

文章编号: 1005-0906(2005)01-0077-02

玉米在诱导抗病过程中丙二醛 (MDA) 含量的变化

翟彩霞^{1,2}, 马春红¹, 王立安², 陈霞³, 郭秀林¹, 崔四平¹, 李广敏³

(1.河北省农林科学院遗传生理研究所, 石家庄 050051; 2.河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050016;

3.河北省农林科学院, 石家庄 050051)

摘要: 用不同低浓度玉米小斑病菌 T 毒素培养滤液处理玉米叶片, 检测玉米叶片中 MDA 含量变化。结果表明, 以 1:40 的低浓度 T 毒素预处理的效果最好。96 h 的动态测试中, MDA 含量较对照平均下降 43.8%, 从而说明低浓度 T 毒素培养滤液本身能够作为激发子来诱导玉米的系统获得性抗性。

关键词: 玉米小斑病菌 T 小种; 毒素培养滤液; 丙二醛

中图分类号: S513.01

文献标识码: A

The Changes of Malondialdehyde Concentration on Course of the Induced Disease-resistance

ZHAI Cai-xia^{1,2}, MA Chun-hong¹, WANG Li-an², et al.

(1. Institute of Genetics and Physiology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, China; 2. College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China)

Abstract: The paper summarizes the leaves of maize were dealt with the low consistence filtration of *Bipolaris maydis* race T toxin whose Malondialdehyde content is low. the disposal effect of 1:40 filtration of *Bipolaris maydis* race T toxin is the best and during 0-96h inspecting, Malondialdehyde content decreased 43.8% in compared with CK. Accordingly, it is accounted that the low consistence filtration of *Bipolaris maydis* race T toxin may be used as elicitors which enhances the disease resistance of maize.

Key words: *Bipolaris maydis* race T; The filtration of toxin; Malondialdehyde

自人类开始种植农作物以来, 病原菌引起的病害一直是育种学家及科学工作者关注的焦点。玉米小斑病和大斑病是玉米生产上的重要病害。1970 年美国由于玉米小斑病菌 T 小种大流行, 造成当年玉米总产量损失 15%。经过 10 多年的努力, 科学家们已阐明了玉米小斑病菌 T 小种毒素的结构和这种专化侵害作用的机理。T 细胞质雄性不育植株不仅对玉米小斑病菌 T 小种高度感染, 而且对 T 毒素很敏感。目前, 采用低浓度玉米小斑病菌 T 毒素培养

滤液处理玉米叶片, 诱导提高玉米对小斑病的抗性未曾见报道。本研究用玉米小斑病菌 T 小种低浓度毒素培养滤液作为激发子处理玉米叶片后研究对其 MDA 含量的影响。

1 材料与方法

1.1 供试材料

玉米同核异质不育系 TC103 及其保持系 NC103、玉米小斑病菌 T 小种均由河北省农科院遗传生理研究所作物抗逆中心提供。

1.2 玉米幼苗的培养

种子用 0.1% HgCl₂ 消毒 5 min, 蒸馏水反复冲洗, 在 28℃ 恒温培养箱中浸泡吸水 24 h, 25℃ 中催芽, 待胚根长至 1 cm 左右, 选取生长一致的子粒种于花盆中土培。苗期在 28℃ 条件下, 每日光照 12 h 培育到 3 叶 1 心期时备用。

收稿日期: 2004-04-20

基金项目: 河北省农林科学院发展研究项目(A03-2-1-14)和河北省自然科学基金资助项目

作者简介: 翟彩霞(1977-), 女, 河北张家口人, 在读硕士研究生, 主要从事玉米抗病生理的研究工作。 Tel: 0311-7652128 013933176704 E-mail: zhaizhaicaixia@etang.com 马春红和李广敏为本文通讯作者。

1.3 T毒素(HMT)的培养及毒素滤液的制备

将玉米小斑病菌 T 小种接种于 Fries 培养液中,25℃培养 15~20 d。培养液通过滤纸抽滤过滤,将粗毒素滤液保存在 4℃冰箱内备用。方法见本文后参考文献。

将 HMT 毒素滤液用无菌水稀释配制成一系列的浓度梯度(1:10,1:20,1:30,1:40,1:45,1:50),并分别检测其活性(采用离体叶片法)。

1.4 粗毒素滤液活性检测方法

用一系列不致病的低浓度 HMT 毒素滤液分别处理 4 叶期玉米的第 3 叶片,即用其涂在玉米的叶背,连续涂 2 d,用蒸馏水处理作为对照。2 d 后分别把相应处理的同部位叶片剪为大小一致的三段,置于铺有湿滤纸的 12 cm×12 cm 的培养皿内,并接高浓度毒素(1:20)后放入人工气候培养箱内(27℃),光照 12 h 的条件下培养 5 d,观察并数病斑数。

