

苯并噻二唑衍生物不同施用方法对番茄抗病性的诱导

宋兰芳¹, 孙润明¹, 王学利¹, 邵玉翠², 任顺荣²

(1. 天津农学院 园艺系, 天津 300384; 2. 天津市农业资源与环境研究所, 天津 300192)

摘要:将苯并噻二唑(BTH)配制成 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液, 用喷施和涂茎 2 种方法处理番茄苗, 测定叶片内苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、丙二醛(MDA)的含量, 研究不同剂型苯并噻二唑衍生物对番茄抗病性的诱导效果。结果表明: BTH 处理的番茄叶片 PAL、POD、PPO 的活性均提高, 且峰值出现均早于对照, MDA 含量总体低于对照; 而且处理组能发挥较长时间的诱导抗性, 尤其以 BTH 乳剂配制溶液涂茎番茄诱导效果最佳。

关键词:苯并噻二唑; 防御酶; 诱导; 番茄; 抗病性

中图分类号:S 432.2⁺3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)15-0148-03

植物激活剂是指能够诱导植物产生系统获得抗性的物质^[1]。已知具有应用潜力的能够诱导果蔬产生植物激活剂的诱导剂有很多种, BTH 是第一个开发成功的人工合成植物激活剂, 苯并噻二唑(BTH)对病原菌无直接的杀菌活性, 能够通过诱导植物自身产生对病原菌广谱和持久的抗性^[2]。多种生物因子和非生物因子可激活植物自身的防卫性抗性反应即“系统诱导抗性”, 这些因子引起植物体内苯丙氨酸解氨酶(PAL)、几丁质酶(Chitinase)、 β -1,3-葡聚糖酶、过氧化物酶等一系列防御酶系活性的变化以及木质素和酚类物质含量的变化, 甚至诱导植物病程相关蛋白(PR 蛋白)的产生^[3], 这些变化都有其遗传因子的变化^[4]。现对番茄幼苗采用不同方法施用苯并噻二唑(BTH)衍生物处理, 比较番茄叶片内防御酶活性和 MDA 含量的变化, 分析苯并噻二唑衍生物的诱抗机理, 并选择出最佳施用方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

番茄品种为“GB 傲兰六号”。试剂: 苯并噻二唑(BTH)衍生物, 由南开大学范志金教授提供。

1.2 试验方法

番茄苗经恒温箱催芽处理, 发芽后种植到花盆中, 放于自然光照条件下, 20~23℃培育, 开花前喷药处理。将固体苯并噻二唑和乳剂苯并噻二唑分别配置成

200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液, 用喷施和涂茎 2 种方法施用到番茄幼苗上, 对照喷清水, 处理 1: 固体 BTH 配制溶液喷施番茄; 处理 2: 固体 BTH 配制溶液涂茎番茄; 处理 3: BTH 乳剂配制溶液喷施番茄; 处理 4: BTH 乳剂配制溶液涂茎番茄。3 次重复, 每重复 10 株番茄。

1.3 项目测定

药剂处理后的 15 d 内分别测定处理和对照番茄叶片内苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)的酶活性。酶活性测定参照《现代植物生理学实验指南》^[5]和文献^[6]方法进行。丙二醛(MDA)的提取与测定, 参照郝建军等^[7]的方法。

2 结果与分析

2.1 BTH 处理对番茄叶片内苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响

由图 1 可知, BTH 处理的叶片 PAL 活性迅速上升, 各处理组均在第 7 天达最大值, 分别为对照的 2.52、2.44、2.66、3.34 倍; 处理 4 的 PAL 活性总体较高, 处理 1 叶片中 PAL 活性的增加幅度小于处理 3 和处理 4, 第 5、7 天 PAL 活性比处理 4 分别低 41.7% 和 76.0%。对照 PAL 活性高峰出现在第 9 天, 在之前和之后均低于处理

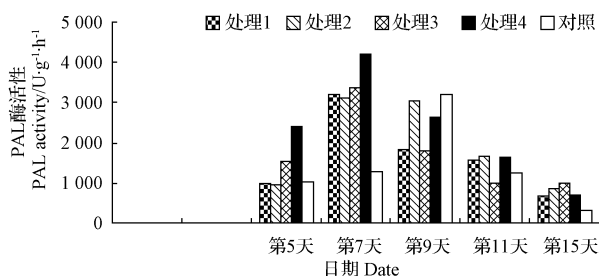


图 1 PAL 活性的变化

Fig. 1 The PAL activity tend

第一作者简介:宋兰芳(1986-),女,天津人,在读硕士,研究方向为果树生理生态。E-mail:songlanfang@126.com.

