

HMC 毒素培养滤液对专化寄主玉米叶片诱导抗病性 及相关酶的影响

商 闯^{1,2}, 贾银锁¹, 马春红¹, 董文琦³, 李运朝¹, 崔四平¹, 侯立白²

(¹河北省农林科学院遗传生理研究所, 石家庄 050051; ²沈阳农业大学农学院, 沈阳 110161; ³河北省农林科学院科技处, 石家庄 050051)

摘要: 【目的】研究 HMC 毒素培养滤液对玉米叶片诱导抗病性作用及抗病性相关酶的影响。【方法】以两对同核异质玉米自交系 (B37 和 C103) 为试材, 采用离体叶片法检测不同稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液对专化寄主玉米叶片的致病性, 从中筛选适宜诱导的有效浓度, 在诱导中和接种后两个阶段分别测定防御酶活性及与抗病性相关物质含量等生理指标。【结果】不同基因型与不同细胞质玉米都可以利用低浓度 HMC 毒素培养滤液诱导以增强其抗病性; 不同处理时期, 植物抗病性相关酶活性呈现不同的动态变化; 不同的诱导处理均导致抗病性反应的产生, 对 C 细胞质的预处理效果好于 N 细胞质, 且具有浓度效应。【结论】低浓度 HMC 毒素培养滤液预处理后, 刺激了 POD、PAL 酶活性提高和 MDA 含量下降, 以此来启动玉米本身的防卫系统, 因钝化作用而抑制侵染, 当再接种高浓度 HMC 毒素培养滤液后, 抗病性相关酶得到了进一步激活, 使 C 细胞质玉米对 HMC 敏感性降低, 从而玉米叶片呈现出抗病性。

关键词: 玉米小斑病菌 C 小种; 毒素培养滤液; 苯丙氨酸解氨酶; 过氧化物酶; 丙二醛

The Influence of Filtrated Culture Fluid of HMC Toxin on Inducing Disease-Resistance and its Related Enzymes in Specific Host Maize (*Zea mays* L.) Leaves

SHANG Chuang^{1,2}, JIA Yin-suo¹, MA Chun-hong¹, DONG Wen-qi³, LI Yun-chao¹, CUI Si-ping¹, HOU Li-bai²

(¹Institute of Genetics and Physiology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051;

²Faculty of Agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161; ³Department of Science and Technology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051)

Abstract: 【Objective】The influence of filtrated culture fluid of HMC toxin on inducing disease-resistance and its related enzymes in specific host maize (*Zea mays* L.) leaves was studied. 【Method】The various pathogenicities were detected by the detached leaf method on the specific host maize leaves of two pairs of homokaryon (B37 and C103) inbred lines to search effective dilution factor for inducing, and changes of disease resistance-related enzymes were measured after inoculation. 【Result】The disease resistance was enhanced in different genotypes and cytoplasm induced by low concentration filtrated culture fluid of HMC toxin, the effect on C cytoplasm was higher than that on the N cytoplasm. Activities of disease resistance-related enzymes showed dynamic changes in different periods, and influences of disease-resistance were led by the different concentrations. 【Conclusion】POD and PAL activity were increased and MDA content was decreased after pretreatment with filtrated culture fluid (1 : 50 or 1 : 60) of HMC toxin in order to start up maize defense system for itself. It played as a passivation to restrain the HMC infection. After inoculating by high concentration filtrated culture fluid of HMC toxin, the disease resistance-related enzymes were activated further. So, the sensitivity of C cytoplasm to HMC was reduced and disease resistance was represented.

收稿日期: 2007-12-05; 接受日期: 2008-01-11

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (C2006000744); 国际科技合作资助项目 (2006DFB02480); 河北省科学技术研究与发展计划项目 (07297162D); 农业部 948 资助项目 (2008-Z20)

作者简介: 商 闯 (1982—), 男, 辽宁鞍山人, 硕士研究生, 研究方向为植物抗病生理。E-mail:sc-1982@163.com。通讯作者马春红 (1968—), 女, 河北新乐人, 研究员, 研究方向为植物抗逆生理和遗传育种。E-mail: mchdonger@sohu.com

Key words: *Helminthosporium maydis* race C (HMC); Filtrated culture fluid of toxin; phenylalanine ammonialyase (PAL); Peroxidase (POD); Malondialdenvde (MDA)

