

立枯丝核菌毒素对人参防御酶活性及丙二醛含量的影响

史俊卿¹, 张浩¹, 于红威¹, 葛善欣², 尹春梅^{1*}

(1.吉林农业大学 中药材学院, 吉林 长春 130118; 2.长春市农业科学院 园艺研究所, 吉林 长春 130000)

摘 要: 用稀释 50、100、200 倍立枯丝核菌粗毒素分别处理 1 月龄人参幼苗, 测定 0、1、3、6、12、24 h 后人参幼苗叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性及丙二醛(MDA)含量。结果表明, 经立枯丝核菌粗毒素处理后, 人参幼苗防御酶活性先升高后降低; 丙二醛含量则一直维持较高的水平, 且呈现持续上升趋势。

关 键 词: 人参; 立枯丝核菌毒素; 防御酶活性; 丙二醛

中图分类号: S567.5⁺10.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)04-0434-03

Effects of *Rhizoctonia solani* toxin on defensive enzyme activity and MDA content in *Panax ginseng*

SHI Jun-qing¹, ZHANG Hao¹, YU Hong-wei¹, GE Shan-xin², YIN Chun-mei^{1*}

(1.College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2.Horticultural Institute, Changchun Agricultural Academy of Science, Changchun 130000, China)

Abstract: The annual ginseng seedlings were treated with three concentrations of *Rhizoctonia solani* toxin. The activity of the superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), peroxidase(POD) and malondialdehyde(MDA) content was measured after 0, 1, 3, 6, 12, 24 h treatment respectively. The results showed that the effects of *Rhizoctonia solani* crude toxin on defensive enzyme activity in ginseng seedling firstly increased and then decreased while MDA level remained high and kept rising.

Key words: *Panax ginseng*; *Rhizoctonia solani* toxin; defensive enzyme activity; malondialdehyde

立枯病是人参主要苗期病害, 发病率一般在 8%~32%, 严重者可高达 40%, 影响人参保苗率和产量、质量。立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani* Kuhn)是人参立枯病的病原菌。立枯丝核菌毒素引起水稻、小麦等农作物发病、萎蔫, 甚至死亡^[1-3]。笔者研究立枯丝核菌毒素对人参幼苗叶片内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)的活性及丙二醛(MDA)含量的影响, 以期为人参立枯病的防治及抗性育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

人参 1 月龄幼苗, 采自吉林农业大学药用植物园。立枯丝核菌系吉林农业大学中药材学院微生物实验室保存。

1.2 方 法

1.2.1 立枯丝核菌毒素的提取

将立枯丝核菌菌种接种到 PSA 培养基上, 25 ℃

收稿日期: 2010-02-04

基金项目: 国家科技部星火计划项目(2009GA660002)

作者简介: 史俊卿(1981—), 男, 山西原平人, 硕士研究生, 从事药用植物栽培与育种; *通讯作者, chunmeiy2003@yahoo.com.cn

暗培养 3~4 d, 转入改良 Richard II 培养液中, 27 °C 暗培养 20 d, 加入等体积的乙酸乙酯, 振荡、过滤后收集有机相, 重复 3 次, 合并有机相, 8 500 r/min 离心 15 min, 40 °C 真空旋转蒸发浓缩, 所得淡黄色浆状物即为立枯丝核菌粗毒素^[4-6]。

1.2.2 立枯丝核菌毒素处理人参幼苗

取 1 月龄人参幼苗, 无菌水冲洗根部后, 将根部浸泡在不同稀释倍数(50、100、200)的立枯丝核菌毒素液和对照组(蒸馏水)中。人工气候培养箱中培养: 温度 25 °C, 光照度 5 000 lx^[1]。分别在 0、1、3、6、12、24 h 时取幼苗叶片样。

1.2.3 防御性酶活性测定

称取人参幼苗叶片 0.50 g, 置于预冷研钵中, 加 0.2 g 石英砂和 2 mL 预冷的 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH8.8), 冰浴研磨匀浆, 转移至 10 mL 离心管中, 用磷酸缓冲液冲洗研钵 2~3 次(每次 1~2 mL), 合并冲洗液于离心管中, 用缓冲液定容至 10 mL, 4 °C 下 10 000/min 离心 15 min, 取上清液 5 mL, 4 °C 保存备用。

