

# 大豆抗 SCN<sub>3</sub> 过程中总酚含量动态分析<sup>\*</sup>

张 军<sup>1</sup> 杨庆凯<sup>2</sup> 王守义<sup>1</sup> 王淑荣<sup>1</sup> 王洪武<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院嫩江农业科学研究所, 齐齐哈尔 161041;  
2. 东北农业大学大豆所, 哈尔滨 150030)

**摘要** 大豆孢囊线虫(SCN)是大豆生产上的毁灭性病害之一,土壤一经感染,则极难防治。利用植物本身的抗性,培育抗病品种是目前采用的最经济有效的控制措施。培育抗病品种首先要筛选和鉴定抗源材料。本研究采用抗感大豆孢囊线虫的野生、半野生、栽培大豆在接种和未接种大豆孢囊线虫 3 号生理小种条件下总酚含量动态变化以揭示其抗 SCN<sub>3</sub> 的生化机制。初步探讨了在 SCN<sub>3</sub> 侵染过程中,抗原生化指标总酚的表达情况,整个侵染期动态变化以及其与抗性关系,目的在于揭示抗源品种抗病的内在规律。从而为抗 SCN<sub>3</sub> 资源的筛选和鉴定及抗 SCN<sub>3</sub> 育种提供理论依据,为研究抗 SCN<sub>3</sub> 的遗传提供参考。试验结果表明,总酚可以作为鉴定 SCN<sub>3</sub> 生化指标之一。鉴别 SCN<sub>3</sub> 最佳时期为后期。

**关键词** 大豆;总酚;大豆孢囊线虫

中图分类号 S 565.1 文献标识码 A 文章编号 1000—9841(2002)01—0071—04

酚类化合物在植物抗病中的作用一是表现为对病原物毒害作用;一是以植保素的形式对植物起保护作用;另外,酚类化合物的积累也是亚丁生物合成的必需步骤。其作用主要以游离酚的形式完成,在植物抗病过程中的重要作用已得到证实。研究表明,受大豆孢囊线虫侵染后植物体内游离酚含量以较大幅度增加是大豆抗大豆孢囊线虫的一种反应。颜清上等(1995)<sup>[1]</sup>的结果表明抗病品种根部的总酚含量、绿原酸含量和阿魏酸含量的增加高于感病品种一倍到数倍;类黄酮和木质素在抗病品种中含量增加,而在感病品种中含量降低。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

选用经 1998 年、1999 年两年盆栽鉴定的对 SCN<sub>3</sub> 抗性表现明显不同的 3 对野生、半野生和栽培大豆材料,详见表 1。

### 1.2 病原物

SCN<sub>3</sub> 来自安达病区病土(每百克风干土中孢

囊数为 41 个)。

表 1 供试材料及其对 SCN<sub>3</sub> 的抗病性  
(根据 1998—1999 年东北农业大学盆栽鉴定结果)

Table 1 Material and its resistance to SCN<sub>3</sub>

材料 Materials	材料代表字母 Represent letters	孢囊个数/株 (1998 年) (1999 年)		抗性程度 Resistance
		Na of cysts/ plant	Na of cysts/ plant	
野生大豆 ZYD437	YR	0.2	0.1	HR
野生大豆 ZYD372	YS	43.0	38.0	HS
半野生大豆 ZYD416	BR	0.5	0.6	HR
半野生大豆 ZYD412	BS	32.0	36.0	HS
栽培大豆东农 43 号	ZR	0.1	0.3	HR
栽培大豆合丰 25 号	ZS	33.0	46.0	HS

注: HR 代表高抗, HS 代表高感。

### 1.3 种植、接种和采样方法

在 5 月 14 日播种。由于野生、半野生大豆种皮吸水困难,在播种前要把野生、半野生大豆材料进行破皮处理,未破坏种胚。供试材料分别盆栽于病土、并以正常无孢囊土壤栽培的植株作对照,每份材料种 50 盆。每盆种 3 粒种子,出苗后定植两个植株。在整个试验期间,控制其土壤含水量,以使大豆孢囊

<sup>\*</sup> 收稿日期: 2001—07—04  
基金项目: 国家自然科学基金重点项目(39730330)。  
作者简介: 张军,男,(1967—),硕士,研究方向作物遗传育种。

