

棉花的抗氧化系统与其抗黄萎病的关系

朱荷琴 宋晓轩 刑金松 郭金城

(中国农业科学院棉花研究所, 河南安阳 455112)

摘 要 当棉株受到黄萎病胁迫而未表现症状时, 感病品种的 SOD、POD 活性及脂质过氧化水平均高于耐病品种, 可溶性蛋白含量较低, 出现症状后, 棉叶 SOD、POD 活性变化以耐病品种表现明显提高, 感病品种提高较少或略有下降, 耐病品种可溶性蛋白含量下降, 感病品种可溶性蛋白含量提高。耐病品种和感病品种均表现脂质过氧化产物丙二醛含量和质膜电解质外渗率提高, 以耐病品种提高较少, 而感病品种提高较多。研究表明, 棉株感染黄萎病后, 叶片 SOD、POD 活性变化与品种抗病性显著相关。

关键词 棉花 病害胁迫 SOD 酶

SOD 和 POD 是植物体内防御氧化损伤的重要酶类。当植物体处于逆境(如干旱、低温、霜冻、高盐、有毒物质等)时, 植物体内会产生大量过剩的超氧阴离子自由基 $O_2^{\cdot-}$, 积累的 $O_2^{\cdot-}$ 首先破坏植物细胞的膜系统, 使膜透性增大和电解质泄漏, 导致植物细胞伤害和死亡^[2,4]。

黄萎病是我国棉花生产中的一个重要病害。选育和种植抗病品种是防治该病的有效措施。近年来, 有关棉花黄萎病及其综合防治方面的研究已有很大进展。本文研究了不同抗病类型品种感染黄萎病后 SOD、POD 的变化, 以探讨其抗病生理作用。

1 材料和方法

1.1 供试材料为陆地棉(*Gossypium hirsutum* L.)耐病品种中 16、中 12, 感病品种冀 11、86-1。棉花种植于人工感染的单生黄萎病水泥池病圃。黄萎病发生高峰期, 取 2 级病株和健株的顶部第 4 片展平叶为酶活性测定材料, 主茎下部第 6 果枝主茎叶做 MDA 含量和电导率测定材料。

1.2 SOD 活性测定: 取不带叶脉叶片 0.4g 加入 4ml 预冷的样品提取液(0.2M pH7.8Pb 缓冲液, 0.2% tritonx 100)研磨成匀浆, 20000g 离心 20min, 上清液即为酶制品。酶活测定参照王爱国、罗广华等方法^[1], 利用 SOD 抑制氮蓝四唑(NBT)在荧光下的还原作用。采用抑制 NBT 光化还原反应的 50% 为一个酶活单位。

1.3 POD 活性测定: 参照徐如涓等方法^[7], 0.3% 愈创木酚(Pb 配制)2.5ml, 适量酶液, 0.6%

H₂O₂ 400 μ l, 读取 40s470nmOD 值。酶活计算以每秒钟 A₄₇₀变化 0.01 为一个过氧化物酶活力单位。

1.4 蛋白测定:参照 Folin-酚法,以牛血清蛋白为标准蛋白。

1.5 过氧化脂质测定:参照林植芳等方法^[3]。

1.6 质膜电解质渗率测定:取 0.5 g 去叶脉叶片,剪碎成 0.5cm 方块,加入 20ml 蒸馏水,真空抽气 10min(叶片呈半透明状),测定溶液电导率。

2 结果与分析

2.1 SOD、POD 酶比活的变化率与品种的抗病性 图 1 表明,黄萎病菌侵染棉花并表现症状时,引起叶片内 SOD、POD 酶比活的变化,中 12 和中 16 的 SOD 酶比活提高 31.7%~33.5%、POD 酶比活提高 79.4%~125.7%,而 86-1、冀 11 的 SOD、POD 酶比活提高少(1.2%、9.8%)或有所下降(-8.5%、-9.8%),进一步分析发现,SOD、POD 酶比活变化率与田间病情指数存在如下相关: $r_{SOD} = -0.9697$, $r_{POD} = -0.9632$,说明 SOD、POD 与棉花品种对黄萎病的抗性密切相关。

