

# 栽培菊感染菊花白锈病后体内防御酶活性的研究

祝朋芳<sup>1,2</sup>, 赵妮拉<sup>1</sup>, 段玉玺<sup>2</sup>

(1. 沈阳农业大学 林学院, 辽宁 沈阳 110866 2. 沈阳农业大学 植物保护博士后流动站, 辽宁 沈阳 110866)

**摘要:** 对切花菊抗、感品种分别接种菊花白锈病病原菌, 肉眼观察及显微鉴定其症状变化, 并采用分光光度法, 定期测定菊花叶片内 PAL、PPO 及 POD 的活性并进行比较分析, 探讨其与抗病性的关系。结果表明: 在接种后 15 d 内, C039、B86 均未出现明显症状, 而 C002 于接种后第 10 天肉眼可见冬孢子堆, B76 于接种后第 11 天肉眼可见冬孢子堆; 随着病原菌的侵染, 与对照相比, 切花及盆栽的抗、感菊花品种的 PAL、PPO 及 POD 活性均呈不同程度的升高, 活性提高幅度及变化规律因酶而异, 就同一种酶而言, 抗病品种酶活性较感病品种增高幅度大; 在菊花与菊花白锈病病原菌互作过程中, 菊花白锈病的潜育期长短因品种而异, 防御酶活性的动态变化与抗病性密切相关, 这 3 种防御酶活性峰值高低及出现的早晚可作为菊花白锈病早期抗性鉴定的重要生理指标。

**关键词:** 栽培菊; 菊花白锈病; 苯丙氨酸解氨酶; 多酚氧化酶; 过氧化物酶

**中图分类号:** S 682.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)06-0077-04

菊花 (*Dendronthema morifolium*) 是世界主要鲜切花和我国十大传统名花之一, 经济、人文和社会价值显著。菊花白锈病 (*Chrysanthemum white rust*, CWR) 是危害栽培菊花生产的主要病害之一, 并在菊花上广泛传播, 该病由堀氏柄锈菌 (*Puccinia horiana* Henn.) 引起, 已列入世界性检疫病害<sup>[1-4]</sup>。在菊花白锈病的长期防治过程中, 化学药剂一直占有不可取代的地位, 然而长期使用会使其产生不同程度的抗药性, 因此培育抗病菊花新品种对综合防治菊花白锈病具有重要意义。

植物感染病原菌后, 体内的防御酶系会发生一系列有利于植物防御的变化, 苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、多酚氧化酶 (PPO)、过氧化物酶 (POD) 作为防御酶, 在植物抵抗病原菌过程中起到重要的防御作用。PAL 通过催化苯丙氨酸, 合成与抗病有关的酚类、木质素等物质<sup>[5-9]</sup>, PPO 参与酚类化合物氧化, 合成使病原菌钝化醌类物质<sup>[7]</sup>, POD 是细胞内重要的内源活性氧清除剂, 并能使组织中所含的某些碳水化合物转化成木质素<sup>[8]</sup>, 目前尚未见菊花与菊花白锈病病原菌互作过程中菊花体内防御酶系活性变化的相关研究报道。现选取不同抗性的切花、盆

栽菊, 对其接种菊花白锈病病原菌后, 通过研究其体内 PAL、PPO 及 POD 活性的动态变化, 旨在为菊花白锈病抗性的早期鉴定提供有价值的生理指标。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

切花菊抗病品种 C039 和感病品种 C002, 盆栽菊抗病品种 B86 和感病品种 B76, 均由沈阳农业大学菊花课题组提供。菊花白锈病病原菌于 2007 年 5 月从辽宁抚顺市菊花资源圃引种时带入, 供试菌株于密闭环境下由单孢子堆在高度敏感菊花品种“芬华笑日”上活体扩繁后获得。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 病原菌接种及取样** 在超净工作台上, 取带有 5~10 枚叶片且无菊花白锈病病原菌侵染的健康脚芽, 用手指将活体培养的病原冬孢子摩擦涂抹于每片叶的上、下表皮, 进行饱和均匀接种, 将接种后的脚芽微扦插于 1/2MS (仅含大量元素) 固液相培养基中, 用无菌水在容器口表面喷雾, 聚乙烯膜或专用容器盖封口, 保持 24 h 黑暗后, 在 (19±2)℃, 1 000 lx 下培养, 以未接种病原菌的健康微扦插脚芽为对照。在接种前 (0 d) 及接种后连续 15 d 内, 从培养瓶中随机摘取叶片, 每隔 24 h 取样 1 次。取样后随即测定 3 种防御酶活性。每个处理 3 次重复。

