

# 水稻多酚氧化酶活性与白叶枯病抗性遗传的研究

陈 彪<sup>1</sup>, 周桂元<sup>2</sup>, 王润华<sup>3</sup>

(1 湛江海洋大学生物技术中心, 广东 湛江 524088;

2 广东农业科学院作物研究所, 广东 广州 510640; 3 华南农业大学农学系, 广东 广州 510642)

摘要: 水稻多酚氧化酶活性的遗传最少由 5 对微效基因控制; 遗传效应的组成中, 以加性效应为主要, 但也表现出较大的显性效应, 不存在显著的上位性; 水稻对白叶枯病的抗性 with 多酚氧化酶活性呈显著遗传相关; 受白叶枯病侵染后, 最少有另外 4 对基因被激活。

关键词: 水稻; 白叶枯病; 多酚氧化酶活性; 遗传分析

中图分类号: Q384

文献标识码: A

水稻白叶枯病 (*Xanthomonas campestris* PV. *Oryzae*) 抗性 with 次生代谢酶系统关系的研究已有一些报道。但以抗病性与过氧化物酶活性的关系研究比较多<sup>[1, 2]</sup>, Mayer 等着重从生物化学的角度研究了植物组织醌酚转化反应中多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO) 的作用<sup>[3]</sup>; 王国梁等确认了多酚氧化酶与抗病性有一定的关系<sup>[4~6]</sup>。然而, 从遗传学的角度研究白叶枯病 with 多酚氧化酶活性的关系少见报道。作者应用 Hayman 模型<sup>[7]</sup>对多酚氧化酶活性进行了遗传分析, 并探讨了水稻叶片受白叶枯病原菌侵染后酶活性的变化以及抗病性与酶活性之间的遗传相关, 为水稻抗白叶枯病育种提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

包括从高抗到高感不同抗级的 6 个籼稻亲本, 各亲本名称分别是 IR38 (HR)、七加占 (R)、TKM<sub>6</sub> (MR)、IR22 (MS)、TN1 (HS)、IR56 (HS), 并分别编号为 1、2……6。亲本材料经 2 代以上自交纯化。按 6×6 完全双列杂交, F<sub>1</sub> 田间设计为 3 次重复的随机区组设计, 每小区种植 30 株。

### 1.2 病原菌液制备及接种方法

抗病性鉴定菌株用华南农业大学植保系保存的 RX139 菌株。该菌株经致病力鉴定为具有稳定致病力的第 IV 群<sup>[8]</sup>。

田间接种在移植后 80 d 进行, 菌液浓度为 3×10<sup>12</sup> 个/L, 剪剑叶接种, 20 d 后测量所有供试材料的病斑长度 (用 *l* 表示)。

### 1.3 取样

接种后 7 d, 剪取已接种的叶片和同株对应叶位

健康叶片各 1 片, 置于盛有冰块的瓶中。剪叶顶部 8 cm 左右称重, 加 4 mL 蒸馏水研磨, 放入冰箱中保存, 作酶活性测定备用液。

### 1.4 酶活性测定

酶活性测定参考文献[9]方法。取备用上清液 0.1 mL, 1.9 mL 的 0.02 mol/L 磷酸缓冲液 (pH7), 和 1.0 mL 的邻苯二酚混合, 反应时间 120 s, 然后加 0.5% 磷酸中止反应, UV-1206 型紫外分光光度计在 395 nm 波长下测定吸光值, 未加备用液为空白对照。酶活性单位为每克鲜质量吸光值/min。

### 1.5 统计分析方法

酶活性遗传分析采用 Hayman 完全双列杂交模型<sup>[7]</sup>, 相关分析用方差、协方差随机模型。最少基因数的估算按 Wright 模型<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 白叶枯病原菌侵染前 PPO 活性的遗传分析

对供试的一个完全双列杂交系统测定 PPO 活性 (*E<sub>b</sub>*), 按 Hayman 模型求得亲子协方差 (*Wr*) 和序列方差 (*V<sub>r</sub>*), 并估算出 *Wr/V<sub>r</sub>* 的线性回归  $Wr = -692.3416 + 1.1478V_r$ 。 *Wr* 与 *V<sub>r</sub>* 的相关系数  $r = 0.886^{**}$ ,  $b = 1.1478 \pm 0.3001$ , *b* 与 0 差异显著, 且 *b* 与 1 差异不显著, 说明符合 Hayman 模型。  $a = -692.3416 \pm 1931.1490$ ,  $a < 0$  且 *a* 与 0 差异不显著, 说明该性状表现为超显性不显著, 当属完全显性。限制抛物线  $Wr^2 = 13884.4967V_r$ , 亲本值 (*Pr*) 与 *Wr* + *V<sub>r</sub>* 的相关系数为 -0.5007, 相关不显著, 说明显性基因为微正效基因, 隐性基因为微负效基因。表 1 列出了供试遗传效应的组成。

表 1 PPO 活性遗传效应的组成<sup>1)</sup>  
Tab. 1 PPO activity genetic components<sup>1)</sup>

