

苹果树体氧化还原活性与苹果粗皮病的关系

徐圣友^{1,2} 张福锁¹ 王贺¹ 姚青³ 于忠范⁴ 姜学龄⁴

(1. 中国农业大学 资源与环境学院,北京 100094; 2. 黄山学院 资源与环境系,安徽 黄山 245000;
3. 华南农业大学 园艺学院,广州 510642; 4. 烟台市农科院 土壤肥料研究所,山东 烟台 265500)

摘要 为探讨苹果粗皮病 (IBN) 致病机理,本试验以易感品种富士和抗性品种乔娜金,通过室内盆栽和田间调查,研究了粗皮病与树体氧化还原活性的关系。主要结果表明:大田条件下,严重感病的富士叶片中的 POD 活性明显高于抗病品种乔娜金和轻微感病的富士;叶片和枝条中的 VC 含量与 POD 相反。盆栽条件下,随着土壤锰水平的增加,叶片中的 POD 活性明显增加;枝条中的 VC 含量明显降低;在不同土壤锰水平下,富士叶片的 POD 活性和根系还原力都高于乔娜金,差异甚至达到显著水平;在施锰量为 0 和 33 mg·kg⁻¹时,乔娜金叶片的细胞膜透性高于富士,而在施锰量达到 330 mg·kg⁻¹时,富士叶片的膜透性反而低于乔娜金;富士根系的泌酸能力显著大于乔娜金。可以认为,苹果粗皮病的发生与树体内氧化还原活性相关,氧化还原体系可能包括 POD、VC、根系还原力等,抗性品种的还原能力低于易感品种,而氧化能力较高,使得进入树体内的锰被钝化 (Mn⁴⁺),减轻粗皮病的发生。本试验还表明叶片 POD 活性和 VC 含量可以作为筛选粗皮病抗性品种的生理指标。

关键词 苹果;粗皮病;品种;氧化还原活性

中图分类号 S 661

文章编号 1007-4333(2003)03-0011-04

文献标识码 A

Relationship between oxidation/ reduction activity and internal bark necrosis of apple tree

Xu Shengyou^{1,2}, Zhang Fusuo¹, Wang He¹, Yao Qing³, Yu Zhongfan⁴, Jiang Xueling⁴

(1. College of Resources and Environmental Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2 Department of Resource and Environment, Huangshan College, Anhui Huangshan 245000, China;

3. College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

4. Institute of Soil and Fertilizer, Yantai Academy of Agricultural Science, Shandong Yantai 265500, China)

Abstract In order to prevent the internal bark necrosis (IBN) of apple tree, the relationship between IBN and oxidation/ reduction activity was studied through pot culture and field investigation, with an IBN - sensitive cultivar Fuji and an IBN - resistant cultivar Jonagold as experimental plants. The results showed that POD activity in leaves of severely infected Fuji was higher than those in leaves of Jonagold and slightly infected Fuji, while VC content in leaves or branches showed a reverse trend, in the field condition. In pot culture, POD activity in leaves increased while VC content in branches decreased with the rise of soil Mn level. At different soil Mn level, POD activity in leaves and root reducing capacity of Fuji were higher than those of Jonagold, with a significant difference at some certain soil Mn levels. Cell membrane permeability of leaves was higher in Fuji than in Jonagold at soil Mn application of 0 and 33 mg·kg⁻¹, while it was lower in Fuji than in Jonagold at soil application of 330 mg·kg⁻¹. H⁺ extruding capacity was significantly higher in Fuji than in Jonagold. It is suggested that the incidence of apple tree IBN is related to oxidation/ reduction activity, and that oxidation/ reduction system may involve POD, VC, and root reducing capacity. Due to the lower reducing capacity and higher oxidizing capacity in resistant cultivar than in sensitive cultivar, Mn absorbed in resistant cultivar may be inactivated as Mn⁴⁺, consequently relieving IBN. It is also implied that POD activity and VC content in leaves may be acted as physiological indexes for screening IBN - resistant cultivar.

