

# 豌豆白粉病抗性相关指标的研究

张丽娟, 杨晓明, 陆建英, 王 昶

(甘肃省农业科学院作物研究所, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 为研究豌豆白粉病抗病性与各生理指标间的关系, 选取4种抗性不同的豌豆品种为试材, 测定各品种间叶绿素和可溶性糖含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性变化。结果表明, 不同抗性品种中叶绿素含量、POD、PPO活性和PAL活性随豌豆白粉病抗性减弱而降低; CAT活性随豌豆白粉病抗性减弱而升高; SOD活性与豌豆白粉病抗性没有明显变化规律。方差分析结果显示, 不同抗感病品种间叶绿素含量、PPO活性、PAL活性和CAT活性差异极显著( $P < 0.01$ ), 因此可以用叶绿素含量、PPO活性、PAL活性和CAT活性来反映对豌豆白粉病抗性的强弱。

**关键词:** 豌豆白粉病; 叶绿素; 可溶性糖; 防御酶

**中图分类号:** S642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2015)03-0033-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2015.03.011

## Study on Indicators Related with Pea Powdery Mildew Resistance

ZHANG Li-juan, YANG Xiao-ming, LU Jian-ying, WANG Chang

(Institute of Crop, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

**Abstract:** It is studied the relations between pea powdery mildew resistance and physiological indicators. Selected 4 kinds of pea with different resistance to pea powdery mildew. The content of soluble sugar and chloroplast changes in activity of specific enzymes such as SOD, CAT, POD, PPO and PAL are detected. The result shows that the content of chloroplast and the activity of POD, PPO and PAL are decreased as the resistance weakened, the activity of CAT was increased as the resistance weakened, while there is no significant correlation in content of the activity of SOD. The result of variance analysis illustrated the significant difference in the content of chloroplast and the activity of PPO, PAL and CAT between different cultivars ( $P < 0.01$ ). So it is confirmed that the content of chloroplast and the activity of PAL and CAT could used as indicator for resistance to pea powdery mildew.

**Key words:** Pea; Powdery mildew; Chloroplast; Soluble sugar; Defense enzyme

豌豆白粉病是影响豌豆生产的主要病害之一, 豌豆白粉病的发生与品种的抗性有直接的关系。我国关于豌豆白粉病的研究主要集中在对抗病种质资源的鉴定评价和综合防治技术方面<sup>[1~5]</sup>。植物病原真菌侵入植物体后可引起寄主植物体内发生复杂的生理生化变化, 许多学者都在研究真菌的致病机制和寄主植物的抗病机理<sup>[6]</sup>, 而有关豌豆白粉病抗性与各生理指标间的关系尚缺乏研究。

甘肃省农业科学院作物研究所选育的豌豆品种 X9002 是我国目前培育出来的高抗、且抗性稳定的抗白粉病豌豆品种<sup>[7]</sup>。我们根据苗期抗性鉴定结果, 以不同生长习性的抗、感病品种 1702、

定褐、S3008 为对照, 研究豌豆白粉病菌侵染前不同抗性品种间相关防御系统的变化规律, 以期抗病育种提供理论依据。

### 1 试验材料与方法

#### 1.1 试验材料

选用抗病品种 X9002、中抗品种 1702、中感品种定褐及高感品种 S3008 为试材, 培养土用甘肃省农业科学院试验地耕层与蛭石、腐殖质按 1 : 1 : 2 混合, 装于规格为 30 cm × 30 cm 的花盆内, 每品种种 6 盆, 置于智能化温室中进行培养。

#### 1.2 试验方法

1.2.1 叶绿素含量测定 采用分光光度计法<sup>[8]</sup>。

收稿日期: 2014-11-17

基金项目: 现代农业食用豆产业技术体系(CARS-09); 国家自然科学基金(31160304); 甘肃省青年科技基金计划(145RJYA303); 甘肃省农业科学院中青年基金项目(2014GAAS18)资助

作者简介: 张丽娟(1985—), 女, 甘肃兰州人, 研究实习员, 硕士, 主要从事食用豆类病虫害防治及抗病育种工作。联系电话: (0)18794861458。E-mail: binglingkeer103@163.com

