

## 不结球白菜感染菌核病后 4 个生理生化指标分析

马景蕃<sup>1</sup>, 刘喜明<sup>2</sup>, 黄素华<sup>1</sup>, 王 华<sup>1</sup>

(1. 龙岩学院生命科学学院, 龙岩 364000; 2. 龙岩学院资源工程学院, 龙岩 364000)

**摘 要:** 选用 4 个对菌核病具有不同抗性的不结球白菜品种 003-R-6、Y3-R-4、109-S-9 和 003-S-7 为试验材料, 于四叶一心期接种核盘菌, 采用苗期琼脂块叶片接种法测定各品种对菌核病的抗性, 并分别测定接种前后叶片中 4 个生理生化指标。结果表明, 苗期琼脂块叶片接种法与田间自然诱发鉴定结果相一致, 可有效反映抗、感品种的差异。在核盘菌影响下, 4 个抗、感病品种中不结球白菜的丙二醛(MDA)含量、游离氨基酸(FAA)总量、几丁质酶活性和  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性均有所变化。其中丙二醛(MDA)含量、游离氨基酸(FAA)总量表现为感病品种增加幅度大于抗病品种, 而几丁质酶活性、 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性均表现为抗病品种增加幅度大于感病品种, 说明各指标与品种抗病性强弱存在一定的相关性。

**关键词:** 不结球白菜; 菌核病; 丙二醛(MDA); 游离氨基酸(FAA); 几丁质酶;  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶

中图分类号: S436.34

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2013)03-0444-05

### Analysis of several physiological and biochemical index induced by *Sclerotinia sclerotiorum* among different non-heading Chinese cabbages

MA Jing-fan<sup>1</sup>, LIU Xi-ming<sup>2</sup>, HUANG Su-hua<sup>1</sup>, WANG Hua<sup>1</sup>

(1.College of Life Sciences, Longyan University, Longyan 364000;

2. College of Resource Engineering, Longyan University, Longyan 364000)

**Abstract:** Non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino) varieties (003-R-6, Y<sub>3</sub>-R-4, 109-S-9 and 003-S-7) with different resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* were selected as materials. At seedling stage, leaf agar disk inoculation method was used to test resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. Leaves were used to analyze the physiological and biochemical changes such as the content of malondialdehyde (MDA), free amino acid (FAA), the activity of chitinase and  $\beta$ -1, 3-glucanase. The results showed that leaf agar disk inoculation method was highly correlated with field induction, and it could well represent the resistance and susceptibility of the tested varieties. In addition, physiological and biochemical changes were observed after the inoculation. The increase of MDA, FAA in the susceptible variety 003-S-7 was higher than that of resistant variety 003-R-6. On the contrary, the increase of chitinase and  $\beta$ -1, 3-glucanase activity in the resistant varieties was higher than that of the susceptible ones. The results also indicated that change of the content or activity of the physiological and biochemical characters after inoculation is correlated with *Sclerotinia sclerotiorum* resistance to some extent.

**Key words:** *Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino; *Sclerotinia sclerotiorum*; malondialdehyde (MDA); free amino acid (FAA); chitinase;  $\beta$ -1, 3-glucanase

不结球白菜(*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino)原产于中国, 其营养丰富, 风味优美, 是长江中下游地区主要的蔬菜品种之一<sup>[1]</sup>, 不结球白菜菌核病(*Sclerotinia sclerotiorum*)是由真菌核盘菌侵染引起的一种世界性病害, 在我国长江中下游和东

南沿海地区发病尤为严重, 严重影响了我国的不结球白菜生产以及制种业的发展<sup>[2]</sup>。自栽培农业以来, 人类通过各种方式防治菌核病的发生, 如通过有性杂交, 利用作物本身及亲缘种中的抗病基因培育抗病品种。但由于不结球白菜可利用的抗病种质资源

