

大蒜白腐病菌对寄主防御酶系活性的影响

张林青^{1,2},程智慧¹

(1 西北农林科技大学 园艺学院,陕西 杨凌 712100;2 淮阴工学院 园艺与景观工程系,江苏 淮安 223001)

【摘要】 【目的】研究病原菌侵染后不同抗感品种汉中红皮蒜和苏联改良蒜防御酶体系的变化。【方法】每个大蒜品种取生长一致的蒜苗30株人工接种病菌,待植株出现明显症状后,从发病植株和未发病植株的生长点处,采集幼嫩组织测定防御酶活性的变化。【结果】当白腐病菌侵染大蒜后,激活寄主体内相关防御酶系,使苯丙氨酸解氨酶(PAL)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)4种酶活性明显提高,抗病品种汉中红皮蒜的酶活性升高幅度大于感病品种苏联改良蒜;而过氧化氢酶(CAT)活性下降,抗病品种汉中红皮蒜的酶活性下降幅度低于感病品种苏联改良蒜。【结论】防御酶活性高低与大蒜品种的抗性关系密切。

【关键词】 大蒜;白腐病菌;寄主;防御酶系

【中图分类号】 S432.2⁺2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)04-0171-04

Effect of white rot pathology (*Sclerotium cepivorum* Berk.) on defensive enzymes of garlic

ZHANG Lin-qing^{1,2},CHENG Zhi-hui¹

(1 College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Department of Horticulture and Landscape Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an, Jiangsu 223001, China)

Abstract:【Objective】The experiment aimed at making clear the changes of defensive enzymes after inoculation by *Sclerotium cepivorum* Berk. in two different resistant cultivars. 【Method】Thirty garlic seedlings were inoculated with germs. After obvious symptoms appeared, the changes of defensive enzymes were determined in health and sick plants. 【Result】The inoculation of pathology could activate the activities of defensive enzymes in garlic. The results suggested that activities of PAL, SOD, POD and PPO were increased after inoculating regardless of in resistant cultivars or susceptible cultivars, and the enzyme activities in resistant cultivar Hanzhong Red Skin were higher than those of susceptible cultivar Gailiang. However, the activities of CAT was lower after inoculating regardless of resistant cultivars or susceptible cultivars, and the activities of CAT in susceptible cultivar dropped more than that in resistant cultivar. Resistance of the different garlic cultivars was significantly correlated with the defensive enzymes. 【Conculison】The activity of defensive enzymes is closely related with the resistance of cultivars.

Key words: garlic; *Sclerotium cepivorum* Berk.; host; defensive enzymes

大蒜白腐病是大蒜的毁灭性病害,主要危害大蒜的根、鳞茎和叶,苗期会造成田间缺株死苗,严重

者导致绝收。前人曾对田间发生的白腐病病原进行了鉴定,发现白腐病的病原为半知菌亚门小核菌属

* [收稿日期] 2007-09-25

[基金项目] 中德农业部科技合作项目(06-37);国家“十五”科技攻关项目(2004BA516A09)

[作者简介] 张林青(1978—),女,山东东阿人,讲师,在读博士,主要从事蔬菜栽培生理生态研究。E-mail:linqingzhang@sina.com

[通讯作者] 程智慧(1958—),男,陕西兴平人,教授,博士生导师,主要从事蔬菜栽培生理生态和生物技术研究。
E-mail:chengzh@nwsuaf.edu.cn

白腐小核菌(*Sclerotium cepivorum* Berk.),并提出多菌灵、扑海因和戊唑醇等药剂对白腐病有一定防治效果,土壤日晒和轮作换茬对其也有较好的防治效果,但尚未找到简洁有效的防治方法,对该病菌致病和寄主抗性机制也缺乏系统研究^[1-3]。作为土传病害,种植抗病品种是最为有效的防治措施。因此,培育抗白腐病的大蒜新品种是目前育种部门的主攻目标。但由于抗病育种工作中缺乏操作性强的抗病育种指标,往往在品种育成后才进行抗病性鉴定,易导致花费大量人力物力育成的丰产优质品种出现不抗病现象。因此,在育种过程中制定一个易于操作的抗病性指标就显得非常重要。为此,本试验从病原物与寄主互作的角度出发,对病原菌侵染后不同抗感品种防御酶系的变化进行了研究,以期为大蒜抗病品种选育中生理生化指标的确定提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试品种

