

张成玲, 杨冬静, 赵永强, 等. 镰刀菌胁迫对不同甘薯品种抗氧化酶及 MDA 含量的影响[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(2): 263-266.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.02.004

镰刀菌胁迫对不同甘薯品种抗氧化酶及 MDA 含量的影响

张成玲, 杨冬静, 赵永强, 徐 振, 谢逸萍, 孙厚俊

(江苏徐淮地区徐州农业科学研究所/农业部甘薯生物学与遗传育种重点实验室, 江苏 徐州 221131)

摘要: 为明确不同甘薯品种与病菌互作中抗氧化酶活性变化与甘薯抗性的关系, 选用抗病甘薯品种郑红 22、胜利百号和感病品种烟薯 25、龙薯 9 号、徐薯 33, 利用愈创木酚方法, 研究了甘薯与镰刀菌互作过程中抗氧化酶(超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶)活性及丙二醛(MDA)含量变化。结果表明, 所有甘薯品种在病原菌侵染后 3 种抗氧化酶活性均分别高于对照, 但不同甘薯品种的不同酶上升到高峰的时间和幅度不同。大部分酶活性增加率呈先上升后下降的趋势, 接种后 24 h 达到最高。郑红 22 的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)及胜利百号的 CAT 活性在接种后 6 h 达到最高, 并且比其他品种增加率都高, 随时间延长酶活性增加率逐渐下降。所有甘薯品种在病原菌侵染后 MDA 含量均分别高于对照, 但增加率不同, 徐薯 33 和烟薯 25 接种后 6 h 增加率最高, 而后逐渐下降, 郑红 22 和胜利百号增加率最低。说明抗氧化酶活性增加率高低与甘薯品种的抗性呈正相关。

关键词: 镰刀菌; 甘薯; 抗氧化酶; 丙二醛

中图分类号: S531.034

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2017)02-0263-04

Effect of *Fusarium* stress on antioxidant enzymes and MDA content in sweet potato varieties

ZHANG Cheng-ling, YANG Dong-jing, ZHAO Yong-qiang, XU Zhen, XIE Yi-ping, SUN Hou-jun

(Xuzhou Institute of Agricultural Sciences in Jiangsu Xuhuai Area/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Sweet Potato, Ministry of Agriculture, Xuzhou 221131, China)

Abstract: In order to define the relationship between the changes of antioxidant enzyme activities and resistance during the interaction of sweet potato and pathogen, canker resistant varieties Zhenghong 22, Shengli 100 and susceptible varieties Yanshu 25, Longshu 9 and Xushu 33 infected with *Fusarium* were studied for the activities of superoxide dismutase, peroxidase, catalase, and the content of malondialdehyde(MDA). Three antioxidase activities in all infected varieties of sweet potato were higher than those in non-infected ones, however, peak values and the time taken to the peak value varied. The activities of SOD and POD in sweet potato varieties except for Zhenghong 22 peaked at 24 h post-infection and decreased afterwards. The activities of SOD and CAT in Zhenghong 22 and CAT activity in Shengli 100 reached their peak values at 6 h post-infection, and the increment were higher. The MDA contents in all infected varieties were higher than those in non-infected ones, however, the increment varied, with the biggest in Xushu 33 and Yanshu 25 at 6 h post-infection, and the smallest in Zhenghong 22 and Shengli 100. The results suggest that there might be a positive relation between

the increment of antioxidative enzyme activity and canker-resistant sweet potato variety.

Key words: *Fusarium*; sweet potato; antioxidative enzyme; malondialdehyde

收稿日期: 2016-08-19

基金项目: 国家甘薯产业技术体系项目(CARS-11-B-09); 江苏省自然科学基金项目(BK20140230)

