

青枯雷尔氏菌胁迫对烟草植株 抗氧化酶系活性的影响

车建美^{1,2}, 刘波¹, 张彦^{1,3}, 蓝江林¹, 苏明星¹, 林抗美¹

(1. 福建省农业科学院 农业生物资源研究所, 福建 福州 350003; 2. 福建农林大学 生物农药与化学生物学教育部

重点实验室, 福建 福州 350002; 3. 福建农林大学 植物保护学院, 福建 福州 350002)

摘要:以青枯雷尔氏菌 RS-1403 作为外源微生物, 研究不同浓度青枯雷尔氏菌胁迫对烟草植株叶片 PPO、POD、SOD 酶活性的影响。结果表明: PPO 和 POD 酶活性总和显著高于对照, 而 SOD 酶活性总和除了处理 2(接种浓度为 2.35×10^4 CFU/mL) 外, 其余的各个处理的均低于对照。烟草植株的根部、茎部和叶片的 POD、PPO 和 SOD 酶活性总和明显高于对照处理, 并且其酶活性达到高峰的时间有所不同。胁迫接种 5 d 后, 烟草植株叶片和茎部的 POD 酶活性和对照处理的比值最大, 胁迫接种 10 d 后, 烟草植株根部 POD 酶活性比值最大。烟草植株叶片和根部在接种 15 d 后, PPO 酶活性和对照处理的比值达到最大, 茎部 PPO 酶活性在接种 5 d 后比值最大。接种 20 d 后, 处理烟草植株叶片和茎部的 SOD 酶活性和对照处理的比值达到最大, 接种后 25 d, 根部 SOD 酶活性比值最大。

关键词:青枯雷尔氏菌; 无致病力菌株; 烟草; 过氧化物酶; 多酚氧化酶; 超氧化物歧化酶

中图分类号:S 572 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)02-0127-06

第一作者简介:车建美(1977-), 女, 山东省乳山人, 博士, 助理研究员, 研究方向为生物技术及生物防治。E-mail: chejm2002@163.com。

通讯作者:刘波(1957-), 男, 博士, 研究员, 研究方向为微生物技术与农业生物药物。E-mail: fzliubo@163.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30871667); 福建省自然科学基金资助项目(2008J0054); 福建省自然科学基金资助项目(2009J01087); 福建省财政专项资助项目(STIF-Y03); 福建省农科院青年人才创新基金资助项目(B2007QJ07)。

收稿日期:2010-10-25

林业科技, 2004(2): 34-36。

[3] 俞孔坚, 李迪华, 吉庆萍. 景观与城市的生态设计: 概念与原理[J]. 中国园林, 2001(6): 3-11。

[4] 姚帅男, 刘晓东. 哈尔滨市可应用绿化树种的探讨[J]. 林业科技, 2006(11): 61-63。

植物对于强光照、干旱、冷热和微生物所产生的环境压力非常敏感, 在这些压力的作用下, 很容易产生对细胞有毒害作用的活性氧成分(Activated oxygen species, AOS)^[1]。植物同其它生命一样都必须具备分解这些活性氧成分的能力, 否则, 在生物和非生物因素刺激下, 活性氧成分的增加会加速植物的细胞氧化, 从而破坏组织细胞^[2]。在植物体中 AOS 可以被非酶物质(如 α -生育酚, β -胡萝卜素, 酚类物质, 抗坏血酸和谷胱甘肽等)和抗氧化酶(Antioxidant enzymes)有效地去除^[3-4]。抗氧化酶系统包括可以催化 O_2^- 形成 H_2O_2 的超氧化物

[5] 陈芳清, 王祥荣. 从植物群落学的角度看生态园林建设—以宝钢为例[J]. 中国园林, 2000, 16(5): 35-37。

[6] 欧阳红玉. 寒地城市的园林植物配置[J]. 沈阳建筑工程学院学报(自然科学版), 2004(1): 28, 40。

[7] 索奎霖. 充分发挥城市绿化生态效益的关键[J]. 江苏林业科技, 1998(S1): 84-87。

Promotion of Landscape Construction in Harbin with the Application of Plant Synecology

MIAO Xue-ying, XU Da-wei, YAO Xin

(Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract: This paper made an analysis of the features of urban greening in Harbin and the problems, and also put forward measures for landscape construction in this city on the basis of the analysis of plant community structure and with the application of plant synecology in urban landscape construction.