2.2 MDA 含量和电导率的变化 脂质过氧化产物 MDA 含量标志着质膜受活性氧损伤的程度,质膜电解质外渗率的高低则表明了细胞受伤害的程度。图 2 和图 3 表明,棉花感病后耐病品种和感病品种的脂质过氧化产物丙二醛含量分别提高 1.07%~11.4%和 17.4%~18.5%,质膜电解质外渗率分别提高 17.7%~38.3%和 84.8%~91.0%,感病品种更易加快氧化过程,生物膜损伤加剧,表现为大量电解质外渗。

2.3 耐病品种和感病品种对黄萎病菌侵染的生化反应 棉株受到病害胁迫而未感病时(表 1),感病品种的 SOD、POD 酶活性平均较耐病品种高 24.5%和 57.7%,脂质过氧化产物丙二醛含量较耐病品种高 7.05%,可溶性蛋白含量则较耐病品种低 7.33%。棉株发病后,感病品种的 SOD、POD 酶活性平均较耐病品种低 7.40%和 24.99%,可溶性蛋白含量较耐病品种高 15.84%,MDA 含量高 56.27%。

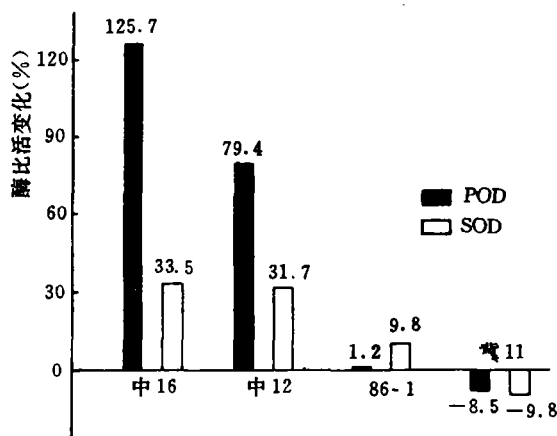


图 1 棉花感染黄萎病后 SOD、POD 比活变化(%)

表 1 不同抗病类型品种病株和健株叶片内生生化指标的差异

抗病类型		SOD (酶单位 mg^{-1} pro)	POD (酶单位 mg^{-1} pro)	可溶性蛋白 ($\text{mg pro} \cdot \text{g}^{-1}$ FW)	MDA ($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)
耐病品种*	健株	126.95	51.50	22.50	14.32
	病株	168.35	103.05	19.25	18.27
感病品种**	健株	158.05	81.20	20.85	15.33
	病株	155.90	77.30	22.30	28.55

* 中 12、中 16 平均值;

** 86-1、冀 11 平均值。

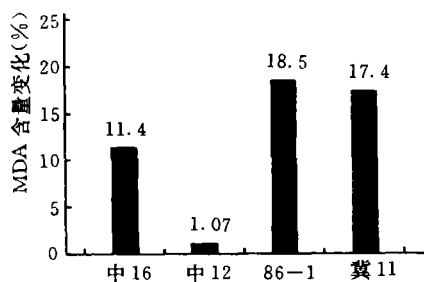


图 2 棉花感染黄萎病后 MDA 含量变化

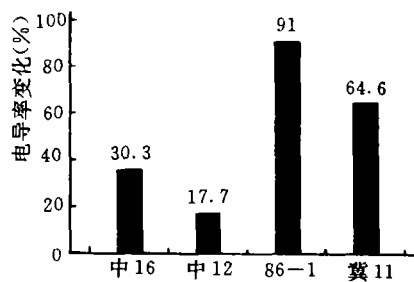


图 3 棉花感染黄萎病后电导率变化

3 讨论

研究表明,与感病品种相比,耐病品种的 SOD、POD 活性弱,膜脂过氧化水平低,可溶性蛋白含量高。棉花感染黄萎病后膜脂过氧化水平提高,耐病品种 SOD、POD 活性提高,可溶性蛋白含量下降,感病品种 SOD、POD 活性变化较小,可溶性蛋白含量上升,这与李妙^[6]在棉花枯萎病方面的研究结果相似。

