

根肿病对不结球白菜的生长及生理生化物质和活性氧代谢的影响

朱红芳, 李晓锋, 朱玉英*, 郭欣欣, 刘金平, 高倩倩, 翟文

(上海市农业科学院 园艺研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201106)

摘要:以不结球白菜主栽品种‘新夏青2号’和‘新矮青’为试验材料,采用人工气候箱内接种鉴定的方法,研究了感染根肿病对不结球白菜植株幼苗生长、生理生化物质及活性氧代谢的影响。结果显示:(1)与未感病植株(0级)相比,感染根肿病(3级)植株株高、柄长、叶面积及地上部鲜重和叶片中的叶绿素含量均显著降低,根冠比随着感病等级的增大而提高,使幼苗植株生长受到显著抑制,且‘新夏青2号’比‘新矮青’所受抑制程度更强。(2)感病后植株叶片的可溶性蛋白、可溶性糖、游离氨基酸以及叶片、根系中的脯氨酸等渗透物质的含量均比未感病植株显著降低,而叶片和根系中丙二醛(MDA)的含量显著升高,且除游离氨基酸以外‘新夏青2号’感病植株其他渗透物质的升降幅度均大于‘新矮青’。(3)感病植株叶片中硝酸根离子(NO_3^-)含量、硝酸还原酶(NR)活性和谷氨酰胺合成酶(GS)活性均比未感病(0级)植株降低,直接影响植株的氮素吸收利用能力。(4)植株感病后,叶片和根系中4种抗氧化酶(SOD、POD、CAT和APX)的活性均不同程度降低,且SOD、POD和CAT活性在根系中的降幅大于叶片,而‘新矮青’的感病3级植株根系和叶片中各酶活性的降幅均低于‘新夏青2号’(除叶片中CAT酶活性外)。研究表明,不结球白菜受到根肿病侵染后,各类生理生化物质含量和活性氧代谢均受到影响,膜脂过氧化程度加大,使不结球白菜的光合利用能力、吸收能力、渗透调节能力及抗氧化能力均受到抑制,最终影响植株的整个生长过程;品种‘新矮青’对根肿病的抗性高于‘新夏青2号’;可溶性蛋白、抗氧化酶活性和MDA可以作为不结球白菜早期筛选抗根肿病的生理指标。

关键词:根肿病;不结球白菜;生理生化物质;活性氧代谢

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Effects of Clubroot Disease on Growth, Physiochemical Substance and Reactive Oxygen Metabolism in Pak-choi

ZHU Hongfang, LI Xiaofeng, ZHU Yuying*, GUO Xinxin, LIU Jinping, GAO Qianqian, ZHAI Wen

(Horticulture Research Institute, Shanghai Academy of Agriculture Sciences, Shanghai 201106, China; Shanghai Key Lab of Protected Horticultural Technology, Shanghai 201106, China)

Abstract: The experiment was carried out by ‘Xinxiaqing 2’ and ‘Xinaiqing’ in climate chambers and studied the influence of seeding growth, physiochemical substance and active oxygen metabolism between the infection clubroot disease (level 3) and not affected clubroot disease (level 0) in pak-choi (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino) by being taken artificial inoculation method. The results showed that: (1) after infected clubroot disease, pak-choi-seedling growth, the shoot fresh weight and the chlorophyll content decreased; while the ratio of root-top (R/T) increased. With more seriously infected clubroot disease, the see-

收稿日期: 2015-08-27; 修改稿收到日期: 2015-12-10

基金项目: 沪农科基字(2014)第1-8号; 沪农青字(2014)第1-9号; 农青年科技2013(03)

作者简介: 朱红芳(1980—), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事不结球白菜遗传育种研究。E-mail: zhfh334480@126.com

* 通信作者: 朱玉英, 研究员, 主要从事青菜、甘蓝等叶菜类蔬菜新品种选育、育种技术及配套栽培技术的研究。E-mail: yy5@saas.sh.cn

ding-growth was restrained significantly, and 'Xinxiaqing 2' was more seriously than 'Xinaiqing'. (2) The osmoprotectants, such as soluble protein, soluble sugar, free amino acid in leaves and proline in roots and leaves decreased, while the malondialdehyde (MDA) content in leaves and roots increased. The changes of osmoprotectants in 'Xinxiaqing 2' infected clubroot disease were larger except free amino acid content. (3) The NO_3^- content, activities of nitrate reductase (NR) and glutamine synthetase (GS) of plants infected disease become low. (4) Under clubroot disease stress, the superoxide dismutase (SOD), peroxidase enzyme (POD), catalase (CAT) and ascorbic acid peroxidase (APX) activities in leaves were also decreased, and the SOD, POD and CAT activities in roots were reduced more than that in leaves. Except CAT, the reduced degree of 'Xinaiqing' was blower than 'Xinxiaqing 2'. Obviously, the osmoprotectants content, active oxygen metabolism, ability of using nitrogen and light were affected by clubroot disease, and membrane lipid peroxide were increased. All of the above, it was found that 'Xinxiaqing 2' was more seriously influenced by the clubroot disease than 'Xinaiqing', and the ability of photosynthesis, absorption, antioxidant and osmoprotic adjustment was depressed by clubroot disease, and the whole plant was sick to grow. Soluble protein and MDA contents, the activities of antioxidant enzymes can be used as early screening physiological indexes of clubroot disease. Comparing with normal plants, clubroot disease resistance of 'Xinaiqing' was higher than 'Xinxiaqing 2'.

