

## 霜疫霉菌侵染对荔枝氧化作用的影响

屈红霞, 孙谷畴, 蒋跃明

(中国科学院华南植物研究所, 广东广州 510650)

**摘要:** 淮枝、桂味和糯米糍 3 种荔枝经接种霜疫霉菌后, 果皮超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性下降; 而过氧化氢( $H_2O_2$ )含量升高, 超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ )产生速率增加, 丙二醛(MDA)积累增多, 与果实感病指数增加相一致, 表明霜疫霉菌侵染加速荔枝氧化作用的进程。实验还表明不同荔枝品种对霜疫霉菌抵抗力与其自由基清除能力有关。

**关键词:** 荔枝; 霜疫霉菌; 氧化作用

**中图分类号:** S667.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2001)04-0358-04

## Response in oxidation of postharvest litchi fruit treated with *Peronophythora litchii*

QU Hong-xia, SUN Gu-chou, JIANG Yue-ming

(South China Institute of Botany, Academia Sinica, Guangzhou 510650, China)

**Abstract:** Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.), cvs. Nuomici, Huaizhi and Guiwei, which have been inoculated with *Peronophythora litchii* were investigated in relation to response in oxidation. Content of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) increased and productive rate of superoxide radical anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) enhanced, while the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) decreased and more malondialdehyde (MDA) accumulated in the infected fruit peel, which was associated with the increase of disease index of the fruit. It was suggested that the infection of *Peronophythora litchii* promoted the oxidation in litchi fruit, and that fruit of various cultivars susceptibilities to *Peronophythora litchii* were influenced by active oxygen, such as  $H_2O_2$  and  $O_2^{\cdot-}$ .

**Key words:** Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.); *Peronophythora litchii* Chen; oxidation

植物对病原物的防御反应表现为产生大量的活性氧(Active oxygen species, AOS)<sup>[1]</sup>, 但过量的活性氧会导致膜脂过氧化及膜透性的增大<sup>[2]</sup>。果实的抗病性与植物细胞清除活性氧的能力有关<sup>[3]</sup>。

荔枝是我国南方一种名优水果。霜疫霉病(Litchi downy blight)是采后荔枝最为严重的病害之一<sup>[4]</sup>, 但至今尚未见到荔枝霜疫霉病发病机制的相关报道。

由于荔枝霜疫霉菌较耐低温, 而冷链又是荔枝

最主要的贮运保鲜手段, 因此研究霜疫霉病发生机制无论在理论还是实践上都具有重要意义。本文通过探讨病原菌侵入荔枝后果皮氧化作用及其相关变化, 旨在阐明荔枝霜疫霉病的发病机制, 从而为生产实践防治荔枝霜疫霉病提供理论依据。

### 1 材料与方法

供试荔枝品种为“淮枝”、“桂味”和“糯米糍”,

收稿日期: 2000-09-13

作者简介: 屈红霞(1972-), 女, 河南栾川人, 博士, 主要从事园艺产品采后病理生理及贮藏保鲜研究工作。

采自广州从化。于采收当天选择成熟度为 9 成,颜色、大小一致,而且无病虫害和无机械伤的果实作为试验材料。经去除果梗后,先用无菌水冲洗,然后用 70% 酒精消毒 5 s,最后用无菌水清洗 2 次。三种果实各分成 2 组:一组不做任何处理(对照);另一组用在 30 °C PDA 培养基上培养 3 d 的荔枝霜疫霉菌孢子悬浮液(浓度约  $10^6$  个孢子/L)浸泡接种。两组