少、选育时间长、病原小种及环境条件变化易使抗病品种出现抗性退化等,使培育抗病品种受到了限制。

近几十年来,国内外学者对菌核病进行了很广泛的研究,主要集中在病原致病和寄主抗病机理、抗原的筛选等方面<sup>[3-4]</sup>。关于油菜菌核病抗性鉴定方法的报道较多<sup>[3]</sup>,但不结球白菜菌核病抗性鉴定方法的报道较少。研究表明,植物受核盘菌侵染后,体内的丙二醛(MDA)含量、游离氨基酸(FAA)总量、几丁质酶活性和 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性与品种抗病性之间具有一定的相关性<sup>[2]</sup>。目前,关于不结球白菜品种对菌核病抗病性的生理生化机制研究已有一些报道<sup>[3-4]</sup>,但其研究仍不系统,有些研究结果常常相悖,论断不一。本研究采用苗期琼脂块叶片接种法测定 4 个不结球白菜品种对菌核病的抗性,为抗性鉴定方法的选用提供参考。同时,在前人研究的基础上,以 4 个对菌核病具有不同抗性的不结球白菜品种为材料,就几个方面对其抗菌核病的生理生化机理进行初步的探讨,旨在从生理生化水平为不结球白菜抗病育种提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

供试材料为不结球白菜抗病品种 003-R-6、中抗品种 Y<sub>3</sub>-R-4、中感品种 109-S-9 和高感品种 003-S-7,由龙岩学院生物技术课题组提供。4 个品种对菌核病具有不同抗性,且抗性较稳定。将 4 个品种的种子用 HgCl<sub>2</sub> (0.1%) 浸泡 5 min,然后用蒸馏水冲洗干净,置于铺有湿润滤纸的培养皿内,于 25℃ 催芽 24 h。然后将催芽后的种子播种于灭菌基质中,于人工培养箱在白天 25℃、夜晚 15℃、相对湿度(85±5)%、12 h/12 h 光周期条件下培养,待幼苗培育至四叶一心期用于试验。

### 1.2 方 法

**1.2.1 菌核病的接种** 核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)菌核采自龙岩学院生命科学学院试验田内

的不结球白菜茎秆。选好菌核后,用 75%乙醇浸泡 30 s,0.1%的 HgCl<sub>2</sub> 消毒 10 min,再用无菌水冲洗 4 次,把灭菌菌核切去两端,中间部分切成绿豆大小,切面朝下,接种于 PDA (potato dextrose agar) 平板。在 25℃ 下黑暗培养 4 d,待菌丝长满培养皿后,用打孔器沿菌落边缘打孔成直径为 0.5 cm 的菌丝圆片,带菌丝面贴于幼苗的第 3 片真叶上,对照接以无菌培养基块,用保鲜膜缠绕在接种叶上以保湿。接种后,24 h 内保持温度 22~25℃,湿度 90%以上,保证充分发病,第 2 天开始降低湿度至 85%,以免植物整株腐烂。

**1.2.2 抗病性测定** 采用苗期琼脂块叶片接种法评价各品种对菌核病的抗性。于接种后 3 d 统计发病情况,参照曹寿椿等<sup>[4]</sup>的分级标准计算病情指数,每个品种调查 216 株,每 72 株作为 1 个重复。

**1.2.3 生理生化指标的测定** 在接种前(0 d)和接种后 3、6、9、12、15、18、21 d 分别取处理植株和对照植株的接种叶片,测定其生理生化指标。参照李合生<sup>[5]</sup>的方法分别测定丙二醛(MDA)含量、游离氨基酸(FAA)总量。按 Boller 等<sup>[6]</sup>的方法测定几丁质酶的活力,定义每小时生成 1 mg 还原糖为 1 个酶活力单位。 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶的活性测定采用朱毅勇等<sup>[7]</sup>的方法,用葡萄糖作标准曲线。以不加酶液作参比,一个酶液单位定义为 60 s 内还原昆布多糖中释放出的 1 mol 葡萄糖量所需要的酶量。以上各指标的测定每个处理 3 次重复,每次每品种 6 株。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗病性测定结果

由表 1 可以看出,4 个不结球白菜品种间对菌核病的抗病性存在极显著差异。抗性品种 003-R-6 的病情指数为 12.2,极显著的低于 Y<sub>3</sub>-R-4,属于抗病类型;中抗品种 Y<sub>3</sub>-R-4 和中感品种 109-S-9 的病情指数分别为 43.1 和 64.3;高感品种 003-S-7 的病情指数为 91.3,极显著的高于 109-S-9, Y<sub>3</sub>-R-4 和 003-R-6,表现为感病,属于高感类型。