作者简介: 张成玲(1983-), 女, 山东沂源人, 博士, 副研究员, 主要从事甘薯病虫害研究。(E-mail) zhchling5291@163.com

通讯作者: 谢逸萍, (E-mail) xieyiping6216@163.com

甘薯(*Ipomoea batatas*)广泛种植于世界上 100

多个国家和地区,是重要粮食作物之一,是保证粮食安全的底线作物,也是重要的能源及工业原料作物^[1-6]。中国是世界上最大的甘薯生产国,种植面积占世界甘薯种植面积的 45.0%,年产量占世界甘薯总产量的 75%以上^[7-8]。病害尤其是真菌类病害的发生是阻碍甘薯生产、影响甘薯品质的重要因素之一。目前,中国甘薯上的病害种类繁多,主要包括黑斑病、黑痣病及镰刀菌引起的一系列病害等。其中,镰刀菌在甘薯上引起的病害种类较多,主要有甘薯根腐病、干腐病、蔓割病、溃疡病等^[9-11],这些病危害大,侵染苗床薯苗、大田地上茎蔓及地下薯块、甘薯储藏期薯块,造成甘薯烂苗、茎溃疡或薯块腐烂等^[2]。由于甘薯常年连作种植,导致这类病害的发生日趋严重并呈逐年上升趋势^[9-10]。

病原菌等生物及低温等非生物胁迫可诱导植物体活性氧积累,对植物产生伤害,而植物体的保护酶系统,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)相互协调,可清除植物活性氧,降低其对植物的伤害^[12-13]。这些保护酶活性的变化大小可能与植物的抗逆能力的强弱有关^[14-17]。李春燕等^[16]、任俊杰等^[17]研究发现,低温胁迫导致植物体内抗氧化酶活性随胁迫程度加重呈先升高后下降趋势,并且较高的抗氧化酶活性可缓解低温胁迫对植株的伤害。在氯化钠等盐胁迫下,通过测定抗氧化酶活性的变化可明确植物抗盐能力的强弱^[13,18]。病原菌侵染寄主后也能引起寄主植物的一系列抗逆、抗氧化酶反应。杨德翠^[19]通过牡丹红斑病菌侵染抗牡丹红斑病及感牡丹红斑病 2 个牡丹品种,研究不同抗性品种抗氧化酶活性的变化及趋势,并将其作为衡量牡丹对红斑病抗性弱弱的指标。麦提艾力·热合曼等^[20]通过灰霉菌激活蛋白质诱导抗病性相关酶的活性,提高了番茄的抗病性。

甘薯溃疡病是近几年报道的一种新甘薯病害^[10],由茄病镰刀菌(*Fusarium solani*)侵染引起的。本研究将茄病镰刀菌接种到不同品种的甘薯苗上,测定并分析接种后甘薯叶片 SOD、POD、CAT 活性变化及丙二醛(MDA)含量,为甘薯抗逆机理的深入研究,抗性品种的筛选及培育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

病原镰刀菌(*Fusarium solani*)由江苏省徐州甘

薯研究中心甘薯病虫害研究室提供。该病菌是从山东省济宁市甘薯溃疡病发病甘薯上分离得到,通过对该病菌多个分离物 ITS 序列鉴定及致病性强度验证,选择致病性强、常见的甘薯溃疡病致病菌株 JN3 作为试验菌株。将病原菌在土豆琼脂培养基上 25℃活化培养 7 d 后备用。感病甘薯品种为龙薯 9 号、徐薯 33 及烟薯 25,抗病甘薯品种为胜利百号(胜利 100)、郑红 22,均为江苏省徐州甘薯研究中心甘薯病虫害室提供。从苗床上剪取生长整齐一致的健壮幼苗,筛选四叶一心、基部茎粗 12~13 mm、茎长(20±2) cm、茎节 3 节的幼苗进行清水培养。培养容器为 500 ml 的烧杯,每瓶 3 株。水培期,每 2 d 更换 1 次清水,每次每瓶加水 300 ml。

1.2 试验设计及接种

待幼苗缓苗后,用 1×10^6 CFU/ml 病原菌孢子悬浮液处理 3 h,之后移入清水中继续培养。接种后 6 h、24 h、48 h、72 h 采集叶片。每个试验甘薯品种设 3 次重复,以清水处理为对照。

1.3 抗氧化酶活性测定

POD、CAT、SOD 活性采用试剂盒(微量法)(均购自苏州科铭生物技术有限公司)测定,用 Thermo Scientific Multiskan GO 酶标仪测定不同酶在特定波长下吸光值。

