

DOI:10.11829/j.issn.1001-0629.2017-0639

邓雅楠, 严俊鑫, 杨慧颖, 许凌欣. 水杨酸甲酯对东北玉簪单宁含量和抗虫相关酶活性的影响. 草业科学, 2018, 35(9): 2087-2094.
DENG Y N, YAN J X, YANG H Y, XU L X. Effect of methyl salicylate on tannin content and the activity of five insect-related enzyme in *Hosta ensata*. Pratacultural Science, 2018, 35(9): 2087-2094.

水杨酸甲酯对东北玉簪单宁含量和 抗虫相关酶活性的影响

邓雅楠¹, 严俊鑫¹, 杨慧颖^{1,2}, 许凌欣¹

(1. 东北林业大学园林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 长春市南湖公园, 吉林 长春 130000)

摘要:开展水杨酸甲酯(methyl salicylate, MeSA)诱导植物抗性研究, 可为东北玉簪(*Hosta ensata*)的绿色防控提供新的思路。本研究通过喷施不同浓度 MeSA, 研究其对东北玉簪单宁含量及抗虫相关酶活性的影响。结果表明, 0.01、0.1、1.0、1.5 mmol · L⁻¹ MeSA 处理对东北玉簪叶片苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性和单宁含量有显著影响($P < 0.05$), 2.0 mmol · L⁻¹ MeSA 对 PPO、POD、SOD、CAT 活性及单宁含量作用显著。PAL、PPO、POD、SOD、CAT 活性以及单宁含量当各自相对应的 MeSA 浓度为 1.5、1.0、1.0、1.0、1.5、2.0 mmol · L⁻¹ 时, 分别在第 5、3、3、3、5、5 天达到最大值, 分别是对照的 1.89、2.04、1.59、1.77、1.90、2.47 倍, 与对照相比差异显著($P < 0.05$)。上述结果表明, 喷施水杨酸甲酯对东北玉簪抵御害虫危害和适应逆境具有促进作用, 但是这种促进作用存在浓度依赖性和时间持久性。

关键词:植物生长调节物质; 诱导防御; 抗性; 害虫防治; 植物保护; 次生物质; 生理

中图分类号: Q946.82⁺8.3; S432.2⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-0629(2018)09-2087-08

Effect of methyl salicylate on tannin content and the activity of five insect-related enzyme in *Hosta ensata*

DENG Yanan¹, YAN Junxin¹, YANG Huiying^{1,2}, XU Lingxin¹

(1. The College of Landscape, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China;

2. The South Lake Park of Changchun City, Changchun 130000, Jilin, China)

Abstract: Plant-induced resistance research provides a new idea for the environmentally friendly control of *Hosta ensata*. Previous studies showed that methyl salicylate could induce plant resistance. In this experiment, different concentrations of methyl salicylate were sprayed to study its effects on the tannin content and insect-related enzyme activity in *H. ensata*. The results showed that 0.01, 0.1, 1, and 1.5 mmol · L⁻¹ methyl salicylate caused the phenylalanine ammonia lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) activities, as well as the tannin content in the leaves of *H. ensata* significantly increased. Additionally, 2 mmol · L⁻¹ MeSA has a significant effect on the PPO, POD, SOD, CAT activities, as well as the tannin content. When the concentrations were 1.5, 1.0, 1.0, 1.0, 1.5, and 2.0 mmol · L⁻¹, the activities of PAL, PPO, POD, SOD, and CAT, as well as the tannin content, reached their highest values at 5, 3, 3, 3, 5, and 57 days a total of 1.89, 2.04, 1.59, 1.77, 1.90 and 2.47 times, respectively. The difference was significant compared to the control ($P < 0.05$). The above results showed that spraying methyl salicylate increased the damage resistance and adaptability of *H. ensata* so as to resist the pests,

* 收稿日期: 2017-11-20 接受日期: 2018-04-03
基金项目: 中央高校基本科研业务费专项基金(2572016CA11)
第一作者: 邓雅楠(1992-), 女, 黑龙江鹤岗人, 在读硕士生, 主要从事植物抗逆性研究。E-mail: dyn1290079578@163.com
通信作者: 严俊鑫(1981-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 副教授, 博士, 主要从事植物抗逆性研究。E-mail: yanjunxin@163.com

but this effect is concentration-dependent and short-lasting.

Keywords: plant growth regulator ; induced defense; resistance; pest control; crop protection; secondary biomass; physiological