**1.2.2 病原菌观察与鉴定** 病原孢子堆观察采用目测法, 显微制片鉴定采用祝朋芳等<sup>[9]</sup>的徒手切片法, 压片后在 Motic BA400 数码显微镜下镜检。

**第一作者简介:** 祝朋芳 (1971-), 女, 博士, 副教授, 现从事花卉遗传育种研究工作。E-mail: pengfangzhu@yahoo.com.cn。

**通讯作者:** 段玉玺 (1964-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 现从事植物病理学研究工作。E-mail: duanyx6407@163.com。

**基金项目:** “十一五”国家科技支撑计划资助项目 (2006BAD01A18); 沈阳农业大学博士后研究基金资助项目。

**收稿日期:** 2010-12-27

1.2.3 防御酶系活性测定 3种防御酶活性测定均采用分光光度法, PAL 活性测定参考何钟佩等<sup>[10]</sup>, 以每小时内 OD 值改变 0.01 为 1 个酶活力单位(U); PPO、POD 活性测定参考郝建军等<sup>[11]</sup>, PPO 活性以每分钟内 OD 值改变 0.01 为 1 个酶活力单位(U), POD 活性以每分钟内每克鲜重生成的愈创木酚单位数来表示, 即愈创木酚 · g<sup>-1</sup>(FW) · min<sup>-1</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 症状观察及病原菌鉴定

接种病原冬孢子后, 切花菊感病品种 C002 于接种后第 10 天肉眼可见叶背面出现淡黄色疱疹状堆状物, 盆栽菊感病品种 B76 于接种后第 11 天肉眼可见叶背面出现上述堆状物, 通过镜检确定其为菊花白锈病病原菌冬孢子堆。在该试验条件下, 切花菊 C002 的潜育期为 10 d, 盆栽菊 B76 潜育期为 11 d。在接种后的 15 d 内, 切花、盆栽菊的抗病品种始终未见明显病症, 切片镜检未发现冬孢子。未接种病原菌的切花、盆栽菊微扦插苗长势良好, 亦始终未见叶片上出现病斑。

### 2.2 不同抗性栽培菊品种 PAL 活性的变化

切花菊感染病原菌后体内 PAL 活性变化见图 1, 当抗病品种 C039 与感病品种 C002 受到病原菌侵染后, 叶片内会立即产生反应, 与对照相比, PAL 活性均呈上升趋势, 且均出现多峰的变化, C039 的 PAL 活性于接种后的第 3 天即出现了第 1 次峰值, 而 C002 在病原菌侵染后 3 d 内, PAL 活性上升趋势不明显。在试验处理的 15 d 内, C039 酶活力一直明显高于 C002, 而未接种的 2 个空白对照 PAL 活性相近, 且均始终维持在一个较低的水平。

盆栽菊接种病原菌后 PAL 活性变化见图 2, 接种后的抗病品种 B86 与感病品种 B76 的 PAL 活性与对照相比, 均呈现波动的变化。在病原菌侵染前期, B76 较 B86 酶活性上升缓慢, 且接种处理的 15 d 内, B86 的 PAL 的酶活力保持在高的水平。未接种的 2 个空白对照 PAL 活性相近, 且未出现明显的波动。

结合图 1~2, 未接种的 B86、B76 的 PAL 的酶活力明显高于 C039、C002, 接种处理后, 2 盆栽菊品种的 PAL 的峰值酶活力均高于切花菊品种。接种菊花白锈病病原菌后, 不同栽培菊品种中 PAL 的响应不同, 不同抗性切花、盆栽菊出现的多峰型波动现象, 可能是由于病原菌冬孢子多次侵染造成的。侵入的病原冬孢子在叶表萌发产生先菌丝, 先菌丝上再产生担孢子, 担孢子飞落附着于菊花叶片后, 可在叶肉组织内大量繁殖形成菌丝束, 菌丝束从气孔处伸出叶表, 再形成冬孢子, 完成 1 次侵染循环, 如果环境适宜, 可发生多次侵染循环<sup>[9]</sup>。PAL 活性升高可使植物体内生成较多木质素从而阻止病原菌菌丝在叶肉组织吸取营养物质。接种后 C002、B76 的

PAL 活性上升缓慢可能与品种抗病能力有关。有研究表明, PAL 活性变化与植物的抗病性呈正相关<sup>[12-13]</sup>。试验中在不同栽培菊花品种上所得到的 PAL 活性动态曲线, 与前人的相关研究结果相符。