遗传成分	加性 $D$	$p = q$ 时显性 $H_1$	$p \neq q$ 时显性 $H_2$	上位性 $F$	环境 $E$
genetic component	additive $D$	$p = q$ , dominant $H_1$	$p \neq q$ , dominant $H_2$	epistasis	environment
遗传参数	13 821. 248 *	23 603. 418 *	11 596. 565 *	8 073. 123	63. 252
genetic parameter					

1)  $p$  为显性基因频率,  $q$  为隐性基因频率

从表 1 可见, PPO 活性的遗传效应中, 以可固定遗传的加性成分 ( $D$ ) 为主要, 达到显著水平, 但显性成分也不能忽视. 遗传结构中, 不论显隐性基因的频率是否相等, 显性效应也都达到显著水平. 求得平均显性度  $(H/D)^{1/2} = 0.992\ 1$ , 与势能比  $p.r = 0.982\ 7$  加以比较, 两者近乎相等, 可判定所有显性座位均表现出方向相一致的正显性效应. 上位性 ( $F$ ) 效应不显

著, 这对该性状的选择减少一个干扰因素. 求得最少基因数  $k = 5$ , 即控制 PPO 活性的遗传最少有 5 对基因. 遗传群体的基因分布中, 显性基因频率  $p = 64.72\%$ , 隐性基因频率  $q = 35.28\%$ , 即表明以增强酶活性的正效基因为主要.

根据 Hayman 模型, 估算得群体方差组成, 见表 2.

表 2 PPO 活性群体方差组成  
Tab. 2 Variance components of PPO activity colony

方差组成	表型 ( $V_p$ )	遗传 ( $V_g$ )	加性 ( $V_d$ )	显性 ( $V_h$ )	上位性 ( $V_i$ )	环境 ( $V_e$ )
variance	total ( $V_p$ )	genetic ( $V_g$ )	additive ( $V_d$ )	dominant ( $V_h$ )	epistasis ( $V_i$ )	environment ( $V_e$ )
估值	8 937. 732	8 874. 448	3 455. 312	3 400. 855	2 018. 281	63. 252
estimate						

从表 2 的资料可估算出广义遗传力  $h_B^2 = 0.992\ 9$ , 狭义遗传力  $h_N^2 = 0.386\ 6$ ,  $h_B^2$  很大  $h_N^2$  较小, 两者相差甚大, 这也进一步说明显性效应不可忽视, 可预见杂合型表现出较强的 PPO 活性.

2.2 白叶枯病原菌侵染前、后的 PPO 活性与抗病性之间的遗传相关分析

白叶枯病原菌侵染前的 PPO 活性 ( $E_a$ )、受侵染后的 PPO 活性 ( $E_b$ ) 及侵染前后酶活性的变化值  $\Delta E = E_a - E_b$ , 与相对应叶位白叶枯病病斑长度 ( $l$ ) 之间的表型、遗传型及环境相关的估算结果见表 3.

表 3 白叶枯病原菌侵染前后 PPO 活性与病斑长度的相关系数

Tab. 3 Correlative coefficient of length of diseased leaf with PPO activity both before and after infection by bacterial blight			
项目 item	$E_b$	$E_a$	$\Delta E$
遗传型 genetic	-0.954 **	-0.849 **	-0.805 **
环境 environment	0.395	-0.076	-0.381
表现型 total	-0.370	-0.563	-0.583

$E_b$ 、 $E_a$  和  $\Delta E$  与白叶枯病斑长度 ( $l$ ) 的遗传相关都达到了很显著的水平. 我们还注意到, 遗传相关与表型相关都表现为负相关, 这一方面表明环境因素的影响较小, 增强了相关分析结果的可信度. 更为重要的是, 从负相关的结果可说明, 不论在白叶枯病原菌侵染前、侵染后, 或侵染前后的差值, PPO 活性越强, 该遗传型的病斑也就越小, 即抗病性越强.

因此, 可以认为  $E_b$ 、 $E_a$  和  $\Delta E$  也许都可以作为间接鉴定的参考指标.

2.3 白叶枯病原菌侵染前 PPO 活性与侵染前后 PPO 活性变化值之间的关系

水稻叶片受白叶枯病原菌侵染后, 对于抗病遗传型而言, PPO 活性均有显著提高, 即  $E_a > E_b$ ,  $\Delta E$  为正值, 这是在病原菌侵染后激发引起的一种自卫反应. 为探讨 PPO 活性变化值 ( $\Delta E$ ) 的遗传机理, 测定了未受病原菌侵染前 PPO 活性 ( $E_b$ ) 与  $\Delta E$  的相关系数  $r = 0.203$ , 相关不显著. 这表明, 受病原菌侵染后酶活性的提高, 与侵染前原有的酶活性水平无关. 按 Wright 模型<sup>[10]</sup> 估算了控制  $\Delta E$  的最少基因数  $K' = 4$ , 与控制  $E_b$  遗传的最少基因数  $K = 5$  作比较,  $K > K'$ . 基于以上两方面的结果, 有理由认为, 控制  $\Delta E$  的遗传与控制  $E_b$  的遗传可能有别, 即受病原菌侵染后, PPO 活性的提高可能是重新被激活基因的表现, 而与原有的控制 PPO 活性的基因无关.