Corresponding author: YAN Junxin E-mail: yanjunxin@163.com

诱导抗性是植物遭受植食者侵害后出现的应激反应,直接影响害虫取食行为、消化能力、落卵量、生殖力、发育速度以及被捕食比率等,间接抑制害虫的存活率^[1-3]。研究发现,水杨酸(salicylic acid, SA)可显著延长西花蓟马(*Frankliniella occidentalis*)的发育时间,抑制蛹期体重,降低西花蓟马的生存适合度^[4]。用水杨酸处理后的棉花(*Gossypium hirsutum*)喂养棉蚜(*Aphis gossypii*)后,棉蚜体重以及产仔量下降,若蚜发育历程受到抑制^[5]。近些年来,水杨酸类物质因为具有高效、方便、无毒无污染、无残留等优点,逐渐成为研究者关注的热点^[6]。水杨酸是一种简单的酚类化合物,易于转化为水杨酸甲酯(methyl salicylate, MeSA),后者为其功能性类似物,是以SA和甲醇为原料进行酯化反应而成的酯类化合物,作为一种用途广泛的新型植物激素,在植物应对胁迫过程中发挥信号分子作用,强化植物抗逆性以及诱导防御反应发生^[2,6-9]。经SA及其功能性类似物处理后菜豆(*Phaseolus vulgaris*)^[10]、野生稻(*Oryza rufipogon*)^[11]、杨树(*Populus Simonii* × *Populus Pyramidalis*)^[12]、燕麦(*Avena nuda*)^[13]、香蕉(*Musaacuminata coll*)^[14]、冬麦(*Triticum aestivum*)^[15]、玉米(*Zea mays*)^[16]、小麦^[17]等植物相关酶活性增强,次生代谢物质含量增加。单宁又被称为植物多酚,是植物体内常见的次生代谢物质,可与害虫体内消化酶结合从而干扰害虫对营养物质的消化及吸收^[18];过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)是植物体内重要的保护酶类,通过反馈调节使植物体内自由基保持正常水平从而提高自身抗虫性^[19-20]。多酚氧化酶(PPO)可催化酚类物质氧化为醌,从而抑制害虫消化能力,提高植物抗虫性^[21]。苯丙氨酸解氨酶(PAL)是植物中催化苯丙烷类代谢途径的关键酶,随着PAL活性升高植物体内众多次生代谢物质含量也随之升高,进而提高自身抗虫能力^[22-23]。

东北玉簪(*Hosta ensata*)又名剑叶玉簪,是我国北方地区园林应用以及民间药用常见的植物种类。在夏季常因蛴螬(*Agriolimax agrestis*)等食叶害虫侵袭而使东北玉簪生长受到抑制。一直以来,人们主要通过喷洒农药进行害虫防治,但农药的使用不仅降低了东北玉簪的药用价值,还会对生态系统造成破坏,而植

物诱导抗性的研究为解决这一问题提供了新思路^[24]。因此本研究以北方常见植物东北玉簪为材料,通过环保型外源物质MeSA进行诱导,从东北玉簪叶片单宁含量及抗虫相关酶活性变化入手,探究MeSA对东北玉簪抗性的影响,为绿色防控提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料培养与MeSA处理

以三年生东北玉簪(有走茎小型玉簪)苗为试验材料,试验在东北林业大学苗圃内进行,于7月选取健康及长势一致的东北玉簪苗进行试验。

参考杨世勇等^[2]、杨帆^[4]、王燕芳^[5]、严俊鑫等^[23]的研究过程与结论,根据实际情况进行调整,确定本研究的浓度梯度以及取样时间点^[2,4-5,23]。MeSA($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich)用无水乙醇和蒸馏水稀释成浓度为0.01、0.1、1.0、1.5、2.0 mmol · L⁻¹的溶液。以无水乙醇加蒸馏水为对照,采用喷雾法对东北玉簪植株进行均匀喷施,直至叶面有液滴落下为止。不同浓度处理的植株用塑料布遮盖异地放置,分别于喷施MeSA后的第1、3、5、7、10、15天的同一时间采集东北玉簪叶片进行生化分析,每处理3个重复。

1.2 测定方法

1.2.1 单宁含量测定 采用F-D法^[25],称取叶片0.5 g,加50 mL蒸馏水、于60 °C保温箱中过夜,过滤取上清液加入40 mL 80 °C蒸馏水、于80 °C水域中浸提20 min,如此反复3次,最后定容至250 mL。取1 mL上清液,加入70 mL蒸馏水、5 mL F-D试剂及10 mL饱和Na₂CO₃溶液,定容至100 mL,充分摇匀,30 min后在680 nm波长下读取光密度。单宁含量用mg · g⁻¹表示。

1.2.2 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性测定^[25] 称取叶片0.5 g,加5 mL预冷的巯基乙醇硼酸缓冲液、0.1 g聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)及少量石英砂研磨成匀浆,于10 000 g下离心10 min,上清液即为粗酶液。取粗酶液0.1 mL,加入0.02 mol · L⁻¹的L-苯丙氨酸1 mL和0.1 mol · L⁻¹的硼酸缓冲液(pH=8.8)2 mL,混匀后于290 nm处测起始吸光度值,将测定后的各管于30 °C水浴中保温30 min,再与290 nm处测定各管吸光度值。以每30 min吸光度值变化0.01所需酶

量为1个酶活性单位,3次重复。

1.2.3 多酚氧化酶(PPO)活性测定^[25] 称取叶片0.5 g,加入0.05 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH=5.5)及少量石英砂研磨成匀浆,4 000 r·min⁻¹离心15 min,上清液即为粗酶液。取粗酶液0.1 mL,加1.5 mL 0.1 mol·L⁻¹邻苯二酚,1.4 mL磷酸缓冲液,37℃反应10 min。以磷酸缓冲液代替酶液作为对照(调零),420 nm下测定吸光值。3次重复。

