

绿色木霉菌 T12 对茄子幼苗根系防御反应酶系的影响

薛春生, 肖淑芹, 孙晓妍, 姜晓颖, 高 颖

(农业部北方农作物病害免疫重点开放实验室, 沈阳农业大学 植物保护学院, 辽宁 沈阳 110161)

摘 要: 试验研究了绿色木霉菌 T12 的分生孢子和厚垣孢子对不同抗、感黄萎病茄子品种幼苗植株防御酶系的影响。结果表明: 经木霉菌 T12 处理的不同抗、感茄子品种幼苗根系与抗性物质合成相关的 PAL、POD、CAT 和 SOD 存在明显变化, 证明茄子根系经诱导后可产生植保素等相关物质参与抵抗黄萎病, 其中抗病品种比感病品种作用明显, 厚垣孢子的诱抗作用比分生孢子显著。

关键词: 茄子黄萎病; 绿色木霉 T12; 拮抗机制

中图分类号: Q 939.14⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)12-0021-03

木霉菌(*Trichoderma* spp.)是目前普通应用的生防菌之一, 国内外已有商品化的木霉菌制剂如 Trichodex、Topshield 等生物农药产品问世^[1-2]。庄敬华等利用绿色木霉菌 T23 处理黄瓜根部并接种枯萎病菌, 在一定程度上控制了黄瓜枯萎病的发病率和病情指数, 研究证明是由于木霉菌诱导黄瓜幼苗的防御反应酶系活性升高, 激发了植物体内抗病性所致^[3]。Jean-Berchmans 用木霉菌处理水稻种子并接种稻瘟病菌或白叶枯病菌, 使水稻幼苗过氧化物酶及苯丙氨酸解氨酶活性增强, 在某一时段显著高于未经木霉处理的对照^[4]。Yedidia 利用哈茨木霉 T203 处理黄瓜 48、72 h 后, 过氧化物酶和几丁质酶活性升高^[5]。

为明确木霉菌对茄子体内抗病物质合成代谢过程的影响, 该试验对经平板对峙培养筛选出绿色木霉菌 T12 对茄子根系防御反应酶系变化进行研究, 以期研究木霉菌防治茄子黄萎病生防机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试茄子品种

辽茄四号(抗)、西安绿茄(感)由辽宁省农业科学院园艺所提供。

1.2 供试菌株

绿色木霉(*Trichoderma viride*)T12、茄子黄萎菌(*Verticillium dahliae*)由沈阳农业大学生理与分子植物病理学研究室提供。

1.3 接种及取样

第一作者简介: 薛春生(1970-), 男, 黑龙江密山人, 博士, 副教授, 主要从事设施农业病害生物防治和玉米病害分子植物病理学研究工作。E-mail: cshxue@syau.edu.cn。

基金项目: 农业部“948”资助项目(201056); 辽宁省“十五”科技攻关重点资助项目(2001208001)。

收稿日期: 2008-07-10

2006 年 4 月, 将辽茄四号(抗)、西安绿茄(感)播种于沈阳农业大学植物免疫研究所温室, 待长至 5~6 叶期采用蘸根法孢悬液接种, 试验共设 5 个处理: ①接种木霉菌分生孢子(CS); ②接种木霉菌分生孢子 24 h 后接茄子黄萎病菌(CS+V); ③接种木霉菌厚垣孢子(ChS); ④接种木霉菌厚垣孢子 24 h 后接茄子黄萎病菌(ChS+V); ⑤接种茄子黄萎病菌(VCK)。木霉菌接种量为每株灌孢悬液 50 mL, 黄萎病菌每株接孢子悬浮液 10 mL。每处理 30 株, 随机排列, 3 次重复。分别于接种木霉菌后的第 12、24、48、72、96 h 后取茄子根系, 用蒸馏水冲洗干净并用滤纸吸干水分, 每处理准确称取 0.5 g, -20℃低温冰箱中保存。

1.4 防御酶系测定

1.4.1 酶粗提取液的制备 将 0.5 g 样品, 放入预冷的研钵中, 加入 1.5 mL 硼酸缓冲液及 0.2 g 石英砂, 冰浴中研磨成匀浆, 再用 1.5 mL 缓冲液冲洗研钵及钵棒 2 次, 合并入离心管, 15 000 rpm, 4℃离心 20 min, 上清液为酶的粗提液。-20℃低温保存。

