

棉花感染黄萎病后叶片组分内生生化特性分析

李俊兰 李 妙* 翟学军 李之树 王国印

(河北省农林科学院棉花研究所, 石家庄 050051)

黄国存 崔四平

(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 在田间病圃发病高峰期, 对抗黄萎病性不同的陆地棉品种及同一品种的感病和健康植株叶片组分内四项生化指标进行了研究。结果表明, 抗病品种超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性弱, 膜脂过氧化水平低, 可溶性蛋白质含量高, 而感病品种表现相反。在同一品种(系)内, 感病植株与健康植株相比, POD 活性和膜脂过氧化水平高。从平均效应看, SOD 活性健康植株高于感病株, 可溶性蛋白质含量感病植株高于健康植株。试验结果还表明, 无论是抗病品种或是感病品种, 植株发病后 POD 活性皆上升幅度很大, 对 SOD 活性的反应, 抗病品种变化幅度小, 感病品种变化幅度大。

关键词 陆地棉 黄萎病 超氧化物歧化酶 过氧化物酶 膜脂过氧化 可溶性蛋白质

棉花黄萎病是继枯萎病之后人们发现的棉花又一重要病害。自 Carpenter 1914 年首次报道在美国发现棉花黄萎病以来, 这一病害几乎遍及世界各主要植棉区^[1]。近年来, 由于我国黄萎病大面积发展蔓延, 直至 1993 年大爆发, 抗黄育种越来越受到科研工作者的重视, 许多学者对棉花抗(耐)黄萎病性的遗传和生化基础进行了大量的研究, 认为, 陆地棉在受到大丽轮枝菌侵染后, 维管束组织中产生四种类萜烯化合物^[1], 同时, 脱氢酶、多酚氧化酶和过氧化氢酶的活性及吲哚乙酸含量发生相应的变化。通过对 SOD 和 POD 活性变化与抗病性的关系在水稻^[2]、小麦^[3]、玉米^[4]等作物上的研究发现, 超氧化物歧化酶、过氧化物酶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^[5], 增强植物对于旱、寒冷、衰老、病害的抵抗能力^[6]。关于不同抗枯萎病类型棉花品种与 SOD、POD 活性关系的研究已有报道, 而关于棉花感染黄萎病后 SOD 和 POD 活性变化的研究迄今尚未见报道。本研究旨在查明 SOD 和 POD 活性与黄萎病害发生的关系, 为抗黄育种提供可靠的依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

利用不同抗黄萎病类型的棉花品种(系)8个,93-1008(抗),93-984(抗),93-1119(耐),93-1084(耐),93-1035(感),93-975(感),93-1019(感)和93-127(感)。

1.2 测定方法

SOD、POD、MDA及蛋白质含量测定:将处理与对照棉株各叶位棉叶分别剪碎、混匀后,各称取1.0g,分别加入5ml 0.05M、pH7.0磷酸缓冲液(含1%PVP)中,加少量石英砂后冰浴研磨。匀浆在 $15000 \times g$ 下离心20min,提取上清液按Ginanopolitics和Rice方法测定SOD活性^[7];POD活性测定采用愈创木酚法^[8];可溶性蛋白质含量测定采用考马氏兰法^[9];丙二醛(MDA)含量按Heath方法^[10]测定。

