

油茶果皮内含物以及缓冲容量与炭疽病的关系研究

董传媛^{1,2}, 曹志华^{1,3}, 束庆龙^{1*}, 胡娟娟¹, 刘洪剑³

(1. 安徽农业大学林学与园林学院, 合肥 230036; 2. 安徽省长丰县林业局, 长丰 231100; 3. 安徽省林业科学院, 合肥 230031)

摘要: 对油茶炭疽病的发病率进行多年定株、定期调查, 筛选出感病程度不同的油茶植株作为研究对象; 在生长季节不同月份, 对不同抗病植株的果皮内含物(单宁、花青素)、缓冲容量进行了测定分析。结果表明, 在发病季节, 各油茶品种的果皮单宁含量随着果实成熟度的增加呈下降趋势, 高抗品种含量比感病品种高出 0.33%; 花青素含量随着果实成熟度增加而增加, 抗病品种含量(11~19.5)远高于感病品种(6.8~10.3); 抗病品种油茶果皮滤液的 pH 值分别小于 5, 低于感病品种; 抗病品种果皮的缓冲容量(5.33~7.48)在趋势上稍低于感病品种的(5.45~7.12)。

关键词: 油茶炭疽病; 单宁; 花青素; pH; 缓冲容量

中图分类号: S763.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2013)05-0736-04

Relationship between anthracnose and fruit inclusions and buffer capacity of *Camellia oleifera*

DONG Chuan-yuan^{1,2}, CAO Zhi-hua^{1,3}, SHU Qing-long¹, HU Juan-juan¹, LIU Hong-jian³

(1. School of Forestry and Landscape Architecture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. Changfeng County Forestry Bureau, Changfeng 231100; 3. Anhui Provincial Academy of Forestry Sciences, Hefei 230031)

Abstract: The incidences of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) were investigated by periodically fixed plants observation to screen out plants with different infected degrees as experimental material. In different months of the growing season, fruit inclusions (tannin, anthocyanins), pH, buffer capacity of different disease resistance were determined and analyzed, and the results were as follows. In the seasonal occurrence of anthracnose, the relations between the incidence rate and plant physiological and biochemical characteristics indicated that the fruit tannins content in every tea oil variety was negatively correlated with the fruit maturity and the incidence, with that in disease-resistant varieties been 0.33% higher than that in the susceptible varieties. The content of anthocyanin in fruit coat of disease-resistant variety (11-19.5) was higher than that in susceptible variety (6.8-10.3), which was positively correlated with the maturity of the fruit. pH value in disease-resistant variety was less than 5, lower than that in susceptible one. Moreover, buffer capacity in disease-resistant variety (5.33-7.48) was lower than that in susceptible one (5.45-7.12).

Key words: *Colletotrichum gloeosporioides*; tannins; anthocyanins; pH; buffer capacity

油茶 (*Camellia oleifera* Abel.) 属山茶科, 山茶属的常绿小乔木或大灌木, 是我国南方地区特有的、重要的木本油料树种。茶油作为一种不饱和脂肪酸含量极高的高级食用油已得到世人公认。油茶炭疽病(*Colletotrichum gloeosporides*)在油茶产区普遍发生, 引起严重落果、落蕾, 降低产量^[1-2]。目前对于该病的防治主要是通过化学防治及无公害防治, 其

中无公害防治包括使用生物源农药及选育抗病品种。选育抗病品种是较安全、经济、有效的途径。

油茶不同物种、品种或单株抗炭疽病的特性有显著的差异, 例如湖南攸县油茶自然感病率极低, 是一个高抗品种; 而广泛种植的普通油茶则是高感品种, 相关文献报道油茶的不同品系之所以对炭疽病的感受性存在着一定的差异, 一方面, 植物自身

收稿日期: 2012-12-31

基金项目: 安徽省农业科技成果转化项目(1104a0303065), 油茶炭疽病无公害治理技术研究(六安市科技攻关)项目共同资助。

作者简介: 董传媛, 女, 硕士。E-mail: yuanyuan7262@163.com

* 通信作者: 束庆龙, 男, 教授。E-mail: qinglongshu@sina.com

的某些物理结构与化学成分具有抗病功效,前者如细胞壁的角质、蜡质、栓质、木质素,特殊的气孔、水孔、皮孔结构等;后者如产生抑制病原物生长的细胞壁成分,合成小分子抑菌物质如植保素,毒性酚类小分子化合物;诱导产生各种病程相关蛋白(PR 蛋白)如几丁质酶、葡聚糖酶等^[3-5]。另外,植物在受到病原物侵染时通过诱导产生的防卫反应抗病,它主要包括释放各种活性氧、表达防卫基因以及发生过敏反应(HR)等^[6-7]。而寄主体内本身含有的有些物质如皂苷、硫苷和生氰糖苷等也具有抗病性。为此,本研究以地处大别山区当地油茶品种为材料,对不同抗病品种果实炭疽病发病率与单宁、缓冲容量和花青素的关系进行研究,为掌握油茶炭疽病在安徽地区的发生发展规律和抗病机理提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