通讯作者: 杨晓明(1972—), 男, 甘肃静宁人, 研究员, 博士, 主要从事豌豆育种及病虫害防治研究工作。联系电话: (0)13893202302。E-mail: yangxm04@hotmail.com

称取剪碎的新鲜豌豆叶片 0.2 g 于研钵中, 加 80% 丙酮 25 mL 研磨, 定容至 25 mL, 80% 丙酮作对照, 于 652 nm 处测定样品液吸光值, 按下列公式计算叶绿素含量, 重复 3 次。

$$C_T = (D_{652} \times 1000) / 34.5$$

叶绿素含量 =  $C_T \times$  提取液体积  $\times$  稀释倍数 / 样品鲜重  $\times 1000$

1.2.2 可溶性糖含量测定 称取剪碎的新鲜豌豆叶片 0.5 g, 放入大试管中, 加入 15 mL 蒸馏水, 沸水浴煮沸 20 min, 取出冷却, 过滤入 50 mL 容量瓶中, 蒸馏水冲洗残渣数次定容至刻度。取待测样品提取液 1.0 mL 加蒽酮试剂 5 mL, 将各管快速摇动混匀后, 在沸水浴中煮 10 min, 取出冷却, 在 620 nm 波长下, 用空白调零测定光密度, 同时绘制标准曲线<sup>[9]</sup>。

1.2.3 粗酶液的制备 称取 0.2 g 新鲜豌豆叶片, 放入预冷的研钵中, 加入 2.0 mL 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0)和 0.1 g 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)及少量石英砂, 于冰浴中研磨成匀浆, 转移至离管中, 然后再加入 3.0 mL 上述缓冲液冲洗研钵合并入离心管。13 000 r/min, 4 °C 离心 20 min, 上清液即为酶的粗提液。

1.2.4 SOD 活性的测定 取上清液 0.03 mL, 加 1.8 mL 反应液 [含 14.5 mM 甲硫氨酸, 2.25 mM NBT, 60 μM 核黄素, 30 μM EDTA-Na<sub>2</sub>; 用 50 mM PBS (7.8)], 4 000 lux 照光 20 min, 黑布避光终止反应, 黑暗下终止反应, 立即在 560 nm 波长处测定吸光值, 以缓冲液代替酶液作为空白。抑制 NBT 光化学反应 50% 为一个酶活性单位<sup>[10]</sup>。

1.2.5 CAT 活性测定 取上清液 0.1 mL、磷酸缓冲液(pH 7.0)1.5 mL、蒸馏水 1 mL, 设置 2 个重复 1 个对照。25 °C 预热后逐管加入 0.2 mol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 在 240 nm 下测定吸光度, 每隔 1 min 读取一次, 共测 3 min<sup>[11]</sup>。

1.2.6 POD 活性测定 0.1 mL 酶液, 加入含有 2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的 0.05 mol/L 磷酸缓冲液和 0.05 mol/L 愈

创木酚, 用加热煮沸 5 min 的酶液为对照, 立即于 37 °C 水浴中保温 15 min, 然后迅速转入冰浴加入 2.0 mL 20% 三氯乙酸终止反应, 470 nm 波长下测定吸光度, 以每分钟内吸光度变化 0.01 为 1 个过氧化物酶活性单位(U)<sup>[12]</sup>。

1.2.7 PPO 活性测定 0.1 mL 酶液加入 5 mL 试管中与 1.7 mL 含 0.02 mol/L 邻苯二酚的磷酸缓冲溶液 (pH 6.8) 混合。在 30 °C 水浴保温 30 min, 于 398 nm 下测光密度值, 以提取缓冲液为空白对照。以每秒在 398 nm 处吸光度变化 0.01 为 1 个酶活性单位 U。

1.2.8 PAL 活性测定 取上清液 0.1 mL, 加底物 0.02 M 苯丙氨酸硼酸缓冲液 (pH 8.8) 1.7 mL, 30 °C 保温 30 min, 硼酸缓冲液为对照, 以每秒在 290 nm 处吸光度变化 0.01 为 1 个酶活性单位<sup>[13]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同抗性品种可溶性糖含量差异