Key words: clubroot disease; pak-choi; physiochemical substance; reactive oxygen metabolism

根肿病是由芸薹根肿菌 (*Plasmodiophora brassicae* Woron) 侵染所致的根部病害, 此病菌是一种专性寄生菌, 专门侵染十字花科作物, 是一种世界性土传病害^[1-4], Howard 等^[5]发现根肿病可以在油菜、大白菜、萝卜和甘蓝等 100 多种十字花科作物上发生。近年来, 不结球白菜 (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino) 感染根肿病的面积也逐年增加, 尤其在上海郊区发病情况逐年加重, 严重的区域产量急剧下降, 甚至毁产, 影响不结球白菜市场的正常供应, 造成极大损失。

国内对不同十字花科作物根肿病的接种鉴定方法研究较多^[6-8], 且比较偏重于根肿病的防治方面^[9-11]。姚建中^[12]研究发现油菜感染根肿病的死苗和成株率低, 植株的株高、角果数、每角粒数、千粒重和产量都比抗病植株显著降低; 卢晓霞等^[13]也发现油菜感根肿病植株的光合速率显著降低。但目前对不结球白菜感染根肿病的生理反应机制的研究鲜有报道。因此, 本试验通过对不结球白菜人工接种根肿病的方法, 研究根肿病侵染对不结球白菜植株的生长影响, 以及不结球白菜侵染根肿病 (3 级) 和非侵染 (0 级) 根肿病植株的叶片和根系相关生理生化指标的变化, 探讨不结球白菜根肿病的致病生理机理, 也为不结球白菜抗根肿病育种提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试材培养

供试材料为上海地区夏季和秋季的不结球白菜主栽品种 '新夏青 2 号' 和 '新矮青', 它们分别属于

耐热型和秋冬型, 前者为杂交一代品种, 具有长势快, 耐高温高湿的特点, 后者是常规种, 耐寒性强, 适合秋冬季节种植。种子均由上海市农业科学院园艺研究所青菜组提供。田间试验在上海市农业科学院蔬菜试验温室内进行, 2014 年 6 月 30 日于温室育苗盘播种, 放置于光照培养箱中进行幼苗培养, 昼/夜温度设置为 $(28 \pm 1)^\circ\text{C} / (18 \pm 1)^\circ\text{C}$, 光暗周期为 14 h/10 h, 光照强度为 $400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 左右。7 月 11 日, 利用菌土法对不结球白菜进行芸薹根肿菌人工接种。接种后 45 d 调查不结球白菜根肿病的发病情况, 并根据不结球白菜根肿病发病及分级情况, 同一品种选取各级发病植株和未感病植株测定根冠比, 并测定其 (0~5 级) 植株的生长指标, 选取其根和功能叶 (即离生长点第 3 片叶) 用于相关生理生化指标的测定。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 发病情况调查 根肿病病情分级目前尚无统一标准, 参考黄蓉^[6]的研究将病情严重度分为 4 个等级 (图 1): 0 级, 未发病; 1 级, 须根肿大, 或主根轻微肿大但不明显; 3 级, 主根明显肿大, 肿瘤大小达茎基部横切面积的 2~3 倍; 5 级, 主、须根呈现多个明显肿瘤, 或主根明显肿大, 肿瘤大小达茎基部横切面积的 4 倍以上。

1.2.2 生长指标 用直尺测量幼苗株高 (子叶节至生长点) 和柄长, 以叶长和叶宽的最大测定值为基准计算叶面积^[14], 公式采用叶长 $\times$ 叶宽 $\times 0.66$ 。用电子天平称量地上部鲜重和地下部鲜重, 计算根冠比。

根冠比 = 地下部鲜重 / 地上部鲜重

1.2.3 生理指标 叶片叶绿素含量参照李合生^[15]的方法测定;可溶性糖和可溶性蛋白含量分别采用蒽酮比色法和考马斯亮蓝 G-250 染色法测定,硝态氮(NO₃⁻)含量采用水杨酸法测定^[15];脯氨酸含量的测定采用酸性茚三酮比色法^[16];丙二醛(MDA)含量的测定采用硫代巴比妥酸法^[17]。

1.2.4 抗氧化酶活性 粗酶液的提取按照许秀淡^[18]的方法。提取液为 0.05 mol/L、pH 7.8 PBS,含 0.2 mmol/L EDTA 和 1% PVP(冰箱保存)。取 0.1 g 不结球白菜鲜样,置于预冷研钵中,分次加入预冷的提取液 1.6 mL,冰浴下研磨成匀浆,放入离心管,4 ℃ 低温下 12 000 r/min 离心 20 min。上清液即为所需粗酶液,低温保存,用于超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定。其中,SOD 活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光还原法^[19],以抑制 NBT 光化还原的 50% 为一个酶活力单位(U);POD 活性采用 Kochba 等^[20]的方法测定,以 OD₄₇₀ 每增加 1 为一个酶活力单位(U);CAT 活性采用 Dhindsa 等^[19]的方法测定,以 OD₂₄₀ 每分钟减少 0.1 为一个酶活力单位(U);APX 活性的测定按照 Nakano 等^[21]的方法;谷氨酰氨合成酶(GS)活性以 OD₅₄₀ 每小时产生的 γ-谷氨酰基异羟肟酸与铁络合物的生成量来表示,硝酸还原酶(NR)活性的测定