在 2006~2008 年的油茶生长季节,对油茶林的发病率进行定株、定期观察,筛选出高抗、中抗和感病的油茶品种作为测试材料。

高抗品种:简称“高抗”,为目前推广的大别山 1 号油茶良种,发病率为 2.8%。

中抗品种:简称“中抗”,大别山 4 号油茶良种,发病率为 24.7%。

感病品种:简称“感病”,舒城青果(普通油茶),发病率高达 100%。

在生长季节,每个月的中旬采集健康无感病的果实,用湿纱布擦洗干净放入带有标记的塑料袋中,立即装入冰瓶带回, -20℃ 冰箱中保存备用。

1.2 测定方法

1.2.1 单宁含量的测定 取样品 1.000 g 剪碎放入研钵中研磨匀浆,用漏斗小心移入 25 mL 容量瓶中,充分震荡后定容至刻度,用滤纸过滤。吸取 5.0 mL 滤液放入 100 mL 三角瓶中,加入靛红 5.0 mL,蒸馏水 20 mL,用 0.01 mol·L⁻¹ 高锰酸钾溶液快速滴定至黄绿色时,再缓慢滴定至明亮的金黄色,所耗高锰酸钾体积记为 V₁。另取滤液 5.0 mL,加入活性炭 2 g,置水浴上加热搅拌约 10 min,趁热过滤,用热水洗涤 3 次,于滤液中加入靛红 5.0 mL,同上法滴定,记体积 V₂^[8]。

1.2.2 花青素含量的测定 准确称取 1.000 g 油茶果皮和叶片(果皮用小刀刨成约 1 mm 的厚度,叶片剪碎)于磨口瓶中,加入 25 mL 提取剂,放入 THZ-82A 型水浴恒温振荡器中恒温 30℃ 震荡 18~

24 h(以果皮圆片变白色为准)。分别以盐酸甲醇(pH3.0)、盐酸乙醇(pH3.0)、稀盐酸、乙醇、柠檬酸缓冲液(pH3.0)和蒸馏水为提取剂提取不同品种的花青素液,测定样液的吸光度。测定波长范围为 440~650 nm 的全波段扫描^[9]。

1.2.3 缓冲容量的测定 油茶果实滤液的提取。称取待测果实 1.2 g 剪碎,加入 7 mL 蒸馏水研磨匀浆, TGL-16M 台式高速冷冻离心机(6000 r·min⁻¹)离心 15 min,取上清液。

果实滤液的酸度及缓冲容量的测定。植物细胞的细胞质液的酸度和缓冲能力难于直接测定,因此用油茶果实滤液的酸度和缓冲能力近似代表原油茶细胞质液的酸度和缓冲能力。用 PHS-25C 型 pH 测试仪测定提取液的 pH 值。缓冲容量则是通过氢氧化钠滴定果皮滤液,滴定过程中抵抗 pH 值变化的能力作为酸度稳定性的度量,用以表示缓冲能力。缓冲容量以在 5 mL 果皮滤液中滴加 2 mL 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 后 pH 值的变化量表示^[10]。

2 结果与分析

2.1 单宁含量与病害的关系

由图 1 可知:在植物生长早期,果皮中单宁含量较高,随着植株逐渐成熟,5 月上旬果实膨大生长,8 月中旬果实重量增长及油脂转化造成单位单宁含量降低。5~9 月份,高抗、中抗和高感品种单宁含量分别减少了 65.1%、72.8% 和 85.9%,7 月份开始,高抗品种单宁含量下降速率比前期加快了 3.4 倍。

