

# 烟草苗期抗 CMV 生理生化研究

黄飞<sup>1</sup>, 宋瑞芳<sup>2</sup>, 丁永乐<sup>1\*</sup>

(1. 河南农业大学 国家烟草栽培生理生化研究基地, 河南 郑州 450002; 2. 河南省平顶山烟草公司宝丰分公司, 河南 平顶山 467400)

**摘要:**以晋太 18 号、铁把子、新农 3 - 1 号、NC89、云烟 85 等 7 个烟草品种为试材研究苗期人工接种 CMV 病情指数和成株期网室内人工接种及自然发病病情指数之间的相关性, 随后选出抗病性不同的 3 个品种在苗期进行烟草与 CMV 互作中烟草体内生理生化机制的初步研究。结果表明: 苗期人工接种病情指数和成株期病情指数呈正相关, 利用苗期人工接种可以作为快速鉴定和筛选抗 CMV 优良材料的辅助手段。超氧化物歧化酶 (SOD) 活性变化率在接种后前期 (1 ~ 5 d) 为抗病品种高于感病品种 (铁把子 > 新农 3 - 1 号 > NC89), 过氧化物酶 (POD) 和苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性变化率在平均水平上也表现如此。因此, 接种后 SOD、POD、PAL 活性变化率可以作为烟草抗性鉴定的辅助指标。

**关键词:**烟草; 黄瓜花叶病毒; 抗性鉴定; 防御酶

**中图分类号:** S572 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 - 2286(2010)02 - 0276 - 07

## Physiological and Biochemical Studies on Tobacco Seedling Resistance against CMV

HUANG Fei<sup>1</sup>, SONG rui-fang<sup>2</sup>, DING Yong-le<sup>1\*</sup>

(1. National Tobacco Cultivation & Physiology & Biochemistry Research Centre, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Pingdingshan Tobacco Company of Henan Province, Pingdingshan 467400, China)

**Abstract:** The correlation between the disease indexes of seedlings inoculated with CMV and the disease indexes of adult plants inoculated with CMV in net room or infected in nature, using 7 tobacco cultivars, namely Jintai No. 18, Tiebazi, Xinnong No. 3 - 1, NC89, Yunyan 85 etc. as the materials, three varieties were selected to study the physiological and biochemical mechanisms at the seedlings in the interaction between tobacco and CMV stage. The result indicated that: The disease indexes of the seedlings with artificial inoculation and the indexes of the adults were highly positively correlated. So artificial inoculation in seedlings can be used as the supplementary means to identify and screen excellent anti-CMV materials rapidly. The changing rate of SOD activity after inoculation in the susceptible varieties was higher than that of the resistance varieties at the prophase (1 - 5 d) (Tiebazi > Xinnong No. 3 - 1 > NC89), and the changing rates of POD and PAL activity at the average level were also the case. Therefore, the changing rates of SOD (1 - 5 d), POD and PAL can be regarded as the supplementary indexes for the identification of resistance of tobacco against CMV.

**Key words:** tobacco; cucumber mosaic virus; resistance identification; defense enzyme

收稿日期: 2009 - 12 - 18 修回日期: 2010 - 03 - 04

基金项目: 河南省科技攻关项目 (0424050012)

作者简介: 黄飞 (1982 - ), 男, 硕士生, 主要从事烟草育种研究, E-mail: huangfei0315@sohu.com; \* 通讯作者: 丁永乐, 副教授, E-mail: dingyongle@126.com.

CMV (*Cucum berm osaic virus*, CMV) 是雀麦花叶病毒科 (B romoviridae) 黄瓜花叶病毒属 (*Cucum ovirus*) 的典型成员, 是世界上最流行的植物病毒, 也是目前研究最多的最具经济重要性的植物病毒之一<sup>[1]</sup>。目前对黄瓜花叶病毒的综合防治已经取得一定的成效, 虽然一些抗病毒剂或植物耐病毒剂对黄瓜花叶病毒都有良好的预防效果, 但农药残留一直是制约农产品上市的限制因素。为了更好地防治黄瓜花叶病毒, 有利于优质烟叶的生产, 抗病育种是防治病毒病发生的有效途径, 因此, 研究烟草对黄瓜花叶病毒的抗病性成为抗病育种的重要任务之一。但是关于病毒侵染后烟草体内生理生化指标变化的研究很少, 研究烟草感染病毒前后防御酶类的活性变化, 有助于我们深入研究烟草的抗病毒机理, 为培育和筛选抗病毒品种提供理论基础。