表 1 不结球白菜不同品种对菌核病的抗、感差异

Table 1 Differences on resistance or susceptibility of different varieties after inoculation

编号 Number	品种 Variety	病情指数 Index of disease	差异显著性 Significant difference		品种抗感类型 Resistant or susceptible types of variety
			0.05	0.01	
L009	003-R-6	12.2	d	D	抗病 Disease-resistant
L131	Y <sub>3</sub> -R-4	43.1	c	C	中抗 Medium resistance
L076	109-S-9	64.3	b	B	中感 Medium susceptibility
L042	003-S-7	91.3	a	A	高感 Highly susceptible

表 2 接种核盘菌后不同品种与其对照处理 MDA 含量的变化

Table 2 Changes of MDA contents in different varieties after inoculation and in the corresponding controls

接种后时间/d Time after inoculation	MDA 含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ MDA contents			
	003-R-6	Y <sub>3</sub> -R-4	109-S-9	003-S-7
0	5.44 <sup>dD</sup> (5.44 <sup>aA</sup> )	5.60 <sup>cD</sup> (5.60 <sup>abA</sup> )	7.58 <sup>eF</sup> (7.58 <sup>aA</sup> )	8.28 <sup>gG</sup> (8.28 <sup>aA</sup> )
3	5.39 <sup>dD</sup> (5.47 <sup>aA</sup> )	6.07 <sup>cD</sup> (5.68 <sup>abA</sup> )	7.77 <sup>deF</sup> (8.25 <sup>aA</sup> )	8.97 <sup>gG</sup> (8.24 <sup>aA</sup> )
6	5.86 <sup>bcBC</sup> (5.07 <sup>aA</sup> )	6.22 <sup>bcBCD</sup> (6.32 <sup>aA</sup> )	8.63 <sup>deF</sup> (7.83 <sup>aA</sup> )	12.00 <sup>fF</sup> (8.59 <sup>aA</sup> )
9	6.61 <sup>aAB</sup> (5.19 <sup>aA</sup> )	6.95 <sup>aA</sup> (5.84 <sup>bA</sup> )	9.80 <sup>aA</sup> (7.88 <sup>aA</sup> )	13.22 <sup>eE</sup> (8.71 <sup>aA</sup> )
12	6.19 <sup>abABC</sup> (5.36 <sup>aA</sup> )	7.40 <sup>aAB</sup> (6.20 <sup>abA</sup> )	9.00 <sup>bAB</sup> (7.88 <sup>aA</sup> )	16.31 <sup>dD</sup> (8.42 <sup>aA</sup> )
15	6.13 <sup>cC</sup> (5.20 <sup>aA</sup> )	6.68 <sup>abABC</sup> (5.54 <sup>abA</sup> )	8.35 <sup>cDE</sup> (8.20 <sup>aA</sup> )	17.90 <sup>cC</sup> (8.23 <sup>aA</sup> )
18	6.91 <sup>aA</sup> (5.29 <sup>aA</sup> )	7.12 <sup>abABC</sup> (5.67 <sup>abA</sup> )	9.24 <sup>cCD</sup> (8.05 <sup>aA</sup> )	18.37 <sup>bB</sup> (8.18 <sup>aA</sup> )
21	6.83 <sup>aA</sup> (5.61 <sup>aA</sup> )	7.39 <sup>aA</sup> (5.84 <sup>abA</sup> )	9.17 <sup>bBC</sup> (7.99 <sup>aA</sup> )	18.70 <sup>aA</sup> (8.11 <sup>aA</sup> )

注: 同列不同上标大小写字母分别表示在 0.01 和 0.05 水平上差异显著, 括号内为对照的含量。下同。

Note: The different capital and small superscript letters in the same column mean significant difference at the 0.01 and 0.05 levels, respectively, and the data in the parenthesis are the contents of the control samples. The same below.

