

大白菜品种间根肿病抗性鉴定及抗性生理分析

况 宁 宁, 张 茹 琴, 鄢 洪 海

(青岛农业大学 农学与植保学院, 山东 青岛 266109)

摘 要:通过苗期人工接种抗性鉴定、寄主防御酶活性和抗病相关物质含量变化测定,研究大白菜品种对根肿病的抗性及其对根肿病的影响。结果表明:13个大白菜品种中“87-114”较为抗病,“夏抗王”较为感病,没有免疫品种;大白菜植株接种根肿菌后,抗感品种的PAL、SOD、PPO、POD活性和Pro、MDA含量均呈不同程度的升高,且多数防御酶具有单峰型酶活高峰,活性提高幅度因酶而异。抗病品种寄主防御酶活性较感病品种增加幅度大,并且酶活峰值出现的时间也早于感病品种。

关键词:大白菜;根肿病;抗性;抗性生理

中图分类号:S 436.341.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)11-0140-04

大白菜根肿病是由芸苔属根肿菌侵染引起的一种土传病害。植株发病后,在根部形成大小不一、光滑或龟裂粗糙的肿瘤。该病害在世界各地均有发生^[1]。近年来,在我国一些地区大白菜根肿病发生面积急剧增加,给大白菜生产造成了很大损失。为了有效地防治大白菜根肿病的危害,迫切需要对一些推广的大白菜品种抗根肿病进行鉴定和抗病机制作深入研究^[2],以便更好地合理利用品种的抗病性。现采用苗圃鉴定法对山东地区主栽的大白菜品种抗性进行鉴定,并对其抗性生理进行探讨,旨在为抗根肿病大白菜品种的抗源材料筛选和合理利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种:“87-114”、“夏优 F168”、“胶白 1 号”、“胶白 6 号”、“胶白 8 号”、“夏抗王”、“青杂 3 号”、“早熟 5 号”、“义和黄春白”、“城阳青”、“山东 4 号”、“福山包头”、“鲁白 8 号”,均为山东地区主栽的大白菜品种,由胶州市大白菜研究所提供。供试菌株:采自即墨市移风店镇小李村发病区的白菜根肿病植株。

1.2 试验方法

1.2.1 供试植株培育及接种处理 将预存于-20℃冰箱内的大白菜根肿病根用组织破碎机缓慢捣碎,之后用

4 层纱布过滤,用蒸馏水调配成浓度为 2×10^8 个/mL 的孢子悬浮液^[3]。与草炭土混合均匀,使接种浓度为 2×10^8 cfu/g 土。每个花盆装入 200 g 菌土。在直径 25 cm 的花盆中播种白菜种子,每盆内加入的 200 mL 孢子悬浮液,3 次重复,设不加病菌草炭土为对照,浇透水后置于温室中培育。选取白菜抗病品种“87-114”和感病品种“夏抗王”,于温室盆栽 15 d 时,每盆浇灌 200 mL 孢子悬浮液(浓度同上)^[4],以无菌水为空白对照。接种后 0、12、24、36、48、60、72、84、96 h 分别采集大白菜的根,于-80℃冰箱中冷冻保存备用。

1.2.2 样品采集和发病调查 于接种 40 d 后进行采样调查,每次重复取 10 株,每个处理共 30 株大白菜进行调查^[5],记录各个品种株高和植株鲜重,计算株高/重抑制率。并调查发病株数和发病等级,统计发病率和病情指数。病害分级标准^[6]:0 级:无任何根肿现象;1 级:须根上有明显根肿、主根无肿大现象或根肿不明显、不易区分;3 级:多数须根肿大,主根膨胀且根肿明显;5 级:主根明显肿大,植株无萎蔫、变黄等症状;7 级:主根全部肿大但未腐烂,植株明显萎蔫或变黄停止生长;9 级:根部肿大并腐烂,植株接近死亡。病情指数 = $\sum(\text{发病级代表值} \times \text{各级别病株数}) / (\text{调查总株数} \times \text{最高发病级代表值}) \times 100$;发病率 = $(\text{发病株数} / \text{调查总株数}) \times 100\%$;株高/重抑制率 = $(\text{健株株高} / \text{重} - \text{病株株高} / \text{重}) / (\text{健株株高} / \text{重}) \times 100$ 。

1.3 项目测定

1.3.1 寄主防御酶的提取及活性测定 苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)^[7]、超氧化物歧化酶(SOD)的测定均采用分光光度法,PAL、SOD 活性测定参照高俊凤^[8]的方法,PAL 活性以每分钟