本研究通过确立烟草对 CMV 的苗期抗性和成株期抗性存在正相关性, 并以此相关性为基础在苗期鉴定、筛选与评价烟草抗 CMV 资源, 为烟草抗 CMV 育种提供理论依据。进而选择有代表性的抗感病品种于苗期进行接种, 测定生理生化指标, 了解和把握烟草在生理生化方面对 CMV 的抗性机制, 为烟草抗 CMV 育种提供生理生化基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

分别选取对 CMV 有不同抗性的烟草品种作为试验材料。高抗品种: 晋太 18 号、新农 3 - 1 号; 中抗品种: 铁把子、黔南 8 号、KY151; 中感品种: NC89、云烟 85。其中新农 3 - 1 号、黔南 8 号和 KY151 由中国农业科学院青州烟草研究所种质资源库提供, 其余品种由本实验室提供。

### 1.2 供试 CMV 毒源

供试毒源由河南农业大学植物保护学院蒋士君博士惠赠。毒液制备: 取适量保存在低温冰箱内带 CMV 的烟草叶片于研钵中, 加入 0.05 mol/L pH7.2 的磷酸缓冲液以质量浓度 1:5 冰浴研磨, 用两层纱布过滤后置于 5℃ 冰箱中备用。

### 1.3 温室内苗期人工接种抗性鉴定试验

2006 年 8 月 6 日在河南农业大学烟草育种试验室内, 将供试烟草种子消毒后播于装有消毒基质的育苗盘中, 置于网室中培养, 待烟苗具有三四片真叶时接种病毒。每个品种 30 株, 重复 3 次。采用人工摩擦接种法, 当烟苗为三四片真叶时, 在第 1 片真叶上撒少量 60 目金刚砂, 进行人工摩擦接种, 用毛笔蘸病毒接种液在叶片上轻轻做环状摩擦, 叶片稍有损伤, 再用清水冲洗叶面, 去掉金刚砂和多余的提取液。为防止接种造成的误差, 第 1 次接种后第 2 d 再进行第 2 次接种。烟苗接种后在 26~28℃ 无虫条件下培养<sup>[2]</sup>接种 CMV 20 d 后按照参考文献 [3] 方法分别调查烟株的发病情况, 病情指数越高, 表明其抗病能力越差。

### 1.4 大田成株期抗性鉴定试验

大田成株期人工接种鉴定所需供试品种, 于 2006 年 2 月 10 日在河南省睢县胡堂乡育苗, 4 月 15 日移栽, 同时用上防虫网。每个品种 20 株, 重复 3 次。移栽后 20 d 在 9 或 10 片叶上正面用金刚砂人工摩擦接种黄瓜花叶病毒, 接种方法和病情调查方法同苗期温室接种鉴定试验。大田成株期自然发病情况调查试验, 于 2007 年 2 月 12 日在河南省睢县白庙乡育苗, 4 月 20 日移栽, 移栽后 40 d, 即烟株进入旺长期后进行发病率和病情指数调查。

### 1.5 抗感品种苗期接种 CMV 后生理生化指标变化研究

供试烟草品种: NC89、新农 3 - 1 号和铁把子。实验于 2007 年 8 月 31 日育苗, 待烟苗具有 3 或 4 片真叶时采用人工摩擦接种法接种 CMV, 以未接种为对照。接种后第 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 d, 固定叶位 (3 或 4 片) 取样, 用液氮快速冷冻后, -20℃ 保存备用。对烟苗中有关生理生化指标进行测定, 超氧化物歧化酶 (SOD) 采用氮蓝四唑法<sup>[4]</sup>; 过氧化物酶 (POD) 采用愈创木酚法<sup>[5]</sup>; 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 采用分光光度法<sup>[6]</sup>。

