

不同抗枯萎类型棉花品种超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性研究

李 妙* 王校栓 李延增 徐 显 尹志敏 耿军义

(河北省农林科学院棉花研究所, 石家庄 050051)

李俊明* 崔四平 裴宝琦

(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 本文研究了不同抗枯萎病类型棉花品种及同一品种(系)内感病植株和健康植株叶片超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性的差异。结果表明,在田间发病情况下,抗病品种膜脂过氧化水平低,超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性弱,可溶性蛋白质含量高,不抗病品种则表现相反;在同一品种(系)内,感病植株比健康植株膜脂过氧化水平,超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性均较高,可溶性蛋白质含量较低,差异达极显著水平。

关键词 棉花 枯萎病 超氧化物歧化酶 过氧化物酶

自 Fridovich(1978)提出生物自由基学说以来,细胞酶性保护系统与植物抗逆性的关系引起了人们的普遍关注^[3]。许多学者对水稻^[8,11]、小麦^[9]、玉米^[10]等作物在抗病或逆境下 SOD(或 POD)活性变化进行了研究。前人研究表明,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等能防御活性氧及其它过氧化自由基对细胞膜系统的伤害^[1],增强植物对干旱、寒冷、盐渍、衰老、病害的抵抗能力。多年来棉花抗病育种多在田间病圃中直观进行,而以调查病指作为抗病性筛选指标,对不同抗病类型棉花品种的生理生化差异及其与田间反应的关系研究不多。本研究利用这一方法研究了棉花枯萎病不同抗性品种及同一品种内感病植株和健康植株 SOD 和 POD 活性的差异,并对酶活性与田间感病指数做了相关分析。现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 供试材料

采用不同抗病类型的棉花品种和品系 15 个:1. 石 3085(3.98%);2. 石 3104(5.17%);3. 邯 322(2.25%);4. 92—61(23.41%);5. 邯 89—S93(35.42%);6. 92—103(21.63%);7. 选 1481(36.27%);8. 冀无 92—16;9. 冀无 3103;10. 石抗 155(2.53%);11. 中 12(1.07%);12. 冀 135(20.19%);13. 美 86—12(24.09%);14. 美 86—16(34.62%);15. 92—1515(43.98%)(括号内百分数是 1992 年枯萎病指数)。

1.2 测定方法

1.2.1 酶活性测定 称取棉花成株顶部幼叶(鲜样)1.2g,加入10ml提取介质(0.05mol磷酸缓冲液,pH=7.0,含0.1%PVP),冰浴上研磨,匀浆在20000g离心20min,提取上清液,按Giannopolitis和Ries方法测定SOD活性^[1,12],按张龙翔等方法测定POD活性。

1.2.2 蛋白质测定^[6] 采用紫外法测定可溶性蛋白质含量。

1.2.3 丙二醛含量测定 参照Heath等方法,称取棉花幼叶(鲜样)1.2g,用10ml10%的TCA制备匀浆,在2800g离心10min,取上清液两份,分别加入等体积的蒸馏水和0.67%(W/V)的TBA,前者做对照,后者水浴煮沸30min,2800g离心5min,取上清液在600nm和532nm波长下比色,不同波长下的光密度差值减去干扰所得值估测丙二醛含量。

2 结果与分析

2.1 不同抗病类型棉花品种(系)的比较

试验结果(表1)表明,枯萎病菌对棉株的侵害会引起叶片细胞膜脂过氧化水平,超氧化物歧化酶活性和过氧化物酶活性的变化。在棉花田间发病高峰期,感病品种膜脂过氧化水平,超氧化物歧化酶活性和过氧化物酶活性最高,耐病品种次之,抗病品种表现最低。说明病害会引起细胞膜结构的破坏^[3],同样也刺激细胞酶性保护系统功能的增强。抗病品种的可溶性蛋白质含量显著高于耐病品种和感病品种,也意味着棉花抵御膜脂过氧化而引起的自由基伤害是通过提高酶系统的比活力,而不是通过增加酶量实现的。对SOD活性,POD活性和可溶性蛋白质含量与田间病情指数作相关分析,发现它们之间相关紧密,其中 $r_{SOD}=0.9802$, $r_{POD}=0.9328$, $r_{pro}=-0.9724$ 。