1.4 MDA 含量测定

MDA 含量用试剂盒测定,试剂盒(微量法)购自苏州科铭生物技术有限公司。

1.5 统计与分析

试验数据采用 Excel 软件分析和作图。

2 结果与分析

2.1 镰刀菌胁迫下不同甘薯品种 SOD 活性变化

由图 1 可看出,镰刀菌侵染甘薯后,不同甘薯品种 SOD 活性均升高,增加百分率为 20.93%~174.06%,并且随着时间的延长,除郑红 22 外,其余 4 个品种 SOD 活性变化趋势一致,但上升幅度不同。郑红 22 在病菌侵染 6 h 时上升幅度达到最高,随后缓慢下降,但活性增加幅度均高于其他 4 个品种;其余 4 个甘薯品种 SOD 活性增加百分率随处理时间延长呈先上升后下降趋势,都在 24 h 时达到最大,之后下降,但是各个品种在病原菌侵染后 SOD 活性都分别高于对照。徐薯 33 除 6 h 外其余时间段相比于其他品种增加幅度最小,其次是龙薯 9 号。

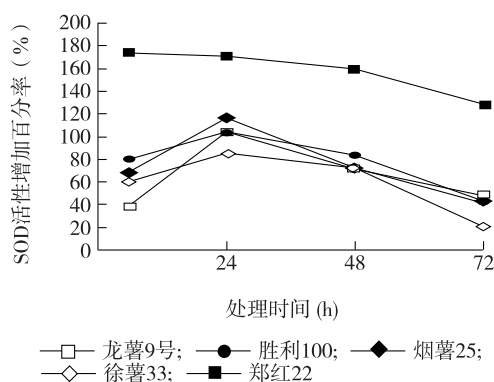


图1 镰刀菌处理对不同甘薯品种叶片 SOD 活性的影响

Fig.1 Changes of SOD activities in the leaves of sweet potato varieties after *Fusarium solani* infection

2.2 镰刀菌胁迫下不同甘薯品种 POD 活性变化

POD 普遍存在于高等植物中,催化分解由 SOD 清除自由基所产生的 H_2O_2 和过氧化物,在植物生长发育过程中起着重要作用。由图 2 可以看出,镰刀菌处理的 5 个甘薯品种 POD 活性均分别高于对照,增加幅度随处理时间的延长呈先上升后下降趋势,24 h 时达到高峰。胜利百号和郑红 22 2 个品种增加幅度最大,分别增加 138.69% 和 128.23%,但郑红 22 在 24 h 时达到最高点后下降速度较胜利百号慢。徐薯 33 增加幅度最小,增加 13.33%~49.11%。

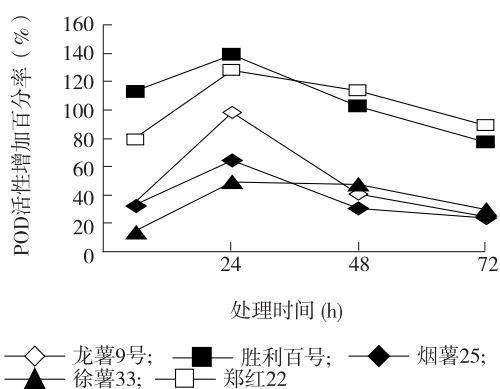


图2 镰刀菌处理对不同甘薯品种叶片 POD 活性的影响

Fig.2 Changes of POD activities in the leaves of sweet potato varieties after *F. solani* infection

2.3 镰刀菌胁迫下不同甘薯品种 CAT 活性变化

郑红 22 和胜利百号 2 个品种接种后 6 h CAT 活性增加率最高,分别达到 125.13% 和 116.98%,之后逐渐下降,而郑红 22 CAT 活性增加率高于其他 4 个品种(图 3)。龙薯 9 号、烟薯 25 及徐薯 33 CAT

活性增加率呈先上升后下降趋势。龙薯 9 号及烟薯 25 CAT 活性增加率较低,接种后 24 h 达到最高值,分别为 50% 和 57.15%。徐薯 33 在接种后 48 h 达到最高值,为 77.95%。