### 1.6 统计分析方法

运用 Excel 和 SPSS 数据处理软件进行统计分析。利用数据处理软件对苗期病情指数和成株期病情指数进行相关性分析, 对不同烟草品种接种 CMV 后生理生化指标变化情况分别作方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 烟草不同基因型苗期抗性和成株期抗性相关性

烟草不同基因型苗期和成株期感染 CMV 后调查的病情指数如表 1。从表 1 可以看出,温室内苗期人工接种 CMV 后病情指数与成株期病情指数不完全一致,但大体上没有很大的出入。这可能是因为外界条件的不同,引起不同程度的发病情况。

根据表 1 中的病情指数,苗期人工接种 CMV 后的抗性由强到弱依次为:晋太 18 号、铁把子、黔南 8 号、新农 3 - 1 号、KY151、NC89 和云烟 85;大田成株期人工接种 CMV 后的抗性由强到弱依次为:晋太 18 号、黔南 8 号、铁把子、新农 3 - 1 号、KY151、NC89 和云烟 85;大田自然发病后抗性由强到弱依次表现为:晋太 18 号、铁把子、黔南 8 号、KY151、新农 3 - 1 号、NC89 和云烟 85。

对苗期病情指数和成株期病情指数进行相关性分析,苗期人工接种病情指数和成株期病情指数达极显著相关水平(网室内  $r=0.975^{**}$ ;自然发病时  $r=0.987^{**}$ );成株期人工接种病情指数和自然发病病情指数仍达极显著相关水平( $r=0.974^{**}$ )。表明烟草苗期对 CMV 的抗性与成株期抗性正相关。因此,可利用苗期人工接种辅助手段对烟草群体快速鉴定,评价材料对 CMV 的抗性,筛选出优良抗性资源,缩短育种周期。

表 1 烟草苗期病情指数和成株期病情指数

Tab 1 Disease index of seedling stage and adult of tobacco

基因型 Genotype	成株期 Adult		苗期 Seedling	基因型 Genotype	成株期 Adult		苗期 Seedling
	人工接种 Artificial inoculation	自然发病 Natural infection			人工接种 Artificial inoculation	自然发病 Natural infection	
云烟 85 Yunyan85	33.50	48.50	30.00	晋太 18 号 Jintai No. 18	16.50	21.00	12.00
NC89	31.00	44.00	27.50	黔南 8 号 Qiannan No. 8	20.00	29.00	19.00
新农 3 - 1 号 Xinrong No. (3 - 1)	24.00	35.50	20.50	KY151	25.00	32.00	21.00
铁把子 Tiebazi	22.00	26.50	16.50				

根据烟草苗期和成株期 CMV 发生情况,对苗期人工接种的 8 个不同烟草基因型进行筛选,选取铁把子、新农 3 - 1 号和 NC89 作为不同抗病性材料的代表品种,进行苗期接种生理生化指标测定,探讨烟草对 CMV 的抗性机制。

### 2.2 不同烟草品种苗期接种 CMV 后叶片防御酶活性动态变化

2.2.1 过氧化物酶 (POD) 活性动态变化  
不同烟草品种接种 CMV 后 POD 酶活性测定结果如表 2,接种后 POD 酶活性变化率如图 1。对照处理,感病品种 NC89 的 POD 活性在平均水平上高于其余两个抗性较好的品种。接种后,POD 活性均持续升高,新农 3 - 1 号和铁把子升高幅度大于 NC89。NC89 酶活性在接种 CMV 后增加幅度不大,呈一个缓慢上升的趋势;而新农 3 - 1 号和铁把子的增长幅度较快,第 5 d 达

