

## 水杨酸处理对采后绿熟芒果炭疽病抗病性的诱导

曾凯芳<sup>1,2</sup> 姜微波<sup>1</sup>

(1. 中国农业大学 食品科学与营养工程学院,北京 100083; 2. 西南农业大学 食品科学学院,重庆 400716)

**摘要** 绿熟芒果(*Mangifera indica* L. cv. Matisu)经水杨酸(SA)处理后,用炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)孢子悬浮液( $1 \times 10^4$  cfu/mL)对其进行损伤接种,贮存于13~85%~95%相对湿度条件下。结果表明:SA处理的芒果接种后第4天果实发病率仅为对照的62.5%,第12和16天果实病斑直径比对照分别降低了39.9%和35.3%,差异达到显著水平( $P < 0.05$ )。贮藏过程中SA处理后芒果果皮中的过氧化物酶、苯丙氨酸解氨酶、超氧化物歧化酶的活性以及总酚和过氧化氢含量明显高于对照,其中苯丙氨酸解氨酶活性在接种后第4天达到对照的3.4倍。SA处理能显著抑制果实病斑扩展,有效降低果实的接种发病率,提高绿熟芒果对炭疽病的抗病性。

**关键词** 水杨酸;绿熟芒果;炭疽病菌;抗病性

中图分类号 S 609.3; S 667.7

文章编号 1007-4333(2005)02-0036-05

文献标识码 A

### Induced resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in mango fruit by postharvest treatment with salicylic acid

Zeng Kaifang<sup>1,2</sup>, Jiang Weibo<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. College of Food Science, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China)

**Abstract** Green mature mangoes (*Mangifera indica* L. cv. Matisu) were treated with salicylic acid (SA) solution or water as control, then inoculated with anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) spore suspension ( $1 \times 10^4$  cfu/mL) and stored at an environment of 13 and 85% - 95% RH. The results indicated that the disease incidence of the fruits treated with SA was 62.5% of that in control in the fourth day after the fruit inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides*, and the lesion diameter on the fruits treated with SA was 39.9% or 35.3% lower than that on control fruits in the twelfth or sixteenth day after the inoculation, which implied that the disease incidence and lesion diameter on the inoculated fruits were obviously reduced after treatment with SA. The activities of peroxidase, phenylalanine-ammonialyase, superoxide dismutase and contents of phenolic compounds and hydrogen peroxide in SA treated fruit peel were remarkably higher than those in control. These results indicated that treatment with SA could enhance resistance of mango fruits to anthracnose disease.

**Key words** salicylic acid; mango (*Mangifera indica* L.); anthracnose; disease resistance

芒果炭疽病是芒果的主要病害之一,在世界各芒果产区广泛发生<sup>[1]</sup>,其致病菌为黑盘孢科胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides* Penz)。该菌以分生孢子侵染植物的叶、梢、花穗、果,导致梢枯、叶斑、落叶和落花、落果。炭疽病菌于芒果采前在田间潜伏侵染芒果,采后很难控制,因而易导致贮运期间

果实腐烂,缩短芒果的商品货架期<sup>[2]</sup>。目前控制芒果炭疽病的方法主要是低温贮藏、气调贮藏和热处理、化学杀菌剂处理等<sup>[3]</sup>,其中化学杀菌剂处理对于芒果炭疽病的控制效果最好;然而化学杀菌剂的大量使用不仅会产生环境污染、农药残留等问题,也导致了抗药菌株的产生,使其使用受到越来越多的

收稿日期:2004-11-05

基金项目:国家863计划资助项目(2002AA2450281)

作者简介:曾凯芳,博士研究生,讲师,主要从事果蔬采后生物技术研究;姜微波,教授,博士生导师,通讯作者,主要从事果蔬采后生理与贮藏保鲜技术的研究,E-mail:jwb@cau.edu.cn

限制。因而需要寻求新的安全高效的防腐技术,以逐步取代和减少化学杀菌剂在果蔬防腐上的使用。

国内外利用抗病性诱导技术控制果蔬病害的研究已取得良好进展,许多研究表明外源水杨酸(SA)处理能增强植物对病原菌的抗性。SA可能诱导植物组织中一些防卫基因的表达,促进几丁质酶、-1,3葡聚糖酶、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)等的合成,这些酶能够使植物的抗病能力增强<sup>[4]</sup>。还有研究表明,外源SA能够诱导植物组织积累过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>),其在植物抗病反应中也有非常重要的作用<sup>[5]</sup>。

