

不同抗性豌豆品种人工接种白粉病后相关生理指标研究

陆建英¹, 王昶², 张丽娟², 闵庚梅²

(1. 甘肃省农业科学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省农业科学院作物研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 为研究不同抗性豌豆品种在接种白粉菌后相关防御系统酶活性、叶绿素质量浓度的变化, 以8个不同抗性豌豆品种为试材, 分析了豌豆白粉菌接种后不同时间相关SOD活性、POD活性、CAT活性、叶绿素质量浓度的变化规律。结果表明, 接种后SOD活性随着时间变化均表现为先升高后降低, 抗病品种的SOD的活性高于感病品种。接种后POD活性随着时间变化呈现持续上升趋势, 抗病品种上升幅度高于感病品种。接种后CAT活性随着接种后时间的变化, 多数品种呈现先升高后降低的变化。接种后所有品种的叶绿素质量浓度均下降, 抗病品种的下降趋势小于感病品种。SOD活性、POD活性变化与品种间差异显著, POD活性、叶绿素质量浓度与豌豆品种的抗性呈正相关。

关键词: 豌豆; 白粉病; 抗病性; 防御酶; SOD; POD; CAT; 叶绿素

中图分类号: S435.24 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2018)04-0031-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.04.010

Study on Physiological Indexes of Pea Cultivars with Different Resistance after Artificial Inoculation with *Erysiphe pisi*

LU Jianying¹, WAZNG Chang², ZHANG Lijuan², MIN Gengmei²

(1. Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Institute of Crop, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: Taking eight pea cultivars with different resistance to powdery mildew as the research object, we studied the relevant defence system changes of enzyme activity (SOD, POD, CAT), chlorophyll content change rule in different time after inoculation with *Erysiphe pisi*. The results showed that SOD activity were reduced after the first rise after infected as time change, SOD activity of resistant cultivars were higher than susceptible cultivars; as time change POD activity showed a trend of rising, POD activity of resistant cultivars were higher than susceptible cultivars after infected; as time change CAT activity of most cultivars were reduced after the first increase after infected; Chlorophyll contents of all cultivars decreased after infected, resistant cultivars declined less than susceptible cultivars. SOD, POD activity change between cultivars were significantly different. The ability of resistance to powdery mildew of a pea variety is positively correlated with the activity of POD and the content of Chlorophyll.

Key words: Pea; Powdery mildew; Disease resistance; Defense enzyme; SOD; POD; CAT; Chlorophyll

豌豆白粉病(*Erysiphe pisi* DC.)是豌豆常见病 害之一^[1-2], 甘肃中西部等大多数地方都有发生和为

收稿日期: 2017-04-07; 修订日期: 2018-01-08

基金项目: 国家自然科学基金(317604207); 甘肃省青年科技基金计划项目(145RJYA303)。

作者简介: 陆建英(1980—), 女, 山西临漪人, 副研究员, 研究方向为食用豆抗病育种及综合防控技术。E-mail: lu-jianying@gsagr.ac.cn。

- 染的研究[J]. 环境科学导刊, 2009(5): 37-38.
- [2] 李福燕, 张黎明, 李许明, 等. 土壤—植物系统锌污染与修复技术研究进展[J]. 安徽农业科学, 2006(8): 5920-5921.
- [3] 王媛. 大茅坪铜矿周边重金属铜、镉、锌、铅污染土壤的植物—化学修复研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [4] 陈鑫, 李然红, 刘丹, 等. Na₂CO₃胁迫对狗枣猕猴桃幼苗生长发育的影响[J]. 黑龙江科技信息, 2015(13): 118-119.
- [5] 王学奎. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [6] 刘丹, 陈鑫, 李然红, 等. NaCl胁迫对软枣猕猴桃幼苗生长发育的影响[J]. 北方园艺, 2017(7): 31-35.
- [7] 陈鑫, 刘丹, 李然红, 等. 缺素胁迫对软枣猕猴桃幼苗生长的影响[J]. 北方园艺, 2016(19): 27-30.