2 结果与分析

2.1 同一材料内感病植株与健康植株之间生化指标比较

表1 同一材料内健株与病株之间生化指标差异比较

品 系	SOD 活性 (酶单位·mg pro ⁻¹ ·min ⁻¹)		POD 活性 (酶单位·mg pro ⁻¹ ·min ⁻¹)		MDA 含量 (μmol/gFW)		可溶性蛋白质含量 (mg/gFW)	
	健株	病株	健株	病株	健株	病株	健株	病株
1008	56.90	69.50	171.40	475.50	7.70	13.50	0.63	0.54
984	60.80	70.30	204.00	497.60	7.00	14.70	0.60	0.51
1119	109.02	79.30	218.18	585.30	5.50	8.70	0.33	0.45
1084	106.62	105.80	386.40	789.10	6.40	8.60	0.33	0.33
1035	80.52	63.80	298.50	481.50	5.30	12.40	0.39	0.60
975	116.42	81.10	199.00	541.30	5.40	11.70	0.30	0.45
1019	269.22	73.80	479.40	843.30	4.00	10.40	0.09	0.51
127	145.02	52.60	246.20	425.40	4.40	13.50	0.24	0.72
平均值	118.02	74.53	275.39	579.88	5.71	11.69	0.36	0.51

试验结果(表1)表明,大丽轮枝菌(*Verticillium album-atrum*)侵染棉花植株以后会引起体内一系列生化指标的变化。在棉花植株发病期间,同一品种(系)的感病和不感病植株相比较,膜脂过氧化水平和POD活性明显增高。就SOD活性的变化而言,抗病品种的感病株活性略强,感病品种的健康植株的活性明显高于感病植株。对可溶性蛋白质含量来说,抗病品种的健康植株的含量高于感病植株;而感病品种则表现相反趋势。显著性测验结果说明,感病植株和健康植株之间,POD活性差异达极显著水平($|t|=10.283 > t_{0.01}=3.499$),膜脂过氧化水平差异达极显著水平($|t|=7.424 > t_{0.01}=3.499$),SOD活性变化和可溶性蛋白质含量差异不显著。

2.2 抗病品种和感病品种间的差异

表2 不同抗性棉花品种(系)生化指标差异比较

抗病类型	SOD 活性 (酶单位·mg pro ⁻¹ ·min ⁻¹)	POD 活性 (酶单位·mg pro ⁻¹ ·min ⁻¹)	MDA 含量 (μmol/gFW)	可溶性蛋白质含量 (mg/gFW)
抗病	64.38	337.13	6.75	0.57
感病	110.31	439.33	7.23	0.41

从表 2 可见,在棉花发病期,品种的抗病程度不同,SOD、POD 活性变化及膜脂过氧化化的水平也存在着差异。感病品种较抗病品种膜脂过氧化水平、SOD 和 POD 活性高,但可溶性蛋白质含量低于抗病品种,这些变化与抗病品种内感病植株和健康植株的变化趋势是一致的。对 SOD、POD 和 MDA 与田间病情指数作相关分析发现,SOD 活性和膜脂过氧化水平与病指之间存在着正相关关系,POD 活性与病指呈负相关关系,但相关均未达到显著水平。

2.3 不同抗病类型品种健株和感病株的差异

表 3 不同抗病类型棉花品种(系)健株和感病株之间
SOD 和 POD 活性及 MDA 和蛋白质含量差异比较

抗病类型	SOD 活性 (酶单位·mg pro ⁻¹ ·min ⁻¹)		POD 活性 (酶单位·mg pro ⁻¹ ·min ⁻¹)		MDA 含量 (μmol/gFW)		可溶性蛋白质含量 (mg/gFW)	
	健株	病株	健株	病株	健株	病株	健株	病株
抗病	58.85	69.90	187.70	486.55	7.35	14.10	0.62	0.53
感病	152.80	67.83	305.78	572.88	4.78	12.00	0.26	0.57

表 3 的结果表明,在不发病的情况下,感病品种的 SOD 和 POD 活性明显高于抗病品种,而膜脂过氧化水平和可溶性蛋白质含量明显低于抗病品种。植株感病后,感病品种比抗病品种 POD 活性强,而 SOD 活性、膜脂过氧化水平及可溶性蛋白质含量两种类型表现相近。

2.4 品种的抗性与病害侵染的适应反应

表 4 不同抗性材料对病害侵染反应的敏感度比较(绝对值)

抗病类型	SOD 活性 (酶单位·mg pro ⁻¹ ·min ⁻¹)	POD 活性 (酶单位·mg pro ⁻¹ ·min ⁻¹)	MDA 含量 (μmol/gFW)	可溶性蛋白质含量 (mg/gFW)
抗病	11.05	298.85	6.75	-0.09
感病	-84.97	267.10	7.23	0.32

