

BTH 诱导果蔬抗病性机理研究进展

刘新华, 潘永贵*, 祖鹤 (海南大学食品学院, 海南儋州 571737)

摘要 从物理、生理生化和分子生物学3个方面, 概述BTH诱导果蔬产生抗病机理的研究进展。

关键词 BTH; 果蔬; 系统获得性抗性; 机理

中图分类号 S432.2+3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)34-15053-02

Research Progress on the Induced Disease Resistance Mechanism of Fruits and Vegetables by BTH

LIU Xin-hua et al (College of Food, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737)

Abstract From three aspects of the physical, physiological and biochemical, molecular biological mechanisms, the research progresses on the induced disease resistance mechanism of fruits and vegetables by BTH were summarized.

Key words BTH; Fruits and vegetables; Systemic acquired resistance; Mechanism

随着普遍使用化学农药所带来的环境污染、农药残留、抗性等问题日见突出, 一些化学杀菌剂已被禁止使用。近年来, 利用诱导剂诱导果蔬自身产生系统获得抗病性(Systemic Acquired Resistance, SAR) 逐渐成为果蔬病害防治的发展方向。当前已知具有应用潜力的能够诱导果蔬产生SAR的诱导剂有很多种, 新型植物诱导剂苯并二唑(BTH)就是其中的一种。在离体条件下, 这种诱导剂本身没有杀菌活性, 但其能诱导植物体内的防御机制, 起到抗病、防病的作用, 而且不会对环境产生影响^[1]。目前已有报道BTH对马铃薯的早疫病、干腐病和白粉病, 香蕉炭疽病, 菜豆锈病, 草莓的冠腐病, 厚皮甜瓜的黑斑病, 番茄和辣椒的细菌性斑点病, 葡萄灰霉病, 黄瓜蔓枯病等多种果蔬的多种病害均有较好的诱导抗性效果^[2-10]。关于BTH诱导果蔬产生抗病性的机理, 虽然目前研究得还不透彻, 但已经取得了许多研究成果, 笔者对目前BTH诱导果蔬产生抗病机理的研究进展进行综述。

1 物理机制

细胞壁在植物组织天然抗性方面起着重要作用。BTH诱导果蔬抗病性首先就是强化细胞壁组成结构, 包括木质素沉积、羟脯氨酸糖蛋白的积累、乳突形成及胼胝体、胶滞体、侵填体的产生等, 这些变化都可不同程度地阻止病原物的侵入和扩展^[11]。其中对于木质素阻止病原菌侵染的机理研究较多, 木质素能够加大真菌穿透细胞壁的阻力、增强细胞壁抗酶溶解的作用、限制真菌酶和毒素向果蔬细胞内的扩散并阻止果蔬细胞内水分及营养物质向病原物扩散从而导致真菌不能存活^[12]。王金华研究发现香蕉经BTH处理后木质素含量显著提高, 并认为BTH与提高采后香蕉果实抵抗炭疽病菌的侵染能力有密切关系^[13]。采用BTH处理黄瓜幼苗叶片后, 细胞壁中羟脯氨酸糖蛋白(HRGP)的积累与木质素的沉积都明显提高, 有研究认为, HRGP的积累以及细胞壁的木质化与黄瓜对霜霉病的抗性反应有关, 是寄主抗病反应的机制之一^[14]。采前用BTH处理厚皮甜瓜果实时也发现HRGP及木质素含量显著提高, 并且增强了厚皮甜瓜果实的抗病性^[15]。这在“银帝”甜瓜中也得到了证实, 果实经处理后, 表皮细胞间隙中填充了大量的木质素, 细胞排列更为紧密, 皮

层细胞中有大量木质素、木栓质以及胼胝质的积累, 有效降低了甜瓜果实的潜伏侵染率, 起到防病、抗病的作用^[16]。

2 生理生化机制

果蔬经BTH处理后, 会引起一些应急反应, 导致组织生理生化活动发生变化, 使得果蔬抗病性增强。目前人们研究果蔬诱导抗病性的机制时主要是研究一些与抗病相关的酶或物质, 主要包括苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、植保素、病程相关蛋白等^[17]。

