

# 棉花黄萎病抗性的生理生化指标探讨

纪好勤 郭小平

潘家驹

(河南省农业科学院经济作物研究所, 郑州 450002) (南京农业大学农学系, 南京 210014)

**摘要** 将抗病和感病不同的棉花品种接种黄萎病菌后, 对其植株体内过氧化物酶的活性进行测定。在接种后 5 天, 其体内过氧化物酶活性有显著差异, 可以作为抗性鉴定的生化指标。病原菌毒素对感病品种原生质体的破坏程度较抗性品种为大, 差异明显, 可以作为抗性鉴定的生理指标。

**关键词** 棉花黄萎病 抗性鉴定 生理生化指标

近年来, 棉花黄萎病发生蔓延迅速, 对棉花生产造成很大影响。目前, 棉花对黄萎病的抗性机理尚不清楚, 但对感病后植株生理生化变化的报道颇多。Bell 等对棉花感病后植株体内产生的萜类、黄酮类、单宁、酚类等植物抗毒素的合成和作用已做了大量工作<sup>[4,5]</sup>。Wiese 和 Devay 研究了棉株感病后植株体内各种激素的变化, 特别强调乙烯的作用<sup>[6]</sup>。棉花黄萎病病原菌培养滤液中含有病原菌毒素, 它是一种蛋白脂多糖的聚合物, 其详细结构和作用尚不清楚, 但它同样能够引起棉苗的黄萎症状<sup>[1]</sup>。作者于 1993 年对抗、感不同的棉花品种接种黄萎病菌后其过氧化物酶的活性变化, 及毒素对寄主原生质体的破坏程度进行了研究, 以寻找简便实用的生理生化指标, 为抗性鉴定和遗传分析提供参考性方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 过氧化物酶活性的测定

供试棉花品种为抗病的中 3474 和感病的李台 8 号。供试菌系为中等致病力的 VD-2(南京农业大学植保系提供)。选用大小一致具二片真叶的棉苗, 从营养钵底浇灌菌液, 菌液浓度  $2 \times 10^7$  分生孢子/ml, 每个营养钵灌 10ml。分别于接种后 1 天、3 天、5 天、10 天取叶片测定, 每个样品 10 株。将样株叶片剪碎, 称取 4g, 加入 8ml 磷酸缓冲液(pH=6.8, 0.1M)研磨, 将此研磨液经 4000r/min 离心 30min, 上清液即为待测液。过氧化物酶活性测定采用愈创木酚法<sup>[2]</sup>。

### 1.2 粗毒素的提取

将 VD-2 菌系接入马铃薯—蔗糖液体培养基, 在 25℃、250r/min 的条件下, 振荡培养 72h, 获得孢子浓度为每毫升  $10^8$  数量级的悬浮液。悬浮液经双层纱布过滤, 滤液再经 500r/min 离心 30min, 所得上清液即为粗毒素。

1.3 电导率的测定

供试品种为抗病品种中棉 12 和感病品种李台 8 号。毒素浓度为 5 个处理,即原液(X)、二倍稀释液(2X)、四倍稀释液(4X)、八倍稀释液(8X)以及液体培养基的对照处理。具体试验操作方法见参考文献<sup>[3]</sup>。

2 结果与分析

2.1 棉花抗、感病品种接种黄萎病菌后过氧化物酶活性的变化

中 3474 品种对 VD-2 菌系表现较好的抗性;李台 8 号品种表现感病。两个品种接菌后,不同时期过氧化物酶活性变化见表 1。接种后,抗、感病品种过氧化物酶活性均有上升,但是反应速度不同,抗性品种中 3474 酶活性增加迅速,3 天后即达 0.292,而感病品种 10 天后才有显著变化。在第 5 天时抗、感病品种体内过氧化物酶活性的差异最大。因此,在适当的时期对棉花品种过氧化物酶活性进行测定,可以鉴定品种的抗病性。

