

刘冠,赵婷婷,薛东齐,等. 番茄抗叶霉病的生理指标分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(9):133-138.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.09.038

番茄抗叶霉病的生理指标分析

刘冠,赵婷婷,薛东齐,杨欢欢,姜景彬,李景富,许向阳

(东北农业大学园艺学院,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:为明确番茄叶霉病过敏性坏死反应中的活性氧代谢、细胞保护酶和激素含量的变化,通过对番茄叶霉病抗病材料 HN19(含 *Cf-19*)、HN42(含 *Cf-11*)、Ontario7516(含 *Cf-5*)和感病材料 Money Maker(含 *Cf-0*)分别接种叶霉菌生理小种 1.2.3.4。结果表明:在接种 72 h 后,不亲和互作体系(抗病材料)出现坏死斑,番茄叶片活性氧的积累在接种后 3、15 d 出现 2 个峰值,而亲和互作体系(感病材料)只在接种后 5 d 产生 1 个峰值。不亲和互作体系中,第 1 次活性氧含量的高峰伴随着过敏性坏死反应(HR),表明高浓度的活性氧会导致细胞死亡。通过对亲和互作及非亲和互作体系中的细胞保护酶系(超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶)活性及激素(乙烯、水杨酸、脱落酸)含量分析发现,含有不同 *Cf* 基因的番茄品种在活性氧的积累、细胞保护酶活性及激素含量上存在相对统一的变化规律。

关键词:番茄叶霉病;过敏性坏死;ROS;保护酶系;激素

中图分类号: S436.412.1*9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)09-0133-05

番茄(*Solanum lycopersicum*)是世界范围内分布的主要蔬菜作物,据联合国粮农组织统计,2012 年全球番茄产量 1.62 亿 t,创造了 550 亿美元的净利润^[1]。番茄叶霉病(*Cladosporium fulvum*)是番茄保护地生产中的主要病害,被侵染后既降低番茄的产量,又影响果实的品质,有时甚至使植株死亡^[2]。番茄 *Cf* 抗病基因介导对叶霉菌的抗性遵循基因对基因假说,抗病基因 *Cf* 与无毒基因 *Avr* 的相互作用使得抗病品种对生理小种产生特异性识别。有研究表明,*Avr9/Cf-9* 和 *Avr4/Cf-4* 介导番茄产生的过敏坏死在产生速度、强度和组织特异性等方面均存在显著差异^[3]。当番茄抗性品种被叶霉菌病菌侵染后,多数在侵染区域产生过敏性坏死反应(hypersensitive response,HR)^[4]。有学者认为 HR 可能是细胞程序化死亡(programmed cell death,PCD)的一种形式^[5],因为植物体内发生 HR 时也表现出细胞凋亡的特征,如番茄原生质体用 HR 激发子花生四烯酸处理时也形成 DNA 梯形带^[6]。番茄叶霉菌的侵染可以分为 3 个阶段:早期包括蛋白酶激活^[7]、活性氧分子(reactive oxygen species,ROS)产生^[8-9]、膜质氧化和谷胱甘肽积累;中期包括脂肪氧化酶活性增强、电解液渗漏^[10]和防御基因表达^[11-12];后期包括水杨酸积累、病症出现和细胞程序性死亡。HR 中有多种信号分子参与,而活性氧是诱导 HR 的一个重要因子。当病原菌侵染寄主植物时,可使其

体内活性氧产生与清除之间的动态平衡被打破^[13]。在植物与病原菌大多数不亲和互作中,伴随 HR 的最显著特征就是氧化暴发,在短时间内积累大量的 ROS,引起过敏性细胞死亡,在 HR 过程中发挥着重要的作用^[14]。细胞保护酶系统主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等,它们有清除 ROS 的作用,使其维持在正常水平,防止其对细胞膜的毒害^[15]。综上所述,一方面 ROS 及细胞保护酶之间与植物过敏性抗病反应有关,因而被认为是植物抗病防卫反应的组成部分;另一方面,ROS 作为信号物质参与植物对病原菌侵染的防御反应、细胞死亡和抗病基因表达的调控等^[16-17]。另外有研究表明,植物激素水杨酸(salicylic acid,SA)、乙烯(ethylene,ETH)是植物抗病信号转导途径中的重要调控因子^[18]。此外,植物激素脱落酸(abscisic acid,ABA)、生长素(auxin)、赤霉素(gibberellin,GA)、细胞分裂素(cytokinin,CK)和油菜素内酯(brassinosteroid,BR)等也被报道参与调控植物对病原菌的抗性^[19-22]。