(本文责编: 刘 贇)

害。在甘肃,该病主要发生在豌豆的成株期,发病叶片和豆荚表面着生白色粉斑,严重时甚至整株覆盖白色粉末,光合作用受阻,豆荚生长不良,对豌豆的品质和产量造成很大的损失^[3],严重时可使豌豆减产 25%~30%^[4-6]。目前,关于豌豆白粉病的研究多集中于抗性鉴定、药剂筛选防治、抗病基因等方面^[7-10]。有研究表明,植物被各类病原物侵染后,有关病原物作为一种生物诱导因子,引起包括叶片叶绿素质量浓度、气孔密度、细胞膜透性、某些酶的活性等一系列生理生化特性的变化^[11-12]。豌豆白粉病的发生与品种的抗病性有直接的关系,为研究不同抗性品种在感染豌豆白粉菌后其相关防御系统酶活性、叶绿素质量浓度的变化,笔者根据前期抗性鉴定结果,以不同抗性品种为试材,研究了豌豆白粉病菌接种后品种间相关 SOD(超氧化物歧化酶)活性、POD(过氧化物酶)活性、CAT(过氧化氢酶)活性、叶绿素质量浓度变化规律,以期为抗病育种提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验所用豌豆材料为甘肃省农业科学院作物研究所食用豆课题组经过多年选育鉴定的 8 个豌豆白粉病不同抗性级别的品种(系)。各品种的抗性水平及试验处理编号见表 1。供试病原菌为豌豆白粉病病菌,由甘肃省农业科学院作物研究所食用豆课题组 2015 年采自田间发病病叶,并带回实验室分离后豌豆活体保存。

表 1 不同抗性水平的豌豆品种(系)及试验处理

处理编号	供试材料	抗性
T1	所364	高抗(HR)
T2	所480	高抗(HR)
T3	DX27	抗病(R)
T4	w13-2	抗病(R)
T5	黑眉	抗病(R)
T6	DX28	中抗(MR)
T7	9129	中抗(MR)
T8	s3008	高感(HS)

1.2 试验设计与方法

试验在甘肃省农业科学院作物研究所兰州试验基地的日光温室内进行。2015 年 9 月,将供试豌豆材料按试验编号分别盆栽种植于装有栽培基质(蛭石与腐殖质按体积比 1:2 比例混合而成)

的花盆中,每盆播种 10 粒,重复 3 次,播种后置于 18 ℃的日光温室培养。当豌豆植株第 3 节叶片平展时,采集健康叶片进行实验,同时用手拂法将豌豆白粉菌分生孢子均匀抖落到豌豆幼苗上,置 20 ℃日光温室培养。接种前及接种后 3、5、10 d,采集叶片进行酶活性测定。SOD 活性采用氮蓝四唑光化还原法,POD 活性测定采用愈创木酚法,CAT 活性测定采用过氧化氢法^[13-14]。接种前 1 d、接种后 1 d 各测定叶绿素质量浓度 1 次,叶绿素质量浓度测定采用分光光度计法^[15-16]。

1.3 数据统计

采用 Excel 2007 进行数据统计,用 spss17.0 进行方差分析和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 豌豆 SOD 活性的变化

不同抗豌豆白粉病水平的豌豆品种接种病原菌后,叶片中的 SOD 活性均发生了变化,具体见图 1。供试品种的 SOD 活性随着接种后时间的变化在变化,基本呈现先升高后降低的趋势,大多数品种在接种后 5 d SOD 活性呈现最大值,10 d 后又不同程度下降。SOD 活性与豌豆品种、接种后时间差异明显,抗病品种较高感品种变化明显,处理 T8 与其他品种存在明显相关性,但 SOD 活性与抗性水平不存在规律性变化。总的来看,高感品种的 SOD 活性明显低于抗病品种。

