安徽农业科学,Journal of Anhui Agri. Sci. 2014,42(32):11344 - 11345　　责任编辑　乔利利　责任校对　况玲玲

深绿木霉发酵液对山新杨防御酶活性的影响

孙 健[1],王志英[1],刘志华[1],遇文婧[1,2],刁桂萍[1*]
(1.东北林业大学,黑龙江哈尔滨 150040;2.黑龙江省森林保护研究所,黑龙江哈尔滨 150040)

摘要　[目的]探究深绿木霉发酵液对山新杨5种重要植物防御酶活性的影响,为木霉菌代谢产物在木本植物上的应用奠定基础。[方法]测定不同稀释倍数深绿木霉发酵液对山新杨组培移栽苗的超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、苯丙氨酸解氨酶以及多酚氧化酶活性的影响。[结果]深绿木霉发酵液处理后山新杨叶片组织中防御酶活性明显高于对照组,且不同稀释倍数发酵液之间存在较大差异,其中以50倍和100倍稀释液处理效果最佳。[结论]为今后利用深绿木霉代谢物质防治杨树病害提供了理论依据。

关键词　深绿木霉;发酵液;防御酶
中图分类号　S432.4⁺4　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　0517 - 6611(2014)32 - 11344 - 02

Effects of *Trichoderma atroviride* Fermentation Broth on the Defensive Enzyme Activity of *Populus davidiana* × *P. bolleana*

SUN Jian[1], WANG Zhi-ying[1], LIU Zhi-hua[1], DIAO Gui-ping[1*] et al　(1. Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract　[Objective] Effects of *T. atroviride* fermentation broth on five important defensive enzyme activities of *Populus davidiana* × *P. bolleana* were explored in order to lay basis for the application of Trichoderma metabolites in woody plants. [Method] The activities of superoxide dismutase, peroxidase, catalase, phenylalanineammonialyase and polyphenol oxidase in *Populus davidiana* × *P. bolleana* (Shanxinyang) under *T. atroviride* fermentation broth stress were studied. [Result] After inoculation with *T. atroviride* fermentation broth, activities of SOD, POD, CAT, PAL and PPO in Shanxinyang leaves were higher than that of control, and there was obvious difference among different dilution times of the fermentation broth of *T. atroviride*. The treatments with 50 times and 100 times of *T. atroviride* fermentation broth performed best. [Conclusion] The results provide reference for using *T. atroviride* metabolites to control poplar diseases.

Key words　*Trichoderma atroviride*; Fermentation broth; Defensive enzymes

生防菌木霉(*Trichoderma* spp.)是目前世界上公认的极具生防潜力的拮抗真菌。继 Weinding[1] 首次发现木霉对植物病原真菌具有拮抗作用后,人们对木霉的生物防治潜力产生极大关注,相继就木霉对植物病原真菌的拮抗作用及其机制开展了大量研究,并取得一些成果。但是,以往对木霉菌生物防治机理方面的研究仅局限于微生物间的相互作用,忽视了寄主植物的参与。近几年研究发现,木霉还能激发植物本身的防御系统而使植物能够抵御病原菌的侵害,即诱导植物产生抗病性[2]。为此,笔者用深绿木霉发酵液处理山新杨幼苗,测定其对山新杨幼苗防御酶活性的影响,旨在为今后利用深绿木霉代谢物质防治杨树病害提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料　深绿木霉(*T. atroviride*)菌株购自中国农业微生物菌种保藏中心。

1.2　方法

1.2.1　深绿木霉发酵液制备。1×10^6 个深绿木霉分生孢子接种于PD液体培养基中,28 ℃下180 r/min振荡培养7 d,所得培养液经过抽滤和过滤去除深绿木霉菌丝和孢子,即得到深绿木霉发酵液的原液。将原液依次稀释成20、50、100倍稀释液备用。

1.2.2　防御酶活性测定。用不同稀释倍数的深绿木霉发酵液处理山新杨组培移栽苗,并于处理后第1、2、3、5、7天取其叶部组织材料,测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)和多酚氧化酶(PPO)活性,对照组为自来水处理。其中,SOD采用氮蓝四唑还原法测定;POD采用愈创木酚法测定;CAT采用催化 H_2O_2 为 H_2O 和 O_2 的方法测定;PAL采用催化L-苯丙氨酸裂解为反式肉桂酸和氨的方法测定;PPO活性采用咖啡酸比色法测定[3]。