3 讨论

3.1 酚类的定性组成对抗病性起主要作用, 但大部分酚类物质在天然浓度下毒性不是很高, 酚类氧化物的抗病力比酚本身还要强<sup>[11]</sup>, 酚类化合物醌是最毒的而且反应很强<sup>[12]</sup>. 多酚氧化酶催化酚类的氧化反应形成醌. 这使抗病性与 PPO 活性呈显著相关结

果得到解释.

3.2 抗病的遗传型 PPO 活性较高, 受病原菌侵染后, PPO 活性更显著的提高; 感病遗传型 PPO 活性较低, 受病原菌侵染后 PPO 活性提高不多甚至降低. 这与王润华等<sup>[2]</sup>对过氧化物酶活性与水稻白叶枯病抗性的遗传研究结果不一致. 抗病遗传型在感染白叶枯病后, 过氧化物酶提高不大, 甚至于表现下降的趋势. 多酚氧化酶与过氧化物酶同属氧化酶系统, 而在抗病性不同的遗传型的表现上存在如此大的差异. 但就提高遗传型的抗病性而言, 不失为一种有利的互补效应.

3.3 如果试图以  $E_b$ 、 $E_a$  或  $\Delta E$  作为抗性鉴别、筛选抗病遗传型的间接指标, 考虑到遗传组分中存在较大的显性成分, 对于一个分离群体, 恐怕不易取得良好的效果. 这一看法, 与刘桂富等<sup>[1, 2]</sup>对过氧化物酶研究的看法相一致.

参考文献:

[ 1 ] 刘桂富, 王润华. 水稻过氧化物酶活性变化值遗传效应的组分分析[ J ]. 华南农业大学学报, 1996, 17(4): 35~40.

[ 2 ] 王润华, 陈伟栋, 刘桂富, 等. 过氧化物酶活性变化值与水稻白叶枯病抗性的遗传相关研究[ J ]. 华南农业大学学报, 1997, 18(1): 75~80.

[ 3 ] MAYER A M, HAREL E. Polyphenol oxidases in plants[ J ].

Phytochemistry, 1979, 18: 193~215.

[ 4 ] 王国梁, 卢浩然, 陈启峰. 水稻品种抗瘟性生化鉴定的研究[ J ]. 福建农学院学报, 1986, 15(3): 327~332.

[ 5 ] 李华琴. 小麦抗感白粉病生理生化特性的研究. II[ J ]. 贵州农业科技, 1983, (2): 40~45.

[ 6 ] 刘娟, 王智昕, 汪宜宣, 等. 小麦在叶锈病侵染过程中过氧化物酶及多酚氧化酶活性的变化[ J ]. 河北农业大学学报, 1989, 12(3): 41~46.

[ 7 ] HAYMAN B I. The theory and analysis of diall crosses[ J ]. Genetics, 1954, 36(6): 789~809.

[ 8 ] 王润华, 卢永根. 水稻白叶枯病的抗性遗传及其在杂交后代选择效果的研究[ J ]. 华南农业大学学报, 1995, 16(1): 1~6.

[ 9 ] ANOSIRE E O, JIMELUKWE P O. Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from Cocoyam, *Xanthosoma sagittifolium* [ J ]. Journal of Experimental Botany, 1982, 33(134): 487~494.

[ 10 ] WRIGHT S. An analysis of variability in number of digits in aninbed strain of guinea pigs[ J ]. Genetics, 1934, 19: 506~536.

[ 11 ] 张尤凯, 周桂元, 王润华. 作物抗病性生化机制的遗传研究进展[ J ]. 中国农学通报, 1997, 13(5): 43~44.

[ 12 ] OKU H. Role of parasite enzymes and toxins indevelopment of charactristic symptoms in plant disease[ A ]. In: MIROCHA C J, URITANI I, eds. The dynamic role of molecular constituents in plant parasite interaction [ C ]. St paul Minnesota: bruce Publ comp Co, 1967. 237~255.

Study on Heredity of Enzymes for Polyphenol Oxidases  
in Rice and Resistance to Bacterial Blight

CHEN Biao<sup>1</sup>, ZHOU Gui-yuan<sup>2</sup>, WANG Run-hua<sup>3</sup>

(1 Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang 524088 China; 2 Crops Research Institute Guanglong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640 China; 3 Dept. of Agronomy, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The polyphenol oxidase activity in rice is controlled by five pairs of minigenes at least. Additive effect is mostly factor within genetic effect, there are also fairly dominant effect, and not exiting epistasis effect. There are strongly genetic correlation between the polyphenol oxidase activity in rice and resistance to bacterial blight (*Xanthomonas campestris* PV. *Oryzas*). There was four other pairs of actived minigenes at least infected by bacterial blight.

**Key words:** rice; bacterial blight; the polyphenol oxidase activity; genetic analysis

【责任编辑 张 砾】