

对 SMV 不同抗性的大豆品种体内过氧化物酶活性变化的研究^{*}

胡蕴珠 智海剑

(南京农业大学大豆研究所, 南京 210095)

沈文飏 徐朗莱

(南京农业大学生化教研组 210095)

摘 要

采用 SMV-a 林系为毒源接种 3 个不同抗性类型的大豆品种 (科丰 1 号, 1138-2 和徐豆 1 号), 在接种后 8, 24, 48, 72 小时及在 3, 6, 9, 12, 15, 18 天共 11 次连续取样与相应 CK 一并测定过氧化物酶的活性后发现: 未经接种的抗感品种体内 PO 酶活性差异较大, 感病品种中 PO 酶活性水平高于抗性品种 2 倍以上; 接种后 3 天内抗性品种体内 PO 酶活性提高快, 高峰值出现早, 以接种后 24 小时最为明显。接种后感病品种体内 PO 酶活性亦迅速提高, 在接种后 9 天及 15 天分别出现明显高峰。同时, 叶片产生典型症状。

结果认为 SMV 侵染大豆后 (尤其在接种后 3 天内) 测定体内 PO 酶活性的变化, 可以作为鉴定大豆对 SMV 抗感性的一项生化指标。

关键词 大豆; 大豆花叶病毒; 过氧化物酶

过氧化物酶 (Peroxidase, PO) 是生物体内一类含血红素的氧化酶, 它催化 H_2O_2 放出新生态氧, 从而氧化某些酚类, 芳香胺和抗坏血酸等一些还原性物质, 它在清除细胞内的有害物质 H_2O_2 和保护酶蛋白以及植物细胞的木质素的合成过程中起着重要作用。因此分析此酶在植物体内的活性与植物抗病性之间的关系报导甚多^[1, 2, 3, 4, 7]。有人认为 PO 酶活性的高低可以作为作物品种抗病性的一种生化指标^[1, 2, 3, 7]。亦有人认为 PO 酶活性变化仅是植物感病过程中的一种症状反应^[4]。亦有的试验报导了感病品种中 PO 酶活性高于抗病品种^[1]。有关大豆受大豆花叶病毒 (Soybean mosaic virus, SMV) 侵染后, 叶片内 PO 酶活性变化与抗性之间关系报导尚少^[1, 8]。为此, 本试验采用不同抗性类型的大豆品种接

^{*} 本研究为国家自然科学基金资助项目。

本文于 1996 年 1 月 30 日收到。 This paper was received on Jan. 30, 1996.

种 SMV 主要株系后的连续 11 次取样测定, 研究大豆苗期幼叶内 PO 酶活性的动态变化, 为建立大豆抗 SMV 的早期鉴定提供生化指标

材料与方法

一、供试材料

(一)大豆品种科丰 1 号 (Kefeng-1, 抗 SMV-a 株系, 无症状) 徐豆 1 号 (Xudou-1, 感 SMV-a 株系, 表现系统枯斑、叶脉坏死症状), 1138-2 (感 SMV-a 株系, 呈系统花叶症状), 上述 3 个大豆品种由南京农业大学大豆研究所提供

(二)大豆花叶病毒株系 (SMV-a) 由南京农业大学植病组提供, 在感病品种 1138-2 上接种繁殖, 待症状明显时采收典型症状的嫩叶作接种毒源

二、试验方法

(一)材料处理: 参试品种于 6 月 6 日、9 月 10 日两次播种, 每品种各播 6 盆 (直径 15cm 的盆钵, 置于无虫网室及温室), 其中每品种 3 盆接种 SMV-a 株系, 另 3 盆作健株对照。待各品种一对真叶展开时, 将毒源 1g 加 5ml 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 在消毒研钵中冰浴研磨, 取其汁液并加入少许金刚砂 (600 目) 人工磨擦接种。