目前对果蔬采后水杨酸处理作用的研究报道较少,为此,笔者通过实验研究了SA处理对采后绿熟芒果果实抗炭疽病作用的影响,并通过分析芒果果皮PPO、POD、PAL和超氧化物歧化酶(SOD)活性以及总酚、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的变化探讨了SA提高绿熟芒果采后抗病性的机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

绿熟芒果(*Mangifera indica* L. cv. Matisu)购于北京水果批发市场,硬度85 N,可溶性固形物质量分数9.0%。剔除病、伤果,选择大小、果色均匀,成熟度一致的果实进行处理。

炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)分离自腐烂芒果病健交界处,PDA(potato dextrose agar)培养,4℃保存待用。

### 1.2 SA处理与损伤接种

将芒果果实在负压状态下(0.08 MPa)浸入1 mmol/L的SA溶液中(无离子水配成,含0.05%(体积分数,下同)Tween 80)2 min,然后在常压下浸泡10 min,取出自然晾干。以含0.05% Tween 80的无离子水处理的芒果果实为对照,每个处理80个果实。

各处理芒果果实在13℃放置24 h后,进行病菌接种。取在26℃条件下培养14 d的平板炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides* Penz)菌种,用无菌水配成1.0×10<sup>4</sup> cfu/mL的孢子悬浮液。芒果果实表面经70%酒精擦拭消毒后,用灭菌铁钉在果实表面等距离刺孔12个(深4 mm,宽2 mm),在孔中注入15 μL孢子悬浮液。接种果实在13℃,85%~95%相对湿度(RH)条件下存放,每天对果实病斑扩展及发病率情况进行统计和记录。

### 1.3 取 样 方 法

SA和清水处理后的芒果果实在13℃,85%~95%RH条件下贮藏,于第4、8、12、16天取芒果果皮(鲜质量,全文同)进行各项指标测定,每处理每次取样果实数10个,取样组织经液氮冷冻后破碎混合,-20℃保存待用。

### 1.4 PPO、POD、PAL和SOD活性的测定

PAL活性参照Assis<sup>[6]</sup>的方法测定,将每g芒果果皮样本每h生成肉桂酸的物质的量(μmol)定义为1个酶活性单位,U;PPO和POD活性参照Zauberman<sup>[7]</sup>的方法测定,将每g芒果果皮样本每min光密度变化0.01定义为1个酶活性单位,U;SOD活性参照Prochazkova<sup>[8]</sup>的方法测定,将每g芒果果皮样本抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原量的50%定义为1个酶活性单位,U。

### 1.5 总酚和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的测定

分别参照Pirie<sup>[9]</sup>和Prochazkova<sup>[8]</sup>的方法进行总酚和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量测定。将每g芒果果皮样本在波长280 nm处的光密度D<sub>280</sub>定义为1个总酚含量单位,U;将每g芒果果皮样本生成的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>物质的量定义为1个H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量单位,U。

### 1.6 数 据 分 析

采用SPSS软件对实验数据进行统计分析。

## 2 结 果 与 分 析

### 2.1 SA处理对果实病斑直径和果实发病率的影响

SA处理明显降低了损伤接种芒果果实的发病率和病斑直径(表1)。接种后第4天SA处理的果实发病率仅为对照的62.5%,第8天二者发病率均达到100%。接种后第4和8天果实病斑直径无显著差异,而在接种后第12和16天,SA处理的果实病斑直径比对照分别降低了39.9%和35.3%,差异达到显著水平(P<0.05)。

### 2.2 SA处理对芒果果皮POD、PPO、PAL活性和总酚含量的影响

芒果果皮POD活性在贮藏期间呈逐渐上升趋势,SA处理使其明显提高(图1(a));PPO活性在贮藏第1~8天缓慢上升,第8~12天迅速上升,然后缓慢下降,SA处理的与对照相比差异不明显(图1(b));PAL活性在第4天达到最高值,为对照的3.4倍,然后变化趋于缓慢,但在整个贮藏过程中均明显高于对照(图1(c));总酚含量在贮藏过程中无明显变化,但SA处理的高于对照(图1(d))。

表1 SA处理对损伤接种后不同时间芒果果实病斑直径和发病率的影响

Table 1 Effect of SA treatment on disease incidence and lesion diameter of anthracnose of mangoes after 4 to 16 days inoculation with *Colletotichum gloeosporioides*