## 2.2 丙二醛 (MDA) 含量的变化

由表 2 可看出, 未接种时感病品种叶片中 MDA 的含量都大于抗病品种。接种核盘菌后, 各品种 MDA 含量都会上升, 接种 9 d 后, 高感品种 003-S-7 MDA 的含量仍在直线上升, 积累量远高于抗病品

种。而抗病品种 003-R-6、中抗品种 Y<sub>3</sub>-R-4、中感品种 109-S-9 在 9 d 后丙二醛积累量就略趋稳定。各品种对照处理的 MDA 含量变化幅度较小, 除个别时段差异达到显著水平 ( $P < 0.05$ ) 外, 其余均无明显差异。

表 3 接种核盘菌后不同品种与其对照处理 FAA 含量的变化

Table 3 Changes of FAA contents in different varieties after inoculation and in the corresponding controls

接种后时间/d Time after inoculation	FAA 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FAA contents			
	003-R-6	Y <sub>3</sub> -R-4	109-S-9	003-S-7
0	175.20 <sup>dC</sup> (175.20 <sup>BcBC</sup> )	114.84 <sup>fF</sup> (114.84 <sup>eE</sup> )	82.54 <sup>dD</sup> (82.54 <sup>eE</sup> )	62.94 <sup>cC</sup> (62.94 <sup>eC</sup> )
3	166.95 <sup>cdC</sup> (170.61 <sup>cC</sup> )	108.97 <sup>fF</sup> (119.42 <sup>eE</sup> )	94.82 <sup>dD</sup> (89.39 <sup>eDE</sup> )	62.21 <sup>cBC</sup> (60.42 <sup>eBC</sup> )
6	179.39 <sup>cdBC</sup> (182.88 <sup>AbAB</sup> )	158.41 <sup>eE</sup> (133.34 <sup>cdCD</sup> )	106.50 <sup>dD</sup> (96.28 <sup>dD</sup> )	120.98 <sup>bB</sup> (69.48 <sup>dBC</sup> )
9	174.21 <sup>bcABC</sup> (182.88 <sup>AbAB</sup> )	190.36 <sup>cdCD</sup> (129.06 <sup>dDE</sup> )	289.44 <sup>bcBC</sup> (94.55 <sup>dD</sup> )	409.63 <sup>aA</sup> (74.02 <sup>dB</sup> )
12	177.64 <sup>bcABC</sup> (185.28 <sup>AbAB</sup> )	174.87 <sup>dDE</sup> (137.02 <sup>bCD</sup> )	250.28 <sup>cC</sup> (102.01 <sup>cC</sup> )	447.02 <sup>aA</sup> (84.59 <sup>bcA</sup> )
15	194.69 <sup>abAB</sup> (195.29 <sup>AbAB</sup> )	192.74 <sup>bcBC</sup> (136.09 <sup>cBC</sup> )	344.01 <sup>abAB</sup> (104.54 <sup>cBC</sup> )	438.34 <sup>aA</sup> (85.80 <sup>cA</sup> )
18	194.48 <sup>aA</sup> (199.11 <sup>aA</sup> )	199.50 <sup>abAB</sup> (151.88 <sup>bAB</sup> )	363.70 <sup>aAB</sup> (112.05 <sup>bAB</sup> )	414.40 <sup>aA</sup> (91.36 <sup>abA</sup> )
21	200.67 <sup>aAB</sup> (200.00 <sup>aA</sup> )	207.48 <sup>aA</sup> (149.69 <sup>aA</sup> )	377.73 <sup>aA</sup> (119.15 <sup>aA</sup> )	420.00 <sup>aA</sup> (96.53 <sup>aA</sup> )

表 4 接种核盘菌后不同品种与其对照处理几丁质酶的活力变化

Table 4 Changes of chitinase activities in different varieties after inoculation and in the corresponding controls

