

叶霉粗毒素对番茄幼苗CAT酶及保护性物质的影响^{*}

刘慧芹¹, 刘慧平², 韩巨才², 王建明²

(1 天津农学院 园艺系, 天津 300384; 2 山西农业大学 农学院, 山西 太谷 030801)

[摘 要] 以番茄叶片为材料, 研究了番茄不同抗、感品种于苗期经叶霉病菌粗毒素处理后, 叶部细胞CAT酶及保护性物质的动态变化。结果表明, 经叶霉病菌毒素处理后, 抗、感品种叶部细胞内CAT酶活性均降低, 抗病品种(中杂8号)下降比率大于感病品种(823番茄), 但抗病品种的CAT酶活性高于感病品种; 从平均水平上看, 两品种处理的可溶性糖含量均较对照增加, 而VC含量和可溶性蛋白含量均较对照下降; 处理后, 抗病品种的可溶性糖含量和可溶性蛋白含量均高于感病品种, VC含量二者相当。

[关键词] 叶霉病菌毒素; 番茄幼苗; 过氧化氢酶; 可溶性糖; 可溶性蛋白

[中图分类号] S432.2⁺3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)05-0065-04

番茄叶霉病(*Cladosporium fulvum* Cooke)是番茄的一种重要真菌病害。叶霉病的发生和危害与其病原菌产生的毒素有一定的相关性, 此毒素能产生多组分的毒素糖蛋白, 诱导寄主叶片黄化、坏死, 破坏寄主叶片的细胞膜系统, 使寄主叶片组织坏死, 胼胝质沉积, 电解质渗漏, 脂加氧酶活性提高, 脂质过氧化作用加强^[1~3]。近年来, 许多学者研究了植物的抗病性与活性氧、保护酶系和保护性物质的关系, 发现植物受病原菌侵染后其体内的活性氧(O_2^- , H_2O_2)、保护酶系(SOD、POD、CAT)、保护物质(VC、抗坏血酸、可溶性糖、可溶性蛋白)等发生变化, 且这种变化与植物的抗病性密切相关^[4~6]。但关于番茄叶霉病菌及其毒素与番茄抗病性的研究鲜见报道。本研究探讨了番茄经叶霉病菌毒素处理后, 寄主体内CAT酶和可溶性糖、VC、可溶性蛋白3种保护性物质的变化及其与抗病性的关系, 以期为进一步研究寄主与毒素之间的相互作用及番茄抗叶霉病的生理生化机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材 料

供试的番茄品种有抗病品种中杂8号^[7], 感病品种823番茄。番茄叶霉病菌菌株采自山西太谷杨

家庄保护地番茄发病植株上, 并分离纯化。

1.2 方 法

1.2.1 粗毒素制备 病菌经纯化后, 接种到PDA培养基上, 25℃下培养7d, 用打孔器从平板上取5块 $\phi=8\text{mm}$ 的菌块接种到250mL液体培养基中, 置于25℃下振荡培养20d, 纱布过滤, 取上清液于5000 r/min离心15min, 然后取上清液在121℃下高温灭菌30min, 即为毒素粗滤液。将其用无菌水稀释成10倍备用。

1.2.2 幼苗处理 采用幼苗浸渍法, 取5~6叶期的幼苗, 洗净根部, 同时放入盛有300mL粗毒素的烧杯中, 置于25℃室温下。在粗毒素处理后的第0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5d内分别取样测定生理生化指标, 重复3次, 取平均值。同时设蒸馏水为对照。

1.2.3 测定方法 CAT、可溶性糖、VC、可溶性蛋白测定均参照周琦的方法^[8]。

2 结果与分析

2.1 叶霉粗毒素对CAT酶活性的影响

经毒素处理后, 叶部细胞内CAT酶活性变化如图1、2所示。在处理过程中, 感病品种CAT酶活性除第4天高于对照外, 其余均较对照降低; 而抗病品种均低于对照。在0.5~2d时, 两品种的CAT酶

^{*} [收稿日期] 2004-08-21

[基金项目] 山西省留学基金资助项目(99051, 200441); 山西省自然科学基金资助项目(20021088)