果实分别以塑料饭盒包装,每盒 15 个果,25 °C 保湿培养,每 2 d 取 1 次样进行以下测定。试验做 3 个重复。

### 1.1 $H_2O_2$ 提取和测定

按照 Patterson 等<sup>[5]</sup>方法进行。

### 1.2 $O_2^-$ 提取和测定

参照王爱国和罗光华<sup>[6]</sup>的方法。

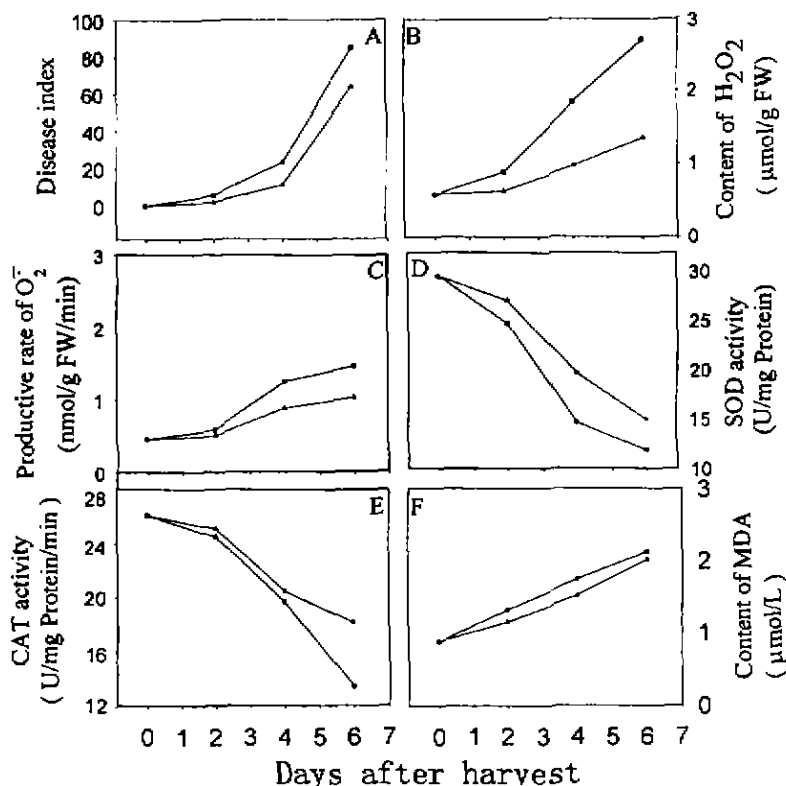


图 1 霜疫霉菌侵入后“淮枝”荔枝果实感病指数,果皮  $O_2^-$  产生速率、 $H_2O_2$  和 MDA 含量以及 CAT 和 SOD 活性的变化

Fig. 1 Changes of disease index, productive rate of  $O_2^-$ , content of  $H_2O_2$  and MDA, and activities of CAT and SOD in fruit peel of litchi (cv. Huaizhi) inoculated with *Peronophythora litchii*

图中▲=对照,●=处理。▲=Control,●=Treated in the fig.

### 1.3 SOD 提取及酶活性测定

取 2.5 g 果皮,用 0.05 mol/L 磷酸缓冲液 (pH7.8) 匀浆提取,19 000 g 离心 20 min,收集上清液为酶提取液,SOD 活性按 Popham 和 Novacky<sup>[7]</sup> 方法测定,以氯化硝基四氮唑蓝(NBT)的光化学还原被抑制 50% 所需的量为一个酶活性单位。

### 1.4 CAT 提取及酶活性测定

提取步骤同 SOD。取 0.05 mL 上述酶提取液,加入 0.1 mL 含 5 mmol/L  $H_2O_2$  的磷酸缓冲液 (pH7:0),反应 1 min 后加入 2 mL 2 mol/L  $H_2SO_4$

终止反应。用 20%  $TiCl_4$  显色,经 1 500 g 离心 5 min 后,取上清液测定 CAT 活性。CAT 活性定义为:在上述条件下以每 min 消耗 1  $\mu\text{mol}$   $H_2O_2$  的酶量作为一个酶活性单位。