(二)取样: 试验 I (6 月 6 日播种) 在接种后 8, 24, 48, 72 小时分别取叶龄相同的样品, 每份样品 (鲜叶) 重 0.5g 左右, 存放冰箱, 一次测定; 试验 II (9 月 10 日播种) 于接种后 3, 6, 9, 12, 15, 18 天分别取相同叶龄的样品, 每份样品重 0.5g 左右, 随取随测。

(三)酶液制备: 每份样品加 50mmol/L 硼酸-硼砂缓冲液 (pH 8.7), 内含 5mmol/L 亚硫酸氢钠 (临用前加), 在研钵中冰浴研磨匀浆, 于 15000g 下冷冻离心 30 分钟, 取上清液即为酶液, 记录体积待用。

(四)酶活力测定: 采用过氧化物酶活力连续记录法^[6]测定, 从记录纸上计算出初始直线段的变化速率为过氧化物酶的活力, 以 $A_{460} \text{ min}^{-1} \text{ g Fw}^{-1}$ 表示。

结果与讨论

一、未经 SMV 接种 (对照处理) 的不同抗性类型大豆品种体内过氧化物酶活性的测定

图 1 2 表明未经 SMV 接种的抗性品种叶片内 PO 酶活性低于感病品种。由试验 1 结果 (图 1) 所示, 抗病品种 (科丰 1 号) 5 次取样 PO 的测定值均低于感病品种 1138-2 和徐豆 1 号的两倍以上, 在 24 小时的测定值为 0.05, 而其它两个感病品种分别为 0.13 和 0.16。同样在试验 II 结果 (图 2) 表明, 从第一对真叶开始, 每隔 3 天, 连续取样 6 次测定, 均表明 PO 酶活性仍然抗病品种低于感病品种约 1 倍左右。

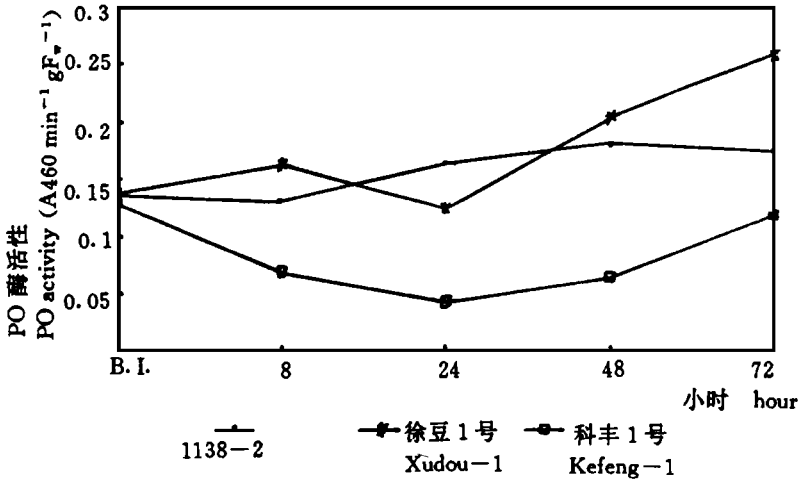


图 1 (试验 I) 未经 SMV 接种的不同抗性类型品种 PO 酶活性比较 (I)

Fig. 1 Comparison on activity of peroxidase among uniconculation soybean plants of different varieties with SMV-a (I)