[作者简介] 刘慧芹(1973-), 女, 山西太原人, 讲师, 硕士, 主要从事植物病理学研究。

[通讯作者] 刘慧平(1956-), 女, 山西太谷人, 教授, 主要从事农药学与植物保护研究。E-mail: sxndllhp@126.com

活性下降比率接近。从第 2 天起,抗病品种对照和处理 CAT 酶活性变化趋势一致,下降比率也较一致,曲线波动不大;而感病品种对照和处理的 CAT 酶

活性差异很大,下降比率曲线剧烈波动。两品种对照间相比,抗病品种的 CAT 酶活性高于感病品种。

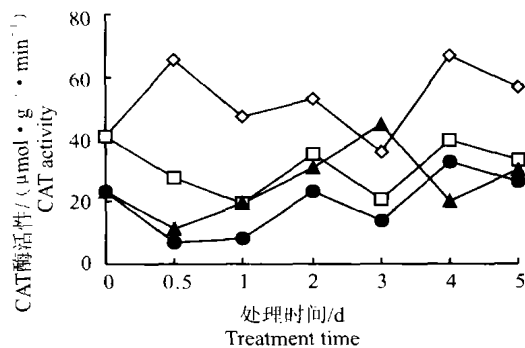


图 1 不同番茄品种 CAT 酶活性动态变化

1 - ◇ - . 中杂 8 号对照; - □ - . 中杂 8 号处理;
- ▲ - 823 番茄对照; - ● - 823 番茄处理

Fig 1 Dynam ic changes of SOD activity
in different tomato varieties

1 - ◇ - . Zhongza No. 8 CK; - □ - Zhongza No. 8 treatment;
- ▲ - . 823 tomato CK; - ● - 823 tomato treatment

2 2 对可溶性糖含量的影响

经毒素处理后,叶部细胞内可溶性糖含量变化见表 1。表 1 表明,抗、感品种可溶性糖含量均为处理高于对照,其增加幅度均是在第 1 天和第 5 天出现 2 次高峰,抗病品种分别比对照增加 23.5% 和

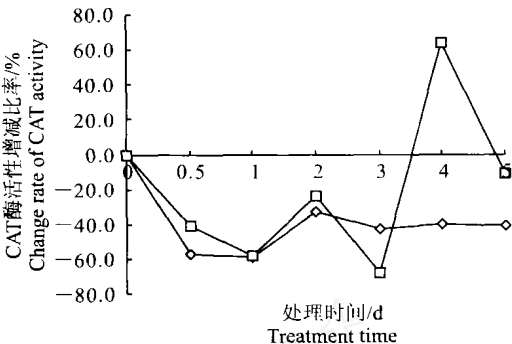


图 2 不同番茄品种 CAT 酶活性增减比率

1 - ◇ - . 中杂 8 号; - □ - . 823 番茄

Fig 2 Change rate of CAT activity
in different tomato varieties

1 - ◇ - . Zhongza No. 8; - □ - . 823 tomato

39.2%,感病品种分别较对照增加 37.3% 和 37.5%。从增加幅度上看,感病品种高于抗病品种;但就其含量而言,抗病品种可溶性糖含量略高于感病品种。

表 1 不同番茄品种可溶性糖含量变化动态

Table 1 Dynam ic changes of solvent sugar content in different tomato varieties

处理时间/d Time of treatment	中杂 8 号 Zhongza No. 8			823 番茄 823 tomato		
	对照/(mg · g ⁻¹) Control	处理/(mg · g ⁻¹) Treatment	增减比率/% Rate of change	对照/(mg · g ⁻¹) Control	处理/(mg · g ⁻¹) Treatment	增减比率/% Rate of change
0	4.93	4.93		4.51	4.51	
0.5	2.73	3.11	14.2	3.52	3.59	1.9
1	3.53	4.36	23.5	3.48	4.77	37.3
2	3.96	4.66	17.8	3.04	3.98	31.0
3	3.85	4.15	7.8	3.13	3.98	26.9
4	3.62	3.83	5.8	3.45	3.65	5.8
5	3.42	4.77	39.2	3.32	4.56	37.5
平均值 Average	3.72	4.26	14.5	3.49	4.15	18.8

2 3 对 Vc 含量的影响

经毒素处理后,叶部细胞内 Vc 含量变化见表 2。由表 2 可知,抗病品种在第 0.5~2 天时 Vc 含量增加,感病品种则在第 0.5~1 天时 Vc 含量增加,之后两品种 Vc 含量都呈明显的下降趋势;抗病品种在第 5 天、感病品种在第 4 天时,两品种 Vc 含量降幅最大,分别比对照减少 30.8% 和 34.1%。从平