采用离体法,均参考陈建勋等^[22]的方法。

1.3 数据统计处理

每个指标测定重复 3 次,取平均值。数据采用 Excel 软件整理和绘图,用 SPSS 20 统计软件对平均数用 Duncan's 新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 根肿病对不结球白菜植株生长的影响

不结球白菜感染根肿病病菌后植株生长受到明显影响,2 个栽培品种的 3 级(感根肿病)植株的生长量比 0 级(未感病)植株显著降低,生长受到显著抑制(表 1)。其中,‘新夏青 2 号’3 级感病植株的株高和最大叶面积分别显著降低了 31.97% 和 40.87%($P<0.05$),柄长也降低了 5.89%,但未达到显著水平;‘新矮青’3 级感病植株的株高、柄长和最大叶面积分别显著降低了 24.96%、18.56% 和 14.74%。同时,‘新夏青 2 号’感染根肿病后,幼苗生长指标的降低幅度较‘新矮青’(除柄长以外)大。可见,不结球白菜感染根肿病后植株生长受到显著抑制,且‘新矮青’比‘新夏青 2 号’受抑制程度小。

同时,不结球白菜感染根肿病后,植株的地上部生长也受到抑制,甚至停止生长(表 2)。其中,‘新夏青 2 号’感病 1、3、5 级植株地上部鲜重分别比未感病植株(24.30 g)显著降低 88.9%、97.1% 和 96.4%,‘新矮青’感病植株则分别相应降低 94.8%、96.8% 和 95.1%;感病植株的根部异常肿大,且造成畸形的肿根,这就直接影响植株的根冠比,两品种幼苗根冠比随着感染根肿病级数的增加而随之大幅增大,‘新夏青 2 号’幼苗感病 0~5 级植株的根冠比为 0.04~1.22,‘新矮青’各级植株的根冠比则为 0.03~0.91,且‘新夏青 2 号’发病 3 级时的根冠比明显较‘新矮青’的大。可见,根冠比是体现不结球白菜植株感染根肿病的重要特征之一,且感病 3 级条件下,‘新夏青 2 号’植株地上部分生长受到的影响比‘新矮青’大。

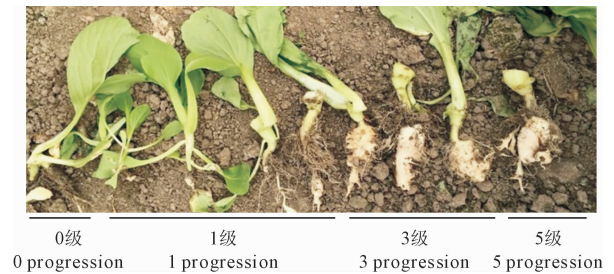


图 1 不结球白菜‘新夏青 2 号’侵染根肿病病情指数分级情况

Fig. 1 Clubroot disease index classification of pak-choi cultivation ‘Xinxiaqing 2’

表 1 根肿病对不结球白菜幼苗生长的影响

Table 1 Effects of clubroot disease on the growth of pak-choi seedling

品种 Variety	感病级数 Disease progression	株高 Plant height/cm	柄长 Stem length/cm	最大叶面积 Max leaf area/cm ²
新夏青 2 号 Xinxiaqing 2	0	10.03±0.50a	5.60±0.45a	18.87±0.64a
	3	7.60±0.55b	5.27±0.21a	11.25±0.45c
新矮青 Xinaiqing	0	8.13±0.35b	5.33±0.25a	12.72±0.51bc
	3	6.10±0.40c	4.47±0.35b	14.92±0.84b

注:同列不同字母表示品种间在 0.05 水平上存在显著性差异;下同。
Note: Different letters in the same column indicate the significant difference between varieties at the 0.05 level; The same as below.

2.2 根肿病对不结球白菜植株叶片叶绿素含量的影响

植株叶片叶绿素含量直接关系到其光合作用能否正常进行,并为植株的生长提供物质和能量。2个不结球白菜品种植株感染根肿病达到3级后,植株叶片的叶绿素含量比0级植株均不同程度降低(表3)。其中,感病‘新夏青2号’植株的叶绿素a、叶绿素b和叶绿素(a+b)的含量分别比0级植株降低了22.94%、20.18%和22.18%,且除叶绿素b外均达到显著水平($P<0.05$);感病‘新矮青’植株的相应指标分别降低了11.11%、46.61%和23.87%,且除叶绿素a外均达到显著水平($P<0.05$)。可见,不结球白菜感染根肿病后,其植株叶片中总叶绿素含量显著降低,明显影响植株生长。

