

SMV1 号对大豆膜质过氧化 及保护酶体系的影响*

刘丽君 高明杰

(黑龙江省农科院大豆研究所)

郑蔚红

(齐齐哈尔师范学院)

提 要

本文从大豆膜质过氧化反应及其保护酶体系的变化、过氧化物酶和苹果酸脱氢酶同工酶的表达特性,分析了不同类型的大豆品种对大豆病毒病1号生理小种(SMV1)侵染后的生理生化反应。研究表明:大豆品种经SMV1号株系诱导后,感病品种丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)活性增加幅效较大,抗病品种增加较少。过氧化氢酶(CAT)活性的表达则相反,在花叶病毒侵染条件下,感病与抗病品种过氧化物酶和苹果酸脱氢酶同工酶的表达存在着明显的差异。感病品种,过氧化物同工酶活性增强,并产生了一些大分子酶蛋白,苹果酸脱氢酶同工酶活性也明显增强;而抗病品种的过氧化物酶及苹果酸脱氢酶同工酶的表达则没有改变,只是过氧化物酶同工酶的活性有所增强。植株体内的生理生化反应和变化与品种的抗性相一致。

关键词 SMV;膜质过氧化;保护酶

大豆花叶病为世界性大豆病害,流行广、危害重。世界各大豆生产国都在开展抗大豆花叶病的研究工作。近些年来,在抗源材料的抗性基因鉴定及遗传规律、病毒株系的划分、抗病品种抗性丧失频率、病毒外壳蛋白的合成与症状(Roberts, 1981, Hillman 1985)等方面做了较多的研究。而利用生化、电泳技术来研究SMV的分子生物学特性的工作,国内报道较少。因此本试验试图通过在同一环境下,接种同一毒株后不同类型的大豆品种植株间的

* 省自然科学基金资助项目。

本文于1995年7月18日收到。

This paper was received on July 18, 1995.

症状表现,探索 SMV 病症形成时,大豆植株体内膜质过氧化及保护酶体系的变化,借已为抗性鉴定指标的确立、抗性机制和选育抗病品种提供基础理论数据。

材料和方法

1. 供试材料:

感病品种:黑农 34、合丰 25

抗病品种:黑农 39、哈 88—2501

合丰 33、哈 89—2496

2. 供试病毒:

大豆花叶病毒 1 号株系,由东北农业大学大豆研究所提供。

3. 接种与取样:

供试材料的每个品种(系),播种 12 盆,每盆 4 株,置于防虫网室内,于真叶一复叶期采用汁液摩擦法接种 SMV1 号株系,接种后两周进行采样测定。

4. 样品分析方法:

苹果酸脱氢酶和过氧化物酶同工酶采用 PAGE 电泳检测技术。苹果酸脱氢酶的染色法为:1mol/L L-苹果酸钠盐底物溶液配以辅酶 I 和 NBT、PMS 的 0.2mol/L Tris-HCl 缓冲液。

过氧化物酶的染色,采用醋酸联苯胺染色法。

超氧化物歧化酶的测定:采用 NBT 法进行。

丙二醛含量的测定:参照王爱国 1986 年的方法进行。

结 果

一、SMV1 号小种侵染大豆后的膜质过氧化反应

丙二醛(MDA)是细胞膜质过氧化的有毒代谢产物。通过对大豆叶肉细胞内丙二醛含量的变化,可反应品种在病毒病侵染条件下,叶肉细胞内膜质的过氧化水平。从表 1 看到:大豆品种经 SMV1 号株系诱导后,感病品种黑农 34、合丰 25 的丙二醛含量增加较多,达 11.0%左右,而抗病品种,体内丙二醛的含量,增加较少,有的高抗材料,如黑农 39、合丰 33,在病毒作用下,体内产生的丙二醛含量比无病条件下还要低,说明高抗材料对膜脂的过氧化调节能力是很强的。

二、SMV1 号对大豆膜脂过氧化保护酶体系的影响

超氧化物歧化酶(SOD 酶)、过氧化氢酶是细胞膜免受过氧化的两个保护酶,它在清除细胞内自由基,提高体内抗逆性方面起到了重要的作用。参试品种在 SMV1 号株系诱导后,感病品种超氧化物歧化酶活性增加幅度较大,而抗病品种体内的超氧化物歧化酶活性变化不大(见表 2),这说明病毒的侵染,对抗病品种防御体系的影响不是很大,而对感病品种,防御体系的影响较重,因而导致保护酶活性增强,用于增加对病毒的防御。这种由