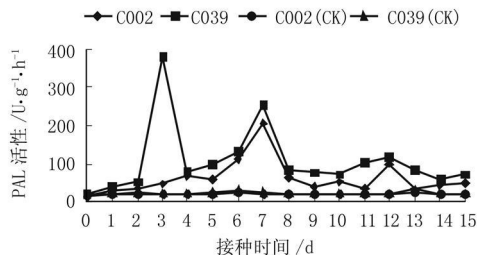


图1 不同抗性切花菊品种接种后 PAL 活性的变化

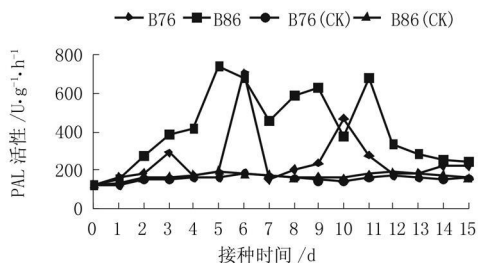


图2 不同抗性盆栽菊品种接种后 PAL 活性的变化

### 2.3 不同抗性栽培菊品种 PPO 活性的变化

图 3~4 为不同抗性切花、盆栽菊接种前后 PPO 活性的动态变化, 与对照相比, 在病原菌侵染后, 切花、盆栽菊 PPO 活性均呈现上升的波动状态, 但 2 个切花菊品种的 PPO 活性均呈双峰型, 盆栽菊的 PPO 活性均呈三峰型。对切花菊而言, 在侵染初期, 抗病品种 C039、感病品种 C002 的 PPO 活性上升速度均较快, 只是在整个过程中, 抗病品种 C039 酶活性增加量较感病品种 C002 高, 盆栽菊的抗病品种 B86 与感病品种 B76 在接种后初期, PPO 活性上升速度均较慢, B86 的 3 个峰值的酶活力均高于 B76。切花、盆栽菊空白对照酶活性差异较小, 且波动不大。接种病原菌后, 切花、盆栽菊的 PPO 活性升高可能是由于 PPO 催化形成的醌类物质限制了病原菌的繁殖和扩散。2 个切花菊品种的双峰曲线及 2 个盆栽菊品种的三峰曲线, 可能是由于病原孢子在适宜的环境条件下发生了多次侵染的原因。有试验证明, PPO 活性在植物防御病原菌中起到重要的作用<sup>[7,14]</sup>, 试验中得出的结果研究符合前人得出的结论。

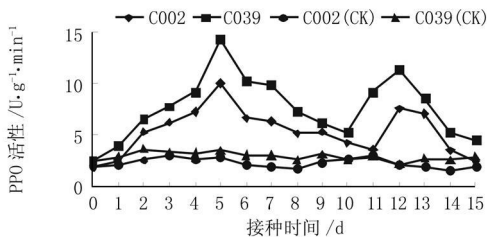


图3 不同抗性切花菊品种接种后 PPO 活性的变化

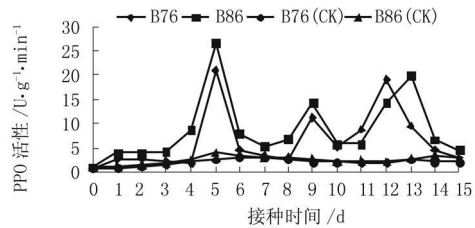


图4 不同抗性盆栽菊品种接种后 PPO 活性的变化

2.4 不同抗性栽培菊品种 POD 活性的变化

由图 5~6 可看出, 当接种病原菌后, 与对照相比, 不同抗性切花、盆栽菊的 POD 活性均呈上升趋势, 均出现波动的变化。在接种后的 15 d 内, 切花菊 POD 活性抗病品种 C039 较感病品种 C002 增加幅度大, 盆栽菊也出现同样的结果。切花、盆栽菊空白对照 POD 活性随时间变化幅度均不大。POD 活性在植物机体防御体系中具有重要的作用<sup>[7]</sup>。试验在接种后, 无论是切花菊还是盆栽菊的抗病品种 POD 活性显著升高且明显高于感病品种, 说明抗病品种清除活性氧能力增强, 而且转化成了较多木质素, 从而防御了病原孢子的进一步侵染。C002、B76 的 POD 活性变化较为滞后, 这可能与品种本身的抗性有关。POD 活性多峰现象的出现可能是由于培养瓶环境条件适宜, 使得病原冬孢子的侵染周而复始。