2.3 根肿病对不结球白菜叶片可溶性蛋白、可溶性糖、游离氨基酸和脯氨酸含量的影响

2个不结球白菜品种感染根肿病3级植株中可

溶性蛋白、可溶性糖,游离氨基酸含量比未感株(0级)均显著降低(表4)。其中,‘新夏青2号’植株可溶性蛋白、可溶性糖和游离氨基酸含量比未感病植株(0级)分别显著降低了53.44%、53.16%和46.50%,而‘新矮青’植株则分别相应显著降低了52.82%、44.07%和57.24%($P<0.05$)。可见,根肿病显著降低了感病(3级)不结球白菜植株渗透物质含量,且‘新夏青2号’植株叶片的可溶性蛋白和可溶性糖含量下降幅度比‘新矮青’大,而其氨基酸含量降幅则低于‘新矮青’。

同时,脯氨酸是植物蛋白的主要组分之一,两品种不结球白菜植株感染根肿病后其体内的脯氨酸含量均不同程度显著降低(表4)。其中,‘新夏青2号’感病3级植株叶片和根系中的脯氨酸含量分别比其0级植株显著降低42.47%和41.66%,而‘新矮青’感病3级植株叶片和根系中脯氨酸含量则分别相应显著降低了17.05%和22.80%;在相同感病

表2 根肿病对不结球白菜幼苗地上部和地下部鲜重及其根冠比的影响

Table 2 Effects of clubroot disease on fresh weight of shoot and root and the root-top ratio (R/T) of pak-choi seedling

感病级数 Disease progression	新夏青2号 Xinxiaqing 2			新矮青 Xinaiqing		
	地上部鲜重 Shoot fresh weight/g	地下部鲜重 Root fresh weight/g	根冠比 R/T	地上部鲜重 Shoot fresh weight/g	地下部鲜重 Root fresh weight/g	根冠比 R/T
0	24.30±1.34c	1.07±0.68c	0.04	23.38±1.63c	0.77±0.41c	0.03
1	2.09±1.12b	0.37±0.32a	0.18	1.21±0.87b	0.25±0.13a	0.21
3	0.67±0.61a	0.61±0.53b	0.91	0.75±0.42a	0.52±0.36b	0.69
5	0.87±0.49a	1.06±0.79c	1.22	1.15±0.93b	1.05±0.90d	0.91

表3 根肿病对不结球白菜幼苗叶绿素含量的影响

Table 3 Effects of clubroot disease on the chlorophyll content of pak-choi seedling

品种 Variety	感病级数 Disease progression	叶绿素a Chlorophyll a/(mg·g ⁻¹)	叶绿素b Chlorophyll b/(mg·g ⁻¹)	叶绿素(a+b) Chlorophyll (a+b)/(mg·g ⁻¹)
新夏青2号 Xinxiaqing 2	0	25.19±0.91b	9.56±0.87 b	34.75±1.51c
	3	19.41±0.99a	7.63±0.58 b	27.04±0.68b
新矮青 Xinaiqing	0	19.62±1.28 a	8.41±0.65b	28.03±0.71b
	3	16.85±1.21 a	4.49±0.72a	21.34±1.32a

表4 根肿病对不结球白菜叶片可溶性蛋白、可溶性糖和游离氨基酸及根叶脯氨酸含量的影响

Table 4 Effects of clubroot disease on the contents of soluble protein,soluble sugar and free amino acid in leaves and proline in leaves and roots of pak-choi seedling

品种 Variety	感病级数 Disease progression	可溶性蛋白 Soluble protein content/(mg·g ⁻¹)	可溶性糖 Soluble sugar content/(mg·g ⁻¹)	游离氨基酸 Free amino acid/(μg·g ⁻¹)	脯氨酸 Proline/(μg·g ⁻¹)	
					叶片 Leaf	根系 Root
新夏青2号 Xinxiaqing 2	0	110.22±3.42a	25.66±2.78 a	604.31±98.21a	42.42±3.97a	29.01±3.74a
	3	51.32±3.61b	12.02±1.75 b	323.33±80.83b	24.40±1.71c	16.92±2.45c
新矮青 Xinaiqing	0	117.24±3.21 a	23.85±0.61a	558.12±56.96a	32.41±1.92b	35.99±2.92a
	3	55.31±1.28 b	13.34±0.54b	238.65±35.28b	26.89±2.23c	27.78±3.22b

3 级植株叶片和根系中,‘新矮青’植株脯氨酸含量均高于‘新夏青 2 号’,且在根系中品种间存在显著差异($P<0.05$)。以上脯氨酸含量变化结果说明‘新矮青’抵抗根肿病的能力比‘新夏青 2 号’更强。

2.4 根肿病对不结球白菜植株叶片和根系抗氧化酶活性和 MDA 含量的影响

生物或非生物胁迫促使植物体内的抗氧化酶系统和 MDA 清除程序启动,2 个不结球白菜品种抗氧化酶活性在感染根肿病菌后产生相应的变化(图 2),其植株叶片和根系中的 SOD、POD、CAT 和 APX 的活性均受到不同程度的影响,且根系的抗氧化酶活性变化幅度高于叶片中的变化(除 APX 活性除外)。首先,与未感病(0 级)植株相比,‘新夏青 2 号’感病 3 级植株叶片和根系 SOD 活性分别降低了 17.90% 和 34.15%,而‘新矮青’感病植株叶片和根系中的 SOD 活性分别降低了 44.60% 和 38.27%,且大多达到显著水平(图 2, A)。可见,2 个感染根肿病菌不结球白菜植株叶片和根系中 SOD 活性均比未感病植株明显降低,且‘新矮青’降幅明显大于‘新夏青 2 号’,而根系降幅又比叶片更大。