接种后时间/d Time after inoculation	几丁质酶活力/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ Chitinase activities			
	003-R-6	Y <sub>3</sub> -R-4	109-S-9	003-S-7
0	0.40 <sup>fE</sup> (0.40 <sup>aA</sup> )	0.21 <sup>eE</sup> (0.21 <sup>aA</sup> )	0.12 <sup>dC</sup> (0.12 <sup>aA</sup> )	0.11 <sup>dD</sup> (0.11 <sup>Bb</sup> )
3	1.99 <sup>aA</sup> (0.41 <sup>aA</sup> )	0.92 <sup>aA</sup> (0.22 <sup>aA</sup> )	0.36 <sup>aA</sup> (0.13 <sup>aA</sup> )	0.23 <sup>aA</sup> (0.12 <sup>abAB</sup> )
6	1.50 <sup>bB</sup> (0.44 <sup>aA</sup> )	0.72 <sup>bB</sup> (0.21 <sup>aA</sup> )	0.23 <sup>bB</sup> (0.14 <sup>aA</sup> )	0.23 <sup>bA</sup> (0.14 <sup>aA</sup> )
9	1.21 <sup>cC</sup> (0.44 <sup>aA</sup> )	0.66 <sup>bB</sup> (0.23 <sup>aA</sup> )	0.22 <sup>bB</sup> (0.14 <sup>aA</sup> )	0.16 <sup>cB</sup> (0.12 <sup>aAB</sup> )
12	1.22 <sup>cC</sup> (0.47 <sup>aA</sup> )	0.53 <sup>cC</sup> (0.23 <sup>aA</sup> )	0.24 <sup>bB</sup> (0.12 <sup>aA</sup> )	0.10 <sup>fD</sup> (0.13 <sup>aA</sup> )
15	1.20 <sup>cC</sup> (0.45 <sup>aA</sup> )	0.33 <sup>dD</sup> (0.22 <sup>aA</sup> )	0.25 <sup>bB</sup> (0.13 <sup>aA</sup> )	0.12 <sup>eC</sup> (0.14 <sup>aA</sup> )
18	1.06 <sup>dC</sup> (0.44 <sup>aA</sup> )	0.36 <sup>dD</sup> (0.22 <sup>aA</sup> )	0.26 <sup>bB</sup> (0.14 <sup>aA</sup> )	0.14 <sup>dC</sup> (0.13 <sup>aAB</sup> )
21	0.89 <sup>eD</sup> (0.43 <sup>Ab</sup> )	0.34 <sup>dD</sup> (0.21 <sup>aA</sup> )	0.15 <sup>cC</sup> (0.11 <sup>aA</sup> )	0.12 <sup>eC</sup> (0.11 <sup>abAB</sup> )

## 2.3 游离氨基酸 (FAA) 含量的变化

由表 3 可以看出, 未接种植株的叶片中, 抗病品种的 FAA 含量较感病品种高。接种核盘菌后, 不同抗、感品种叶内 FAA 含量均上升。但是感病品种 FAA 含量上升幅度较大, 高感品种 003-S-7 接种核

盘菌后 12 d FAA 的含量达到最高, 与未接种时叶片 FAA 含量的差异达到了极显著水平 ( $P < 0.01$ ); 随着诱导时间的延长, 含量下降, 但下降不明显。中感品种 109-S-9 接种核盘菌后, FAA 的含量迅速上升, 于接种后 21 d 含量达到最高, 与未接种时 FAA 的

含量差异达到了极显著水平( $P<0.01$ )。抗病品种 003-R-6 于接种后 21 d FAA 的含量达到最高, 约是对照处理叶片的 1 倍。各品种接种核盘菌后 FAA 含

量的大小排列顺序为 003-S-7>109-S-9>Y<sub>3</sub>-R-4>003-R-6, 与品种抗性强弱顺序正好相反。

表 5 接种核盘菌后不同品种与其对照处理  $\beta$ -1, 3-葡聚糖酶的活力变化

Table 5 Changes of  $\beta$ -1, 3-glucanase activities in different varieties after inoculation and in the corresponding controls