由表 1 可见, 随着豌豆品种抗性降低, 可溶性糖含量大致呈升高趋势, 抗性品种 X9002 和 1702 的可溶性糖含量均低于 7%, 感病品种定褐和 S3008 的可溶性糖含量均高于 7%, 抗病品种与感病品种间差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 但高抗品种 X9002 与中抗品种差异不显著 ( $P > 0.05$ )。高感品种 S3008 可溶性糖含量并非最高, 较中感品种 1702 低, 为 7.19%, 不同抗性品种间可溶性糖含量差异不显著。

### 2.2 不同抗性品种叶绿素含量差异

叶绿素含量作为直接反映植物光合特性的重要生理参数, 已成为多种植物的抗逆生理指标。叶绿素含量高, 叶片光合作用强, 产生的能量和积累的有机物质就越多, 植物抗病性也就越强。由表 1 可以看出, 不同品种的叶绿素含量随着白粉病抗性降低而降低, 抗性品种叶绿素含量均高于 3 mg/g, 明显高于感病品种。高抗品种 X9002 叶绿素含量最高, 达到 4.13 mg/g; 感病品种叶绿素含量均低于 3 mg/g, 高感品种 S3008 叶绿素含量

表 1 不同抗性品种的生理指标与抗病性的关系

品种名称	白粉病抗性	可溶性糖 (%)	叶绿素含量 (mg/g)	SOD活性 [U/(g·min)]	CAT活性 [U/(g·min)]	POD活性 [U/(g·min)]	PPO活性 [U/(g·s)]	PAL活性 [U/(g·min)]
X9002	高抗	6.62 b C	4.13 a A	184.7 b B	26.82 c C	232.47 a A	180 a A	190.65 a A
1702	中抗	6.80 b BC	3.39 b B	403.28 a A	34.2 b B	232.38 a A	159 a A	152.85 b B
定褐	中感	7.28 a A	2.66 c C	206.56 b B	42.57 a A	230.49 a A	147 a AB	120.75 c C
S3008	高感	7.19 a A	2.63 c C	363.93 a A	43.65 a A	194.22 b B	99 b B	77.85 d D

最低, 为 2.63 mg/g。经统计分析高抗品种与中抗、中感及高感品种均存在极显著差异( $P<0.01$ ), 说明叶绿素含量与豌豆白粉病抗性正相关, 可反映豌豆品种白粉病抗性的增强。

### 2.3 不同抗性品种 SOD 活性差异

由表 1 可以看出, SOD 活性与豌豆白粉病抗性之间的变化规律不明显。其中中抗品种 1702 的 SOD 活性最高, 为 403.28 U/(g·min), 与高抗和中感品种存在极显著差异( $P<0.01$ )。而高抗与中感品种间无显著性差异( $P>0.05$ ), 且高抗品种 X9002 的 SOD 活性最低, 为 184.7 U/(g·min)。抗病品种与感病品种间的 SOD 活性不呈规律性变化, 因此 SOD 活性的高低不能反映豌豆白粉病抗性的强弱。

### 2.4 不同抗性品种 CAT 活性差异

由表 1 可以看出, 不同抗性品种的 CAT 活性随着白粉病抗性的减弱而增强, 抗病品种 CAT 活性明显低于感病品种; 高抗品种 X9002 的 CAT 活性最低, 为 26.82 U/(g·min), 与中抗品种及感病品种的 CAT 活性存在极显著差异( $P<0.01$ ); 高感品种 S3008 的 CAT 活性最高, 达到 43.65 U/(g·min)。表明 CAT 活性与豌豆白粉病抗病性之间存在一定的关系, 可用 CAT 活性高低反应豌豆白粉病抗性的强弱。

