

不同供Fe水平下受TMV感染的烟草中几种防御酶活性变化

李晔, 吴元华*, 赵秀香 (沈阳农业大学植物保护学院, 辽宁沈阳110161)

摘要 采用烟草栽培品种NC89, 利用不同Fe离子浓度处理烟草感染TMV后, 对防御酶系活性进行测定, 研究不同供Fe水平与烟草感染TMV后防御酶系活性的互作关系。结果表明, 烟草幼苗用不同浓度Fe离子处理后, 其中1.68 g/L Fe处理和感染TMV后的烟草体内, 超氧化物歧化酶(SOD)、多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性均迅速升高, 酶活性高峰值出现也早, 且明显高于其他Fe水平的。

关键词 Fe; 普通烟草花叶病毒; 防御酶活性

中图分类号 Q946 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)17-4237-02

Change of Several Defense enzyme Activity of Tobacco Infected with TMV under the Different Iron Nutrition Level

Li Ye et al (College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161)

Abstract The effect of TMV on the activity of defense enzyme in leaf of tobacco-NC89 under different iron nutrition levels with liquid culture was evaluated. The results showed that the activity of Superoxide dismutase (SOD), Peroxidase (POD), Catalase (CAT), Phenylalanine ammonia lyase (PAL), Polyphenol oxidase (PPO) was significantly increased after TMV inoculation with Fe 1.68 g/L and the peak was higher than other treatments.

Key words Iron; Tobacco mosaic virus; Defense enzyme activity

植物对病原物抵抗的生理生化反应是由酶的催化活动实现的, 寄主防御酶可催化一些诱导型抗病物质的合成, 间接影响寄主的抗病反应。如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶等活性氧清除系统, 可使寄主体内活性氧处于低水平的动态平衡之中。又如, 苯丙氨酸解氨酶是植物抗性物质生成途径——莽草酸途径中酚类物质、植保素、木质素等合成过程中最关键的酶类。再有, 多酚氧化酶能将酚类物质氧化成对病原体有毒的醌类物质, 因而此酶常作为植物抗病的生化指标^[1]。目前的研究多用外源水杨酸^[2]、壳聚糖^[3]以及低温诱导植物防御酶活性变化规律进行研究, 但有关Fe营养与寄主及病毒间互作的报道甚少。笔者研究不同供Fe水平下烟草感染TMV后的植株中几种防御酶: 超氧化物歧化酶(SOD)、多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的活性变化规律。

1 材料与试验方法

1.1 供试材料 烟草栽培品种NC89 (Nicotiana glauca, CV NC89), 烟草花叶病毒(TMV)由沈阳农业大学植物病毒研究室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 处理、接种及取样。 NC89于温室中育苗, 营养液中除Fe外各种元素N、P、K、Ca、Mg、B、Mn、Cu和Zn的浓度分别为70、31、117、76、24、0.5、0.048、0.5、0.02和0.05 g/L (pH值5.8)。烟苗长至3叶期时移栽。选取长势一致的4~5叶烟苗, Fe(II)-EDTA浓度为: F₀(0 g/L), F₁(1.12 g/L), F₂(1.68 g/L), F₃(3.36 g/L)。烟苗先用全部营养元素的1/2剂量营养液培养4 d, 后改用各种Fe处理的营养液培养, 培养于温室中, 温度18~25℃, 相对湿度45%~60%, 光照强度为600 μmol/(m²·s), 人工气泵通气保证氧气充足, 每隔4 d换营养液1次。

分别对各种Fe处理的烟草幼苗, 采用汁液摩擦接种法, 接种于第3片展开叶, 于接种后0、2、4、6、8、10、12 d取接种的

上部第2片展开叶, 每个样品称取相同质量, 3次重复, -20℃保存。

1.2.2 防御酶系活性测定方法。 SOD活性测定用NBT法, POD测定用愈创木酚法, PPO活性测定用邻苯二酚法, PAL活性测定采用分光光度法, CAT活性测定采用过氧化氢法, 蛋白质含量测定用考马斯亮兰G250方法^[4]。