接种后时间/d Time after inoculation	$\beta$ -1, 3-葡聚糖酶活力/ $U \cdot g^{-1}$ $\beta$ -1, 3- glucanase activities			
	003-R-6	Y <sub>3</sub> -R-4	109-S-9	003-S-7
0	163.17 <sup>IE</sup> (163.17 <sup>IA</sup> )	169.28 <sup>IFG</sup> (169.28 <sup>IA</sup> )	168.59 <sup>IE</sup> (168.59 <sup>CA</sup> )	167.50 <sup>IF</sup> (167.50 <sup>abcA</sup> )
3	267.78 <sup>BB</sup> (162.56 <sup>AA</sup> )	245.23 <sup>BB</sup> (176.68 <sup>AA</sup> )	242.32 <sup>BB</sup> (172.04 <sup>abcA</sup> )	227.34 <sup>BB</sup> (177.15 <sup>abA</sup> )
6	310.46 <sup>AA</sup> (166.83 <sup>AA</sup> )	280.17 <sup>AA</sup> (172.07 <sup>AA</sup> )	283.29 <sup>AA</sup> (174.93 <sup>abcA</sup> )	261.87 <sup>AA</sup> (168.51 <sup>abcA</sup> )
9	242.03 <sup>CC</sup> (168.15 <sup>AA</sup> )	201.10 <sup>CC</sup> (173.11 <sup>AA</sup> )	212.95 <sup>CC</sup> (177.28 <sup>Ba</sup> )	204.22 <sup>CC</sup> (177.33 <sup>AA</sup> )
12	213.05 <sup>DD</sup> (179.24 <sup>AA</sup> )	209.41 <sup>cdCD</sup> (161.32 <sup>AA</sup> )	197.47 <sup>dCDE</sup> (177.87 <sup>abcA</sup> )	195.67 <sup>dCD</sup> (181.77 <sup>abcA</sup> )
15	202.22 <sup>dED</sup> (168.15 <sup>AA</sup> )	192.73 <sup>dDE</sup> (171.62 <sup>AA</sup> )	191.44 <sup>dCD</sup> (176.25 <sup>abcA</sup> )	189.12 <sup>eE</sup> (175.07 <sup>abcA</sup> )
18	194.30 <sup>eD</sup> (178.39 <sup>AA</sup> )	189.88 <sup>eEF</sup> (167.36 <sup>AA</sup> )	186.90 <sup>deDE</sup> (180.22 <sup>AA</sup> )	185.69 <sup>eDE</sup> (166.99 <sup>CA</sup> )
21	176.35 <sup>IE</sup> (175.04 <sup>AA</sup> )	174.95 <sup>IG</sup> (172.07 <sup>AA</sup> )	165.49 <sup>eDE</sup> (164.17 <sup>bcA</sup> )	178.22 <sup>IF</sup> (164.48 <sup>bcA</sup> )

## 2.4 几丁质酶活力的变化

由表 4 可看出, 抗病品种对照处理叶片中几丁质酶的活力高于感病品种。接种核盘菌后, 不同抗、感品种叶内几丁质酶的活力均上升。抗病品种 003-R-6 接种核盘菌后 3 d 几丁质酶的活力达到最大, 约是对照处理叶片的 5 倍, 与其他时段的差异达到了极显著水平( $P<0.01$ ); 随着诱导时间的延长, 活力逐渐开始下降。中抗品种 Y<sub>3</sub>-R-4 接种核盘菌后, 几丁质酶活力大幅升高, 于 3 d 左右出现了活性高峰, 约是对照处理叶片的 4 倍, 与其他时段的差异达到了极显著水平( $P<0.01$ )。与抗性品种相比, 感病品种接种核盘菌后几丁质酶的活力上升幅度较小, 高感品种 003-S-7 接种后 3 d, 几丁质酶的活力达到最大, 约为对照处理叶片的 1 倍, 之后整体呈现下降趋势。各品种酶活性大小排列顺序为 003-R-6>Y<sub>3</sub>-R-4>109-S-9>003-S-7, 与品种抗性强弱顺序一致。

## 2.5 $\beta$ -1, 3-葡聚糖酶活性的变化

由表 5 可以看出, 各品种对照处理叶片中  $\beta$ -1, 3-葡聚糖酶的活性在整个观察过程中变化不大。接种核盘菌后, 不同抗、感品种叶内  $\beta$ -1, 3-葡聚糖酶的活性均逐渐升高。抗病品种 003-R-6 接种核盘菌后 6 d  $\beta$ -1, 3-葡聚糖酶的活性达到最大, 约是对照处理叶片的 2 倍, 与其他时段的差异达到了极显著水平( $P<0.01$ ); 随着诱导时间的延长, 活力逐渐开始下降。中抗品种 Y<sub>3</sub>-R-4 接种核盘菌后,  $\beta$ -1, 3-葡聚糖酶的活性迅速升高, 于接种后 6 d 出现了活性高峰, 约是对照处理叶片的 1.3 倍, 与其他时段的差异达到了极显著水平( $P<0.01$ ), 之后, 酶活力开始逐渐下降。与抗性品种相比, 感病品种接种核盘菌