表 1 大豆对 SMV1 号小种侵染后的膜质过氧化反应

Table 1 The membranous peroxidatic reaction of different soybean cultivars inoculated with SMV1

品 种 Cultivars	处 理 Treatment	对 SMV1 号小种的抗性反应 Resistant reaction for SMV1	MDA 含量 MDA content $\mu\text{mol/L} \cdot \text{g} \cdot \text{FW}$	与 ck 相比丙二醛含量的变化 MDA content contrast with ck
黑农 39	ck		1.11—02	
Heinong 39	Tri	S. 2	1.07—02	-3.74%
黑农 34	ck		5.35—03	
Heinong 34	Tri	S. 5	5.939—03	+11.01%
合丰 25	ck		8.453—03	
Hefeng 25	Tri	S. 4	9.39—03	+11.09%
哈 88—2501	ck		1.05—02	
Ha88-2501	Tri	H. R	1.18—02	+2.8%
合丰 33	ck		1.22—02	
Hefeng 33	Tri	H. R	1.08—02	-11.48%

S:感病 H. R:高抗

“活性过高”而产生对自身有害的变态反应,在免疫缺陷病植株上就表现出来了。病源胁迫积累了一种抑制过氧化氢酶的低分子物质,当过氧化物体膜受到损伤,过氧化氢酶外漏之后就受这种物质的抑制。过氧化氢酶活性的增强,标志着病毒胁迫的强度。抗病品种体内产生抑制过氧化氢酶(CAT)的物质很少,而感病品种则相反,说明病毒易使感病品种的细胞膜受到伤害。

表 2 SMV1 号对大豆膜质保护酶体系的影响

Table 2 The effect of SMV1 on membranous protective enzyme system

品 种 Cultivar	处 理 Treatment	对 SMV1 号 的 抗性反应 Resistant reac- tion for SMV1	SOD 酶活性 单位数 Unit gram of SOD activity (v. g. FW ⁻¹)	与 ck 相比 SOD 酶活性 的变化 SOD activity contrast with ck	过氧化氢酶 含量 Content of hy- drogen peroxi- dase	与 ck 相比,过 氧化氢酶含量 的变化 Hydrogen pero- xidase content contrast with ck
黑农 39	ck		446.215		5.16	
Heinong 39	Tri	S. 2	500.78	+12.063%	7.07	37.02%
黑农 34	ck		114.84		12.54	
Heinong 34	Tri	S. 5	289.063	+151.21%	—	
合丰 25	ck		195.313		19.44	
Hefeng 25	Tri	S. 4	250.00	+27.89%	16.00	-17.69%
哈 88—2501	ck		332.03		4.46	
Ha88-2501	Tri	H. R	283.594	-14.59%	5.49	+23.09%
合丰 33	ck		195.31		9.79	
Hefeng 33	Tri	H. R	203.125	+4.001%	13.05	+33.29%

三、SMV1 号对大豆叶肉细胞过氧化物酶、苹果酸脱氢酶同工酶表达的影响

同工酶是生物体中分子表达的天然标记。大豆花叶病毒侵染条件下,基因表达发生改变。抗病与感病品种 POD 的酶蛋白表达存在着明显的差异。感病品种,病毒侵染条件下,酶活性增强,产生了一些大的酶分子蛋白,这表明 SMV1 号的侵入确实能引起酶分子表达

的变化,导致寄主本身某些代谢过程及组织结构的异常。而抗 SMV1 号的大豆品种,叶肉细胞内的过氧化物酶同工酶的表达没有改变,只是酶活性有所增强(见图 1. 2)。POD 的表达差异反应了大豆细胞内部的“生化病状”,可作为筛选和鉴定大豆抗病性的一种技术。苹果酸脱氢酶是植物抗病性鉴定中的一种重要酶,不同抗病类型的大豆品种,在病毒的侵染条件下,苹果酸脱氢酶同工酶的表达类型差别不大,但酶活性变化较大,感病品种如黑农 34、合丰 25 的苹果酸脱氢酶活性明显增强。而抗病品种如合丰 33、黑农 39 的酶活性变化不大。