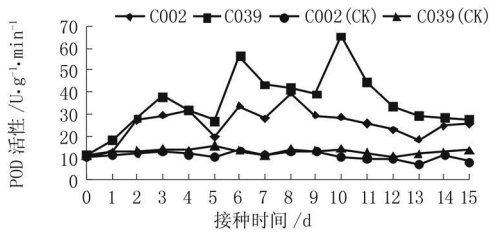


图5 不同抗性切花菊品种接种后 POD活性的变化

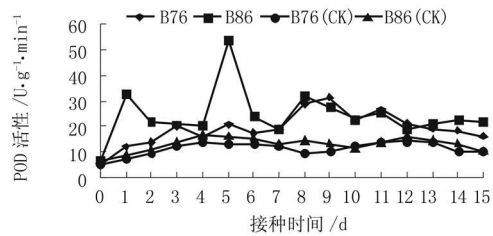


图6 不同抗性盆栽菊品种接种后 POD活性的变化

3 结论与讨论

菊花白锈病病原菌侵入菊花体内主要危害菊花叶片, 试验采用脚芽上的幼嫩叶片为试验材料, 是由于幼嫩叶片较老熟叶片更易感病。试验中采用的改良 MS 固液相培养基能很好的保持微扦插幼苗的鲜活, 且瓶内相对湿度约为 80%~90%, 提供了有利于病原菌萌发和生长的高湿环境条件, 这为试验的成功提供了保证。

切花菊感病品种 C002、盆栽菊感病品种 B76 的潜育

期分别为 10 d 和 11 d, 这可能与 PAL、PPO 及 POD 的防御作用密切相关的, 对 PAL 活性而言, C002 于接种后的第 4 天达到第 1 次较低的峰值, 第 7 天达到比较高的第 2 次峰值, B76 于接种后的第 3 天达到第 1 次低的峰值, 第 6 天达到高的第 2 次峰值, 2 次峰值的酶活性 B76 明显高于 C002; 对 PPO 来说, C002、B76 均于第 5 天达到第 1 次峰值, 只是 B76 达到峰值的酶活性高于 C002; 对于 POD, C002 于第 4 天达到第 1 次峰值, B76 于第 3 天达到第 1 次峰值, 峰值的酶活性差异不大。结果表明, 被病原菌侵染以后, C002 和 B76 体内这 3 种防御酶都出现了相应的反应, 只是从酶活性大小和第 1 次达到峰值的时间, B76 大于且提前于 C002, 由此 C002 比 B76 提前达到潜预期。这从生理角度验证了这 3 种防御酶在菊花与菊花白锈病互作过程中重要的防御作用。

切花菊抗病品种 C039 和盆栽菊抗病品种 B86 在接种处理的 15 d 内, 叶片均未发病, 这可能与品种的抗病能力有关, 其防御能力强于菊花病原菌的侵染能力, 从而表现为抗性。

参考文献

[1] 田秀玲, 夏炳强, 罗风霞, 等. 菊花白色锈病的病原菌和侵染途径的初步研究[J]. 沈阳农业大学学报, 1999, 30: 379-380.  
[2] 王顺利, 刘红霞, 戴思兰. 菊花白锈病菌冬孢子萌发的生物学特性[J]. 林业科学研究, 2006, 19: 391-394.  
[3] Hennings P. Some new Japanese rusts[J]. Hedwigia, 1901, 40: 25-26.  
[4] 王永勤, 黄丛林. 北方菊花白色锈病初报[J]. 北方园艺, 2009(6): 104-105.  
[5] 崔彦玲, 张环. 番茄叶霉病抗性与苯丙氨酸解氨酶的相关性[J]. 华北农学报, 2003, 18(1): 79-82.  
[6] 王莹, 王立浩, 石延霞, 等. 白粉菌侵染过程中不同抗性辣椒品种叶片 3 种酶活性变化[J]. 中国蔬菜, 2009(6): 53-57.  
[7] 秦国政, 田世平, 刘海波, 等. 拮抗菌与病原菌处理对采后桃果实多酚氧化酶、过氧化物酶及苯丙氨酸解氨酶的诱导[J]. 中国农业科学, 2003, 36(1): 89-93.  
[8] 马春红, 翟彩霞, 王立安, 等. 玉米小班病菌 T 小种培养滤液对玉米抗病性的诱导[J]. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1578-1584.  
[9] 祝朋芳, 齐丹, 段玉玺, 等. 菊花白锈病病原菌侵染循环的显微观察[J]. 沈阳农业大学学报, 2010, 41(2): 221-223.  
[10] 何钟佩. 农作物化学控制实验指导[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993.  
[11] 郝建军, 刘延吉. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2001.  
[12] Cachinero J M, Cabello F, Jorin J. Induction of different chitinase and beta-1, 3-glucanase isoenzymes in sunflower seedlings in response to infection by plasmodium halsted[J]. European Journal of Plant Pathology, 1996, 102(4): 401-405.  
[13] Sujay R, Mishra S K, Dasgupta S K. Differential induction of chitinase in powdery mildew resistant and susceptible lines of pea in response to powdery mildew infection[J]. Annals of Agricultural Research, 1999, 20(1): 103-108.  
[14] 李靖, 利容干, 袁文静. 黄瓜感染霜霉病菌叶片中一些酶活性的变化[J]. 植物病理学报, 1991, 21(4): 277-283.

