

大葱抗感紫斑病品种生理特性研究

梁艳荣^{1,2}, 胡晓红³, 张颖力², 姜伟², 陈春梅², 张少英¹

(1. 内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古农牧业科学院 蔬菜研究所, 内蒙古 呼和浩特 010031;
3. 内蒙古农牧业科学院 园艺研究所, 内蒙古 呼和浩特 010010)

摘要: 为了研究大葱对紫斑病的抗性, 进行了苗期抗性鉴定。以抗病性差异很大的 2 个品种为材料, 分析了感病前后叶绿素、类胡萝卜素、过氧化物酶、丙二醛、脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白质、游离氨基酸含量变化。结果显示, 不论是抗病材料还是感病材料, 发病后叶绿素含量和类胡萝卜素含量都呈下降趋势, 但感病材料下降的幅度大。发病前后, 抗病材料过氧化物酶活性明显高于感病材料, 发病后 2 材料的过氧化物酶活性均大幅度提高, 但抗病材料增幅大于感病材料。抗病材料未发病时 MDA 含量差异很小, 发病后 MDA 均增加, 但感病材料 MDA 含量明显高于抗病材料。抗病材料脯氨酸的自然含量高于感病材料, 发病后两类材料脯氨酸含量都上升, 抗病材料明显高于感病材料。抗病材料可溶性蛋白质的自然含量差异不大, 发病后抗病材料蛋白质含量呈下降趋势, 而感病材料则略有增加。大葱受紫斑病侵染后, 无论抗病材料还是感病材料, 可溶性糖含量都呈下降的趋势, 但抗病材料下降的幅度小于感病材料。感、抗病材料游离氨基酸的自然含量高于感病材料, 发病后感病材料游离氨基酸含量有所增加, 而抗病材料的含量下降。

关键词: 大葱; 紫斑病; 生理特性

中图分类号: S633.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2008)02-0169-04

Physiologic Differences between Resistant and Susceptible Cultivars Infected by Welsh Onion *Alternaria* Leaf Spot

LIANG Yan-rong^{1,2}, HU Xiao-hong³, ZHANG Ying-li², JIANG Wei²,
CHEN Chun-mei², ZHANG Shao-ying¹

(1. Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China;

2. Vegetable Institute, Inner Mongolia Academy of Agriculture and Animal Husbandry, Huhhot 010031, China;

3. Horticultural Institute, Inner Mongolia Academy of Agriculture and Animal Husbandry, Huhhot 010010, China)

Abstract: In order to study resistance of welsh onion to *alternaria* leaf spot, evaluation of resistance of welsh onion seedling was done. Also, two varieties with different resistance to welsh onion *alternaria* leaf spot were used to study changes of chlorophyll content, carotenoid content, POD activity, MDA content, proline content, soluble protein content, soluble sugar content and free amino acid content. The results showed that the chlorophyll content and carotenoid content dropped on both varieties. But the susceptible cultivar dropped more than the resistant one. The POD activity of the resistant cultivar was higher than the susceptible one, and increased more than the latter. The MDA contents between two cultivars were little difference before infection. The susceptible cultivar increased more than the resistant one after infection. The proline content of the resistant cultivar was higher than the susceptible one, and increased more than the latter after infection. The soluble protein contents between two cultivars were little difference before infection. The susceptible cultivar increased a little, and the resistant one dropped after infection. The soluble sugar content of both cultivars dropped after infection, but the susceptible cultivar dropped more than the resistant one. The free amino acid content of the resistant cultivar was higher than the susceptible one, and the susceptible cultivar increased a little, and the resistant one decreased after infection.