2 结果与分析

2.1 SOD活性变化 试验结果表明(图1), 除了F₁和F₂处理的烟草感染TMV后叶片SOD活性在接种后的第2天出现明显的峰值外, 其他处理无明显变化, 而且F₂处理在接种TMV后第6天又出现明显的峰值, SOD活性维持在较高水平且最高峰值远远高于其他处理, 是F₁的1.95倍, 是F₃处理的3.98倍, 是F₀处理的5.56倍。F₀处理在接种后的SOD活性无明显的变化, 但还是远远低于其他处理, 且在接种后的第8天活性最低。由于SOD对超氧阴离子有较强的清除能力, 因此, F₂处理的烟草感染TMV后, 可能是由于SOD对体内自由基造成的伤害有较好的清除作用, 缓解自由基对植物造成的破坏作用。

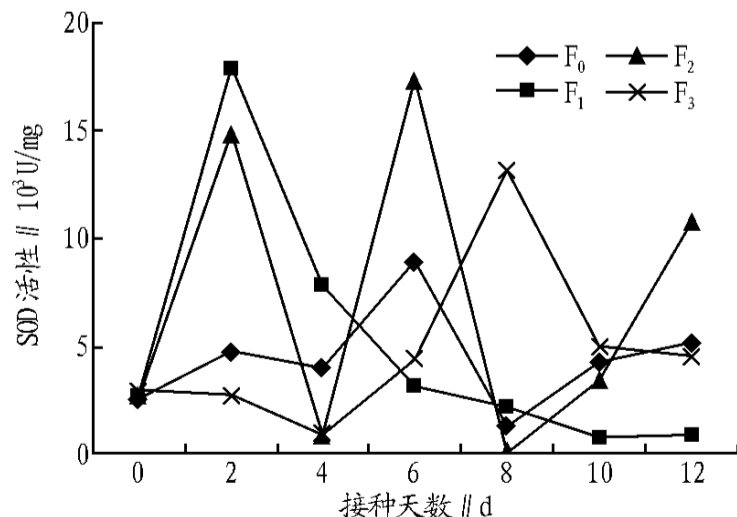


图1 不同供Fe水平下烟草感染TMV后的SOD活性变化

2.2 PPO活性变化 不同供Fe水平烟草在感染TMV后, 烟株叶片内PPO活性变化趋势一致(图2), 都表现为双峰曲线, 各供Fe水平均在第4和第8天出现明显的峰值, 只是峰值大小存在着差异, 表现在F₂处理的峰值明显高于其他处理, F₃处理在接种后第10天出现一个酶活高峰, 但最高峰值较F₂处理出现的迟且峰值也小。不同供Fe水平在接种TMV后,

均能使PPO活性升高,但F₂处理其PPO活性明显高于其他处理。

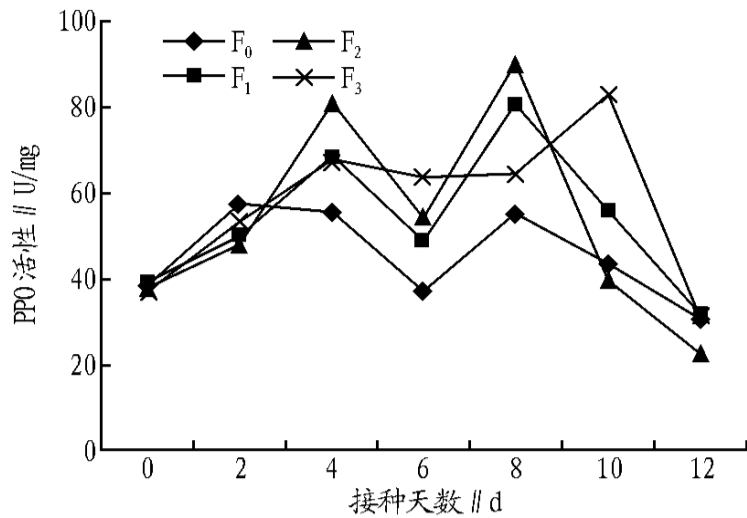


图2 不同供Fe水平下烟草感染TMV后的PPO活性变化

2.3 PAL活性变化 不同供Fe水平烟草在感染TMV后,烟株叶片内PAL活性发生明显的变化(图3)。接种TMV后,烟株叶片内PAL活性随着处理Fe含量的增加而增加,各处理在接种后的第4和第8天也出现了明显的峰值,并且在峰值上有明显的差别,其中F₂处理峰值最高,分别是F₃处理的1.25倍,F₁处理的2倍和F₀处理的2.87倍。而F₁处理在接种后第8天也出现了峰值,但较F₂处理产生的迟,峰值也低。