# 不同温度对一串红不同品种生长影响

王志娟, 刘克锋

(北京农学院 北京 102206)

**摘要:** 对不同品种的一串红成株进行不同温度处理: 相对低温 26.87~18.51℃; 相对中温 30.10~18.35℃; 相对高温 35.88~17.70℃, 研究其生长发育状况。结果表明: 温度对所选的 4 个品种生长发育都有影响, 相对低温对一串红的冠幅影响最大, 可差 4 倍, 其次为鲜重、株高、叶量和地径; 相对低温下, 品种因素对一串红的生长发育也有一定的影响, 株高和冠幅受品种影响较显著。

**关键词:** 一串红; 温度; 生长发育

**中图分类号:** S 681.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)06-0080-03

一串红 (*Salvia splendens*) 为唇型科鼠尾草属多年生草本花卉, 原产于南美洲热带地区, 常作 1、2 a 生栽培。其花序修长, 总状花序开花不断, 花期较长, 观赏价

值高, 广泛用作花丛、花坛、组合盆栽, 也用于花境与林缘小道的镶边<sup>[1]</sup>。一串红对温度反应比较敏感, 温度过高, 植株生长发育受阻, 花、叶变小, 15℃以下会使叶片发黄乃至脱落<sup>[2]</sup>。在长期在低温下, 易受冻害。该试验旨在研究温度对一串红不同品种大苗生长的影响规律。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试材为自选品种 一串红 108'、一串红 125'、BI-1' 和 BI-3'。

**第一作者简介:** 王志娟(1982-), 女, 在读硕士, 研究方向为园林植物栽培与生理。E-mail: wzhijuan@139.com.

**通讯作者:** 刘克锋(1955-), 男, 硕士, 研究员, 现主要从事园林植物栽培与生理的研究工作。

**基金项目:** 北京市教育委员会科技发展计划资助项目。

**收稿日期:** 2011-01-12

## Study of Defense Enzymes Activities on Cultivation Chrysanthemum Infected by Chrysanthemum White Rust

ZHU Peng-fang<sup>1,2</sup>, ZHAO Ni-la<sup>1</sup>, DUAN Yu-xi<sup>2</sup>

(1. College of Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866; 2. Plant Protection Center for Post-doctoral Studies Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866)

**Abstract:** We identified symptoms by eyes and under microscope, detected four defense enzymes activity through UV-spectrophotometry termly after inoculating the pathogen to different resistant cut-flowers (C039, C002), potted chrysanthemum (B86, B76) varieties. We focused on activity changes of phenylalanine ammonia lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO), and peroxidase (POD) and after inoculation in order to find relationships of different varieties to resistance. The results showed that we had not found any symptoms on disease-resistant cultivarin 15 days but obvious telia on C002 10 days after inoculation, obvious telia on B76 11 days after inoculation. With infection of the pathogen, activity of PAL, PPO and POD increase compared with their contrasts respectively, the amplitude of improvement and variation on activity differ from one type of enzyme to another, for each enzyme, the acitivity of resistant varieties can be increased to a higher extent than susceptible varieties. Activities changes of the three defense enzymes were closely associated with resistance to *P. horiana* in the whole interaction between chrysanthemum and the pathogen. the length of latent period of chrysanthemum white rust varies in varieties, thus, the height and time of defense enzymes' peak can be regarded as an important physiological indicator when the chrysanthemum is infected with chrysanthemum white rust in the early time.

**Key words:** cultivation chrysanthemum; chrysanthemum white rust; phenylalanine ammonia lyase; polyphenol oxidase; peroxidase