目前对于番茄叶霉菌的研究主要集中在抗病基因及其无毒基因的克隆,而很少集中在生理指标的测定上,本试验旨在探究番茄抗叶霉菌侵染的过程中活性氧、细胞保护酶活性和激素水平的变化规律,以及亲和互作体系与非亲和互作体系的区分,以明确番茄抗叶霉病的生理机制,揭示其抗病机制,为番茄的抗叶霉病育种提供基础信息。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试番茄品种(表 1)及供试叶霉菌生理小种 1.2.3.4,由东北农业大学园艺学院番茄课题组提供;HN19(含 *Cf-19*)、Ontario7516(含 *Cf-5*)、HN42(含 *Cf-11*)与叶霉菌生理小种 1.2.3.4 均为不亲和互作(incompatible interaction),即表现为免疫或高抗;Money Maker(简称 mm,含 *Cf-0*)与叶霉菌生理小种之间的相互作用是亲和互作(compatible interaction),即表现为感病。

收稿日期:2016-03-30

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(编号:CARS-25-A-15);国家自然科学基金(编号:31272171);黑龙江省杰出青年基金(编号:JC201204);黑龙江省大宗蔬菜新品种选育项目(编号:GA15B103-1)。

作者简介:刘冠(1989—),女,黑龙江双鸭山人,博士研究生,主要从事番茄遗传育种研究。Tel:(0451)55190267;E-mail:liuguan.1989@163.com。

通信作者:许向阳,博士,研究员,主要从事番茄遗传育种研究。Tel:(0451)55190267;E-mail:xyx709@126.com。

表 1 番茄抗叶霉病供试材料及品种

番茄品种	所含基因
Ontario7516	<i>Cf-5</i>
HN42	<i>Cf-11</i>
HN19	<i>Cf-19</i>
Money Maker	<i>Cf-0</i>

1.2 试验方法

1.2.1 试验材料的种植与接种 将供试材料种于温室中,每份供试材料设 3 次重复,每次重复 40 株。将供试材料用喷雾接种法分别接种叶霉菌生理小种 1.2.3.4,接种苗龄为 4~5 张真叶。接种前转入小棚保湿 24 h,使空气相对湿度达到 100%。用小型喷雾器将菌液喷于叶片背面,接种后保持湿度在 85% 以上,温度在 20~25 ℃。接种后 0、1、3、5、8、15、18、21 d 分别取供试材料第 5 或第 6 张真叶,每个材料取 4~5 张叶,用无菌水洗净,液氮冷冻后于 -80 ℃ 保存。

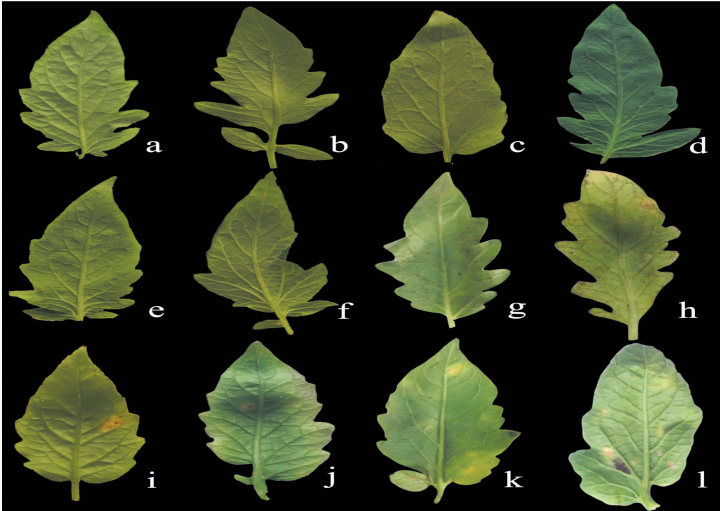
1.2.2 锥虫蓝染色观察 在接种叶霉菌后 96 h,采用洪薇的方法进行锥虫蓝染色观察^[23],用 OLYMPUS SZX10 显微镜镜检,并拍照。

1.2.3 ROS、CAT、POD、SOD 活性及 ETH、ABA、SA 含量的测定 分别采用上海劲马实验设备有限公司的植物活性氧(ROS)ELISA 试剂盒 E-60016、植物乙烯(ETH)ELISA 试剂盒 E-60049、植物激素脱落酸(ABA)ELISA 试剂盒 E-60004、植物激素水杨酸(SA)ELISA 试剂盒 E-60046 进行测定;SOD 活性采用氮蓝四唑法测定,POD 活性采用愈创木酚比色法测定,CAT 活性采用高锰酸钾滴定法测定。