1.4.2 防御酶系测定 苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性测定参见 Jean-Berchmans 等方法^[4-6]。

2 结果与分析

2.1 不同抗性品种苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性变化

木霉菌 T12 不同孢子制剂处理不同抗、感黄萎病茄子品种接菌后 PAL 活性变化存在明显差异。分生孢子处理的抗、感病品种酶活高峰出现在 96 h, 厚垣孢子处理的抗病品种酶活高峰出现在 48 h, 感病品种的酶活高峰出现在 96 h, 其中抗病品种厚垣孢子处理后接黄萎菌的酶活高峰比仅用厚垣孢子处理的高 1.4 倍, 而感病品种正相反, 仅用厚垣孢子处理的比厚垣孢子处理后接黄萎菌的酶活高峰高 1.87 倍。分生孢子和厚垣孢子处理

后不同抗、感品种根系的 PAL 活性变化明显, 厚垣孢子处理的抗病品种比感病品种酶活高峰出现得早, 峰值高, 表明其诱导抗性作用在抗病品种更加明显。分生孢子

子处理的抗、感品种酶活性变化不显著, 也表明厚垣孢子与 PAL 活性密切相关。

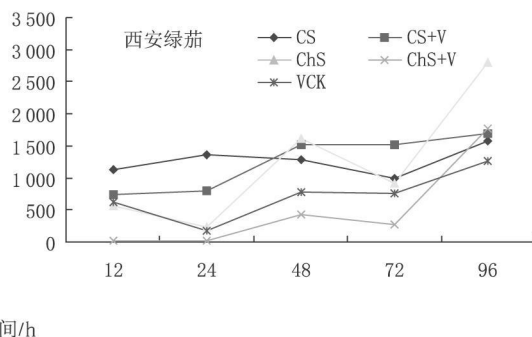
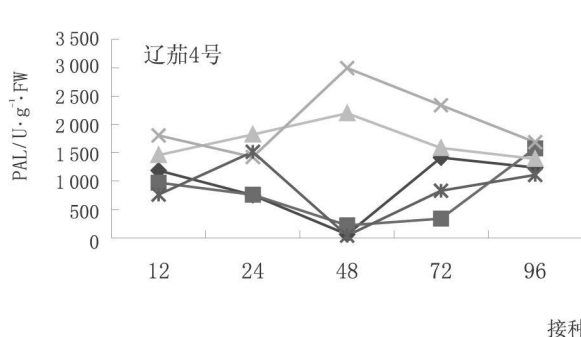


图1 木霉菌 T12 处理后茄子根系 PAL 活性变化

2.2 不同抗性品种过氧化物酶 (POD) 活性变化

抗病品种辽茄 4 号经木霉菌 T12 不同孢子制剂处理后的第一个酶活高峰出现在 24 h, 其中厚垣孢子处理接黄萎菌的峰值最高, 而分生孢子处理后接菌的峰值最低, 4 种处理的第 2 个酶活高峰出在 96 h, 均在 $400 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$ 左右, 没有明显差异。感病品种西安绿茄只在 48 h 厚垣孢子处理出现一个酶活高峰, 96 h 时 4 种处理

均有酶活高峰, 分生孢子和厚垣孢子处理后接菌的酶活高峰分别比单独处理高 1.8 倍, 其它各处理时间没有明显差异。厚垣孢子处理后抗病品种比感病品种酶活高峰出现的早, 与 PAL 活性变化相同。分生孢子处理的抗感品种均在 96 h 出现酶活高峰, 也说明分生孢子处理的诱抗作用比厚垣孢子晚。

2.3 不同抗性品种 CAT 活性变化

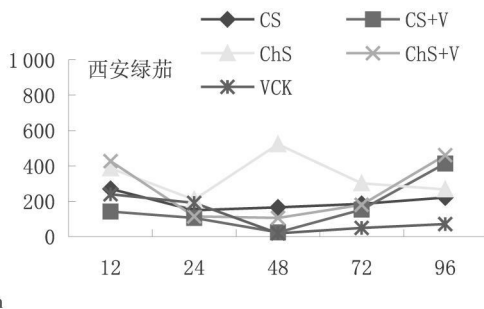
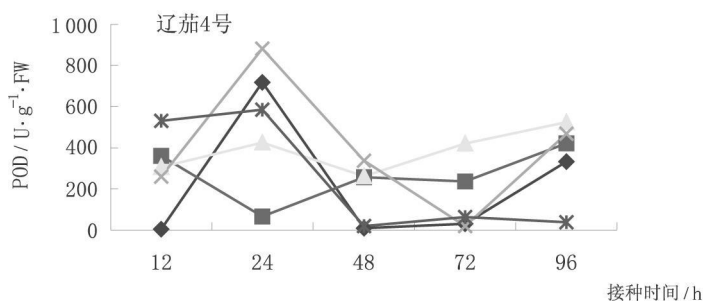