后  $\beta$ -1, 3-葡聚糖酶的活性上升幅度较小, 高感品种 003-S-7 接种后 6 d,  $\beta$ -1, 3-葡聚糖酶的活力达到最大值, 之后整体呈现下降趋势。各品种酶活性大小排列顺序为 003-R-6>Y<sub>3</sub>-R-4>109-S-9>003-S-7, 与品种抗性强弱顺序相一致。

## 3 讨论

苗期琼脂块叶片接种试验证明, 003-R-6 的抗病性最强, 其次是 Y<sub>3</sub>-R-4、003-S-7 最易感病, 其次是 109-S-9, 这些测定结果都与寿寿椿等<sup>[4]</sup>的田间自然诱发鉴定结果相一致, 初步证明不结球白菜苗期琼脂块叶片接种法是可行的。试验期间还尝试了其他抗性鉴定的方法。如: 用子叶期核盘菌液滴法鉴定不结球白菜品种对菌核病的抗性, 即第 1 次用 3  $\mu$ L 核盘菌悬浮液侵染不结球白菜幼苗的子叶, 以清水为对照, 不制造伤口, 结果侵染的幼苗均未发病; 第 2 次用相同的方法侵染制造伤口的子叶, 同样以清水为对照, 结果也未发病。核盘菌液滴法侵染未能发病可能是因为使用的菌丝体悬浮液直接滴在子叶上, 悬浮液很容易流到幼苗根部, 使其不能对子叶造成侵染。不结球白菜菌核病是一种严重病害, 但是目前相关研究不多, 虽然抗病性广泛存在, 但至今还未发现不结球白菜的免疫类型, 所以更全面筛选、寻找、创造抗源材料是今后一个研究方向, 也应该通过组织培养、诱变育种等方法创造新的抗病材料。

依据现代植物生理学衰老生理特性, 在植物生长过程中, 丙二醛含量随着生育期逐渐提高, 而同一生育期内短时间丙二醛含量变化不大<sup>[8]</sup>。本试验接种核盘菌后, 感病品种 MDA 含量上升幅度较高,

而抗病品种 MDA 含量上升到一定程度就较为平缓。这与赵小虎等<sup>[9]</sup>抗感油菜品种接种核盘菌后的试验结果相一致。因此可以推断,不同品种不结球白菜的 MDA 含量及其改变幅度与自身的抗病性有关。其原因可能是植物在逆境条件下发生膜脂过氧化作用,产生 MDA<sup>[10]</sup>。同时 MDA 在细胞内的大量积累又造成了对质膜的进一步破坏,而抗性强弱直接影响着逆境下膜脂过氧化作用的程度<sup>[11]</sup>,进而影响到 MDA 的含量。抗性强的品种,能及时清除体内活性氧,有效减小伤害,因而 MDA 含量较少,且接种后 MDA 增加幅度也小<sup>[12]</sup>;而抗性弱的品种则相反。

焦春香<sup>[13]</sup>用核盘菌处理油菜子叶,结果显示,处理后不同抗、感品种 FAA 含量都会上升,但各品种之间的上升差异不显著,推断 FAA 的增加可能与抗性无关。而我们的试验结果表明接种核盘菌后不结球白菜感病品种 FAA 含量的上升幅度要高于抗病品种,进而推断不同品种不结球白菜 FAA 含量及其增加幅度与其自身的抗性有关。试验结果的差异可能是由于不同品种及不同接种时间所致。不结球白菜感病品种受核盘菌侵染后 FAA 含量增加幅度较大,可能是因为侵染后,感病品种内蛋白质大量分解,FAA 大量积累<sup>[14]</sup>。而抗病品种受侵染后 FAA 含量增加幅度较小,可能是因为抗病品种蛋白质降解缓慢而新的蛋白质合成又较快,同时部分蛋白质的降解产物 FAA 很快又重新转变成香豆素、木质素、单宁、酚类、等抗病性很强的物质<sup>[14]</sup>。