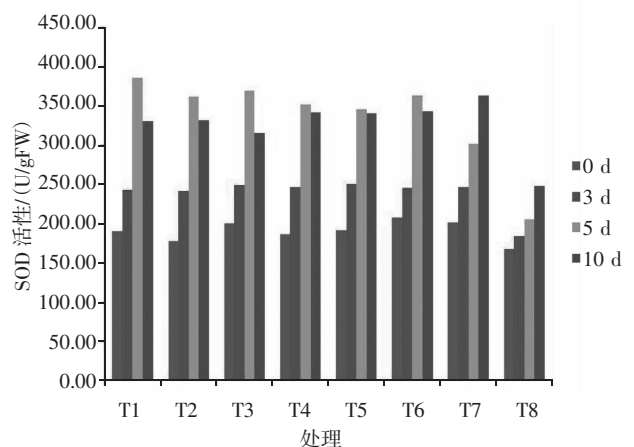


图 1 接种后不同豌豆品种叶片中 SOD 活性变化

2.2 豌豆 POD 活性的变化

不同抗豌豆白粉病水平的豌豆品种接种病原菌后,叶片中的 POD 活性变化见图 2。接种后 POD 活性随时间变化差异显著,均呈递增的变化趋势,高感品种增幅小于抗病品种,接种后 5 d 的

POD 活性最高。POD 活性与品种、接种后的时间差异显著，随着抗病性的降低，POD 活性也在降低，因此，豌豆材料的抗性水平与 POD 活性呈正相关。方差分析结果显示，处理 T8 与处理 T1、处理 T2、处理 T3、处理 T4、处理 T5 在 0.05 水平差异显著。POD 活性水平总体趋势是高抗品种>抗病品种>中抗品种>高感品种。

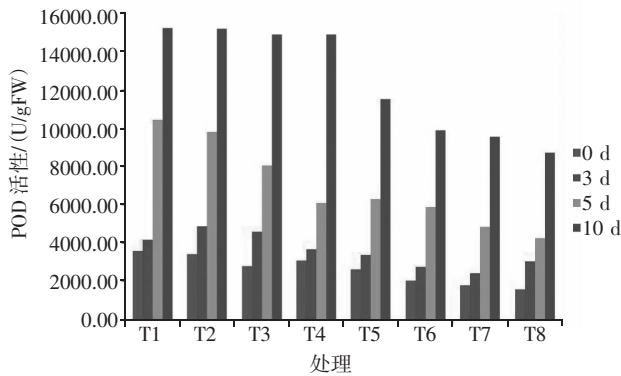


图 2 接种后不同豌豆品种叶片中 POD 活性变化

2.3 豌豆 CAT 活性的变化

不同抗豌豆白粉病水平的豌豆品种接种病原菌后，叶片中的 CAT 活性变化见图 3。随着接种后时间的变化，CAT 活性变化显著，多数品种呈现先升高后降低的变化，接种后 5 d 的酶活性达到最高。不同品种的 CAT 活性差异不显著，即随着品种抗性的变化，CAT 活性没有呈规律性变化。

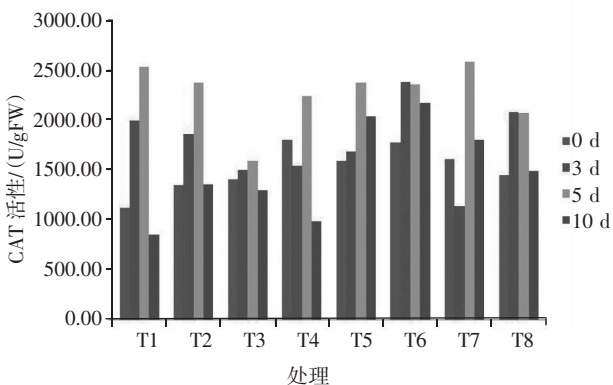


图 3 接种后不同豌豆品种叶片中 CAT 活性变化

2.4 豌豆叶片叶绿素质量浓度的变化

不同品种及接种前后的叶绿素质量浓度的变化差异明显(图4)。接种后，所有品种的叶绿素质量浓度均下降，且与品种的抗性水平明显相关，抗病品种的下降趋势小于感病品种。叶绿素质量浓度水平总体趋势是高抗品种>抗病品种>中抗品种>高感品种。