SOD、POD、CAT 活性和 MDA 含量测定参照文献[7、8], 并略有改动。

2 结果与分析

2.1 SOD 活性变化

由图 1 可看出, 立枯丝核菌毒素处理人参幼苗后, SOD 活性均呈现先上升后下降的变化, 其中稀释 50、100 倍处理的峰值在处理 6 h, 而稀释 200 倍处理出现峰值的时间则在 7~10 h。在活性下降阶

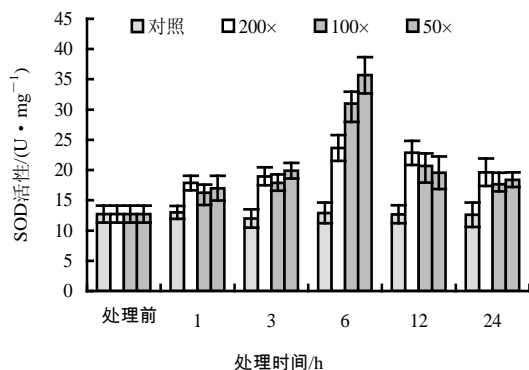


图 1 立枯丝核菌毒素对人参幼苗 SOD 活性的影响

Fig.1 Effect of *Rhizoctonia solani* toxin on SOD activity in ginseng seedlings

段, 稀释 50、100 倍处理的 SOD 活性变化比稀释 200 倍处理快, 且变化幅度较大。

2.2 CAT 活性变化

由图 2 可看出, 立枯丝核菌毒素处理人参幼苗后, CAT 活性也是先上升后下降, 稀释 50、100 倍处理, 峰值出现得较稀释 200 倍处理早, 且上升和降低都要快, 到 24 h 时, 50 倍处理的 CAT 活性已经接近对照组的活性, 说明此时人参幼苗叶片细胞防御系统对毒素处理的反应已基本消失。

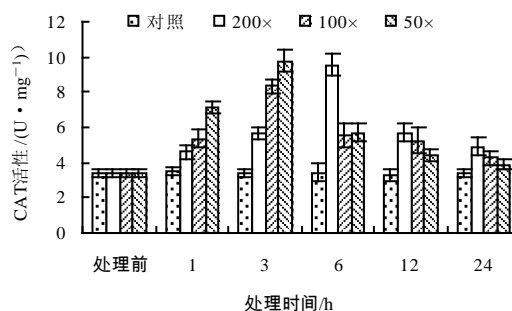


图 2 立枯丝核菌毒素对人参幼苗 CAT 活性的影响

Fig.2 Effect of *Rhizoctonia solani* toxin on CAT activity in ginseng seedlings

2.3 POD 活性变化

从图 3 可看出, 与 SOD、CAT 一样, 立枯丝核菌毒素处理人参幼苗后, POD 的活性先升高再降低, 且稀释 200 倍处理的 POD 活性峰值出现得较稀释 50、100 倍处理晚。

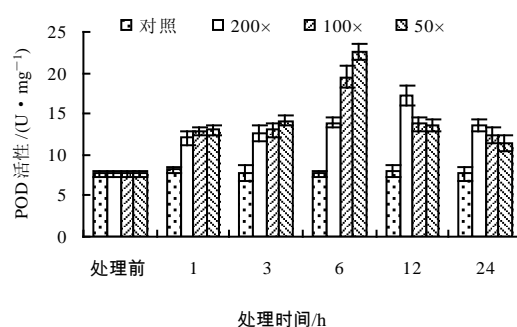


图 3 立枯丝核菌毒素对人参幼苗 POD 活性的影响

Fig.3 Effect of *Rhizoctonia solani* toxin on POD activity in ginseng seedlings

2.4 MDA 含量变化

由图 4 可看出, 稀释 50 倍处理在处理 24 h 后 MDA 的含量比稀释 200 倍处理高出 67.6%, 而对照组 MDA 含量在 24 h 后基本没有变化。