其次,‘新夏青 2 号’和‘新矮青’植株叶片中 POD 活性均比其根系中的活性低;‘新夏青 2 号’感病 3 级植株叶片和根系 POD 活性分别比 0 级植株显著降低了 27.03% 和 34.13%。而‘新矮青’3 级植

株则分别显著降低了 25.53% 和 33.96%(图 2, B)。这说明根肿病使不结球白菜植株叶片和根系 POD 活性显著降低,且‘新矮青’降幅低于受根肿病感染后根系中 POD 活性比叶片中幅度更大。

同时,感病 3 级和 0 级的不结球白菜叶片中 CAT 活性变化不显著,而根系中的变化存在显著的差异。与 0 级相比,‘新夏青 2 号’和‘新矮青’感病 3 级植株根系中的 CAT 活性分别显著降低 32.49% 和 23.44%(图 2, C)。说明不结球白菜在植株感染根肿病后根系 CAT 活性比叶片变化更活跃,且品种‘新夏青 2 号’比‘新矮青’变化幅度更大。

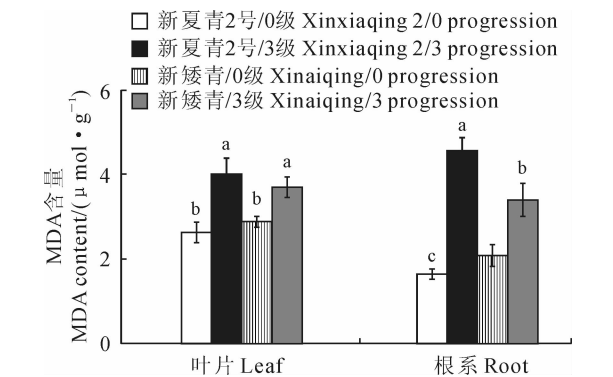


图 3 根肿病对不结球白菜叶片和根系中丙二醛含量的影响
Fig. 3 Effects of clubroot disease on MDA content of pak-choi leaves and roots

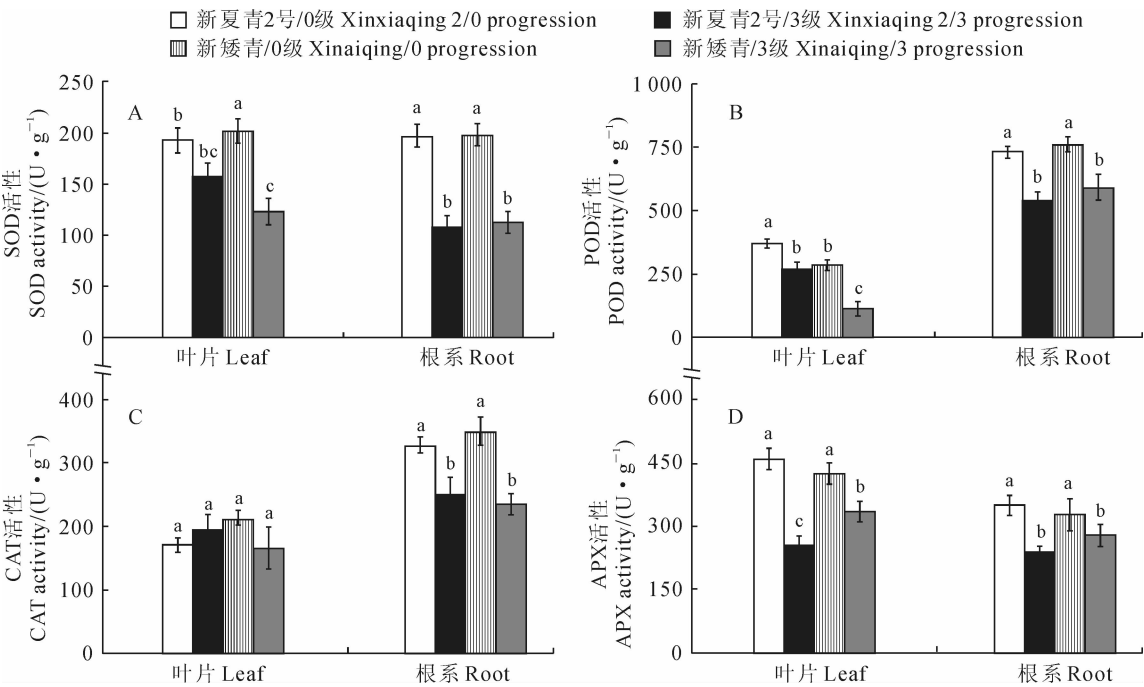


图 2 根肿病对不结球白菜叶片和根系中抗氧化酶活性的影响
Fig. 2 Effects of clubroot disease on antioxidant enzyme activities of pak-choi leaves and roots

表 5 根肿病对不结球白菜 NO₃⁻ 含量、硝酸还原酶活性和谷氨酰胺合成酶活性的影响
Table 5 Effects of clubroot disease on the NO₃⁻ content, activities of NR and GS of pak-choi seedling