Key words: plant community; landscaping; landscape

歧化酶(Superoxide dimutase, SOD)和去除 H_2O_2 毒性的过氧化物酶(Guaiacol peroxidase, POD)以及多酚氧化酶(Polyphenol oxidase, PPO)等,这些酶以多种形式存在于植物组织中^[5]。

已有研究表明,微量元素施肥^[6]、紫外线辐射^[7]、光照强度和水压^[8]、Si 元素^[9]、植物病原微生物^[10]以及内生菌^[11]等可以提高植株不同部位抗氧化酶如 SOD、POD 和 PPO 酶等的活性,从而使植物细胞免受因氧化作用而产生的破坏。Jetiyanon^[12]发现,采用 2 种生防菌(IN937a 和 IN937b)混合接种后, SOD 和 POD 酶活性显著高于对照,病原菌青枯雷尔氏菌胁迫接种后, SOD 和 POD 酶活性进一步提高。当高剂量的 UV-C 辐射烟草愈伤组织 1 h 后,抗氧化酶活性在辐射后 24~48 h 后升高^[7]。当把 Si 加入盐胁迫的黄瓜植株培养时,发现其叶片的 SOD、GPX、APX 等抗氧化酶活性会增高,保护植株组织免受盐胁迫所造成的细胞膜氧化作用,从而消除盐对黄瓜植株的毒害作用,促进黄瓜植株的生长^[9]。

但是,在植株抗氧化酶系的活性测定时间上,前人的研究大多数都集中在 96 h 以内进行观察^[13],很少研究会延长至 10 d 以后^[8]。植株抗氧化酶系的变化是随着植株生长而变化的,短时间(<10 d)植株抗氧化酶系的变化可以是植株生长过程的瞬时反应,不能说明对于外源刺激植株后,其抗氧化酶系活性的变化规律,也就无法深入探讨植物在受到外源刺激后的一种长期的自我恢复和调节能力与抗氧化酶系之间的关系^[14]。现利用 *gfp* 基因标记的青枯雷尔氏菌无致病力菌株,作为一种外源的微生物对烟草植株的胁迫接种,利用 *gfp* 基因标记观察接种成功与否,通过长时间(25 d)跟踪测定不同胁迫接种浓度的烟草植株叶片和同一浓度胁迫接种的烟草植株不同部位的部分抗氧化酶(SOD、POD 和 PPO)活性,来观察外源微生物胁迫接种所产生的环境压力,对烟草植株生理生化特性变化动态的影响,从而为更好地分析微生物和植株生长之间的互作关系,为进行病原菌的生物防治和免疫接种剂的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

烟草植株盆栽苗品种为“红丹”,生长期为 5~6 叶期。接种菌株为 GFP 标记的青枯雷尔氏菌无致病力菌株 1403:: *gfp/lux*(以下简称 RS-1403 菌株),该菌株为实验室从番茄植株分离得到的无致病力菌株,并采用 *gfp* 基因标记,以便于对其在烟草植株内的定殖进行实时监测(试验数据另文发表),确保在烟草植株内的接种成功。

1.2 试验方法

1.2.1 青枯雷尔氏菌 RS-1403 胁迫接种烟草植株和取样方法 烟草植株生长至 5~6 叶期,将发酵培养的 RS-

1403 菌液分别稀释不同浓度至 2.35×10^8 (处理 1), 2.35×10^6 (处理 2), 2.35×10^4 (处理 3), 2.35×10^2 (处理 4)和 2.35×10 (处理 5) CFU/mL,每盆烟草植株伤根后灌根接种 50 mL。每个处理接种 30 株烟草植株,处理后的烟草植株置于人工气候室培养(温度为 $26 \sim 30^\circ\text{C}$)。在接种后 5、10、15、20、25 d 取样,每个处理随机取 3 株烟草植株,测定烟草植株叶片的不同抗氧化酶活性。同时,取处理 2 中烟草植株不同部位(根部、茎部和叶片),测定不同抗氧化酶活性。

