

大麦感染黄花叶病后 POD、SOD 活性变化规律的初步研究

徐德利^{1,2}, 宋平¹

(1 扬州大学农学院, 江苏 扬州 225009)

(2 连云港市农业技术推广中心, 江苏 连云港 222001)

[摘要] 对不同抗性的大麦品种(系)感染黄花叶病毒, 叶片组织内过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性变化规律进行分析. 结果表明: 感病后, 大麦叶片内 POD、SOD 活性增加, 与病情指数为显著的正相关, 并对其变化规律进行了探讨.

[关键词] 大麦, 黄花叶病, 过氧化物酶, 超氧化物歧化酶

[中图分类号] Q945.78 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2008)02-0101-04

Probe of Their Orderliness Changes of SOD and POD Activities After Infected by Barley Mosaic Virus

Xu Deli^{1,2}, Song Ping¹

(1. College of Agronomy, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

(2. Lianyungang Agriculture Technology Popularize Centre, Lianyungang 222001, China)

Abstract The activities of POD and SOD in the leaf blade tissues are change regular when breed of different fastness infected by Barley Mosaic Virus. The results were as follows: The activities of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) in the leaf blade tissues is increase when infected by Mosaic Virus, and is remarkable positive correlation, and probed the change regular.

Key words barley mosaic virus, peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD)

大麦黄花叶病是大麦的主要病害之一, 在我国尤其是长江中下游地区发生严重, 平均发病为 10% ~ 30%, 严重的高达 50%^[1], 是影响大麦产量和品质的主要因素.

过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)是细胞保护酶体系的重要成员, 越来越多的研究表明, 在遭受各种逆境胁迫时, SOD、POD 等能防御活性氧及其它过氧化自由基对细胞系统的伤害, 增强植物对干旱、寒冷、盐渍、衰老、病害的抵抗能力^[2-4], 其活性大小与植物代谢强度及抗逆能力有一定的关系, 被认为可以帮助植物抵抗病害的侵染, 该酶与植物的多种保护反应相关^[5-6]. 但对 SOD、POD 变化规律与植物抗病性关系研究还不多^[7-9].

本试验主要研究不同抗性的大麦品种(系)在感染黄花叶病后过氧化物酶、超氧化物歧化酶的变化规律及它们之间的相互关系, 并结合病情指数, 以期了解大麦黄花叶病发生后, 它们可能的作用机理, 为抗大麦黄花叶病的相关研究提供参考.

1 材料与方 法

1.1 试验材料

选用大麦黄花叶病抗性不同的品种, 分别为: 苏农 22 扬饲麦 1 号、鉴 35 94-13 冈 2, 在扬州大学农学院实验场分别种植病圃田、无病田中. 病圃田的植株发病均匀、严重, 感病品种发病率为 100%, 而无病田中的植株病情指数经测定分别为 0(1), 0(D), 0.21(MR), 0.54(MS), 0.89(HS); 在分蘖期田间取其第

收稿日期: 2007-09-28

通讯联系人: 徐德利, 硕士, 高级农艺师, 研究方向: 农业生理、生态及栽培技术. E-mail: snyj_xud@hy.gov.cn

8 第 9 叶,放入 - 20℃ 冷冻保存,对样本进行测定分析.

1.2 测定方法

1.2.1 过氧化物酶 (POD) 活性的测定

采用愈创木酚法^[10],在 2.9 mL 测定介质中加 0.03 mL 酶液,用 UV-120-02 分光光度计在 470 nm 处测定光密度值,以台式自动平衡记录仪记录 A 值变化.

1.2.2 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定

1.2.2.1 药品

磷酸缓冲液 [50 mmol/L pH 7.0 含 1% 取乙烯咯酮 (PVP)], A 液 (50 μmol/L NBT, 内含 25 mmol/L 蛋氨酸, 1.5 μmol/L EDTA), B 液 (50 mmol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液, 含 6 μmol/L 核黄素, 用时稀释 10 倍).

1.2.2.2 仪器

离心机 (15 000 × g), 分光光度计, 研钵, 秒表, 天平, 移液管.