前人研究表明几丁质酶和  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶与植物的抗病性关系密切<sup>[15-16]</sup>。本研究中用核盘菌处理的不结球白菜抗感品种叶片,其几丁质酶及  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性均高于对照,说明核盘菌处理能提前诱导不结球白菜体内与防卫反应有关的几丁质酶及  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶的合成,使其在不结球白菜对菌核病的抗性中发挥一定作用。接种核盘菌后,不同抗性不结球白菜品种的几丁质酶及  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性均上升,且与品种抗性水平基本一致,抗病品种的酶活性增加幅度大,感病品种酶活性增加幅度小。说明在抗病品种中 2 种酶诱导并表达的强度明显高于感病品种。这与在葡萄抗霜霉菌<sup>[17]</sup>、豇豆抗锈菌<sup>[18]</sup>、甜瓜抗疫霉菌<sup>[19]</sup>等互作系统中的研究结果一致。

## 参考文献:

[1] 侯喜林. 不结球白菜育种研究新进展[J]. 南京农业大

学学报, 2003, 26(4): 111-115.

- [2] Guo X, Stotz H U. Defense against *Sclerotinia sclerotiorum* in *Arabidopsis* dependent on jasmonic acid, alicyclic acid, and ethylene signaling[J]. *Mol Plant-Microbe Interact*, 2007, 20: 1384-1395.
- [3] 钟军, 李桐, 官春云. 芸薹属植物抗菌核病的研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2002, 24(3): 78-81.
- [4] 曹寿椿, 朱月林, 黄保健, 等. 不结球白菜抗病育种的研究[J]. 南京农业大学学报, 1990, 13(2): 28-32.
- [5] 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, 2000: 55-63.
- [6] Boller T, Gehri A, Mouch F, et al. Chitinase in bean leaves: induction by ethylene, purification, properties, and possible function[J]. *Planta*, 1983, 157(1): 22-31.
- [7] 朱毅勇, 沈其荣, 谢学东. 磷酸盐诱导黄瓜系统抗病中主要酶活性变化的研究[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(2): 50-54.
- [8] 杨秀娟, 朱春雨, 杜宜新, 等. 福建省稻瘟病菌毒性类型及部分水稻品种(组合)抗病性分析[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2008, 37(1): 60-66.
- [9] 赵小虎, 陈翠莲, 焦春香, 等. 不同油菜品种对油菜菌核病敏感性差异的生理生化特性研究[J]. 华中农业大学学报, 2006, 25(5): 488-492.
- [10] 李云昌, 李英德, 梅德基, 等. 中油 821 接种菌核病菌菌丝体后的生化反应[J]. 中国油料作物学报, 2001, 23(3): 63-65.
- [11] 杨秀娟, 甘林, 阮宏椿, 等. 氮肥对水稻苗 POD、SOD 活性及稻瘟病发生的影响[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2011, 40(1): 8-11.
- [12] Dumer J, Shan J, Klessing D F. Salicylic acid and disease resistance in plant[J]. *Trends in Plant Science*, 1997, 2(7): 266-273.
- [13] 焦春香. 甘蓝型油菜抗菌核病的生理生化机理的初步研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
- [14] 冯金玲, 杨志坚, 陈世品, 等. 油茶芽苗砧嫁接接口愈合过程中苯丙烷代谢的若干生理指标[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2011, 40(3): 264-270.
- [15] 左豫虎, 康振生, 杨传平, 等.  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶活性与大豆对疫霉根腐病抗性的关系[J]. 植物病理学报, 2009, 39(6): 600-607.
- [16] Xiao L, Xie C C, Cai J, et al. Identification and characterization of a chitinase-produced *Bacillus* showing significant antifungal activity[J]. *Curr Microbiol*, 2009, 58(5): 528-533.
- [17] 齐慧霞, 王同坤, 齐永顺, 等. 不同酒葡萄品种感染霜霉病后叶片生理特性的变化[J]. 果树学报, 2006, 23(1): 73-76.
- [18] 曾永三, 王振中. 豇豆锈菌诱导的 2 种酶活性与抗病性的关系[J]. 华中农业大学学报, 2003, 22(2): 117-122.
- [19] 陈坚, 李冠, 王锐萍. 新疆甜瓜疫霉菌毒素对新疆甜瓜黄化苗中  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶活性的诱导[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34 (1): 28-31.