处理	病斑直径/mm				发病率/%	
	第4天	第8天	第12天	第16天	第4天	第8天
SA	3.641 ±0.747 a	4.161 ±0.667 a	5.030 ±0.876 a	13.365 ±1.802 b	55.6 b	100
对照	4.604 ±0.229 a	4.693 ±0.327 a	8.375 ±0.183 b	20.667 ±1.510 a	89.0 a	100

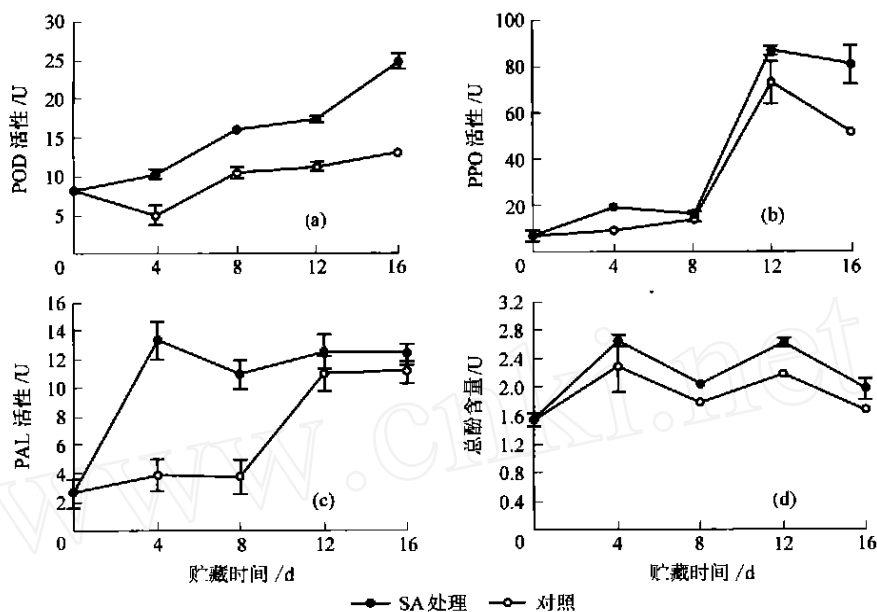
说明:不同字母代表纵向数据之间差异显著( $P < 0.05$ )。

图1 SA处理对芒果果皮 POD、PPO、PAL 活性和总酚含量的影响

Fig. 1 Effect of SA treatment on POD (a), PPO (b), PAL (c) activities and phenolic compounds content (d) in mango fruit peel during storage

### 2.3 SA处理对芒果果皮 SOD 活性和 $H_2O_2$ 含量的影响

图2示出SA处理对芒果果皮SOD活性和 $H_2O_2$ 含量的影响。可以看出,芒果果皮中SOD活性在贮藏前期呈明显下降趋势,贮藏后期下降较缓慢,且SA处理后SOD活性高于对照; $H_2O_2$ 含量在贮藏期间呈上升趋势,且SA处理的高于对照。

## 3 讨论

已有研究表明,SA处理可有效诱导植物系统性获得抗病性反应,保护作物免受病毒、细菌和真菌等病原物的侵害<sup>[4]</sup>;然而以往的实验多以整株植物或植物叶片、种子等作为研究对象,探讨的是植物与病原物的互作关系及用SA控制植物病害的作用机制,很少以园艺产品为试材研究采用SA控制园艺

产品采后病害的可行性以及SA诱导的抗病机制。本研究结果表明,用SA处理采收后的绿熟芒果果实,能够诱导其对炭疽病的抗性,显著降低接种炭疽病菌后期果实的病斑直径。

在植物的抗病性反应中,POD和PAL能够被很多外源激发子如SA诱导,可能在植物的防卫机制中起重要作用<sup>[10,11]</sup>。本研究结果表明,SA处理诱导了芒果果皮组织中PAL、POD活性和酚类物质的合成。在接种炭疽病菌后第4天,SA处理的芒果果皮PAL活性为对照的3.4倍,说明PAL可能在SA诱导的绿熟芒果对炭疽病的抗性反应中起重要作用,通过促进次生代谢产物生成来增强果实的抗病性。Qin<sup>[12]</sup>等的研究表明POD在甜樱桃果实的抗病性反应中不起作用,而本研究结果表明SA处理明显诱导了POD活性。另外,已有的研究表明