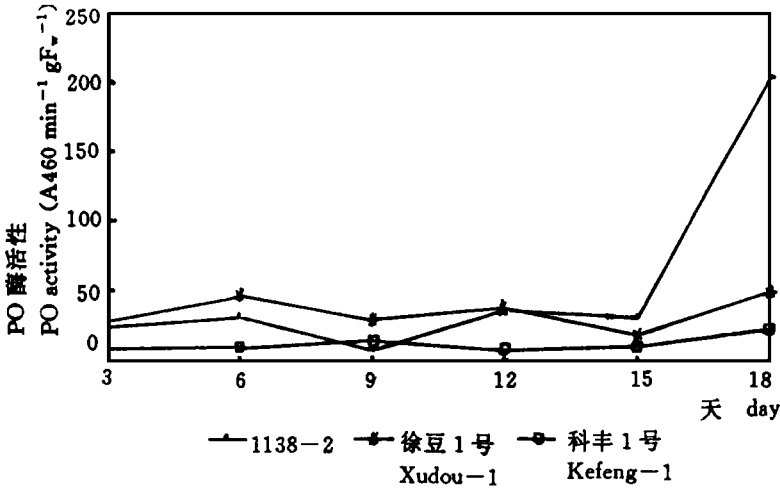


图 2 (试验 II) 未经 SMV 接种的不同抗性类型品种 PO 酶活性比较 (II)

Fig. 2 Comparison on activity of peroxidase among uniconculation soybean plants of different varieties with SMV-a (II)

二、经 SMV 接种后不同抗性类型大豆品种体内过氧化物酶活性的动态变化

试验 I 结果 (图 3) 表明抗性品种接种后体内 PO 酶活性提高明显, 在接种后 24 小时出现一个明显高峰值, 比未接种的提高 1.8 倍, 但感病品种 (1138-2, 徐豆 1 号) 接种后分别仅为对照的 1.1-1.5 倍, 1138-2 还出现低于对照值的情况

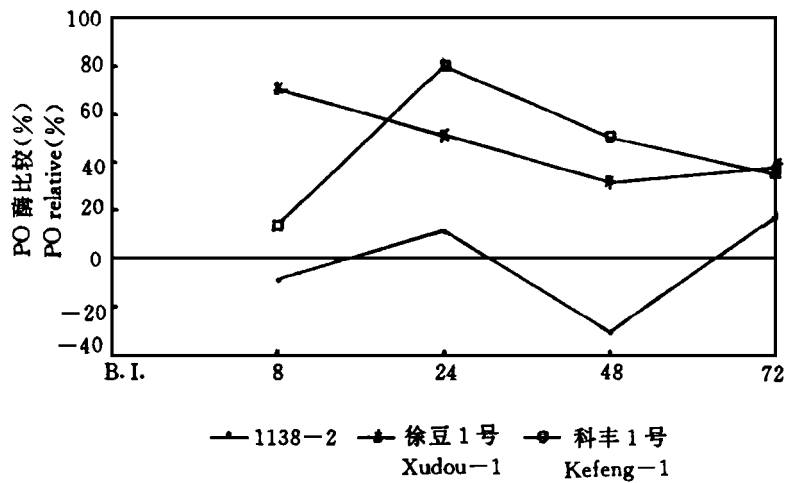


图 3 (试验 I)接种后,叶片内 PO 酶活力提高比较(I)

Fig. 3 Comparison on increase of peroxidase activity after SMV-a infection(I)

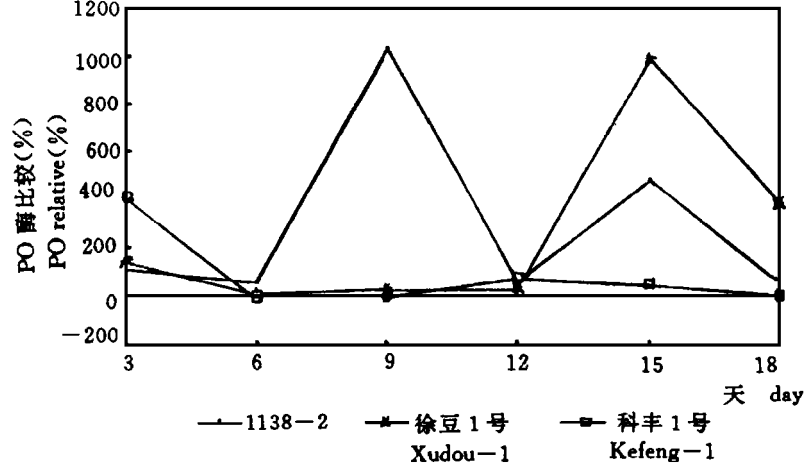


图 4 (试验 II)接种后,叶片内 PO 酶活力提高比较(II)