1.2.2.3 方法

取 5 个大麦品种 (系) 分无病田、病圃田的叶片剪成细丝, 混匀, 取 0.2 g 叶片, 分别加入 1.5 mL 提取介质磷酸缓冲液, 冰浴下研磨成匀浆, 匀浆在 15 000 × g 下离心 10 min, 倾出上清液, 必要时残渣再用缓冲液提取 1 次, 合并 2 次上清液, 保存在冰箱 (或冷处) 备用. 按 Giannopolitis 和 Rice 的方法测 SOD 活性^[11].

2 结果与分析

2.1 黄花叶病对不同抗性的大麦品种 (系) 叶片内 POD 活性的影响

试验表明, 无论无病田还是病圃田, 感病品种叶片内 POD 的活性均大于抗病品种, 且与病情指数成极显著正相关 (正常株与病情指数相关系数 $r = 0.988^{**}$, 病株与病情指数相关系数 $r = 0.993^{**}$), 与抗病性则呈极显著负相关, 即抗病性越差的品种叶片内 POD 含量越高, 这与李妙等^[4]对棉花枯萎病、刘惕若等^[12]对小麦赤霉病的研究结果一致. 同时我们还看到, 病圃田内的植株叶片内的 POD 活性普遍增加, 且抗病品种增加幅度明显大于感病品种, 尤其是扬饲麦 1 号. 通过统计分析, 健株与病株之间的这种差异达到极显著水平 ($|t| = 12.42 > t_{0.01} = 4.604$), 这可能与 POD 活性对植株获得抗病性功能有关 (铃木直治, 1985).

表 1 不同抗性大麦品种 (系) 感染黄花叶病后 POD 活性的变化

Table 1 Change of activities of POD after the barley breed of different fastness infected by Mosaic Virus

品种	$\Delta A_{470} (\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1})$				
	苏农 22	扬饲麦 1 号	鉴 35	94-13	冈-2
无病田	1.91	1.65	2.18	3.26	3.86
病圃田	2.82	2.70	3.04	3.94	4.57
变化幅度 %	47.64	63.64	39.45	20.86	18.39

2.2 黄花叶病对不同抗性的大麦品种 (系) 叶片内 SOD 活性的影响

对无病田的不同大麦品种 (系) 的叶片进行测试, 结果表明, 感病品种的 SOD 活性普遍高于抗病品种, 与田间病情指数呈显著正相关 ($r = 0.911$, $|t| = 3.821 > t_{0.05} = 3.182$). 在病圃田, 大麦各品种植株叶片内 SOD 的活性都大于各自的对照, 且抗病品种 SOD 活性增加率明显大于感病品种, 尤以扬饲麦 1 号为甚. 通过相关分析可以看出, 病圃中大麦品种叶片内的 SOD 活性与田间病情指数呈显著正相关 ($r = 0.957$, $|t| = 5.707 > t_{0.05}$). 以上分析结果与李妙等^[4]对棉花的研究结果一致.

表 2 不同抗性大麦品种 (系) 感染黄花叶病后 SOD 活性的变化

Table 2 Change of activities of SOD after the barley breed of different fastness infected by Mosaic Virus

品种	(单位: U/mg)				
	苏农 22	扬饲麦 1 号	鉴 35	94-13	冈-2
无病田	53.42	48.34	65.88	70.67	74.62
病圃田	68.31	69.74	78.96	84.38	88.46
变化幅度 %	27.87	44.27	19.35	19.40	18.55

大麦感病后, 无论抗病还是感病品种, 其 SOD 的活性均增加. 健株与病株之间 SOD 活性存在着极显

著的差异 ($|t| = 10.042 > t_{0.01} = 4.604$), 这也说明病毒侵染后, 不同大麦品种对病毒侵染的抵抗能力不同, 而 SOD 活性变化的大小又是这种能力不同的表现之一。

3 讨论

自 Fridovich (1978) 提出生物自由基学说以来, 前人对植物叶片衰老过程中超氧自由基 O_2^- 积累已做了大量的研究工作^[12, 13], 自由基特别是 O_2^- 诱发膜脂过氧化是组织损伤的一个重要机制 (Droillard 等, 1987)。任泽堂等^[14] 也认为, 超氧自由基过多直接引发植物生理变化。对于抗病品种来说, O_2^- 积累的同时, 叶片内酶活性也迅速提高以清除 O_2^- 的损伤, 因而受破坏的程度较轻; 或者由于超氧自由基 O_2^- 的积累诱使叶片片层结构发生了生理生化变化, 致使体内物质合成受阻或分解加速, 失去平衡, 发生生理生化变化。