0 引言

【研究意义】诱导抗性是利用致病菌，弱毒小种接种或用化学物质激发植物的防卫基因而达到防病的效果，在实践上已有很多成功的例子^[1-5]。植物诱导抗性的研究日益增多，诱导因子的筛选越来越广泛^[6]。诱导因子的研究包括生物诱导因子、非生物诱导因子等，它们都能诱导植物产生抗性^[7-9]。化学诱导因子的诱导抗性的研究国内外报道颇多。其中酚类物质是目前研究较广的化合物^[8]。生物诱导因子的研究始于 20 世纪 80 年代，随着对植物根际促生细菌和内生细菌的深入研究，研究者发现它们同样可以诱发植物的抗性，因而其业已成为植物病害生物防治研究的一个热点^[10]。在应用研究中，它被认为是发掘植物内在的抗性机制的一种新的病害治理对策。【前人研究进展】玉米小斑病是全世界普遍发生的病害之一。1970 年美国由于大面积连年使用 T 细胞质 (CMS-T) 玉米，引起玉米小斑病菌 T 小种大流行，给生产造成巨大损失^[11-12]。Smith 等^[13]首次报道了玉米小斑病菌中存在 T 和 O 两个生理小种。T 小种对 T 细胞质是专化的，其病害流行的决定因子为其病原菌所分泌的专化浸染 T 细胞质玉米的致病毒素 (HMT-toxin)^[14-15]，而 O 小种对雄性不育细胞质专化性很小或没有专化性。1988 年魏建昆等^[16]首次报道了中国存在玉米小斑病菌 C 小种，使生理小种增加到 3 个，引起了国内外植物病理学家和育种学家的广泛注意。随后国内又进一步从病理学^[17-19]、形态学^[20]、生理学^[21]和分子生物学^[22]等方面进行了比较系统的研究，均证明 C 小种是对 C 细胞质玉米专化浸染的生理小种，HMC 毒素属寄主专化毒素。大量研究表明，利用毒素可以简单易行地淘汰感病材料，筛选高抗的品系或品种。中国先后在玉米小斑病、小麦赤霉病、小麦根腐病、水稻白叶枯病、油菜菌核病和水稻麻斑病等病害的抗病育种中运用了这一方法，并取得了成功。【本研究切入点】一些研究表明，毒素不但可用于筛选抗病材料，而且在适当的施用剂量下，还可作为一种外源激发子来诱导抗性或促进植物生长。例如，麦根腐长蠕孢菌毒素高浓度抑制植物生长，低浓度却促进叶鞘和根伸长；壳梭孢菌毒素对胡萝卜、豌豆等有增加细胞分裂的作用等。马春红等^[23]首次利用低浓度 HMT 毒素培养滤液作为

激发子预处理，成功地诱导了 T 细胞质对 T 小种的抗性，但能否利用低浓度 HMC 毒素培养滤液作为激发子诱导 C 细胞质对 C 小种的抗性尚无报道。【拟解决的关键问题】本试验研究了低浓度 HMC 毒素培养滤液对不同基因型和不同细胞质玉米抗病性的诱导作用，以及在抗病性产生过程中抗病性相关酶的变化规律，以期今后 HMC 的防治提供理论依据和有效途径。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试品种：玉米材料基因型为 B37 的 C 型不育细胞质 (CMS-CB37) 及其同核保持系 NB37，基因型为 C103 的 C 型不育细胞质 (CMS-CC103) 及其同核保持系 NC103。供试菌种：玉米小斑病菌 C 小种 (HMC)。供试品种和菌种均由河北省农林科学院遗传生理研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 玉米幼苗的培养 选饱满玉米种子，用 0.1% HgCl₂ 消毒 5 min，蒸馏水反复冲洗后，在 28℃ 恒温培养箱中浸泡 24 h，26℃ 催芽 2 d，待胚根长至 1 cm 左右，选取生长一致的籽粒，播种于花盆中土培。培养温度 28℃，每天光照 12 h，用三叶一心期的幼苗作供试材料。

1.2.2 HMC 毒素培养滤液的制备 在 500 ml 三角瓶中装入 250 ml Fries 液体培养基，每瓶接种用打孔器打取直径 6 mm 的 HMC 菌片 4 个，恒温 25℃，黑暗静置培养 15~20 d。经 0.45 μm 微孔滤膜抽滤获得 HMC 毒素培养滤液，存储在 4℃ 冰箱内备用^[24-25]。