品种 Variety	感病级数 Disease progression/级	NO ₃ ⁻ /(mg · g ⁻¹)	NR /(mg · g ⁻¹ · h ⁻¹)	GS /(mg · g ⁻¹ · h ⁻¹)
新夏青 2 号 Xinxiaqing 2	0	10.41±0.61b	1 022.2±99.2 b	47.94±6.90b
	3	9.07±0.15a	633.69±69.9a	30.60±6.78a
新矮青 Xinaiqing	0	13.08±0.55 c	1 192.8±92.7c	41.17±1.57ab
	3	11.65±1.06b	706.81±68.9a	33.65±5.03a

另外,‘新夏青 2 号’感病 3 级植株叶片和根系中 APX 活性比 0 级植株分别降低 45.94% 和 22.19%,而‘新矮青’感病 3 级植株的 APX 活性则相应分别显著降低 27.83% 和 18.54%(图 2,D)。表明两品种不结球白菜 APX 活性在感染根肿病(3 级)后均显著降低,且感病植株叶片降低幅度比根系大,品种‘新夏青 2 号’的降幅又大于‘新矮青’。

进一步测定结果(图 3)显示,不结球白菜感染根肿病后植株体内发生了明显的膜脂过氧化,两品种根系和叶片的 MDA 含量均显著剧增。其中,‘新夏青 2 号’感病 3 级植株叶片和根系中 MDA 含量比 0 级植株分别显著增加了 34.20% 和 48.70%,而‘新矮青’感病 3 级植株则分别显著增加了 23.95% 和 26.60%。在相同感病等级下,仅‘新夏青 2 号’3 级感病植株根系内 MDA 含量显著高于同级‘新矮青’根系。说明‘新矮青’感染根肿病后植株体内膜脂过氧化程度低于‘新夏青 2 号’,其抗根肿病能力较强。

2.5 根肿病对不结球白菜叶片中硝酸根离子、硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶影响

如表 5 所示,两品种不结球白菜感染根肿病 3 级植株叶片中硝酸根离子(NO₃⁻)含量、硝酸还原酶(NR)活性和谷氨酰胺合成酶(GS)活性均比未感病(0 级)植株显著大幅降低($P<0.05$)。其中,与 0 级植株相比较,‘新夏青 2 号’感染根肿病 3 级植株 NO₃⁻、NR 和 GS 分别显著降低 12.87%、38.01% 和 36.17%,而‘新矮青’的 3 级感病植株则分别相应降低了 10.93%、40.74% 和 18.27%。可见,根肿病显著抑制了不结球白菜植株对氮元素的吸收和利用,且抗病性强的品种降幅相对较小。

3 讨 论

十字花科作物感染根肿病后,根部组织异常大量增生,在增生部位膨大形成瘤状的肿根,肿根的出现对植物的生长和叶绿素合成有抑制作用。根冠比是衡量植株正常生长的指标,根肿病菌的侵染环境

将对不结球白菜生产产生重要影响。叶绿素含量的高低也能客观地反映植物抗病性的强弱。本试验中不结球白菜在感染根肿病后,植株各生长指标下降;随着根肿病感染等级的增加,植株的地下部和地上部鲜重随之改变,根冠比明显增大,这个结果和方中达^[23]有关指标研究结果一致;同时,本试验中感染根肿病 3 级不结球白菜植株叶绿素含量降低,这与王俊斌等^[24]、张少英等^[25]研究结果一致,当病原物侵染植物后,往往能与叶绿体发生相互作用,导致叶绿体的解体,发病严重的甚至叶绿素合成受阻,出现叶片褪绿、黄化或花叶等症状,严重影响了植株的光合能力。

当植物受到生物或非生物胁迫时,渗透物质发生改变,其中可溶性蛋白是植物所有蛋白质组分中最活跃的一部分,包括各种酶源、酶分子和代谢调节物,在生理代谢中起着十分重要作用。于虹曼等^[26]发现水稻幼苗可溶性蛋白含量与其立枯病发病率呈正相关。本研究发现,不结球白菜感病植株中可溶性蛋白含量低于未感病植株,可能是可溶性蛋白与植物抗病性存在一定的关系。同时,可溶性糖作为渗透保护物质,可提高细胞液的浓度,增加细胞持水力及组织中非结冰水,较高水平的可溶性糖能抵御病菌的侵入。丁九敏等^[27]发现黄瓜可溶性糖含量与其枯萎病抗性呈正相关。本试验中不结球白菜品种‘新矮青’和‘新夏青 2 号’在感病 3 级植株中可溶性糖含量降低,该结果与其一致。游离氨基酸是合成蛋白质的前体,游离氨基酸含量的高低决定了蛋白质的合成量,Chiang 等^[28]研究发现感抗根肿病大白菜中总的氨基酸含量与植物抗根肿病没有关系,但在抗性品种中丙氨酸和天冬酰胺含量高于易感品种,而络氨酸则是感病品种高于抗病品种,本研究中游离氨基酸含量在发病植株中降低,与其结果不一致,今后应进一步深入研究根肿病对不结球白菜合成氨基酸途径的影响。另外,陈成升等^[32]和 Wang 等^[33]认为植物体内脯氨酸的积累是反映植物所受胁迫强弱的指标,也在一定程度上反映了植物抗性