第一作者简介:况宁宁(1984-),女,在读硕士,研究方向为植物和病原体互作机制。

责任作者:鄢洪海(1964-),男,博士,教授,研究方向为植物和病原体互作机制。E-mail:hhyan@qau.edu.cn。

基金项目:山东省科技攻关资助项目(2009GG10009022)。

收稿日期:2012-03-15

内 OD 值变化 0.01 为 1 个酶活单位(U), SOD 以抑制 NBT 光化还原的 50% 为 1 个酶活单位(U)^[9]; PPO、POD 活性测定参照李合生^[10]的方法, 均以每分钟内 OD 值变化 0.01 为 1 个酶活单位(U)。

1.3.2 寄主非酶类抗病相关物质的提取及测定 丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)含量的测定参照高俊凤的方法, 均采用紫外分光光度法^[11]。

2 结果与分析

2.1 品种抗性鉴定

由表 1 可知, 13 个大白菜品种中, “87-114”病情指数最低, 为 37.33, 较抗病; “夏抗王”病情指数最高, 为 75.86, 较感病, 并且二者差异显著。其它品种介于二者之间, 差异较为明显。几个品种的发病率均大于 50%, 其中“87-114”最低为 50.6%, “夏抗王”最高为 100%。

表 1 不同大白菜品种抗性鉴定结果

| 品种 | 发病率/% | 病情指数 | 显著性差异 | |
|-----------|-------|-------|--------|--------|
| | | | P=0.01 | P=0.05 |
| “夏抗王” | 100.0 | 75.86 | A | a |
| “义和黄春白” | 98.8 | 71.45 | AB | ab |
| “早熟 5 号” | 93.5 | 70.23 | BC | bc |
| “胶白 6 号” | 90.4 | 69.22 | C | c |
| “福山包头” | 89.9 | 65.25 | C | c |
| “胶白 8 号” | 88.3 | 61.13 | D | d |
| “胶白 1 号” | 85.5 | 60.00 | DE | de |
| “山东 4 号” | 80.1 | 59.16 | DE | de |
| “鲁白 8 号” | 77.2 | 56.73 | E | e |
| “城阳青” | 70.5 | 52.32 | F | f |
| “青杂 3 号” | 65.7 | 48.10 | F | f |
| “夏优 F168” | 63.5 | 45.67 | G | g |
| “87-114” | 50.6 | 37.33 | G | g |

2.2 品种产量结构因素比较^[11]

2.2.1 不同品种株高抑制率 由表 2 可知, 接种根肿菌后, 对株高的增长产生了抑制, “87-114”对株高的抑制率最小, 抗病性最强; “夏抗王”对株高的抑制率最大, 最不抗病。不同品种间对株高的抑制率不同, 差异较显著。

表 2 不同大白菜品种株高抑制率比较结果

| 品种 | 株高抑制率/% | 显著性差异 | |
|-----------|---------|--------|--------|
| | | P=0.01 | P=0.05 |
| “夏抗王” | 9.54 | A | a |
| “义和黄春白” | 9.47 | AB | a |
| “早熟 5 号” | 9.39 | AB | ab |
| “胶白 6 号” | 9.35 | AB | ab |
| “福山包头” | 9.27 | AB | ab |
| “胶白 8 号” | 9.06 | ABC | abc |
| “胶白 1 号” | 8.32 | ABCD | abcd |
| “山东 4 号” | 8.15 | ABCD | bcd |
| “鲁白 8 号” | 7.92 | BCD | cde |
| “城阳青” | 7.63 | CD | de |
| “青杂 3 号” | 7.59 | CD | de |
| “夏优 F168” | 7.13 | D | de |
| “87-114” | 6.77 | D | e |

2.2.2 不同品种株重抑制率 由表 3 可知, 接种根肿菌后, 不同品种之间对株重的抑制率有极显著差异, 其中“87-114”最低, 为 7.69%, “夏抗王”最高, 为 10.53%, 并且二者之间差异明显。其余品种介于二者之间, 差异明显。