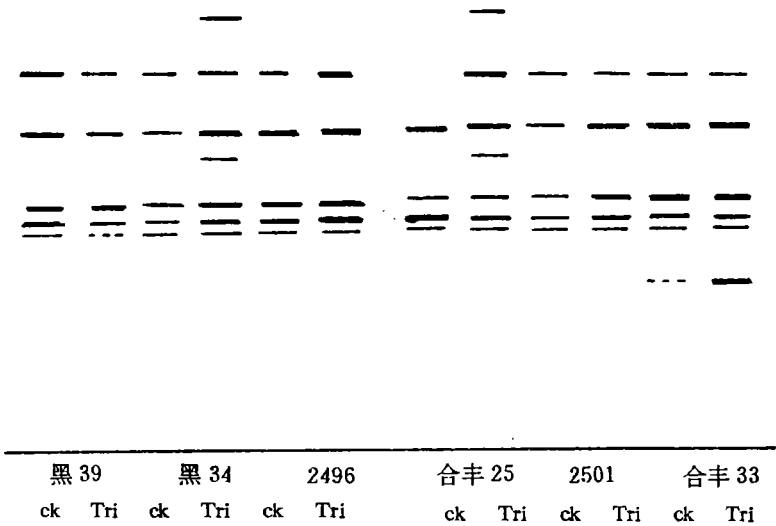


图 1 SMV1 号对不同抗性品种过氧化物酶同工酶表达的影响
Fig. 1 The effect of SMV1 on the hydrogen peroxidase expression of different cultivars

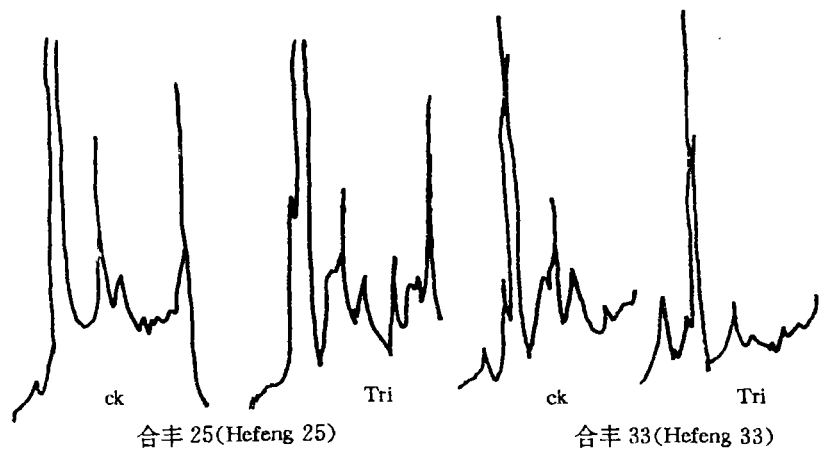


图 2 SMV1 号对不同抗性品种过氧化物酶同工酶活性的影响
Fig. 2 The effect of SMV1 on the hydrogen peroxidase activity of different cultivar