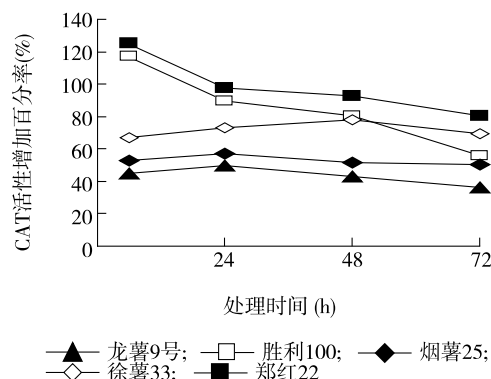


图3 镰刀菌处理对不同甘薯品种叶片 CAT 活性的影响

Fig.3 Changes of CAT activities in the leaves of sweet potato varieties after *F. solani* infection

2.4 镰刀菌胁迫下不同甘薯品种 MDA 含量变化

徐薯 33 和烟薯 25 接种后 6 h MDA 含量增加率达到最高,分别为 134.40% 和 100.19%,之后逐渐下降。龙薯 9 号、胜利百号和郑红 22 3 个品种 MDA 含量增加率随时间延长先增加后降低,龙薯 9 号在 48 h 时增加率达到最高,为 105.25%,而胜利百号及郑红 22 在 24 h 时增加率达到最高,分别为 91.28% 和 67.4% (图 4)。

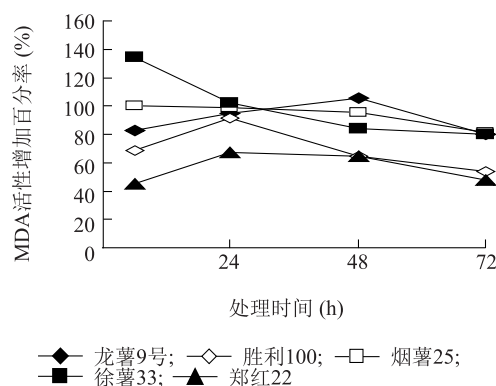


图4 镰刀菌处理对不同甘薯品种叶片 MDA 含量的影响

Fig.4 Changes of MDA contents in the leaves of sweet potato varieties after *F. solani* infection

3 讨论

植物在遭受病原菌侵染的过程中产生一系列抵

抗病菌侵染的复杂生理、生化反应,并且各种生理生化反应之间相互影响、相互作用^[21]。在这种逆境条件下,植物体内活性氧代谢系统平衡受到影响, $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 等活性氧增加,从而启动膜质过氧化,破坏膜结构。*SOD*、*POD* 和 *CAT* 都可以清除体内的活性氧和自由基,但作用原理不同。*SOD* 参与植物机体内的歧化反应,使超氧阴离子转化为 H_2O_2 和 O_2 , H_2O_2 再通过 *POD* 和 *CAT* 分解成 H_2O 和 O_2 ^[13,21]。

本研究利用甘薯溃疡病病原菌接种不同品种的甘薯幼苗,接种后 48 h 所有甘薯品种都表现出症状。在病原菌的胁迫下,寄主植物 3 种抗氧化酶活性均高于对照,但不同甘薯品种的不同抗氧化酶活性上升到高峰的时间和上升幅度不同。大部分品种不同酶活性增加百分率呈现先上升后下降的趋势,一般是接种后 24 h 达到高峰,增加百分率也最高,而后逐渐下降。郑红 22 *SOD*、*CAT* 及胜利百号 *CAT* 活性在接种后 6 h 达到最高,并且比其他品种增加率都高,而后随时间延长酶活性增加率逐渐下降。所有接种甘薯品种 MDA 含量相比于对照均有所增加,但增加率不同,徐薯 33 和烟薯 25 接种后 6 h 增加率最高,且高于其他品种,而后逐渐下降。郑红 22 和胜利百号 MDA 含量增加率最低。病菌侵染寄主植物后,引起抗氧化酶活性上升,并且抗病品种酶活性增加幅度大于感病品种^[19,22-24]。植物与病原菌之间互作是一个复杂的过程,利用单一指标很难确定其抗病性强弱,因此本研究通过测定接种后抗氧化酶活性及 MDA 含量的变化鉴定抗病性。