2 结果与分析

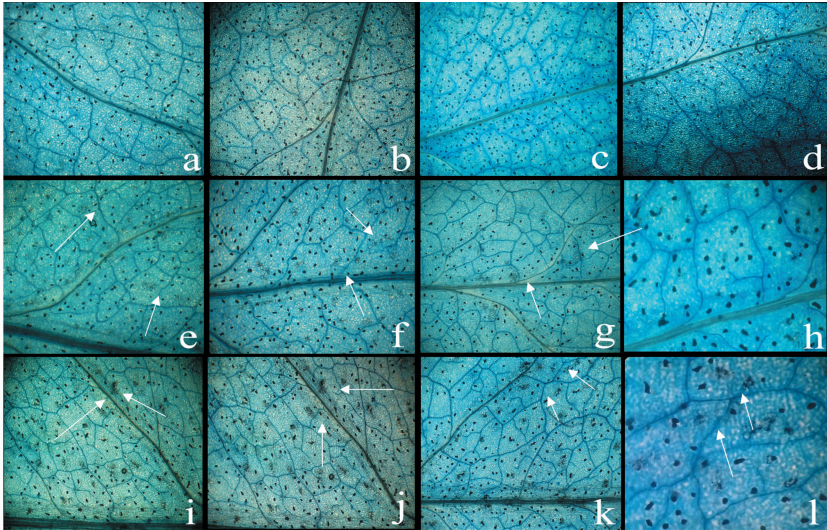
2.1 锥虫蓝染色观察

叶片接菌前都呈现健康,在接菌 3 d 时,亲和与不亲和互作体系的叶片表征没有任何变化(图 1)。但用锥虫蓝染色后,不亲和互作番茄叶片在接种后 72 h 出现 HR 现象(图 2),图



a—*Cf-5*(0 d); b—*Cf-11*(0 d); c—*Cf-19*(0 d); d—Money Maker(0 d); e—*Cf-5*(3 d); f—*Cf-11*(3 d); g—*Cf-19*(3 d); h—Money Maker(3 d); i—*Cf-5*(15 d); j—*Cf-11*(15 d); k—*Cf-19*(15 d); l—Money Maker(15 d)

图1 接种叶霉病菌后叶片特征



a—*Cf-5*(0 d); b—*Cf-11*(0 d); c—*Cf-19*(0 d); d—Money Maker(0 d); e—*Cf-5*(3 d); f—*Cf-11*(3 d); g—*Cf-19*(3 d); h—Money Maker(3 d); i—*Cf-5*(15 d); j—*Cf-11*(15 d); k—*Cf-19*(15 d); l—Money Maker(15 d)。箭头所示为HR部位

图2 接种叶霉病菌后番茄叶片HR镜检结果

2-a、图2-b、图2-c中在沿叶脉方向出现坏死细胞群。而与叶霉菌亲和互作的 Money Maker 在接种后 96 h 时,尚未出现 HR 现象。接种后 15 d 时,亲和互作叶片表面可看出有 1 小块叶霉菌霉层(图1),而此时染色图片中可看出亲和互作体系 Money Maker 叶片坏死斑的面积大于不亲和互作体系(图2),由此推测菌丝生长更为快速。

2.2 番茄抗叶霉病过敏性坏死反应中 ROS 含量的变化

病原菌的侵染可破坏植物体内活性氧的产生与清除之间的动态平衡,从图3可见,在番茄品种与叶霉菌互作体系中,接种后 0~21 d 内不亲和互作体系与亲和互作体系中 ROS 变化趋势完全不同,但不亲和互作体系中变化趋势大致相同。不亲和互作体系 *Cf-5*、*Cf-11*、*Cf-19* 中,ROS 含量出现 2 个高峰,而亲和互作体系 Money Maker 中只有 1 个峰。不亲和互作体系 *Cf-5*、*Cf-11*、*Cf-19* 的 ROS 含量在接种后 3 d 达到第 1 个峰值,而亲和互作体系 Money Maker 的 ROS 含量接种后变化不大,接种后 3 d 呈上升趋势,到接种后 5 d 达到峰值。不亲和互作体系 *Cf-5*、*Cf-11*、*Cf-19* 的 ROS 峰值高于亲和互作体系 Money Maker。虽然 3 个不亲和互作体系在叶霉菌侵染后,ROS 含量都出现了 2 个峰值且变化趋势大致相同,但略有区别。对于不亲和互作体系而言,接种后 3 d,ROS 大量积累,此时有可能是出现 HR 的时间。对于亲和互作体系而言,接种后 5 d 左右活性氧含量突增,此时有可能是病斑产生时间。由此推断,ROS 积累高峰期基本与番茄叶片坏死斑产生是同步的。

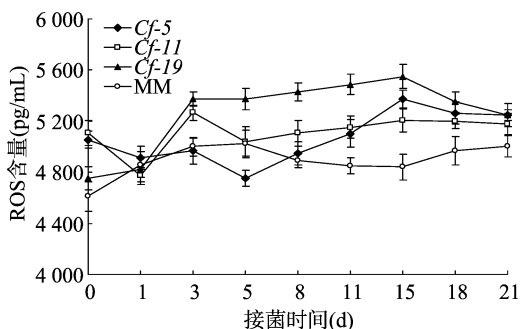


图3 接种叶霉病菌后番茄叶片内活性氧含量的变化

2.3 番茄抗叶霉病过敏性坏死过程中细胞保护酶活性的变化

SOD、POD、CAT 都是植物膜脂过氧化酶促防御系统中重要的保护酶。SOD 在细胞保护酶系统中的作用是清除超氧阴离子等活性氧,同时产生歧化产物 H_2O_2 ,CAT、POD 在保护酶系统中主要起到酶促降解 H_2O_2 的作用^[24]。