种>高感品种。

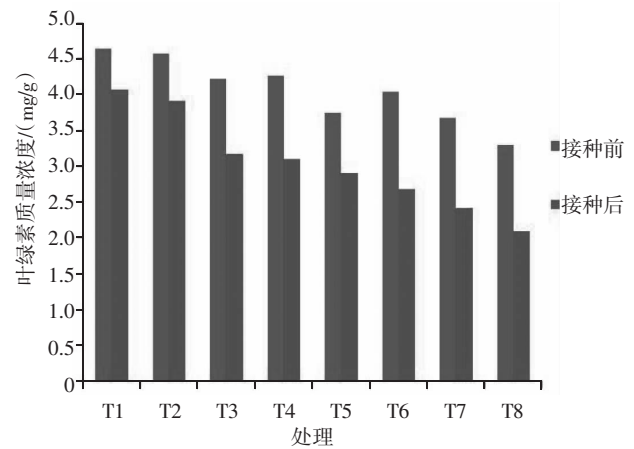


图 4 接种前后不同豌豆品种叶绿素质量浓度的变化

3 小结与讨论

研究表明，豌豆 SOD、POD、CAT 3 种防御酶在接种豌豆白粉菌后发生一系列变化，其中接种后 SOD 活性抗病品种均表现升高，抗病品种 SOD 活性高于感病品种，而接种后 10 d 抗病品种的 SOD 活性又表现出下降趋势，而感病品种的 SOD 活性继续上升。这就说明植物—病原物的非亲和性互作可能激活了 O² 的产生系统，植株体内产生大量的活性氧 O²，过多的 O² 的积累造成受害植株 SOD 防御体系崩溃，导致 SOD 活性降低。而感病品种上升较抗病品种慢，未表现出下降的趋势。接种后 POD 活性随着时间变化呈现持续上升趋势，抗病品种上升幅度高于感病品种。接种后 CAT 活性随着接种后时间的变化，CAT 活性变化显著，多数品种呈现先升高后降低的变化。不同品种的 CAT 活性差异不显著，随着品种抗性的变化，CAT 活性没有呈规律性变化。通过相关性分析，只有 POD 活性与豌豆品种的抗性呈正相关。因此，可以通过 POD 活性来判断豌豆品种的抗性强弱，抗病性越高的品种 POD 活性也越高，反之则相反，而与 SOD、CAT 活性没有固定的关联性。接种后叶片的叶绿素质量浓度显著下降，且与品种的抗性水平呈显著相关性，抗性品种的叶绿素质量浓度明显高于感病品种。因此，豌豆受豌豆白粉病侵染诱导后，可把 POD 活性和叶绿素质量浓度作为抗性材料的鉴定指标。

大量研究发现，植物在逆境胁迫下体内活性氧的产生和消除的代谢平衡受到破坏，过剩的活性氧能引发和加剧膜脂过氧化作用，从而破坏膜

的结构与功能,严重时会导致植物细胞死亡,而SOD、POD是植物体内担负清除活性氧的保护酶系统中的关键酶^[17]。近年来,人们对多种植物感病后某些酶活性的变化规律进行深入研究,发现其活性与植物抗病有关^[18]。在植株诱导抗性系统中,SOD是最早出现的与抗性相关的酶,它可以阻碍超氧阴离子自由基等在植株体内的积累^[19]。POD作为保护酶系统中的组成部分与SOD、CAT协调一致,维持细胞内自由基的低水平,防止自由基毒害。CAT是一种高效清除H₂O₂的酶,维持植物体内H₂O₂的正常水平。植物-病原物互作可使CAT活性发生变化并影响植物体内H₂O₂的积累,最终影响植物的抗病反应^[20]。植物的抗病生理生化机制很复杂,但植物体内正常情况下保护酶系处于平衡状态下,在病原物侵染初期测定保护酶活性的相对变化,可以作为一个抗病选育指标^[21]。叶绿素质量浓度的高低往往能客观地反映植物抗病性的强弱^[22]。