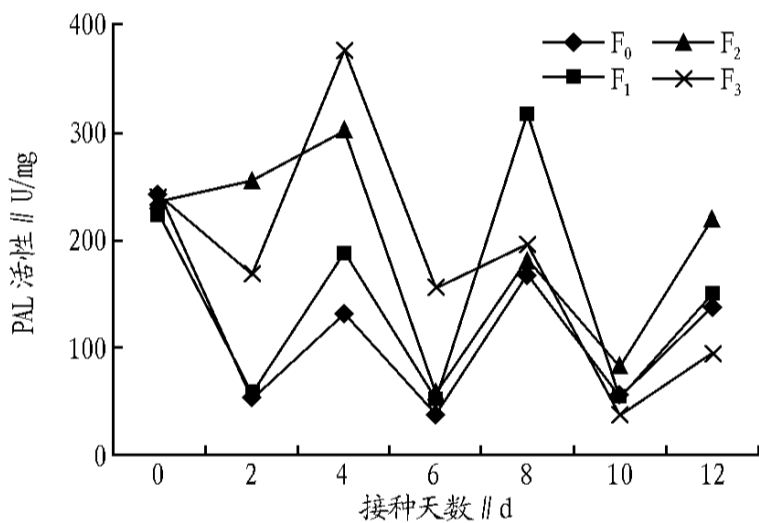


图3 不同供Fe水平下烟草感染TMV后的PAL活性变化

2.4 POD活性变化 从图4可以看出,不同供Fe水平烟草在接种TMV后,POD活性发生明显的变化,其中F₂处理在接种后第8天出现明显的峰值,出现的峰值早于其他处理。F₀处理的烟草感染TMV后POD活性一直处于较低的水平。F₁和F₃处理直到接种后的第10天才出现峰值,与F₂处理相比,峰值的大小也有所差异,其峰值F₂处理是F₃处理的1.57倍,是F₁处理的2.81倍,总体趋势上看,F₀处理在接种TMV后,POD酶活性变化不大。

2.5 CAT活性变化 从图5可以看出,不同供Fe水平的烟草在感染TMV后,CAT活性变化明显,接种后2~4d呈明显的上升趋势,其中F₂处理在接种后第4天出现明显的峰值,是其他处理的1.81倍;F₁处理到接种后的第10天也出现了明显的峰值,比F₂处理峰值出现的时间要晚。总体趋势上看,F₀处理酶活性变化不大。

3 小结

采用水培的方法,对不同供Fe水平烟草感染TMV后植株防御酶,如SOD、PPO、PAL、POD、CAT的活性变化规律进行研究,结果表明:F₀处理后的烟草,表现只有在水培情况下才有的轻微白化缺铁症状,并且其受TMV侵染后第6天,在烟