1.2.2 POD、PPO 和 SOD 粗酶液提取与测定方法

POD、PPO 和 SOD 粗酶液提取方法:1.0 g 根部、茎部和叶片,分别加入 10 mL 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.8)研磨后于 3 000 r/min 离心 10 min,上清液转入 25 mL 容量瓶中。沉淀用 5 mL 磷酸缓冲液再提取 2 次,上清液并入 25 mL 容量瓶中,定容后低温下保存备用。POD 酶活性测定的反应体系:0.05 mol/L 磷酸缓冲液 2 mL、2% H_2O_2 1 mL、0.05 mol/L 愈创木酚 1 mL 和酶液 1 mL。以煮过失活的酶液为对照。反应体系加入酶液后,于 37°C 保温 15 min,然后迅速转入冰浴中,并加入 2 mL 20%三氯乙酸溶液终止反应。5 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,用分光光度计在 470 nm 波长下测反应体系的吸光度。以每分钟内 ΔABS_{470} 变化 0.01 为 1 个过氧化物酶比活力单位,计算 POD 酶活力。酶比活力($0.01 \Delta\text{ABS} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) = $\Delta\text{ABS} \times D / 0.01 \text{Wt}$ 。PPO 酶活测定的反应体系包括:0.05 mol/L 磷酸缓冲液 2 mL、儿茶酚溶液 1 mL 和酶液 1 mL。以煮过失活的酶液为对照。反应体系加入酶液后,于 37°C 保温 10 min,然后迅速转入冰浴中,并加入 2 mL 20%三氯乙酸溶液终止反应。5 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,用分光光度计在 525 nm 波长下测反应体系的吸光度。以 1 min 内 ABS_{525} 变化 0.01 为 1 个过氧化物酶活力单位,计算 PPO 酶活性。酶比活力($0.01 \Delta\text{ABS} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) = $\Delta\text{ABS} \times \text{OD} / 0.01 \text{Wt}$ 。SOD 酶活性测定:参照朱广廉等^[15]方法略作修改, SOD 酶活的计算方法为已知 SOD 活性单位以抑制 NBT 光化还原的 50% 为 1 个酶活性单位表示。按下式计算 SOD 活性:式中 SOD 活性以 1 g 鲜重酶单位表示; A_0 —照光对照管的消光度值; A_s —样品管的消光度值; V_T —样液总体积(mL); V_1 —测定时样品用量(mL); FW—样重(g)。

$$\text{SOD 酶活性}(\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}) = \frac{(A_0 - A_s) \times V_T}{A_0 \times 0.5 \times \text{FW} \times V_1} \circ$$

1.2.3 抗氧化酶比活性的计算方法和数据分析方法

酶活性总和为不同培养时间所得酶活性值的总和,以酶活性的总和和分析不同浓度处理和不同部位酶活性的变化情况;酶比活性=胁迫接种后烟草植株的酶活性/对照烟草植株的酶活性。当酶比活性 > 1.0 时,说明胁

胁迫接种后的酶活性高于对照处理;当酶比活性 <1.0 时,说明胁迫接种后的酶活性低于对照处理;当酶比活性 $=1.0$ 时,说明胁迫接种后的酶活性与对照处理的相同。

2 结果与分析

2.1 不同浓度青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株叶片各种抗氧化酶系活性的影响

2.1.1 对烟草植株叶片 POD 酶活性的影响 由图 1 可知,不同浓度青枯雷尔氏菌 RS-1403 胁迫接种后烟草植株叶片 POD 酶活性总和差异显著($P \leq 0.05$),处理 1 和处理 5 胁迫接种的烟草植株叶片的 POD 酶总和低于对照,而处理 2、3 和处理 4 胁迫接种的烟草植株叶片的 POD 酶总和显著高于对照,其中处理 3 胁迫接种的烟草植株叶片的 POD 酶活性总和最高。培养 5 d 时,处理 2 接种的烟草叶片 POD 酶活性最高,随着培养时间的延长,POD 酶活性逐渐降低,变化趋势趋于平缓(图 2)。