1.2.4 过氧化物酶(POD)活性的测定 采用愈创木酚法^[26-27],称取叶片0.5 g于预冷研钵中,加少量石英砂和0.05 mmol·L⁻¹的磷酸缓冲液(pH=5.5)研磨成匀浆,4℃下4 000 r·min⁻¹离心10 min,上清液即为粗酶液。取待测酶液0.1 mL,加愈创木酚和H₂O₂各1.0 mL,磷酸缓冲液2.9 mL,在470 nm下记录2 min内吸光值的变化。3次重复。

1.2.5 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 采用氮蓝四唑(NBT)法^[26-28],粗提液的提取同POD。酶活性测定的反应体系为:粗酶液0.05 mL,0.05 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH=7.8)1.5 mL,EDTA-NA₂溶液、NBT溶液、Met溶液、核黄素溶液各0.03 mL,蒸馏水0.25 mL。将装有上述试剂的试管置于4 000 lx荧光灯下进行显色反应,反应结束后以暗中对照管作空白(调零),在560 nm处测定个管吸光度值。3次重复。

1.2.6 过氧化氢酶(CAT)活性的测定 采用紫外分光光度计法^[26],称取叶片0.5 g,加入0.2 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH=7.8)及少量石英砂研磨成匀浆,4 000 r·min⁻¹离心15 min后上清液即为粗酶液。取粗酶液0.2 mL,加磷酸缓冲液1.5 mL,蒸馏水1.0 mL,25℃预热后,逐管加入0.3 mL H₂O₂,加完后立即计时,在240 nm处测定吸光值。3次重复。

1.3 数据统计分析

数据采用SPSS 19.0软件进行统计平均值和标准误差,对处理结果进行单因素差异显著性分析,并用LSD法对各测定数据进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 MeSA处理对东北玉簪单宁含量的影响

MeSA处理后的东北玉簪叶片单宁含量有不同程度的升高(表1)。经0.01 mmol·L⁻¹ MeSA处理后的单宁含量在第1、3、7天显著高于对照($P<0.05$),在第3天达最大值,为对照的1.15倍,在第5、10、15天趋于对照($P>0.05$);经0.1 mmol·L⁻¹ MeSA处理后的单宁含量在第1、7、10、15天显著高于对照($P<0.05$),在第10天达最大值,为对照的1.27倍,在第3、5天虽高于对照但差异不显著($P>0.05$);经1.0 mmol·L⁻¹ MeSA处理后的单宁含量在第1、3、5天显著高于对照($P<0.05$),在第5天达最大值,为对照的1.38倍,在第7、10、15天恢复对照水平($P>0.05$);经1.5、2.0 mmol·L⁻¹ MeSA处理后的单宁含量在15天内均显著高于对照($P<0.05$),且均在第5天达最大值分别为对照的2.44、2.47倍。

2.2 MeSA处理对东北玉簪PAL活性诱导效应

经0.01 mmol·L⁻¹ MeSA处理后的酶活性在第3、7天显著高于对照($P<0.05$)(表2),在第3天达最大值为对照的1.18倍,在其余各时间点趋于对照水平($P>0.05$);经0.1、1.0、1.5 mmol·L⁻¹ MeSA处理后的酶活性在第1、3、5、7天显著高于对照($P<0.05$),在第5天达最大值且分别为对照的1.62、1.67、1.89倍,在第10、15天均恢复对照水平($P>0.05$);经2.0 mmol·L⁻¹ MeSA处理后的酶活性在第15天内虽高于

表1 MeSA对东北玉簪单宁含量的影响

Table 1 Effect on tannin content of *Hosta ensata* induced by MeSA

浓度 Concentrations/ (mmol·L ⁻¹)	mg·g ⁻¹					
	第1天 The 1st day	第3天 The 3rd day	第5天 The 5th day	第7天 The 7th day	第10天 The 10th day	第15天 The 15th day
对照 Control	0.29±0.03c	0.34±0.02c	0.32±0.03c	0.27±0.03c	0.33±0.01c	0.31±0.02c
0.01	0.33±0.01b	0.39±0.03b	0.31±0.02c	0.34±0.02b	0.31±0.02c	0.33±0.01bc
0.1	0.34±0.02b	0.35±0.03bc	0.33±0.01c	0.35±0.03b	0.42±0.03a	0.35±0.03ab
1.0	0.34±0.02b	0.39±0.02b	0.44±0.01b	0.31±0.03bc	0.35±0.03bc	0.31±0.01c
1.5	0.43±0.01a	0.62±0.05a	0.78±0.06a	0.76±0.04a	0.39±0.03ab	0.36±0.01a
2.0	0.41±0.02a	0.64±0.04a	0.79±0.03a	0.64±0.03b	0.39±0.02ab	0.36±0.01a

同列不同字母表示不同浓度间差异显著($P<0.05$)。下同。

Different lowercase letters in the same column indicate significant difference between different treatment concentrations at the 0.05 level; similarly for the following tables.