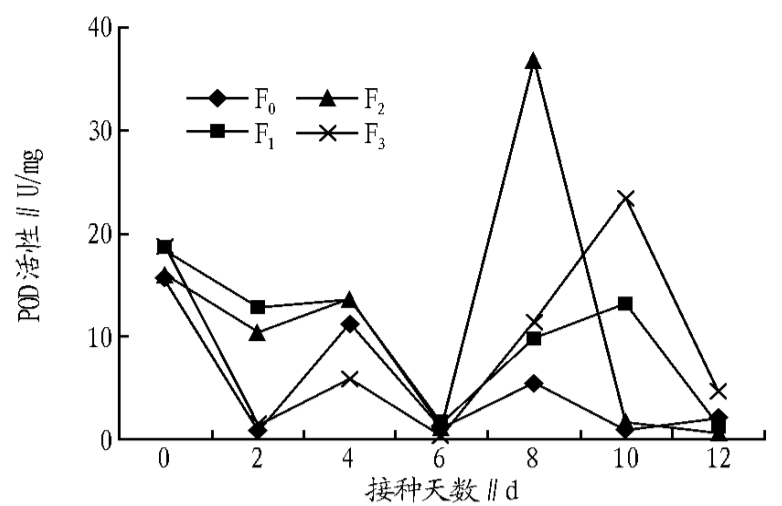


图4 不同供Fe水平下烟草感染TMV后的POD活性变化

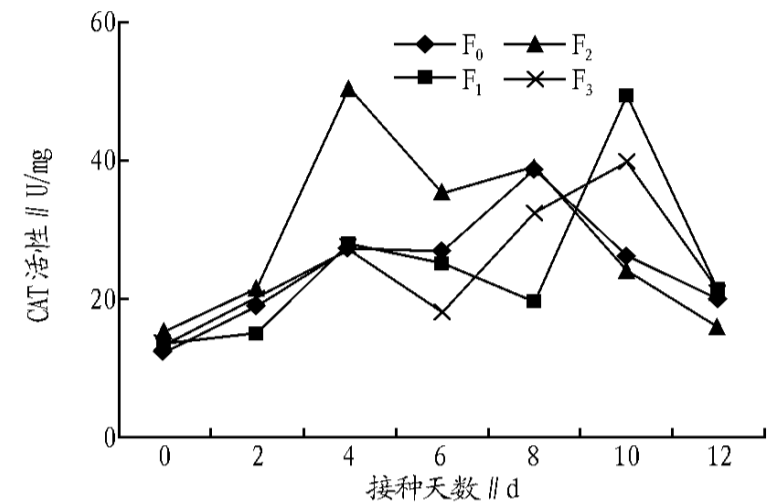


图5 不同供Fe水平下烟草感染TMV后的CAT活性变化

株叶片已经表现出较明显的明脉症状,而其他处理则显症较迟,直到第8~9天时才表现感病症状。各处理在接种TMV后均会使超氧阴离子产生速率加快;但F₂(1.68 g/L)处理在接种TMV后的第4和第8天会出现防御酶活性的高峰值,烟株症状表现也较轻。由此可见,SOD、PPO、PAL、POD、CAT的活性变化规律与烟株缓解TMV对烟草造成的伤害存在着一定的相关性。以上研究可以结合生产实践在烟株苗期进行合理施肥,利用营养的改善使植物病毒危害减轻,以达到缓解症状,控制烟草病毒病的目的。

参考文献

- [1] 吴元华,刘永中,文才艺,等.过氧化物酶活性与烟草对马铃薯Y病毒抗性关系的研究[J].中国烟草学报,2000,6(3):23-26.
- [2] 杜朝昆,李忠光,龚明.水杨酸诱导的玉米幼苗适应高温和低温胁迫的能力与抗氧化酶系统的关系[J].植物生理学通讯,2005,41(1):19-22.
- [3] 杜昱光,白雪芳,赵小明,等.壳寡糖对烟草防御酶活性及同工酶酶谱的影响[J].中国生物防治,2002,18(2):83-86.
- [4] 郝建军,刘延吉.植物生理学实验技术[M].沈阳:辽宁科学技术出版社,1994:146-150.
- [5] 董汉松.超氧化物歧化酶及其与植物的抗病性:植物诱导抗性原理和研究[M].北京:科学出版社,1995:53-57.
- [6] 李海莲,侯喜林,易金鑫,等.黄萎病菌粗毒素接种对感病和抗病茄子品种的一些酶类活性和光合特性的影响[J].植物生理学通讯,2005,41(4):453-456.
- [7] 吴元华,文才艺,李浩戈,等.烟草感染马铃薯Y病毒脉坏死株系后六种酶活性变化的研究[J].中国烟草学报,1999,5(2):30-33.
- [8] TSANG WT, BOWLER C, HEROUART D. Differential regulation of superoxide dismutases in plants exposed to environmental stress[J]. The Plant Cell, 1991, 3:783-792.
- [9] HELMUT K, THEOS, CHRISTINA H. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals[J]. Annu Rev Phytopathol, 1994, 32:439-459.
- [10] HONDA A, TAKAHASHI H, TOGURI T. Activation of defense-related gene expression and systemic acquired resistance in cucumber mosaic virus-infected tobacco plants expressing the mammalian 2'-5' diguanylate system[J]. Arch Virology, 2003, 148:1017-1026.
- [11] SIIICHER L, MAUCH MAN B, MEIRAUX J P. Systemic acquired resistance [J]. Annu Rev Phytopathol, 1997, 35:235-270.