Key words apple trees; IBN; cultivar; oxidation/ reduction activity

收稿日期: 2003-01-16

基金项目: 国家重点基础研究发展研究资助项目 (G1999011707)

作者简介: 徐圣友, 硕士研究生; 张福锁, 教授, 博士生导师, 联系作者, 主要从事植物营养生理与遗传研究

上世纪三四十年代亚洲、美洲均有苹果粗皮病发生,美国称为“内部坏死病”(internal bark necrosis, IBN)^[1]。近年我国山东、辽宁、河北等苹果重要产区的富士、新红星等名优品种均有粗皮病严重发生^[2,3]。烟台市苹果栽培历史悠久,目前种植面积约13.5万hm²,但发生粗皮病的果园达2.7万hm²。苹果树染上此病即可终身带病,且逐年加重直至树体死亡,果园全部被毁^[4],因此已成为苹果生产的威胁性病害。

国内外对苹果粗皮病的发病原因已排除了细菌和病毒,认定是由锰毒引起的生理病害,证实了不同品种对粗皮病的敏感程度存在差异^[4,5]。我们曾通过田间和盆栽研究证实了粗皮病有品种差异,明确了韧皮部病斑部位为黑色的氧化锰沉淀,推测不同品种苹果可能在氧化还原活性上也存在差异。但目前有关苹果树体内氧化还原活性的品种差异与粗皮病发生的关系报道较少^[4,6]。本文在前期工作的基础上,报告了锰毒害的早期生理特征,细胞膜透性、根系活力以及过氧化物酶活性的变化,探讨了不同品种苹果树体内氧化还原活性变化对苹果IBN发生的影响,以及锰毒造成的坏死斑与体内的氧化还原活性的关系,旨在为苹果粗皮病的防治提供理论和实践依据。

1 材料与方法

选用二年生粗皮病敏感品种(富士)和抗性品种(乔娜金)的嫁接苹果苗,2000-03—11在中国农业大

学植物营养系温室进行盆栽试验。陶瓷盆直径25cm,深40cm,装土8kg。供试土壤为棕壤土,pH(CaCl₂)6.5、有效态锰(DTPA-Mn)2.52mg。设0、33和330mg 3个锰水平,将MnSO₄施入土壤,重复4次。每盆栽苹果苗1棵。此外,分别在2000年的6月和9月进行田间取样,地点设在烟台市栖霞镇。田间采样的材料为当地5年生以上的富士和乔娜金。富士按照发病程度分为病重与病轻2个等级。沿树冠外周采取叶样,选取代表性的一年、二年及三年枝条,连叶一同剪下,放入手提冰盒,带回实验室测定。

过氧化物酶(POD)的测定采用愈创木酚法^[7]。抗坏血酸和叶片膜透性的测定,以相对膜电导率表示细胞膜透性^[8]。根系还原力采用2,2'-联吡啶方法^[9];泌酸能力的测定参照Wei等方法^[10]。

2 结果与分析

2.1 过氧化物酶活性与苹果粗皮病发生的关系

本研究发现,病重富士叶片内POD活性明显高于病轻富士和抗性品种乔娜金(表1)。室内盆栽显示(表2),330mg锰处理的富士苹果POD活性高于33和0mg的锰处理,乔娜金叶片POD活性变化差异较小。抗性品种乔娜金在3个锰水平处理下的POD活性均明显低于敏感品种,尤其是在330mg处理下降低显著,表明锰引起的POD活性差异可能是抗性品种和敏感品种受害程度不同的主要原因。

表1 大田条件下树体氧化还原活性的品种间差异

Table 1 Differences of oxidation/reduction activities in two cultivars in field condition

品 种	叶片 POD 活性 470/(min g ⁻¹)	VC 含量/(mg kg ⁻¹)		
		叶片	一年生枝条	二年生枝条
富士(重病株)	0.9571 a	338.4 a	375.5 a	338.5 a
富士(轻病株)	0.5743 a	490.9 b	435.0 b	511.4 b
乔娜金(抗病品种)	0.5547 b	548.1 a	561.3 b	577.2 b

注:表中同一列内带有不同字母的数据差异显著(P=0.05)。下同。

2.2 抗坏血酸与苹果粗皮病发生的关系

生长在同一地点,富士叶片和枝条内的VC含量均低于乔娜金,病轻富士体内VC含量高于病重富士,且叶片和二年生枝条内VC含量差异显著;不同部位的树皮内VC含量不同,总的趋势是二年生树皮内的VC含量高于一年生的,但病重富士树皮

内VC含量是一年生高于二年生(表1)。

同样锰处理下,富士树皮内的VC含量低于乔娜金(表2)。随着锰浓度的增加,富士体内的VC含量逐渐降低,乔娜金的VC含量变化较小,可见VC含量变化与苹果IBN有关,呈现VC含量高感病率低就低的趋势。

表 2 盆栽条件下不同施锰量对苹果树体氧化还原活性的影响

Table 2 Influence of Mn application rate on oxidation/ reduction activities in two cultivars in pot culture