人们普遍认为, SOD 与 POD 能防御活性氧及其它过氧化自由基对细胞膜系统的伤害, 能增强植物对干旱、冷害、衰老、盐渍、病害等的抵抗能力。但植物在逆境条件下 POD、SOD 活性与抗性的相互关系及逆境下 POD、SOD 变化规模以及活性变化是抗病原因还是感病原因, 不同的研究者在不同的作物上所得的结论各异。王维平等认为 SOD、POD 活性越高抗性越强^[15-17]。但本试验结果刚好相反, 却与李妙等对棉花、小麦研究结果^[4, 18] 比较一致。

本试验结果说明, 无论健株还是病株, 抗病品种的 POD、SOD 活性均比感病品种低, 感病后各品种酶的活性都大于各自的对照, 但不同抗性品种增长率又有所不同, 这表明酶活性在感病后迅速增强, 可能是寄主对病原物侵染所作的积极防卫, 通过酶的作用, 限制病原物在寄主体内扩展而表现出抗性, 而限制病原物扩展能力的大小就决定了寄主抗病性的大小。

在正常情况下, 植物体内 SOD 活性维持一定的水平, 清除植物体内不断产生的超氧自由基 (O_2^-), 使植物体内 SOD 活性和 O_2^- 含量达成一定的平衡关系^[17]。当植物感病后, 植物体内的 O_2^- 含量增加, SOD 活性也相应增加, 以清除自由基。在抗病品种中, SOD 活性迅速提高, 使之尽可能维持与 O_2^- 的平衡关系, 以限制 O_2^- 在一定的水平内, 减轻对组织的伤害作用; 而感病品种对自由基的迅速增加反应迟钝, 使 O_2^- 的含量相对水平较高, 从而对植株产生危害。从结果分析可以看出, POD、SOD 活性与病情指数呈显著正相关, 但能否把 POD、SOD 活性大小作为品种 (系) 抗病性的生理指标, 还需作进一步研究。但 SOD、POD 活性在感病前后变化幅度的大小却与抗性关系密切, 变化幅度大, 说明植物抗病能力强, 危害小, 表现为抗病。

试验还表明, 在分蘖期取样, 感病前后, 大麦叶片中 POD、SOD 活性变化规律保持一致, 无论抗病品种还是感病品种, 在受到病原菌侵染后, 酶的活性都增加, 表明病原菌可以激发寄主大麦体内酶的活性, 且抗病品种酶的活性增加明显, 标志抗病品种对病原菌侵染的适应性强。同时试验还表明, POD 活性的增长率在整个测试过程中, 都高于 SOD, 且呈显著正相关 ($r = 0.8945$ $|t| = 3.466 > t_{0.05}$), 其原因可能是由于 SOD 的产物是 POD 的底物, 正常情况下, POD 与 SOD 之间保持一定的平衡关系, 当植株被病原菌侵染时, 这种平衡关系被破坏, 抗病品种能迅速作出反应, 减轻这种破坏作用, 使机体不致于受太大的损伤, 而感病品种相对适应能力弱, 致使 O_2^- 代谢产物累积而引起膜的损伤, 从而表现为感病, 但具体机制还待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 李清铎. 大麦的病毒病害 [J]. 江苏农学院学报, 1983, 4(3): 17-22
- [2] 刘鸿先, 曾韶西, 王以柔, 等. 低温对不同耐寒力的黄瓜幼苗子叶各细胞器的超氧化物歧化酶的影响 [J]. 植物生理学报, 1985, 11(1): 48-57.
- [3] 邱竟, 胡萍. 棉花叶片自然衰老与病害胁迫时 SOD、POD 活性与光合特性的变化 [J]. 棉花学报, 1992, 4(1): 57-60
- [4] 李妙, 李俊明. 病害对不同抗枯类型棉花品种 SOD 和 POD 活性的影响 [J]. 棉花学报, 1995, 7(1): 52-55
- [5] 张敬贤, 李俊明, 崔四平, 等. 玉米细胞保护酶活性对苗期干旱的反应 [J]. 华北农学报, 1990, 5(增刊): 19-23
- [6] 王建华, 刘鸿先, 徐同. 超氧化物歧化酶 (SOD) 在植物逆境和衰老生理中的作用 [J]. 植物生理学通讯, 1989, 24(1): 1-7.
- [7] 杨家书, 李舜芳, 吴畏, 等. 小麦品种对白粉病抗病性与过氧化物酶的关系 [J]. 植物病理学报, 1984, 14(4): 235-240
- [8] Yan Wenzhao, Chiu Weifan. Changes of peroxidase activity and isoperoxidases in tobacco plants of different resistance infected by tobacco mosaic virus (TMV) [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1985, 15(4): 193-198