感病大蒜品种为苏联改良蒜,抗病大蒜品种为汉中红皮蒜。

大蒜白腐病病菌菌种分离自陕西杨凌田间具有典型白腐病症状的发病大蒜植株上,并经柯赫氏法则确认后培养保存。

1.2 大蒜苗的处理

每个大蒜品种选取大小一致的 40 个蒜瓣,在 10 mol/L 次氯酸钠溶液中杀菌 10 min,然后用无菌水冲洗 3 次,播种于营养钵中,置于光照强度 2 000 lx、12 h 光照/12 h 黑暗、白天温度 18 ℃、夜间温度 12 ℃培养箱中培养。对照营养钵内为高温灭菌(120 ℃,30 min)后的珍珠岩,处理营养钵为高温灭菌的珍珠岩+病菌菌丝。待植株出现明显白腐病症状时取样,分别从 5 株发病植株(处理)和未发病植株(对照)的生长点处采集幼嫩组织。

1.3 酶的提取

参照 Lamb 等^[4]的方法进行。取出冰柜中保存的大蒜叶片,剪去叶尖,取叶片中上部,用滤纸吸干水后,称取 1.0 g 叶片,加 2.0 mL 0.2 mol/L、pH 8.8 的硼酸钠缓冲液(内含 5 mmol/L 巯基乙醇,1 mmol/L EDTA),加少许石英砂研磨成匀浆,并用 2.0 mL 硼酸钠缓冲液冲洗残留部分,转入离心管。搅动 5 min 后,16 000 r/min 离心 20 min,吸取上清液即为酶粗提液。

1.4 酶活性的测定

苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)活

性按陈捷等^[5]的方法测定,超氧化物歧化酶(SOD)活性按邵从本等^[6]的方法测定,多酚氧化酶(PPO)活性按刘曼西等^[7]的方法测定,过氧化氢酶(CAT)活性按曾韶西等^[8]的方法测定。

2 结果与分析

2.1 白腐病菌侵染对 2 个大蒜品种 PAL 活性的影响

由图 1 可见,白腐病菌侵染大蒜后,2 个大蒜品种间 PAL 活性均较其对照有不同程度提高,其中抗病品种汉中红皮蒜处理和对照的 PAL 活性分别为 354.82 和 194.50 U/(g·h),处理较对照增加了 82.43%;感病品种苏联改良蒜处理和对照的 PAL 活性分别为 229.67 和 166.01 U/(g·h),处理较对照增加了 38.35%,明显低于汉中红皮蒜的 PAL 活性提高幅度。

2.2 白腐病菌侵染对 2 个大蒜品种 SOD 活性的影响

从图 1 可以看出,白腐病菌侵染大蒜后,2 个大蒜品种间 SOD 活性均较其对照有不同程度提高,但提高幅度不同,抗病品种汉中红皮蒜的增幅为 69.89%,感病品种苏联改良蒜的增幅仅为 14.46%。

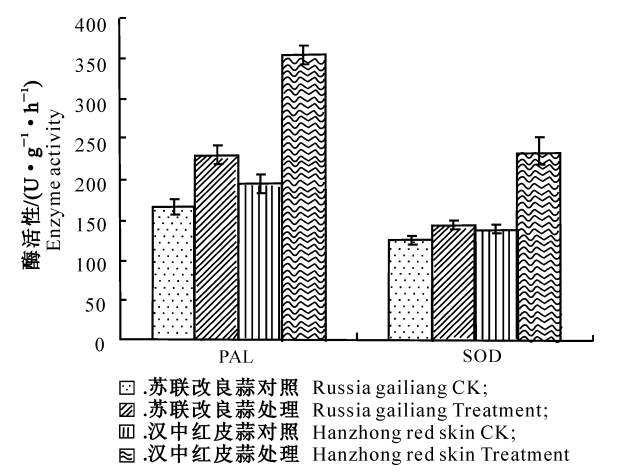


图 1 2 个不同抗性大蒜品种接种白腐病菌后 PAL 和 SOD 活性的变化

Fig.1 Changes of PAL and SOD in two different resistant cultivars after inoculation by *Sclerotium cepivorum* Berk.

2.3 白腐病菌侵染对 2 个大蒜品种 PPO 活性的影响

由图 2 可以看出,接种白腐病菌能提高大蒜 PPO 活性。汉中红皮蒜对照和处理的 PPO 活性分别为 76.72 和 123.80 U/(g·min),而苏联改良蒜分别为 67.58 和 85.25 U/(g·min)。苏联改良蒜处理的 PPO 活性较对照的增幅(26.15%)低于汉中红皮蒜(61.37%)。

2.4 白腐病菌侵染对 2 个大蒜品种 POD 活性的影响

由图 2 可知,接种白腐病菌后,2 个大蒜品种的 POD 活性均得到提高。抗病品种汉中红皮蒜对照和处理的 POD 活性分别为 32.06 和 48.67 U/(g·min),而感病品种苏联改良蒜分别为 28.22 和 33.15 U/(g·min)。与对照相比,感病品种处理的 POD 活性增幅(17.45%)低于抗病品种(51.81%)。