施锰量/ (mg kg ⁻¹)	叶片 POD 活性 470/(min g ⁻¹)		一年生枝条 VC 含量/(mg kg ⁻¹)		二年生枝条 VC 含量/(mg kg ⁻¹)	
	富士	乔娜金	富士	乔娜金	富士	乔娜金
0	0.55 a	0.41 a	406.0 a	437.0 a	446.0 a	405.0 a
33	0.75 a	0.62 b	307.0 a	337.1 a	346.2 ab	365.8 b
330	1.35 a	0.68 b	220.8 a	215.1 a	284.9 b	305.0 b

2.3 叶片膜透性对苹果粗皮病发生的影响

随着供锰量的增加,叶片细胞膜透性明显增大,330 mg kg⁻¹ 锰处理的富士叶片细胞膜透性明显高于 0、33mg kg⁻¹ 处理叶片(表 3)。与敏感品种富士相比,抗性品种乔娜金的叶片细胞膜透性变化不大,且低于敏感品种的细胞膜透性。说明锰中毒时,植物细胞不能完成正常的生理功能。敏感品种由于细胞透性增强而引起锰离子的大量外渗,在膜外侧形成氧化锰沉淀,结果表现为苹果叶片的褐色斑和树皮粗皮病的出现。

表 3 盆栽条件下不同施锰量对叶片细胞膜透性和根系还原力的影响

Table 3 Influence of Mn application rate on cell membrane permeability of leaves and root reducing capacity in two cultivars in pot culture

施锰量/ (mg kg ⁻¹)	叶片细胞相对膜透性/ %		根系还原力/ (μmol g ⁻¹ 2h ⁻¹ ,FW)	
	富士	乔娜金	富士	乔娜金
0	8.82 ±2.16	10.13 ±3.56	49.69 ±9.5	25.09 ±5.2
33	11.58 ±1.22	13.87 ±0.48	59.77 ±9.1	30.94 ±9.6
330	18.00 ±3.51	13.68 ±5.48	85.21 ±12.8	36.64 ±8.4

2.4 根系还原力对苹果粗皮病发生的影响

根系还原力、泌酸能力是根系活力关键指标,根系活力越强,根系对营养元素的吸收能力也越强。不同 MnSO₄ 处理下富士根系还原力的变化较大,高锰处理(330 mg kg⁻¹)的根系还原力大于低锰处理(33 mg kg⁻¹)和对照(表 3)。抗性品种乔娜金的根系还原力变化较小,但明显低于敏感品种富士的根系还原力。富士根系活力强,对 Mn²⁺ 吸收能力也强,导致植物体内锰过量,在敏感品种苹果上表现为 IBN 的发生。

泌酸能力是根系在单位时间内分泌的 H⁺ 量,可反应根系活力和吸收离子的能力。同是 330 mg kg⁻¹ 锰处理的富士和乔娜金,富士的泌酸能力是 1.31C(H)/(mmol h⁻¹,FW),而乔娜金的泌酸能力只有 0.19 C(H)/(mmol h⁻¹,FW)。富士根系分泌的

H⁺ 量大于抗性品种,富士根际周围的 pH 降低,使得原来难溶性的锰化合物变为可溶性锰离子,其结果是造成植物根系对锰离子的过量吸收而引起锰毒害。相反,抗性品种泌酸能力小于敏感品种,微环境中的可溶性锰离子就少,根系吸收的也就少。

3 讨论

3.1 氧化还原活性变化对苹果粗皮病发生的影响

本研究表明,锰毒害所致的苹果粗皮病发生机制与其体内的氧化还原活性关系密切。本研究所选的氧化性指标 POD 与还原性指标 VC 可以作为锰毒的诊断指标,VC 含量与 POD 活性的变化体现了苹果树对锰毒害的一种应激生理反应,POD 活性越高氧化性越强,VC 含量越高还原性越强。Kenten 提出,过氧化物酶能通过酚类的介导使植物体内过多的二价锰转化为氧化锰沉淀^[11],表 2 显示在供应过量锰时植物体内的 POD 活性增强,锰敏感品种富士叶片中 POD 活性显著高于抗性品种乔娜金,这与 Kenten 的观点相符。张福锁等^[12]认为在锰中毒情况下,氧自由基的形成可能是叶片褪色失绿和组织坏死的主要原因。陈学思等^[13]也发现在氧化胁迫情况下,生物膜易受到伤害,对物质进出细胞的选择性降低,膜透性增大。本研究结果显示,锰毒症出现之前,叶片的 POD 活性显著增加,这种氧化作用形成的氧自由基对细胞膜产生过氧化分解破坏,因此叶片细胞的膜透性明显增大,导致叶片褪色失绿和组织坏死,与上述观点一致。

