

大白菜感染甘蓝链格孢后三种抗氧化酶活性的变化

王风敏¹, 谌国鹏¹, 张鲁刚²

(1. 汉中市农业科学研究所, 陕西 汉中 723000; 2. 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:以 2 个抗病和 2 个感病的大白菜品种为材料, 研究人工接种甘蓝链格孢后叶片过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的动态变化及其与抗病性的关系。结果表明:抗病品种在受到甘蓝链格孢感染时, 叶片内 POD 活性反应较感病品种快, 但 POD 活性值上升比感病品种小; 抗病品种在受到病原菌侵染时, 叶片内 CAT 活性反应快, 且一直维持在一个较高的水平, 而感病品种在受病菌侵染后叶片内的 CAT 活性变化缓慢, 变化程度低; 另外无论是抗病品种还是感病品种的 PAL 酶活性在接种后的动态变化有相似规律, 接种后所有品种的 PAL 酶活性均比未接种前增加。

关键词:大白菜; 黑斑病; 甘蓝链格孢; 酶活性; 抗病性

中图分类号:S 634.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)09-0164-03

黑斑病(*Peronospora parasitica*)是大白菜(*Brassica pekinensis* ssp. *chinensis* Makino)重要病害之一, 会造成白菜大幅度减产, 连续使用杀菌剂又会降低其品质, 选用抗病品种是防治该病害最有效的途径之一。有关大白菜抗甘蓝链格孢引起的黑斑病的生理生化指标的研究目前尚未见报道, 该研究拟探明不同抗性大白菜品种在接种黑斑病菌甘蓝链格孢后 CAT、POD 酶的活性变化, 以进一步了解各种酶与大白菜黑斑病抗性之间的关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

经抗病性鉴定的大白菜感病品种 06 杂 29、秦白 2 号, 抗病品种 05 杂 45 ♂、06 杂 61 ♂, 由西北农林科技大学园艺学院白菜课题组提供, 接种病原菌由 5 月份田间采集的病叶上分离纯化得到, 经鉴定为甘蓝链格孢, 编号为 A-1。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌制备 将保存的菌株 A-1 进行回接复壮, 取其 2 代在培养基上生长的产生了大量孢子的菌体制成悬浮液, 稀释至 1 mL 为 1×10^4 个孢子的接种液。

1.2.2 育苗与接种 将以上各种材料的大白菜种子用 10% 次氯酸钠消毒 20 min, 蒸馏水冲洗干净后于 23~26℃ 恒温箱内催芽, 出芽后播于盛有灭菌土壤的营养钵

内, 温室内育苗, 常规管理。于二叶期用孢子浓度为 1×10^4 pfu/mL 的孢子悬浮液喷雾法接种, 接种前、接种后 12、24、36、48、60、72、84 h 时分别取样(去柄叶片), 用于测定生化指标, 3 次重复, 取平均值。

1.2.3 酶活性测定 过氧化物酶(POD)活性的测定参照李合生^[1]的方法。酶活性测定的反应体系包括: 1.3 mL 磷酸缓冲液(pH 7.0)、1 mL 愈创木酚(0.05 mol/L)、0.5 mL H_2O_2 (0.3%) 和 0.2 mL 酶液。过氧化氢酶(CAT)活性的测定参照高俊凤^[2]的方法。酶活性测定的反应体系包括: 2 mL H_2O 、1 mL H_2O_2 (0.3%) 和 0.5 mL 酶液。PAL 活性的测定参照高俊凤^[2]的方法。

2 结果与分析

2.1 抗、感品种接种后感病历程

在接种 12 h 时, 抗、感品种叶片均出现极少的小黑点, 说明已经有少部分病原菌侵染; 接种 24 h 时, 可发现抗病品种的叶片小黑点比感病品种要少很多, 但是无论抗、感品种病斑叶背面均可看到水渍状; 接种 36 h 时, 抗、感品种表现与接种 24 h 时相似; 在接种 48 h 时, 抗、感品种的病斑都有很小程度的扩展, 且抗病品种叶背面水渍状消失; 在接种 60 h 时, 抗、感品种表现与接种 48 h 时相似; 在接种 72 h 时, 可以看出感病品种病斑开始明显扩展, 叶片上病斑比抗病品种的大且多; 在接种 84 h 时, 抗、感品种表现与接种 72 h 时相似。