高抗品种的果皮中单宁含量远高于高感品种,差异达到显著水平($P=0.0317$),其中 5 月份高出 0.33%,且高抗品种果皮的单宁含量初始下降速度较感病品种平缓。不同月份油茶果皮单宁含量与果实炭疽病发病率关系的一元回归方程为:

$$Y = -75.522x + 56.77 \quad (R^2 = 0.9808)$$

2.2 果皮花青素含量与发病率的关系

病菌侵染果实时,抗性品种果实 PAL 酶活性增长较快,在花青素的生物合成过程中, PAL 酶是催化合成反应的第一个酶, PAL 活性的增加促进了花青素的合成^[12],即抗性越强,花青素含量越高。在感病初期,高抗品种增长速率高出高感品种 12.1%;在生长发育期间,各油茶品种的果皮花青素含量分别增长了 77.3%、69.4% 和 51.5%,在 8 月份以后合成速率较平缓。不同抗性品种的花青素含量差异达到显著水平($P=0.0108$)。各油茶品种果实发病率与花青素含量之间呈显著的相关关系($R^2=0.8102$)。

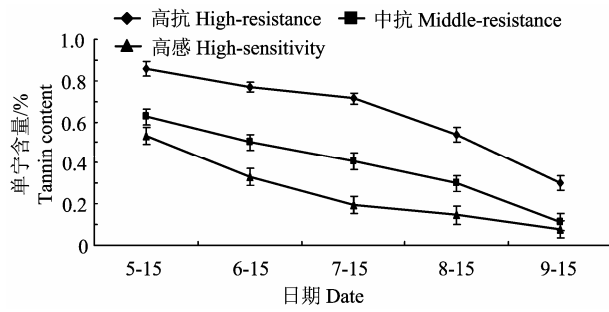


图 1 果皮单宁含量与病害关系

Figure 1 Relationship between the tannin content in fruit coat and the incidence

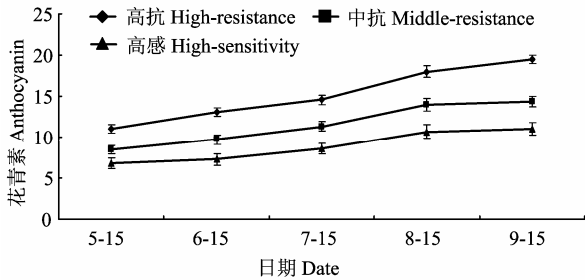


图 2 果皮花青素含量与病害关系

Figure 2 Relationship between the anthocyanin content and the incidence

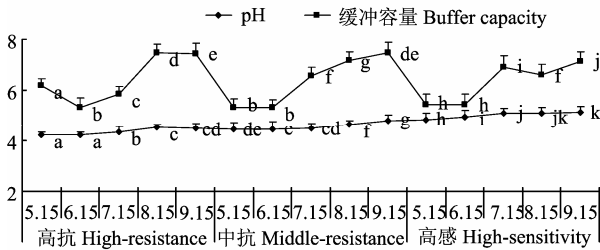


图 3 果皮 pH 值及缓冲容量与病害关系

Figure 3 Relationship between the pH value, buffer capacity of fruit coat and the incidence

2.3 油茶果皮 pH 值及缓冲容量与病害的关系

油茶各植株果皮的 pH 值在 5~9 月间虽然变化不大(见图 3),但是抗病品种和感病品种间差异显著 ($P=0.0423$)。由不同生长期果皮 pH 值与发病率的线性回归分析知, pH 与果实发病率呈显著的正相关 ($R^2=0.8259$),尤其在 7 月份,感病品种 pH 值达到 5 以上,是抗病品种的 1.15 倍。炭疽菌分生孢子在 pH 5~6 中发育最好,抗病品种由于 pH 值小于 5,可显著抑制孢子的萌发^[11],表现出抗病作用。

各油茶品种的果实缓冲液容量随着果实的成熟度增加呈上升的趋势。高感品种缓冲液容量从 5 月份的 5.45 到 9 月份增加到 7.12。此外,抗病性强的

品种缓冲容量高于感病品种,在 5 月份,高抗品种的缓冲液容量高出高感 0.8,且在 7、8 月份增长速率加快。缓冲容量与果实的发病率呈明显的正相关 ($R^2=0.8356$)。

3 小结与讨论

在对舒城县河棚镇的油茶林在调查中发现,不同品种发病率差异极为显著。高抗植株果实感病率为 2.8%,而高感植株果实感病率最高甚至高达 100%,感病率为高抗单株的 4 倍,几近绝产。因此,在油茶的生产经营中,为达到高质、高产、稳产的目的,首先要选择抗病的优良品系进行造林。