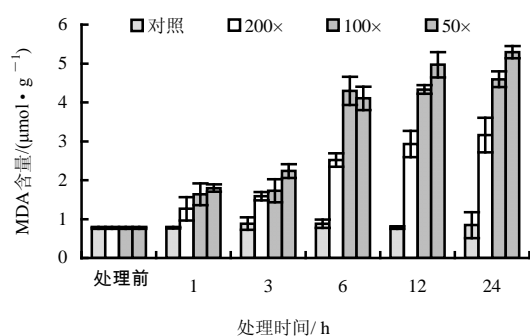


图 4 立枯丝核菌毒素对人参幼苗 MDA 含量的影响

Fig.4 Effect of *Rhizoctonia solani* toxin on MDA content in ginseng seedlings

3 讨论与结论

立枯丝核菌毒素处理人参幼苗,当人参幼苗感受到毒素的胁迫时,诱导自身产生系统抗性,表现在SOD、CAT、POD等防御酶活性的变化.当防御酶活性升高时,自身的防御系统开始起作用,减轻毒素对人参幼苗的伤害,但这种防御是有限的.随着胁迫时间延长和毒素浓度增大,毒素对细胞的伤害程度超过了这种自身的防御能力时,防御性酶活性开始降低,当处理时间足够长的时候酶活性消失,自身的防御能力也随即消失,导致细胞失活,最终整个植物死亡^[9-12].有研究^[13-14]表明,丙二醛能够抑制细胞保护酶的活性和降低抗氧化物的含量,从而加剧膜脂过氧化.本研究中MDA的含量变化也符合这种防御能力的变化.在处理 24 h后MDA含量达到了峰值且仍有继续升高的趋势.当MDA不断地升高,膜脂氧化的程度也在加剧,从而加速了细胞的死亡.

参考文献:

[1] 康宵文,陈捷,龙晓波,等.水稻纹枯病菌毒素的初

步研究[J].沈阳农业大学学报,1992,23(1):19-22.

- [2] 陈夕军,徐艳,童蕴慧,等.水稻纹枯病菌毒素致病机理研究[J].植物病理学报,2009,39(4):439-443.
- [3] Blair D. Study on the growth in soil and the parasitic action of certain *Rhizoctonia solani* isolates from wheat[J]. Can J Res, 1942, 20: 174-185.
- [4] 陈捷.现代植物病理学研究方法[M].北京:中国农业科学技术出版社,2007:274-280.
- [5] 徐敬友,张东华,张红,等.立枯丝核菌毒素的产生及与致病力的关系[J].扬州大学学报:农业与生命科学版,2004,25(2):61-64.
- [6] Gaumann E. Fusser acid as a wilttoxin[J]. Phytopathology, 1957, 47: 342-357.
- [7] 高俊凤.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2006:130-142.
- [8] 张志安,张美善,蔚荣海,等.植物生理学实验[M].北京:中国农业科学技术出版社,2004:141-147.
- [9] 赵志样,刘二明,黄红梅,等.防御酶在水稻抗瘟性中的作用[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2007,33(6):744-746.
- [10] 吴洪生,尹晓明,刘东阳,等.镰刀菌酸毒素对西瓜幼苗根细胞跨膜电位及叶细胞有关抗逆酶的抑制[J].中国农业科学,2008,41(9):2641-2650.
- [11] 董金皋,樊慕贞,韩建民,等.芸薹链格孢菌毒素对白菜细胞膜透性、SOD酶和POD酶活性的影响[J].植物病理学报,1999,29(2):138-141.
- [12] 董金皋,闫淑娟.玉米大斑病菌 HT-毒素对玉米细胞CAT酶活性的影响[J].植物病理学报,1999,29(4):372-373.
- [13] 曾韶西,王以柔.低温胁迫对黄瓜子叶抗坏血酸过氧化物酶活性和谷胱甘肽含量的影响[J].植物生理学报,1990,16(1):37.
- [14] 陈少裕.膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J].植物生理学通讯,1991,27(2):84-90.

责任编辑:罗慧敏

英文编辑:胡东平