2.1.2 对烟草植株叶片 PPO 酶活性的影响 不同浓度

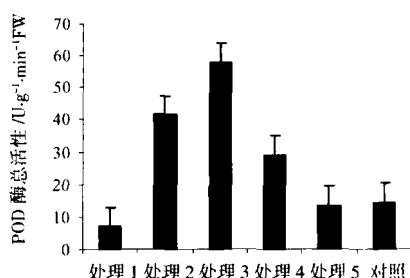


图1 不同浓度青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株叶片 POD 酶活性总和的影响

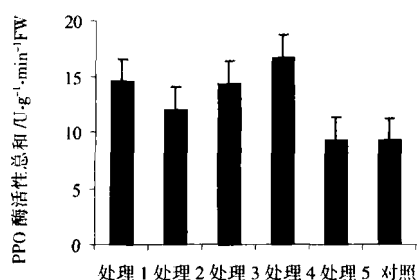


图3 不同浓度青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株叶片 PPO 酶活性总和的影响

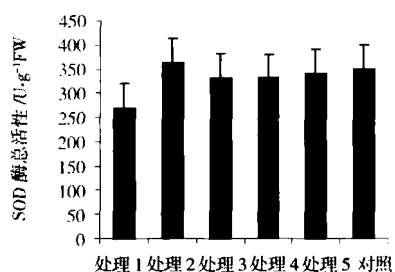


图5 青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株叶片 SOD 酶活性总和的影响

青枯雷尔氏菌 RS-1403 胁迫接种后烟草植株叶片 PPO 酶活性总和均显著高于对照($P \leq 0.05$)(图 3)。处理 4 接种的烟草植株叶片 PPO 酶活性总和最高,其次为处理 1 接种的烟草植株叶片。随着培养时间的延长,处理 2 接种的烟草植株叶片 PPO 酶活性呈先升高再降低再升高后降低的趋势(图 4),在接种后 10 d, PPO 酶活性达到最高;接种 15 d 时, PPO 酶活性达到最低。

2.1.3 对烟草植株叶片 SOD 酶活性的影响 不同浓度青枯雷尔氏菌 RS-1403 胁迫接种后烟草植株叶片 SOD 酶活性总和不同,差异显著($P \leq 0.05$)(图 5)。处理 2 接种的烟草叶片 SOD 酶活性总和最高,其次为处理 5。但所有处理中,只有处理 2 接种的烟草叶片 SOD 酶活性总和高于对照,其余处理均低于对照。处理 2 接种的烟草叶片 SOD 酶活性随着培养时间的延长(图 6),呈现先降低后升高再降低的趋势,在培养 20 d 时, SOD 酶活性达到最高。

