

文章编号 :1003-8701(2014)02-0057-04

# 串珠镰刀菌诱导玉米活性氧及保护酶系变化研究

娄喜艳<sup>1</sup>,张红岩<sup>2</sup>,张鑫<sup>3</sup>

(1. 商丘工学院园林工程技术教研室,河南 商丘 476000;2. 商丘师范学院体育学院,河南 商丘 476000;  
3. 商丘师范学院生命科学学院/植物与微生物互作重点实验室,河南 商丘 476000)

**摘要:**以不同抗病品种(BT-1)、感病品种(N6)的玉米幼苗为材料,研究了在串珠镰刀菌诱导下玉米幼苗 POD、SOD 活性、 $O_2^{\cdot-}$  产生速率以及 MDA 的含量变化。结果表明,接种后  $O_2^{\cdot-}$  产生速率和 MDA 的含量增大,抗病品种均高于感病品种,抗病品种的  $O_2^{\cdot-}$  产生的速率峰值出现早且高,接种 36 h 达到高峰,且是对照的 5.8 倍;抗病品种 SOD 酶活性变化明显,且高于感病品种;接种后 POD 活性增加,感病品种活性增幅高,高于抗病品种。说明抗感玉米品种接种串珠镰刀菌后,相关酶活性的变化与活性氧的产生存在着明显的差异,这种变化在一定程度上反映了抗感玉米植株在病原菌胁迫下其不同的调节机制。

**关键词:**玉米;串珠镰刀菌;保护酶;活性氧

中图分类号:S513.01

文献标识码:A

## Changes of Active Oxygen and Protective Enzymes in Maize induced by *Fusarium moniliforme*

LOU Xi-yan<sup>1</sup>, ZHANG Hongyan<sup>2</sup>, ZHANG Xin<sup>3</sup>

(1. Teaching and Researching Office of Landscape Engineering Technology, Shangqiu Institute of Technology, Shangqiu 476000; 2. Department of Physical Education, Shangqiu Normal College, Shangqiu 476000; 3. Key Laboratory of Plant-Microbe Interactions, Department of Life Science, Shangqiu Normal College, Shangqiu 476000, China)

**Abstract:** Using resistant maize 'BT-1' and sensitive maize 'N6' as materials,  $O_2^{\cdot-}$  production rate, MDA content, POD and SOD activity in maize seedlings were measured after induced by *Fusarium moniliforme*. The results showed that  $O_2^{\cdot-}$  production rate and MDA content increased after inoculation, and they were higher in resistant cultivars higher in sensitive cultivars. The peak of  $O_2^{\cdot-}$  production rate in resistant cultivars appeared early and high, which reached its maximum at 36 h, being 5.8 times of control. Changes of SOD activity were apparent in resistant cultivars and higher than sensitive cultivars. POD activity was increased after inoculation, but higher in sensitive cultivars than resistant cultivars. It was suggested that protective enzymes and active oxygen appeared apparent differences in resistant and sensitive cultivars after inoculation by *Fusarium moniliforme*, the changes may reflect the different regulatory mechanisms in resistant and sensitive maize induced by pathogen.

**Keywords:** Maize; *Fusarium moniliforme*; Protective enzymes; Active oxygen

串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)是引起玉

米穗粒腐病的主要致病病原菌之一。研究串珠镰刀菌引起不同抗感品种玉米体内保护酶活性及活性氧等的变化可加深对玉米穗粒腐病抗性生理生化机制的理解。保护酶中过氧化物酶 POD、SOD 与植物的抗病性密切相关<sup>[1-3]</sup>。 $O_2^{\cdot-}$  产生速率与丙二醛的含量则反映了病原菌侵染后活性氧的累积,

收稿日期:2013-08-31

基金项目:国家自然科学基金(31071807);河南省教育厅科技项目(13B210199)

作者简介:娄喜艳(1984-),女,讲师,硕士,从事植物生理学教学与研究工作。

是植物病原菌互作早期发生的重要事件之一<sup>[4]</sup>。本试验以串珠镰刀菌侵染不同抗感性玉米品种的幼苗,对 POD、SOD 活性,MDA 含量及  $O_2^{\cdot-}$  的产生速率进行检测,阐明了玉米对串珠镰刀菌的抗性生理生化机理,为玉米抗性品种的筛选、鉴定提供一定的理论基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试菌株