2.1 酶活性的变化 果蔬组织感病后, 导致组织体内自由基产生增多, 如超氧阴离子、过氧化氢等, 这些成分的产生会导致膜不饱和脂肪酸过氧化, 从而造成对细胞的伤害, 并最终促进果蔬组织衰老加快。而许多研究表明, BTH处理果蔬组织后, 组织中清除自由基的酶系统, 包括POD、CAT和SOD等酶活性都大大增强^[18-19]。此外, 经过BTH处理后, 还会使组织中次生代谢酶活性增强, 尤其是PAL, 其为苯丙烷类代谢途径的关键酶和限速酶, 能够催化L-苯丙氨酸直接脱氨产生反式肉桂酸, 在木质素和酚类物质的合成中起重要作用, 因而与植物抗病性密切相关^[20]。同时, POD和PPO参与酚的氧化, 形成对病菌毒性较高的醌类物质, 并参与木质素的合成, 使细胞壁增厚以抵御病菌的侵入和扩展从而抑制发病^[21]。毛晓英等采用BTH对耐病品种“皇后”和感病品种“早金”甜瓜的第1片真叶进行诱导处理, 结果表明, BTH能诱导耐病品种“皇后”第1、2片真叶的POD活性升高, 证明了甜瓜抗病性与植株POD活力呈正相关^[22]。在“银帝”厚皮甜瓜上, BTH处理同样能有效地提高POD、PPO和PAL的活性, 且随BTH处理次数的增加, 3种酶活性和抗性物质的含量也升高。研究采用BTH处理采收后的桃对青霉菌的抗性时也发现, 经BTH诱导的果实体内的PAL、PPO、POD和SOD酶的活性明显增强, 并且显著增强了桃组织对青霉菌的抗性^[23]。同样, 香蕉经BTH处理后, 其体内的防御酶活性显著增强, 最终降低了香蕉果实的发病率和病斑面积。

2.2 植保素的合成和积累 植保素包括酚类(绿原酸、香豆素)、异黄酮类(豌豆素、菜豆素、大豆素等)和萜类等, 是一类分子量较小、具亲脂性的物质。其对病原菌具有很高毒性, 一般不具专化性。随着在果蔬体内大量产生和积累, 组织对病原菌的抗性显著增强^[24]。目前研究较多的植保素是酚类及其衍生物, 酚类物质除自身对病菌有毒害作用外, 还可以

基金项目 海南省自然科学基金项目(807036); 华南热带农业大学博士启动基金项目(Rndy0704)。

作者简介 刘新华(1981-), 男, 江西宜春人, 硕士研究生, 研究方向: 果蔬采后生理及贮运保鲜技术。* 通讯作者。

收稿日期 2008-09-27

在体内氧化成毒性更强的醌类,在果蔬的防病机制中起着重要作用。由于感病后,抗病品种和感病品种在酚类物质的积累量以及速度上存在着一定的差异,黄娅琳认为,可以将酚类物质作为一个抗病指标^[25]。王金华发现,BTH 处理采后香蕉果实时的总酚含量与其抗炭疽病性能之间有密切的关系,在发病的关键时期总酚含量总体水平一直高于对照,且在发病中期有一峰值。在甜瓜果实生长发育过程中,总酚含量总体变化不显著,但采用 BTH 处理明显诱导了果实体内总酚含量的增加,并随着处理次数的增多其含量也随之增加,显著增强了厚皮甜瓜果实的抗性。Hukkanen 等发现经 BTH 处理的草莓叶内和果实中酚类物质的积累,尤其是鞣花单宁的含量在处理 4 d 后增加了 2~6 倍,并且酚类物质的积累明显增强了草莓对白粉病的抗性^[26]。