1.2.3 取样和处理 用无菌水按 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:100 和 1:200 浓度梯度稀释 HMC 毒素培养滤液，采用离体叶片法分别检测不同稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液的致病性^[23]，找出适宜诱导的有效浓度。以适宜诱导的有效浓度涂抹三叶一心期玉米第 3 完全叶片的叶背，用蒸馏水作对照，连续涂 3 d，测定诱导 1、2 和 3 d 后叶片内抗病性相关酶的变化。3 d 后又以离体叶片法再接种高致病浓度的 HMC 毒素培养滤液 72 h，测定接种 24、48 和 72 h 后叶片内抗病性相关酶的变化。

1.2.4 POD 活性测定 采用 Ye 等的方法，以每分钟

OD₄₇₀ 增加 0.001 所需酶量为一个酶活性单位 (U)^[26]。

1.2.5 PAL 活性测定 参照文献[23], 以 OD₂₉₀ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位 (U)。

1.2.6 MDA 含量测定 采用 TBA 比色法, 分别在 450、532 和 600 nm 下测吸光度值 (A), MDA 含量 = $6.45(A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450}$ ^[27]。

2 结果与分析

2.1 适宜诱导抗性的有效浓度的筛选

表 1 显示, 玉米叶片的感病性随 HMC 毒素培养

滤液浓度的降低而逐渐减轻。1 : 10~1 : 40 稀释倍数时, HMC 对 C 细胞质专化致病的 CB37 和 CC103 玉米叶片严重感病, 病斑数和病斑面积明显高于正常细胞质的 NB37 和 NC103, 滤液表现出较强的专化性; 1 : 50、1 : 60 稀释倍数时, 滤液失去了固有的对 C 细胞质的强致病性, C 细胞质与正常细胞质之间的感病程度几乎一致, 无显著差异; 而 1 : 100、1 : 200 稀释倍数时, C 细胞质和 N 细胞质玉米叶片均未感病, 表现与其对照一致。鉴于以上结果, 本试验采用 1 : 50、1 : 60 稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液诱导玉米抗病

表 1 不同稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液对两对同一基因型不同细胞质玉米叶片感病的影响

Table 1 Influence on disease sensitivity of two pair of maize leaves in homokaryon B37 and C103 inbred lines treated by various dilution filtrated culture fluid of HMC toxin

稀释倍数 Dilution factor	致病病斑数 Number of lesion				致病病斑面积 Area of lesion (mm ²)			
	CB37	NB37	CC103	NC103	CB37	NB37	CC103	NC103
1 : 10	15**	7.2	9.6**	4.4	2.7**	1.4	2.68**	1.2
1 : 20	13**	6.4	6.8**	3.4	1.8**	0.98	1.52**	0.84
1 : 30	8**	5	4.8**	2.6	1.34**	0.72	1.08*	0.6
1 : 40	7*	3.4	3.2*	2.2	0.88*	0.6	0.68*	0.42
1 : 50	4	3.2	2	2	0.46	0.4	0.38	0.3
1 : 60	3	3	1.6	1.6	0.38	0.38	0.26	0.26
1 : 100	-	-	-	-	-	-	-	-
1 : 200	-	-	-	-	-	-	-	-

*, **: 在 0.05 和 0.01 水平与对照差异显著。“-”: 表示 C 和 N 细胞质的玉米叶片未感病

*, **: The differences comparing with CK are significant at 5% or 1% level, respectively. “-”: The maize leaves with C and N cytoplasm are not infected comparing with the CK

性较为适宜^[23]。

2.2 诱导作用及对抗病性相关酶的影响

从表 2 看出, 诱导作用提高了玉米叶片内 POD 的活性。经 1 : 60 稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液诱导 3 d 后, CB37、CC103、NB37 和 NC103 处理组及对照玉米叶片内 POD 活性分别为 0.765 和 0.560 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 、1.136 和 0.620 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 、0.551 和 0.530 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 、2.434 和 1.020 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$, 与对照相比, POD 活性分别提高了 36.61%、83.27%、4.01%、138.60%; 接种高浓度滤液 24 h 后, 处理组分别提高了 70.56%、11.21%、-23.87%、-38.63%; 接种高浓度滤液 72 h 后, 处理组分别提高了 126.56%、85.62%、67.38%、133.97%。