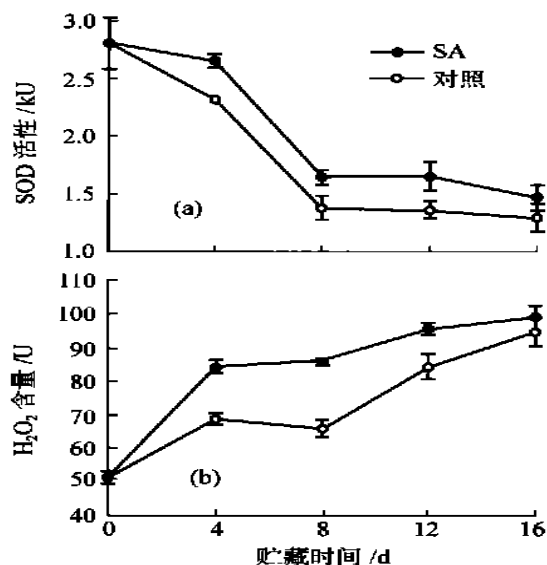


图 2 SA 处理对芒果果皮 SOD 活性和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量的影响

Fig.2 Effect of SA treatment on SOD (a) activity and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content (b) in mango fruit peel during storage

SA 处理能诱导花生叶片和甜樱桃果实的 PPO 活性<sup>[12,13]</sup>, PPO 能够使酚类物质转化成毒性更高的醌类物质<sup>[13]</sup>。本研究结果表明, SA 处理对芒果果皮中 PPO 活性的影响并不显著;而笔者另外的研究(尚未发表)表明, SA 处理能显著提高芒果果肉的 PPO 活性。以上结果说明果实种类不同、部位不同, SA 处理后的抗病反应机制可能也不同。

许多研究指出, SA 通过诱导内源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量升高来进行信号传导, 激发植物的抗病性, 并诱导其抗病反应。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 参与细胞壁蛋白的氧化交联和木质素的形成, 同时还对微生物有直接的毒性<sup>[5]</sup>。本实验中 SA 处理明显提高了芒果果皮中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的含量, 进一步证明 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 可能是 SA 诱导的抗病信号传递途径中的一个组分。关于 SA 处理后植物 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 积累的机制也有许多研究。李兆亮<sup>[14]</sup>等证明, 不同浓度的 SA 能显著提高黄瓜处理叶和未处理叶 SOD 的活性, 认为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的积累主要是 SOD 活性的提高导致的。这与本实验中 SOD 活性被 SA 诱导产生的结果一致。另外, 还有研究指出, 水杨酸可能通过抑制过氧化氢酶 (CAT) 和抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性提高 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 水平<sup>[15]</sup>。因此, 有关 SA 处理后果实 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的积累途径以及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在果实抗病反应中的作用机制还需进一步研究。

大量的研究已经证实, 在对植物的抗病性诱导可产生显著作用的浓度范围内应用 SA, 不会对人、

畜、植物组织及环境造成有害影响, 较施用农药可大大减轻环境污染, 降低生产成本, 故在农业上有着很高的应用价值。

## 参 考 文 献

- [1] 邓卫利, 杨胜远, 熊德元, 等. 广西芒果炭疽病菌的生物学鉴定[J]. 广西大学学报(自然科学版), 1999, 24(6): 145 - 147
- [2] 黄思良, 霍秀娟, 韦刚. 芒果炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 的生物学特性[J]. 西南农业学报, 1999, 12(2): 83 - 89
- [3] Keryl K J, Janet E G. Quality of 'Kensington' mango (*Mangifera indica* Linn.) fruit following combined vapour heat disinfestation and hot water disease control treatment [J]. Postharvest Biology and Technology, 1997, 12: 285 - 292
- [4] Murphy A M, Holcombe L J, Carr J P. Characteristics of salicylic acid induced delay in disease caused by a necrotrophic fungal pathogen in tobacco[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2000, 57: 47 - 54
- [5] Cui K R, Xing G S, Liu X M, et al. Effect of hydrogen peroxide on somatic embryogenesis of *Lycium barbarum* L[J]. Plant Science, 1999, 146: 9 - 16
- [6] Assis J S, Maldonado R, Munoz T, et al. Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening cherimoya fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2001, 23: 33 - 39
- [7] Zauberman G, Ronen R, Akerman M, et al. Postharvest retention of the red color of Litchi fruit pericarp[J]. Science Horticulture, 1991, 47: 89 - 97
- [8] Prochazkova D, Sairam R K, Srivastava G C, et al. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves [J]. Plant Science, 2001, 161: 765 - 771
- [9] Pirie A, Mullins M G. Changes in anthocyanin and phenolic content of grapevine leaf and fruit tissue treated with sucrose, nitrate and abscisic acid[J]. Plant Physiology, 1976, 58: 486 - 472
- [10] Hammol/Lerschmidt R, Nuckles E M, Kuc J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium* [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1982, 20: 73 - 82
- [11] Pellegrini L, Rohfritsch O, Fritig B, et al. Phenylalanine ammonia-lyase in tobacco [J]. Plant Physiology, 1994, 106: 877 - 886

