

文章编号: 1005-0906(2003)01-0083-03

游离脯氨酸在玉米灰斑病抗性机制中作用的研究

郭红莲¹, 陈捷², 高增贵²

(1. 中科院大连化学物理研究所, 大连 116023; 2. 沈阳农业大学, 沈阳 116061)

摘要: 在灰斑病菌侵染的 6 个抗、感性不同的玉米品种中, 苗期和成株期表现出相同的趋势, 游离脯氨酸含量的变化与品种的抗性成正相关, 表明游离脯氨酸的变化是玉米灰斑病抗性机制中重要的指标之一。

关键词: 脯氨酸; 玉米; 灰斑病

中图分类号: S513.034.2

文献标识码: A

Study on the Role of Proline in Resistance Mechanism to Gray Leaf Spot of Corn

GUO Hong-lian¹, CHEN Jie², GAO Zeng-gui²

(1. Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023;

2. Shenyang Agricultural University, Shenyang 116061, China)

Abstracts: In the six cultivars either resistant or susceptible to gray leaf spot of corn, which infected by *Cercospora zeae-maydis*, the seedling and adult leaves showed the similar trend that the changes of dissociative proline was positively close to the cultivars' resistance. It showed that proline may be one of the key factors of resistance mechanism.

Key words: Proline; Maize; Gray leaf spot of corn

玉米灰斑病是近年流行于我国东北地区的一种玉米叶部病害, 危害严重^[1], 而目前生产上还缺乏高抗的栽培品种, 制约了玉米生产的发展。研究玉米灰斑病的抗性机制, 对今后在生理生化或分子水平抗性品种的选育、揭示品种抗病性的本质均具有重要意义。

在多种逆境条件下, 植株体内脯氨酸的积累是一种普遍现象。已经证明, 外源脯氨酸具有清除活性氧自由基的作用^[2], 植株体内游离脯氨酸与植物抗病的关系如何呢, 本试验拟通过遗传背景相近的不同抗性玉米在受到灰斑病菌侵染时的脯氨酸含量的变化, 来探讨游离脯氨酸在玉米灰斑病抗病机制中的作用。

1 材料和方法

1.1 供试品种

选取抗感性不同的 6 个主要品种: 沈试 30 和沈试 29 (东亚种苗公司提供), 掖单 13 和铁单 9 (丹东农科院提供)、丹玉 16 (辽宁农科院提供) 和冀丰 58

(河北农科院提供)。

1.2 供试病原菌

玉米灰斑病亲和菌株 G-6 (*Cercospora zeae-maydis*), 沈阳农业大学免疫室提供。病菌在 V-8 培养基上培养 15 d 后, 以无菌水冲刷, 配成浓度为 $1-2 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ 的孢子悬浮液备用。

1.3 播种与接种

1.3.1 苗期试验

供试玉米品种, 经温汤浸种 (55℃, 15 min) 消毒后, 播种于温室花盆 (20 × 15 cm) 中, 每盆 5 株。营养土取自沈阳农大试验田。在 6~8 叶期叶面喷雾接种, 保湿 4~7 d, 用以清水喷雾处理的叶片为空白对照。分别在接种第 0、3、5、7、9、11、13 d 取样, 每次取生长势一致的第 5、6 叶片进行试验。25 d 后调查病害发生情况。

1.3.2 成株期试验

小区行长 5 m, 每区 5 行。在玉米抽雄前期 (7 月 10 日左右) 选连续阴天的傍晚, 叶面喷雾接种, 直到叶面形成一层水膜为止, 间隔 1 h 再重复 1 次, 并作为标记, 用塑料布闷棚盖保湿 1 个晚上, 分别从接种时起。在接种第 0、3、5、7、9、11、13 d 取样, 每次取生长势一致的植株穗下三叶, 25 d 后调查 5~8 叶发病情况。

收稿日期: 2002-10-11

作者简介: 郭红莲 (1971-), 女, 博士, 现为中科院大连化学物理研究所博士后。

1.3.3 发病程度调查

苗期调查: 分别在接种后 25 d 调查第 4~8 叶的病斑个数/cm²。调查方法是在第 4~8 叶截去叶尖和叶基各 2 cm, 计算叶面积后, 调查病斑个数, 算出每 cm² 叶面的病斑面积百分比。

成株期调查: 病害分级标准参照吴纪昌(1997)标准进行。

1.4 脯氨酸含量测定

参照张宪政等(1994)的磺基水杨酸法进行测定。取 0.6 g 玉米叶片, 加入 3% 磺基水杨酸 6 mL, 在研钵中研磨后以 10 000 rpm 4℃ 离心 10 min。上清液 2 mL, 加入 2.5% 的酸性茚三酮、冰醋酸各 2 mL, 沸水浴煮 30 min, 冷却后加入 4 mL 甲苯充分振荡, 于遮光条件下萃取 1 h, 取上相在 520 nm 下比色测定, 空白用 3% 磺基水杨酸代替上清液按同样步骤进行。