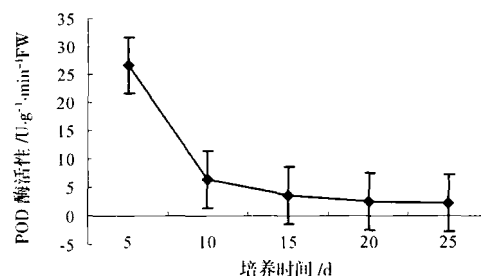


图2 青枯雷尔氏菌 RS-1403(浓度为 2.35×10^4 CFU/mL) 对烟草植株叶片不同时间 POD 酶活性的影响

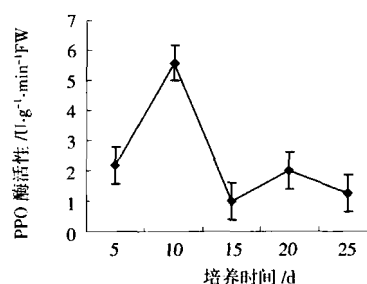


图4 青枯雷尔氏菌 RS-1403(浓度为 2.35×10^4 CFU/mL) 对烟草植株叶片不同时间 PPO 酶活性的影响

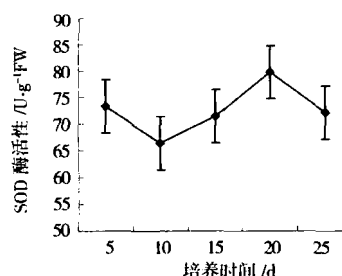


图6 青枯雷尔氏菌 RS-1403(浓度为 2.35×10^4 CFU/mL) 对烟草植株叶片不同时间 SOD 酶活性的影响

2.2 青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株不同部位抗氧化酶系活性的影响

2.2.1 对烟草植株不同部位 POD 酶活性的影响 由图 7、8 可知,青枯雷尔氏菌 RS-1403 胁迫接种后烟草植株不同部位 POD 酶活性总和均显著高于对照 ($P \leq 0.05$)。烟草植株根部 POD 酶活性总和最高,其次为叶片。烟草植株不同部位 POD 酶活性的总体变化趋势和出现的高峰时间也不同,处理烟草植株叶片的 POD 酶活性和对照处理的比值接种后 5 d 时最大,此时比值为 16.88,而随着培养时间的延长,比值逐渐趋于 1.0,说明与对照相差不大。茎部的 POD 酶活性比值变化平缓,接种 5 d 时,比值最大,为 2.96;烟草植株根部的 POD 酶活性比值变化也比较平缓,接种后 10 d 时,比值最大,在培养的

其它时间比值都近乎于 1.0,说明其余对照的酶活性相差不大。

2.2.2 对烟草植株不同部位 PPO 酶活性的影响 青枯雷尔氏菌 RS-1403 胁迫接种后烟草植株不同部位 PPO 酶活性总和均比对照高(图 9、10),叶片和茎部的 PPO 酶活性总和显著高于对照 ($P \leq 0.05$)。烟草植株茎部 PPO 酶活性总和最高,其次为根部。烟草植株不同部位 PPO 酶活性出现的高峰时间也不同(图 10),处理烟草植株叶片的 PPO 酶活性和对照处理的比值在接种后 15 d 时达到最大;茎部 PPO 酶活性比值呈现逐渐降低的趋势,在接种 5 d 时,比值最大;根部 PPO 酶活性比值变化几乎都在 1.0 左右,说明其与对照的酶活性相差不大。

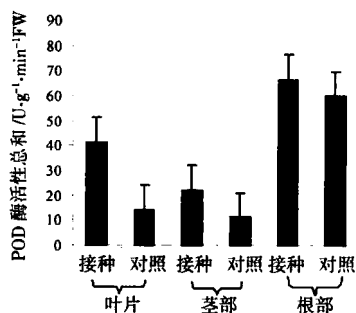


图 7 青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株不同部位 POD 酶活性总和的影响

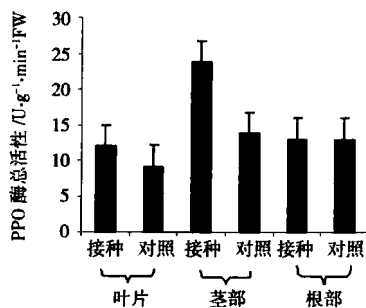


图 9 青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株不同部位 PPO 酶活性总和的影响

2.2.3 对烟草植株不同部位 SOD 酶活性的影响 青枯雷尔氏菌 RS-1403 胁迫接种后烟草植株不同部位 SOD 酶活性总和与对照的差异显著 ($P \leq 0.05$) (图 11、12)。烟草植株根部 SOD 酶活性总和最高,其次为叶片。烟草植株不同部位 SOD 酶活性比值变化趋势和出现的高峰时间不同(图 12),接种后烟草植株叶片和茎部的 SOD 酶活性与对照处理的比值变化趋势比较平缓,都在 1.0 左右,说明其与对照酶活性相差不大,这 2 个部位的酶活性在接种后 20 d 时,均达到最大;根部 SOD 酶活性比值在培养 25 d 时最大,为 2.10,说明此时酶活性是对照的酶活性 2 倍左右。