<http://cykx.lzu.edu.cn>

表2 MeSA对东北玉簪PAL活性的影响
Table 2 Effect on PAL activity of *Hosta ensata* induced by MeSA

浓度 Concentrations/ (mmol · L ⁻¹)	U · (g · min) ⁻¹					
	第1天 The 1st day	第3天 The 3rd day	第5天 The 5th day	第7天 The 7th day	第10天 The 10th day	第15天 The 15th day
对照 Control	17.78±0.69c	18.56±0.51c	18.00±0.67c	16.89±0.12c	17.56±0.84a	17.11±0.51a
0.01	17.67±1.00c	21.89±0.69b	18.89±0.51c	20.89±0.51b	19.00±0.67a	17.89±0.19a
0.1	23.89±1.02b	22.33±0.67b	29.22±0.51b	20.89±0.51b	19.00±1.00a	18.11±0.69a
1.0	26.89±0.84a	26.33±0.33a	30.11±0.69b	27.11±0.69a	18.22±0.51a	17.33±0.83a
1.5	27.22±0.51a	26.56±0.84a	34.00±1.00a	28.00±0.33a	18.00±0.67a	17.11±0.84a
2.0	17.89±1.07c	19.11±0.69c	19.00±0.33c	17.44±0.84c	17.89±0.69a	17.44±0.51a

对照但差异不显著($P>0.05$)。

2.3 MeSA处理对东北玉簪PPO活性诱导效应

经0.01 mmol · L⁻¹ MeSA处理后的酶活性在第3、5、7天显著高于对照($P<0.05$) (表3), 在第3天达最大值, 为对照的1.88倍, 在第1、10、15天虽高于对照但差异不显著($P>0.05$); 经0.1 mmol · L⁻¹ MeSA处理后的酶活性在第3、5、7、10天显著高于对照($P<0.05$), 在第3天达最大值为对照的1.46倍, 在第1、15天高于对照但差异不显著($P>0.05$); 经1.0 mmol · L⁻¹ MeSA处理后的酶活性在第3、5、10天显著高于对照($P<0.05$), 在第3天酶活性达最大值为对照的2.04倍, 在第1、7、15天趋于对照水平($P>0.05$); 经1.5 mmol · L⁻¹ MeSA处理后的酶活性在第3、7天显著高于对照($P<0.05$), 在第3天达最大值, 为对照的1.36倍, 在其余各时间点趋于对照水平($P>0.05$); 经2.0 mmol · L⁻¹ MeSA处理后的酶活性仅在第7天显著高于对照($P<0.05$), 为对照的1.19倍, 在其余各时间点均趋于对照水平($P>0.05$)。

2.4 MeSA处理对东北玉簪POD活性诱导效应

MeSA处理后的东北玉簪叶片POD活性呈现先升高后降低趋势(表4)。经0.01 mmol · L⁻¹ MeSA

处理后的酶活性仅在第3天显著高于对照($P<0.05$), 为对照的1.29倍, 在其余各时间点趋于对照水平($P>0.05$); 经0.1 mmol · L⁻¹ MeSA处理后的酶活性在第3、5、7、10天显著高于对照($P<0.05$), 在第3天达最大值为对照的1.55倍, 在第1、15天虽高于对照但差异不显著($P>0.05$); 经1.0 mmol · L⁻¹ MeSA处理后的酶活性在第1、3、5、7、10天显著高于对照($P<0.05$), 在第3天达最大值, 为对照的1.59倍, 在第15天略低于对照但差异不显著($P>0.05$); 经1.5 mmol · L⁻¹ MeSA处理后酶活性在第1、3、7天显著高于对照($P<0.05$), 在第3天达最大值为对照的1.32倍, 在第5、10、15天趋于对照水平($P>0.05$); 经2.0 mmol · L⁻¹ MeSA处理后的酶活性仅第7天显著高于对照($P<0.05$), 为对照的1.06倍, 在其余各时间点趋于对照水平($P>0.05$)。

2.5 MeSA处理对东北玉簪SOD活性诱导效应

MeSA处理后的东北玉簪叶片SOD活性呈现先升高后降低趋势(表5)。经0.01 mmol · L⁻¹ MeSA处理后的酶活性在第3、5、7天显著高于对照($P<0.05$), 在第3天达最大值, 为对照的1.37倍, 在第1、10、15天虽高于对照但差异不显著($P>0.05$); 经0.1

表3 MeSA对东北玉簪PPO活性的影响
Table 3 Effect on PPO activity of *Hosta ensata* induced by MeSA

浓度 Concentrations/ (mmol · L ⁻¹)	U · (g · min) ⁻¹					
	第1天 The 1st day	第3天 The 3rd day	第5天 The 5th day	第7天 The 7th day	第10天 The 10th day	第15天 The 15th day
对照 Control	95.00±5.00a	83.33±5.77d	86.67±2.89c	86.67±7.64c	83.33±2.89b	85.00±5.00a
0.01	98.33±2.89a	156.67±7.64b	155.00±5.00a	143.33±7.64a	90.00±5.00b	86.67±2.89a
0.1	96.67±2.89a	121.67±2.89c	116.67±7.64b	101.67±5.77b	98.33±2.89a	90.00±5.00a
1.0	90.00±5.00a	170.00±5.00a	113.33±7.64b	90.00±5.00c	100.00±5.00a	81.67±7.64a
1.5	91.67±7.64a	113.33±7.64c	95.00±5.00c	106.67±5.77b	90.00±5.00b	86.67±7.64a
2.0	93.33±5.77a	86.67±2.89d	90.00±5.00c	103.33±2.89b	85.00±5.00b	85.00±5.00a