责任作者:王学利(1955-),男,本科,副教授,研究方向为园艺植物病虫害防治及生产过程中障碍因素的治理。

基金项目:天津市科技支撑计划资助项目(10ZCGYNC1200)。

收稿日期:2012-04-01

1、2、4。表明 BTH 可以诱导番茄苗 PAL 活性提前到达高峰,处理 4 较易诱导 PAL 活性的提高。

2.2 BTH 处理对番茄叶片内过氧化物酶(POD)活性的影响

由图 2 可知,BTH 处理后叶片 POD 活性显著提高,与对照相比 2 d 后 POD 活性开始上升;第 6 天时达最大值,此时 POD 活性比对照增加 445.99%。处理 4 叶片中 POD 活性显著高于对照,变化趋势与处理 1、2、3 基本一致。处理 1 也能诱导 POD 活性的增加,但与处理 4 相比增加幅度较小。各 BTH 处理后的 POD 活性最高峰出现在第 6 天,而对照处理 POD 活性最高峰出现在第 8 天,说明 BTH 诱导 POD 活性提前到达高峰,BTH 处理的番茄叶片防卫机制启动早于对照。

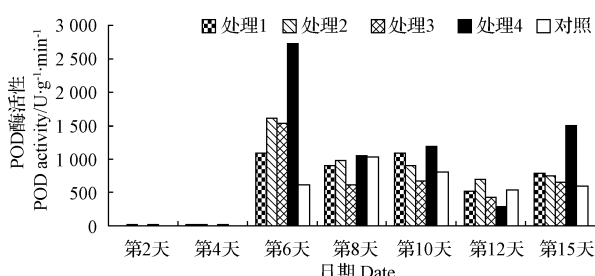


图 2 POD 活性变化

Fig. 2 The POD activity tend

2.3 BTH 处理对番茄叶片内多酚氧化酶(PPO)活性的影响

由图 3 可知,BTH 处理后叶片 PPO 活性均有提高,与对照相比 1 d 后 POD 活性开始上升;第 9 天时达最大值,此时 POD 活性比对照增加 766.49%。处理 4 的 PPO 活性总体最高,其它处理总体低于对照 PPO 活性增加幅度。BTH 处理的叶片 POD 活性高峰出现时间不一致,但均比对照提前。

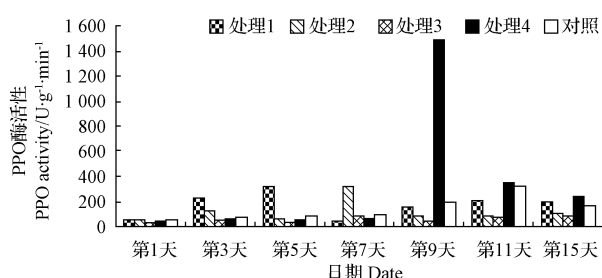


图 3 PPO 活性的变化

Fig. 3 The PPO activity tend

2.4 BTH 处理对番茄叶片内丙二醛(MDA)含量的影响

由图 4 可知,BTH 处理的叶片 MDA 含量增加幅度显著低于对照,第 4 天对照达最大值,为处理 3 的 5.70 倍,为处理 4 的 2.27;第 6 天为处理 4 的 8.25 倍;第 12