线虫充分侵染。取 5 个不同时期接种和未接种的抗病、感病植株的根部,用清水冲洗干净,制样备用。总酚按(10d、15d、20d、25d、30d)5 个时期测定。

1.4 总酚含量的测定

1.4.1 标准曲线的制作

取没食子酸 10mg,溶于少量甲醇中,用蒸馏水定容至 100ml,配成  $100\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  的母液。取母液 0、0.5、1.25、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5ml,分别放入 8 个 50ml 的容量瓶中,在分别加入蒸馏水定容至 50ml,配制成 0、1.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  的系列溶液。分别取上述液用 756 型分光光度计在 280nm 处测 OD 值是 0、0.053、0.073、0.148、0.286、0.480、0.744、0.805。求得回归方程如下:

$Y=0.352+29.232X, R=0.9928$

Y: 没食子酸含量  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , X: 吸光值, R: 相关系数。

1.4.2 样品中总酚含量的测定

参照林植芳等(1988)<sup>[2]</sup>的方法,每份材料取 0.5g 幼根,剪成 2mm 左右的根段,放入试管中,加入 5ml 含有 1%(v/v)HCl 的甲醇溶液,提取两小时,取

1ml 提取液稀释 50ml 定容、摇匀。用 756 型分光光度计于 280nm 处测 OD 值。用回归方程计算出总酚的含量。

总酚含量  $\text{mg/g}=(\text{稀释后总酚含量}\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}\times \text{稀释倍数}\times \text{提取液体积 ml})/(\text{样品重量 g}\times 1000)$

2 结果与分析

由图 1~6 和表 2 可知,在五个不同时期除了总酚含量增量  $\triangle\text{YR}$  比  $\triangle\text{YS}$  在第 I 时期差异不显著以外,其它时期  $\triangle\text{YR}$  比  $\triangle\text{YS}$ 、 $\triangle\text{ZR}$  比  $\triangle\text{ZS}$ 、 $\triangle\text{BR}$  比  $\triangle\text{BS}$  在接种与未接种  $\text{SCN}_3$  时总酚含量增量差异明显。 $\triangle\text{YR}$ 、 $\triangle\text{YS}$ 、 $\triangle\text{BR}$ 、 $\triangle\text{BS}$ 、 $\triangle\text{ZR}$  在前期总酚含量增量表现波动性,后期总酚含量增量稳定出现高峰期。总酚含量增量大小(即抗性表现由强到弱)的顺序是  $\triangle\text{BR}$ 、 $\triangle\text{YR}$ 、 $\triangle\text{ZR}$ 。在接种条件下,ZR 比 ZS 总酚含量在第 II 时期明显减少,ZR 比 ZS 在第 II 时期,BR 比 BS 在第 I、III、V 时期总酚含量基本一致,而 YR 比 YS、ZR 比 ZS、BR 比 BS 其它各个时期总酚含量都明显增加。在未接种条件下,BR 比 BS 总酚含量在第 II 时期基本一致,YR 比 YS、ZR 比 ZS、BR 比 BS 其它各个时期总酚含量差异明显。

表 2 总酚含量动态变化

Table 2 Dynamics variation of total phenolics content

单位:  $\text{mg/g}\cdot\text{fr}\cdot\text{w}$

材料	处理	I	II	III	IV	V	材料	处理	I	II	III	IV	V
Materiale	Treatments						Materiale	Treatments					
YR	接种	7.557	11.986	9.618	14.704	16.429	BS	接种	5.569	8.873	7.908	13.447	15.224
YR	未接种	5.993	9.092	6.958	10.948	12.453	BS	未接种	5.321	7.206	6.139	11.533	13.447
YS	接种	6.212	7.586	3.800	9.282	11.913	ZR	接种	4.049	8.332	3.231	17.072	14.734
YS	未接种	4.780	6.534	3.172	7.440	9.910	ZR	未接种	2.383	5.555	1.024	14.310	12.205
BR	接种	5.847	11.372	7.455	14.865	16.034	ZS	接种	2.441	9.267	3.333	13.506	11.357
BR	未接种	4.605	7.338	3.815	9.808	11.606	ZS	未接种	1.594	7.835	2.705	11.913	10.670