1.5 MDA 的提取和检测

参考中国科学院上海植物生理研究所和上海市植物生理学会编写的《现代植物生理学实验指南》。

2 结果与分析

2.1 采用离体叶片法检测各浓度梯度的毒素滤液的活性

经稀释为 1:10、1:20、1:30 玉米小斑病菌 T 小种毒素滤液处理 TC103 与 NC103 玉米叶片后,毒素表现出较强的专化性。T 细胞质玉米叶片的病斑一般在 22 个以上,病斑类型为萎蔫型并连成一片;而 N 细胞质玉米叶片最多为 12 个小病斑,病斑类型为坏死型,并不连在一起。经稀释为 1:40、1:45、1:50 的 T 毒素滤液处理叶片后并不表现出较强的专化性,即 T 与 N 细胞质之间叶片表现的抗病性无显著差异,病斑少且小,约 5 个左右,面积为 0.09~1 mm²。根据以上结果本实验便采用稀释为 1:40、1:45、1:50 低浓度玉米小斑病菌 T 小种毒素滤液作为诱导和提高玉米抗病的激发子。

2.2 丙二醛(MDA)含量测定

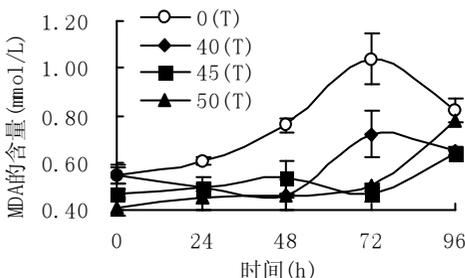


图 1 低浓度 T 毒素(培养滤液)处理 T 细胞质玉米叶片后再接高浓度滤液时 MDA 含量变化

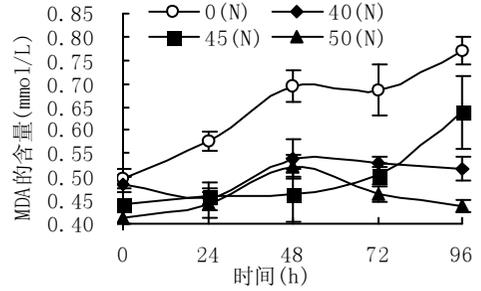


图 2 低浓度 T 毒素(培养滤液)处理 N 细胞质玉米叶片后再接高浓度滤液时 MDA 含量变化

如图 1 所示:在 0~96 h 内, TC103 叶片中 MDA 的含量均低于同类叶片未经低浓度预处理的对照。1:40 (T) 组的 MDA 含量,0 h 与对照相差了 0.58%,24 h 与对照相差了 34.54%,48 h 与对照相差了 39.22%,72 h 与对照相差了 30.87%,96 h 与对照相差了 20.55%。以上证实,低浓度 T 毒素滤液对 T 细胞质玉米叶片起到了抑制自身有害物质产生的病理过程,从而提高了抗病能力。本试验以 1:40 的低浓度 T 毒素预处理的效果最好。在 96 h 的动态测试中,MDA 含量较对照平均下降 43.8%。低浓度 T 毒素液预处理诱导抗病性在 N 细胞质玉米叶片中虽也有作用,但不明显(图 2)。MDA 含量下降,说明低浓度 T 毒素滤液可以启动某些与抗性相关的基因,使玉米对小斑病的抗性增加,从而减少有害物质 MDA 的合成。

3 结论与讨论

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的最终产物,是反映膜损伤程度的重要生化指标之一。MDA 对细胞有毒性,能够引起细胞膜功能紊乱,且对许多功能分子有破坏作用,因此,MDA 含量增加是植物细胞损伤的直接原因。在本实验中,丙二醛的含量减小,因而可减少膜脂过氧化作用对细胞的伤害,从而提高植物对病害的抗逆能力。植物受到病原物侵染后,感病品种的 MDA 含量会升高;而抗病品种的 MDA 含量会相应低一些或是保持在一个比较平稳的水平。同时 MDA 含量也能反映植株叶片中 SOD、POD 的活性。如果某些植株在病原物侵染后叶片中 MDA 含量较另一些植株低,则相应的 SOD、POD 的活性较高,膜脂过氧化作用较弱,膜的损伤程度就较小,说明这些植株对此病原物的抗性较强。