2.2 不同大白菜材料接种甘蓝链格孢后 POD 含量的动态变化

由图 1 可以看出, 无论抗、感品种接种甘蓝链格孢后 84 h 内, POD 活性的动态曲线均表现为 1 个双峰曲线, 其变化经历了稳定不变、上升、降低、再上升、再降低的过程。抗病品种 05 杂 45 ♂、06 杂 61 ♂ 的第 1 个峰均

第一作者简介: 王风敏(1981-), 女, 河南许昌人, 助理农艺师, 现从事油菜育种工作。E-mail: piaopiao0202@163.com。

基金项目: 国家科技支撑计划资助项目(2006BAD01A7-1-03); 陕西省 13115 工程资助项目(2007ZDKG-05)。

收稿日期: 2010-02-03

出现在接种后 24 h, 叶片内 POD 活性分别比接种前提高了 44.9%、27.3%, 感病品种 06 杂 29、秦白 2 号♀的第 1 个峰均出现在接种后 36 h, 叶片内 POD 活性分别比接种前提高了 70.0%、61.7%; 但是无论抗、感品种的 POD 活性第 2 个峰值均出现在接种后 72 h, 此时抗病品种 05 杂 45 ♂、06 杂 61 ♂叶片内 POD 活性分别比接种前提高了 41.3%、54.8%, 感病品种 06 杂 29、秦白 2 号♀叶片内 POD 活性分别比接种前提高了 72.0%、62.0%。该研究结果表明抗病品种在受到病原菌侵染时, 叶片内 POD 活性反应较感病品种快, 但 POD 活性值上升比感病品种小。

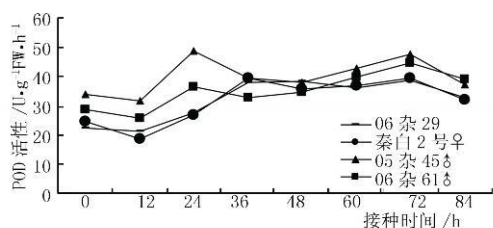


图 1 大白菜接种甘蓝链格孢后 POD 的动态变化曲线

2.3 不同大白菜材料接种甘蓝链格孢后 CAT 含量的动态变化

由图 2 可以看出, 接种病原菌后 84 h 内, 抗病品种 CAT 活性的动态曲线表现为 1 个单峰曲线, 感病品种 CAT 活性的动态曲线表现为 1 个波动变化很小的曲线, 仅有 1 个小峰的出现。抗病品种的峰高且出现的时间早, 感病品种的峰小且峰出现的时间比抗病品种晚。在接种病原菌后, 抗病品种经历了急剧上升、略微下降、几乎不变的过程, 其 CAT 活性一直维持比接种前较高水平; 而感病品种经历了几乎不变、略微下降、上升、下降、再降低的过程, 其 CAT 活性一直跟接种前相差不多。在接种 24 h 时, 抗病品种 05 杂 45 ♂、06 杂 61 ♂CAT 活性均上升至最高值, 分别比接种前提高了 93.3%、173.4%, 在接种 36 h 后, 感病品种 06 杂 29、秦白 2 号♀CAT 活性均上升至最高值, 分别比接种前仅提高了 4.8%、2.9%。说明抗病品种在受到病原菌侵染时, 叶片内 CAT 活性反应快, 且一直维持在 1 个较高的水平; 而感病品种在受病菌侵染后叶片内的 CAT 活性变化缓慢, 变化程度低。