表1 不同抗病类型棉花品种(系)的生化指标比较

抗病类型	MDA含量 ($\mu\text{mol/gFW}$)	SOD活性 (酶单位· $\text{mg pro}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)	POD活性 (酶单位· $\text{mg pro}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)	可溶性蛋白质含量 (mg/gFW)
抗病品种	0.321	30.41	9.69	158.35
耐病品种	0.362	43.30	188.92	133.09
感病品种	0.445	48.76	216.86	124.02

2.2 同一品种(系)内感病植株和健康植株之间生化指标的差异

由表2可见,在棉花发病期,同一材料的感病和健康植株比较,膜脂过氧化水平,SOD活性,POD活性都呈增加趋势。POD活性的增加显著高于SOD活性的增加。显著性测验结果显示,感病植株和健康植株比较,SOD活性差异达到显著水平($|t|=2.765>t_{0.05}=2.120$),POD活性差异达极显著水平($|t|=3.211>t_{0.01}=2.921$)。其可溶性蛋白质含量感病植株显著低于健康植株($|t|=2.541>t_{0.05}=2.120$)。健康植株和感病植株间的这种差异与抗病品种和感病品种之间的差异表现相似。

2.3 常规棉和低酚棉的区别

试验结果(表3)表明,常规棉和低酚棉的感病植株和健康植株之间,除了膜脂过氧化水平表现趋势相反外,SOD活性,POD活性及可溶性蛋白质含量的变化趋势表现一致。由此说明,SOD和POD的活性能比较真实地反映不同类别间棉花品种(系)的抗病性能。

表 2 同一品种(系)内感病株和健康株之间生化指标的差异

品种(系) 名 称	MDA 含量 ($\mu\text{mol/gFW}$)		SOD 活性 (酶单位 $\cdot \text{mg pro}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)		POD 活性 (酶单位 $\cdot \text{mg pro}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)		可溶性蛋白质含量 (mg/gFW)	
	感病株	健 株	感病株	健 株	感病株	健 株	感病株	健 株
石 3085	0.498	0.401	78.07	6.99	513.11	39.72	134.65	332.79
石 3104	0.430	0.328	81.14	43.79	129.92	17.30	126.41	196.42
邯 322	0.459	0.379	18.01	12.77	472.68	8.90	148.56	254.43
92-61	0.363	0.296	81.74	34.66	139.72	22.00	132.50	235.25
邯 89-S93	0.410	0.404	17.43	12.59	420.58	29.52	126.80	153.48
92-103	0.404	0.342	79.22	63.22	339.95	22.26	101.78	116.61
选 1481	0.367	0.176	75.80	42.83	208.92	17.50	108.42	129.41
冀无 92-16	0.114	0.318	91.00	27.05	143.42	11.10	98.71	153.08
冀无 3103	0.170	0.266	43.46	21.37	152.72	21.11	107.33	126.08
平均值	0.419*	0.332*	62.87	29.47	280.11	21.05	120.57	188.62

* 除去两个低酚棉的结果

表 3 常规棉和低酚棉的比较

类 别	MDA 含量 ($\mu\text{mol/gFW}$)		SOD 活性 (酶单位 $\text{mg pro}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)		POD (酶单位 $\text{mg pro}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)		可溶性蛋白质含量 (mg/gFW)	
	感病株	健 株	感病株	健 株	感病株	健 株	感病株	健 株
常规棉	0.332	0.419	57.15	24.60	291.62	20.74	121.55	192.24
低酚棉	0.292	0.142	80.48	48.94	239.84	22.13	124.56	168.52