Key words: Welsh onion; *Alternaria* leaf spot; Physiological characteristics

收稿日期: 2007-10-10

基金项目: 内蒙古自治区科技厅资助项目(20050612)

作者简介: 梁艳荣(1963-), 女, 吉林永吉人, 研究员, 在读博士, 主要从事园艺作物生理及蔬菜育种研究。

大葱紫斑病[*Alternaria porii* (Ell.) Ciferri.] 为半知菌亚门葱链格孢真菌病害, 主要危害叶和花梗, 初呈水渍状白色小点, 后变淡褐色圆形或纺锤形稍凹陷斑, 继续扩大呈褐色或暗紫色, 周围常具黄色晕圈, 病部长出深褐色或黑色具同心轮纹状排列的霉状物, 病部继续扩大致全叶变黄枯死或折断。每年温暖多湿的夏季发病重。近几年来, 随着大葱种植面积的增加, 土壤中菌量加大, 使该病发生严重。据调查, 一般年份发病率 10% ~ 20%, 严重时达 30% ~ 50%, 对大葱的产量和质量产生很大影响^[1-3]。本试验对部分大葱种质资源进行了苗期抗紫斑病鉴定, 筛选出抗病材料, 并试图通过分析抗、感材料的生理特性, 研究这些生理指标与抗紫斑病的关系, 进而探索抗病基础, 为早期鉴定抗病性提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试材料共 65 份, 其中, 国内材料 46 份(山东 12 份, 山西 4 份, 内蒙古 7 份, 辽宁 8 份, 天津 4 份, 河北 4 份, 浙江、黑龙江、福建、广东、上海、吉林、陕西各 1 份); 国外材料 19 份(韩国 1 份, 日本 18 份)。

1.2 试验方法

1.2.1 田间病情调查 2006 年、2007 年分别于 7 月 5 日左右播种, 9 月初田间发病盛期分别调查发病率和病情指数。

1.2.2 紫斑病分级标准 0 级无病斑; 1 级病斑占整个叶面积的 5% 以下; 3 级病斑占整个叶面积的

6% ~ 10%; 5 级病斑占整个叶面积的 11% ~ 20%; 7 级病斑占整个叶面积的 21% ~ 50%; 9 级病斑占整个叶面积的 51% 以上。

1.2.3 感、抗病品种生理指标测定 根据筛选结果, 选择抗病和感病品种, 播种于营养钵中, 至幼苗长至 5 片叶时接种, 第 5 天开始进行生理指标测定。

乙醇—丙酮法提取叶绿素, 不同波长下比色测定含量^[4]; 过氧化物酶(POD)活性, 愈创木酚法^[4]; 丙二醛(MAD)含量, 硫代巴比妥酸法^[4]; 脯氨酸(Pro)含量, 茚三酮法^[3]; 可溶性蛋白质含量, 考马斯亮蓝 G—250 染色法^[5]; 可溶性糖含量, 蒽酮法^[4]; 游离氨基酸含量, 茚三酮显色法^[5]。

2 结果与分析

2.1 大葱紫斑病苗期鉴定结果分析

通过表 1 可知, 发病率 < 50.0% 的材料 1 份, 50.1% < 发病率 < 80.0% 的材料 7 份, 80.1% < 发病率 < 90.0% 的材料 13 份, 发病率 > 90.1% 的材料 44 份。病情指数 < 10.0 的材料 4 份, 10.1 < 病情指数 < 20.0 的材料 33 份, 20.1 < 病情指数 < 30.0 的材料 22 份, 病情指数 > 30.0 的材料 6 份。不同材料的抗病性差异较大, 一般叶色深、腊粉厚的材料抗病性强。总体上说, 日本品种的抗病性较强以亚洲黑金长葱、亚洲长玉的发病率及病情指数最低, 表现出较强的抗性, 铁杆大梧桐和华誉高白发病率及病情指数最高, 为感病严重材料。

