

不同抗性的大豆品种感染细菌性疫病后 POD、PPO 变化的研究^{*}

周博如¹ 刘太国¹ 杨 微² 李永镐¹

(1. 东北农业大学植保系, 哈尔滨 150030; 2 黑龙江省农业技术推广中心, 哈尔滨 150030)

摘要 供试的 4 个不同抗性的大豆品种未接种健株中过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)活性和 PPO 同工酶谱带数没有差异,但抗病品种 POD 同工酶谱带比感病品种多两条(A₂ 和 B₂)。感染大豆细菌性疫病后,不同品种的 POD 活性均升高,其中,抗病品种 POD 活性始终处于较高水平;PPO 活性在抗病品种中升高,而在感病品种中降低。POD 同工酶谱带在所有供试品种中 C₁ 带均增强而 C₂ 和 B₄ 带减弱,其中抗病品种 B₁ 和 B₂ 带也减弱;PPO 同工酶谱带中,感病品种 B₁ 带减弱而抗病品种 B₁ 带增强。

关键词 大豆; 细菌性疫病; 抗病性; 过氧化物酶; 多酚氧化酶

中图分类号 S565.133.22 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2002)03-0183-04

大豆细菌性疫病(*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*, 简称 PSG)是我国和世界大豆产区的主要病害。在适宜的发病条件下可使大豆减产 18%—22%,最高可达到 29%以上。抗病育种是防治该病害最有效途径。探讨抗病性的机制,将有利于提高大豆抗病育种的效率。近年来,在许多作物的病害系统中报道了活性氧代谢与防御酶系的活性变化与植物抗病性的关系^[1-5,13-15]。不同抗性的大豆品种感染细菌性疫病后体内的防御酶系与抗病性的关系尚未见报道。本试验对不同抗病性的大豆品种生理生化指标进行了测定,并分析了过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)与大豆对细菌性疫病抗性的关系。

1 材料与方法

1.1 供试品种

感病品种: 绥农 8、东农 42; 抗病品种: 黑农 37、黑农 38。

1.2 菌源与接种

供试菌种为小种 1^[6]; 采用第一片复叶期喷雾接种法^[6]。在接种后第二天开始取样,每天取一次,共取 7 次,取样量为 1g,分析第一片复叶的生化性状,以未接种健株为对照,3 次重复,取其平均值。

1.3 POD、PPO 同工酶电泳分析

采用薄层层析聚丙烯酰胺凝胶电泳法,分离胶为 7.5%,浓缩胶为 2.8%^[7]。

1.4 POD 活性的测定

利用愈创木酚法^[8]。

1.5 PPO 活性的测定

参照叶明志等人的方法^[9]。

2 结果与分析

2.1 不同抗性的大豆品种接种 PSG 后 POD 活性及同工酶谱的变化

不同品种未接种健株中 POD 活性没有明显差异(图 1)。接种 PSG 后,无论抗、感病品种 POD 活性均比未接种对照升高。但抗病品种的 POD 活性在接种后第三天达到最高值,而感病品种的 POD 活性降到最低值。在第四天出现一个明显的峰值后第五天又迅速降低;而抗病品种的 POD 活性不呈峰性变化,其活性始终处于一个较高的水平(图 2)。

抗病品种健株复叶中 POD 同工酶共有 9 条酶带(图 5)。根据各酶带的迁移率,可将复叶中 POD 同工酶带分为 A、B、C、D 四个区,其中 Rf=0.613 的 C₂ 酶带活性最强,其次是 Rf=0.093、Rf=0.133、Rf=0.533 的 A₁、A₂、C₁ 酶带活性较强。D₁ 酶带在

* 收稿日期: 2001-09-28

作者简介: 周博如(1973-),男,硕士,主要从事植物抗病性研究,现在北京市丰台区人民政府。

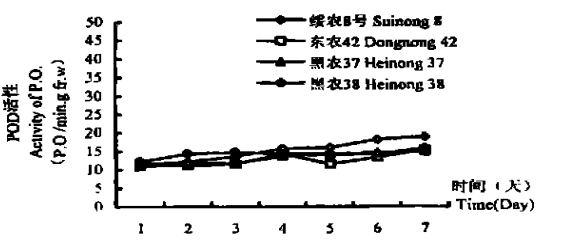


图 1 不同品种未接种健株中 POD 活性的变化
Fig. 1 Change of POD activity in healthy plants of different soybean varieties