诱导作用还提高了玉米叶片内 PAL 活性。经 1 : 60 稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液诱导 3 d, CB37、CC103、NB37 和 NC103 处理组及对照玉米叶片内 PAL 活性分别为 8 530 和 7 320 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 、8 200 和 5 903 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 、10 317 和 7 850 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 、8 540 和 6 623

$\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, 与对照相比, PAL 活性分别提高了 16.53%、38.90%、31.42%、28.94%; 接种高浓度滤液 24 h 后, 处理组分别提高了 14.60%、-41.15%、-4.93%、7.96%; 接种高浓度滤液 72 h 后, 处理组分别提高了 38.30%、186.72%、43.71%、48.73%。

诱导作用同时降低了玉米叶片内 MDA 含量。经 1 : 60 稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液诱导 3 d 后, CB37、CC103、NB37 和 NC103 处理组及对照玉米叶片内 MDA 含量分别为 0.926 和 1.021 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、0.578 和 0.712 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、0.630 和 0.365 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、0.699 和 0.735 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 与对照相比, MDA 含量分别减少了 9.34%、18.74%、-72.60%、4.87%; 接种高浓度滤液 24 h 后, 处理组分别减少了 38.58%、12.28%、5.59%、24.50%; 接种高浓度滤液 72 h 后, 处理组分别减少了 21.77%、48.35%、38.10%、31.12%。

简言之, 以上两种基因型两对同核异质体玉米叶片之间, 均可通过低浓度 HMC 毒素培养滤液的诱导

表 2 经 1 : 50、1 : 60 稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液诱导后再接种 1 : 10 稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液时抗病性相关酶的变化

Table 2 The changes of disease resistance-related enzymes treated by high concentration (1 : 10) filtrate of HMC toxin cultivation for 72 h after induced by the low concentration (1 : 50 and 1 : 60) for 3 d

抗病性相关酶 DRRE	时间 Time		CK				1 : 50				1 : 60			
			CB37	NB37	CC103	NC103	CB37	NB37	CC103	NC103	CB37	NB37	CC103	NC103
POD ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{FW}$)	诱导 Inducing	1d	0.551	0.511	0.614	1.022	0.604	0.658	0.748	0.641	0.629	0.640	0.694	0.784
		2d	0.538	0.510	0.608	1.007	0.664	0.608	0.668	1.071	0.618	0.619	0.599	1.298
		3d	0.560	0.530	0.620	1.020	0.733	0.584	1.260	1.420	0.765	0.551	1.136	2.434
	接种 Inoculating	24h	0.578	0.854	1.383	2.110	0.748	0.593	1.965	1.270	0.985	0.650	1.538	1.295
		48h	0.600	0.595	1.420	1.130	0.698	0.710	2.145	1.358	0.890	0.953	2.420	2.103
		72h	0.400	0.583	1.113	1.185	0.870	0.863	1.575	1.625	0.906	0.975	2.065	2.773
PAL ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)	诱导 Inducing	1d	7387	7777	6070	6580	7107	7907	6270	7510	7190	7947	6660	7470
		2d	7330	7680	5870	6680	7470	7957	7460	6320	7887	8760	7647	5937
		3d	7320	7850	5903	6623	7837	8647	7700	7463	8530	10317	8200	8540
	接种 Inoculating	24h	5753	6487	3710	5693	6860	6437	1347	5600	6593	6167	2183	6147
		48h	5300	7330	1997	6057	8150	7167	3290	5930	6710	5813	4580	6283
		72h	5640	5407	2083	4323	6777	6580	5907	5963	7800	7770	5973	6430
MDA ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	诱导 Inducing	1d	0.918	0.403	0.705	0.726	1.020	0.570	1.030	0.959	0.965	0.515	0.763	0.865
		2d	0.968	0.408	0.716	0.711	1.098	0.660	0.714	0.799	1.085	0.550	0.915	1.140
		3d	1.021	0.365	0.712	0.735	0.871	0.753	0.557	0.529	0.926	0.630	0.578	0.699
	接种 Inoculating	24h	1.161	0.775	1.238	1.288	1.077	0.920	1.000	1.008	0.713	0.732	1.086	0.973
		48h	1.270	0.832	1.458	1.452	1.109	0.610	0.872	1.265	0.737	0.598	0.622	0.563
		72h	1.567	1.422	1.783	1.564	0.903	0.982	0.839	0.996	1.226	0.880	0.921	1.077