强弱的,抗性较强则积累的脯氨酸含量就高。本试验中受侵染根肿病 3 级的不结球白菜植株叶片和根系中游离脯氨酸含量较感病 0 级的植株低,且‘新矮青’感病 3 级植株脯氨酸含量高于相应的‘新夏青 2 号’,说明‘新矮青’抵御根肿病的抗性比‘新夏青 2 号’更强。

SOD、POD、CAT 和 APX 等抗氧化酶类又称为防御酶,它们在植物体内具有协同作用,是一类与病原物侵染植物有关的酶。丙二醛(MDA)是植物细胞膜脂过氧化产物之一,逆境胁迫(生物或非生物)会促使其在植物体内聚集,能引起对酶和膜的严重损伤,MDA 含量高低反映膜脂的过氧化程度,能较好地反映植物受伤害的程度^[29]。在逆境条件下,通过清除过量的活性氧,维持活性氧代谢的正常水平,减少膜脂过氧化产物 MDA 的生成,保护膜结构和机能的完整性,从而使植物在一定程度上减轻或抵御胁迫伤害^[30]。本试验中对 2 个不结球白菜感染根肿病 3 级植株和 0 级植株进行比较发现,感病 3 级植株叶片中的 SOD、POD 和 APX 及根系 SOD、POD、CAT 和 APX 活性均比 0 级植株显著降低,且感病植株根系中的氧化酶活性降幅高于叶片,感病植株叶片和根系中的丙二醛含量大幅度增加,这与程洁^[31]的研究结果一致。这可能是感病不结球白菜植株为清除过多的活性氧,造成体内各类抗氧化酶活性降低,且基于植物根部为根肿病直接侵染的

部位,致使根部抗氧化酶的活性比叶片中的降幅更大。通常情况下逆境诱导植株抗氧化酶活性升高,而本研究中则表现为降低,这可能是受根种病菌胁迫强度超过了自身的清除能力,相关酶结构遭到破坏所致。

绿色植物吸收利用氮元素并转换成蛋白质是其重要的一个代谢,尤其是对 NO_3^- 的利用。 NO_3^- 和 NR 存在相关性,硝酸根还原酶活性越强,将 NO_3^- 还原成 NO_2^- 的能力越强;谷氨酰胺合成酶(GS)具有将铵根离子和谷氨酸合成谷氨酰胺的能力。本试验中感病 3 级不结球白菜植株的 NO_3^- 含量及其 NR 活性、GS 活性均低于未感病植株。迄今相关研究还鲜有报道,因此推测这可能与不结球白菜植株感染根肿病病菌有一定的相关性。

综上所述,不结球白菜感染根肿病后,其植株的正常生长受到显著抑制,植株的根冠比得到显著提高,而植株叶绿素、可溶性蛋白和游离脯氨酸等含量降低,细胞膜脂过氧化程度增加,同时还显著降低了叶片和根系中 SOD、POD、CAT 和 APX 的活性(叶片中的 CAT 酶活性降低不显著);不结球白菜品种‘新矮青’也因上述指标变幅小于‘新夏青 2 号’,从而表现出更强的抗御根肿病能力;可溶性蛋白、可溶性糖、丙二醛和游离脯氨酸含量等指标可以作为早期筛选植株抗感根肿病的辅助生理指标。

参考文献:

- [1] LI M(李 淼),TAN G J(檀根甲),CHENG H Y(承河元). Present condition and prospect of research on plant disease resistance[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis* (Nat. Sci. Edi.) (江西农业大学学报·自然科学版),2002,24(5):731—736(in Chinese).
- [2] SHANG S(商 桑),HUANG M J(黄绵佳),TIAN L B(田丽波). Progress of studies on biological characters and molecular biology of club root disease on cruciferous crops[J]. *Journal of Jilin Agricultural Sciences* (吉林农业科学),2009,34(2):43—46(in Chinese).
- [3] DONALD C,PPRTER I. Integrated control of clubroot[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*,2009,28(3):289—303.
- [4] SHEN X Q(沈向群),NIE K(聂 凯),WU Q(吴 琼),et al. Initial research report on differentiation in identification of Chinese cabbage clubroot main physiological races[J]. *China Vegetables* (中国蔬菜),2009,8:59—62(in Chinese).
- [5] HOWARD R J,STRELKOV S E,HARDUBG M W,et al. Clubroot of cruciferous crops-new perspectives on an old disease[J]. *Histopathology*,2010,32(1):35—42.
- [6] HUANG R(黄 蓉),HUANG R R(黄瑞荣),HUA J L(华菊玲),et al. Study on inoculation methods and condition of clubroot in *Brassica rapa chinensis* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报),2012,28(31):252—255(in Chinese).
- [7] SI J(司 军),LI CH Q(李成琼),XIAO CH G(肖崇刚),et al. Study on the inoculation methods of *Plasmodiophora brassicae* [J]. *Journal of Southwest Agricultural University* (西南农业大学学报),2003,25(3):216—219(in Chinese).
- [8] ZHANG SH X(张淑霞),YANG X Y(杨晓云),SI ZH G(司朝光),et al. Compare with different artificial inoculation methods of Chinese cabbage clubroot disease[J]. *Shandong Agricultural Sciences* (山东农业科学),2010,1:78—79(in Chinese).
- [9] LIANG Y(梁 谊),ZHANG A F(张爱芳),WANG W X(王文相),et al. Review on clubroot of crucifers[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences* (安徽农业科学),2001,29(6):746—749(in Chinese).
- [10] SI J(司 军),XIAO CH G(肖崇刚),GUO X H(郭向华). Cruciferous clubroot disease and integrated control[J]. *Southwest Horticul-*