### 1.5 MDA 提取及测定

提取同 SOD。含量测定按照 Heath 和 Packer<sup>[8]</sup> 方法进行。

### 1.6 感病指数测定

根据果实表面病斑大小,将病害严重程度分为五级:0=无;1=轻微;2=<1/4;3=1/4-1/2;4=>1/2。然后按调查果实的数目及相对应的病症级

别,依方中达方法<sup>[9]</sup>计算感病指数。

## 2 结果与讨论

### 2.1 感病指数变化

随贮藏时间的延长,荔枝果实发病率逐渐提高,感病指数增加。而霜疫霉菌侵染则明显提高了霜疫霉病的感病指数(图 1A)。

### 2.2 $H_2O_2$ 含量和 $O_2^-$ 产生速率的变化

$H_2O_2$  含量和  $O_2^-$  产生速率随着贮藏时间的延长有所增加,但感染霜疫霉菌以后,二者增加较快

(图 1B、1C),说明霜疫霉菌侵染加速了荔枝氧化作用的发生。

### 2.3 CAT 和 SOD 活性的变化

荔枝果实采后果皮 CAT 和 SOD 活性明显下降。接种霜疫霉菌后,其活性下降更为明显(图 1D、1E)。CAT 和 SOD 活性下降同  $H_2O_2$  含量增加和  $O_2^-$  产生速率的上升相一致。

### 2.4 MDA 含量变化

荔枝果皮 MDA 随贮藏时间延长积累增加,不过果实感染霜疫霉菌后,果皮 MDA 含量增加不明

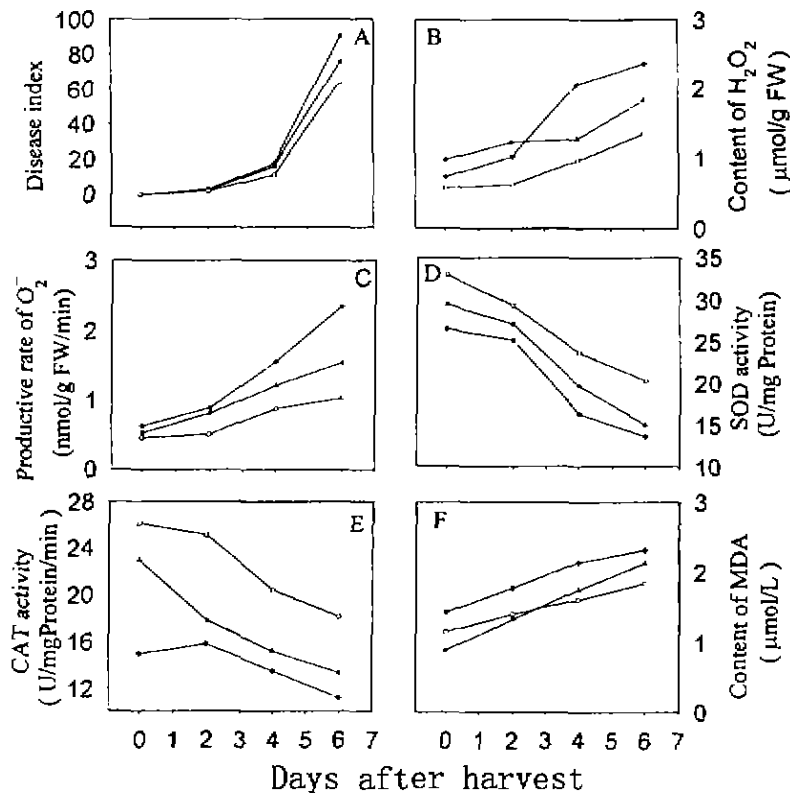


图 2 采后荔枝果实感病指数,果皮  $O_2^-$  产生速率,  $H_2O_2$  和 MDA 含量以及 CAT 和 SOD 活性的变化

Fig. 2 Changes of disease index, productive rate of  $O_2^-$ , content of  $H_2O_2$  and MDA, and activities of

CAT and SOD in fruit peel of litchi inoculated with *Peronophythora litchii*

图中◆=糯米糍,▲=桂味,◻=淮枝。◆=Nuomizhi,▲=Gutwei,◻=Huaazhi in the fig.