DRRE: Disease resistance-related enzyme

提前启动叶片内部与防卫反应相关的 POD、PAL 活性的提高与 MDA 含量的下降, 充实了抵御外来 HMC 再次侵害的基质, 当再接种高浓度 HMC 毒素培养滤液后, 经 24、48、72 h 的动态检测, 总趋势是: 处理组与对照组比较, 抗病性相关酶 POD、PAL 的活性得到进一步提高, MDA 的含量进一步下降。

2.3 不同处理不同时期抗病性相关酶的变化

从 C 不育细胞质与正常细胞质两种玉米叶片内部抗病性相关酶的增量试验看出: (1) C 细胞质玉米叶片内, 低浓度 HMC 毒素培养滤液诱导时抗病性相关酶的增量小于高浓度接种后的增量, 如 1 : 60 稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液诱导的 PAL 活性增量, CB37 为 7.12%, CC103 为 26.13%, 再接种高浓度后的 PAL 活性增量, CB37 为 26.42%, CC103 为 63.50%, 即接种高浓度 HMC 毒素培养滤液后进一步激发其抗病性相关酶, 使诱导作用强化, 而不经预处理直接接种高浓度, 则叶片随即产生萎蔫型病斑而枯死; (2) 增量

的全过程, C 细胞质玉米叶片内部抗病性相关酶的增量大于 N 细胞质玉米叶片内部抗病性相关酶的增量, 如 1 : 60 稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液预处理的 CB37 玉米叶片内 PAL 活性在全过程中的增量为 15.44%, CC103 为 37.49%, 而 NB37 为 9.98%, NC103 为 13.49%, 这是由 HMC 对 C 细胞质寄主专化性决定的; (3) 不同的诱导处理均导致抗病性反应的产生, 具有浓度效应。如 1:50 稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液预处理的 CC103 玉米叶片内 PAL 活性在诱导中、接种后及全过程的增量分别是 5.16%、35.34% 和 24.73%, 而 1 : 60 稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液预处理的分别为 15.95%、63.50% 和 37.49% (表 3)。

3 讨论

HMC 毒素培养滤液诱导激发玉米的抗病性, 其激发的进程是否因用低浓度预处理后即已启动了植株本身的防卫系统而表现出抗性, 还是因为随之接高浓度

表 3 不同稀释倍数的 HMC 毒素培养滤液处理的玉米叶片内部抗病性相关酶在不同时期的变化

Table 3 The changes of disease resistance-related enzymes at different stages treated by different dilution filtrated culture fluid of HMC toxin

抗病性 相关酶 DRRE	稀释倍数 Dilution factor	增量 Increment (%)											
		诱导 Inducing				诱导后接种 Inoculating after inducing				诱导+接种 Inducing and inoculating			
		CB37	NB37	CC103	NC103	CB37	NB37	CC103	NC103	CB37	NB37	CC103	NC103
POD	1 : 50	21.30	19.18	45.28	2.75	46.75	6.58	45.21	-3.90	33.75	12.04	45.23	-1.19
	1 : 60	21.99	16.68	31.91	48.10	76.31	26.89	53.83	39.44	48.55	22.47	46.82	42.97
PAL	1 : 50	1.71	5.16	20.10	7.09	30.51	4.99	35.34	8.83	14.12	5.09	24.73	7.87
	1 : 60	7.12	15.95	26.13	10.38	26.42	2.74	63.50	17.34	15.44	9.98	37.49	13.49
MDA	1 : 50	2.81	68.56	7.91	5.27	-22.77	-17.06	-39.47	-24.04	-12.00	6.90	-24.19	-14.21
	1 : 60	2.34	44.05	5.80	24.48	-33.06	-27.02	-41.30	-39.30	-18.15	-7.13	-26.11	-17.91