Fig. 4 Comparison on increase of peroxidase activity after SMV- a infection(II)

三、经 SMV 接种后 ,不同抗性类型大豆品种体内过氧化物酶活性提高与症状显症的关系

表 1 接种 SMV 后大豆体内 PO 酶的活性变化

Table 1 Change of peroxidase activity of soybean leaves after SMV- a infection

接种后天数 Days after inoculation	1138- 2			徐豆 1号 Xudou- 1			科丰 1号 Kefeng- 1		
	CK	接种后比 CK提高%	症状	CK	接种后比 CK提高%	症状	CK	接种后比 CK提高%	症状
3	23. 0	111	-	28. 0	141	-	8. 0	400	-
6	31. 4	56	明脉	46. 8	10	-	9. 3	- 10	-
9	7. 8	1031	花叶	29. 4	24	见少许枯斑	14. 5	- 4	-
12	36. 4	61	花叶	38. 4	32	枯斑点增多	8. 5	74	-
15	39. 8	480	花叶	19. 4	986	叶脉坏死 枯斑点多	11. 1	49	-
18	205. 3	65	花叶	50. 6	391	枯斑点多	23. 6	6	-

3个大豆品种经 SMV- a接种后体内的 PO酶活性测定结果由表 1表明,感病品种在显症过程中出现 PO酶的活性高峰,1138- 2的高峰期出现在接种后 9天和 15天,徐豆 1号的 PO酶高峰期出现在接种后 15天,此时植株表现为花叶及严重枯斑与叶脉坏死。并且 2个感病品种体内的 PO酶活性分别比 CK提高 10.3与 9.8倍。此外从图 4表明,呈枯斑症状的徐豆 1号的 PO酶活性高峰较花叶症状的 1138- 2品种推迟 6天出现。

四、大豆植株体内的过氧化物酶活性变化与叶片老化程度的关系

由图 1 2可见,未经 SMV 接种的大豆植株无论抗、感品种随着叶龄增加,叶片的老化体内 PO酶的活性也略有提高

表 2 徐豆 1号被 SMV 侵染后不同叶位与叶龄的 PO酶活性变化

Table 2 Chang of peroxidase activity on leaves with different positions and ages after SMV- a infection

接种后天数	3	6	9	12	15
CK	28.01	46.76	29.73	38.35	19.39
上位叶		51.63	36.52	50.53	210.5
比 CK提高%		10.41	24.34	31.8	985.6
接种叶	67.02	93.72	138.2	176.1	170.2
比 CK提高%	141.4	100.43	370.5	359.9	777.8

由表 2可见,同一品种在同一时期取样测定,其接种叶片 PO酶活性有高于上位叶的趋势,同时在相同叶位时,随着天数的增加,体内 PO酶活性亦同样提高较快

通过两次试验,连续 11次的过氧化物酶活性的动态变化测定,作者认为:

1.对 SMV 具有不同抗性类型的大豆品种体内过氧化物酶活性存在差异,感病品种体内过氧化物酶的活性基础高于抗病品种。

2.经 SMV 接种后的不同抗性类型大豆品种体内过氧化物酶活性的动态变化有两种情况:

(1)接种后 72小时以前,抗病品种的 PO酶活性提高的幅度明显高于感病品种,在 24小时有一高峰值,这与 Yan Wenzhao和 Chiu Weifan^[7]的报导用 TMV 接种不同抗性的番茄品种出现的 PO酶的活性增强结果一致。