本实验植株水平上以玉米叶片对小斑病菌的抗性鉴定作为宏观依据。多次重复证实,低浓度 T 毒素滤液预处理 TC103 叶片,可以诱导对 T 毒素液的抗性。与此同时,经多次重复,包括本实(下转第 82 页)

(上接第 78 页) 验在内我们测定了叶片内 MDA 含量的动态变化(图 1 和图 2), 表明凡被低浓度 T 毒素液预先激活了抗性的 T 细胞质叶片, 则有害物质 MDA 含量随之减少。因此, 本实验直接提供了叶片内部所产生的生化反应与叶片表面的抗性病理反应相吻合的直接证据。由于 T 毒素对 T 细胞质起专化毒害作用, 故在实验中对 N 细胞质用 T 毒素液低浓度预处理, 则不能起预处理的抗性诱导作用是必然的结果。

值得注意的是, 迄今为止, 未见选育出抗 T 小种的 T 细胞质的报道; 实践证实, 人们也难于用任何手段可以防治 T 小种或 T 毒素对 T 细胞质的危害。本实验通过 T 毒素预处理, 可以激活、诱导 T 细胞质对 T 毒素的抗性, 预示着在非专化病害的领域用毒素诱导植物抗性也将有更广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 董汉松. 植物诱导抗病性——原理和研究[M]. 北京: 科学出版社, 1995. 109.
- [2] 刘克明, 魏建昆, 崔汝镜. 不同类型雄性不育细胞质对我国玉米小斑病菌侵染的反应及其利用前景[J]. 华北农学报, 1986, 1(1): 33-40.
- [3] 朱小阳, 吴全安, 等. 我国玉米小斑病的生理小种类型及其分布概况的研究[J]. 作物学报, 1990, 16(2): 186-189.
- [4] 王立安, 马春红, 赵俊霞, 等. HMC-毒素对 C 型不育玉米根冠细胞原生质体及微丝分布的影响[J]. 植物病理学报, 2003, 33(3):

225-228.

- [5] 王立安, 赵俊霞, 马春红, 魏建昆. 玉米根冠脱落细胞中微丝分布的荧光显微观察(简报)[J]. 实验生物学报, 2003, 36(2): 149-154.
- [6] 郝丽梅, 马春红, 等. 玉米小斑病菌 C 小种毒素提纯新方法(简报)[J]. 河北农业科学, 2001, 5(1): 31-32.
- [7] 郝丽梅, 马春红, 等. 致病真菌与植物寄主相互作用关系的若干研究进展[J]. 河北农业科学, 2001, 5(2): 71-76.
- [8] 马春红, 魏建昆, 李广敏, 等. 玉米小斑病菌 T、C、O 三个小种复壮的研究初探. 植物病理学研究进展(第五卷)[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2003. 170.
- [9] 陈颖, 王立安, 等. 不同培养基对玉米小斑病生长繁殖及致病力的影响[J]. 河北师范大学学报(自然科学版), 2003, 27(2): 192-194.
- [10] 郝丽梅, 王立安, 等. 玉米小斑病菌 C 小种快速复壮的一种新方法[J]. 华北农学报, 2002, 17(2): 144.
- [11] 崔洋, 刘克明, 魏建昆, 等. 玉米小斑病 C 小种毒素的分离、纯化及其病理反应[J]. 植物病理学报, 1991, 21(3): 187-191.
- [12] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(2): 84-90.
- [13] 翟彩霞, 马春红, 李广敏, 等. 抗病激发子在诱导植物抗病性中的应用[J]. 华北农学报, 2003, 18(增刊): 58-61.
- [14] 胡哲森, 许长钦, 傅瑞树. 锥栗幼苗对水分胁迫的生理响应及 6-BA 的作用[J]. 福建林学院学报, 2000, (20).
- [15] 陈建国, 秦泰辰, 邓德祥, 等. 玉米对小斑病 T 小种抗性的遗传模型分析[J]. 玉米科学, 2001, 9(4): 70-72.
- [16] 刘克明, 王连生, 刘玉瑛, 等. 我国玉米小斑病菌生理小种研究进展[J]. 玉米科学, 1995, 3(增刊): 16-18.
- [17] 秦泰辰, 陈建国. 感染小斑病的玉米植株中过氧化物酶活性及同工酶的变化[J]. 玉米科学, 1993, (2): 67-69.