- ture(西南园艺),2003,**29**(1):24—25(in Chinese).
- [11] SONG D Q(宋道清),CHEN D L(陈栋良),WU G(吴 刚). Introduction the *Brassica rape* clubroot disease and its prevention and treatment[J]. *Sichuan Agricultural Science and Technology* (四川农业科技),2007,(2):47—48(in Chinese).
- [12] YAO J ZH(姚建中). Effect of clubroot disease on yield in *Barssic rapa* and its prevention measures[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*(安徽农业学报),2009,**15**(15):93—94(in Chinese).
- [13] LU X X(卢晓霞). Effect of rape plasmodiophora brassicae on photosynthesis and enzymatic activity of rape[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*(广州农业科学),2013,**40**(24):71—74(in Chinese).
- [14] WANG J P(王加蓬),CAI H J(蔡焕杰),WANG J(王 健),*et al.* Study on dynamic change and growth model of leaf area in initial flowing period for drip-irrigated muskmelon under mulch film in greenhouse[J]. *Water Saving Irrigation* (节水灌溉),2009,1:27—30(in Chinese).
- [15] 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.
- [16] ZHANG D ZH(张殿忠),WANG P H(汪沛洪),ZHAO H X(赵会贤). Determination of the content of free proline in wheat leaves[J]. *Plant Physiology Communication* (植物生理学通讯),1990,4:62—65(in Chinese).
- [17] HEATH R L,PACKER L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts:I. Kinetics and stoichiometry of fatted acid peroxidation[J]. *Arch Biochem. Biophys.*,1968,**125**(1):189—198.
- [18] XU X D(许秀淡),ZHENG SH Q(郑少泉),HUANG J S(黄金松),*et al.* Injurious effects by *Cornegenapsylla sinica* on active oxygen metabolism in longan leaves[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences* (福建农业科学),2000,**15**(3):60—63(in Chinese).
- [19] DHINDSA R S,PLUMB P,THORPE T A. Leaf senescence:correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. *J. Exp. Bot.*,1981,**32**(1):93—101.
- [20] KOCHBA J,LAVEE S,SOIEGEL P. Differences in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and non-embryogenic ‘Shamouti’ orange ovular callus lines[J]. *Plant Cell Physiol.*,1977,**18**(2):463—467.
- [21] NAKANO Y,ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant Cell Physiol.*,1981,**22**(5):867—880.
- [22] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社,2006.
- [23] 方仲达. 植病研究方法[M]. 北京:中国农业出版社,1998.
- [24] WANG J B(王俊斌),ZHANG SH Y(张少英),SHAO J W(邵金旺). Study on come photosynthetic performance indices of sugarbeet with rhizomania resistance[J]. *Sugar Crops of China* (中国糖料作物),2003,4:12—15(in Chinese).
- [25] ZHANG SH Y(张少英),LI G L(李国龙),MA F M(马凤鸣),*et al.* Photosynthetic chatacters in rhizomania resistant sugarbeet varieties [J]. *Sugar Crops of China* (中国糖料作物),2005,(3):1—5(in Chinese).
- [26] YU H M(于虹曼),FAN L M(樊连梅),LIU G S(刘更森),*et al.* Correlation analysis between the rice seedlings damping off resistance and the main biochemical indexes[J]. *Hunan Agricultural Sciences* (湖南农业科学),2004,(1):23—24(in Chinese).
- [27] DING J M(丁九敏),GAO H B(高宏斌),LIU Y SH(刘玉石),*et al.* Study on the relationship between physiological and biochemical substance content in cucumber leaves and the infected downy mildew resistance[J]. *Liaoning Agricultural Sciences* (辽宁农业科学),2005,1:11—13(in Chinese).
- [28] CHIANG M S,NIP W K. Free amino acid content in leaf and root tissuses of clubroot-resistant and clubroot-susceptible cabbages[J]. *Euphytica*,1973,22:393—398.
- [29] PARIDA A K,JHA B. Antioxidative defence potential to salinity in the euhalophyte *Salicornia brachiata*[J]. *J. Plant Growth Regul.*,2010,29:137—148.
- [30] LIANG Y C,CHEN Q,LIU Q,*et al.* Exogenous silicon(Si) increase antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley(*Hordeum vulgare* L)[J]. *J. Plant Physiol.*,2003,**160**(10):1 157—1 164.
- [31] 程 洁. 白菜、甘蓝根肿病相关生理生化指标分析[D]. 重庆:西南大学,2013.
- [32] CHEN CH SH(陈成升),XIE ZH X(谢志霞),LIU X J(刘小京). Interactive effects of drought and salt stresses on winter wheat seedlings growth and physiological characteristics of stress-resistance[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报),2009,**20**(4):811—816(in Chinese).
- [33] WANG X Z,WANG H,WU F Z,*et al.* Effects of cinnamic acid on the physiological characteristics of cucumber seedlings under salt stress[J]. *Front Agric China*,2007,**1**(1):58—61.

(编辑:裴阿卫)