(2)接种后 3天至 18天内的连续测定 PO酶活性表明,抗病品种(科丰 1号)的 PO酶活性除了在 3天内有一高峰值外,其余 5次测定与 CK差异不明显,而感病品种 1138- 2在接种后第 9天及 15天出现一个主高峰及一个次高峰值,徐豆 1号在接种后 15天出现一个明显的高峰值,此结果表明,大豆品种受 SMV 侵染后,病原物与寄主植物之间就互相制约,互相斗争。其结果诱导植物体内产生抗性酶系(包括 PO酶, PAL酶等)来防范抵抗病原物的侵染与扩展^[5],而抗病品种体内可能木质素、酚类聚合物产生早,能抵御病原物的扩展,而感病品种产生抗性物质迟,当病原物与寄主一旦建立寄生关系之后,病原物不断扩展破坏机体,导致植株产生症状,同时亦导致植物体内 PO酶活性迅速提高,这一结果与庄炳昌等^[1], oh 等^[8]报导一致。

3.同一品种的接种叶片比上位叶 PO酶活性提高快,幅度大,不同品种的相同叶位随着叶龄增加, PO酶活性亦有增强的趋势,其原因可能由于叶片的老化程度有关

综上所述,不同抗性类型的大豆品种接种 SMV 后,抗性品种的 PO酶活性提高快,明

显高于感病品种, 高峰值出现早, 以接种后 24 小时的 PO 酶活性最易区别大豆对 SMV 抗性, 所以作者初步认为 PO 酶活性的早期变化可以作为区别大豆对 SMV 抗性的一项生化指标。

参 考 文 献

- [1] 庄炳昌、徐豹、廖林, 1993, 接种大豆花叶病毒后, 大豆叶片超氧化物歧化酶, 过氧化物酶和蛋白组份的变化, 植物病理学报, 23(3): 261–265
- [2] 陈志谊、王玉环、殷尚志, 1992, 水稻纹枯病抗性机制的研究, 中国农业科学, 25(4): 41–46
- [3] 叶华智、任光庆, 1988, 小麦与禾谷镰刀菌相互作用下病稻过氧化物酶和酯酶的变化, 植物病理学报, 18(3): 169–173
- [4] 叶钟音、刘经芬等, 1984, 水稻对白叶枯病菌的抗性与过氧化物酶和过氧化物同工酶活性的关系, 南京农学院学报, 2: 39–45
- [5] 薛应龙、欧阳光察, 植物抗病的物质代谢基础, P. 科学出版社, 植物生理与分子生物学, 417–430
- [6] 徐朗莱、叶茂炳, 1989, 过氧化物酶活力连续记录测定法, 南京农业大学学报, 12, (3): 80–83
- [7] Yan Wenzhao, Chiu Weifan, 1985. Changes of peroxidase activity and isoperoxidases in TOMATO plants of different resistance infected by Tobacco Mosaic Virus (TMV) ACTA phytopathologica sinica 15(4): 193–198
- [8] Oh, - JH, 1988. Changes in activity and electrophoretic pattern of peroxidase in early period of infection by soybean necrotic virus (SMV-N) in soybean genotypes. Korean-Journal-of-plant-pathology. 44, 257–263

STUDIES ON THE CHANGES OF PEROXIDASE ACTIVITY IN DIFFERENT RESISTANT SOYBEAN CULTIVARS TO SMV

Hu Yunzhu Zhi Haijian Shen Wenbiao Xu Langlai

(Nanjing Agricultural University, Nanjing, 210095)

Abstract

Peroxidase activity were tested with leaves of resistant and susceptible soybean cultivars at 3 days interval up to 18 days and at 24 hours interval up to 72 hours. The results showed that the peroxidase activity in susceptible cultivars was higher than resistant without inoculation of SMV (CK). The resistant cultivars after inoculated with SMV-a showed an increase in peroxidase activity, the peak of peroxidase activity was at 24 hours after inoculation with SMV. But the peroxidase activity increased greatly after 9 days and 15 days after inoculated with SMV-a. On the susceptible cultivars This results were coincided with symptoms development. The infected plants were symptomless on the resistant cultivar.

Key words Soybean mosaic virus; Peroxidase activity