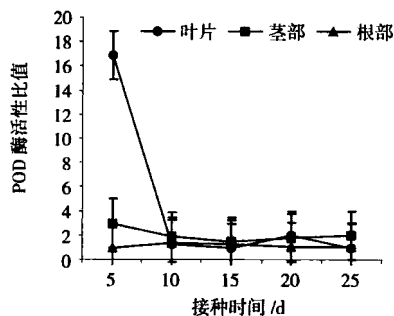


图 8 青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株不同部位 POD 酶活性比值的影响

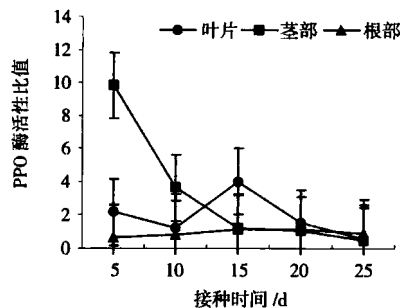


图 10 青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株不同部位 PPO 酶活性比值的影响

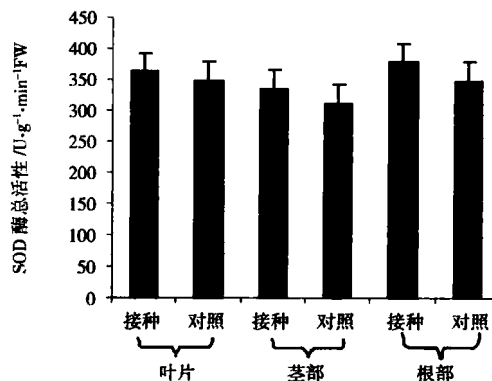


图 11 青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株不同部位 SOD 酶活性总和的影响

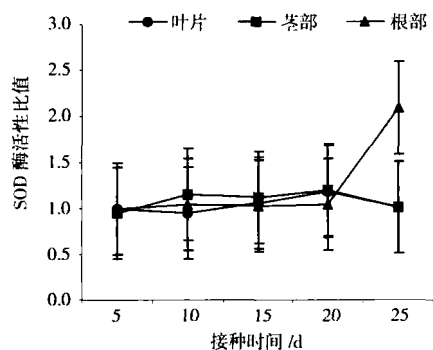


图 12 青枯雷尔氏菌 RS-1403 对烟草植株不同部位 SOD 酶活性比值的影响

3 结论与讨论

POD、PPO 和 SOD 酶均属于植物抗氧化酶,在植物体内以多种形式存在,可以改善因各种氧化而产生的对植物细胞的破坏作用^[16-17],与植物的抗逆性密切相关^[18-21]。

该研究结果表明,青枯雷尔氏菌 RS-1403 作为外源微生物刺激胁迫接种后,烟草植株的根部、茎部和叶片的 POD、PPO 和 SOD 酶活性总和显著高于对照处理,这与邱思鑫的研究结果相似,他在研究防病促生内生细菌时发现,内生菌液处理的辣椒幼苗体内的 POD 和 SOD 酶活性显著增高。Jettiyanon 也发现根际微生物接种后再胁迫接种病原微生物可以诱导 SOD 酶^[18]和 POD 酶^[18-21]的产生。华苟根^[22]的结果也表明,AR99 处理番茄对 PPO 活性有显著影响,处理后植株体内 PPO 活性高于对照水平,且差异显著。接种内生真菌 B3 能刺激水稻体内 SOD 酶、POD 酶活力的增加^[23]。说明,不管是病原微生物、生防菌、内生菌还是生防菌剂,当其作为外源的压力作用于植株时,植株就会产生相应的生理生化变化,提高各种抗氧化酶的活性,防止植物细胞因氧化作用而遭受的破坏。

该研究还发现,烟草植株不同部位的 POD、PPO 和 SOD 酶活性比值变化趋势和达到高峰的时间有所不同。这与胡青平^[10]的研究结果相似,在研究辣椒感染青枯菌后酶活性变化时发现,辣椒叶片的 POD 活性显著高于根部和茎部。辣椒接菌后,根和茎的 POD 活性在第 3 天升至最高值,而叶内第 5 天升至最高值,且比对照提高了 4.7%。陈庆河等^[23]发现用无毒菌株 Atm044 处理番茄后,叶片内 POD 和 PPO 酶的活性在 24 h 内迅速增加,48 h 达到高峰,SOD 酶活性在接种后 24 h 达到高峰。Li 等^[25]发现,当采用枯草芽孢杆菌作为生防菌接种番茄时,PAL、PPO、POD 和 SOD 酶分别在接种后 48、48、12、12 h 达到高峰。