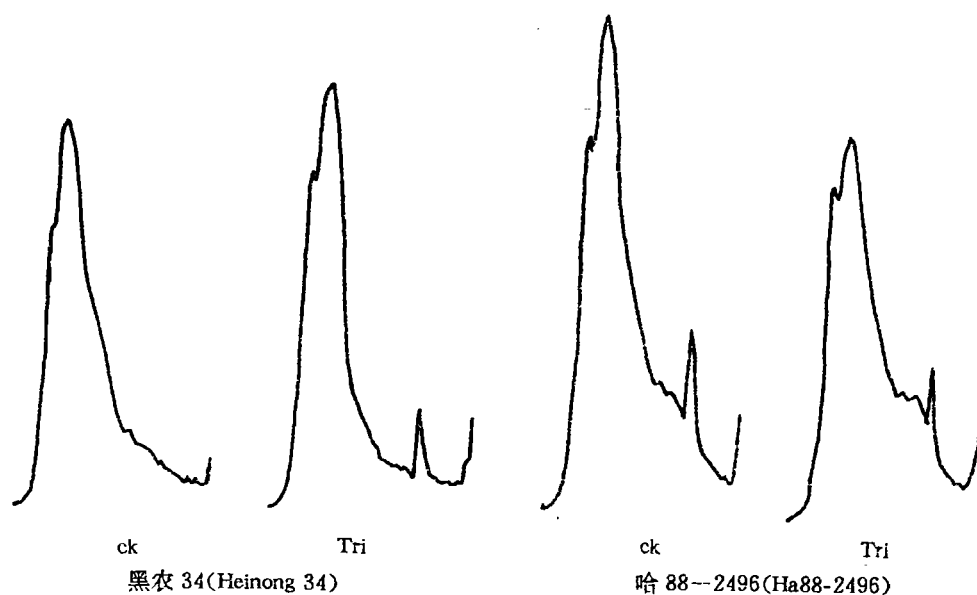


图3 SMV1号对不同抗性品种苹果酸脱氢酶活性的影响

Fig. 3 The effect of SMV1 on the malic dehydrogenase of different cultivars

讨 论

一、病毒在大豆细胞内的复制使能量代谢、结构形成、寄主酶过程失去平衡,经过一个连续的过程,最后在大豆叶片上产生外观影响。从实验结果也证实:感病植株内部新陈代谢发生明显变化是症状产生的原因,而生理生化等性状如丙二醛、过氧化氢酶、过氧化物酶同工酶的异变正是症状类型的特性特征。

二、同工酶是生物体中分子表达的天然标记,丙二醛标志着膜质过氧化反应的程度。我们对抗性不同的大豆品种接种 SMV1 号株系后,发现其过氧化物酶、丙二醛含量有明显的变化。特别是同工酶谱型具有高效的特异性,感病品种同工酶和膜质过氧化反应可看作大豆体内的“生化症状”,可利用接种后感病品种比抗病品种产生酶带多和丙二醛含量增加幅度高的特点,作为筛选抗病毒品种(系)的一种技术。

参 考 文 献

- [1] 胡蕴珠,盖钧镒等,《南京农业大学学报》,1985,(3):17~22
- [2] 黄永芬等,《哈尔滨师范大学自然科学学报》,1991.Vol. 7:207~211
- [3] 刘学军,苗以农等,《中国油料》,1992,(1):12~14
- [4] 吴宗璞等,《大豆科学》,1986,(2):153~160
- [5] 杜良成等,《植物生理学通讯》,1990,(4):1~6
- [6] 廖林,《植物病理学报》,1992,(3):271~274
- [7] Roberts, P. L., et al., 1981,《Phytopatho》2,102:257~265

- [8] Forkars. G. L. , et al. , 1965, 《Phytopatho》, 56:669~677
- [9] Kluge .S. 1970 《Physiol Planzen》 170. S91-95
- [10] Kilhl, R. A. S. and E. E. Hartwig, 1979, 《Crop Sci. 》, 19:372~375
- [11] Swon, S. H. and J. H. Oh, 1980, 《Crop Sci. 》 20:403~404

THE EFFECTS OF SMV1 ON MEMBRANOUS PEROXIDATIC AND PROTECTIVE ENZYME SYSTEM OF SOYBEAN

Lu Lijun Gao Mingjie

(*The Soybean Research Institute; Heilongjiang Academy of
Agricultural Sciences*)

Abstract

Physiological-biochemical reaction, change of membranous peroxidatic reaction and protective enzyme system, banks of hydrogen peroxidase and malic dehydrogenase isozyme of different soybean cultivars inoculated with SMV1 were studied. The results showed: the MDA content and activity of SOD enzyme of susceptible cultivars were increased greathy after inoculation with SMV1, but those of resistant cultivars were increased quite little. The expression of hydrogen peroxidase activity was exactly contrary, there were obvious difference on the expression of hydrogen peroxidase and malic dehydrogenase isozyme between susceptible and resistant cultivars. The activity of hydrogen peroxidase and malic dehydrogenase isozyme were obviously higher for susceptible cultivars and some new macromolecular enzyme protein were produced. But there was no any change on the expression of hydrogen peroxidase and malic dehydrogenase isozyme for resistant cultivars, just the hydrogen peroxidase isozyme activity was higher. These physioloical-biochemical reactions and changes within plant were in aceordence with the cultivars resistance.

Key words SMV; Membranous peroxidatic reaction; Protective enzyme