

病毒病抗性不同的大豆品种及其 F_1 代过氧化物酶酯酶同工酶分析*

陈 怡 栾晓燕 黄承运 谷秀芝
杜维广 张桂茹 满为群 刘丽君

(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

摘 要

本研究对大豆病毒病抗性不同的大豆杂交亲本及 F_1 代,接种 SMV1 号株系后的过氧化物酶和酯酶同工酶的变化进行了分析。结果表明,抗病与感病亲本及其 F_1 代接种后的同工酶谱带存在着明显的差异。感病亲本及 F_1 代酶的活性增强,酶带数较多,而且部分酶带变宽,颜色变深。抗病亲本则不发生变化。各组合 F_1 代的酶谱与双亲有关,抗病 \times 抗病的 F_1 代酶谱与双亲完全相同,抗病 \times 感病的 F_1 代酶谱偏向抗性亲本,感病 \times 感病的 F_1 代产生一个双亲所不具备的小分子新杂种酶带。未接种的感病亲本酶谱与抗病亲本相同。植株内部同工酶的变化与成株抗性相一致。因此,我们认为过氧化物酶同工酶,可作为鉴定大豆抗感病毒病的生化指标之一。

关键词 过氧化物酶;酯酶;同工酶;酶谱

前 言

近年来,应用同工酶鉴定农作物品种的抗病性研究正在广泛进行。近来对棉花枯萎病^[1]、水稻白叶枯病^[2]、小麦白粉病^[4]等的抗病和感病品种的过氧化物酶同工酶进行了分析比较,发现接种后感病品种酶的活性显著增强或出现新的酶带,而高抗品种则不发生变化。在大豆方面李星华^[8]等报导了在自然感病条件下,感病毒的大豆品种比抗病的过氧化物酶活性明显增强,且增加一条酶带。但在接种条件下对大豆病毒病抗性不同的亲本品种及杂交后代,过氧化物酶、酯酶同工酶的变化尚未见报导。本文以对大豆病毒病抗性不同

* 本研究为国家自然科学基金资助项目。

毒源由东农吴忠瑛老师提供表示感谢。

本文于1991年1月15日收到。 This paper was received on Jan. 15, 1992.

的4个亲本品种及其8个F₁代,进行了接种后的同工酶的比较,探索抗感病品种的生化变化的差异,作为筛选鉴定抗病品种技术之一,以加速选育抗病品种的周期。

材 料 和 方 法

供试品种4个,抗病品种为Marshall和D82-198,感病品种为合丰25和黑农16,同8个F₁代种于防虫网室。于真叶期接种SMV1号株系,接种后两周进行采样测定。

样品提取:称1克样品置于预先冰冻的研钵中,加入4mlpH7.2,0.3M蔗糖-0.01MKCl~0.05M的磷酸缓冲液,研磨成浆,以4000转/分离心10分钟,取上清液,置于冰箱中备用。

电泳:采用薄层垂直聚丙烯酰胺凝胶法,在4℃的冰箱中电泳。分离胶浓度为7.5%,浓缩胶2.8%。电极缓冲系统为pH8.3,Tris-甘氨酸缓冲液。电泳为不连续系统。酯酶同工酶酶谱的染色法采用醋酸- α 萘酯、 β 萘酯-坚牢兰染色法,酶谱于乙醇:醋酸:甘油:水为5:2:1:4固定液中保存。过氧化物酶染色采用醋酸联苯胺染色法,酶谱置7%醋酸中保存。