图2 木霉菌 T12 处理后茄子根系 POD 活性变化

抗病品种辽茄 4 号经木霉菌不同孢子制剂处理后, 第一个酶活高峰出现 24 h, 其中分生孢子处理的酶活峰值最高, 比对照高 4.3 倍, 厚垣孢子处理在 72 h 出现一个酶活高峰, 比对照高 2.5 倍。感病品种西安绿茄经木霉菌

分生孢子处理后, 在 24 h 出现第一个酶活高峰 比对照高 2.8 倍, 另外, 厚垣孢子处理后接菌的酶活高峰出现在 96 h, 比单独处理高 3 倍左右。厚垣孢子处理的抗病品种 CAT 活性的增强, 与茄子体内过氧化氢的清除有关。

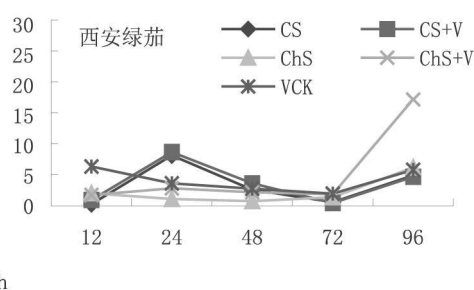
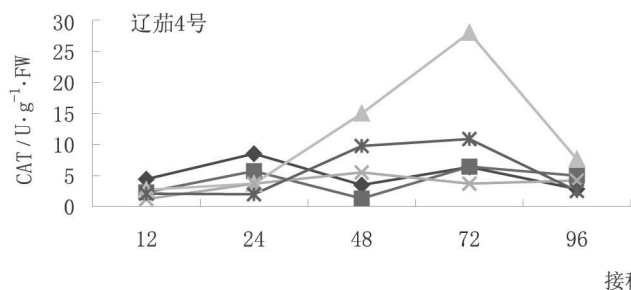


图3 木霉菌 T12 处理后茄子根系 CAT 活性变化

2.4 不同抗性品种 SOD 活性变化

抗病品种辽茄 4 号厚垣孢子处理后接黄萎菌的

SOD 活性高峰分别出现在 48 h 和 96 h, 比单独处理分别高 4.7 倍和 3.8 倍。分生孢子处理在 96 h, 也出现一

个酶活高峰,但峰值低于厚垣孢子处理。感病品种西安绿茄分生孢子处理接黄萎菌后酶活高峰出现在 48 h,比对照高 4.9 倍左右,厚垣孢子处理后接菌在 96 h,也出现

一个酶活高峰,但也与对照相比变化不明显。抗病品种厚垣孢子处理后接菌 SOD 活性提高与活性氧的清除有关。

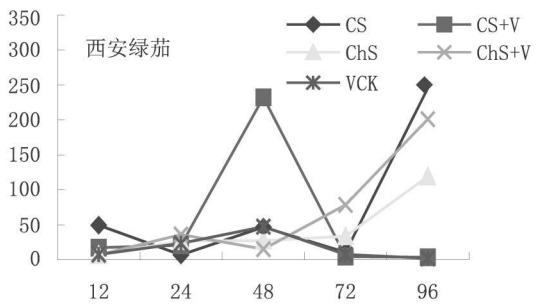
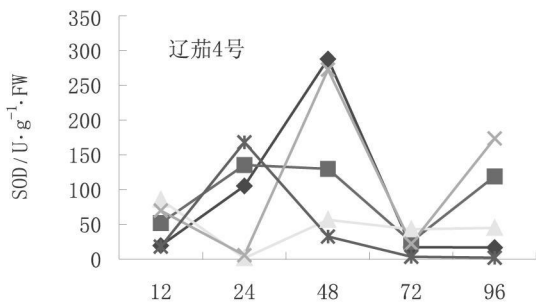