### 2.5 不同抗性品种 POD 活性差异

由表 1 可以看出, 不同抗性豌豆品种之间 POD 活性差异不显著, 高感品种 S3008 的 POD 活性最低, 为 190.08 U/(g·min), 高抗、中抗与中感品种 POD 活性均高于 200 U/(g·min), 且三者之间没有显著差异( $P>0.05$ )。即在豌豆不同抗性品种中, POD 活性不随白粉病抗性强弱呈规律性变化, POD 活性的高低不能反映豌豆白粉病抗性的强弱。

### 2.6 不同抗性品种 PPO 活性差异

从表 1 中看出, 不同抗性品种的 PPO 活性随着抗病性的减弱而降低。高抗品种 X9002 中 PPO 活性最高, 为 180 U/(g·s); 高感品种 S3008 活性最低, 99 U/(g·s), 抗病品种与感病品种间差异极显著( $P<0.01$ )。可见 PPO 活性与豌豆白粉病抗病性有一定的关系, 可用 PPO 活性的高低反映豌豆白粉病抗性的强弱。

### 2.7 不同抗性品种 PAL 活性差异

表 1 显示不同豌豆品种 PAL 活性随着白粉病抗性的减弱而降低。高抗品种 X9002 的 PAL 活性最高, 为 190.65 U/(g·min), 与中抗、中感及高感

品种表现极显著差异( $P<0.01$ ); 高感品种 S3008 的 PAL 活性最低, 为 77.85 U/(g·min), 不同抗性品种间 PAL 活性表现极显著差异( $P<0.01$ ), 可用 PAL 活性反应豌豆白粉病抗性水平。

## 3 小结与讨论

1) 选取 4 种抗性不同的豌豆品种, 测定品种间叶绿素和可溶性糖含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性变化。结果表明, 叶绿素含量、POD、PPO 活性和 PAL 活性随对豌豆白粉病抗性的减弱而降低, CAT 活性随豌豆白粉病抗性减弱而升高, SOD 活性与豌豆白粉病抗性没有明显变化规律。方差分析结果显示, 不同抗感病品种间叶绿素含量、PPO 活性、PAL 活性和 CAT 活性差异极显著( $P<0.01$ ), 因此可以用叶绿素含量、PPO 活性、PAL 活性和 CAT 活性来反映豌豆白粉病抗性强弱。

2) 防御酶系统在植物抵御病害中起着非常重要的作用。酚类化合物在植物抗病中起着重要的作用, PPO 能够促进酚类物质氧化成为醌或者形成木质素, 大量木质素在受侵染部位合成并积累, 抑制病原菌的繁殖, 醌类化合物通过钝化病原菌的呼吸酶, 阻碍病原菌繁殖扩散。PPO 活性越大, 植株对病原菌抑制力越强, 即抗病性越强。PAL 也是酚代谢的主要酶之一, 能催化苯丙氨酸脱氨基后产生肉桂酸, 最终转化为木质素。PAL 活性愈大, 酚类合成代谢愈强。本研究发现, 豌豆高抗品种 X9002 的 PPO 活性和 PAL 活性明显高于感病品种, 由于其酚类物质氧化程度高, 抵御病害能力强, 这与在草莓和白菜上的研究中有相似结论<sup>[14-15]</sup>。CAT 也是植物体内重要的酶促防御系统之一, 能清除活性氧的膜保护酶类, 它能把活性氧转变为低活性物质, 从而保护细胞膜系统。

3) 本研究所筛选的几个生理指标是否能作为衡量豌豆白粉病抗性的标准, 准确反应不同品种的抗病性, 还需进一步接种白粉病菌, 在尽可能多的豌豆品种中进行验证, 以期找到在诱导植株发病前即可通过采集少量叶片测定豌豆抗病性的可靠指标。

### 参考文献:

- [1] 陈群航, 郑益嫩. 福建省豌豆白粉病调查与防治[J]. 福建农业科技, 1998,(5): 13-14.
- [2] 彭化贤, 姚 革. 我国豌豆地方品种抗白粉病性的研

# 华丽凤仙花抑菌作用初探

刘 芳, 吴三林, 龚明福, 张吉林, 伏秦超, 陈 莎

(乐山师范学院生命科学学院, 四川 乐山 614000)