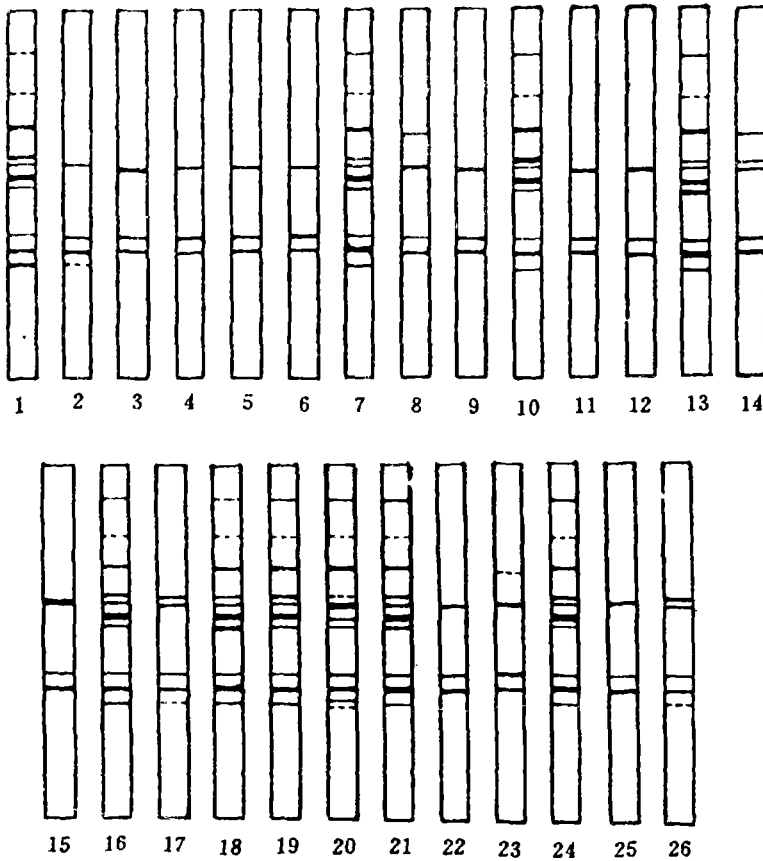


图1 过氧化物酶同工酶谱

Fig. 1 Peroxidase isozyme zymograms

1、黑农 16	2、黑农 16CK	3、R×R ♀ D82-198
4、R×R ♂ Marshall	5、R×RF ₁	6、R×S ♀ D82-198
7、R×S ♂ 合丰 25	8、R×SF ₁	9、R×S ♀ D82-198
10、R×S ♂ 黑农 16	11、R×SF ₁	12、R×S ♀ Marshall
13、R×S ♂ 合丰 25	14、R×SF ₁	15、R×S ♀ Marshall
16、R×S ♂ 黑农 16	17、R×SF ₁	18、S×S ♀ 合丰 25
19、S×S ♂ 黑农 16	20、S×SF ₁	21、S×R ♀ 合丰 25
22、S×R ♂ D82-198	23、S×RF ₁	24、S×R ♀ 黑农 16
25、S×R ♂ Marshall	26、S×RF ₁	

结果与分析

一、不同抗性亲本及 F₁ 代过氧化物酶同工酶谱分析

表 1 不同抗性亲本及 F₁ 代过氧化物酶同工酶的迁移率

Table 1 Rf of the peroxidase isozyme Zymograms in the parents and their F₁ hybrids with different degree of resistance

亲本及 F ₁ 代 Parents and F ₁	感病等级 Susceptible plegree	迁 移 率 (RF)											
		0.11	0.18	0.32	0.40	0.42	0.46	0.48	0.62	0.66	0.70	0.72	
黑农 16 Heinong No. 16	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
黑农 16 Heinong No. 16 CK						+			+	+			
♀ D82-198	2					+			+	+			
♂ Marshall	1					+			+	+			
F ₁	1					+			+	+			
♀ D82-198	2					+			+	+			
♂ 合丰 25 Hefeng 25	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
F ₁	2			+		+			+	+			
♀ D82-198	2					+			+	+			
♂ 黑农 16 Heinong No. 16	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
F ₁	2					+			+	+			
♀ Marshall	1					+			+	+			
♂ 合丰 25 Hefeng 25	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
F ₁	1			+	+	+			+	+			
♀ Marshall	1					+			+	+	+	+	
♂ 黑农 16 Heinong No. 16	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
F ₁	1				+	+			+	+	+	+	
♀ 合丰 25 Hefeng 25	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
♂ 黑农 16 Heinong No. 16	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
F ₁	4	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	
♀ 合丰 25 Hefeng 25	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
♂ D82-198	2					+			+	+			
F ₁	2			+		+			+	+			
♀ 黑农 16 Heinong No. 16	4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
♂ Marshall	1					+			+	+			
F ₁	1					+			+	+			