2　结果与分析

2.1　发酵液对山新杨SOD活性的影响　不同稀释倍数的深绿木霉发酵液对山新杨幼苗SOD活性的影响与对照相比均有显著差异。从图1可见,山新杨叶片的SOD酶活性于第5天时达到最高峰,其中50倍稀释液对山新杨幼苗SOD酶活性的影响较明显,是对照组的1.9倍多;其次是20倍稀释液和100倍稀释液。

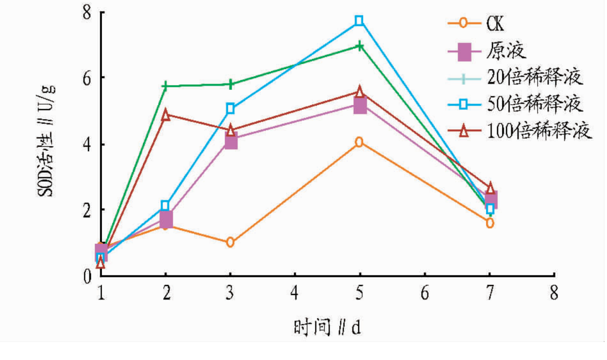

图1　深绿木霉发酵液对山新杨幼苗SOD活性的影响

2.2　发酵液对山新杨POD活性的影响　深绿木霉发酵液处理后山新杨叶片组织POD活性总体表现为先上升后下降的趋势,且处理组POD活性明显高于对照组,并在第3天时达到最大值。其中以100倍稀释液处理的POD活性最高,是

基金项目　中央高校基本科研业务费专项(2572014BA08);黑龙江省自然科学基金面上项目(C201126)。
作者简介　孙健(1989 -),男,黑龙江哈尔滨人,硕士研究生,研究方向:森林保护。*通讯作者,副教授,从事森林保护研究。
收稿日期　2014-09-30

对照组的 9.0 倍多；其次是 50 倍稀释液和 20 倍稀释液（图 2）。

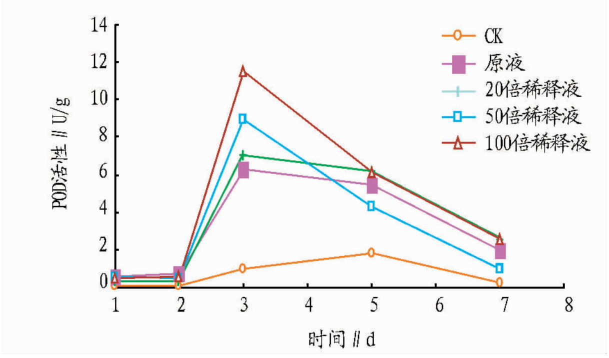

图 2　深绿木霉发酵液对山新杨幼苗 POD 活性的影响

2.3　发酵液对山新杨 CAT 活性的影响　与对照组相比，不同稀释倍数深绿木霉发酵液对山新杨幼苗 CAT 活性的影响均存在显著差异，其中以 100 倍稀释液对其 CAT 活性的影响最明显，且在处理后第 3 天 CAT 活性达到最大值，是对照组的 3.5 倍多；其次是 50 倍稀释液（图 3）。

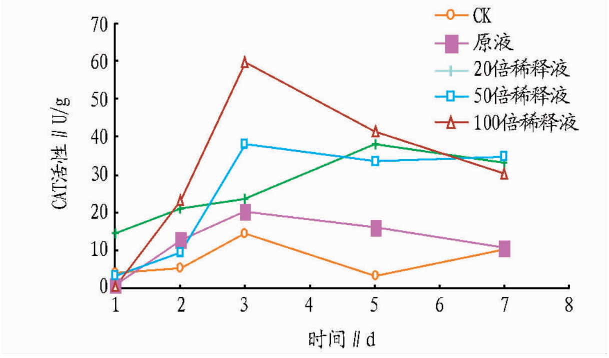

图 3　深绿木霉发酵液对山新杨幼苗 CAT 活性的影响

2.4　发酵液对山新杨 PAL 活性的影响　由图 4 可知，不同稀释倍数的深绿木霉发酵液诱导处理后，山新杨叶片中 PAL 活性均明显高于对照组，且在处理后第 5 天达到峰值。其中以 50 倍稀释液对山新杨 PAL 活性的影响最明显，是对照组的 5.5 倍多；其次是 100 倍稀释液，是对照组的 2.7 倍多。