串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)由植物与微生物互作河南省高校重点实验室保存。

### 1.2 玉米品种

N6(感病品种)、BT-1(抗病品种)玉米种子由河南农业大学农学院提供。

### 1.3 研究方法

#### 1.3.1 幼苗的培育

在灭菌土壤中施适量有机肥料,拌匀,盛于小花盆中,每盆播种 3 粒,每个品种种 6 盆,置于大棚中,出苗后常规管理,待用。

#### 1.3.2 菌种活化

将菌种先在固体 PDA 培养基上培养,然后置于显微镜下做形态观察鉴定,挑取 1 cm 大小的菌块于 PDA 液体培养基中,振荡培养 7 d。

#### 1.3.3 接种处理

供试玉米幼苗长至 5~6 片真叶时,用浓度为  $2 \times 10^4$  spores/mL 的串珠镰刀菌孢子悬浮液对玉米幼苗进行伤根接种。接种病菌前,在幼苗的一侧,距根 1 cm 处用刀划 3~5 cm 深沟断根,使根部受到充分破坏,在断根侧灌注菌液,每株 20 mL。对照组以清水作同样处理。处理后的玉米幼苗置于温室内培养,温度 25℃,相对湿度 80%。

#### 1.3.4 采样

分别在接种后 1 d、2 d、3 d、5 d、7 d 和 9 d 取玉米第 5、6 片真叶。

#### 1.3.5 生理指标的测定

酶液的提取:称取玉米叶片 2 g 于预冷的研钵内,加入 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.8)定容至 10 mL,冰浴研磨成匀浆,4℃,10 000 r/min,离心 15 min,上清为酶提取液。

SOD 酶活性的测定:SOD 活性的测定采用 NBT 法<sup>[5]</sup>。

POD 活性的测定:POD 活性的测定采用愈创木酚法<sup>[6]</sup>。

MDA 含量的测定:参照高俊凤的方法<sup>[7]</sup>,加以改进。

$O_2^{\cdot-}$  产生速率的测定:参照王爱国和罗光华<sup>[8]</sup>的方法,加以改进。

蛋白质浓度的测定:参照 Bradford<sup>[9]</sup>的方法。

## 2 结果与分析

### 2.1 玉米幼苗对串珠镰刀菌的抗感病症

接种串珠镰刀菌,2 个玉米品种所表现出的症状不同。N6 玉米叶片出现萎蔫、黄化的症状较早,程度较严重,诱导 2 d 出现轻微的黄化现象,第 5 天黄化程度严重,第 8 天叶片萎蔫;BT-1 玉米出现症状晚且程度轻,8 d 后开始有黄化。

### 2.2 玉米幼苗 POD 活性的变化

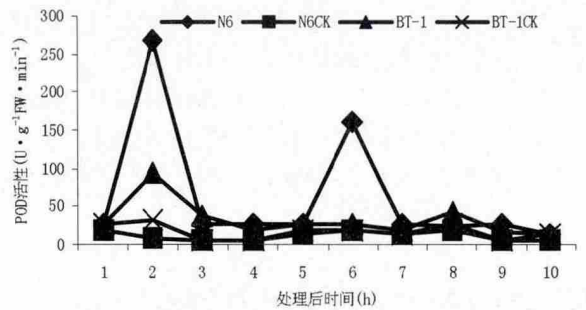


图 1 串珠镰刀菌接种后抗、感玉米品种叶片中 POD 活性的时序变化

从图 1 可知,N6 感病品种 POD 活性接种后 12 h、60 h 出现 2 个峰值,接种 12 h,POD 活性最高,是对照的 20 倍。BT-1 抗病品种 POD 活性在接种 12 h 达到 1 个峰值。整个过程中,抗、感品种 POD 活性均高于对照,但感病品种中 POD 活性增幅高于抗病品种。

### 2.3 玉米幼苗中 SOD 活性的变化

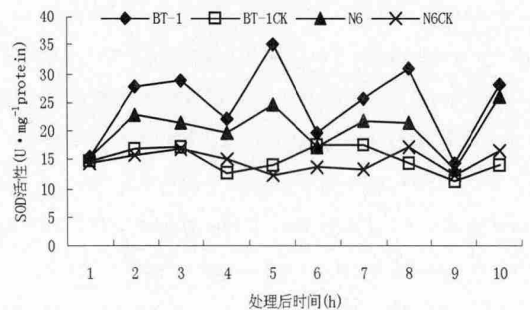


图 2 串珠镰刀菌接种抗、感玉米品种叶片中 SOD 活性的时序变化

从图 2 可以看出,接种串珠镰刀菌玉米幼苗中 SOD 活性的变化发生在整个诱导阶段。BT-1 抗病品种接种后,SOD 活性增加,于 21h 达到一个峰值后下降,随后于 45 h、108 h、204 h 分别达到峰值,N6 感病品种 SOD 活性的变化趋势与