耐病品种和感病品种感染黄萎病前后, SOD、POD 酶活等生化指标存在相反的差异,表明病原菌侵染寄主后,引起了寄主组织防御系统的保护酶及有关的脂质过氧化作用的变化^[5],耐病品种和感病品种感染黄萎病后,均表现脂质过氧化作用的加强,表明棉株感病后出现了活性氧的毒害作用,可能造成光系统的电子错误地传递给 O_2 ,而产生 $O_2^{\cdot-}$,并进一步产生其它的氧化胁迫,从而造成对膜系统的损伤,表现为 MDA 含量和外渗电解质含量上升。耐病品种由于 SOD 活性的迅速上升,使得黄萎病对膜系统造成的损伤较小。而感病品种 SOD 活性基本未变,来不及清除病害胁迫下产生的过剩的自由基,因而膜系统受到较大的损伤。有研究表明^[7],病害胁迫时 POD 在加强细胞壁的合成中的作用远超过其在细胞内的抗氧化作用。我们的研究发现,耐病品种感染黄萎病后 POD 活性几乎提高一倍,推测耐病品种 POD 活性的提高,促进了细胞壁的合成,从而达到抗病作用。

低温胁迫下膜脂氧化的加剧引起质膜透性增大,干旱胁迫下苔藓、小麦和甘蔗膜透性增加与膜脂过氧化产物 MDA 含量的增加存在明显正相关^[5]。本研究表明,棉株感病后 MDA 含量的增加,同样引起质膜透性增大,致使大量电解质外渗。

参 考 文 献

- 1 王爱国,罗广华,绍从本等.大豆种子超氧化物歧化酶的研究.植物生理学报,1993,9(1):77~83
- 2 张博润,谭华荣.超氧化物歧化酶的研究进展和应用前景.微生物学通报,1992,19(6):352~365
- 3 林植芳,李双顺,林桂珠等.水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系.植物学报,1984,26(6):605~615
- 4 王建华,刘鸿先,徐同.超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用.植物生理学通讯,1989,(1):1~7
- 5 陈少裕.脂质过氧化对植物细胞的伤害.植物生理学通讯,1991,27(2):84~90
- 6 李 妙,裴宝琦,李俊明.病害胁迫下不同抗病性棉花品种(系)叶片组分内生生化指标的差异比较.中国农学通报,1993,9(2):28~31
- 7 Chris B,Marc VM,Dirk I. Superoxide dismutase stress tolerance. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol,1992,43:83~116.

Reactions of Anti-Oxidant System of Variable Resistant Cotton Varieties to Verticillium Wilt Stress

Zhu Heqin Song Xiaoxuan Xing Jinsong Guo Jinchong

(Cotton Research Institute, CAAS, Anyang, Henan)

Abstract When cotton infected by *Verticillium* wilt disease but without disease symptom, the disease-sensitive varieties displayed higher activities of SOD, POD, membrane lipid peroxidation and lower concent of soluble protein than disease-tolerant varieties. After appearing of disease symptom, the activities of SOD, POD of tolerant varieties increased significantly with respect to those of sensitive ones decreased of increased slightly. The content of soluble protein of sensitive varieties increased while decreased in tolerant ones. Dielectric leaking rate and MDA content of the two resistant type varieties increased after appearance of disease symptom, while the increase of sensitive varieties were far higher than those of tolerant ones. The research indicated that the changes of activities of SOD, POD were correlated with the disease resistance significantly.

Key words: Cotton; Diseases stress; SOD