表 3 不同大白菜品种株重抑制率比较结果

| 品种 | 株重抑制率/% | 显著性差异 | |
|-----------|---------|--------|--------|
| | | P=0.01 | P=0.05 |
| “夏抗王” | 10.53 | A | a |
| “义和黄春白” | 10.39 | AB | a |
| “早熟 5 号” | 10.31 | ABC | ab |
| “胶白 6 号” | 10.23 | ABC | abc |
| “福山包头” | 9.85 | BCD | bc |
| “胶白 8 号” | 9.79 | CD | cd |
| “胶白 1 号” | 9.31 | DE | de |
| “山东 4 号” | 9.04 | EF | ef |
| “鲁白 8 号” | 8.93 | EF | ef |
| “城阳青” | 8.82 | EF | ef |
| “青杂 3 号” | 8.76 | EF | f |
| “夏优 F168” | 8.42 | F | f |
| “87-114” | 7.69 | G | g |

2.3 接种根肿病菌后对大白菜寄主防御酶活性的影响

2.3.1 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性变化 由图 1 可知, 感病品种“夏抗王”和抗病品种“87-114”在接种根肿菌孢子悬浮液后, PAL 活性都比对照有了明显的提高。其中, “87-114”在接种根肿菌后 12 h, PAL 活性急剧升高, 24 h 时达到峰值, 活性比对照增加了 95.42%, 之后迅速下降, 60 h 后 PAL 活性基本稳定。“夏抗王”在接种后 PAL 活性缓慢增加, 48 h 时达到高峰, 比对照增加了 67.00%, 之后急剧下降。

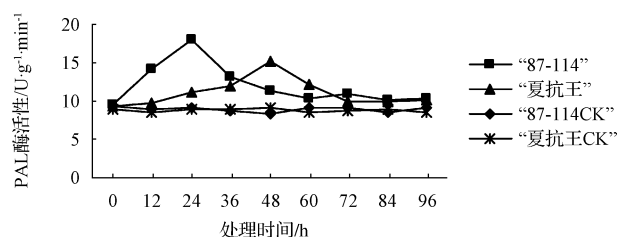


图 1 接种根肿菌后对大白菜寄主根部 PAL 活性的影响

2.3.2 多酚氧化酶(PPO)活性变化 由图 2 可知, 经根肿菌悬浮液接种后, 大白菜根部的 PPO 活性都比对照有了较大的提高。抗病品种“87-114”在处理, 在 36 h 时达到最大值, 比对照高出 63.87%。感病品种“夏抗王”在处理, 酶活缓慢升高, 48 h 时达到最大值, 比对照高出 53.41%。72 h 后, 抗感品种的 PPO 活性趋于平稳。

2.3.3 过氧化物酶(POD)活性变化 由图 3 可知, 当接种根肿菌后, 与对照相比, 不同抗性的大白菜根部的 POD 活性均呈显著上升趋势, 出现波动变化。抗病品种“87-114”接种后, 在 36 h 时达到最大值, 比对照高出

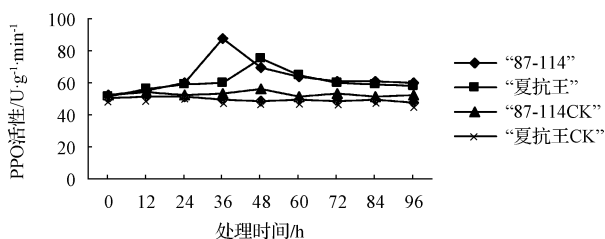


图2 接种根肿菌后对大白菜寄主根部 PPO 活性的影响

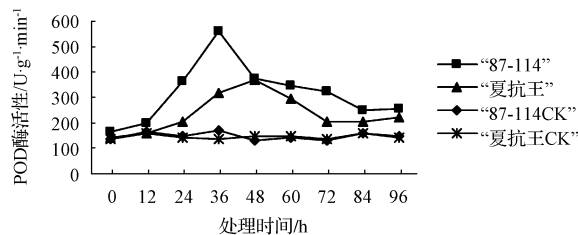


图3 接种根肿菌后对大白菜寄主根部 POD 活性的影响

2.33 倍。感病品种“夏抗王”接种后,酶活上升缓慢,48 h 达到最大值,比对照高出 1.47 倍。“87-114”接种后的 POD 活性的增加值显著高于“夏抗王”。

2.3.4 超氧化物歧化酶(SOD)活性变化 由图 4 可知,经根肿菌悬浮液接种后,大白菜根部的 SOD 活性都比对照有了较大的提高。抗病品种“87-114”处理后 24 h 内酶活性增加比较缓慢,24 h 后迅速升高,36 h 时达到高峰,比对照高出 79.03%。感病品种“夏抗王”处理后酶活性缓慢升高,60 h 时达到最大值,比对照高出 48.07%。