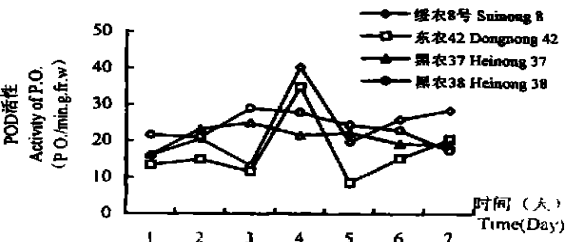


图 2 不同品种接种 PSG 后 POD 活性的变化
Fig. 2 Change of POD activity in different varieties after inoculation with PSG

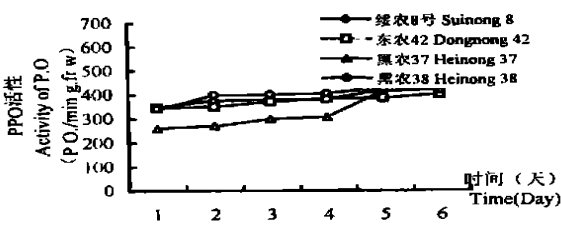


图 3 不同品种未接种健株中 PPO 活性的变化
图 3 不同品种未接种健株中 PPO 活性的变化
Fig. 3 Change of PPO activity in healthy plants of different soybean varieties

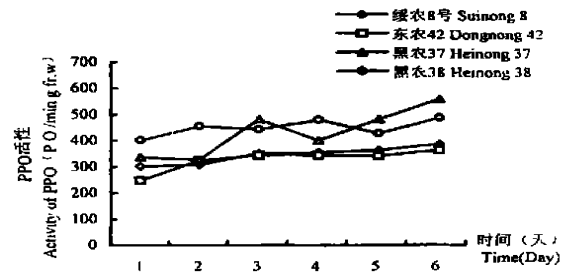


图 4 不同品种接种 PSG 后 PPO 活性的变化
Fig. 4 Change of PPO Activity in different varieties after inoculation with PSG

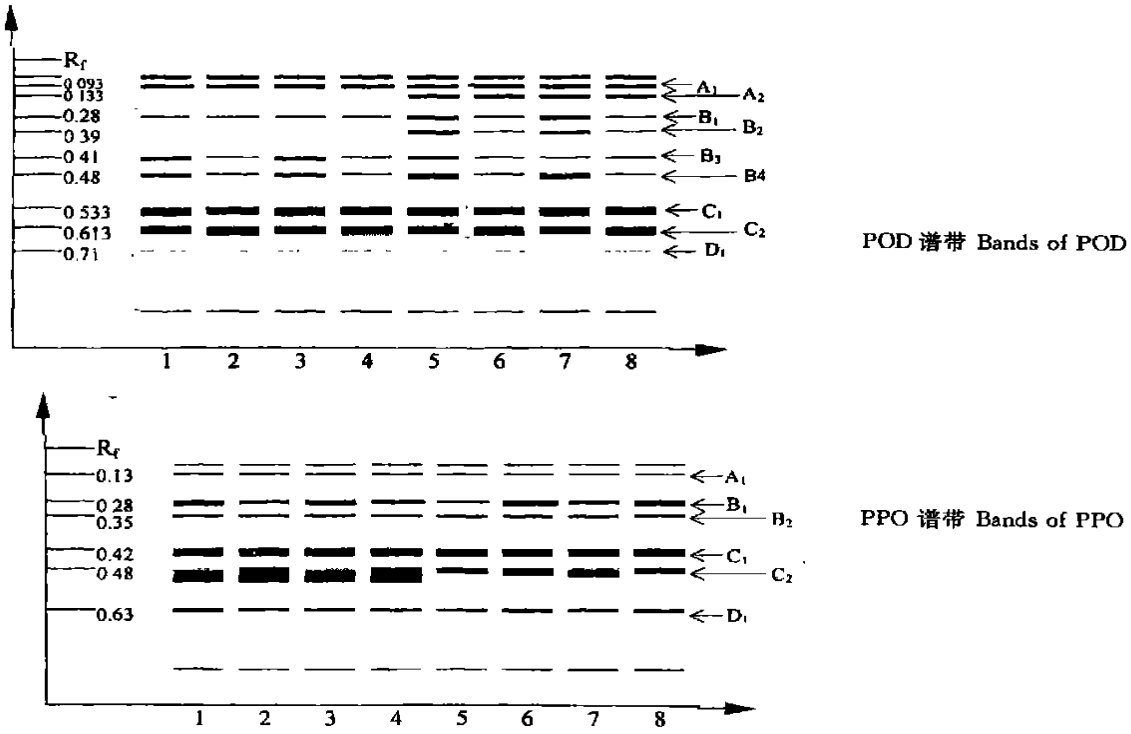


图 5 不同品种接种 PSG 后 POD 和 PPO 同功酶谱

Fig. 5 The POD and PPO isozyme zymogram in leaf of different varieties after inoculated with PSG