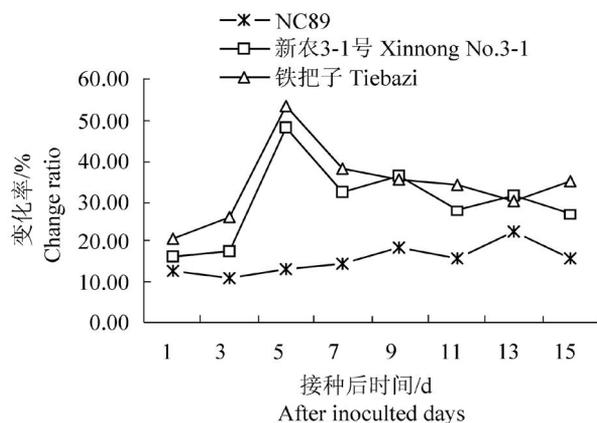


图 1 苗期接种 CMV 后 POD 酶活性变化率

Fig 1 Change ratio of POD activity after inoculation with CMV

峰值后迅速下降,第 7 d 后降幅后趋于平稳,但仍高于 NC89。即接种 CMV 后抗病品种 POD 活性变化率明显要高于感病品种,因此,接种后 POD 活性变化率可以作为烟草苗期对 CMV 抗性鉴定的一项辅助指标。

表 2 烟草苗期接种 CMV 后 POD 酶活性动态变化

Tab 2 Dynamic change of POD activities after inoculation with CMV at seedling stage

接种后天数 /d Post inoculation days	NC89			新农 3 - 1 号 Xinnong No (3 - 1)			铁把子 Tiebazi		
	对照 /U Control	接种 /U Inoculation	变化率 /% Change rate	对照 /U Control	接种 /U Inoculation	变化率 /% Change rate	对照 /U Control	接种 /U Inoculation	变化率 /% Change rate
1	896	1 008	12.50	800	928	16.00	784	944	20.41
3	864	960	11.11	832	976	17.31	864	1 088	25.93
5	960	1 088	13.33	864	1 280	48.15	896	1 376	53.57
7	1 008	1 152	14.29	992	1 312	32.26	928	1 280	37.93
9	1 056	1 248	18.18	1 008	1 376	36.51	992	1 344	35.48
11	1 120	1 296	15.71	1 152	1 472	27.78	1072	1 440	34.33
13	1 072	1 312	22.39	1 120	1 472	31.43	1104	1 440	30.43
15	1 160	1 344	15.86	1 160	1 472	26.90	1136	1 536	35.21
平均值 Average	1 017	1 176	15.42	991	1286	29.54	972	1 306	34.16

变化率 = (接种 - 对照) × 100 / 对照。Change rate = (the inoculation - the control) × 100 / the control

对不同烟草品种接种 CMV 后 POD 酶活性变化分别作方差分析可知,接种后第 5 d NC89 和铁把子 POD 活性变化差异达显著水平(表 3),其余时间的差异不显著。但是接种后各品种间 POD 酶活性变化率差别明显。因此,可以考虑将接种后第 5 d POD 活性的变化率作为烟草苗期抗性鉴定的主要辅助指标。

表 3 烟草苗期接种 CMV 后 POD 酶活性变化方差分析

Tab 3 Variance analysis of POD activities of tobacco after inoculation with CMV at seedling

品种 Variety	5 d
NC89	1 088a
新农 3 - 1 号 Xinnong 3 - 1	1 280ab
铁把子 Tiebazi	1 376b

不同小写字母表示在 0.05 水平有差异。

Different small letters mean difference at 0.05 level

2.2.2 超氧化物歧化酶(SOD)活性动态变化

不同烟草品种接种 CMV 后叶片内 SOD 酶活性测定结果见表 4,接种后 SOD 酶活性变化率如图 2。对照处理,参试的 3 个烟草品种 SOD 酶活性总体上随时间推移呈上升趋势,且 NC89 的平均酶活性高于其余两品种。接种 CMV 后,SOD 酶活性变化均存在两个高峰,NC89 的两个峰值出现在接种后第 1 d 和第 9 d;新农 3 - 1 号和铁把子的第一个峰值均在接种后第 5 d 出现,不同的是新农 3 - 1 号的第二个峰值出现在第 9 d,而铁把子出现在第 13 d。

