellular  $\beta$ -1,3-glucanase produced by take-all pathogen [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Ed.,2007,2(2):110-111. (in Chinese)
- [11] 波钦诺克. 植物生物化学分析法[M]. 荆家海,丁钟荣,译. 北京:科学技术出版社,1981:178-181.
- [12] 周白云. 低聚糖激发子诱导杨树细胞抗病机制的研究[D]. 陕西 杨陵:西北农林科技大学,2005.
- [13] KIVIRIKKO K I. Modifications of a specific assay for hydroxyproline in urine[J]. Anal. Biochem, 1976, 19: 249-253.