天仍为处理 4 的 5.10 倍。处理 4 的 MDA 含量增加幅度总体低于其它处理。说明 BTH 处理可以将番茄叶片内的丙二醛含量维持在较低水平。

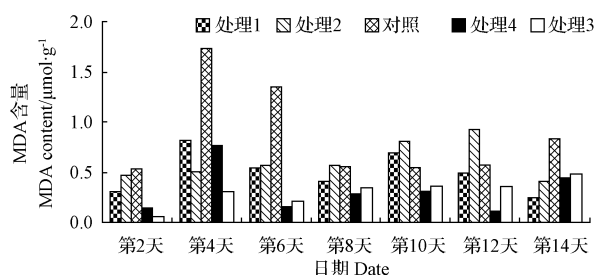


图 4 丙二醛含量的变化

Fig 4 The MDA content tend

3 结论与讨论

BTH 衍生物诱导处理后,番茄植株体内 PAL、POD、PPO 等防御酶的含量均有不同程度的增加,表明这些防御酶在蛋白激发子诱抗过程中起重要作用;不同防御酶活性峰值的出现时间有所差异,表明不同防御酶的诱导机制存在差异。处理后,MDA 的含量总体低于对照,表明 BTH 衍生物处理能有效减少 MDA 含量,增强番茄的抗病能力。

3.1 苯并噻二唑对苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响

PAL 在植物的生长发育、抗病、抗逆反应中起着重要的作用^[8]。病原菌的侵染、病毒素诱导或真菌培养液的诱导,所引起的 PAL 活性的增加幅度与植物的受害程度有关,且在侵染点周围病原菌对酶活性刺激作用高于离侵染点较远的部分,在最边缘部位 PAL 活性与未感染部位基本相同^[9]。试验中 BTH 处理的叶片防卫反应启动早于对照叶片,说明 BTH 处理能提前诱导番茄体内 PAL 的合成,在发病前期能够充分的积累防卫反应所需的物质,抵御病原菌攻击。BTH 诱导 PAL 活性变化与处理浓度和处理方式的关系还需要做进一步的研究。

3.2 苯并噻二唑对番茄叶片内过氧化物酶(POD)活性的影响

植物活性氧爆发、木质素合成、多种氧化反应等都与对各种病菌的防卫反应密切相关^[10]。POD 参与活性氧代谢过程^[11],这种现象已被看作是植物防卫反应机制的一部分,刘曼西等^[12]的报道也证明,病原真菌激发子和外源 H₂O₂ 均可促进番茄细胞中阴离子 POD 酶的基因转录。木质素和木栓质的积累与 POD 活性增强之间的关系已被许多试验所证实^[13]。该试验中 BTH 处理后 POD 活性,不仅高峰比对照提前,在取样的第 15 天仍出现增高趋势,说明 BTH 处理能够发挥较长时间的诱导抗性。但番茄体内到底产生的是何种抗病物质,BTH

诱导的是什么抗病途径,仍需要进一步研究。

3.3 苯并噻二唑对番茄叶片内多酚氧化酶(PPO)活性的影响

多酚氧化酶(PPO)是核基因编码的专一性质体铜金属酶,不仅参与酚类物质的氧化,同时也参与木质素的形成^[14]。据研究西红柿中的 PPO 在受到伤害诱导后,7 个 PPO 基因中 1 个基因的启动子的顺式作用元件对伤害的信号作出反应,从而系统地产生出 PPO,这表明伤害可以使植物 PPO 基因从头开始合成新的 PPO 酶,从而增加 PPO 活性^[15],但是伤害情况下 PPO 活性的增加既有 PPO 从头合成而引起活性增加的可能,也有通过原有潜伏 PPO 活化而导致酶活性增加的可能,还可能二者兼而有之,这要取决于不同的植物以及受伤害的类型^[16]。PPO 活性在 BTH 处理后均迅速增加,但各处理的 PPO 活性峰值出现时间不同,BTH 的不同处理方式诱导 PPO 活性变化的途径是否相同,与对照的诱导途径有何种区别,仍有待进一步研究。

