

# 玉米小斑病菌 T 小种毒素对玉米叶片 过氧化物酶活性的诱导作用\*

翟彩霞<sup>1,2</sup>, 马春红<sup>1\*\*</sup>, 王立安<sup>2</sup>, 陈霞<sup>1</sup>,  
郭秀林<sup>1</sup>, 崔四平<sup>1</sup>, 李广敏<sup>1</sup>

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

**摘要:** 概述了利用低浓度玉米小斑病菌 T 小种毒素培养滤液处理玉米叶片以提高玉米叶片过氧化物酶的活性; 而过氧化物酶的活性变化与植物抗病性呈正相关, 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; 过氧化物酶

中图分类号: S 435.131 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X(2004)04-0387-03

## Effects of Peroxidase Activity Induced by *Bipolaris maydis* Race T Toxin

ZHAI Cai-xia<sup>1,2</sup>, MA Chun-hong<sup>1</sup>, WANG Li-an<sup>2</sup>, CHEN Xia<sup>1</sup>,  
GUO Xiu-lin<sup>1</sup>, CUI Si-ping<sup>1</sup>, LI Guang-min<sup>1</sup>

( 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:** Low concentration filtration of *Bipolaris maydis* race T toxin enhanced the activity of peroxidase. The changes of peroxidase activity were related to the disease resistance of maize. It seemed that the low concentration filtration of *B. maydis* race T toxin may be used as elicitors which enhances the disease resistance of maize.

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

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。20 世纪 40 年代北美燕麦维多利亚疫病和 1970 年美国玉米小斑病两次人类现代历史上的真菌病害大流行造成了饥荒和社会动荡。为了防治其它病害大量施用化学杀菌剂所造成的环境污染和对人类健康的威胁,特别是人们要求更多的绿色农产品

的呼声愈来愈高;我国加入 WTO 后对农产品的农药污染问题愈加关注,诱导植物获得抗病性和抑制病原菌的致病性已成为广泛关注的热点。从 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% 后,虽经过十多年的努力,科学家们已阐明了这种专化侵害作用的机理,但玉米雄性不育 T 细胞质在生产上仍被淘汰。本研究即

\* 收稿日期: 2004-03-16

\*\* 通讯作者

基金项目: 河北省自然科学基金资助

作者简介: 翟彩霞(1977-),女,河北张家口人,在读研究生,主要从事作物抗病生理方面的研究。

是在这种背景下重新利用低浓度玉米小斑病菌 T 小种毒素培养滤液处理玉米叶片以提高玉米叶片过氧化物酶的活性;过氧化物酶是植物体中广泛存在的一种氧化还原酶,当植物受病菌侵染后,其活性迅速发生变化,并同抗病性呈正相关<sup>[1~4]</sup>。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,为植物诱导抗病性和雄性不育 T 细胞质在生产实践中的利用提供理论和方法依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

玉米雄性不育系(C103<sup>T</sup>)及其同核保持系 C103<sup>N</sup> 由河北省农林科学院遗传生理所提供。玉米小斑病菌 T 小种(race T)由中国农业科学院品种资源所吴全安研究员提供。

玉米幼苗的培养:种子用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 5 min,蒸馏水反复冲洗,室温浸泡吸水 24 h,在 25 °C 恒温培养箱中催芽,待胚根长至 1 cm 左右,选取生长一致的籽粒种于花盆中土培。培育 21 d 后即 3 叶 1 心期时备用。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 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 °C 培养 15~20 d。培养液通过纱布、滤纸过滤,滤液保存在 4 °C 冰箱内备用。

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)。

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

别把相应处理的同位置叶片,剪为大小一致的 3 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)后放入人工气候箱内,在 27 °C,光照 12 h 的条件下培养 5 d。

#### 1.2.2 POD 的提取和检测

方法参考李合生、陈翠莲、洪玉枝主编:《植物生理生化实验原理和技术》,136-137。

## 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

把相应处理的同部位叶片,剪成大小一致的 3 段,置于铺有湿滤纸(12 cm × 12 cm)的培养皿内,并接各浓度梯度毒素后放入人工气候箱内,在 27 °C,光照 12 h 的条件下培养 5 d 后观察并数病斑数。

经稀释为 1:10,1:20,1:30 玉米小斑病菌 T 小种毒素滤液处理的 C103<sup>T</sup> 与 C103<sup>N</sup> 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,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,且为坏死型,并不连在一起。经稀释为 1:40,1:45,1:50 小斑病菌 T 小种毒素滤液处理时叶片并不表现出较强的专化性,即 T 与 N 细胞质之间叶片表现几乎一致,病斑少且小,约 5 个左右,面积为 0.09~1 mm<sup>2</sup>。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 过氧化物酶(POD)活性测定

用稀释为 1:40,1:45,1:50 低浓度玉米小斑病菌 T 小种毒素滤液处理 C103<sup>T</sup> 与 C103<sup>N</sup> 玉米叶片后,再接高浓度(1:20)毒素后 POD 活性 0~96 h 内的变化分别如表 1 和表 2 所示。

表 1 低浓度毒素处理后再接高浓度毒素处理的 C103<sup>T</sup> POD 的活性变化

Tab. 1 Changes of peroxidase activity of C103<sup>T</sup> induced by filtration of *Bipolaris maydis* race T toxin