各品种接种 CMV 后 SOD 酶活性变化率不同。前期(1 ~ 5 d) NC89 除第 1 d 高于对照外其余时间均低于对照,而新农 3 - 1 号和铁把子酶活性变化率则呈一个缓慢的升高趋势,且后者高于前者。中后期(5 ~ 15 d) NC89 和新农 3 - 1 号酶活性变化率曲线基本吻合,呈现先上升后下降的趋势,铁把子则是先降低后升高再降低,且平均水平上 SOD 酶活高于对照。由此看来,接种后 5 d 内抗感病品种间 SOD 酶活性变化率差异明显,所以可以将接种后前期(1 ~ 5 d) SOD 活性变化率作为烟草苗期对 CMV 抗性鉴定的一项辅助指标,尤其是以接种后 5 d 内的平均变化率作为抗性鉴定指标。

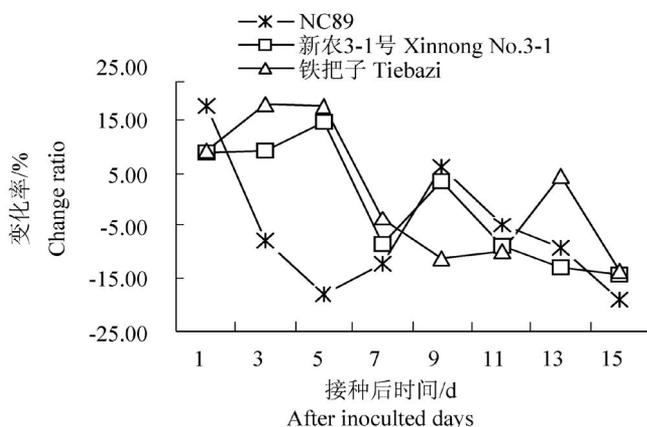


图 2 苗期接种 CMV 后 SOD 酶活性变化率

Fig 2 Change ratio of SOD activity after inoculation with CMV

表 4 烟草苗期接种 CMV 后 SOD 酶活性动态变化

Tab 4 Dynamic change of SOD activities after inoculation with CMV at seeding stage

接种后天数 /d Post inoculation days	NC89			新农 3 - 1号 Xinnong No. 3 - 1			铁把子 Tiebazi		
	对照 / (U · g <sup>-1</sup> ) Control	接种 / (U · g <sup>-1</sup> ) Inoculation	变化率 /% Change rate	对照 / (U · g <sup>-1</sup> ) Control	接种 / (U · g <sup>-1</sup> ) Inoculation	变化率 /% Change rate	对照 / (U · g <sup>-1</sup> ) Control	接种 / (U · g <sup>-1</sup> ) Inoculation	变化率 /% Change rate
1	117.43	138.29	17.77	103.24	112.39	8.86	101.11	110.28	9.08
3	120.79	111.18	-7.95	112.20	122.47	9.15	108.48	127.83	17.84
5	114.37	93.75	-18.03	108.37	124.21	14.62	113.47	133.38	17.55
7	119.72	105.07	-12.23	115.18	105.34	-8.54	121.99	117.81	-3.42
9	125.06	132.74	6.14	119.28	123.57	3.60	126.63	112.36	-11.27
11	124.38	118.31	-4.88	122.50	111.81	-8.73	132.21	119.04	-9.96
13	127.62	115.75	-9.30	126.00	109.54	-13.06	118.45	123.84	4.56
15	120.00	97.37	-18.86	120.53	103.42	-14.19	117.89	101.84	-13.62
平均值 Average	121.17	114.06	-5.92	115.91	114.09	-1.04	117.53	118.30	1.34

变化率 = (接种 - 对照) × 100 / 对照。Change rate = (the inoculation - the control) × 100 / the control

对不同烟草品种接种 CMV 后 SOD 酶活性变化分别作方差分析,结果见表 5。接种后,第 1 d 和第 3 d NC89 酶活性分别与新农 3 - 1 号和铁把子间差异显著,后两者差异不显著;第 5 d 各品种间差异均达到显著水平;第 7 d NC89 和新农 3 - 1 号酶活性差异不显著,但它们分别与铁把子酶活性达显著水平;第 9 d 新农 3 - 1 号 SOD 酶活性分别与 NC89 和铁把子间差异不显著,而后两者酶活性达显著差异。接种后前期抗感病品种间酶活性差异显著,随着病情加重,抗感病品种间差异不明显,因此,可以将接种后前 5 d SOD 酶活性变化作为烟草苗期对 CMV 的抗性鉴定指标。