2.3 PR 蛋白的形成 很多研究结果表明,BTH 处理后,果蔬体内不断产生和积累 PR 蛋白并且其活性显著增强。PR 蛋白的类型为 PR-1~PR-14,它的分子量相对较小,一般为 10~40 kD,是一种抗蛋白水解酶,大多为酸性,位于细胞间隙;少数呈碱性,位于液泡中。不同的 PR 蛋白的生物活性存在差异,一般都具有较强的稳定性^[27-28]。目前研究较为明确的是-1,3-葡聚糖酶(PR-2)和几丁质酶(PR-3,PR-4,PR-8,PR-11),它们能够降解病原菌的细胞壁,抵抗病原菌的侵染,抑制真菌的生长^[29]。其主要是因为几丁质和-1,3-葡聚糖是真菌细胞壁的主要结构成分,并且在许多真菌的菌丝顶端,B-1,3-葡聚糖和几丁质暴露在细胞壁表面,从而能够直接受到-1,3-葡聚糖酶和几丁质酶的水解,这不仅可以使真菌菌丝生长点受到破坏,而且在水解过程中由真菌细胞壁释放出来的寡糖能够作为植物多种抗病反应的激发因子,诱导植物的全面防卫反应^[30-31]。Mbshe 等研究 BTH 对番茄白粉病的抗病性时发现,BTH 处理能够显著提高几丁质酶和-1,3-葡聚糖酶的活性,并且减少病菌对番茄的侵染^[32]。于凌春等研究 BTH 对黄瓜蔓枯病的抗病性时也发现,BTH 能诱导黄瓜叶片中几丁质酶和-1,3-葡聚糖酶活性的增加,这种诱导效应可以通过输导组织传输,使植株整体获得酶活性的提高。李玉红等用 BTH 处理黄瓜叶片时发现其叶片胞间隙液产生分子量分别为 33、27、22 kD 的蛋白,这 3 种蛋白在未处理时不表达或表达量较低,而在诱导后却大量表达,说明这 3 种蛋白是寄主果蔬产生的,而且与黄瓜霜霉病的病程相关。这些病程相关蛋白不仅在 BTH 处理的第 1 真叶上表达,也在未直接处理的第 2 真叶上大量表达,说明这些病程相关蛋白可被系统诱导^[33]。

3 分子生物学机理

许多研究表明,果蔬在受到 BTH 诱导后其体内与防卫有关的基因先后将会被诱导激活。首先诱导表达的防卫基因是与植保素合成相关的基因,其后是水解酶和 PR 蛋白基因,最后才是与 HRGP 和木质素合成相关的基因。BTH 处理果蔬后,会引起果蔬体内积累 H_2O_2 ,激活 PR 基因并合成 POD 酶。同时,细胞质膜上离子通道的开启和活性氧的迸发会引起其防卫基因的表达^[34]。如黄瓜子叶用 BTH 处理后会积累大量的几丁质 mRNA 和 H_2O ^[35]。用 BTH 处理拟南芥后会促进 PAL 基因的表达和胼胝质的增加^[36]。BTH 处理番茄能够

诱导其表达抗病相关的基因,如 PR-1b、PR-2、PR-3 基因。并且这些基因的表达显著增强了番茄的抗病性^[37]。研究 BTH 处理番木瓜对棕榈疫霉的抗性时发现,处理 3 d 后的番木瓜能够诱导产生 PR-1 基因家族里的两类成员基因的表达,其中一类是 PR 基因,一类是直接抗微生物活性的基因和两种改变细胞壁结构和木质化的基因,这些基因的表达明显增强了番木瓜的抗病性^[38]。

4 结语

BTH 诱导果蔬抗病机理已经取得了一定的成果,但仍有许多问题有待解决,如 BTH 如何在果蔬的抗病性中起作用、SAR 诱发的机理、是否还有其他的抗病机制、对有些植物是否有毒害作用、其使用方法和浓度等。这些问题的解决,对新型诱抗剂的研制和开发、提高果蔬的抗病性、减少有毒农药的使用都有重大的推动和促进作用,对发展生态农业、绿色农业等具有重要意义。