时间/h	μg/g(FW)			
	0	1:40	1:45	1:50
0	0.443 3 ± 0.029 8	0.629 9 ± 0.042 3	0.622 6 ± 0.021 9	0.576 6 ± 0.061 4
24	0.363 9 ± 0.014 4	0.630 2 ± 0.048 4	0.598 8 ± 0.013 7	0.671 6 ± 0.021 2
48	0.551 2 ± 0.074 3	0.805 2 ± 0.165 0	0.617 9 ± 0.059 2	0.802 2 ± 0.126 7
72	0.496 8 ± 0.029 4	0.671 5 ± 0.008 6	0.660 8 ± 0.005 0	0.670 1 ± 0.019 4
96	0.568 8 ± 0.029 3	0.682 0 ± 0.016 9	0.651 2 ± 0.037 6	0.631 9 ± 0.015 9

表 2 低浓度毒素处理后再接高浓度毒素处理的C103<sup>N</sup> POD 的活性变化Tab. 2 Changes of peroxidase activity of C103<sup>N</sup> induced by filtration of *Bipolaris maydis* race T toxin

时间/h	0	1:40	1:45	1:50
0	0.527 8 ± 0.042 1	0.615 8 ± 0.028 9	0.579 8 ± 0.077 6	0.633 8 ± 0.020 2
24	0.465 0 ± 0.018 9	0.619 1 ± 0.017 8	0.627 4 ± 0.022 6	0.547 4 ± 0.002 7
48	0.579 7 ± 0.069 3	0.684 6 ± 0.036 2	0.754 6 ± 0.091 9	0.635 8 ± 0.126 7
72	0.496 8 ± 0.029 4	0.671 5 ± 0.008 6	0.660 8 ± 0.023 7	0.670 1 ± 0.019 4
96	0.568 8 ± 0.029 3	0.682 0 ± 0.016 9	0.651 2 ± 0.008 8	0.631 9 ± 0.015 9

从以上试验结果可以看出以低浓度毒素滤液处理的玉米叶片 POD 的活性均有不同程度的提高。经过稀释为 1:40, 1:45, 1:50 玉米小斑病菌 T 小种毒素滤液预处理的 CMS - TC103 玉米叶片及对照再接 1:20 的较高浓度毒素滤液后,在 0~24 h 之间 POD 的活性变化均呈下降趋势,但在 48 h 上升达到高峰,48~72 h 又出现下降趋势,在 72~96 h 之间 POD 活性几乎保持在一定数值,趋势较为平稳。经低浓度 T 毒素预处理、再接 1:20 较高浓度毒素滤液后,在 0~96 h 内,不论 POD 活性如何变化,C103<sup>T</sup> 玉米叶片中的 POD 活性均高于同类叶片未经低浓度毒素预处理的对照。以上证实低浓度 T 毒素滤液对 T 细胞质玉米叶片起到了预先诱导抗小斑病菌 T 小种的作用。本试验以 1:40 低浓度 T 毒素预处理的效果最好。经低浓度玉米小斑病菌 T 小种毒素滤液处理 N 细胞质玉米叶片中 POD 的活性虽有类似趋势,但所起的诱导作用没有如前者明显。

### 3 讨论

某些酶与植物抗病有关,可以作为抗病性鉴别的生化指标。氧化酶类(如过氧化物酶、多酚氧化酶等)能将酚类物质转化成木质素、植保素等,从而提高植物抗病性<sup>[5]</sup>。

本试验多次重复证实,低浓度 T 毒素滤液预处理 C103<sup>T</sup> 叶片,可以提高玉米叶片中 POD 的活性

从而诱导细胞质对 T 毒素液的抗性。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,故在试验中对 N 细胞质用 T 毒素液低浓度预处理,不能起诱导抗性作用。

迄今为止未见选育出抗 T 小种的 T 细胞质品种(系)的报道;这可能是人们难以用任何手段防治 T 小种或 T 毒素对 T 细胞质的危害。本试验通过 T 毒素预处理,可以激活、诱导 T 细胞质对 T 毒素的抗性,这对专化性病害防治有启发作用。

### [参 考 文 献]

- [1] MISAWA T, KATO S, SUJIKI T. Studies on the infection and multiplication of plant viruses. V. change of soluble proteins and isoenzyme in tobacco leaf infected with cucumber mosaic virus[J]. Ann. Phytopath. Soc. Japan, 1971, 37: 348 - 354.
- [2] 张相岐,王海廷,黄永英,等. 对 TMV 抗性不同番茄品种和变种的同工酶比较分析[J]. 北方园艺, 1987, (1): 3 - 5.
- [3] 容向东. 木麻黄丛枝病过氧化物酶同工酶初步研究[J]. 植物病理学报, 1987, 17(1): 47 - 50.
- [4] VRRCH J A. Localization of peroxidase in infected tobaccos susceptible and resistant to black shank[J]. Phytopathology, 1969, (59): 560 - 571.
- [5] R 海蒂弗(美), P H 威廉斯主编. 植物病理生理学[M]. 朱有红, 宋左衡, 等译. 北京: 农业出版社, 1991.