从表 4 可以看出,病菌侵染后,抗病品种和感病品种 POD 活性都明显增加,而 SOD 活性和可溶性蛋白质含量感病品种比抗病品种变化幅度明显,膜脂过氧化水平变幅也略高。这说明病害会引起细胞膜结构的破坏,同样也刺激细胞酶性保护系统功能增强。同时,感病品种对病菌的侵染比抗病品种的反应更加明显。

3 讨论

本试验结果表明,不同抗病类型的棉花品种或同一品种的感病和健康植株,叶片组分的 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的增强,发病植株的 POD 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。

从植株感染病菌后引起体内酶活性变化分析,POD 对病菌的侵染更加敏感。不同抗黄萎病类型和同一品种内健康和感病植株 POD 活性变化和膜脂过氧化水平表现出一致的趋势。

同一材料内 SOD 活性变化健康植株与感病植株表现趋势相反。这与 POD 活性变化趋势不同。不同抗枯萎病类型棉花品种 SOD、POD 活性研究结果^[6]表明,同一品种内感病植株和健康植株之间 POD 活性变化和膜脂过氧化水平与本研究呈现一致趋势,而 SOD 活性和可溶性

蛋白质含量与本研究结果不同。棉花枯萎病和黄萎病都是通过根系侵染的,但由于两者病原菌不同,其侵染后对植株危害所引起的一系列生化物质变化也存在着差异,对以上结论不一致的原因还有待于进一步探讨。

陆地棉不同抗性的品种对过氧化物酶活性表现出规律性变化。抗病性强,酶活性低;抗病性弱,酶活性高。因此可以利用过氧化物酶活性差异作为陆地棉早期鉴定抗病性的可靠生化指标。对其区分抗性的量化值有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 李玉奎. 棉花抗黄萎病研究进展. 世界农业, 1990, 12: 25~26
- 2 刘鸿光等. 低温对杂交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
- 3 靳华芬等. 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
- 4 王振镒等. 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): 15~49
- 5 刘鸿光等. 低温对不同耐寒力的黄瓜幼苗子叶各细胞中超氧化物歧化酶的影响. 植物生理学报, 1985, 11(1): 48~57
- 6 李妙等. 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. 华北农学报, 1993(增刊): 119~122.
- 7 Giannopolitis CN et al. Superoxide dismutase. I Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedling. Plant Physiol, 1977, 59: 315~318
- 8 张敬贤等. 玉米细胞保护酶活性对苗期干旱的反应. 华北农学报, 1990, 5(增刊): 19~23
- 9 Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 1976, 72: 248
- 10 Heath RL. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys, 1968(125): 189~198

Analyses of Biochemical Characteristics in Cotton Leaves Infected by *Verticillium dahliae* Kled

Li Junlan Li Miao Zhai Xunjun Li Zhishu Wang Guoyin

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

Huang Gunocun Cui Siping

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

Abstract At the most serious disease period under the field condition, four biochemical traits in leaves of cotton with different resistance to *Verticillium dahliae* and the traits between infected and intact plants in the same cultivars were studied. The results indicated that the disease-resistant cultivars displayed weak SOD and POD activities, low membrane lipid peroxidation and high soluble protein content. The sensitive cultivars showed the contrary results. In the same disease-sensitive cultivars, as compared with the intact plants, the infected plants showed higher POD activities and membrane lipid peroxidation. On the average, SOD activity was higher and soluble protein content was lower in intact plants. The results were also indicated that the rised extent of POD activities were large whatever in resistant or susceptible cultivars. The change extent of SOD activities in resistant cultivars was gently, but in susceptible cultivars largely.

Key Words: *Gossypium hirsutum*; *Verticillium dahliae*; Superoxide dismutase; Peroxidase; Membrane lipid peroxidation; Soluble protein content