参考文献:

- [1] 董月,安霞,张辉,等. 不同品种甘薯的生物量累积、养分吸收和分配规律[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(2): 313-318.
- [2] LOEBENSTEIN G, THOTTAPPILLY G. The sweet potato [M]. New York: Springer Science Business Media B.V., 2009: 9-103.
- [3] 马佩勇,贾赵东,边小峰,等. 淀粉型甘薯新品种苏薯 23 的选育及应用分析[J]. 南方农业学报, 2015, 46(10): 1768-1774.
- [4] 谢一芝,郭小丁,贾赵东,等. 紫甘薯新品种宁紫薯 3 号的选育及栽培技术[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(12): 110-111.
- [5] 靳容,张爱君,史新敏,等. 干旱胁迫下钾对甘薯幼苗光合特性及根系活力的影响[J]. 江苏农业学报, 2014, 30(5): 992-996.
- [6] 孙哲,刘桂玲,郑建利,等. 优化种植密度下的甘薯产量形成特性研究[J]. 山东农业科学, 2016, 48(11): 61-64.
- [7] 马代夫,刘庆昌. 中国甘薯育种与产业化[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2005.
- [8] 马代夫,李强,曹清河,等. 中国甘薯产业及产业技术的发展与展望[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(5): 969-973.
- [9] 中国农业科学院植物保护研究所. 中国农作物病虫害[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 1995: 440-445.
- [10] WANG R Y, GAO B, LI X H, et al. First report of *Fusarium solani* causing *Fusarium* root rot and stem canker on storage roots of sweet potato in China[J]. Plant Disease, 2014, 98(1): 160.
- [11] 王容燕,高波,陈书龙,等. 河北省甘薯镰孢菌腐烂与溃疡病的病原鉴定[J]. 植物保护学报, 2016, 43(2): 241-247.
- [12] 张玉霞,李志刚,张玉玲,等. 缺磷胁迫对大豆膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2004, 20(4): 196-197, 208.
- [13] KIM Y H, LEE H S, KWAK S S. Differential responses of sweet-potato peroxidases to heavy metals[J]. Chemosphere, 2010, 81: 79-85.
- [14] PARK S Y, RYU S H, KWON S Y, et al. Differential expression of six novel peroxidase cDNAs from cell cultures of sweetpotato in response to stress[J]. Molecular Genetics & Genomics, 2003, 269(4): 542-552.
- [15] KIM Y H, LIM S, HAN S H, et al. Differential expression of 10 sweet potato peroxidases in response to sulfur dioxide, ozone, and ultraviolet radiation [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2007, 45: 908-914.
- [16] 李春燕,徐雯,刘立伟,等. 低温条件下拔节期小麦叶片内源激素含量和抗氧化酶活性的变化[J]. 应用生态学报, 2015, 26(7): 2015-2022.
- [17] 任俊杰,赵爽,苏彦苹,等. 春季低温胁迫对核桃抗氧化酶指标的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2016, 44(3): 1-7.
- [18] 时冉冉,崔兴国,李会芬,等. NaCl 胁迫下小黑麦幼苗抗氧化酶动态变化研究[J]. 作物杂志, 2014(1): 73-75.
- [19] 杨德翠. 牡丹-枝孢霉互作过程中牡丹抗氧化酶活性的变化[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(10): 228-230.
- [20] 麦麦提艾力·热合曼,海利力·库尔班,郭立华,等. 灰霉菌激活蛋白诱导抗病相关的酶活性提高番茄抗病性[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(6): 780-786.
- [21] 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.
- [22] 李国祺,安树青,张纪林,等. 盐胁迫对杨树形成层过氧化物酶活性机器效应的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(6): 871-874.
- [23] 王凤敏,张鲁刚,刘静,等. 春夏大白菜黑斑病病原鉴定和抗性鉴定方法比较[J]. 植物保护学报, 2007, 34(6): 614-618.
- [24] THYGESEN P W, DRY I B, ROBINSON S P. Polyphenol oxidase in potato[J]. Plant Physiology, 1995, 109(2): 525-531.

(责任编辑:张震林)