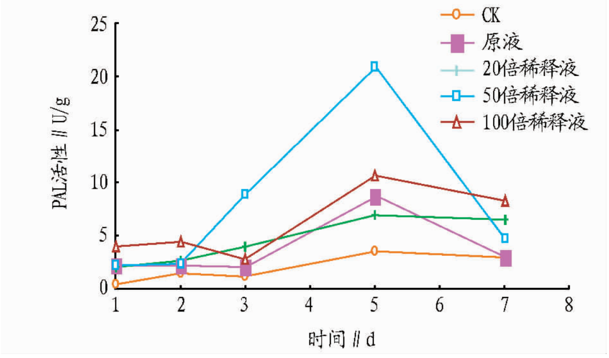

图 4　深绿木霉发酵液对山新杨幼苗 PAL 活性的影响

2.5　发酵液对山新杨 PPO 活性的影响　深绿木霉发酵液处理后山新杨叶片组织PPO活性与对照组之间存在显著差异，且不同稀释倍数发酵液之间也存在差异。总体来说，处理组 PPO 活性均显著高于对照组，且在处理后第 7 天达到最大值。其中以 100 倍稀释液对幼苗 PPO 活性的影响最明显，是对照组的 4.0 倍多，其次是 20 倍稀释液（图 5）。

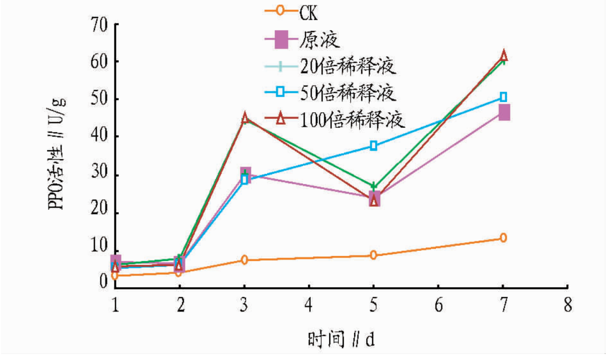

图 5　深绿木霉发酵液对山新杨幼苗 PPO 活性的影响

3　讨论

SOD、POD、CAT、PAL 和 PPO 是植物抗逆性的重要生化指标[4-5]，其中 PAL 和 PPO 2 种酶的活性也被证明与植物系统获得抗性相关[6]。试验研究了不同稀释倍数深绿木霉发酵液对山新杨幼苗 SOD、POD、CAT、PAL 和 PPO 5 种重要植物防御酶活性的影响。结果表明，处理组防御酶活性均显著高于对照组，且不同稀释浓度之间存在显著差异，其中以 50 倍和 100 倍稀释液对该 5 种防御酶的活性影响较明显。该试验结果与张树武等[7]的研究结果基本一致，用深绿木霉发酵液处理后黑麦草幼苗中与抗性相关酶的活性均有所提高。也有研究表明用哈茨木霉发酵液喷施水稻、豇豆等农作物后对其防御酶的活性有较大影响。以往研究材料多数为草本植物，关于木本植物的报道较少。该试验研究材料山新杨为木本植物，该研究结果将为木霉菌代谢产物在木本植物上的应用提供理论依据。

参考文献

[1] WEINDLING R. *Trichoderma lignorum* as a Parasite of other soil fungi[J]. Phytopathology,1932,22:837－845.
[2] BENITEZ T,RINCON A M,LIMON M C,et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma strains*[J]. Int Microbiol,2004,7(4):249－260.
[3] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京：高等教育出版社，2000.
[4] DONG H,LI W,ZHANG D,et al. Differential expression of induced resistance by an aqueous extract of killed *Penicillium chrysogenuma* gainst *Verticillium* wilt of cotton[J]. Crop Prot,2003,22(1):129－134.
[5] SHEKHAR J,DEVENDRA K C. Induced defence-related proteins in soybean(*Glycine max* L. Merrill) plants by *Carnobcterium* sp. SJ-5 upon challenge inoculation of *Fusarium oxysporum*[J]. Planta,2014,239(5):1027－1040.
[6] WU Y,YI G,PENG X,et al. Systemic acquired resistance in *Cavendish banana* induced by infection with an incompatible strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. Cubense[J]. J Plang Physiol,2013,170(11):1039－1046.
[7] 张树武，徐秉良，程玲娟. 深绿木霉发酵液对黑麦草促生作用及生理生化特性的影响[J]. 干旱地区农业研究，2014,32(2):157－162.