

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^[4,5]。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^[6]。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^[1]。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 2×10^7 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^[2]。

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^[3]。

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

| 品 种 | 接 种 时 间 (d) | | | | ck |
|--------|-------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 3 | 5 | 10 | |
| 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

| 品 种 | 测定时间 (h) | 浓 度 | | | | ck |
|--------|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | X | 2X | 4X | 8X | |
| 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