抗坏血酸 VC 有抗氧化抗衰老作用,其含量决定了苹果体内防御系统的优劣。本研究发现,抗性品种乔娜金树皮和叶片中的 VC 含量均高于敏感品种富士(表 1、2),这可能与 VC 能将 MnO₂ 还原为 Mn²⁺,保护植物免遭氧化胁迫有关。因此保持植物细胞处于还原状态是防止锰毒发生,增强植物组织耐锰能力的有效途径。这与 Horst、Nicholas 的结果一致^[14、15]。

3.2 根系活力变化对苹果粗皮病发生的影响

根系活力可反映根系对锰的活化吸收能力。还原力强的根系对 Mn^{2+} 吸收能力也强(表3),但吸收过多即可造成对植物组织细胞的毒害,在富士苹果上表现为 IBN 的发生。乔娜金根系还原力较富士弱, Mn^{2+} 吸收能力弱,树体内锰积累低抗性强。Wei 等认为植物体内 Mn^{2+} 、 Ca^{2+} 可激活 H^+ -ATP 酶活性,促进 H^+ 的分泌^[16]。本研究发现富士根系的泌酸能力强,根际微环境 pH 低于乔娜金,土壤环境中的有效态锰增加,根系对锰的吸收也随之增强,相当于敏感品种苹果能自我催化。同时也说明植物对锰的活化吸收能力上的差异是导致苹果粗皮病品种间差异的主要原因。我们前期的盆栽试验显示相同锰浓度处理时,苹果枝条锰含量存在品种间的差异^[17]。总之,如何降低细胞内环境的氧化性,提高其还原性,减少 Mn^{2+} 介导的氧化过程是抗锰毒的关键,也是今后防治苹果粗皮病的重要理论依据之一。

参 考 文 献

- [1] Domoto A A, Tompson A. Effect of interactions of calcium, potassium and manganese supply on 'Delicious' apple trees as related to internal bark necrosis [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1976, 101(1): 44~47
- [2] 李国恒,等. 苹果粗皮病发病症状观察 [J]. 北方果树, 1996, (4): 15
- [3] 叶优良,张福锁,等. 苹果粗皮病与锰含量的关系 [J]. 果树科学, 2002, 19(4): 219~222
- [4] 姜学铃,于忠范. 胶东苹果粗皮病发病原因和防治对策 [J]. 落叶果树, 1998, (1): 36~38
- [5] Domoto P A, Tompson A. Effect of interactions of calcium, potassium and manganese supply on 'Delicious' apple trees as related to internal bark necrosis [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1976, 101(1): 44~47
- [6] David, Ferree. Performance of eight apomictic selections as apple rootstocks [J]. Hortscience, 1998, 33(4): 641~643
- [7] 张志良. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1990
- [8] 中科院上海植物生理研究所主编. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1999
- [9] Bienfait H F, Vander Beiel W, Mesland - Mul N T. Free space iron pools in roots [J]. Generation and Obilization Plant Physiol, 1985, (78): 596~600
- [10] Wei L C, Loeppert R H, Ocumpangh W R. Acidification in subterranean clover [J]. Physiologia Plantarum, 103:443~450
- [11] Kenten R H, Mann P J G. The oxidaton of manganese by peroxidase systems [J]. Biochem J, 1950, 46:67~73
- [12] 张福锁. 环境胁迫与植物营养 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993
- [13] 陈学思,焦新之. 物质膜氧化还原系统的生理作用 [J]. 生命科学, 1995, 7(4): 24~31
- [14] Horst W J. The physiology of manganese toxicity and tolerance in Vigna unguiculata Walp [J]. J Plant Nutr Soil Sci, 1999, 162:263~274
- [15] Nicholas Smirnov, The function and metabolism of ascorbic acid in plants [J]. J Batany, 1996, (78): 661~669
- [16] Wei L C, Leoppert R H, Characteristic of Fe - deficiency - induced acidification in subterranean clover [J]. Physiologia Plantarum, 1998, (103): 443~450
- [17] 徐圣友,等. 对锰害敏感性不同的两个苹果品种枝条中锰的积累与分布 [J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 19~22