<http://cykx.lzu.edu.cn>

表 4 MeSA 对东北玉簪 POD 活性的影响

Table 4 Effect on POD activity of *Hosta ensata* induced by MeSA

U · (g · min)⁻¹

浓度 Concentrations/ (mmol · L ⁻¹)	第 1 天 The 1st day	第 3 天 The 3rd day	第 5 天 The 5th day	第 7 天 The 7th day	第 10 天 The 10th day	第 15 天 The 15th day
0(Control)	36.53±1.14b	37.67±0.70c	38.07±0.81c	36.40±1.51c	36.13±1.33c	36.20±0.72a
0.01	37.53±1.21b	48.73±0.61b	39.53±0.90c	38.00±1.31bc	36.93±0.70c	36.07±1.22a
0.1	38.60±1.11b	58.33±0.74a	43.53±2.50b	42.47±0.70a	38.93±0.99ab	36.27±0.61a
1.0	45.33±1.36a	59.73±0.95a	46.67±1.03a	42.73±0.95a	39.13±0.70a	35.47±1.92a
1.5	38.80±1.40b	49.73±0.70b	39.87±0.50c	38.93±1.17b	37.53±0.50bc	35.20±0.72a
2.0	37.80±1.78b	37.80±1.78c	38.67±0.64c	38.53±0.61b	37.30±0.61c	35.47±1.14a

表 5 MeSA 对东北玉簪 SOD 活性的影响

Table 5 Effect on SOD activity of *Hosta ensata* induced by MeSA

U · g⁻¹

浓度 Concentrations/ (mmol · L ⁻¹)	第 1 天 The 1st day	第 3 天 The 3rd day	第 5 天 The 5th day	第 7 天 The 7th day	第 10 天 The 10th day	第 15 天 The 15th day
0(Control)	70.39±0.71c	77.22±2.93c	82.33±4.26d	86.74±5.21c	72.03±2.59b	73.37±3.85a
0.01	71.80±1.34c	106.10±0.90b	104.38±2.81c	102.30±3.88b	76.39±1.37b	74.75±2.54a
0.1	81.31±0.61b	131.75±4.47a	117.15±3.28b	107.28±2.12b	75.32±2.63b	74.87±3.48a
1.0	92.23±2.30a	136.57±1.40a	136.15±1.61a	120.69±3.71a	85.79±2.96a	72.74±1.93a
1.5	91.34±0.96a	131.40±3.17a	130.65±2.61a	108.08±1.92b	84.79±1.80a	72.29±0.93a
2.0	71.84±1.31c	110.97±3.99b	103.23±6.34c	102.73±2.37b	85.09±3.07a	74.25±4.61a

mmol · L⁻¹ MeSA 处理后的酶活性在第 1、3、5、7 天显著高于对照 ($P < 0.05$), 在第 3 天达最大值, 为对照的 1.71 倍, 在第 10、15 天趋于对照水平 ($P > 0.05$); 经 1.0、1.5 mmol · L⁻¹ MeSA 处理后的酶活性在第 1、3、5、7、10 天显著高于对照 ($P < 0.05$), 在第 3 天达最大值, 分别为对照的 1.77、1.70 倍, 在第 15 天略低于对照但差异不显著 ($P > 0.05$); 经 2.0 mmol · L⁻¹ MeSA 处理后的酶活性在第 3、5、7、10 天显著高于对照 ($P < 0.05$), 在第 3 天达最大值, 为对照的 1.44 倍,

在第 1、15 天虽高于对照但差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.6 MeSA 处理对东北玉簪 CAT 活性诱导效应

经 0.01 mmol · L⁻¹ MeSA 处理后的酶活性在第 3、5、7 天显著高于对照 ($P < 0.05$) (表 6), 在第 3 天达最大值, 为对照的 1.25 倍, 在第 1、10、15 天趋于对照水平 ($P > 0.05$); 经 0.1 mmol · L⁻¹ MeSA 处理后的酶活性在第 3、5、7 天显著高于对照 ($P < 0.05$), 在第 5 天达最大值, 为对照的 1.61 倍, 在第 1、10、15 天趋于对照水平 ($P > 0.05$); 经 1、1.5 mmol · L⁻¹ MeSA 处

表 6 MeSA 对东北玉簪 CAT 活性的影响

Table 6 Effect on CAT activity of *Hosta ensata* induced by MeSA

U · (g · min)⁻¹

浓度 Concentrations/ (mmol · L ⁻¹)	第 1 天 The 1st day	第 3 天 The 3rd day	第 5 天 The 5th day	第 7 天 The 7th day	第 10 天 The 10th day	第 15 天 The 15th day
0(Control)	53.00±2.29c	54.56±1.55d	54.00±2.09d	55.11±1.44c	53.83±1.76a	52.50±0.83a
0.01	55.78±1.64c	68.44±2.20c	61.61±1.84c	62.28±0.79b	53.67±0.76a	54.06±1.25a
0.1	55.72±0.86c	71.28±1.55c	86.83±1.26b	78.44±1.68a	52.00±1.53a	52.89±1.49a
1.0	72.50±1.61b	75.78±2.25b	88.44±0.67b	78.44±0.84a	51.89±1.71a	54.28±1.73a
1.5	88.50±0.60a	88.78±1.75a	102.33±1.69a	80.17±1.09a	54.33±0.60a	53.89±1.67a
2.0	54.89±1.08c	56.11±0.86d	63.11±1.27c	63.00±1.09b	53.06±0.75a	54.22±0.75a