表 5 烟草苗期接种 CMV 后 SOD 酶活性变化方差分析

Tab 5 Variance analysis of SOD activities of tobacco after inoculation with CMV at seedling

品种 Variety	时间 /d Time				
	1	3	5	7	9
NC89	138.290 0a	111.180 0a	93.753 3a	105.073 3a	132.740 0a
新农 3 - 1 号 Xinnong No. 3 - 1	112.386 7b	122.470 0b	124.210 0b	105.340 0a	123.570 0ab
铁把子 Tiebazi	110.283 3b	127.830 0b	133.380 0c	117.810 0b	112.360 0b

不同小写字母表示在 0.05 水平有差异。Different small letters mean difference at 0.05 level

2.2.3 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性动态变化

不同烟草品种接种 CMV 后叶片内 PAL 酶活性测定结果见表 6,接种后 PAL 酶活性变化率如图 3。对照处理,各烟草品种 PAL 活性有缓慢升高趋势,但品种间差异不明显,整体水平上铁把子酶活性最高,NC89 酶活性最低。接种后,NC89 PAL 活性缓慢升高,接种后第 7 d 达峰值后一直下降,其余 2 个品种接种后 PAL 活性迅速升高,新农 3 - 1 号和铁把子分别在接种后第 5 d 和第 3 d 达峰值,之后两者酶活性均缓慢下降,且一直保持较高水平。很明显,接种后 NC89 酶活性始终低于其余两品种,酶活性峰值也低于其余两品种。即接种 CMV 后 PAL 活性高低与烟草抗性正相关,接种 CMV 后 PAL 活性可以作为烟草苗期筛选抗病品种的一项辅助指标。

不同烟草品种接种 CMV 后叶片内 PAL 酶活性测定结果

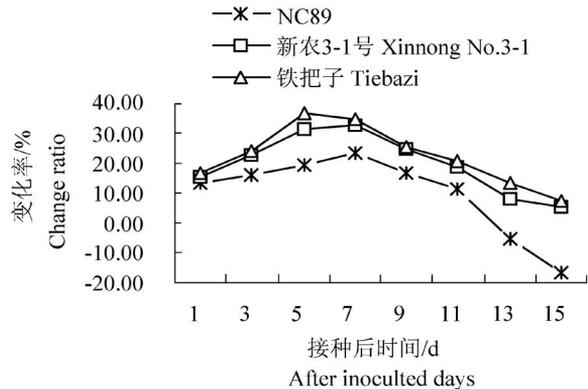


图 3 苗期接种 CMV 后 PAL 酶活性变化率

Fig 3 Change ratio of PAL activity after inoculation with CMV

对不同烟草品种接种 CMV 后 PAL 酶活性变化分别作方差分析,分析结果见表 7。接种 CMV 后,除了第 5 d 和第 13 d 酶活性在 3 个烟草品种间差异显著外,其余时间均表现为 NC89 分别与新农 3 - 1 号

和铁把子差异显著,新农 3-1 号和铁把子间差异不显著,且整个过程中品种间 PAL 酶活差异显著性也表现如此。因此,接种 CMV 后 PAL 活性高低可作为烟草苗期抗性鉴定指标。

表 6 烟草苗期接种 CMV 前后 PAL 酶活性的动态变化

Tab 6 Dynamic change of PAL activities before and after inoculation with CMV at seeding stage

接种后天数 /d Post inoculation days	NC89			新农 3-1 号 Xinnong No. 3-1			铁把子 Tiebazi		
	对照 /U	处理 /U	变化率 /%	对照 /U	处理 /U	变化率 /%	对照 /U	处理 /U	变化率 /%
	Control	Inoculation	Change rate	Control	Inoculation	Change rate	Control	Inoculation	Change rate
1	26.38	29.90	13.32	29.47	33.89	15.03	28.20	32.85	16.51
3	27.71	32.08	15.77	28.42	34.94	22.95	29.77	37.00	24.29
5	29.22	34.92	19.53	28.98	38.15	31.62	29.77	40.71	36.72
7	31.12	38.37	23.28	31.44	41.77	32.86	32.08	43.14	34.50
9	32.08	37.52	16.95	32.64	40.70	24.69	33.11	41.45	25.19
11	32.32	35.96	11.28	32.96	39.07	18.53	31.92	38.53	20.71
13	33.36	31.68	-5.03	34.92	37.76	8.15	35.79	40.68	13.66
15	35.20	29.22	-16.99	35.71	37.64	5.39	35.04	37.57	7.23
平均值 Average	30.92	33.71	9.76	31.82	37.99	19.90	31.96	38.99	22.35