与低浓度共同作用后方能表现出抗性? 查阅近两年 90 余篇相关文献, 其中有关玉米诱导抗病性的文献没有回答这个问题, 但这对进一步探讨抗性机制是极为重要的第一步。本试验表明: C 细胞质玉米对 HMC 产生抗病性的途径是通过适宜诱导的低浓度的 HMC 毒素培养滤液预处理后, 刺激了 POD、PAL 活性提高和 MDA 含量的变化, 再接种高浓度 HMC 毒素培养滤液后进一步激发其抗病性相关酶, 以此来启动玉米本身的防卫系统, 因钝化作用而抑制侵染, 使 C 细胞质玉米对 HMC 敏感性降低, 从而表现出抗病性。

大量的研究表明, 参与植物体内多种生理代谢过程的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、多酚氧化酶 (PPO) 和苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 等系列保护酶, 与植物的防卫反应及抗病性密切相关^[28-29], 通常用作衡量植物体内防卫反应的重要指标。试验结果表明, 低浓度 HMC 毒素培养滤液诱导后提高了玉米叶片内与抗病性相关酶的活性, C 细胞质玉米可能通过提高这些酶活性, 从而增强了 C 细胞质玉米抵御 HMC 侵染的能力。此外, 试验中各种保护酶的变化趋势表现不一致, 活性高峰的出现在时间与数量上也有差异, 可能是低浓度 HMC 所诱导的抗性信号传递在时间顺序与强度上的差异所致, 引起差异的分子机理有待于进一步研究和探讨。

用致病毒素代替病原菌是切实可行的^[30]。本实验室曾用 HMT 毒素培养的整体滤液、滤液中的提取蛋白液及 HMT 菌丝细胞壁的提取液分别预处理 T 细胞质玉米叶片后, 再接种高浓度 HMT 培养滤液, 结果是: 只有 HMT 毒素的整体滤液预处理后才能提高玉米叶片内部 PAL 酶的活性, 且在叶片表面产生抗病性

反应。但为了进一步证实 HMC 毒素的作用, 定性及定量, 需将毒素纯化, 找出纯毒素作为不同基因型玉米激发子的最佳浓度。这一点是本论文的不足之处, 有待以后改进。

4 结论

在经低浓度 HMC 毒素培养滤液预处理的 C 细胞质玉米叶片上发现有点状病斑形成, 其过程如下: 第 1 天无病情, 第 2 天出现感病病斑, 第 3 天病斑面积减小, 病情减轻。通过试验表明, 诱导前 C 细胞质玉米叶片内部 POD、PAL 活性较 N 细胞质低, MDA 含量较高, 诱导开始后容易被寄主专化毒素侵染进而形成病斑, 但随着诱导过程的进行, 叶片内部 POD、PAL 活性升高, MDA 含量减少, 产生抗性, 病情减轻。

本试验还表明, 低浓度 HMC 毒素不仅能成功地激活 CC103 叶片的酶活性, 它同样在其它基因型的 CMS 试材中, 例如对 CB37 也能起到很好的激活效果。这说明, 低浓度玉米小斑病菌 C 毒素的诱导抗病性作用有一定的广谱性。从而可以确定低浓度的 HMC 毒素培养滤液可以作为激发子来诱导并提高 C 细胞质玉米的抗病性。

致谢: 本文在写作过程中承河北省农林科学院魏建昆研究员审阅, 并提出宝贵意见, 在此谨表衷心感谢!

References

- [1] Bokshi A I, Morris S C, Deverall B J. Effects of benzothiadiazole and acetylsalicylic acid on β -1, 3-glucanase activity and disease resistance in potato. *Plant Pathology*, 2003, 52: 22-27.
- [2] Cohen Y R. β -aminobutyric acid-induced resistance against plant