均水平上看,抗病品种叶部细胞内的 Vc 含量在处理和对照中均相应地小于感病品种,但差别很小;而两品种处理和对照间在 Vc 含量的变化幅度上,则是抗病品种明显小于感病品种。

2 4 对可溶性蛋白含量的影响

经毒素处理后,叶部细胞内可溶性蛋白含量变化见表 3。由表 3 可知,在 0.5 和 1 d 时,抗、感品种

的可溶性蛋白含量与对照相比均升高, 抗病品种分别增加 5.1% 和 32.8%, 感病品种分别增加 9.1% 和 4.7%。在第 2 天, 两品种的可溶性蛋白含量与对照相比开始下降, 一直持续到第 5 天, 可溶性蛋白含量都降到最低, 分别比对照减少 36.5% 和 53.5%。从平均水平上看, 两品种处理的可溶性蛋白含量较对照均呈下降趋势, 抗病品种的可溶性蛋白含量略高于感病品种。从变化过程上看, 后期抗病品种可溶性蛋白含量的下降幅度也小于感病品种, 从而保持了较高的含量。

表 2 不同抗感品种 Vc 含量的变化动态

Table 2 Dynamic changes of Vc content in different tomato varieties						
处理时间/d Time of treatment	中杂 8 号 Zhongza No. 8			823 番茄 823 tomato		
	对照/(mg · g ⁻¹) Control	处理/(mg · g ⁻¹) Treatment	增减比率/% Rate of change	对照/(mg · g ⁻¹) Control	处理/(mg · g ⁻¹) Treatment	增减比率/% Rate of change
0	0.101	0.101		0.124	0.124	
0.5	0.086	0.095	10.5	0.126	0.136	7.9
1	0.080	0.083	3.8	0.085	0.092	8.2
2	0.086	0.109	26.7	0.102	0.095	-6.9
3	0.081	0.079	-2.5	0.080	0.076	-5.0
4	0.083	0.066	-20.5	0.091	0.060	-34.1
5	0.078	0.054	-30.8	0.075	0.051	-32.0
平均值 Average	0.085	0.084	-1.3	0.098	0.085	-12.9

表 3 不同番茄品种可溶性蛋白含量的变化动态

Table 3 Dynamic changes of solvent protein content in different tomato varieties						
处理时间/d Time of treatment	中杂 8 号 Zhongza No. 8			823 番茄 823 tomato		
	对照/(mg · g ⁻¹) Control	处理/(mg · g ⁻¹) Treatment	增减比率/% Rate of change	对照/(mg · g ⁻¹) Control	处理/(mg · g ⁻¹) Treatment	增减比率/% Rate of change
0	17.23	17.23		17.65	17.65	
0.5	12.88	13.54	5.1	13.92	15.19	9.1
1	10.71	14.22	32.8	12.76	13.37	4.7
2	14.88	12.51	-15.9	15.71	12.05	-23.3
3	17.12	9.86	-42.4	13.79	10.30	-25.3
4	16.92	11.99	-29.1	13.96	6.85	-50.9
5	13.69	8.70	-36.5	13.59	6.32	-53.5
平均值 Average	14.78	12.58	-14.9	14.48	11.67	-19.4

3 讨 论

CAT 是细胞内保护酶系统的重要成员之一, 它能清除 H₂O₂ 而对细胞具有保护作用, 从而增强了植物对各种不良环境的抵抗能力。本研究结果表明, 经毒素处理后, 两品种 CAT 酶活性均降低, 但抗病品种 CAT 酶活性高于感病品种, 因此在粗毒素作用下抗病品种能够维持高的保护酶活性, 以清除活性氧, 防止过氧化加剧。同时抗病品种对照和处理的 CAT 酶活性变化趋势一致, 而感病品种 CAT 酶活性曲线差异很大。这说明感病品种细胞内防御系统发生严重紊乱, 而抗病品种自我调节恢复的能力明显大于感病品种。

