

稻瘟病菌致病毒素 对野败型不育细胞质氧化活性的影响^{*}

闫芝芬 刘克桐^{**} 马春红 魏建昆

(河北省农林科学院农业物理生理生化研究所, 石家庄 050051)

摘 要 以水稻同核异质野败型雄性不育系珍汕 97A 及其保持系珍汕 97B 为材料, 用稻瘟病菌 90-2 菌株产生的致病粗毒素浸养处理二叶期黄化幼苗, 以探讨专化性致病菌株稻瘟病菌 90-2 致病粗毒素对野败型雄性不育细胞质呼吸的专化性抑制作用。结果表明, 稻瘟病菌 90-2 菌株粗毒素对珍汕 97A、97B 呼吸作用的影响有差异, 珍汕 97A 的呼吸作用对毒素处理更敏感, 受抑制强于珍汕 97B。并且, 未处理的珍汕 97B 匀浆液的呼吸强度一直高于珍汕 97A, 提示同核异质的保持系珍汕 97B 比不育系珍汕 97A 细胞质质量在呼吸方面也较优。

关键词 水稻 雄性不育细胞质 稻瘟病菌 致病毒素 氧化活性

中图分类号 S435.111.4 文献标识码 A 文章编号 1000-7091(1999)03-0109-04

70年代初美国由于大面积种植 T 型胞质杂交种, 导致玉米小斑病菌 T 小种对 T 胞质杂交玉米的专化性侵染, 使美国的玉米生产曾遭受毁灭性打击^[1]。魏建昆等 1989 年发现对玉米雄不育 C 细胞质专化侵染的玉米小斑病菌 C 小种, 并提出了预防对策^[2], 使我国玉米生产免遭损失。这种对雄性不育细胞质(CMS)专化性病害的存在, 对大面积单一细胞质杂交稻的长期种植是一个潜在危害, 应予以高度重视。在我国, 农业生产上用于配制杂交稻的不育系以野败型细胞质为主。加强对水稻 CMS 专化性病害的预测, 深入研究其抗感病机制, 对防病治病、选育抗病的 CMS 具有重要意义。已有研究表明, 寄主的呼吸强度以及与之有关的物质代谢在抵抗病原菌侵染的保护反应中有着十分重要的作用, 参与呼吸作用的过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和多酚氧化酶(PPO)等也与抗病性有密切关系^[3~4]。本研究测定了稻瘟病菌 90-2 菌株致病毒素对水稻野败型 CMS 珍汕 97A 及其保持系珍汕 97B 黄化苗匀浆液呼吸作用变化的影响, 试图进一步了解稻瘟病菌 90-2 菌株产生的致病毒素对珍汕 97A、97B 呼吸作用的影响差异, 分析专化性毒素对两者线粒体及细胞质作用的不同和作用机制。

1 材料和方法

水稻试材: 水稻野败型 CMS 珍汕 97A、保持系珍汕 97B(中国农科院品资所吴全安研究员提供), 选用均匀一致的饱满种子, 将干净种子浸种消毒, 并 35℃催芽 24 h, 在铺有滤纸的培养

1997-11-11 收稿。

^{*} 国家自然科学基金和河北省自然科学基金资助项目。

^{**} 河北农业大学 1997 届毕业生实习生

作者简介: 闫芝芬, 女, 1963 年生, 副研究员, 硕士, 主要从事分子生物学、植物病理及生理学方面的研究工作。

皿中于暗培养箱中培养黄化苗,培养温度 28℃,早晚各换水一次,二叶期黄化幼苗用于实验。

毒素的制备:稻瘟病菌 90-2 菌株的培养同前文^[5](每次实验用新制备的粗毒素)。

样品处理和呼吸强度的测定:把二叶期黄化苗培养皿中的水倒净,尽量轻轻用滤纸吸干根部的水分,每皿加入毒素约 20 mL 进行处理。分别于 0、4、8、12、24、36、48、60、72 h 取样测定,对照仍水培。每次精确称取叶片 0.4 g,在冰箱中放置 30 min,剪成小段后,加入 4 mL 匀浆介质^[6]及少量石英砂,在冰浴中研磨成匀浆。经 1 000 r/min,4℃离心 10 min,上层用于实验。上述操作都在低温下进行。氧化活性的测定用瓦氏测压法,按照文献^[8],氧化活性用 $\mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 表示。

2 结果与分析

2.1 稻瘟病菌 90-2 菌株致病毒素对黄化苗的作用

水稻 CMS 野败型珍汕 97A 及其保持系珍汕 97B 二叶期黄化苗根部用稻瘟病菌 90-2 毒素处理 24 h 后,珍汕 97A 叶尖出现轻度萎蔫,48 h 叶片中度萎蔫、叶尖出现干枯现象,到 72 h 叶片 80%~90%萎蔫,根部出现死亡腐烂;而珍汕 97B 到 48 h 才出现轻度萎蔫现象,72 h 接近中度萎蔫,根部也开始出现腐烂现象,但程度比珍汕 97A 轻。可以看出致病毒素对珍汕 97A 的毒害作用大于珍汕 97B,这与以前结果^[5 8 9]相一致。