2.4 不同大白菜材料接种甘蓝链格孢后 PAL 含量的动态变化

由图 3 可以看出, 无论抗、感品种在接种后 84 h 内, PAL 活性的动态曲线和 POD 活性的动态曲线一样均表现为 1 个双峰曲线, 抗、感病品种的变化历程几乎一样: 由稳定不变→上升→下降→再上升→下降或几乎不变。虽然抗、感品种的第 1 个峰均出现在接种后 24 h 时, 第 2

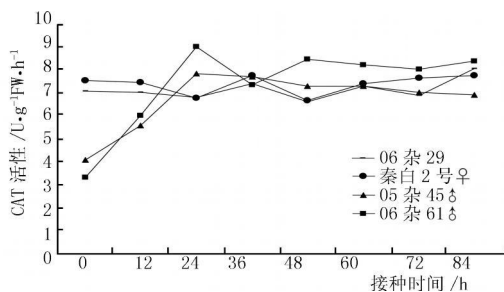


图 2 大白菜接种甘蓝链格孢后 CAT 的动态变化曲线

个峰均出现在接种后 48 h 时; 但是抗病品种在 24 h 出现最高峰后, 活性出现下降, 36 h 达到最低, 随后与 48 h 恢复到正常水平, 感病品种在 24 h 出现最高峰后活性持续提高, 于 48 h 达到最大, 随后于 60 h 降到正常水平。从整体酶活性变化上看, 在病原入侵阶段, 抗、感病品种感染病原菌后叶片内 PAL 活性上升, 而在病原菌扩展阶段, 感病品种持续保持叶片内 PAL 活性上升, 而抗病品种叶片内 PAL 活性出现下降到上升变化, 可见大白菜黑斑病抗病性与 PAL 活性的关系不是很密切。

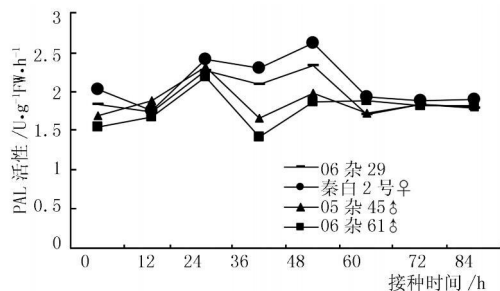


图 3 大白菜接种甘蓝链格孢后 PAL 的动态变化曲线

3 讨论与结论

过氧化物酶在植物体内有组成型表达的, 也有诱导表达的, 而且诱导表达的诱导因子非常广泛, 既有生物类激发子(如各类病原物的侵袭等), 也有高温、冷冻、干旱、风力、重金属离子、机械损伤等非生物类激发子。目前的研究表明, 过氧化物酶在植物体内主要有二方面的作用: 一方面与植物正常的形态发生和形态建成有关, 在植物的生长、发育过程中起作用; 另一方面与植物的抗逆性有关, 包括抗旱、抗寒、抗盐、抗病等, 是植物保护酶系的重要成分之一。大量的研究表明, 过氧化物酶活性与植物的抗病性具有正相关关系^[3]。该研究结果表明, 病原菌入侵后, 抗性材料的 POD 酶活性变化比感病材料快。但品种(资源)对 *A. brassicicola* 的抗性跟接种后的 POD 酶活性的上升倍数呈负相关。但是否可以将 POD 活性峰出现的时间早晚或 POD 活性变化大小作为抗性大小衡量指标的依据, 有待进一步研究。

CAT 是植物细胞的一种保护酶, 主要清除组织内

的活性氧,使其维持在正常水平。宋凤鸣等^[4]指出,棉花幼苗在对枯萎病的抗病反应中,抗病品种组织内的CAT活性无明显变化,而感病品种则有明显的增加;纪明山^[5]指出,玉米接种肿囊腐霉菌后,抗病品种和感病品种的CAT活性与对照相比均有不同程度的增加,且CAT活性与品种抗性呈显著的正相关。该试验结果表明,抗病品种在受到病原菌侵染时,叶片内CAT活性反应快,且一直维持在一个较高的水平,而感病品种在受病菌侵染后叶片内CAT活性变化缓慢,变化程度低。