1. 绥农 8(对照) Suinong 8(CK); 2. 绥农 8(接种) Suinong 8(Inoculation); 3. 东农 42(对照) Dongnong 42(CK);
4. 东农 42(接种) Dongnong 42(Inoculation); 5. 黑农 37(对照) Heinong 37(CK); 6. 黑农 37(接种) Heinong 37 (Inoculation);
7. 黑农 38(对照) Heinong 37(CK); 8. 黑农 38(接种) Heinong 37(Inoculation)

染色几分钟后即开始褪色。感病品种健株复叶中 POD 同工酶谱谱带比抗病品种少两条, 分别为 $R_f=0.133$ 、 $R_f=0.39$ 的 A_2 和 B_2 。接种后, 抗、感品种的 C_1 带均增强, 抗病品种 B_1 、 B_2 、 B_4 和 C_2 谱带酶活性减弱; 而感病品种 B_3 、 B_4 和 C_2 带减弱(图 5)。

2.2 不同抗性的大豆品种接种 PSG 后 PPO 活性及同工酶谱的变化

不同品种未接种健株中 PPO 活性测定结果(图 3)表明只有黑农 37 最低, 其余三个品种间没有明显差异。接种后抗病品种的 PPO 活性升高, 感病品种 PPO 活性略有下降(图 4)。

大豆第一位复叶共有 6 条谱带。接种前后, 不同品种 PPO 同工酶谱带数没有变化。感病品种接种后 B_1 、 D_1 带颜色变浅, C_2 颜色加深且粗; 抗病品种 B_1 和 D_1 带颜色加深(图 5)。

3 结论与讨论

POD 和 PPO 作为植物体内酚类物质代谢的两个主要的酶, 在植物抗病性中起着重要的作用。PPO 氧化酚为醌, 其氧化产物—醌类物质对病原物具有比酚类物质更强的毒性。研究表明: 虽然供试的 4 个大豆品种未接种健株中 PPO 活性没有差异, 但接种 PSG 后, 抗病品种中的 PPO 活性均明显高于感病品种的 PPO 活性。廖林等^[10]和 Ray 等^[15]分别在大豆花叶病毒和马铃薯干腐病的研究中也曾报道了基本一致的结果。接种病原物后, 抗病品种中比感病品种中的较高 PPO 活性可能是由于形成较高浓度的强毒性的氧化产物, 从而具有较高水平的抗性。

POD 不仅是氧化酚类物质, 而且加速其代谢产物聚合为类木质素的反应进程, 从而加固细胞壁, 阻止病原菌的进一步扩展。本研究结果表明: 抗病和感病品种在接种 PSG 后, POD 活性均比未接种对照增加, 但抗病品种的 POD 活性峰值出现得比感病品种早。Gay 等^[13]研究甘蓝黑腐病的结果也表明: 接种黑腐病菌的不同抗性的甘蓝品种中 POD 活性增强, 但抗病品种比感病品种增强的值高, 峰值出现的早。Gogoi 等^[14]通过普通小麦和硬质小麦的 3 个品种对腥黑穗病的生化抗性机制研究表明: 接种腥黑穗病菌后, 抗病基因型中的 POD 活性在两天后迅速提高, 而在感病基因型中升高较慢, 在接种后 6 天时达到峰值。因此, 可以认为抗病品种的 POD 活性迅速提高可能是为了及时合成纤维素, 积累酚类物质,

从而限制病菌的生长。抗病品种和感病品种的活性变化的不同也可能是由于控制抗病性的基因表达速度和程度, 以及所产生的抗性物质的活性不同^[11]。

植物体中总 POD 和 PPO 活性的变化与相应的同工酶的改变有关。本试验中, 抗病品种接种 PSG 后 PPO 活性增强可能与 PPO B_1 谱带活性增强有关, 而 POD 的迅速提高可能与抗病品种比感病品种多两条 A_2 和 B_2 谱带有关。杨家书等^[12]报道了对小麦白粉病具有高度抗性的品种中比感病品种多出一条 POD 同工酶谱带。而且 Gogoi 等^[14]报道在对腥黑穗病具有抗性的普通小麦和硬质小麦中发现比感病品种多了同一条 POD 同工酶带。因此, 通过对更多不同抗性的大豆品种进一步验证 POD A_2 和 B_2 谱带可以作为大豆对细菌性疫病抗源鉴定的一个生化标记。