参考文献

- [1] 孙其红. BTH 对黄瓜上几种病害的系统获得抗性(SAR)研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2001.
- [2] BOKSH AI, MORRIS S C, DEVERALL B J. Effects of benzothiadiazole and acetylsalicylic acid on -1,3-glucanase activity and disease resistance in potato [J]. *Plant Pathol*, 2003, 52(1): 22-27.
- [3] ZHUS J, MA B C. Benzothiadiazole or methyl jasmonate induced resistance to *Colletotrichum musae* in harvested banana fruit is related to elevated defense enzyme activities [J]. *J Hort Sci Biotechnol*, 2007, 82(4): 500-506.
- [4] IRTI M, FACRO F. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus* [J]. *J Phytopathol*, 2003, 151(3): 171-180.
- [5] EI KEMO H, SIENS VAND A, TRONSMO A M. Induced resistance as a possible means to control diseases of strawberry caused by *Phytophthora* spp. [J]. *Plant Disease*, 2003, 87(4): 345-350.
- [6] MCCONCHE R, MCDONALD K, ANWARAL B, et al. Systemic acquired resistance as a strategy for disease management in rockmelon (*Cucumis melo* var. *reticulatus*) [J]. *Acta Hort*, 2007, 731: 205-210.
- [7] ABBASI P A, AL-DAHMAN J, SAHNF, et al. Effect of compost amendments on disease severity and yield of tomato in conventional and organic production systems [J]. *Plant Disease*, 2002, 86: 156-161.
- [8] BUONAURO R, SCARFON L, FERRARA M, et al. Induction of systemic acquired resistance in pepper plants by acibenzolar-S-methyl against bacterial spot disease [J]. *Eur J Plant Pathol*, 2002, 108(1): 41-49.
- [9] MARCELLOI, MARA R, MICHELE B, et al. Benzothiadiazole enhances resveratrol and anthocyanin in grapevine, meanwhile improving resistance to *Brytisia cinerea* [J]. *J Agri Food Chem*, 2004, 52(14): 4406-4413.
- [10] 于凌春, 张乃琴. 苯并二唑(BTH)诱导黄瓜抗蔓枯病的研究[J]. *江西农业学报*, 2006, 18(3): 119-121.
- [11] SIIICHER L, MAUCH B, METRAUX J P. Systemic acquired resistance [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1997, 35: 235-270.
- [12] 张小冰. 水杨酸在诱导植物抗性中的作用[J]. *生物学教学*, 2005, 30(10): 3-5.
- [13] 王金华. BTH 防治香蕉采后炭疽病及其系统获得抗性(SAR)机理[D]. 广州:华南农业大学,2005.
- [14] 程智慧, 李玉红, 孟焕文, 等. BTH 诱导黄瓜幼苗对霜霉病的抗性与细胞壁 HRGP 和木质含量的关系[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(5): 935-940.
- [15] 张正科, 毕阳, 王军节, 等. 采前苯丙重氮(BTH)处理对厚皮甜瓜果实防御酶及抗性物质的诱导[J]. *甘肃农业大学学报*, 2006, 41(6): 122-125.
- [16] 李梅. 采前 BTH 或 Harpin 处理对“银帝”甜瓜潜伏侵染的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学,2005.
- [17] 范志金, 刘秀峰, 刘凤丽, 等. 植物抗病激活剂诱导植物抗病性的研究进展[J]. *植物保护学报*, 2005, 32(1): 88-89.
- [18] SCHLUMBAUM A, MAUCH F, VOGELI U. Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth [J]. *Nature*, 1986, 324: 365-367.
- [19] WESSELS J G H, SICISMA J H. Fungal cell walls: a survey [M]. *New York: Newseries*, 1984: 352-353.