理后的酶活性在第1、3、5、7天显著高于对照($P < 0.05$),在第5天达最大值,分别为对照的1.64、1.90倍,第10、15天恢复对照水平($P > 0.05$);经 $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeSA处理后的酶活性在第5、7天显著高于对照($P < 0.05$),在第5天达最大值,为对照的1.17倍,在其余各时间点均趋于对照水平($P > 0.05$)。

3 讨论

水杨酸类物质作为植物应对胁迫时的重要信号分子,能诱导多种植物产生持续抗性,激发植物体内PAL、PPO、POD等酶活性的表达^[5]。研究表明,MeSA熏蒸后的合作杨(*Populus simonii* × *P. pyramidalis* ‘Opera 8277’)叶片内PAL、PPO、POD活性升高,经SA处理后的棉花叶片PAL、PPO呈先升高后降低趋势^[5,29]。本研究结果表明,不同浓度的MeJA能诱导东北玉簪叶片PAL、PPO、POD活性增加,基本呈先升高后降低趋势,这与前人的研究结果一致。经SA诱导后,重瓣玫瑰(*Rosa rugosa* ‘Plena’)叶片PAL、PPO、POD活性呈先升高后降低趋势,当SA浓度为 1.0 、 1.5 、 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,PAL、PPO、POD活性分别在第3、3、5天达到最大值,且持效期分别为第9、7、7天^[30]。本研究中,当MeSA浓度为 1.5 、 1.0 、 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,PAL、PPO、POD活性分别在第5、3、3天达到最大值,且持效期分别为7、10、10天。这些研究结果与严俊鑫等^[30]的研究结果在变化趋势上相一致,但在诱导的最适剂量、诱导后酶活性出现峰值的时间以及持效期上有所差异,这可能是由于不同植物种类对SA类物质的防御反应存在差异性。

水杨酸类物质作为植物体内信号分子可通过调控 H_2O_2 降解酶的活性而累积 H_2O_2 , H_2O_2 作为第二信使可诱导SOD的合成来提高植物对逆境的抵抗能力^[31]。在对野生稻的研究中发现, $2.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeSA可使SOD活性在36 h时上升到最高随后略有回落^[12]; $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA处理后的水稻(*Oryza sativa*)叶片内SOD活性表现为先升高后降低,在第3天达到峰值^[32]。本研究表明,经MeSA处理后的东北玉簪叶片内SOD活性呈先升高后降低趋势,浓度为 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeSA对SOD活性诱导效果最佳,在第3天使其达到峰值,持效期约为10 d。这些结果在变化趋势和诱导后酶活性出现峰值的时间上与在野生稻和水稻上的研究结果相类似,但最

适浓度以及持效期略有差异,这除了与植物种类间防御反应差异性有关外,可能还与外源物质浓度梯度和取样时间点的选取有关。CAT作为 H_2O_2 降解酶,可清除细胞内多余的 H_2O_2 ,在维持细胞内过氧化物动态平衡过程中与SOD和POD共同发挥重要作用,因此多数学者认为水杨酸类物质在诱导SOD合成的过程中调控的 H_2O_2 降解酶即为CAT,也就是说水杨酸类物质通过抑制CAT活性,提高植物细胞内 H_2O_2 含量,从而达到提高SOD活性的目的^[6]。本研究结果发现,MeSA处理后东北玉簪叶片内CAT活性基本呈先升高后降低趋势,浓度为 $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeSA对CAT活性诱导效果最佳,在第5天使其达到峰值,持效期约为7 d。这一变化趋势与多数学者的观点并不一致,但却与张颖等^[33]对苹果(*Malus pumila*)叶片CAT活性研究结果相类似。由此推测本研究中CAT活性的升高可能是由于MeSA诱导了东北玉簪叶片的氧猝发,而第7天后CAT活性降低趋于对照水平可能是随着时间的延长氧猝发逐渐减弱造成的。单宁作为植物体内关键防御物质之一,可通过与蛋白质的特异性结合从而影响昆虫的取食、消化等^[23]。对黄瓜(*Cucumis sativus*)的试验中发现,SA对黄瓜叶片内单宁含量诱导效果不明显,处理后的叶片内单宁含量略有升高,但与对照相比均差异不显著^[4]。而本研究所使用的5种浓度的MeSA均引起了东北玉簪叶片内的单宁含量显著升高,浓度为 $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeSA对单宁诱导效果最佳,在第5天使其达到峰值,持效期约为15 d。这些结果与杨帆^[4]对黄瓜的研究结果不同,但与王燕芳^[5]的研究结果类似,只是最适浓度、峰值出现的时间以及持效期有较大差异,可能是不同植物对MeSA应激反应不同。

4 结论

本研究使用不同浓度的MeSA对东北玉簪进行处理,得出适宜浓度的MeSA可以提高东北玉簪抗虫相关酶活性及次生代谢物质含量的结论,研究结果认为 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeSA对PPO、POD、SOD活性诱导效果较好, $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeSA对PAL、CAT活性诱导效果较好,而 $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MeSA对单宁含量诱导效果较好。MeSA对观赏植物抗逆性的调控较为复杂,若要以绿色防控完全取代传统防治措施还需要进行更为深入的探讨。

参考文献 References:

- [1] 龚恒亮,安玉兴,管楚雄,刘玉彩. 外源特异性物质诱导植物抗虫性研究及意义. 甘蔗糖业,2010,1(1):1-4.
GONG H L, AN Y X, GUAN C X, LIU Y C. Plant resistance to insects induced by exogenous sources. Sugarcane and Canesugar, 2010, 1(1): 1-4.
- [2] 杨世勇,王蒙蒙,谢建春. 茉莉酸对棉花单宁含量和抗虫相关酶活性的诱导效应. 生态学报,2013,33(5):1615-1625.
YANG S Y, WANG M M, XIE J C. Induction effects of jasmonic acid on tannin content and defense-related enzyme activities in conventional cotton plants. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(5): 1615-1625.
- [3] 杨乃博,伍苏然,沈林波,张树珍,杨本鹏. 植物抗虫性研究概况. 热带农业科学,2014,34(9):61-65.
YANG N B, WU S R, SHEN L B, ZHANG S Z, YANG B P. A review on plant resistance to insect pests. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2014, 34(9): 61-65.
- [4] 杨帆. 水杨酸、茉莉酸甲酯诱导黄瓜对西花蓟马(缨翅目蓟马科)的抗性. 武汉:华中农业大学硕士学位论文,2009.
YANG F. The resistance cucumber induced by exogenous salicylic acid and methyl jasmonate respectively to *Frankliniella occidentalis*. Master Thesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009.
- [5] 王燕芳. 茉莉酸甲酯和水杨酸诱导棉花抗虫性的初步研究. 塔里木:塔里木大学硕士学位论文,2015.
WANG Y F. A preliminary study on induced resistance against cotton insect by methyl jasmonate and salicylate. Master Thesis. Tarim: Tarim University, 2015.
- [6] 夏方山,毛培胜,闫慧芳,王明亚. 水杨酸对植物种子及幼苗抗逆性的影响. 草业科学,2014,31(7):1367-1373.
XIA F S, MAO P S, YAN H F, WANG M Y. Effects of salicylic acid on stress resistance of seeds and seedling. Pratacultural Science, 2014, 31(7): 1367-1373.
- [7] STRATMANN J W. Long distance rrun in the wound response-jasmonic acid is pulling head. Trends in Plant Science, 2003, 8(6):247-250.
- [8] KOO A J K, GAO X L, JONES A D, HOWE G A. A rapid wound signal activates the systemic synthesis of bioactive jasmonates in *Arabidopsis*. The Plant Journal, 2009, 59(6):974-986.
- [9] 苗进,李国平,韩宝瑜. 水杨酸和水杨酸甲酯在植物抗虫中的作用及机制研究进展. 热带作物学报,2007,28(1):111-113.
MIAO J, LI G P, HAN B Y. Study on the function and mechanism of salicylic acid and methyl salicylate in plant insect resistance. Chinese Journal of Tropical Crops, 2007, 28(1): 111-113.
- [10] SESKAR M, SHULAEV V, RASKIN I. Endogenous methyl salicylic in pathogen-inoculated tobacco plants. Plant Physiology, 1998, 116(1):378-392.
- [11] 从春蕾,邹军锐,廖启荣,莫利锋. 蓟马取食、机械损伤以及外源水杨酸甲酯和茉莉酸对菜豆叶片防御酶活性的影响. 昆虫学报,2014,57(5):564-571.
CONG C L, ZHI J R, LIAO Q R, MO L F. Effects of thrips feeding mechanical wounding, and exogenous methyl salicylate and jasmonic acid on defense enzyme activities in kidney bean leaf. Acta Entomologica Sinica, 2014, 57(5): 564-571.
- [12] 吴国昭,曾任森. 外源水杨酸甲酯和茉莉酸甲酯处理对挺立型普通野生稻保护酶活性的影响. 西北农业学报,2007,16(3):82-84.
WU G Z, ZENG R S. The influence of protective enzymes of perpendicular Gaozhou Wild Rice (*Oryza rufipogon*) treated with exterior signal compounds salicylates and jasmonates. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2007, 16(3): 82-84.
- [13] AN Y, SHEN Y B, WU L J. A change of phenolic acids content in poplar leaves induced by *Methyl salicylate* and *Methyl jasmonate*. Journal of Forestry Research, 2006, 17(2):107-110.
- [14] XU Q, XU X, ZHAO Y. Salicylic acid hydrogen peroxide and calcium-induced saline tolerance associated with endogenous hydrogen peroxide homeostasis in naked oat seedlings. Plant Growth Regulation, 2008, 54:249-259.
- [15] KANG G Z, WANG C H, SUN G C, WANG Z. Salicylic acid changes activities of H₂O₂-metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. Environmental and Experimental Botany, 2003, 50(1):9-15.
- [16] TASGIN E, ATICI O, NALBANTOGLU B. Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. Phytochemistry, 2006, 67(7):710-715.
- [17] JANDA T, SZALAI G, TARI I. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) Plants. Planta, 1999, 208(2):175-180.
- [18] BARBEHENN R V, JAROS A, LEE G, MOZOLA C, WEIR Q, SALMINEN J P. Hydrolyzable tannin as "quantitative defense": Limited impact against *lymantria dispar* caterpillars on hybrid poplar. Journal of Insect Physiology, 2009, 55(4):

297-304.