关于抗性相关防御酶等生理生化指标的研究已比较多,本研究结果与大部分研究的结果相符,但也与少数研究结果不一致,这可能和研究采用的菌种、接种品种和测定环境等条件不一致有关。在生理生化指标测定过程中,存在人为因素、接种后测定的最佳时间等限制条件,这也是今后应进一步优化的方面。

参考文献:

- [1] 王兆美, 字迎彪. 30%特富灵粉剂防治大荚豌豆白粉病试验[J]. 蔬菜, 2000(6): 27.
- [2] 彭化贤, 姚 革, 贾瑞林, 等. 我国豌豆地方品种抗白粉病性的研究[J]. 植物病理学报, 1993, 23(1): 62.
- [3] 邵振润, 刘万才. 我国小麦白粉病的发生现状与治理对策[J]. 中国农学通报, 1996, 12(6): 21-23.
- [4] BERKENKAMP B, KIRKHAM C. Pea diseases in N. E. Saskatchewan[J]. Canadian Plant Disease Survey, 1991, 71: 108.
- [5] JANILAP, SHARMA B. RAPD and SCAR markers for powdery mildew resistance gene in pea[J]. Plant Breed, 2004, 123: 271-274.
- [6] ORR D D, BURNETT P A. Survey of Radley pea in central Alberta—1992[J]. Canadian Plant Disease Survey, 1993, 73: 100.
- [7] 林成辉, 唐乐尘, 倪伟健, 等. 不同豌豆品种对白粉病的抗性特点与防治对策[J]. 中国蔬菜, 2002(6): 37-38.
- [8] 彭化贤, 姚 革, 贾瑞林, 等. 豌豆抗白粉病资源鉴定研究[J]. 西南农业大学学报, 1991, 13(4): 384-386.
- [9] 王仲怡, 付海宁, 孙素丽, 等. 豌豆品系 X9002 抗白粉病基因鉴定[J]. 作物学报, 2015: 41(4): 515-523.
- [10] SU S L, DENG D, WANG Z Y, *et al.* A novel erl allele and the development and validation of its functional marker for breeding pea (*Pisum sativum* L.) resistance to powdery mildew[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2016, 129: 909-919.
- [11] 章元寿. 植物病理生理学[M]. 南京: 江苏科技出版社, 1996.
- [12] 李俊兰, 李 妙, 翟学军, 等. 棉花感染黄萎病后叶片组分内生化学特性分析[J]. 华北农学报, 1995, 10(增刊): 123-138.
- [13] 袁勤生. 现代酶学[M]. 上海: 华东理工大学出版社, 2001.
- [14] 邹 琦. 植物生理学生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [15] 王树彬, 郭 香. 6个抗旱小麦品种苗期抗旱生理特性差异分析比较[J]. 甘肃农业科技, 2014(4): 49-53.
- [16] 杨 柳, 何正军, 赵文吉, 等. 不同栽培条件对红景天叶绿素含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(32): 133-136; 139.
- [17] 邹芳斌, 司龙亭, 李 新, 等. 黄瓜枯萎病抗性与防御系统几种酶活性关系的研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(3): 181-184.
- [18] 张树生, 胡 蕾, 刘忠良, 等. 植物体内抗病相关酶与植物抗病性的关系[J]. 安徽农学通报, 2006, 12(13): 48-49.
- [19] PENG M, KUC J. Peroxidase-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal activity in vitro and on tobacco leaf disks[J]. Phytopathology, 1992, 82(6): 696-699.
- [20] 习 岗, 宋 清, 杨初平, 等. 低强度微波对烤烟叶片细胞膜系统和 POD 同工酶的非热效应[J]. 微波学报, 2006, 22(2): 65-70.
- [21] 张骞方, 韦树谷, 王 勇, 等. 烤烟品种抗黑胫病性的生化机理研究[J]. 西南农业学报, 2012, 25(6): 2098-2103.
- [22] 欧志远. 叶绿素含量与植物抗病性的关系[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(6): 134-135.

(本文责编: 郑立龙)