表 1 抗感品种过氧化物酶活性的变化  
(单位:△OD·g<sup>-1</sup>FW·min<sup>-1</sup>)

| 品 种    | 接 种 时 间 (d) |       |       |       |       |
|--------|-------------|-------|-------|-------|-------|
|        | 1           | 3     | 5     | 10    | ck    |
| 中 3474 | 0.196       | 0.292 | 0.346 | 0.414 | 0.162 |
| 李台 8 号 | 0.154       | 0.188 | 0.138 | 0.324 | 0.158 |

表 2 毒素对细胞质膜的破坏作用  
(单位:μΩ/cm)

| 品 种    | 测定时间<br>(h) | 浓 度 |     |     |     |     |
|--------|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|
|        |             | X   | 2X  | 4X  | 8X  | ck  |
| 李台 8 号 | 1           | 5.8 | 6.4 | 6.5 | 3.8 | 3.6 |
|        | 1.5         | 6.9 | 8.7 | 8.9 | 5.3 | 4.8 |
| 中棉 12  | 1           | 4.2 | 3.8 | 2.8 | 2.5 | 2.2 |
|        | 1.5         | 5.7 | 5.5 | 2.8 | 3.2 | 2.6 |

2.2 病原菌毒素对寄主细胞的破坏

细胞质膜受破坏后,细胞质内离子外渗,用电导率可以测定溶液的导电性。试验结果表明,棉花不同品种细胞质膜受破坏程度不同,毒素对感病品种李台 8 号细胞质膜的破坏性大于抗病品种中棉 12。不同的毒素浓度对细胞质膜的破坏性也不相同,只有当浓度适当时,破坏作用差异最大。当 4X 浓度时,抗、感病品种所显示的差异最大,相差 3~4 倍,而且两个测定时间结果稳定(表 2)。因此,毒素对细胞质膜破坏的电导率测定,有可能作为抗性鉴定的生理指标。

3 讨论

通过棉花品种对黄萎病菌抗性生理生化指标的探讨,在品种抗性鉴定中有其实用价值和特点。本研究表明,在接种后 5 天,对棉花品种叶片过氧化物酶活性进行测定,可以作为抗性鉴定的指标之一。这种方法时间短,速度快,较少受环境的影响。在测定取样时,植株尚未表现任何外部症状,避免了评定病级的主观性。利用毒素对棉花原生质体的破坏来鉴定抗病性,该方法不需要接种,减免了接种误差和发病条件的影响,是一种有前途的抗性鉴定方法。

## 参 考 文 献

- 1 仇元. 棉花黄萎病菌培养滤液及其应用的初步研究. 西北农学院学报, 1979(复刊号): 1~10
- 2 植物生理学会. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科技出版社, 1985
- 3 华东师范大学生物系主编. 植物生理学实验指导. 北京: 人民教育出版社, 1980
- 4 Bell AA. Phytoalexin production and V. wilt resistance in cotton. Phytopathol, 1969, 59(7): 1119~1127
- 5 Bell AA. Temperature effect upon resistance and phytoalexin synthesis in cotton inoculation with V. albo-atrum. Phytopathol, 1969, 59(7): 1141~1151
- 6 Wiese MV, Devay JE. Growth regulator changes in cotton associated with defoliation caused by V. albo-atrum. Plant Physiol, 1970, 45(3): 304~309

## Indexes of Resistance to *Verticillium dahliae* in Physiology and Biochemistry

Ji Haoqin      Guo Xiaoping

(Industrial Crops Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou)

Pan Jiajü

(Nanjing Agricultural University, Nanjing)

**Abstract**      Great difference of activity of peroxidase existed between resistant and susceptible cultivars after inoculation five days later. The toxin produced by *V. dahliae* caused more damage to the protoplasts of the susceptible cultivar than those of the resistant one. They may be used as supplemental indexes of resistance in physiology and biochemistry.

**Key words:** *Verticillium* wilt; Resistant identification; Indexes of physiology and biochemistry