显(图 1F)。

### 2.5 不同荔枝品种对霜疫霉菌敏感性与果皮抗氧化作用之间的关系

在糯米糍、桂味和淮枝 3 个品种中,以糯米糍果皮 SOD 和 CAT 活性下降(图 2B、2C)、 $H_2O_2$  含量和  $O_2^-$  产生速率增加(图 2D、2E)、及 MDA 积累增多(图 2F)最为明显,这与该品种感病指数增加最快(图 2A)以及生产上糯米糍最不耐贮藏相一致<sup>[10]</sup>。

另外,还发现这 3 个品种感染霜疫霉菌后,感病指数迅速增加,但三者差异不大(数据未列出),表明采后荔枝果实易遭受霜疫霉菌的侵染。

病原和寄主相互作用过程中活性氧产生可能是植物细胞识别病原物而激发的信号传导途径的一部分<sup>[11]</sup>,而  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  的增加可能是荔枝在感病的条件下,自由基清除系统能力下降的结果。这说明病菌侵入是导致荔枝氧化还原代谢失调的重要

原因。

不同荔枝品种抗氧化能力有明显的差异。例如淮枝比糯米糍抗病,这除了与淮枝果皮具有较高的抗氧化酶即 SOD 和 CAT 活性以外,可能还与果实较高的抗坏血酸含量及较高的酸度有关<sup>[10]</sup>。另外,不同霜疫霉菌接种方式结果也不相同。虽然用砂纸打磨果皮再以霜疫霉菌孢子悬浮液浸泡,霜疫霉菌生长较快;但是,由于荔枝果皮的特殊构造(即外果皮细胞及栅栏组织细胞向外突起形成半球球形)<sup>[12]</sup>,果实极易受到损伤,因此这种接种方式不适合用做荔枝病害发病机理研究。而浸泡接种并保湿培养对荔枝果皮造成的伤害较轻,是较为理想的接种方式。

#### 参考文献:

- [1] Lu H, Higgins V J. Measurement of active oxygen species generated in planta in response to elicitor AVR9 of *Cladosporium fulvum* [J]. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.*, 1998, **52**(1): 35—51.
- [2] Shewfelt R L, Del Rosario B A. The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables [J]. *Hort Sci.*, 2000, **35**(4): 575—579.
- [3] Mulpuri R V, Watkins C B, Brown S K, et al. Active oxygen species metabolism in 'White Angel' vs. 'Rome Beauty' apple selection resistant and susceptible to superficial scald [J]. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1998, **123**(2): 299—304.
- [4] 戚佩坤,潘雪萍,刘任.荔枝霜疫病的研究:病原菌的鉴定及其侵染过程[J].植物病理学报,1984, **14**(2): 113—119.
- [5] Patterson B D, Mackal E A, Ferguson I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV) [J]. *Anal. Biochem.*, 1964, **139**: 487—492.
- [6] 王爱国,罗光华.植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系[J].植物生理学通讯,1990, **6**: 55—57.
- [7] Popham P L, Novacky A. Use of dimethyl sulfoxide to detect hydroxyl radical during bacteria-induced hypersensitive reaction [J]. *Plant. Physiol.*, 1991, **96**: 1157—1160.
- [8] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation [J]. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1968, **125**: 189—198.
- [9] 方中达.植病研究方法[M].北京:中国农业出版社,1998, 11.
- [10] 广东省荔枝科技协作组.新编荔枝生产技术问答[M].广州:广东省科技出版社,1998, 57.
- [11] 王金生.分子植物病理学[M].北京:中国农业出版社,1999, 57.
- [12] 潘洵操,谢宝贵.荔枝果皮的扫描电镜观察[J].园艺学报,1996, **23**(3): 227—230.