加森林生态系统的多样性,使病虫害危害维持在很低的水平上,达到有病虫但不成灾的目的。对刚传入尚未传播扩散的有害生物,不让其以后能定居成灾,一律就地消灭。对已普遍发生的有害生物加强研究,科学治理。由于该区环境优良,要尽量采取生态及林业技术措施,尽量减少用药,尤其少用高毒农药,采用无公害的防治措施。

3.3 加强对资源昆虫的利用研究 虫草蝙蝠蛾、紫胶虫、西藏地鳖、铜绿金龟子、蜚螂、蝴蝶等有很重要的资源价值^[14],如果加强它们的研究和利用,将对持续森林病虫害防治和森林的可持续发展都有着重要的意义。

3.4 加强林木检疫 防止外来有害生物的传入是持续性和经常性的工作。20世纪70年代末、80年代初,美国白蛾、松材线虫病、松突圆蚧和湿地松粉蚧等我国原来没有的森林病虫害相继传入我国,造成了巨大的损失,并遗害无穷^[15]。目前这些病虫害在西藏还未发现,但随着西部大开发的不断深入和退耕还林(草)政策的进一步实施,加上优良品种的引进,西藏将从内地引进的林木种子、苗木等数量不断增加,一旦引进新的病虫害种并适应了当地环境,由于缺乏控制因子,往往会造成严重的危害。应根据实际情况,在全国检疫名录的基础上,制定该区增补检疫对象名录,应对该区有潜在危险的符合检疫对象条件的病虫害名录尽量列入。在进行检疫时,应对检疫员严格培训,让他们加强学习,严格执法。

3.5 加强森林病虫害检疫队伍和测报网络建设 以长期的和总体的观点为指导思想,应用系统分析方法研究森林病虫害的监测、预测与优化管理是西藏林业发展和持续森林病虫害防治的基础。如研究应用航空录像及TM图像遥感技术监

测森林病虫害等手段是非常必要的。尽管西藏由于自然环境等因素,这些研究很难在短时间内得以实现,但可进一步作一些基础应用方面的研究,如害虫的种群特征研究、病虫害对寄主的选择机制研究等。目前西藏的森林病虫害监测能力低,但有效的监测手段可以及时发现早期灾害点加以控制,防患于未然。与我国大部分省、市、区相比,该区在这方面尚有一定差距,应根据《森林病虫害检疫条例》尽快建立自治区、地区、县森林保护队伍。

参考文献

(上接第15054页)

[20] 蔡新忠, 郑重. 水杨酸诱导水稻幼苗抗瘟性的生化机制[J]. 植物病理学报, 1997, 27(3): 231-236.

[21] 郑伟尉, 臧运祥. 水杨酸(SA)与植物抗病性关系的研究进展[J]. 河北果树, 2005(1): 1.

[22] 毛晓英, 吴庆智, 李学文, 等. BTH对新疆甜瓜过氧化物酶的系统诱导作用[J]. 新疆农业大学学报, 2004, 27(4): 31-35.

[23] HUX H, JIANG WB, H Y, et al. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms[J]. *Postharvest Bio Technol*, 2005, 35: 263-269.

[24] 翁启勇, 李开本. 诱导植物系统抗性研究及进展[J]. 福建农业学报, 1998, 13(4): 23-28.

[25] 黄娅琳. 玉米抗弯孢叶斑病的生化机制研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2002.

[26] HUKKANEN A T, KOKKO HI, BUCHALA AJ, et al. Benzothiadiazide induces the accumulation of phenolics and improves resistance to powdery mildew in strawberries[J]. *J Agri Food Chem*, 2007, 55(5): 1862-1870.

[27] FRANCO G. Systemic acquired resistance in crop protection: from nature to a chemical approach[J]. *J Agri Food Chem*, 2003, 51: 4487-4503.

[28] BOL J F, LINTHORST J M, CORNELISSEN B J. Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection[J]. *Annu Rev Phytopath*, 1990, 28: 113-138.