抗病品种一致,抗感品种接种后 SOD 活性均高于对照。

## 2.4 MDA 含量变化

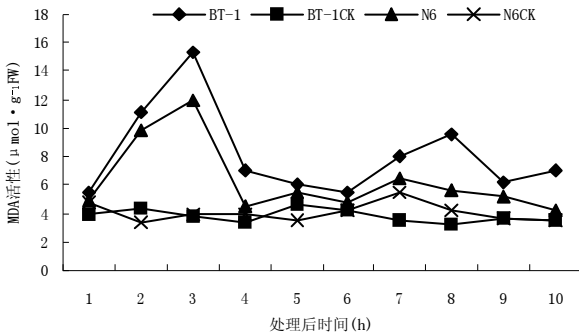


图3 串珠镰刀菌接种后抗、感玉米品种叶片中 MDA 含量的时序变化

MDA 即丙二醛,是膜脂过氧化的产物,具有细胞毒性,是最常用的膜脂过氧化指标。图3表明,玉米叶片接种串珠镰刀菌后,BT-1 抗病品种叶片中 MDA 的含量增加,于 21 h 和 108 h 达到两个峰值,抗病品种中 MDA 的含量高于感病品种,且抗感品种 MDA 含量均高于对照。

## 2.5 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生速率的变化

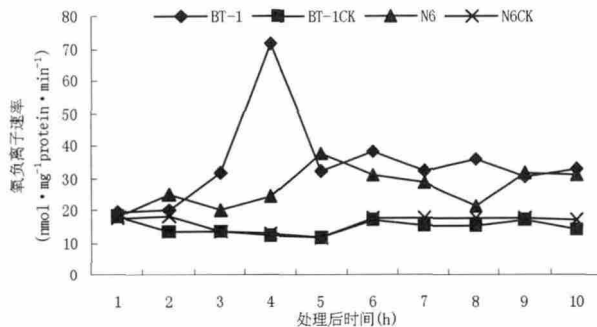


图4 串珠镰刀菌接种后抗、感玉米品种叶片中 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生的速率变化

由图4可知 BT-1 抗病品种接种串珠镰刀菌 36 h,玉米叶片 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生速率达到一个高峰,是对照的 5.8 倍,之后速率下降,但维持在一个较高的水平。N6 感病品种接种后 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生速率逐渐上升,但升幅不大;抗感品种 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生速率均高于对照。

## 3 讨论

植物与病原菌互作过程中,病原菌可引起植物体内病组织或邻近组织中活性氧含量的改变<sup>[10]</sup>。而植物体内存在着一套清除活性氧的保护体系,其中保护酶在活性氧的清除中起重要作用<sup>[4]</sup>。已有大量研究表明寄主植物受病原物侵染后体内相关酶

活性的变化与植物抗病性具有一定的相关性,特别是 SOD、POD 等保护酶在植物的抗病过程中起着重要的作用。

本研究对不同玉米品种感染串珠镰刀菌病菌后体内 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生的速率、MDA 含量、POD 和 SOD 活性进行了测定,结果表明:(1)串珠镰刀菌诱导后,BT-1 抗病品种的 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生的速率峰值出现早且高,接种 36 h 达到高峰,且是对照的 5.8 倍,而 N6 感病品种 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生的速率于 45 h 达到一个较低的峰值,说明 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 在抗性材料中出现较早且速率高,快速的 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 的产生及随后被激活的防御反应,可有效抑制病原菌的侵染,使植株表现为抗性,这与以前研究结果一致<sup>[11]</sup>;(2)病原菌侵染植物产生的大量活性氧可直接攻击细胞膜系统中的不饱和脂肪酸,导致膜脂过氧化作用的发生<sup>[8]</sup>。MDA 是膜脂过氧化作用的产物,其含量表示脂类过氧化作用的程度。葛秀春等<sup>[12]</sup>在水稻与稻瘟病菌互作研究中发现 MDA 含量在水稻受稻瘟病侵染后明显上升,并且与品种抗性呈正相关。本研究结果表明串珠镰刀菌诱导后,BT-1 抗病品种叶片中 MDA 的含量增加,于 21 h 即达到最大峰值,且明显高于感病品种;(3)POD 是体内重要的内源活性氧清除剂,同时 POD 还有参与木质素的聚合、限制病原菌的侵染和扩展的作用。多数研究表明,植物受病原物侵染后,POD 活性明显升高<sup>[13]</sup>。本研究中感病品种 POD 活性波动明显,且活性上升早、增幅高;而抗病品种 POD 活性增幅较小,维持在一个较低的水平,这与 Ge 等<sup>[14]</sup>研究结果相似;(4)SOD 具有清除自由基,保护蛋白质、细胞膜免受活性氧毒害的作用。在串珠镰刀菌的诱导下,玉米幼苗中 SOD 活性明显变化,BT-1 抗病品种接种后,SOD 活性增加,于 21 h 达到一个峰值后下降,随后于 45 h、108 h、204 h 分别达到峰值,N6 感病品种 SOD 活性的变化趋势与抗病品种一致,但活性相对要低。