2.2 毒素处理对黄化苗匀浆液呼吸强度的影响

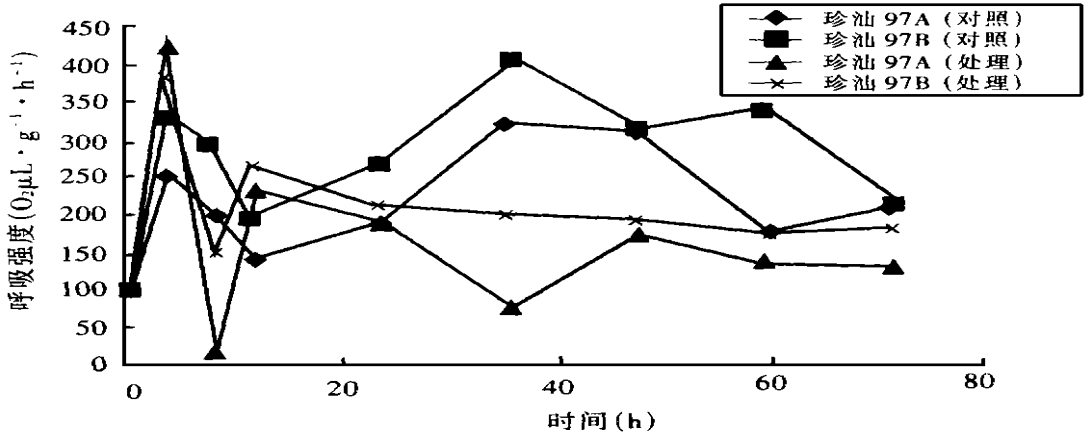


图1 毒素对珍汕 97A、97B 黄花苗匀浆呼吸作用的影响

从测定结果(图 1)看,处理后植株的呼吸作用受到很大影响,且毒素对两者呼吸强度的变化影响不同。毒素处理后 4 h,珍汕 97A 的呼吸强度急剧上升至最高,与对照比上升 70%,随后迅速下降;而珍汕 97B 此时上升幅度小,与对照比仅为 15%,随后也下降,但下降幅度也小。以后除 12 h 有一波动外,处理的珍汕 97A、97B 的呼吸作用一直处于比对照低的呼吸水平。试验中,不论处理或对照,珍汕 97B 的呼吸强度一直高于珍汕 97A。

3 结论与讨论

已有报道^[10], 呼吸作用强弱与植物的抗病力有关。植物依靠呼吸作用氧化分解病原菌分泌的毒素, 以消除毒素或增强免疫能力。从图 1 看出: 毒素对珍汕 97A、97B 植株氧化作用的耗氧的影响有明显差异, 即珍汕 97A 对稻瘟病菌 90-2 菌株产生的致病毒素敏感, 呼吸作用受到强烈抑制, 而珍汕 97B 对毒素的抵抗力强, 其呼吸作用受到抑制较少。说明珍汕 97A 对此毒素的耐受力、分解能力或钝化能力比同核异质的珍汕 97B 弱; 或在珍汕 97A 上含有专化致病毒素的作用位点, 而珍汕 97B 则不含有, 因而毒素引起对珍汕 97A 线粒体结构及功能的破坏。

多篇报道^[3~5, 10]证实参与呼吸作用的 POD、PPO、LOX 等酶的活性与植物的抗病性有关, 凡是叶片呼吸旺盛、氧化酶活性高的马铃薯品种, 对晚疫病的抗性较强。结合前文^[11]研究表明, 呼吸作用强弱及参与氧化作用的酶类(POD、PPO、SOD 等)的活性大小与野败型 CMS 珍汕 97A 及其保持系 97B 对水稻稻瘟病致病毒素的抗性呈一定的正相关关系。可见, 呼吸作用及上述酶类活性的加强或保持是植株的有效保护反应, 也是植株对病害抵御机制之一。