[29] 张少英, 王俊斌, 王海凤, 等. 甜菜几丁质酶和-1,3-葡聚糖酶活性与其对丛根病抗性的关系[J]. 植物生理与分子生物学报, 2005, 31(3):

[1] 刘务林. 西藏自然保护区[M]. 拉萨: 西藏人民出版社, 1993: 182-185.

[2] 国家林业局. 2005 中国森林资源报告[M]. 北京: 中国林业出版社, 2005.

[3] 祝列克. 西藏的森林资源与林业可持续发展战略[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2000.

[4] 王志刚, 阎俊杰, 刘玉军, 等. 西藏南部光肩星天牛发生情况调查报告[J]. 东北林业大学学报, 2003(4): 70-71.

[5] 黄大庄, 李亮明, 唐晓琴, 等. 西藏南部人工林病虫害鼠害的调查初报[J]. 中国森林病虫, 2004(6): 31-34.

[6] 中国科学院青藏高原综合科学考察队. 西藏昆虫 第一、二册[M]. 北京: 科学出版社, 1981.

[7] 中国科学院青藏高原综合科学考察队. 西藏森林[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 266-341.

[8] 王保海, 袁维红, 王成明, 等. 西藏昆虫区系及其演化[M]. 郑州: 河南科技出版社, 1992: 201-211.

[9] 王保海, 林大武, 孔常兴, 等. 西藏植物保护研究[M]. 郑州: 河南科技出版社, 1994.

[10] 中国科学院登山科学考察队. 西藏南迦巴瓦峰地区昆虫[M]. 北京: 科学出版社, 1988.

[11] 卢杰, 唐晓琴, 余长军, 等. 佳多频振式杀虫灯在察隅地区森林害虫监测防治试验中的应用[J]. 中国森林病虫, 2002(S1): 15-16.

[12] 唐晓琴, 卢杰. 西藏林芝地区八一镇苗圃、人工林病虫害调查[J]. 中国科学学报, 2006(8): 75-76.

[13] The Chinese Society of Forestry. The Canadian institute of forestry. International symposium on forestry towards the 21st century[C]. 1997: 95-99.

[14] 张传溪, 许文华. 资源昆虫[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989.

[15] 王淑英. 中国森林植物检疫对象[M]. 北京: 中国林业出版社, 1996.

281-286.

[30] KLARZYNASKI O, PLESSE B, JOUBERT J M, et al. Linear B1,3-glucanase are diitars of defense responses in tobacco[J]. *Plant Physiol*, 2004, 124: 1027-1037.

[31] SHIT RENNIKOFF C P. Antifungal proteins[J]. *Apple Environ Microbiol*, 2001, 67: 2883-2894.

[32] MOSHEI, HAMED D, RONALD M, et al. Diitars of plant defensive systems reduce insect densities and disease incidence[J]. *J Chem Ecology*, 1998, 24(1): 135-149.

[33] 李玉红, 陈鹏, 程智慧, 等. 草酸和BTH对黄瓜幼苗霜霉病抗性和胞间隙病程相关蛋白的诱导[J]. 植物病理学报, 2006, 36(3): 238-243.

[34] GOZZO F. Systemic acquired resistance in crop protection[J]. *Outlooks on Pest Management*, 2004, 4(2): 20-23.

[35] DURRANT W E, DONG X. Systemic acquired resistance[J]. *Ann Rev Phytopath*, 2004, 42: 185-209.

[36] ANNEGRET K, SANDRA S, UWE C. Benzothiadiazole-induced priming for potentiated responses to pathogen infection, wounding, and infiltration of water into leaves requires the NPR1/NM gene in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 2002, 128: 1046-1056.

[37] ANZ ALFEREZ S, MATEOS B, ALVARADO R, et al. SAR induction in tomato plants is not effective against root-knot nematode infection[J]. *Eur J Plant Pathol*, 2008, 120: 417-425.

[38] QUX H, GUANP Z, WANG ML, et al. Identification and expression analysis of BTH-induced genes in papaya[J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 2004, 65(1): 21-30.