- [9] Nadlong L, Sepueira L. Increase in peroxidase activities are not directly involved in induced resistance in tobacco[J]. *Phytoplant Pathol* 1980(16): 1-8
- [10] 宋平, 曹显祖, 吴永宏, 等. 水稻矮秆基因对 GA3 敏感性的酶学基础[J]. *江苏农学院学报*, 1994, 15(4): 10-13
- [11] Giannopolitis C N, Rice S K. Superoxide dismutase Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in breeding[J]. *Plant Physiol* 1977(59): 315-318
- [12] 刘惕若, 陈洁敏, 郭彦太, 等. 小麦品种对赤霉病的抗性研究[J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 1995(1): 1-5
- [13] 刘道宏. 植物叶片的衰老[J]. *植物生理学通讯*, 1983(2): 14-19
- [14] 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 等. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系[J]. *植物学报*, 1984, 26(6): 605-615
- [15] 任泽堂. 超氧自由基与叶片衰老时叶绿素破坏的关系[J]. *植物生物学通讯*, 1991, 27(4): 277-279
- [16] 王维平, 刘伊强. 小麦对赤霉病抗性不同品种的 SOD 活性[J]. *植物生理学报*, 1993, 19(4): 353-358
- [17] 郭海军, 黄国存. 黄萎病对棉花叶片 SOD、POD 酶活性和光合特性的影响[J]. *中国农业科学*, 1995, 28(6): 40-46
- [18] 李犁, 余叔文. 超氧化物歧化酶活性与小麦对 HSO₃-NO₂ 抗性之间的关系[J]. *植物生理学报*, 1989, 15(1): 57-61
- [19] 靳华芬. 小麦抗感白粉病的不同品种过氧化物酶的比较研究[J]. *植物学报*, 1985, 27(2): 222-224

[责任编辑: 孙德泉]

(上接第 100 页)

[参考文献]

- [1] C Sen Ganes, Lengyel Peter The interferon system: A bird's eye view of its biochemistry[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1992, 267(8): 5 017.
- [2] Gong Cheng, Weizao Chen, Zuofeng Li et al Characterization of the porcine alpha interferon multigene family[J]. *Gene* 2006(1), 382-28
- [3] F Lefevre, C La Bonnaardiere Molecular cloning and sequencing of a gene encoding biologically active porcine alpha-interferon[J]. *Interferon Res* 1986, 6(4): 349-360
- [4] J Brian Derbyshire The interferon sensitivity of selected porcine virus[J]. *Can J Vet Res* 1989, 53(1): 52-55
- [5] J Chinsangaran, M E Piconi, M J Gulumsn Ability of foot and mouth disease virus to form plaques in cell culture is associated with suppression of alpha/beta interferon[J]. *J virol* 1999, 73(12): 9891-9898
- [6] S Pesika, A Mesger Interferon standardization and designations[J]. *J Interferon Cytokine Res* 1997, 17(suppl 11): 9-14
- [7] 牛敏, 颜英俊, 尹一兵. 蛋白质凝胶电泳银染色法的改进[J]. *医学检验进修杂志*, 1999, 6(3): 13-15
- [8] Hana M Weingart, J Brian Derbyshire The induction and characterization of natural porcine interferons alpha and beta[J]. *Can J Vet Res* 1990, 54(3): 349-354
- [9] Tans JW, Welinder K G. Mild chemical deglycosylation of horseradish peroxidase yields a fully active, homogeneous enzyme[J]. *Anal Biochem*, 1995, 228(1): 48
- [10] Edge A S B. Deglycosylation of glycoproteins with trifluoromethanesulphonic acid: elucidation of molecular structure and function[J]. *Biochem J* 2003, 376(Pt 2): 339

[责任编辑: 孙德泉]