参考文献

- 1 杨家书, 于泉林, 曹远银, 等. “铁春 1 号”小麦耐白粉病机制研究[J]. 植物病理学报, 1995, 25(3): 227—232.
- 2 纪好勤, 郭小平, 潘家驹. 棉花黄萎病抗性的生理生化指标探讨[J]. 华北农学报, 1993, 10(3): 73—75.
- 3 叶明志, 王树彬, 高汉芳, 等. 水稻对细菌性病害的抗性与多酚氧化酶活性的关系[J]. 福建农学院学报, 1996, 25(1): 50—55.
- 4 许启新, 余纪柱, 陆世钧, 等. 黄瓜苗期过氧化物酶活性的变化规律及其与抗枯萎病的关系[J]. 上海农业学报, 1994, 10(3): 58—62.
- 5 毕阳, 张维一. 感病甜瓜果实的呼吸、乙烯及过氧化物酶变化的研究[J]. 植物病理学报, 1993, 23(1): 69—73.
- 6 李永镐, 张明厚, 张原. 大豆细菌性疫病菌生理小种及其鉴定方法研究[J]. 大豆科学, 1996, 15(2): 136—140.
- 7 黄寿松, 翁坚. 几种植物中的过氧化物酶同工酶分析[J]. 遗传, 1980, 2(3): 7—10.
- 8 华东师范大学生物系. 植物生理学实验指导[M]. 人民教育出版社, 1980, 143—144.
- 9 叶明志, 柯玉琴, 夏怡厚, 等. 水稻幼苗感染白叶枯并还有若干同工酶的变化[J]. 福建农业大学学报, 1991, 20(3): 351—356.
- 10 廖林, 赵荣林, 张志权, 等. 不同抗性大豆品种感染大豆花叶病毒后一些生理生化性状的变化[J]. 中国油料, 1993, 1: 26—29.
- 11 余晓明, 季本仁, 段金玉. 过氧化物酶与水稻抗瘟性[J]. 云南农业大学学报, 1991, 6(4): 218—222.
- 12 杨家书, 李舜芳, 吴畏, 等. 小麦品种对白粉病抗性与过氧化物酶的关系[J]. 植物病理学报, 1984, 14(4): 235—240.
- 13 Gay, P. A. and Tuzum, S. Temporal and spatial assessment of defense responses in resistant and susceptible cabbage varieties during infection with *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris* [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2000, 57(5): 201—210.
- 14 Gogoi R., Singh D. V., Strivastava, K. D.. Phenols as a biochemical basis of resistance in wheat against Karnal bunt [J]. Plant

Pathology, 2001, 50: 470—476.

tion by *Fusarium sambucinum* [J]. Physiological and Molecular

15 Ray, H., Hammerschmidt, R. Responses of potato tuber to infec-

Plant Pathology, 1998, 53(2): 81—92.

**STUDY ON THE CHANGE OF POD ACTIVITY AND PPO ACTIVITY
IN SOYBEAN VARIETIES WITH DIFFERENT RESISTANCE TO
Pseudomonas syringae pv. *Glycinea* (PSG)**

Zhou Boru¹ Liu Taiguo¹ Yang Wei² Li Yonghao¹

(1. *Northeast Agricultural University, Harbin 150030*; 2. *Popularization Centre
of Agricultural Technique of Heilongjiang Province, Harbin 150030*)

Abstract Two soybean varieties, Suinong 8 and Dongnong 42, susceptible to PSG, and two soybean varieties, Heinong 37 and Heinong 38, resistant to PSG, were grown in the greenhouse. They were inoculated with PSG at the tri—leaf stage. The uninoculated plants were used as control. The first leaves were taken for biochemical analysis from the second day after inoculation.

The results showed that there was no difference in Peroxidase (POD) and Polyphenoloxidase (PPO) in healthy soybean. Between resistant and susceptible varieties, the POD activity in all 4 varieties increased after inoculation with PSG. But they were higher in resistant cultivars. The PPO activity increased in resistant cultivars, however it decreased in susceptible ones. The number of PPO isoenzyme bands was same in all cultivars. But POD isoenzyme bands (A₂ and B₂) were two more only in the resistant varieties than in the susceptible ones. The color of the POD C₁ bands got deeper in resistant varieties after inoculation, while the B₁, B₂, C₂ and B₄ bands got faded. The color of the PPO bands of B₁ and D₁ faded and the C₂ band got deeper after inoculation in susceptible varieties. However, the color of the B₁ band got deeper and C₂ band faded in resistant varieties after inoculation.

Key words Soybean; *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*; Resistance; Peroxidase; Polyphenoloxidase