- [12] Qin G Z, Tian S P, Xu Y, et al. Enhancement of bio-control efficacy of antagonistic yeasts by salicylic acid in sweet cherry fruit[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2003, 62: 147 - 154
- [13] Meena B, Marimuthu T, Velazhahan R. Salicylic acid induces systemic resistance in groundnut against late leaf spot caused by *Cercosporidium personatum*[J]. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 2001, 31: 139 - 145
- [14] Li Z L, Yuan Y B, Liu C L, et al. Regulation of antioxidant enzymes by salicylic acid in cucumber leaves [J]. *Acta Botanica Sinica*, 1998, 40(4): 356 - 361
- [15] Wendehenne D, Durner J, Chen Z, et al. Benzothiadiazole, an inducer of plant defenses, inhibits catalase and ascorbate peroxidase [J]. *Phytochemistry*, 1998, 47(4): 651 - 657

## 科研简讯 ·

### 我校旱稻研究课题进入国际农业研究“挑战项目”平台

由国际水稻研究所 (IRRI) Bas Bouman 博士主持, 我校王化琪教授及印度、泰国、菲律宾等多国科学家参与申报的国际农业研究“挑战项目”(Challenge Program, CP)——“亚洲旱稻的研发”(STAR)已于近期获得国际农业专家委员会(CGIAR)批准。2005年1月21日该项目在我校正式启动。

我校主要承担中国旱稻水分生产力、养分机理及我国黄淮流域旱稻发展的技术体系研究。

旱稻研究是中国农业大学科研战略重点之一, 已持续30多年。20世纪80年代中期育成我国第一个北方特早熟旱稻“秦爱”, 获农业部科技进步“二等奖”。课题组经过育长期探索, 在珍稀抗旱稻作资源利用、抗旱性与丰产性遗传重组及早稻育种等方面近期获得重大进展, 育成抗旱、高产、优质旱稻系列新品种, 比水稻节约灌水50%~70%, 每 $\text{hm}^2$ 产量达到4500~6000 kg, 高产可达7500 kg, 适于我国北方或西南山区种植。其中旱稻297和旱稻277已被指定为国家旱稻区域试验新一代对照品种。与此同时, 旱稻栽培技术的研究与推广取得实质性进展, 成功地将旱稻种子包衣、直播全苗、化学除草、平衡施肥、经济灌溉、病虫害综合防治等配套技术应用于生产, 已累计示范推广1.3万 $\text{hm}^2$ 。

时至今日, 中国农业大学系列旱稻新品种及配套栽培技术先后被列入国家发改委高技术产业化项目、国家星火计划、国家科技新产品重点推广计划。

### 北京草坪抗旱、抗病、延长绿期综合管理及品种选育技术的研究

2005年1月27日, 由我校动物科技学院韩建国教授主持完成的“北京草坪抗旱、抗病、延长绿期综合管理及品种选育技术研究”成果通过北京市科委组织的专家鉴定。专家们一致认为该项研究在草坪基础和應用研究领域均有重大突破, 整体达到国际先进水平。该项目主要成果为:

- 1) 制定出N、P、K平衡施肥技术, 延长了草坪绿期;
- 2) 筛选出抗褐斑病的草坪草种11个, 研制出阿宝、草病灵等系列杀菌剂及草坪病害多媒体信息系统;
- 3) 提出生长季内的灌溉分配量, 形成草坪管理的节水灌溉模式;
- 4) 培育出对北京地区适应性强的草坪草品种14个(已推广应用)、延长绿期36 d的京引野牛草新品种1个、越夏性好的新疆草地早熟禾和洽草2个品系, 得到抗旱草地早熟禾和高羊茅转基因株系92个;
- 5) 制定了行业标准(NY/T634—2002)《草坪质量分级》, 编制了《北京市草坪养护管理技术手册》, 起草了《草坪养护管理技术规程》。

该成果已全部应用于北京市草坪管理的实践中, 技术推广700余万 $\text{m}^2$ , 草坪管理成本降低50%, 由原来的平均8元/ $\text{m}^2$ , 降到3.8元/ $\text{m}^2$ , 节约成本5000余万元。该项草坪养护管理技术体系, 使北京地区草坪绿期延长到300 d。

(科学技术处供稿)