PAL是苯丙氨酸类代谢形成多种具有抗菌作用产物的定速酶^[6-7]。这些抗菌物质中许多是属于植保素(Phytoalexin)一类物质,如酚类化合物、香豆酸酯类、类黄酮等。PAL自Koukot等发现以来,关于PAL与抗病性的关系研究较多。Minamiauka等首次发现植物感染病原菌后PAL活性有明显增强现象。以后陆续发现多种植物感染病原菌后PAL活性均有升高,并且与植物

的抗病性有密切关系。该研究结果表明,无论是抗性品种还是感病品种的PAL酶活性在接种后的动态变化有相似规律,接种后所有品种的PAL酶活性均比未接种前增加。

参考文献

- [1] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.
- [2] 高俊凤. 植物生理实验指导[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000.
- [3] 阚光锋, 张广民, 房保海等. 烟草野火病菌对烟草细胞内5种防御酶系统的影响[J]. 山东农业大学学报, 2002, 33(1): 28-31.
- [4] 宋凤鸣, 葛秀春, 郑重. 活性氧及膜脂过氧化与棉花对枯萎病抗性的关系[J]. 植物病理学报, 2001, 31(2): 110-116.
- [5] 纪明山. 玉米腐霉菌茎腐病抗性机制研究[J]. 植物病理学报, 2001, 31(4): 374-375.
- [6] 王敬文, 薛应龙. 植物苯丙氨酸解氨酶的研究[J]. 植物生理学报, 1981, 7(4): 373-375.
- [7] 王敬文, 薛应龙. 植物苯丙氨酸解氨酶的研究II[J]. 植物生理学报, 1982, 8(1): 35-37.

Study on Relationship Between Resistance Against *Alternaria brassicicola* and Variation of three Antioxidases Activities of Chinese Cabbage

WANG Feng-min¹, CHEN Guo-peng¹, ZHANG Lu-gang²

(1. Hanzhong Agricultural Sciences Institute, Hanzhong, Shanxi 723000; 2. College of Horticulture, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shanxi 712100)

Abstract: The relationship between the activity of CAT, POD, PAL and the resistances to *Alternaria brassicicola* were studied. The results showed that POD activity in the resistant cultivars raised earlier than in the susceptible ones after inoculation with *A. brassicicola*, but the highest point of POD activity in the resistant cultivars was lower than in the susceptible cultivars; The activities of CAT in the resistant cultivars raised earlier and kept a high level after inoculation with *A. brassicicola*, but slow and small change in the susceptible cultivars; The dynamic change of PAL activity were similar in susceptible and resistant varieties after inoculation with *A. brassicicola*, which was that the activities of PAL were increased after inoculation with *A. brassicicola*.

Key words: Chinese cabbage; black leaf spot; *A. brassicicola*; enzymes activities; disease resistance

知识窗

我国尚无进口转基因粮食种子在国内种植

截至目前,农业部从未批准任何一种转基因粮食作物种子进口到中国境内商业化种植,在国内也没有转基因粮食作物种植。依据《条例》及配套规章,农业部对进口农业转基因生物按照用途分三类进行管理:一是用于研究和试验的,二是用于生产的,三是用作加工原料的。进口用作加工原料的农业转基因生物安全证书申请程序包括两个环节:一是境外研发商向农业部申请安全证书,经我国第三方检测机构在中国境内检测,并经安委会评审合格的,由农业部批准发放进口用作加工原料安

全证书。二是境外贸易商凭研发商获得的安全证书等资料,向农业部申请每船进口安全证书,农业部批准后发放每批次进口安全证书。

截至目前,经安委会评审,农业部已先后批准了转基因棉花、大豆、玉米、油菜4种作物的进口安全证书,除棉花外,其余进口作物用途仅限于加工原料。农业部至今没有批准任何一种转基因粮食作物种子进口到中国境内商业化种植。