2.3.1 SOD 活性 SOD 是植物体内清除自由基的关键酶之一,它能催化植物体内分子氧活化的第 1 个中间产物 $O_2^{\cdot-}$ 发生歧化反应生成 O_2 、 H_2O_2 ,其活性高低可用于衡量植物抗性的强弱^[25]。由图4可知,接种叶霉病菌后,番茄叶片中 SOD 活性在不同互作体系中有不同变化趋势,但在不亲和互作体系中变化趋势大致相同。亲和互作体系 Money Maker 中的 SOD 活性在接种后 1 d 迅速升高后迅速下降,在接种后 3 d 达到谷值,然后升高。不亲和互作体系 *Cf-5*、*Cf-11*、*Cf-19* 中的 SOD 活性在接种后逐渐升高,并且均在接种后 5 d 达到峰值,之后迅速下降,在接种后 15 d 达到 1 个谷值。与 ROS

含量的变化相比可见,不亲和互作体系中的 ROS 含量在出现第 1 个峰值时,其 SOD 活性处于中间值,表明此时有相对较高活性的 SOD 并没有抑制 ROS 的积累。

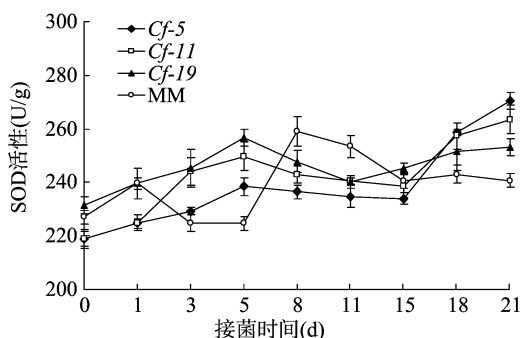


图4 接种叶霉病菌后番茄叶片 SOD 活性的变化

2.3.2 POD 活性 植物细胞内存在的 POD 可催化分解 H_2O_2 生成 H_2O 和 O_2 ,还可使脂肪酸、芳香胺和酚类物质等氧化。相关文献报道,POD 活性升高是植物抗性的一种表现形式^[26]。接种叶霉病菌后,番茄叶片中 POD 活性在不同互作体系中发生不同的变化趋势,但不亲和互作体系中的变化趋势大致相同。从图5可见,在取样时间内,亲和互作体系 Money Maker 的 POD 活性出现 2 个峰值,而不亲和互作体系只有 1 个峰值,且其峰值高于亲和互作体系。与 ROS 含量的变化相比,无论亲和互作体系还是非亲和互作体系,POD 活性的变化与其没有太大的对应关系。

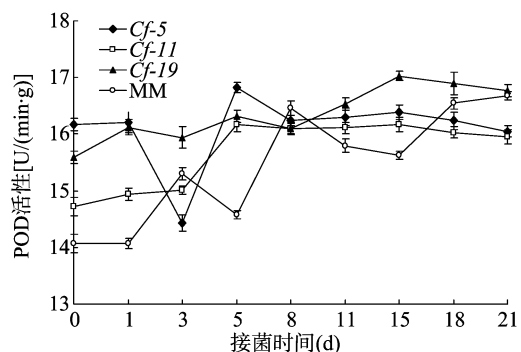


图5 接种叶霉病菌后番茄叶片 POD 活性的变化

2.3.3 CAT 活性 接种叶霉病菌后,番茄叶片中 CAT 活性在不同互作体系中具有不同的变化趋势。由图6可见,亲和互作体系的 CAT 活性在接种后迅速上升,并在接种后 5 d 达到 1 个峰值,之后迅速下降,在接种后 8 d 达到 1 个低谷,之后逐渐升高;在不亲和互作体系中 CAT 活性变化趋势大致相同,但其活性还是略有不同。在不亲和互作体系中 CAT 活性在接种后略有下降后逐渐上升,在接种后 5 d 达到峰值。与 ROS 含量的变化相比,在亲和互作体系中 CAT 活性的变化与 ROS 的积累相反。不亲和互作体系的 CAT 活性在接种后有所降低,这说明在亲和互作前期,植物体内降解 H_2O_2 的能力下降,有利于 H_2O_2 的积累。