可溶性糖在植物体内主要参与呼吸代谢, 呼吸作用可为植物生理活动提供能量并与其他物质的合

成提供中间产物。从本研究结果看, 两品种可溶性糖含量与对照相比均为增加, 这可能是由于在处理时, 毒素刺激了植物, 使其呼吸作用增强; 或者是由于合成一些保护性物质时需要较多的物质来源, 从而促进了糖的生成^[9]。处理前后抗病品种可溶性糖含量都高于感病品种, 表明可溶性糖含量高抗病, 反之感病。

Vc 作为一种还原性物质, 是植物体内重要的抗氧化物质, 在逆境胁迫下能清除活性氧, 降低过氧化伤害, 对植物具有保护作用。本研究结果表明, 毒素处理后, 从平均水平看, 两品种的 Vc 含量下降, 抗病品种的 Vc 含量小于感病品种; 在变化幅度上, 抗病品种也明显小于感病品种。这说明 Vc 在此可能表现为一种间接抗性, 在 Vc 含量下降的过程中, 抗病品种保持了较低的下跌幅度, 表明其具有相对高

的自我调节和恢复能力^[9]。

研究还表明,抗、感品种处理的可溶性蛋白含量较对照均呈下降趋势,但抗病品种的可溶性蛋白含量的下降幅度小于感病品种,其含量仍高于感病品种。这说明经毒素处理后,细胞受到了活性氧的毒害,损伤了 SOD、CAT 等保护酶,使其活性下降,同

时也造成了对可溶性蛋白和其他保护物质的伤害,使其含量减少。但抗病品种仍能比感病品种保持较高的可溶性蛋白含量,说明其具有较高的抑制可溶性蛋白含量下降的能力,同时也表明可溶性蛋白含量高抗病,反之感病。

[参考文献]

- [1] Lazarovits G, Higgins V J. Biological activity and specificity of a toxin produced by *Cladosporium fulvum* [J]. *Physiology and Biochemistry*, 1979, 69(10): 1056- 1061.
- [2] Dow J M, Callow J A. Partial characterization of glycopeptides from culture filtrates of *Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri, the tomato leaf mould pathogen[J]. *Journal of General Microbiology*, 1979, 113: 57- 66
- [3] Peever T L, Higgins V J. Electrolyte leakage, lipoxygenase, and lipid peroxidation induced in tomato leaf tissue by specific and nonspecific elicitors from *Cladosporium fulvum* [J]. *Plant Physiology*, 1989, 90: 867- 875
- [4] 陈利锋, 宋玉立, 徐雍皋. 抗感赤霉病小麦超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性比较[J]. *植物病理学报*, 1997, 27(3): 209- 213
- [5] 云兴福. 黄瓜组织中氨基酸、糖和叶绿素与霜霉病抗菌性的关系[J]. *华北农学报*, 1993, 8(4): 52- 58
- [6] 冯 洁, 陈其瑛. 植株体内几种生物物质与抗枯萎病之间关系的初步研究[J]. *植物病理学报*, 1991, 21(4): 291- 297.
- [7] 高振华, 李树德, 戴善书. 番茄新品种中杂 8 号的育成[J]. *中国蔬菜*, 1996, (3): 11- 14
- [8] 周 琦. 植物生理生化试验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993
- [9] 刘慧芹. 叶霉病菌毒素与番茄品种抗病性关系的研究[D]. 山西太谷: 山西农业大学, 2003

Effect of toxin from *Cladosporium fulvum* on CAT and protective substance of tomato seedling

L IU Hui-qin¹, L IU Hui-ping², HAN Ju-cai², WANG Jian-ming²

(1 Department of Horticulture, Tianjin Agricultural College, Tianjin 300384, China;

2 College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China)

Abstract: The dynamic changes in activities of catalase (CAT) and some protective substances in leaf cell of different tomato varieties treated by Toxin from *Cladosporium fulvum* were tested. The results showed that catalase activity descended. Resistant variety (Zhongza No 8) descended faster than susceptible variety (823 tomato), but resistant variety had higher catalase activity than susceptible one. Observed from average in two varieties, solvent sugar content of treatment increased compared with the control. On the contrary, vitamin C (Vc) content and solvent protein content descended. After treatment, resistant variety had more contents than susceptible one in solvent sugar and solvent protein, approximate content in Vc.

Key words: tomato leaf mould toxin; tomato seedling; CAT; solvent sugar; solvent protein