- pathogens. *Plant Disease*, 2002, 86(5): 448-457.
- [3] Pajot E, Le Corre D, Silue D. Phytogard® and DL- β -amino butyric acid (BABA) induce resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*) in lettuce (*Lactuca sativa* L). *European Journal of Plant Pathology*, 2001, 107: 861-869.
- [4] Ishii H, Tomita Y, Horio T, Narusaka Y, Nakazawa Y, Nishimura K, Iwamoto S. Induced resistance of acibenzolar-S-methyl (CGA 245704) to cucumber and Japanese pear diseases. *European Journal of Plant Pathology*, 1999, 105: 77-85.
- [5] Dann E, Diers B, Byrum J, Hammerschmidt R. Effect of treating soybean with 2, 6-dichloroisonicotinic acid (INA) and benzothiadiazole (BTH) on seed yields and the level of disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in field and greenhouse studies. *European Journal of Plant Pathology*, 1998, 104: 271-278.
- [6] Oostendorp M, Kunz W, Dietrich B, Staub T. Induced disease resistance in plants by chemicals. *European Journal of Plant Pathology*, 2001, 107: 19-28.
- [7] 葛秀春, 宋凤鸣, 陈永叶, 郑 重. 苯并噻二唑诱发水稻对稻瘟病抗性中防卫相关酶活性的变化. *中国水稻科学*, 2002, 16(2): 171-175.
- Ge X C, Song H M, Chen Y Y, Zheng Z. Changes in activities of defense-related enzymes in rice resistance induced by benzothiazole to blast fungus (*Magna porthe grisea*). *Chinese Journal of Rice Science*, 2002, 16(2): 171-175. (in Chinese)
- [8] Sticher L, Mauch-Mani B, Metraux J P. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Physiology*, 1997, 35: 235-270.
- [9] 王锐萍. 利用诱导因子抗新疆甜瓜疫霉病的田间效果. *中国生物防治*, 2001, 17(1): 20-22.
- Wang R P. Induction of systemic resistance in muskmelon against *Phytophthora melonis* in fields. *Chinese Journal of Biological Control*, 2001, 17(1): 20-22. (in Chinese)
- [10] 杨海莲, 孙晓璐, 宋 未. 植物根际促生细菌和内生细菌的诱导抗病性的研究进展. *植物病理学报*, 2000, 30(2): 107-110.
- Yang H L, Sun X L, Song W. Current development on induced resistance by plant growth promoting and endophytic bacteria. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2000, 30(2): 107-110. (in Chinese)
- [11] Hooker A L, Smith D R, Lim S M, Beckett J B. Reaction of corn seedlings with male-sterile cytoplasm to *Helminthosporium maydis*. *Plant Disease Reporter*, 1970, 54(8): 708-712.
- [12] Ullstrup A J. The impacts of the southern corn leaf blight epidemics of 1970-1971. *Annual Review of Phytopathology*, 1972, 10: 37-50.
- [13] Smith D R, Hooker A L, Lim S M. Physiologic races of *Helminthosporium maydis*. *Plant Disease Reporter*, 1970, 54: 819-822.
- [14] Miller R J, Koeppel D E. Southern corn leaf blight: susceptible and resistant mitochondria. *Science*, 1971, 173(3991): 67-69.
- [15] Bhullar B S, Daly J M, Rehfeld D W. Inhibition of dark CO₂ fixation and photosynthesis in leaf discs of corn susceptible to the host-specific toxin produced by *Helminthosporium maydis* race T. *Plant Physiology*, 1975, 56: 1-7.
- [16] Wei J K, Liu K M, Chen J P, Luo P C, Luo P C, Lee-Stadelmann O Y. Pathological and physiological identification of race C of *Bipolaris maydis* in China. *Phytopathology*, 1988, 78(5): 550-554.
- [17] 郭兰凯, 刘俊芳, 马春红, 崔 洋. HMC 毒素对雄花不育及正常细胞质玉米根冠活细胞的影响. *作物学报*, 1991, 17(1): 54-57.
- Guo L K, Liu J F, Ma C H, Cui Y. Effect of HMC toxin on the living root cap cells of maize with Cms and N cytoplasm. *Acta Agronomica Sinica*, 1991, 17(1): 54-57. (in Chinese)
- [18] 崔 洋, 刘克明, 魏建昆, 张为国, 欧阳光察. 玉米小斑病菌 C 小种毒素的分离、纯化及其植物病理反应. *植物病理学报*, 1991, 21(3): 187-191.
- Cui Y, Liu K M, Wei J K, Zhang W G, Ouyang G C. Isolation and purification of a C-toxin complex from *Bipolaris maydis* race C and its pathological reactions. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1991, 21(3): 187-191. (in Chinese)
- [19] 崔 洋, 马春红, 刘克明, 魏建昆. 纯化的玉米小斑病菌 C 小种毒素生物活性的研究. *植物病理学报*, 1992, 22(2): 175-178.
- Cui Y, Ma C H, Liu K M, Wei J K. Biological activity of purified pathotoxin produced by *Bipolaris maydis* race C. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1992, 22(2): 175-178. (in Chinese)
- [20] 刘克明, 吴全安, 刘俊芳, 梁克恭, 魏建昆. 玉米小斑病菌三个生理小种生物学特性比较的初步研究. *华北农学报*, 1989, 4(2): 74-78.
- Liu K M, Wu Q A, Liu J F, Liang K G, Wei J K. Preliminary studies on comparative biological traits of three races of *Bipolaris maydis*. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 1989, 4(2): 74-78. (in Chinese)
- [21] 崔 洋, 刘克明, 魏建昆. 用可溶性蛋白电泳法鉴定玉米小斑病菌生理小种. *华北农学报*, 1991, 6(1): 48-52.
- Cui Y, Liu K M, Wei J K. Identification of races of *Bipolaris maydis* by electrophoresis of soluble proteins. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 1991, 6(1): 48-52. (in Chinese)
- [22] Nicholson P, Rezanoor H N, Su H. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis and genetic fingerprinting to differentiate isolates of race O, C and T of *Bipolaris maydis*. *Journal of Phytopathology*, 1993, 139: 261-267.
- [23] Ma C H, Zhai C X, Wang L A, Chen X, Li Y C, Guo X L, Cui S P, Li