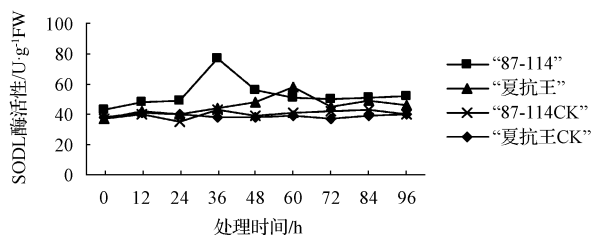


图4 接种根肿菌后对大白菜寄主根部 SOD 活性的影响

2.4 接种根肿菌后对大白菜非酶类物质活性的影响

2.4.1 丙二醛(MDA)含量的变化 由图 5 可知,不同抗性品种在接种根肿菌后,白菜根部的 MDA 含量都发生了明显变化。感病品种“夏抗王”在接种前后含量都普遍高于抗病品种“87-114”。从接种前后 MDA 变化的幅度上来看,感病品种增加的幅度要大于抗病品种。随着接种时间的延长,在靠近 48 h 时感病品种的 MDA 含量有 1 个明显的峰值,而抗病品种变化幅度相对较平缓,在 60 h 有 1 个小的峰值。

2.4.2 脯氨酸(Pro)含量的变化 由图 6 可知,抗病品种“87-114”的 Pro 含量不论在接种前还是接种后都基本高于感病品种“夏抗王”。“87-114”接种后增幅最大的时

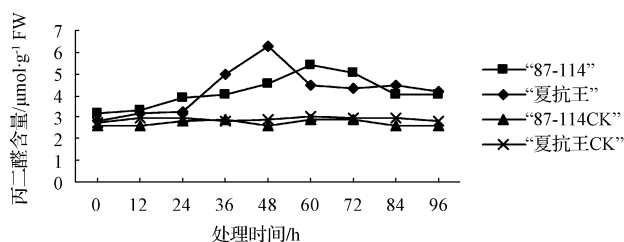


图5 不同品种接种根肿菌后丙二醛含量的变化

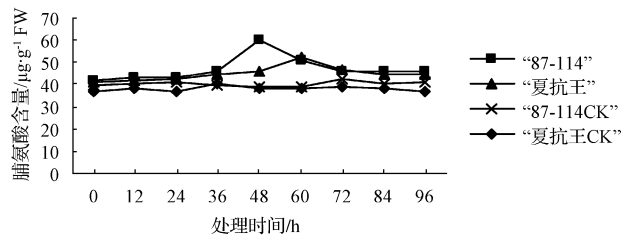


图6 不同品种接种根肿菌后脯氨酸含量的变化

期大约在 48 h,比对照高出 54.83%。“夏抗王”接种后增幅最大的时期大约在 60 h,比对照高出 36.18%。

3 结论与讨论

大白菜不同品种之间对根肿病的抗性存在差异。室内人工接种测定供试的 13 份大白菜材料中“87-114”最抗病,“夏抗王”最感病,多数品种较感病,没有发现对根肿病免疫的品种。植株发病以后,不仅表现地下根部产生瘤肿,主根和侧根生长缓慢,并严重退化,而且植株地上生长也明显迟缓、减缩,与健株比病株株高和株重减少,后期还出现外叶黄化、萎蔫等症状^[12]。

大白菜受到根肿菌的侵染以后,植物体内一些酶类物质和次生代谢物质的活性和含量明显增强。如 PAL、SOD、POD、PPO、Pro、MDA 的活性都比对照有不同程度增强。其中,大白菜根部的 POD 在受到根肿菌侵染后,酶活性升高最为显著,为对照的 2.33 倍。活性升高或含量增加多呈单峰式曲线变化,表现首先增加,达到高峰后又逐渐下降,最后又与对照水平接近变化。有报道,玉米品种对弯孢菌叶斑病的抗性与病菌侵染诱发的体内 PAL、SOD、POD、PPO 密切相关,抗病品种普遍比感病品种活性高,酶活峰值出现早。祝朋芳等^[13]报道,Pro 和 MDA 及 PAL、SOD、POD 与菊花抗白锈病密切相关,抗病植株比不抗病植株的 PAL、SOD、POD 活性和 Pro 含量普遍高,而 MDA 含量普遍少。许多研究都表明植物体内 PAL、SOD、POD、PPO、Pro、MDA 变化与其抗病性密切相关^[14]。因此,大白菜根肿病菌侵染也诱发了大白菜抗病生理改变。