变化率 = (接种 - 对照) × 100 / 对照。Change rate = (the inoculation - the control) × 100 / the control

表 7 烟草苗期接种 CMV 后 PAL 酶活性变化方差分析

Tab 7 Variance analysis of PAL activity of tobacco after inoculation with CMV at seedling

品种 Variety	时间 /d Time							
	1	3	5	7	9	11	13	15
NC89	29.8967a	32.0833a	34.9233a	38.3700a	37.5200a	35.9633a	31.6800a	29.2200a
新农 3-1 号 Xinnong No. (3-1)	33.0067b	34.9400b	38.1467b	41.7700b	40.7000b	39.0700b	37.7633b	37.6400b
铁把子 Tiebazi	32.8533b	37.0000b	40.7100c	43.1400b	41.4500b	38.5267b	40.6800c	37.5700b

不同小写字母表示在 0.05 水平有差异。Different small letters mean difference at 0.05 level

### 3 结论与讨论

#### 3.1 苗期抗性与成株期抗性呈正相关关系

抗性鉴定又可以分为苗期抗性鉴定和成株期抗性鉴定。关于苗期与成株期抗性的相互关系,已有很多学者对其进行了研究。苗期抗性和成株期抗性相关性分析起于 20 世纪 40 年代,最初, Jenkins JM<sup>[7]</sup>初步研究证明,黄瓜抗感病品种苗期接种霜霉菌,发病后定植于田间继续观察抗感病情况与苗期接种所得的抗感病情况完全一致。这与本实验结果一致,也就是说烟草可利用苗期人工接种来作为快速鉴定和筛选抗 CMV 优良材料的一项辅助手段。

利用苗期接种鉴定和筛选烟草抗 CMV 的材料,节省了空间和劳力,并且对于提高育种效率,缩短育种进程有重要意义。但是植物感病性受植物株龄、基因型、叶位、营养、水分供应、温度、光强、季节、日照长短等影响<sup>[8]</sup>。尤其是苗期接种进行抗性鉴定和筛选时,应特别注意保持环境条件的高度一致,才能确保研究结果的可靠性。

#### 3.2 抗性生理生化指标的探讨

##### 3.2.1 SOD 活性与烟草抗 CMV 的关系

超氧化物歧化酶(SOD)是植物细胞内防御酶系统的重要成员之一,作为生物自由基的清除剂,具有清除逆境胁迫时体内过量的超氧化物自由基,维持活性氧代谢平衡的功能。

本研究表明,接种后,不同抗性品种 SOD 活性均降低,感病反应中 SOD 活性变化率呈降低-升高-降低的曲线,且平均水平上低于对照;抗病反应中 SOD 活性相对于对照是先升高再降低,尤其是接种后前期(1~5 d) SOD 酶活性变化率变化情况与感病品种差异明显,因此可以认为前期(1~5 d) SOD 酶活性变化率可作为烟草苗期对 CMV 抗性鉴定的一个辅助指标。

##### 3.2.2 POD 活性与烟草抗 CMV 的关系

过氧化物酶是细胞内另一重要的防御酶,它不仅参与了木质素的聚合过程,也是细胞内重要的内源活性氧清除剂,因此 POD 活性与植物抗病性有着密切的关

系<sup>[9-10]</sup>。本试验中,在未接种 CMV 的情况下,抗性好的品种 POD 活性低于感病品种,这可能是抗性好的品种体内活性氧等毒性物质较少,酶活性不需要很强的缘故;接种 CMV 后,不同抗性品种 POD 活性均升高,且抗病反应 POD 活性高于感病反应,从反应时间来看,前者快于后者。这与陈志谊等<sup>[11]</sup>、李保聚等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。而且接种 CMV 后 POD 活性变化率与烟草对 CMV 的抗性正相关。因此,烟草苗期接种 CMV 后 POD 活性变化率可以作为烟草对 CMV 抗性鉴定的一项指标。