- G M. Induced resistance by the toxin filtrate of *Bipolaris maydis* race T cultivation. *Agricultural Sciences in China*, 2006, 5(9): 678-684. (in Chinese)
- [24] 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. *实验生物学报*, 2003, 36(2): 149-154.
- Wang L A, Zhao J X, Ma C H, Wei J K. Distribution of microfilaments in detached corn root cap cells under fluorescent microscope. *Acta Biologiae Experimentalis Sinica*, 2003, 36(2): 149-154. (in Chinese)
- [25] 王立安, 马春红, 赵俊霞, 魏建昆. 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. *植物病理学报*, 2003, 33(3): 225-228.
- Wang L A, Ma C H, Zhao J X, Wei J K. The effects of HMC toxin on the protoplasts and their actin filaments distribution in detached root cap cells of *Charrua* cytoplasmic male sterility maize. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2003, 33(3): 225-228. (in Chinese)
- [26] Ye X S, Pan S Q, Kuc J. Activity, isozyme pattern, and cellular localization of peroxidase as related to systemic resistance of tobacco to blue mold (*Peronospora tabacina*) and to tobacco mosaic virus. *Phytopathology*, 1990, 80(12): 1295-1299.
- [27] 范尉尉, 马春红, 董文琦, 李运朝, 刘子会, 贾银锁, 耿军义, 张香云. 棉花根部损伤程度对感染黄萎病菌后体内抗性酶的影响. *中国农业科学*, 2006, 39(12): 2483-2490.
- Fan W W, Ma C H, Dong W Q, Li Y C, Liu Z H, Jia Y S, Geng J Y, Zhang X Y. The influence of the *Verticillium dahliae* kleb infection on cotton's anti-enzyme. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(12): 2483-2490. (in Chinese)
- [28] 刘凤权, 王金生. 水杨酸对水稻防卫反应酶系的系统诱导. *植物生理学通讯*, 2002, 38(2): 121-123.
- Liu F Q, Wang J S. Systemic induction of several defense response enzymes in rice seedling by salicylic acid. *Plant Physiology Communications*, 2002, 38(2): 121-123. (in Chinese)
- [29] 汪 天, 王素平, 郭世荣, 高洪波. 低氧胁迫下黄瓜幼苗根系多胺代谢的变化. *园艺学报*, 2005, 32(3): 433-437.
- Wang T, Wang S P, Guo S R, Gao H B. Changes of polyamines metabolism in roots of cucumber seedlings under root-zone hypoxia stress. *Acta Horticulturae Sinica*, 2005, 32(3): 433-437. (in Chinese)
- [30] 董金皋, 黄梧芳, 康绍兰. 根冠细胞分析法在品种抗性测定上的应用. *河北农业大学学报*, 1989, 12(1): 67-72.
- Dong J G, Huang W F, Kang S L. The usage of root cap cell death bioassay in identifying quickly resistance of varieties. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 1989, 12(1): 67-72. (in Chinese)

(责任编辑 毕京翠)