- [19] SINGH B, USHA K. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation*, 2003, 39: 137-141.
- [20] CHEN M S. Inducible direct plant defense against insect herbivores; A review. *Insect Science*, 2008, 15(2): 101-114.
- [21] DUFFEY S S, STOUT M J. Antinutritive and toxic components of plant defense against insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 1996, 32(1): 3-37.
- [22] RITTER H, SCHULZ G E. Structural basis for the entrance into the phenylpropanoid metabolism catalyzed by phenylalanine ammonia lyase. *Plant Cell*, 2004, 16(12): 3426-3436.
- [23] 严俊鑫, 许凌欣, 宇佳, 张永强, 迟德富. 茉莉酸甲酯对重瓣玫瑰抗虫生理指标和双斑萤叶甲取食的影响. *东北林业大学学报*, 2017, 45(1): 77-81.
- YAN J X, XU L X, YU J, ZHANG Y Q, CHI D F. Effects of MeJA on the insect-resistant physiological indexes of rosa rugosa 'Plena' and the feeding of *Monolepta hieroglyphica*. *Journal of Northeast Forestry University*, 2017, 45(1): 77-81.
- [24] 张金政, 张起源, 孙国峰, 何卿, 李晓东, 刘洪章. 干旱胁迫及复水对玉簪生长和光合作用的影响. *草业学报*, 2014, 23(1): 167-176.
- ZHANG J Z, ZHANG Q Y, SUN G F, HE Q, LI X D, LIU H Z. Effects of drought stress and rehydration on growth and photosynthesis of *Hosta*. *Acta Prataculturae Sinica*, 2014, 23(1): 167-176.
- [25] 蔡永平. *植物生理学实验指导*. 北京: 中国农业大学出版社, 2014: 179-181.
- CAI Y P. *Plant Physiology Experiment Guidance*. Beijing: China Agricultural University Press, 2014: 179-181.
- [26] 王学奎, 黄见良. *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社, 2015: 131-133.
- WANG X K, HUANG J L. *Principle and Technology of Plant Physiology and Biochemistry Experiment*. Beijing: Higher Education Press, 2015: 131-133.
- [27] 张彦妮, 雷蕾, 夏斌. 干旱胁迫及复水对黄莲花幼苗生长和生理特性的影响. *草业科学*, 2016, 33(9): 1681-1689.
- ZHANG Y N, LEI L, XIA B. Effects of drought stress and rewatering on seedling growth and physiological characteristics of *Lysimachia davurica*. *Pratacultural Science*, 2016, 33(9): 1681-1689.
- [28] 崔婷茹, 于慧敏, 李会彬, 边秀举, 王丽宏. 干旱胁迫及复水对狼尾草幼苗生理特性的影响. *草业科学*, 2017, 34(4): 788-793.
- CUI T R, YU H M, LI H B, BIAN X J, WANG L H. Effect of drought stress and rewatering on physiological characteristics of *Pennisetum alopecuroides* seedlings. *Pratacultural Science*, 2017, 34(4): 788-793.
- [29] 胡增辉, 沈应柏, 王宁宁, 王金凤, 周艳超, 张志毅. 不同挥发物诱导的合作杨叶片中 POD, PPO 及 PAL 活性变化. *林业科学*, 2009, 45(10): 44-48.
- HU Z H, SHEN Y B, WANG N N, WANG J F, ZHOU Y C, ZHANG Z Y. Activities of POD, PPO and PAL in poplar (*Populus simonii* × *P. pyramidalis* 'Opera 8277') leaves exposed to different volatiles. *Scientia Silvae Sinicae*, 2009, 45(10): 44-48.
- [30] 严俊鑫, 迟德富, 张永强, 庞海玉. JA、SA 对重瓣玫瑰生长发育和防御酶活性的影响. *北京林业大学学报*, 2013, 35(3): 128-136.
- YAN J X, CHI D F, ZHANG Y Q, PANG H Y. Effects of JA and SA on the growth and development as well as defensive enzyme activity of *Rosa rugosa*. *Journal of Beijing Forestry University*, 2013, 35(3): 128-136.
- [31] 王晓玲, 张玉星, 刘鸿儒. 水杨酸对植物的抗性诱导. *北方园艺*, 2008(9): 48-50.
- WANG X L, ZHANG Y X, LIU H R. Salicylic acid resistance to plants. *Northern Horticulture*, 2008(9): 48-50.
- [32] 王海华, 曹赐生, 康健, 曾富华. 水杨酸诱导的水稻对白叶枯病的系统抗性在未处理叶酶活性变化. *中国水稻科学*, 2002, 16(3): 252-256.
- WANG H H, CAO C S, KANG J, ZENG F H. Systemic resistance of rice to bacterial blight induced by salicylic acid and changes in activities of some enzymes in untreated leaves. *Chinese Journal of Rice Science*, 2002, 16(3): 252-256.
- [33] 张颖, 李保华, 董向丽, 梁文星, 李桂舫, 王彩霞. 不同品种苹果叶片对水杨酸的生理响应. *核农学报*, 2016, 30(5): 1005-1012.
- ZHANG Y, LI B H, DONG X L, LIANG W X, LI G F, WANG C X. Physiological response of apple leaves from different cultivars to exogenous salicylic acid. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2016, 30(5): 1005-1012.

(执行编辑 苟燕妮)