图 4 木霉菌 T12 处理后茄子根系 SOD 活性变化

3 结论与讨论

该试验表明,厚垣孢子处理的抗病品种西安绿茄 PAL、POD、CAT 和 SOD 等 4 种酶活高峰比感病品种辽茄 4 号的出现得早,峰值高,表明其诱导抗性作用在抗病品种上表现更为显著,而且先接木霉菌再接种黄萎菌,酶活升高更明显,可能原因是木霉菌处理后激发了植物体内的抗性反应所致;分生孢子处理的抗、感品种酶活性变化不明显,且酶活高峰出现的时间比厚垣孢子处理晚,表明厚垣孢子的诱导抗性作用比分生孢子明显,分生孢子只在诱导感病品种 SOD 活性时效果明显。

植物诱导抗性的机制包括木质素、植保素和病程相关蛋白等多种生理生化因子的合成,苯丙氨酸解氨酶(PAL)等防御酶系是上述物质合成的关键,因此成为评价植物诱导抗病性的重要生理指标,其中 PAL 是木质素和异黄酮类植保素合成的关键酶,POD 参与木质素和植保素的合成并清除体内活性氧,CAT 和 SOD 与活性氧的产生和清除的平衡有关^[7,8]。该试验表明,木霉菌 T12 厚垣孢子和分生孢子处理茄子幼苗根部,引起茄子根系内 PAL、POD、PPO 和 CAT 酶活性的提高,促进茄子根系内木质素、植保素等抗菌物质的形成,这一结果与 Jean-Berchmans 等^[4]结果相同,其中厚垣孢子的诱导

作用比分生孢子更为明显,与庄敬华等^[3]结果相同。因而,诱导抗病性可能是木霉菌 T12 对茄子黄萎病作用的重要机制。

参考文献

[1] Harman G E, Myths, Dogmas, Biocontrol changes in perceptions beived from Reserch on Trichoderma harzianum T22[J]. Plant Disease, 2000, 84(4): 377-393.
[2] Zimand G, Elad Y. Effect of Trichoderma harizian on Botrytis cinerea pathogenicity[J]. Phytopathology, 1996, 86: 945-956.
[3] 庄敬华,高增贵,杨长城,等.绿色木霉菌 T23 对黄瓜枯萎病防治效果及其几种防御酶活性的影响[J].植物病理学报,2005,35(2): 179-183.
[4] Jean-Berchmans N,徐同,宋凤鸣,等.哈茨木霉 NF9 菌株对水稻的诱导抗病性[J].中国生物防治,2003,19(3): 111-114.
[5] Yedidia I, Benhamou N, Chet I. Induction of defence responses in cucumber plants(*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent Trichoderma harzianum [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(3): 1061-1070.
[6] 薛春生,肖淑芹,王国英,等.玉米与矮花叶病毒互作对防御反应酶系活性的影响[J].种子,2005,24(3): 6-10.
[7] 赵蕾.绿色木霉对灰霉病菌拮抗机制的初步研究[J].植物保护,1998,24(2): 36-37.
[8] De M G, Bigirimana J, Elad Y, et al. Induced systemic resistance in Trichoderma harzianum T39 biocontrol of Botrytis cinerea[J]. European Journal of Plant Pathology, 1998, 104(3): 279-286.

Inducing Defense Enzyme Activity on Eggplant Root by *Trichoderma viride* T12

XUE Chun-sheng XIAO Shu-qin, SUN Xiao-yan, JIANG Xiao-ying, GAO Ying

(The key Laboratory of Northern Crop Disease Immunity of China Ministry of Agriculture, College of Plant Protection of Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China)

Abstract: Defense enzymes in root of eggplant seedling were examined treating with conidiospores and chlamydospores of T12 respectively. The results showed the activities of defense enzymes in eggplant root such as phenylalanine ammonia lyase, peroxidase, catalase, superoxide dismutase were changed by conidiospores and chlamydospores of T12. It indicated that the production of phytoalexin might be involved to resistant eggplant verticillium wilt. Inducing function of resistant variety were obvious than susceptibility variety, of chlamydospores were better than conidiospores.

Key words: Eggplant verticillium wilt; Trichoderma T12; Defense enzyme