表 1 大葱紫斑病苗发病率和发病结果

Tab. 1 Results of morbidity and disease on welsh onion alternaria leaf spot

材料名称 Name	发病率/% Morbidity rate	病情指数 Disease index	材料名称 Name	发病率/% Morbidity rate	病情指数 Disease index
韩国大葱 Korea Welsh onion	92. 6	19. 05	天一 Tianyi	71. 4	10. 43
精选高白大葱 Long stem welsh onion	100	21. 21	金光一本 Jinguangyiben	71. 4	11. 99
晋生梧桐巨葱 Wutongjucong	88. 6	23. 17	元藏葱 Yuanzang	95. 7	17. 50
圣园气煞风 Shengyuan Qishafeng	100	26. 5	科星章丘大葱 Kexing Zhangqiu welsh onion	100	24. 29
日本长悦 Japanese changyue	87. 1	11. 11	凌云章丘大葱 Lingyun Zhangqiu welsh onion	98. 2	29. 50
金长三号 Jinchang No. 3	87. 2	12. 19	海洋大葱 Haiyang welsh onion	100	33. 00
胭脂红 Yanzhihong	100	11. 11	长龙大葱 Changlong welsh onion	92. 9	19. 84
金土地章丘大葱 Jintudi Zhangqiu Welsh onion	100	23. 39	黑胜大葱 Heisheng welsh onion	88. 0	23. 11
托县孤葱 Tuoxian gucong	84. 6	16. 40	银迪大葱 Yindi welsh onion	100	19. 40
铁杆大梧桐 Tiegan Wutong	100	44. 02	日本香葱 Japanese chives	66. 7	9. 26
常丰四季小葱 Changfeng four— season cong	96. 1	22. 30	四季小香葱 Four— season chives	84. 6	14. 53
中华葱王 King cong	100	21. 14	上海小香葱 Shanghai chives	91. 7	14. 51
新一代章丘大葱 Zhangqiu Welsh onion	100	21. 03	冬宙一本太葱 Dongzhou yiben welsh onion	81. 8	15. 15
鑫众巨葱 Xinzhong jucong	98. 6	14. 35	夏宙一本太葱 Xiazhou yiben welsh or— hion	60. 0	16. 0

续表					
材料名称 Name	发病率/ % Morbidity rate	病情指数 Disease index	材料名称 Name	发病率/ % Morbidity rate	病情指数 Disease index
四季小葱 Four— season cong	75. 0	11. 11	气煞风 Qishafeng	100	30. 86
四季高白香葱 Four— season long pseudostem cong	100	14. 29	鲁园中日巨葱 Zhongri cong	100	35. 95
亚洲长宝 Asia changbao	83. 3	9. 26	梧桐王 King wutong	92. 9	21. 43
亚洲长玉 Asia changyu	62. 3	7. 14	菏泽龙凤 Heze longfeng	100	20. 26
亚洲黑金长葱 Asia black long cong	36. 1	4. 32	冬灵白 Donglingba i	100	19. 44
内葱二号 Neicong No. 2	92. 1	20. 64	华誉高白 Huayu Long pseudostem	100	43. 70
五叶齐 Wuyeqi	97. 0	26. 16	高脚白 Gaojiaobai	100	22. 22
本地葱 Home— growm cong	91. 1	16. 94	台湾菜葱 Taiwan cong	84. 1	25. 00
冬灵白 Donglingbai	94. 7	20. 35	天津五叶齐 Tianjin wuyeqi	96. 7	18. 89
辽宁大葱 Liaoning Welsh onion	98. 7	20. 10	赤水六黑葱 Chishui black cong	98. 2	17. 70
辽葱二号 Liaocong No. 2	97. 6	18. 50	玉郡直树 Yujun zhishu	100	12. 82
平泉龙井玉葱 Longjing yucong	100	16. 14	吉叶晚葱一本葱 Jichuan yibencong	82. 1	14. 82
唐山大葱 Tangshan Welsh onion	100	24. 24	细香葱 Chives	82. 1	14. 68
梧桐巨葱 Wutong cong	97. 6	22. 65	长悦 Changyue	84. 8	15. 49
晋生葱王之王 King Jin cong	95. 4	20. 49	玉田五叶齐 Yutian wuyeqi	86. 4	15. 66
来星五叶齐 Laixing wuyeqi	95. 1	15. 37	一本太 Tibentai	93. 1	17. 24
章丘大葱精选良种 Zhangqiu improved seeds	98. 8	18. 97	高原一品 Gaoyuan yipin	91. 7	14. 81
立丰中华巨葱 Zhonghua jucong	100	27. 89	内葱一号 Neicong No. 1	100	11. 11
日本细香葱 Japanese chives	68. 9	11. 69			

2.2 感、抗病品种生理特性分析

根据鉴定结果, 选择抗病品种亚洲黑长金(代号 19)、感病品种铁杆大梧桐(代号 10)进行生理特性分析。同时设置接种处理(A)和不接种对照(B); 10—A 感病处理, 10—B 感病对照, 19—A 抗病处理, 19—B 抗病对照。不同抗性品种的生理特点比较见表 2。