3.2.3 PAL 活性与烟草抗 CMV 的关系 苯丙氨酸解氨酶是苯丙烷类代谢途径即酚类物质、植保素、黄酮和木质素等抗菌物质合成过程中关键酶和限速酶,所以 PAL 被认为是对植物的抗病性十分有利的<sup>[13]</sup>。本研究中,无论是抗病品种,还是感病品种,在受到 CMV 感染后,其体内的细胞都会作出抗病反应,表现为 PAL 酶活性的提高,但抗感病品种之间反应的快慢不同,抗病品种对 CMV 的入侵很敏感,接种后酶活性迅速升高;感病品种对 CMV 的入侵反应较为迟钝, PAL 酶活性升高较缓慢。王敬文等<sup>[14]</sup>指出的马铃薯 PAL 活性与抗晚疫病呈正相关, Wang 等<sup>[15]</sup>在 mRNA 水平研究晚疫病菌诱导后 PAL 的表达,得出了相似的结论。因此,烟草苗期接种 CMV 后不管是 PAL 活性高低还是其酶活性变化率均能作为烟草对 CMV 的抗性鉴定指标。

#### 参考文献:

- [1] 张华荣. 侵染半夏的黄瓜花叶病毒研究 [D]. 杭州:浙江大学, 2006
- [2] 方中达. 植病研究方法 [M]. 3 版. 北京:中国农业出版社, 1998
- [3] 国家烟草专卖局. YC/T39 - 1996 烟草病害分级及调查方法 [S]. 北京:中国标准出版社, 1996
- [4] 房保海, 张广民, 迟长风, 等. 烟草低头黑病菌毒素对烟草丙二醛含量和某些防御酶的动态影响 [J]. 植物病理学报, 2004, 34(1): 27 - 31.
- [5] 潘建菁, 纪成灿, 刘冬霞, 等. 青枯菌感染后烟株体内过氧化物酶活性的变化及其与抗病性的关系 [J]. 中国烟草科学, 2004, (3): 28 - 30.
- [6] 毛建民, 郑爱珍, 白岩, 等. 烟草烟叶感染花叶病毒时的某些生理生化变化 [J]. 吉林农业大学学报, 2004, 24(4): 19 - 21.
- [7] Jenkins J.M. Studies on the inheritance of downy mildew resistance and of other characters in *Cucumber* [J]. *Hered*, 1946, 37: 267 - 271.
- [8] 吴云峰. 植物病毒学原理与方法 [M]. 西安:陕西地图出版社, 1999.
- [9] 蒋选利, 李振歧, 康振生. 过氧化物酶与植物抗病性研究进展 [J]. 西北农林科技大学学报, 2001, 29(6): 124 - 129.
- [10] 张欣. 与植物抗病性有关酶的研究进展 [J]. 华南热带农业大学学报, 2000, 6(1): 41 - 46
- [11] 陈志谊, 王玉环, 殷尚智. 水稻纹枯病抗性机制的研究 [J]. 中国农业科学, 1992, 25(4): 41 - 46
- [12] 李保聚, 李风云. 黄瓜不同抗性品种感染黑星病菌后过氧化物酶和多酚氧化酶的变化 [J]. 中国农业科学, 1998, 31(1): 86 - 88.
- [13] 曾永三, 王振中. 活性氧和超氧化物歧化酶在植物抗病反应中的作用 [J]. 仲恺农业技术学院学报, 1999, 12(4): 55 - 63.
- [14] 王敬文. 植物苯丙氨酸解氨酶的研究 [J]. 植物生理学报, 1982, 8(1): 35 - 43.
- [15] Wang X B, Abdelbasset H, Lome A, et al US - 1 and US - 8 genotypes of *Phytophthora infestans* differentially affect local, proximal and distal gene expression of phenylalanine ammonia - lyase and 3 - hydroxy 3 - methylglutaryl CoA reductase in potato leaves [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2004, 65(3): 157 - 167.