2.4 番茄抗叶霉病过敏性坏死过程中植物激素含量的变化

2.4.1 ETH 含量 乙烯作为植物中唯一的气体激素,虽然分子量小,却参与种子萌发、幼苗发育、花叶以及果实的衰老

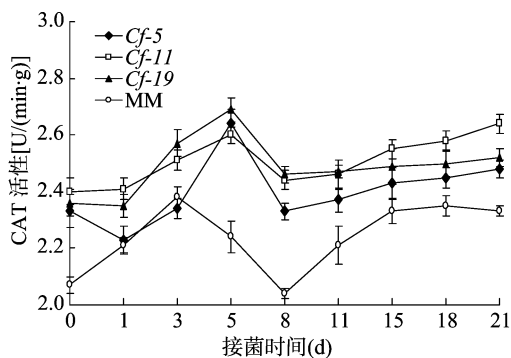


图6 接种叶霉病菌后番茄叶片 CAT 活性的变化

与凋谢等植物生长发育过程,在植物应对各种胁迫的抗性反应中亦具有至关重要的作用^[27]。由图 7 可知,在未接种叶霉病菌时,各个品种内的乙烯含量处于相同水平,接种后含量均有所上升。Money Maker 中 ETH 含量在接种后 11 d 达到 1 个峰值后下降,最后逐渐稳定。非亲和互作体系中的 ETH 含量在接种后明显高于非亲和互作体系,基本在接种后 18 d 时达到峰值,之后变化稳定。

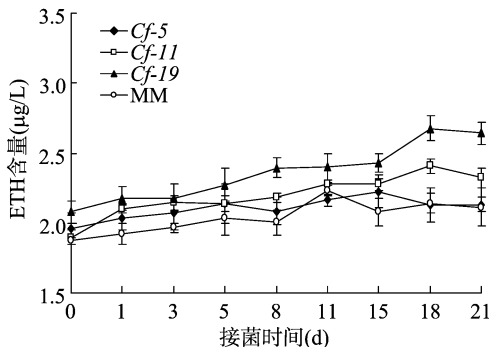


图7 接种叶霉病菌后番茄叶片内 ETH 含量的变化

2.4.2 ABA 含量 脱落酸在植物受到环境中不利因素的胁迫后,可以调控下游基因帮助植物适应复杂环境。最新研究表明,脱落酸在植物抗病反应中具有重要作用^[28]。由图 8 可以看出,番茄叶片接种后,亲和互作体系和非亲和互作体系整体趋势大致相同,但亲和互作体系中 ABA 含量迅速增加,而不亲和互作体系则变化较为缓慢。在接种后 8 d,亲和互作体系内 ABA 含量达到最大值,而后趋于平缓。非亲和互作体系中 ABA 含量虽然也在升高,但折现斜率相对于亲和互作体系较低且含量少。

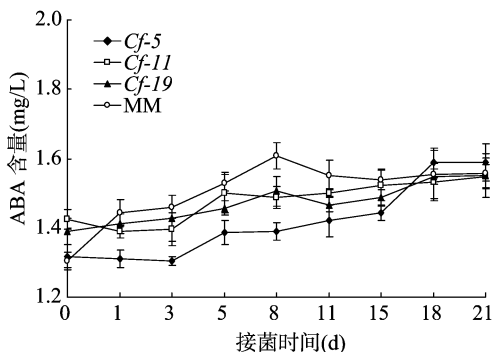


图8 接种叶霉病菌后番茄叶片内 ABA 含量的变化

2.4.3 SA 含量 水杨酸是一种酚类物质,它广泛参与植物的种子萌发、细胞生长、呼吸作用、衰老相关等基因的表达以及对病害的抵抗等生命活动^[29]。由图 9 可知,番茄接种叶霉病菌后非亲和互作体系中没有相对统一的变化规律,各个品种内 SA 含量变化比较复杂。Money Maker 中 SA 含量先迅速升高,之后变化缓慢至接种后 11 d 时出现谷值后又升高。在非亲和互作体系中,Cf-5、Cf-11、Cf-19 的变化规律也各不相同。含有 Cf-5 基因的品种内 SA 含量到接种后 5 d 达到顶峰,然后缓慢下降,最终变化趋势相对稳定;而含有 Cf-11 基因的品种内 SA 含量到接种后 5 d 出现谷值,而后缓慢升高;含有 Cf-19 基因的品种内 SA 含量变化则相对稳定。

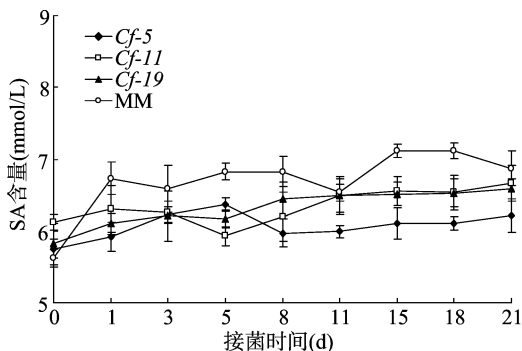


图9 接种叶霉病菌后番茄叶片内 SA 含量的变化

3 结论与讨论

本研究利用番茄抗叶霉病不同品种、感叶霉病品种与不同生理小种叶霉病菌之间不同的互作表现,从叶霉病菌侵染番茄叶片后活性氧积累及细胞保护酶活性等方面出发,探讨活性氧的产生变化及其细胞保护酶活性的变化,以期找到含有不同 Cf 基因的抗病品种在接种后的活性氧及保护酶活性变化规律。结果表明,亲和互作体系与非亲和互作体系在叶霉病菌侵染后,活性氧积累和细胞保护酶活性变化是不同的,但不亲和互作体系中活性氧的积累和细胞保护酶活性的变化规律大致相同。