近期的报道证实珍汕 97A、97B 在细胞质遗传结构上存在差异^[12~14], mtDNA 的结构变异与不育性有关, 且已克隆到珍汕 97A mtDNA 上与不育性有关的 DNA 片段, 由于 mtDNA 结构差异的存在, 使珍汕 97A、97B 从苗期开始, 就在细胞质理化参数、抗病生理反应、激素含量及酶活性等方面出现差异。本实验进一步证实珍汕 97A、97B 黄化苗的呼吸作用对稻瘟病菌 90-2 专化致病毒素的反应也存在差异。我们认为珍汕 97A 在线粒体上的变异有可能使不育性及抗病性同时发生。毒素直接处理植株对呼吸活性的影响, 原因可能是: 毒素进入细胞内直接危害线粒体, 如膜结构的改变或破坏; 对线粒体中参与氧化作用的酶含量或活性及调节因子的影响; 直接对与呼吸有关的某些基因的作用; 或毒素首先作用于细胞膜, 之后通过一系列信号传递过程间接对基因表达、呼吸作用及其它代谢活动产生影响等。但专化性致病毒素的作用位点是在线粒体上还是在细胞质膜上还有待进一步用纯化的专化毒性成分来研究。

参 考 文 献

- 1 Smith D R, Hooger A L, Lim S M, *et al.* Physiological races of *Helminthosporium maydia*. Plant Dis Rep 1970, 54: 819~822
- 2 魏建昆, 苏海, 崔洋等. 从植物遗传育种、生理与病理的角度论述我国玉米细胞质雄性不育杂交种的应用. 见: 农业高新技术论. 北京: 科学技术文献出版社, 1993. 219~228
- 3 王彦才, 徐兆桢, 穆永顺等. 水稻抗瘟性与过氧化物酶同工酶的初步研究. 植物保护学报, 1991, 18(4): 289~292
- 4 张晓葵, 王保仁, 邓江明. 水稻品种对稻细菌性条斑病菌的抗性与过氧化物酶、多酚氧化酶及酯酶同工酶的关系. 湖南农业科学, 1994, 4: 39~40
- 5 闫芝芬, 张红心, 崔四平等. 稻瘟病菌 90-2 菌株致病毒素的活性测定及其影响条件. 植物病原菌毒素研究进展, 1997, 6: 239~244
- 6 杨福临, 史宝生, 邢菁如等. 用匀浆互补法测试杂种优势的研究(I). 科学通报, 1978, 23(12): 752~755
- 7 聂荣邦. 陆地棉品种间杂种优势及其预测的研究. II 陆地棉品种间杂种一代优势预测. 湖南农学院学报, 1990, 16(2): 125~131
- 8 闫芝芬, 马春红, 崔四平等. 水稻雄性不育细胞质质量及其与稻瘟病抗性的关系. 华北农学报, 1996, 11

(增刊): 69~74

- 9 苏海. 用 DNA 遗传异质性分析稻瘟病菌细胞质专化性小种形成趋势:[博士学位]. 中国农业大学, 1996
- 10 荆家海. 植物生理学. 西安: 陕西科学技术出版社, 1994
- 11 闫芝芬, 马春红, 魏建昆. 稻瘟病菌致病毒素对水稻雄性不育细胞质的专化性致病机理. 中国农业科学, 1998, 31(6): 56~61
- 12 赖锦盛, 戴景瑞, 谢友菊. 植物细胞质雄性不育性的分子基础研究. 见: 作物雄性不育及杂种优势研究进展(1). 北京: 中国农业出版社, 1996
- 13 孙天恩, 杜红祥, 叶梦炜. 珍汕 97A 小孢子败育过程中 DNA 和蛋白质的变化. 见: 作物雄性不育及杂种优势研究进展(1). 北京: 中国农业出版社, 1996
- 14 付彬瑛, 杨代常, 田惠桥 等. 两类不同类型水稻细胞质雄性不育系小孢子败育过程中蛋白双相电泳研究. 见: 作物雄性不育及杂种优势研究进展(1). 北京: 中国农业出版社, 1996

Effect of Toxins from *P. oryzae* 90-2 Strain to Oxidative Activity of Wild Abortive Male-sterile Cytoplasm in Rice

Yan Zhifen Liu Ketong Ma Chunhong Wei Jiankun

(Agricultural Plant Physiology and Biochemistry Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051)

Abstract Wild abortive cytoplasmic male sterile line Zhenshan 97A and its maintainer Zhenshan 97B were used as experimental materials, their yellowing seedling was treated soakedly by toxins from *P. oryzae* 90-2 strain. After the treatment, their homogenized suspension dynamic changes of oxidative activity were detected so as to understand specific inhibition of the toxins to respiratory system of WA cytoplasm. The result showed that the effect of toxins from *P. oryzae* 90-2 to respiration was different between Zhenshan 97A and Zhenshan 97B. The respiration of Zhenshan 97A was more susceptibility to the toxins and was inhibited greater than that of Zhenshan 97B. Moreover, the control respiratory intensity of Zhenshan 97B was always higher than Zhenshan 97A. This suggested that cytoplasmic character of Zhenshan 97B in respiration was better than that of Zhenshan 97A.

Key words: Rice; Male-sterile cytoplasm; *P. oryzae* toxins; Oxidative activity