**摘要:** 为研究华丽凤仙花的茎、叶、花瓣的 3 种不同提取液对大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌黑色变种 3 种细菌的抑制作用, 分别用水、75%乙醇、75%丙酮提取华丽凤仙花不同部位, 获取其提取液。运用平板稀释涂布法对 3 种细菌的抑菌效果进行检测, 记录观察菌落数并对抑菌率进行计算。结果表明, 凤仙花的 3 种不同提取液随着浓度的增加, 抑菌作用也加强, 当 3 种提取液浓度大于 0.025 g/mL 后, 对 3 种供试菌的抑菌率均超过 50%, 不同溶剂间抑菌效果从大到小排序为丙酮提取液、乙醇提取液、水提取液; 不同器官提取液之间抑菌效果从大到小排序为花、叶、茎。

**关键词:** 华丽凤仙花; 提取液; 抑菌作用

**中图分类号:** S681.1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2015)03-0036-03

doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2015.03.012

凤仙花属 (*Impatiens*) 植物全球大约有 900 多种, 主要分布在亚热带与热带山区, 在我国约有 220 多种, 其地理分布具有极其明显的地域性和特有性。四川峨眉山分布有 12 个特有种<sup>[1]</sup>, 华丽凤仙花 (*Impatiens faberi* Hook. f.) 为其中之一, 生于海拔 1 350 ~ 2 100 m 林下, 花紫红色, 花期长。目前国内外对于凤仙花的研究主要是集中在两个方面: 一是化学成分, 研究表明凤仙花含有大量黄酮类、萜醌类、香豆素类、甾醇类等成分<sup>[2]</sup>; 二

是药理药效, 认为凤仙花有较好的抗过敏、抗真菌、抗细菌等作用<sup>[3-9]</sup>。为了验证峨眉山特有种华丽凤仙花是否具有相类似的药理药效, 我们以华丽凤仙花的茎、叶、花瓣为试材, 采用 3 种不同溶剂浸提, 研究浸提液对于细菌的抑制作用, 以期华丽凤仙花的开发提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

华丽凤仙花植株采自峨眉山海拔 1 720 ~ 1 920

**收稿日期:** 2014-12-29

**基金项目:** 四川省教育厅资助项目(11ZB216)

**作者简介:** 刘 芳 (1978—), 女, 甘肃天水人, 副教授, 硕士, 主要从事植物生理生化研究。联系电话: (0) 13890650896。E-mail: liufang9028@163.com

- 究[J]. 植物病理学报, 1993, (1): 64.
- [3] 林成辉, 唐乐尘. 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): 38-39.
- [4] 王志刚. 豌豆源类型筛选抗病性鉴定与利用评价[J]. 内蒙古农业科技, 2003(1): 12-13
- [5] 陈振洛. 甜豌豆白粉病的发生与防治[J]. 福建农业. 2004(2): 20-21.
- [6] 王阿旺, 傅俊范, 周如军, 等. 草莓白粉病菌对寄主防御酶活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2009(2): 111-113.
- [7] 杨晓明. 豌豆白粉病研究进展[J]. 甘肃农业科技, 2012(8): 35-37.
- [8] 赵世杰, 刘华山, 董新纯. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998: 68-72.
- [9] 邹 琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 111-112.
- [10] 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: 267-268.
- [11] 王保成, 孙万仓, 范惠玲, 等. 芸芥自交亲和系与自交不亲和系 SOD、POD 和 CAT 酶活性[J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(2): 162-165.
- [12] 李合生, 李 琳, 焦新之. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 164-165.
- [13] 邢会琴, 李敏权, 徐秉良, 等. 过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶与苜蓿白粉病抗性的关系[J]. 草业科学, 2007, 15(4): 376-377.
- [14] 张 梅, 刘 瑶, 丛慧芳, 等. 草莓抗白粉病生理生化指标研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(28): 249-253.
- [15] 刘 琳, 侯喜林, 王利英, 等. 不结球白菜感染芜菁花叶病毒后 4 种防御酶活性变化及其抗病相关性[J]. 南京农业大学学报, 2009, 32(3): 14-18.

(本文责编: 陈 珩)