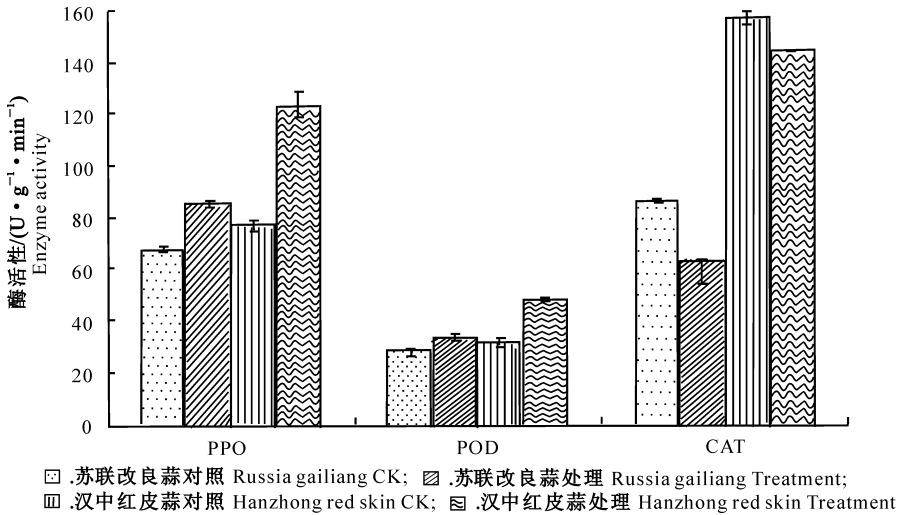


图 2 2 个不同抗性大蒜品种接种白腐病菌后 PPO、POD 和 CAT 活性的变化

Fig. 2 Changes of PPO,POD and CAT in two different resistant cultivars after inoculation by *Sclerotium cepivorum* Berk.

3 小结与讨论

植物受病原菌侵染或诱导处理后,与抗病反应密切相关的保护性酶活性升高是诱导抗性产生的重要机制之一,其中 PPO、SOD、POD、CAT 和 PAL 是存在于植物体内与抵抗病原微生物侵染有关的重要酶。

大蒜白腐病菌侵染大蒜后,可激活大蒜的主要防御酶系,其中 PAL、SOD、PPO 和 POD 4 种防御酶活性升高明显,这与大多数前人在其他作物上的研究结果^[9-15]是一致的。接种白腐病菌后,2 个大蒜品种的发病情况表现出明显差异,抗病品种汉中红皮蒜发病率为 10.42%,苏联改良蒜的发病率则高达 32.55%。而本试验接种白腐病菌后抗病品种汉中红皮蒜的 PAL、SOD、PPO 和 POD 活性升高幅度均大于感病品种苏联改良蒜,两者的发病率与其体内的酶活性关系密切。说明大蒜产生各种防御酶是其对大蒜白腐病菌的抗性机制之一。研究中还发现,大蒜白腐病菌侵染后大蒜中的 CAT 活性下降,这表明大蒜对白腐病菌的侵染可能还存在其他抗性

2.5 白腐病菌侵染对 2 个大蒜品种 CAT 活性的影响

由图 2 可以看出,CAT 活性与其他酶活性不同,2 个大蒜品种接种白腐病菌后,叶片 CAT 活性均显著低于对照。感病品种苏联改良蒜处理和对照的 CAT 活性分别为 62.97 和 86.50 U/(g·min),而抗病品种汉中红皮蒜分别为 144.52 和 157.30 U/(g·min)。感病品种和抗病品种处理的 CAT 活性较对照的下降幅度分别为 27.20%和 8.14%。

机制,需要进一步研究。

[参考文献]

[1] 商鸿生,王树权.关中大蒜病害调查和病原鉴定[J].西北农业大学学报,1998,26(6):101-104.
Shang H S, Wang S Q. Disease survey and pathogen identification of garlic (*Allium sativum* L.) in Central Shaanxi Province [J]. Journal of Northwest Agricultural University, 1998, 26 (6):101-104. (in Chinese)

[2] 盛红梅,贾迎春,陈秀蓉.大蒜病害调查病原鉴定及其防治[J].甘肃农业大学学报,2003,38(2):194-199.
Sheng H M, Jia Y C, Chen X R. Disease survey and pathogen identification of garlic (*Allium sativum*) and control methods [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2003, 38 (2): 194-199. (in Chinese)

[3] Melero-Vara J M, Pradoes-Ligero A M, Basallote-Ureba M J. Comparison of physical, chemical and biological methods of controlling garlic white rot[J]. European Journal of Plant Pathology, 2000, 106:581-588.