2 结果与分析

2.1 品种抗性比较

通过人工接种的方法, 测定了供试 6 个品种在苗期和成株期对灰斑病的抗性情况, 结果见表 1。其中苗期的发病情况是 3 次接种取样后发病情况的平

均值, 成株期的病情指数两年重复测定的平均值。因为苗期接种后发病率远低于成株期, 因此以病斑面积占健叶面积的百分数来表示, 从表中可以看出, 供试的 6 个品种可以分为感病、中度感(抗)病和抗病三类。

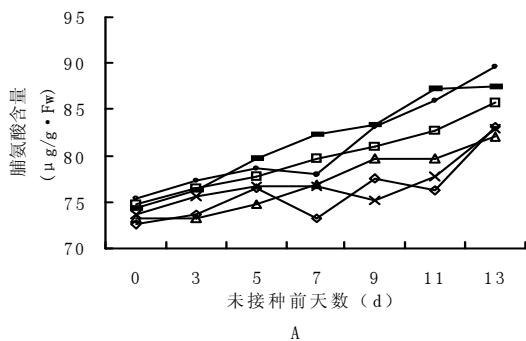
表 1 接种后不同品种的抗性比较

玉米品种	苗期病斑(cm ² /100 cm ² 健叶)	成株期病指	抗性级别
掖单 13	7.48 a	66.32 a	S
铁单 9	6.94 a	70.05 a	S
丹玉 16	6.48 ab	60.18 b	MR
冀丰 58	6.26 ab	57.13 b	MR
沈试 29	5.02 b	50.16 c	HR
沈试 30	4.33 b	53.06 c	HR

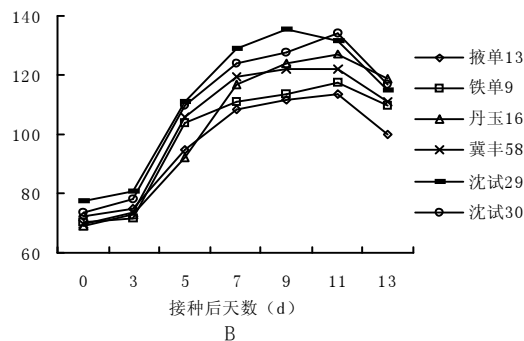
2.2 脯氨酸含量的变化

2.2.1 苗期脯氨酸含量的变化

从图 1-A 可以看出, 所有供试品种在未接种时的脯氨酸含量随生育期的增加而呈增加的趋势, 但增加的幅度不大, 都在 75 μ g 到 82 μ g/g·Fw 之间, 而且对其取均值发现, 以沈试 29 和沈试 30 的本底脯氨酸含量为多, 说明在未接种处理的玉米苗期叶片中, 抗病品种沈试 29 和沈试 30 细胞抗逆能力强于感病品种。



A 对照未接种含量



B 接种后含量

图 1 苗期不同品种的游离脯氨酸含量的变化

抗性不同玉米的品种在接种后游离脯氨酸含量均有不同程度的上升(图 1-B)。所有品种均是在接种后 3 d 内脯氨酸变化幅度不大, 而在接种后第 3 d 到第 5 d 内上升幅度最大, 到接种后第 9 d 时沈试 29 的脯氨酸含量达峰值, 为每克鲜重中含 132.64 μ g。脯氨酸比初接种时脯氨酸值高出了 82.78%, 比当时对照高出 49.57%, 而沈试 30 的脯氨酸含量的高峰值是在接种后第 11 d, 脯氨酸含量比当时对照未接种的叶片高 46.84%, 其余 4 个品种在接种第 9 d 时脯氨酸含量也达峰值, 感病品种掖单 13 比同期对照高出了 56.67%, 增加量甚至高出了抗病品种, 所有

品种在达到峰值后脯氨酸含量以不同速度降低, 其中下降最快的是感病品种掖单 13, 尤其在后期更明显。细胞内可溶性脯氨酸含量的升高反映出细胞在病菌侵染时束缚水的能力增强, 从而使细胞蛋白保持其空间结构, 保持膜的正常生理活动, 因此从脯氨酸含量的变化可以反映出沈试 29 和沈试 30 的抗逆能力强。在病菌侵入时, 感病品种细胞维持正常生理活动的的能力弱于抗病品种, 因而表现症状严重。