在不亲和互作体系中,叶霉病菌侵染番茄叶片内活性氧的积累有 2 个高峰,这与 Lamb 等的研究结果^[30]类似。其中第 1 次活性氧含量迅速增加是在接种后 3 d,可能与叶片上产生过敏性坏死斑的时间相吻合;不亲和互作体系第 2 个活性氧含量累计峰值产生在接种后 15 d;亲和互作体系中,在接种后 5 d 活性氧的积累达到了 1 个峰值。不亲和互作体系的活性氧积累的第 1 个峰值低于第 2 个峰值,说明其应该是作为信号分子启动了植物的抗病反应,这与 Jabs 的研究^[31]相一致。无论番茄是因为感病叶片被破坏或是因抗病而产生大量坏死斑,都有强度极高的活性氧积累。这表明高强度活性氧含量的突增会导致细胞死亡,这与 Tiwari 等的结论^[32]一致。

在亲和互作体系与非亲和互作体系中,细胞保护酶 SOD、POD、CAT 的功能和作用是不同的。在亲和互作体系中,叶霉病菌侵染番茄后的前期 SOD、CAT 含量适中,因此没有活性氧积累;而在非亲和互作体系中,叶霉病菌侵染番茄后的前期 SOD 活性与 CAT 活性呈负相关,此时活性氧含量剧增,超氧阴离子含量增加,且从接种叶片的坏死斑症状看出,此时细胞死亡加剧,由此推测超氧阴离子在细胞死亡中有重

要作用。龙书生等对小麦条锈病的过敏性坏死反应的研究也证实了这一点^[24]。

含有 *Cf* 基因的番茄材料接种叶霉病菌后,其 SOD 活性高于感病材料,可能是感病材料叶片中 O_2^- 含量增加超越了防御系统的清除能力,导致脂膜过氧化反应的结果。王全华等对外源 *GO* 基因导入番茄后对叶霉病的抗性机制的研究也证实了这一点^[33]。

ETH、ABA、SA 是在叶霉菌侵染番茄植株过程中产生变化较为明显的 3 种激素。ABA 是在植物抗病过程中重要的调节激素,而在亲和互作体系中 ABA 含量明显高于非亲和互作体系,说明 ABA 在叶霉菌引起的生物胁迫反应中起负调控作用,这与 Bari 等的研究观点相一致^[34]。在蔡新忠等的以水杨酸积累缺失型 *nahG* 和乙烯不应型 *etr11* 转基因烟草植株为材料,对水杨酸和乙烯在依赖于番茄 *Cf-4* 和 *Cf-9* 基因的过敏坏死中的调控作用进行比较研究,结果发现水杨酸对植物抗病基因介导的过敏性坏死产生和调节中的作用,而且说明水杨酸对产物结构域相同的 *Cf* 抗病基因决定的过敏性坏死中的作用也有显著区别。而本试验中非亲和互作体系中 ETH 含量较高,由此可看出在 HR 反应中 ETH 起到正调控作用,而 SA 含量变化较为复杂,与蔡新忠等研究结果^[35]相吻合。

本试验主要通过测定在番茄抗叶霉病过程中活性氧的积累、细胞保护酶活性及激素含量的变化,发现含有不同 *Cf* 基因的番茄抗叶霉病品种在活性氧积累、保护酶活性和激素含量的变化上存在一致的规律,其中 SA 对非亲和互作中结构域相似 *Cf* 基因在 HR 反应中的变化也各不相同。本研究为在分子水平上研究番茄对叶霉病菌产生过敏性反应的机制,以及进一步研究番茄与叶霉病菌的专一性识别及过敏性反应的信号传递机制奠定了基础。

参考文献:

- [1] Vincent H, Wiersma J, Kell S, et al. A prioritized crop wild relative inventory to help underpin global food security[J]. *Biological Conservation*, 2013, 167(3): 265–275.
- [2] Areshchenkova T, Ganal M W. Long tomato microsatellites are predominantly associated with centromeric regions[J]. *Genome*, 1999, 42(3): 536–544.
- [3] Cai X, Takken F L W, Joosten M H A J, et al. Specific recognition of *AVR4* and *AVR9* results in distinct patterns of hypersensitive cell death in tomato, but similar patterns of defence-related gene expression[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2001, 2(2): 77–86.
- [4] 韩建东, 曹远银, 姚平. 小麦一秆锈菌互作中的激发子对小麦过敏性坏死反应和防御酶活性的诱导[J]. *华北农学报*, 2009, 24(1): 79–82.
- [5] 范文艳. 植物的超敏性细胞死亡研究初探[J]. *黑龙江农业科学*, 2005(2): 31–34.
- [6] Liu J, Liu X, Dai L, et al. Recent progress in elucidating the structure, function and evolution of disease resistance genes in plants[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2007, 34(9): 765–776.
- [7] Romeis T, Ludwig A A, Martin R, et al. Calcium-dependent protein kinases play an essential role in a plant defence response[J]. *The Embo Journal*, 2001, 20(20): 5556–5567.
- [8] May M J, Hammond-Kosack K E, Jones J D G. Involvement of reactive oxygen species, glutathione metabolism, and lipid peroxidation in the *Cf*-gene-dependent defense response of tomato cotyledons induced by race-specific elicitors of *Cladosporium fulvum*[J]. *Plant Physiology*, 1996, 110(4): 1367–1379.
- [9] Romeis T, Piedras P, Zhang S, et al. Rapid *Avr9*- and *Cf-9*-dependent activation of MAP kinases in tobacco cell cultures and leaves: convergence of resistance gene, elicitor, wound, and salicylate responses[J]. *Plant Cell*, 1999, 11(2): 273–287.
- [10] Hammond-Kosack K E, Silverman P, Raskin I, et al. Race-specific elicitors of *Cladosporium fulvum* induce changes in cell morphology and the synthesis of ethylene and salicylic acid in tomato plants carrying the corresponding *Cf* disease resistance gene[J]. *Plant Physiology*, 1996, 110(4): 1381–1394.
- [11] Ashfield T, Hammond K E, Harrison K, et al. *Cf* gene-dependent induction of a *b-1,3*-glucanase promoter in tomato plants infected with *Cladosporium fulvum*[J]. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 1994, 7(5): 645–656.
- [12] Wubben J P, Lawrence C B, de Wit P. Differential induction of chitinase and 1,3- β -glucanase gene expression in tomato by *Cladosporium fulvum* and its race-specific elicitors[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1996, 48(2): 105–116.
- [13] Grant J J, Loake G J. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance[J]. *Plant Physiology*, 2000, 124(1): 21–30.
- [14] Foyer C H, Lopez-Delgado H, Dat J F, et al. Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling[J]. *Physiologia Plantarum*, 1997, 100(2): 241–254.
- [15] Elstner E F. Oxygen activation and oxygen toxicity[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 2003, 33(1): 73–96.
- [16] Jabs T, Dietrich R A, Dangel J L. Initiation of runaway cell death in an *Arabidopsis* mutant by extracellular superoxide[J]. *Science*, 1996, 273(5283): 1853.
- [17] Levine A, Tenhaken R, Dixon R, et al. H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response[J]. *Cell*, 1994, 79(4): 583–593.
- [18] Pieterse C M J, Leon-Reyes A, Ent S V D, et al. Networking by small-molecule hormones in plant immunity[J]. *Nature Chemical Biology*, 2009, 5(5): 308–316.
- [19] Spoel S H, Dong X. Making sense of hormone crosstalk during plant immune responses[J]. *Cell Host and Microbe*, 2008, 3(6): 348–351.
- [20] Eckmann L, Kagnoff M F. Cytokines in host defense against *Salmonella*[J]. *Microbes and Infection*, 2001, 3(14/15): 1191–200.
- [21] Ueguchi-Tanaka M, Nakajima M, Katoh E, et al. Molecular interactions of a soluble gibberellin receptor, GID1, with a rice DELLA protein, SLR1, and gibberellin[J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(7): 2140–2155.
- [22] Anderson J P, Badruzaufari E, Schenk P M, et al. Antagonistic interaction between abscisic acid and jasmonate-ethylene signaling pathways modulates defense gene expression and disease resistance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2005, 16(12): 3460–3479.
- [23] 洪薇. 番茄抗叶霉病分子机理及抗病相关基因分离技术体系的建立[D]. 杭州: 浙江大学, 2007.