植物在受到外源刺激后,植物细胞具有一定程度的

自我修复能力,通过清除活性氧的抗氧化酶在植物的自我修复中起着重要的作用。很多研究都集中在观察外源刺激后 5 d 内植株细胞酶活性的变化,而没有观察 5 d 或者 10 d 后这些酶活性的变化情况。该研究观察了青枯雷尔氏菌接种后 25 d 内烟草植株抗氧化酶系的变化情况发现,对不同的抗氧化酶的检测时间应该有所不同,例如,根部的 POD 酶和 PPO 酶活性在 25 d 以内变化不是很明显,而 SOD 酶活性则在 25 d 时升高到最大值,这可能是由于菌接种后,随着培养时间的延长,对植物细胞某些抗氧化酶活性的诱导作用下降,因此,对于根部 POD 和 PPO 酶活性变化的观察应以 5 d 内为宜,而对于 SOD 酶活性的观察则需要一个长期的过程。

该研究采用青枯雷尔氏菌无致病力菌株不同浓度胁迫接种烟草植株,观察不同浓度的微生物对烟草植株抗氧化酶系活性的影响。结果表明,采用不同浓度胁迫接种后的烟草植株叶片 PPO 和 POD 酶活性总和显著高于对照,而 SOD 酶活性总和除了处理 2(接种浓度为 2.35×10^6 CFU/mL)外,其余的各个处理的均低于对照。因此在研究生防菌或者病原菌以及内生菌等外源微生物与植株抗氧化酶系活性的关系时,需要注意选择合适的浓度进行胁迫接种试验,该试验也为进行免疫接种剂的生防机理研究提供了参考。

参考文献

- [1] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons[J]. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1999, 50: 601-639.
- [2] van Loon L C, Bakker P A H M, Pieterse C M J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria[J]. Annual Review of Phytopathology, 1998, 36: 453-483.
- [3] Smirnoff N. The role of active oxygen in the response to water deficit and desiccation[J]. New Phytol., 1993, 125: 27-58.
- [4] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control[J]. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 1998, 49: 249-279.
- [5] Wojtaszek P. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection[J]. Biochemical Journal, 1997, 322: 681-692.
- [6] Gramss G, Voigt K D, Kirsche B. Oxidoreductase enzymes liberated by plant roots and their effects on soil humic material[J]. Chemosphere, 1999, 38 (7): 1481-1494.
- [7] Massimo Z, Marinade A. Spread of oxidative damage and antioxidative response through cell layers of tobacco callus after UV-C treatment[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2004, 42: 445-450.
- [8] Adriano S, Bartolomeo D, Cristos X, et al. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewetting in olive tree[J]. Plant Science, 2004, 166: 293-302.
- [9] ZHU Zhu-jun, WEI Guo-qiang, LI Juan, et al. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Plant Science, 2004, 167: 527-533.
- [10] 胡青平, 徐建国, 薄芳芳, 等. 辣椒感染青枯菌后 POD 活性及同工酶

的变化[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2007, 37(3): 425-428.

[11] 邱思鑫. 防病、促生植物内生芽孢杆菌的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2004.

[12] Jetiyanon K. Defensive-related enzyme response in plants treated with a mixture of *Bacillus* strains (IN937a and IN937b) against different pathogens [J]. *Biological Control*, 2007, 42: 178-185.

[13] 陈庆河, 翁启勇, 胡方平. 青枯病原细菌无毒菌株诱导番茄防御酶系及粗提液抑菌活性的影响[J]. *植物病理学报*, 2003, 33(4): 334-337.