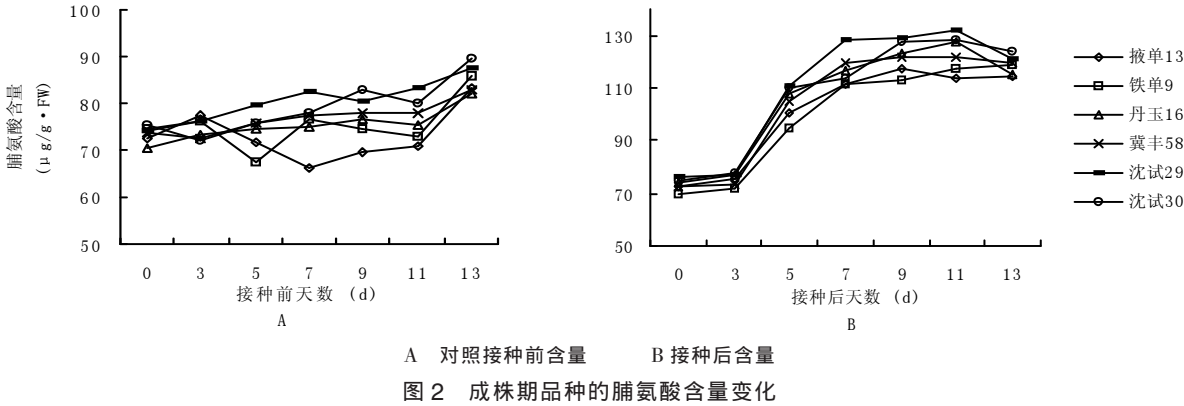
2.2.2 成株期玉米叶片中脯氨酸含量的变化

从图 2-A 可以看出, 所有供试品种在未接种时的脯氨酸含量变化趋势不明显, 变化幅度不大, 在

15 到 40 之间,抗病品种沈试 29 和沈试 30 在未接种时的脯氨酸含量较高,而感病品种掖单 13 和铁单 9 的本底脯氨酸含量较低。

同苗期相似,所有品种均是在接种第 3 d 以后迅速上升(2-B)。6 个供试品种在第 3~5 d 内上升幅度都是最大,而沈试 29 的叶片脯氨酸含量仍保持迅速增加,到接种后第 7d 时达到第一个高峰值,为每克鲜重中含 7.94 μg 脯氨酸,以后略有下降,到接

种后第 11 d 时又达第二个高峰,为每克鲜重中含 81.79 μg ,而沈试 30 的脯氨酸含量的高峰值是接种后第 11 d,此时每克鲜重中含量为 78.64 μg 。感病品种掖单 13 在接种后第 11d 达到峰值,以后所有品种均略呈下降趋势。在供试的 6 个品种中,在接种后第 3 d 到 11 d 之间,脯氨酸含量增长最快的是抗性品种沈试 30,最低的是感病品种掖单 13。而下降最快的是感病品种掖单 13,其次是铁单 9。



结合图 2-A 和图 2-B,可以看出成株期抗病品种沈试 29 在接种后第 7~11 d 内的脯氨酸含量均保持了较高值,最大时比对照高出 1.46 倍,而沈试 30 在接种后第 11 d 时的脯氨酸含量比对照高出了 1.6 倍。而感病品种相对较低。

2.2.3 苗期与成株期脯氨酸含量的比较

表 2 未接种品种的脯氨酸含量的差异比较		
品 种	苗期均值	成株期均值
沈试 29	81.52 a	80.53 a
沈试 30	81.17 a	79.17 a
冀丰 58	75.96 c	76.54 b
丹玉 16	76.36 bc	75.53 b
铁单 9	77.59 b	73.33 bc
掖单 13	75.91 c	74.66 c

对未接种的各品种的脯氨酸含量取平均值,进行新复极差测验。结果表明,苗期品种中抗病品种与其它四个品种间脯氨酸含量存在明显差异,而这种趋势在成株期表现更为明显,在抗病品种、中抗品种和感病品种之间的脯氨酸含量都存在明显差异。苗期细胞可溶性脯氨酸的均值与发病情况的相关性都达到了极显著水平。对苗期与成株期脯氨酸含量的差异做方差分析,可见苗期脯氨酸含量比对照升高的值与苗期发病情况呈显著负相关,相关系数 $r=-0.76$;成株期脯氨酸含量的增值与病情指数相关系数为 $r=-0.78$,相关性显著,成株期未接种的本底脯氨酸含量与病情指数成极显著负相关,相关系数为 $r=-0.90$ 。

3 讨 论

许多研究表明,脯氨酸是细胞渗透调节的重要物质,具有很高的水合能力。Paleg 等(1981)认为,在热胁迫下脯氨酸能维持蛋白质的构象,减轻热冲击对蛋白质空间结构的破坏。本文研究表明,在感染灰斑病菌的不同植株体内,苗期品种中游离脯氨酸含量的变化与成株期的变化趋势相似,而且变化幅度也相近,说明在玉米对灰斑病菌的抗性表现过程存在相近之处,说明在病原菌侵染的逆境条件下,细胞内游离脯氨酸变化可能是玉米抵抗病原菌侵染的机制之一,可能是通过保护酶的空间结构,为生化反应提供足够的自由水及生化和生理活性物质,从而对细胞起保护作用,这方面的研究还有待于进一步探索。

参考文献:

[1] 吴纪昌,马丽君,王作英. 玉米抗尾孢菌叶斑病鉴定与抗病材料利用[J]. 辽宁农业科学,1997 (5): 25-29 .
[2] voetberg GS, sharp RE. Growth of the maize primary root at low water potentials III, role of increased proline deposition in osmotic adjustment[J]. Plant physiol, 1991, 96: 1125-1130 .
[3] 张宪政,陈凤玉,王荣富. 植物生理学实验技术[M]. 辽宁科技出版社,1994 . 9 .
[4] 袁晓华,杨中汉. 植物生理生化实验[M]. 高等教育出版社,1983 .