3.4 苯并噻二唑对番茄叶片内丙二醛(MDA)活性的影响

MDA 含量和电导率与细胞膜的损害程度直接相关。MDA 含量和电导率与作物抗病性负相关^[17]。BTH 处理会使番茄叶片 MDA 含量降低,说明 BTH 处理能诱导植物自身调节 MDA 的含量,增强植物的抗病能力,抵抗病原菌的侵染。

参考文献

- [1] 范志金,刘秀峰.植物抗病激活剂诱导植物抗病性的研究进展[J].植物保护学报,2005,32(1):87-92.
- [2] 范志金,刘凤丽.植物激活剂苯并噻二唑(BTH)[J].四川师范大学学报,2004,27(4):410-412.
- [3] Franco G. Systemic acquired resistance in crop protection: from nature

to a chemical approach[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(16): 4487-4503.

- [4] Jung E H, Jung H W, Lee S L, et al. Identification of a novel pathogen-induced gene encoding a leucine-rich repeat protein expressed in phloem cells of *Capsicum annuum* [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2004, 1676: 211-222.
- [5] 中国科学院植物生理研究所,上海市植物生理学会.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,1999.
- [6] 张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导[M].3版.北京:高等教育出版社,2003:123-124.
- [7] 郝建军,康宗利,于洋,等.植物生理学实验技术[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [8] 徐晓梅,杨署光.苯丙氨酸解氨酶研究进展[J].安徽农业科学,2009,37(31):15115-15119,15122.
- [9] Subramaniam R, Reinold S, Molitor E K, et al. Structure, inheritance and expression of hybrid poplar (*Populus trichocarpa* × *Populus deltoides*) phenylalanine ammonia 21 yase genes [J]. Plantphysiology, 1993, 102: 71-83.
- [10] Takahama U, Oniki T. Regulation of peroxidase-dependent oxidation of phenolics in the apoplast of spinach leaves by ascorbate[J]. Plant Cell Physiol, 1992, 33: 379-387.
- [11] Bolwell G P, Wojtaszek D. Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence abroad perspective[J]. Physiol Mol Plant Pathol, 1997, 51: 347-366.
- [12] 刘曼西, Kdattukudy P E. 病原激发子对番茄阴离子过氧化物表达与反应性氧进发的诱导[J]. 植物生理学报, 1997, 23: 220-226.
- [13] Lewis N, Yamamoto E. Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation[J]. Ann Rev Plant Physiol Plant MolBiol, 1990, 41: 455-496.
- [14] Kosuge T. The role of phenolics in host response to infection[J]. Annu Rev Phytopathol, 1969(7): 105-122.
- [15] 雷东锋.植物中多酚氧化酶的特征[J].自然科学进展, 2004, 14(6): 606-614.
- [16] Constabel C P. A survey of wound-and methyl jasmonate-induced leaf polyphenol oxidase in crop plants[J]. Phytochemistry, 1998, 47(4): 507.
- [17] 翟彩霞.玉米在诱导抗病过程中丙二醛(MDA)含量的变化[J].玉米科学, 2005, 13(1): 77-78, 82.

Disease Resistance Induced by Different Methods of Application of Benzothiadiazole Derivatives in Tomato

SONG Lan-fang¹, SUN Run-ming¹, WANG Xue-li¹, SHAO Yu-cui², REN Shun-rong²

(1. Department of Horticulture, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384; 2. Tianjin Agriculture Resources and Environmental Research Institute, Tianjin 300192)

Abstract: Using different application methods, the induced resistance of tomato applied by different methods of benzothiadiazole derivatives were studied. The induced resistance was studied in tomato leaves treated with 200 $\mu\text{g/mL}$ benzothiadiazole derivatives solutions, spraying and spread steam two methods were used to treat the tomato. The concentration of PAL, POD, PPO and MDA in the leaves were tested. The results showed that the activity of PAL, POD and PPO were increased in tomato leaves, and the peak of those enzymes were earlier than the control, in large measures the content of MDA were lower than the control; and the treatment groups could play longer induced resistance, applying the liquid benzothiadiazole derivatives to the steams of tomato had the best effect.

Key words: benzothiadiazole; defensive enzyme; induce; tomato; disease resistance