综上所述,在串珠镰刀菌诱导下抗感品种玉米幼苗中酶活性及其他生物物质的变化趋势不同,2 种不同组合中 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 产生速率、MDA 含量、POD 和 SOD 活性均发生了不同程度的变化。抗病品种中 O<sub>2</sub><sup>·-</sup>、MDA 含量及相关酶的活性通常高于感病品种,最终诱发了一系列抗病防御反应。本研究结果对于玉米品种抗病性鉴定以及玉米抗病育种有一定的参考价值。

参考文献:

[1] 田秀明,杜利峰.棉花对枯萎病的抗性与过氧化物酶活性

- 的关系[J]. 植物病理学报, 1991, 21(2): 94-98.
- [2] 田雪亮, 孔凡彬, 郎剑锋, 等. 串珠镰刀菌毒素对玉米幼苗根系保护性酶活的影响[J]. 湖北农业科学, 2012(20): 4517-4519.
- [3] 袁广胜, 赵茂俊, 张志明, 等. 串珠镰刀菌引起玉米穗粒腐病防御酶变化及其电镜观察[J]. 植物病理学报, 2011, 41(4): 385-392.
- [4] 王晨芳, 黄丽丽, 张宏昌, 等. 小麦-条锈菌互作过程中活性氧及保护酶系的变化研究[J]. 植物病理学报, 2009, 39(1): 52-60.
- [5] El-Moshaty IB, Pike SM, Novacky A J, et al. Lipid peroxidation and superoxide production in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco ring-spot virus or southern bean mosaic virus[J]. Physiol.Mol.Plant Pathol, 1993(43): 109-119.
- [6] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [7] 高俊凤. 植物生理实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000.
- [8] 王爱国, 罗光华. 植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(6): 55-57.
- [9] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal Biochem, 1976(72): 248-254.
- [10] 翟彩霞, 马春红, 秦君, 等. 植物诱导抗病性的常规鉴定-相关酶活性变化与诱导抗病性的关系[J]. 中国农学通报, 2004, 20(5): 222-224.
- [11] 裴冬丽, 丁锦平, 张庆琛, 等. 核黄素诱导番茄幼苗抗白粉菌机理研究[J]. 河南师范大学学报, 2012(5): 121-124.
- [12] 葛秀春, 宋凤鸣, 郑重. 膜脂过氧化与水稻对稻瘟病抗性的关系[J]. 浙江大学学报, 2000, 26(2): 254-258.
- [13] 曾水三, 王振中. 豇豆与锈菌互作中的多酚氧化酶和过氧化物酶活性及其与抗病性的关系[J]. 植物保护学报, 2004, 31(2): 145-150.
- [14] 葛秀春, 宋凤鸣, 郑重. 稻瘟病感染后水稻幼苗活性氧的产生与抗病性的关系[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2000, 26(3): 227-231.

(上接第 53 页)

#### 参考文献:

- [1] 董金皋, 李洪边, 王建明, 等. 农业植物病理学(北方本)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 408-411.
- [2] 李宝聚. 2008 年我国北方黄瓜霜霉病大流行[J]. 中国蔬菜, 2008(10): 55-56.
- [3] 甘吉元, 甘国福. 日光温室黄瓜霜霉病成灾原因与对策[J]. 中国蔬菜, 2009(17): 28-29.
- [4] 朱书生, 袁善奎, 范洁茹, 等. 六种杀菌剂对黄瓜霜霉病菌不同发育阶段的影响[J]. 农药学报, 2005(2): 119-125.
- [5] 王文桥, 刘国镨, 严乐恩, 等. 黄瓜和葡萄霜霉病菌对不同内吸杀菌剂的交互抗性[J]. 植物保护学报, 1996(1): 84-88.
- [6] 叶雪珠, 赵燕申, 王强, 等. 蔬菜农药残留现状及其潜在风险分析[J]. 中国蔬菜, 2012(14): 76-80.
- [7] 杨谦. 植物病原菌抗药性分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 14-15.
- [8] 赵善欢, 慕立义, 吴文群, 等. 植物化学保护(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [9] 柏亚罗, 张晓进, 顾群. 专利农药新品种手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 125-129.
- [10] Cohen Y, Baidar A, Cohen B H. Dimethmorph activity against oomycete fungi plant pathogens [J]. Phytopathology, 1995, 85(12): 1500-1506.
- [11] 王岩, 冯明鸣, 刘西莉, 等. 黄瓜霜霉病菌不同发育阶段对烯炔菌酯的敏感性[J]. 中国农业科学, 2006(9): 1810-1816.
- [12] Sun Yun pei, Johnson E R. Analysis of joint action of insecticides against houseflies [J]. Economic Entomology, 1960, 53(4): 887-892.
- [13] 农业部农药检定所生测室. 农药田间药效试验准则 1 [M]. 北京: 中国标准出版社, 1994: 35-39.