王 贵,李 惠,周红龙,等. 红掌种质细菌性枯萎病抗性鉴定分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(9):138-140.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.09.039

红掌种质细菌性枯萎病抗性鉴定分析

王 贵,李 惠,周红龙,周堂英
(云南省热带作物科学研究所,云南景洪 666100)

摘要:为了了解红掌种质细菌性枯萎病抗性与气孔的关系,以 19 份红掌种质为研究对象,在前期红掌种质细菌性枯萎病抗性鉴定的基础上,进行再次接种鉴定及相关气孔的观察试验,旨在了解红掌种质细菌性枯萎病的抗性分级与气孔多少的相关性。本研究结果再次验证红掌细菌性枯萎病病害的分级标准,红掌细菌性枯萎病病害的分级标准可以推广应用;通过光学显微镜观察,红掌种质的细菌性枯萎病抗性与红掌种质气孔结构相关,即气孔多,则感病性强;然而在试验中发现,气孔的数量也不能完全反映红掌种质的抗性,抗性还与温湿度及光照等其他环境条件相关,也与红掌植株的生理吐水现象相关;在相应试验中发现,湿度大,温度高,光照好,则红掌种质感病性强。结果显示,气孔的数量确实影响红掌细菌性枯萎病的发生,即气孔多,病害传播快;气孔少,发病慢;并且细菌性枯萎病的发生还与红掌种质本身的抗性密切相关,红掌种质抗性好,发病慢;反之亦然。

关键词:红掌;种质资源;抗性鉴定;气孔;细菌性枯萎病

中图分类号:S436.8⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)09-0138-03

红掌(*Anthurium andraeanum*)是天南星科花烛属多年生附生常绿草本花卉,别称花烛或安祖花,原产于南美洲热带雨林^[1]。细菌性病害地毯草黄单胞菌花叶万年青致病变种(*Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*)是红掌的毁灭性病害,病原菌通过进口的红掌种苗进入中国,2003 年张荣意等首先在海南省发现,随后蒋桂芝等在云南西双版纳也报道了该种病原菌^[2-6]。该病害前期无任何症状,后期发病迅速,

在红掌种植区域可造成 50%~100% 的种植量耗损,损失严重。虽然徐学军等做了相应的防治试验^[7-8],然而尚无有效药物控制。针对该病害,选育与种植抗病品种为目前主要的防治措施,而育种的前提是获得在当地抗性表现稳定的优良亲本。本研究以云南省热带作物科学研究所的红掌材料为基础,对筛选出并且感兴趣的 19 份红掌种质进行抗性遗传鉴定,在抗性鉴定结果稳定后,进行表观遗传观察及气孔观察试验。

1 材料与方法

1.1 材料

供试红掌种质共 19 份(表 1),由云南省热带作物科学研究所(育种室)提供。包括国内外报道的抗地毯草黄单胞菌花叶万年青致病变种种质或优良种质 10 份,杂交组合 8 份,均采用组培苗。以粉冠军为抗病对照,以热情为感病对照。

收稿日期:2015-08-13

基金项目:云南省应用基础研究资助项目(编号:2013ZF170);云南省公共财政专项(编号:RF2014-7);云南省建立农科教相结合新型农业社会化服务体系试点项目(编号:2014NG002-13)。

作者简介:王 贵(1982—),男,云南曲靖人,硕士,研究实习员,从事热带花卉病害防治与抗性育种研究。E-mail: wanggui114@163.com。

[24] 龙书生,曹远林,李亚玲,等. 小麦抗条锈病过敏性坏死反应中的活性氧代谢[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2009(11):125-130.

[25] 匡传富,罗 宽. 烟草品种对青枯病抗病性及抗性机制的研究[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2002,28(5):395-398.

[26] Simte H C, Dasgupta D R. De novo synthesis of peroxidase isozymes of soybean var. Clark-63 infected with the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* [J]. Indian Journal of Nematology, 1987, 17(2):247-253.

[27] Guo H, Ecker J R. The ethylene signaling pathway: new insights[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2004, 7(1):40-49.

[28] Curvers K, Seifi H, Mouille G, et al. Abscisic acid deficiency causes changes in cuticle permeability and pectin composition that influence tomato resistance to *Botrytis cinerea* [J]. Plant Physiology, 2010, 154(2):847-860.

[29] Vlot A C, Dempsey D M A, Klessig D F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease[J]. Annual Review of Phytopathology,

2009, 47:177-206.

[30] Lamb C, Dixon R A. The oxidative burst in plant disease resistance [J]. Annual Review of Plant Biology, 1997, 48(1):251-275.

[31] Jabs T. Reactive oxygen intermediates as mediators of programmed cell death in plants and animals [J]. Biochemical Pharmacology, 1999, 57(3):231-245.

[32] Tiwari B S, Belenghi B, Levine A. Oxidative stress increased respiration and generation of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition, and programmed cell death [J]. Plant Physiology, 2002, 128(4):1271-1281.

[33] 王全华,王秀峰,林忠平. 外源 GO 基因导入番茄后对叶霉病的抗性机制[J]. 中国农业科学, 2006, 39(7):1365-1370.

[34] Bari R, Jones J D G. Role of plant hormones in plant defence responses [J]. Plant Molecular Biology, 2009, 69(4):473-488.

[35] 蔡新忠,徐幼平. 水杨酸和乙烯对依赖于 Cf 基因的过敏坏死的调控作用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2003, 29(1):11-14.