2.2.1 叶绿素含量分析 从表 2 可以看出, 不论是抗病材料还是感病材料, 发病后叶绿素含量和类胡萝卜素含量都呈下降趋势, 但感病材料下降的幅度大。感病材料叶绿素含量下降 85. 48%, 而抗病材料下降 49. 44%; 感病材料类胡萝卜素含量下降 40. 34%, 而抗病材料下降 6. 44%。

2.2.2 过氧化物酶(POD)活性分析 发病前后, 抗病材料过氧化物酶活性明显高于感病材料。发病后, 感病材料和抗病材料的过氧化物酶活性均大幅度提高, 但抗病材料增幅(96. 5%)大于感病材料增幅(87. 1%)。

2.2.3 丙二醛(MAD)含量分析 感、抗病材料未发病时 MDA 含量差异很小, 发病后感、抗材料 MDA 均增加, 但感病材料 MDA 含量明显高于抗病材料。且上升的幅度大, 感病后 MDA 含量是感病前的 4 倍。

2.2.4 脯氨酸(Pro)含量分析 感、抗病材料脯氨酸的自然含量有所差异, 抗病材料高于感病材料。发病后两类材料脯氨酸含量都上升, 抗病材料脯氨酸含量明显高于感病材料。抗病材料发病后脯氨酸含量增加了 9. 3 倍, 而感病材料增加了 6. 2 倍。

2.2.5 可溶性蛋白质含量分析 感、抗病材料可溶

性蛋白质的自然含量差异不大。发病后抗病材料蛋白质含量呈下降趋势, 下降幅度为 24. 1%; 而感病材料则略有增加, 增幅为 6. 7%。

2.2.6 可溶性糖含量分析 大葱受紫斑病侵染后, 无论抗病材料还是感病材料, 可溶性糖含量都呈下降的趋势, 但抗病材料下降的幅度小于感病材料。

2.2.7 游离氨基酸含量分析 感、抗病材料游离氨基酸的自然含量有所差异, 抗病材料高于感病材料。发病后感病材料游离氨基酸含量有所增加, 增幅为 9. 8%, 而抗病材料游离氨基酸含量下降, 下降幅度为 9. 1%。

3 讨论

3.1 叶绿素含量与大葱对紫斑病抗性的关系
叶绿素是植物光合作用的基础, 也是衡量植物光合功能的重要指标。当作物感染病后, 常常出现叶片褪绿、黄化、花叶等症状, 因此, 叶绿素含量的高低可以反映植物抗病性的强弱^[9]。在苜蓿^[7, 8]、小麦^[9]、黄瓜^[10]、烟草^[11]等的研究中都得出类似的结果。本研究显示, 感病材料发病后叶片叶绿素含量大幅度下降, 造成叶片光合能力下降, 而抗病材料下降幅度小, 说明病原菌对抗病材料叶绿素的破坏能力弱。类胡萝卜素在保护叶绿素方面起重要作用, 感病后, 抗性材料能够保持较稳定的类胡萝卜素含量, 这对于维持植物正常的代谢、生长发育具有重要作用^[12]。

3.2 POD与大葱对紫斑病抗性的关系

POD 存在于植物细胞的各个部分,可以催化脂肪酸、芳香胺和酚类物质等化合物的氧化,参与乙烯的生物合成,催化木质素前体如松柏醇的形成以及细胞壁碳水化合物与蛋白质之间共价键的形成等。许多研究表明,POD 与植物抗性呈正相关^[13-15]。本研究表明,发病前后抗病材料 POD 活性远远高于感病材料,发病后抗病材料的增幅高于感病材料。POD 在大葱对紫斑病反应的过程具有积极作用,其机制可能是促进某些抑菌物质的生成,从而抑制病菌扩展,使植物表现抗病性。

3.3 丙二醛(MDA)与大葱对紫斑病抗性的关系

丙二醛是膜脂过氧化的产物,能够损伤生物膜,并抑制细胞保护酶的活性,其含量高低反映作物受害程度。大葱感染紫斑病后感、抗材料丙二醛含量均提高,从而削弱其抗病能力。但抗病材料由于其防御酶系及其他生理活性物质的作用,因而,丙二醛增加的幅度小,对植物的伤害也小。