植物生理生化代谢抗病可分为 2 种类型:一种是固有的生理生化抗性,如本身存在于植物细胞内的抑制剂,它们主要是酚类化合物,如单宁。单宁酸在不同 pH 条件下的抑菌性能不同,其适宜的 pH 为 4.0~5.0^[13]。当果实发生呼吸跃变时,果实呼吸作用增强,单宁逐渐消失^[14-16]。本实验中随着果实体积的膨大和成熟,单位单宁含量呈下降趋势,与果实成熟度呈负相关,与抗病性呈正相关。另一种是诱导的生理生化抗性,植物细胞内存在的抑制剂酚类化合物在病原菌感染后,其合成与积累加速,如花青素。本实验中抗病品种的花青素含量远远大于感病品种的;抗病品种的果实花青素含量与发病率呈正相关,原因可能是当植物感染炭疽病时,生长发育期,植物体内的花青素含量上升速度较快且较多,可快速抑制炭疽病的发生,因而发病率比感病植株低。

另一方面,植物除了结构抗病及以机械障碍阻止和限制病原真菌的扩展之外,植物本身液相或流动相所呈状态,或受侵后体液状态的改变所构成的不适于病原菌生存和繁殖的环境,也属于生理生化代谢抗病范畴,其主要包括 pH 缓冲能力及酶的组成等等。这些因子本身对病原物并无直接的毒杀或抑制功能,但它们在某些时间或生长阶段特定的组成与含量却能间接的起到抗病抑菌的作用。

参考文献:

- [1] Perrett C M, Evans A V, Russell-Jones R. Tea tree oil dermatitis associated with linear IgA disease[J]. Clin Exp Dermatol,2003, 28: 167-170.
- [2] Weseler A, Geiss H K, Saller R, et al. Antifungal effect of Australian tea tree oil on *Malassezia pachydermatis* isolated from canines suffering from cutaneous skin disease[J]. Schweiz Arch Tierheilkd, 2002, 144: 215-221.
- [3] Lorang J M, Sweat T A, Wolpert T J. Plant disease susceptibility conferred by a "resistance" gene[J]. Proc

- Natl Acad Sci USA, 2007, 104: 14861-14866.
- [4] Nagy E D, Bennetzen J L. Pathogen corruption and site-directed recombination at a plant disease resistance gene cluster[J]. *Genome Res*, 2008, 18: 1918-1923.
- [5] Zhuang J, Liu Z X. The evolution of plant disease resistance gene[J]. *Yi Chuan*, 2004, 26: 962-968.
- [6] Leister D. Tandem and segmental gene duplication and recombination in the evolution of plant disease resistance gene[J]. *Trends Genet*, 2004, 20: 116-122.
- [7] Takakura Y, Che F S, Ishida Y, et al. Expression of a bacterial flagellin gene triggers plant immune responses and confers disease resistance in transgenic rice plants[J]. *Mol Plant Pathol*, 2008, 9: 525-529.
- [8] 陈红英, 林南英, 谢金伦. 塔拉粉中单宁含量的测定[J]. *云南化工*, 2006, 33(1): 44-45.
- [9] Gross J. *Pigments in fruits*[M]. New York: Harcourt Brace Jovanovich, London: Orlando San Diego. Austin Boston Sydney Tokyo Toronto, 1987: 59-71.
- [10] 李青青, 赵辉, 于志明, 等. 染色木材 pH 值与缓冲容量的比较分析[J]. *木材工业*, 2006, 20(6): 17-19.
- [11] 雷治国, 黄永芳, 何会蓉. 油茶及其种质资源研究进展[J]. *经济林研究*, 2003, 21(4): 123-125.
- [12] 杨光道, 段琳, 束庆龙, 等. 油茶果皮花青素糖含量和 PAL 活性与炭疽病的关系[J]. *林业科学*, 2007, 43(6): 100-104.
- [13] McClendon J H, Somers G F, Heubege J W. The occurrence of a variety enzymes hydrolyzing cell wall polysaccharides in apples rotted by *Btryosphaeria ribis*[J]. *Phytopathology*, 1960, 50(4): 258-261.
- [14] 吴献忠. 棉铃不同生育期单宁含量对铃炭疽病的影响[J]. *莱阳农学院学报*, 1991, 8(1): 51-54.
- [15] 何洪英. 单宁的生理活性[J]. *饮料工业*, 2001, 4(5): 19-21.
- [16] 刘国坤, 吴祖建, 谢联辉, 等. 植物单宁对烟草花叶病毒的抑制活性[J]. *福建农林大学学报: 自然科学版*, 2003, 32(3): 292-297.