大白菜品种的抗病性与病原菌侵染诱发的寄主防御酶和次生代谢物质的变化关系密切。一方面表现为抗病品种都比感病品种中 PAL、SOD、POD、PPO 的活性和 Pro 含量增高幅度大,品种“87-114”比“夏抗王”PAL、

SOD、POD、PPO 的活性峰值分别高 95.42%、79.03%、2.33 倍、63.87%,Pro 含量最高值高出 54.83%;另一方面表现为抗病品种受侵染诱发的防御酶峰值普遍出现得快、出现得早,“87-114”的 PAL、SOD、POD、PPO 活性高峰分别比“夏抗王”早 24、24、12、12 h,Pro 含量峰值也早 12 h;而 MDA 的含量变化是感病品种“夏抗王”在接种前后含量都普遍高于抗病品种“87-114”,且峰值感病品种也早 12 h。因此,PAL、SOD、POD、PPO 的活性和 Pro、MDA 含量变化是白菜抗病根肿病的重要生理生化基础。

参考文献

- [1] 李森,檀根甲,承河元,等.植物抗病性研究现状与前景展望[J].江西农业大学学报,2002,24(5):731-736.
- [2] Chiang M S, Crete R. Inheritance of clubroot resistance in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.)[J]. Can. J. Genet. Cytol., 1970, 12: 253-256.
- [3] 符明连,杨玉珠,李根泽,等.不同油菜品种对根肿病的抗性分析[J].华中农业大学学报,2011,30(4):443-447.
- [4] 李晓鸥,吴飞燕,钟惠宏,等.大白菜根肿病苗期人工接种抗病性鉴定技术初报[J].中国蔬菜,1990(6):9-10.
- [5] 陈群航,黄建都,陈仁,等.大白菜品种对根肿病抗性鉴定研究[J].现代农业科技,2011(13):116-120.
- [6] 司军,李成琼,宋洪元,等.结球甘蓝对根肿病的抗性鉴定与评价[J].西南大学学报,2009,31(6):27-31.
- [7] 王伟玲,王展,王晶英,等.植物过氧化物酶活性测定方法优化[J].实验室研究与探索,2010,29(4):21-23.
- [8] 高俊凤.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2006:132-135,140-144.
- [9] 张梅,孙治军,王鸿磊,等.L 型蜡样芽孢杆菌对草莓防御酶活性变化的影响[J].北方园艺,2011(9):43-45.
- [10] 李合生.植物生理生化实验原理与技术[M].北京:高等教育出版社,2000:248-249,260-261.
- [11] 蔡丽,王延丽,林春花,等.不同寄主多主棒孢对橡胶树叶片组织防御酶活性的影响[J].热带农业科学,2011,31(4):33-38.
- [12] 梁谊,张爱芳,王文相,等.十字花科蔬菜根肿病研究现状[J].安徽农业科学,2001,29(6):746-749.
- [13] 祝朋芳,赵妮拉,段玉玺,等.栽培菊感染菊花白锈病后体内防御酶活性的研究[J].北方园艺,2011(6):77-80.
- [14] 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 *Plasmopara halstedii*[J]. European Journal of Plant Pathology, 1996, 102(4):401-405.

Evaluation of Resistance and Analysis of Resistance Physiology in Varieties of Chinese Cabbage Infected by *Plasmodiophora brassicae*

KUANG Ning-ning, ZHANG Ru-qin, YAN Hong-hai

(College of Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: The experiment focused on the research of resistance and growth of different varieties of Chinese cabbages infected by *Plasmodiophora brassicae*, according to artificial vaccination of seeding stage and the variation of defensive enzymes and substances relevant to the host defense. The results showed that ‘87-114’ was more resistant than others, ‘Xiakangwang’ was more susceptible to *Plasmodiophora brassicae*, and the kind of complete immunity was not found out from the test race. For resistant and susceptible varieties, the activities of PAL, SOD, PPO, POD and the contents of Pro, MDA were all increased in different degree after inoculating the *Plasmodiophora brassicae*. The most of defensive enzymes existed the unimodal peak of enzyme activity, and the amplitude of improvement in different enzyme was different as well. The activity of resistant variety can be increased to a higher extent than susceptible one, and the peak appeared earlier than that of susceptible.

Key words: Chinese cabbage; *Plasmodiophora brassicae*; resistance; resistance physiology