[4] Lamb C J, Rubery P H. Phenylalanine ammonia-lyase and cinnamic acid 4-hydroxylase: product repression of the level of enzyme activity in potato tuber discs[J]. Planta, 1976, 130 (3): 283-290.

- [5] 陈捷, 蔺瑞明, 高增贵, 等. 玉米弯孢叶斑病菌毒素对寄主防御酶系活性的影响及诱导抗性效应[J]. 植物病理学报, 2002, 32(1): 43-48.
- Chen J, Lin R M, Gao Z G, et al. The influence of *Curvularia lunata* toxin on defense enzyme activities and its function in the induced in the induced resistance of corn [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2002, 32(1): 43-48. (in Chinese)
- [6] 邵从本, 罗广华. 几种检测超氧化物歧化酶反应的比较[J]. 植物生理学通讯, 1983(5): 46-49.
- Shao C B, Luo G H. The comparison of several methods for determining the activity of superoxide dismutase[J]. Plant Physiology Communications, 1983(5): 46-49. (in Chinese)
- [7] 刘曼西, 于秀芝. 有机酸对马铃薯多酚氧化酶活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(5): 350-353.
- Liu M X, Yu X Z. Effect of organic on activity of polyphenoloxidase in solanum tuberosum [J]. Plant Physiology Communications, 1991, 27(5): 350-353. (in Chinese)
- [8] 曾韶西, 王以柔, 刘鸿先. 低温光照下与黄瓜子叶叶绿素降低有关的酶促反应 [J]. 植物生理学报, 1991, 17: 177-182.
- Zeng S X, Wang Y R, Liu H X. Some enzymatic reactions related to chlorophyll degradation in cucumber cotyledons under chilling in the light [J]. Acta Phytophysiologica Sinica, 1991, 17: 177-182. (in Chinese)
- [9] 贺字典, 高增贵, 庄敬华, 等. 玉米丝黑穗病菌对寄主防御相关酶活性的影响[J]. 玉米科学, 2006, 14(2): 150-151.
- He Z D, Gao Z G, Zhuang J H, et al. Effect of Maize head smut pathology (*Sphacelotheca reiliana*) on the major defensive enzymes of host [J]. Journal of Maize Sciences, 2006, 14(2): 150-151. (in Chinese)
- [10] 李保聚, 李风云. 黄瓜不同抗性品种感染黑星病菌后过氧化物酶和多酚氧化酶的变化[J]. 中国农业科学, 1998, 31(1): 86-88.
- Li B J, Li F Y. Changes in activities and eletrophoretic patterns of peroxidase and polyphenoloxidase in cucumbers during infection with *Cladosporium cucumerum* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 1998, 31(1): 86-88. (in Chinese)
- [11] 李亚玲, 龙书生, 郭军战, 等. 玉米感染禾谷镰刀菌后 PAL、POD 活性和同工酶谱的变化[J]. 西北植物学报, 2003, 23(11): 1927-1931.
- Li Y L, Long S S, Guo J Z, et al. Change s of activities of PAL and POD and bands of POD isozyme of susceptible and resistant corn infected with *Fusarium graminearum* [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2003, 23(11): 1927-1931. (in Chinese)
- [12] 李广旭, 杨华, 高圣华, 等. 轮纹病菌侵染对不同抗性苹果品种膜透性及防御酶的影响[J]. 植物保护学报, 2006, 33(2): 127-130.
- Li G X, Yang H, Gao S H, et al. The effects of infection of *Botryosphaeria berengiana* f. sp. Piricola on cell membrane permeability and defendant enzymes in different resistance cultivars of apple [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2006, 33(2): 127-130. (in Chinese)
- [13] 马国华, 王铨茂. 水稻品种过氧化物酶活性和木质素含量与抗稻瘟病菌的关系(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(4): 264-267.
- Ma G H, Wang Z M. Relationship between peroxidase activity and lignine content in rice cultivars and resistance to *Pyricularia oryzae* [J]. Plant Physiology Communications, 1992, 28(4): 264-267. (in Chinese)
- [14] 何晨阳. 双核丝核菌诱导水稻增强广谱抗病性和防卫酶系活性[J]. 植物病理学报, 2001, 31(3): 208-213.
- He C Y. Induction of enhanced broad-spectrum resistance and defense enzyme activities in rice by *Binucleate rhizoctonia* Species [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2001, 31(3): 208-213. (in Chinese)
- [15] 曹赐生, 肖用森. 杂交稻不同抗性组合感染白叶枯病菌后几种酶活性的变化 [J]. 杂交水稻, 2001, 16(4): 45-47.
- Cao C S, Xiao Y S. Activity changes of some enzymes in hybrid rice combinations with different resistance after inoculation with *Xanthomonas campestris* PV. *Oryzae* [J]. Hybrid Rice, 2001, 16(4): 45-47. (in Chinese)