注:  $\text{mg/g}\cdot\text{fr}\cdot\text{w}$  代表为每克根鲜重含总酚毫克数

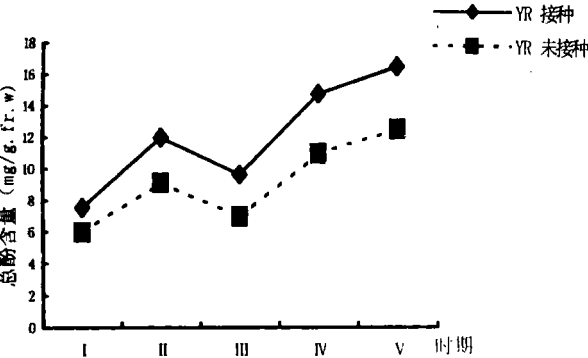


图 1 YR 接种后总酚含量动态变化

Fig. 1 Dynamics variation of total phenolics content in BR after inoculation

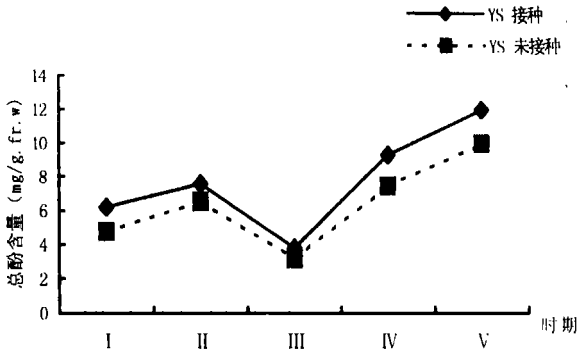


图 2 YS 接种后总酚含量动态变化

Fig. 2 Dynamics variation of total phenolics content in YS after inoculation

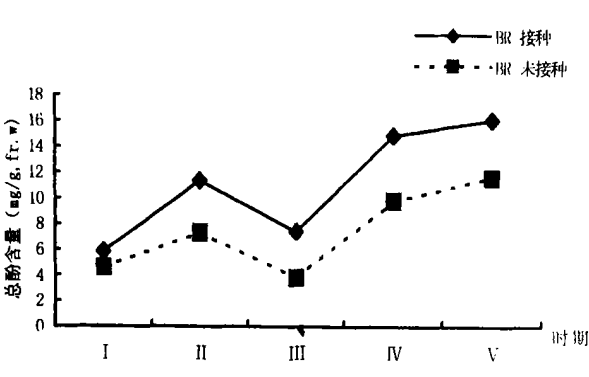


图 3 BR 接种后总酚含量动态变化

Fig. 3 Dynamics variation of total phenolics content in BR after inoculation

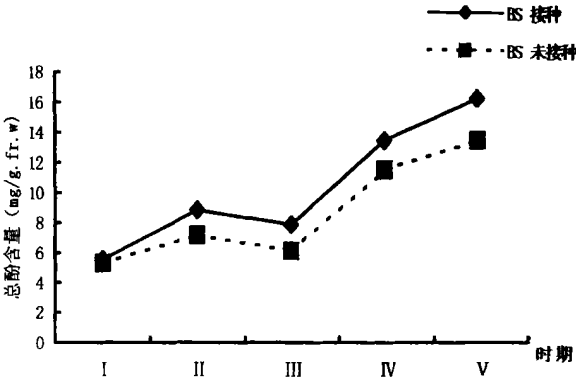


图 4 BS 接种后总酚含量动态变化

Fig. 4 Dynamics variation of total phenolics content in BS after inoculation

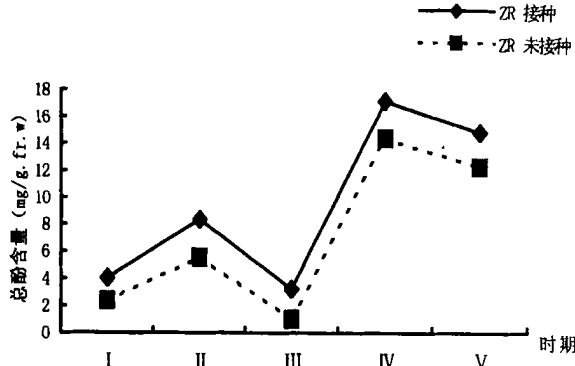


图 5 ZR 接种后总酚含量动态变化

Fig. 5 Dynamics variation of total phenolics content in ZR after inoculation

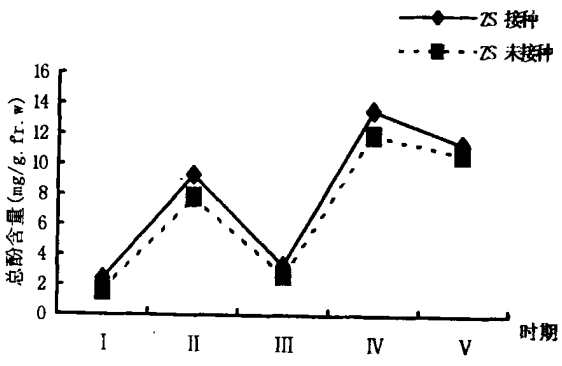


图 6 ZS 接种后总酚含量动态变化

Fig. 6 Dynamics variation of total phenolics content in ZS after inoculation

大豆根部总酚含量在接种与未接种 SCN<sub>3</sub> 时, 各个材料表现都增加, 但抗病材料总酚含量的增加远远高于感病材料。抗病材料 YR、BR 和 ZR 后期的增加量分别为 3.976mg/g, fr. w、4.428 mg/g, fr. w、2.529 mg/g, fr. w, 而感病材料 YS、BS 和 ZS 后期增量分别为 2.003 mg/g, fr. w、1.777 mg/g, fr. w、0.687 mg/g, fr. w。从而表明, 总酚可以作为鉴定 SCN<sub>3</sub> 生化指标之一。

3 讨论

大豆孢囊线虫是大豆生产中的毁灭性病害之一。最早在中国发现, 主要危害我国东北和黄淮海大豆产区。50 年代后期, 此病在美日两国极受重视, 至今仍是研究的热门课题。大豆孢囊线虫是一种定居性内寄生性线虫, 其二龄幼虫从根尖侵入大豆根部后, 需不断地从根内部吸取营养物质维持生长和发育。作为寄主植物的大豆, 一方面为线虫的发育提供营养, 一方面应激线虫侵染而在机体内部产生各种生化反应。由于品种的抗感特性不同, 大

豆为侵染线虫在体内营寄生生活所提供的环境和反应也不同。一般情况下, 植物在病原物的胁迫下, 抗性品种往往形成积累一些对病原物有害的次生物质, 或者通过细胞壁修饰等各种防御机制以抵抗病原物的侵入。本研究以野生、半野生、栽培大豆抗源为试材, 初步探讨了在 SCN 侵染过程中, 抗源生化指标总酚的表达情况, 整个侵染期动态变化以及其与抗性的关系, 目的在于揭示抗源品种抗病的内在规律。

T. Sakuma 指出植物感病组织中酚类化合物的积累, 能阻止病原菌的生化物质被称为酚类植保素。许多试验表明, 苯丙烷类代谢产物(酚类、异黄酮类植保素等)次生物质在植物抗病性中起重要作用。本研究也进一步表明总酚可作为鉴定抗 SCN<sub>3</sub> 生化指标, 见表 2。接种后期总酚含量增量抗病材料 YR、BR 和 ZR 分别为 3.976mg/g, fr. w、4.428 mg/g, fr. w、2.529 mg/g, fr. w; 而感病材料 YS、BS 和 ZS 分别为 2.003 mg/g, fr. w、1.777 mg/g, fr. w、0.687 mg/g, fr. w。抗感材料接种后期总酚含量增