3 讨论

不同抗病类型的棉花品种或同一品种(系)的感病植株和健康植株叶片细胞的 SOD 和 POD 活性表现出相似的显著差异。在病菌侵染后,伴随膜脂过氧化作用增强,发病植株的 SOD 和 POD 的活性明显增强,从而提高其抵御自由基伤害的能力,缓解病菌的危害,感病植株由此而减轻病菌引起的细胞结构破坏,降低了感病指数。靳华芬^[9]和 Staveley 等的报道,与我们在棉花方面的工作一致。对 SOD 活性和 POD 活性与棉花田间病情指数作相关分析。它们之间相关极为密切,因而可以将酶活性差异作为鉴定棉花品种抗病类型的可靠生化指标。至于区分抗病类型的生化量化性指标的研究,还有待于进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 刘鸿先等. 低温对不同耐寒力的黄瓜幼苗子叶各细胞器中超氧化物歧化酶的影响. 植物生理学报, 1985, 11 (1): 48~57
- 2 邓德旺等. 低酚棉与普通陆地棉超氧化物歧化酶及酯酶的比较研究. 华北农学报. 1991, 6(4): 43~47

- 3 邱竞等. 棉花叶片自然衰老和病害胁迫时 SOD、POD 活性与光合特性的变化. 棉花学报, 1992, 1(1): 5
- 4 沈宗英等. 花椰菜(*Brassica oleracea* var. *botrytis*)下胚轴培养过程中过氧化物酶活性及同工酶谱的变化. 植物生理学报, 1985, 11(1): 17~18
- 5 袁朝兴等. 水分胁迫对棉花叶片中 IAA 含量、IAA 氧化酶和过氧化物酶活性的影响. 植物生理学报, 1990, 16(2): 179~184
- 6 袁晓华等. 植物生理生化实验. 北京: 高等教育出版社, 1986, 208~209
- 7 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册. 上海科学技术出版社, 1985, 548~549
- 8 刘鸿光等. 低温对杂优水稻及其亲本幼苗中超氧化物歧化酶的影响. 植物学报, 1987, 29(3): 262~270
- 9 靳华芬, 沈扬. 小麦抗感白粉病的不同品种过氧化物酶同工酶的比较研究. 植物学报, 1985, 27(2): 222
- 10 王振镭等. 水分胁迫对玉米 SOD 和 POD 活力及同工酶的影响. 西北农业大学学报, 1989, 17(1): 45~49
- 11 Bridges SM et al. Distribution of iron-containing superoxide dismutase in vascular plants. Plant Physiol, 1981, 68: 275~278
- 12 Giannopolitis CN et al. Superoxide dismutase II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. Plant Physiol, 1977, 59: 315~318

A Study on Activities of Superoxide Dismutase and Peroxidase in Leaves of Cotton (*Gossypium hirsutum*) with Different Resistance to Fusarium Wilt

Li Miao Wang Xiaoshuan Li Yanzeng Xu Xian
Yin Zhimin Geng Junyi

(Cotton Institute, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang)

Li Junming Cui Siping Pei Baoqi

(Agro-physics, Plant Physiology and Biochemistry Institute, Hebei
Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang)

Abstract: The activities of superoxide dismutase and peroxidase in leaves of cotton with different resistance to Fusarium wilt and the difference of the two enzymes activities between infected plants and intact plants in the same cultivar (line) were studied. The results indicated that the disease-resistant cultivars (lines), under the field condition, displayed low membrane lipid peroxidation, weak SOD and POD activities and high soluble protein content; on the contrary, in the same disease-sensitive cultivar, the membrane lipid peroxidation and the enzymes activities of infected plants appeared significantly higher than that of intact plants, but the soluble protein content of infected plants was significantly lower than that of intact plants.

Key words: Cotton (*Gossypium hirsutum*); Fusarium wilt; Superoxide dismutase; Peroxidase