3.4 脯氨酸与大葱对紫斑病抗性的关系

植物处于胁迫状态时,其体内的游离脯氨酸能维持细胞结构、细胞运输和调节渗透压等,防止细胞脱水^[16],因而植物体内脯氨酸含量在一定程度上反映植物的抗病性,抗病性强的品种往往在胁迫条件下积累较多的脯氨酸^[17]。本试验结果显示,大葱材料脯氨酸含量及增加幅度与其抗性呈正相关。抗性强的材料由于体内脯氨酸含量迅速提高,可更好地维持细胞透性,防止或减轻酶蛋白由于胁迫引起的变性,起到抵御病菌侵入的作用。

3.5 其他物质与大葱对紫斑病抗性的关系

可溶性糖在植物体内大量存在,其含量变化与植物对某些病害的抗性有关^[18,19]。糖类物质可以通过为次生代谢—莽草酸途径提供前体参与植物的抗病性表达。植物受病原菌侵染后可溶性蛋白质的变化与莽草酸途径中的苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性有关。本试验中,大葱抗病材料发病后的叶片可溶性蛋白含量下降,而感病材料的可溶性蛋白含量则上升,且高于抗病品种。因此,抗病材料蛋白质含量的下降可能是莽草酸途径得到促进的结果,这将有利于抗性物质(如木质素)的产生;而感病材料不降反升,有可能可溶性蛋白的变化还与其他生理生化过程有关。对于蛋白质含量在抗病品种中的作用和机制还需做进一步的探讨。

参考文献:

- [1] 温嘉伟,朱琳,牟喜涛,等.紫斑病发生及防治若干问题的初步研究[J].吉林农业大学学报,2007,29(1):33—36.
- [2] 任安详,王羽梅,赵清岩.毕克齐大葱栽培技术的调查报告[J].内蒙古农业科技,1996(专辑):51—54.
- [3] 王晓辉.旱坡地大葱栽培技术要点[J].内蒙古农业科技,1993(3):51—54.
- [4] 张治安,张美善,蔚荣海.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业科学技术出版社,2004.
- [5] 李和声,孙群,赵世杰,等.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2004.
- [6] 欧志远.叶绿素含量与植物抗病性的关系[J].安徽农学通报,2007,6(13):134—135.
- [7] 徐秉良,李敏权,郁继华,等.苜蓿对白粉病抗性与叶绿素含量的关系[J].草业科学,2005(4):72—74.
- [8] 林晓萍.白粉病侵染对苜蓿叶片叶绿素含量的影响[J].甘肃农业科技,2005(7):63—64.
- [9] 陈企村.关于小麦白粉病的抗性鉴定技术[J].宁夏农学院学报,1996(2):88—90.
- [10] 黄学跃,赵立红,刘勇.黄瓜花叶病毒诱导烟草抗病性的生化研究[J].云南大学学报(自然科学版),1999(3):236—238.
- [11] 王纬,张晓彬.烟草感染黄瓜花叶病毒的生理特性及多效肥对其防治效果的研究[J].中国烟草学报,1995(4):80—82.
- [12] 王伟.甘薯抗薯瘟病的生理生化机制研究[D].福州:福建农林大学,2006.
- [13] 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.
- [14] 王汉中,刘贵华,郑元本,等.抗菌核病双低油菜新品种中双9号选育及其重要防御酶活性变化规律的研究[J].中国农业科学,2004,37(1):23—28.
- [15] 李会,马强.葡聚六塘诱导草莓抗叶枯病对叶片防御酶系统活性的影响[J].内蒙古农业科技,2007(4):39—41,61.
- [16] 林伟,牟中林,吴沿友,等.油菜抗羟脯氨酸突变体的筛选[J].华南师范大学学报(自然科学版),1998(3):16—19.
- [17] 郭文硕.锥栗对栗疫病的抗性与氨基酸的关系[J].林业科学,2002,38(1):160—163.
- [18] 王惠哲,李淑菊,霍振荣,等.黄瓜感染白粉病菌后的生理变化[J].华北农学报,2006,21(1):105—109.
- [19] 云兴福.黄瓜组织中氨基酸、糖和叶绿素含量与其对霜霉病抗性的关系[J].华北农学报,1993,8(4):52—58.