[14] 王建明, 张作刚, 郭春绒, 等. 枯萎病菌对西瓜不同抗感品种丙二醛含量及某些保护酶活性的影响[J]. *植物病理学报*, 2001, 31(2): 152-156.

[15] 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990: 242-245.

[16] Alscher R G, Erturk N, Heath L S. Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53: 1331-1341.

[17] De Gara L, de Pinto M C, Tommasi F. The antioxidant systems vis-à-vis reactive oxygen species during plant-pathogen interaction[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2003, 41: 863-870.

[18] Jetiyanon K, Tuzun S, Kloepper J W. Lignification, peroxidase and superoxide dismutases as early plant defense reactions associated with PGPR-mediated induced systemic resistance[J]. In: Ogoshi, A., Kobayashi, K., Homma, Y., Kodama, F., Kondo, N., Akino, S. (Eds.), *Plant Growth-promoting Rhizobacteria: Present Status and Future Prospects*. Sapporo, Japan, 1997: 265-268.

pan, 1997: 265-268.

[19] Ramamoorthy V, Raguchander T, Samiyappan R. Enhancing resistance of tomato and hot pepper to *Pythium* diseases by seed treatment with *Fluorescent pseudomonads* [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2002, 108: 429-441.

[20] Ramamoorthy V, Raguchander T, Samiyappan R. Induction of defense-related proteins in tomato roots treated with *Pseudomonas fluorescens* Pf1 and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* [J]. *Plant and Soil*, 2002, 239: 55-68.

[21] Silva H S A, Romeiro R S, Macagnan D, et al. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants non-specific protection and increase in enzyme activities[J]. *Biological Control*, 2004, 29: 288-295.

[22] 华荷根. AR99 菌剂诱导的番茄青枯病抗性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2004.

[23] 袁志林. 一株广谱内生真菌 B3 对水稻生长及生理影响研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2005.

[24] 陈庆河, 翁启勇, 胡方平. 青枯无致病力菌株诱导番茄抗青枯病的生化机制[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2003, 32(3): 296-300.

[25] LI S M, HUA G G, LIU H X, et al. Analysis of defence enzymes induced by antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* strain AR12 towards *Ralstonia solanacearum* in tomato[J]. *Annals of Microbiology*, 2008, 58 (4): 573-578.

Effects of Avirulent *Ralstonia solanacearum* Strain on Some Antioxidant Enzymes Activities in Tobacco Plants

CHE Jian-mei^{1,2}, LIU Bo¹, ZHANG Yan^{1,3}, LAN Jiang-lin¹, SU Ming-xing¹, LIN Kang-mei¹

(1. Biotechnology Institution, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003; 2. Key Laboratory of Biopesticide and Chemical Biology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002; 3. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002)

Abstract: Taking *Ralstonia solanacearum* RS-1403 as exogenous microorganisms, the effects of avirulent *Ralstonia solanacearum* strain RS-1403 on the activities of guaiacol peroxidase (POD; EC 1. 11. 1. 7), polyphenol oxidase (PPO; EC 1. 30. 3. 1) and superoxide dismutase (SOD; EC 1. 15. 1. 1) were investigated in tobacco plants. The results showed that higher levels of total POD and PPO activities were observed in tobacco leaves treated with different concentrations of avirulent *R. solanacearum* strain RS-1403 compared with control. Total SOD activity of tobacco leaves with different concentrations of avirulent *R. solanacearum* strain RS-1403 was lower than control except that with the concentration of 2.35×10^4 CFU/mL. The total POD, PPO and SOD activities of tobacco plants different parts including the roots, leaves and stems were significantly higher than that of control. The times of reaching peak of POD, PPO and SOD activity ratios with that of control in different parts of tobacco plants were different. For the POD activity ratio, it was highest in leaves and stems after 5 d of challenged inoculation and highest in roots after 10 d. PPO activity ratio of leaves and roots reached peak after 15 d. For the stem, it was 5 d. For the SOD activity ratio, it reached highest in leaves and stems after 20 d of challenged inoculation.

Key words: *Ralstonia solanacearum*; avirulent strain; tobacco; peroxidase; polyphenoloxidase; superoxide dismutase