量差异更加显著, 后期为鉴定 SCN 最佳鉴定时期。

## 参 考 文 献

- 1 颜清上, 王连铮, 陈品三. 中国小黑豆抗源对大豆孢囊线虫 4 号生理小种抗病的生化反应[J]. 作物学报, 1997, 23(5): 529-537.
- 2 林植芳, 李双顺, 张东林, 等. 采后荔枝果皮色素、总酚及有关酶活性的变化[J]. 植物学报, 1988, 30(1): 40-45.

## DYNAMICS OF TOTAL PHENOLICS OF RESISTANT SOYBEANS IN THE PROCESS OF RESISTING SOYBEAN CYST NEMATODE RACE3(SCN<sub>3</sub>)

Zhang Jun<sup>1</sup> Yang Qingkai<sup>2</sup> Wang Shouyi<sup>1</sup> Wang Shurong<sup>1</sup> Wang Hongwu<sup>1</sup>

(1. Nenjiang Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161041;

2. Soybean Research Institute, Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

**Abstract** SCN<sub>3</sub> is one of the most destruction diseases which is hard to cure when infected. Though effective, its price and pollution makes chemical medicine unusable. The most effective and economical way as to use the resistance inherent in the plant. The first step of cultivating resistant cultivar is the choosing and identifying resistant germplasm. Wild, semi-wild and cultivated resistant or susceptible to SCN<sub>3</sub> material is used in this study. Total phenolics is measured to SCN<sub>3</sub> to determine the biochemical mechanism of SCN<sub>3</sub> resistance. The invasion process discussed. The aim is to disclose to internal regularity of cultivar resistance, so to lay academic foundation for choosing, identifying and cultivar SCN<sub>3</sub> resistant material. The results show, total phenolics is one of identifying biochemical indexes. The best identifying period is the later period.

**Key words** Soybean; Total phenolics; Soybean cyst nematode