从图 1 和表 1 可见,接种 SMV1 号株系后,抗性亲本 Marshall 和 D82-198 过氧化物

酶同工酶显现 3 条酶带,其迁移率为 0.42、0.62 和 0.66。感病亲本黑农 16 和合丰 25 均表现为 10 条酶带。黑农 16 未接种的自身对照显现 3 条酶带,与抗性亲本相同。感病亲本接种的比不接种的对照多 7 条谱带,其迁移率为 0.11、0.18、0.32、0.40、0.46、0.48 和 0.70。感病品种接种的也较抗病品种多 7 条谱带,其迁移率与上述 7 条相同,而且感病品种的 0.32、0.46 和 0.66 这 3 条酶带较宽,颜色较深,酶的活性明显增强。抗病×抗病的 D82-198×Marshall 的 F₁ 代,成株表现为抗病,它的酶带与双亲完全相同,显示出 3 条酶带。抗病×感病的合丰 25×黑农 16 的 F₁ 代,产生双亲所不具备的新杂种酶带,其迁移率为 0.72。抗病×感病的 6 个 F₁ 代酶谱倾向抗性亲本。虽在成株抗性上均表现为抗病,但由于不同抗感亲本间基因的互作,在内部生化症状上略有差异,例如 Marshall×黑农 16 的正反交 F₁ 代均出现 5 条酶带,较抗性亲本多两条带,较感病亲本少 5 条带。D82-198×合丰 25 的正反交 F₁ 代出现 4 条酶带,较抗性亲本多 1 条带,较感病亲本少 6 条酶带。由此可见 F₁ 代酶谱的表现类型与抗性亲本的遗传有关。

二、不同抗性亲本及 F₁ 代酯酶同工酶酶谱分析

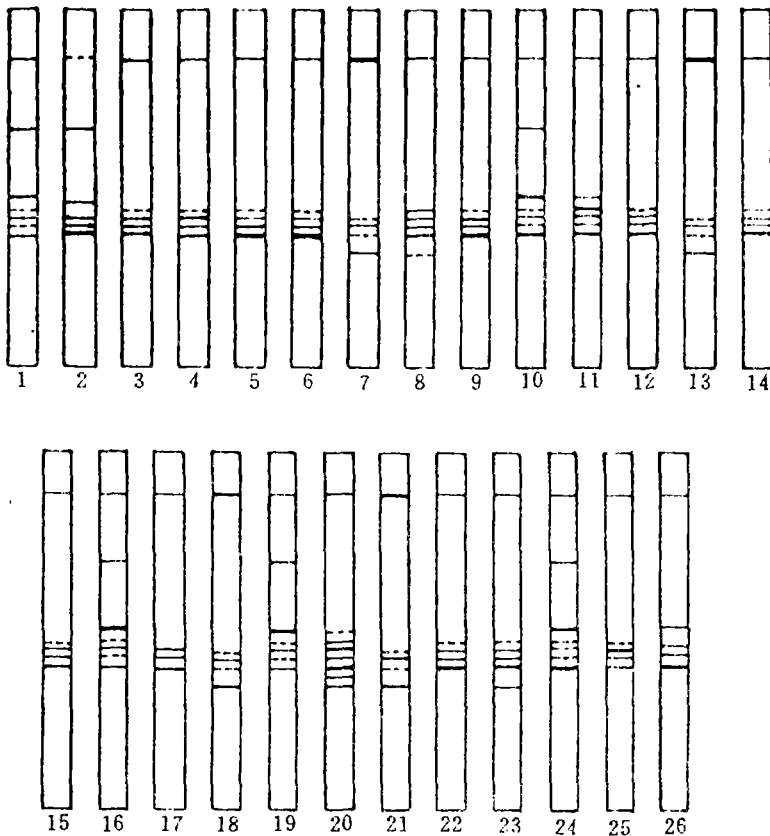


图 2 酯酶同工酶酶谱

Fig. 2 Lipase isozyme zymograms

1-26 所代表的材料与图 1 相同

表1 不同抗性亲本及F₁代酯酶同工酶的迁移率Table 1 Rf of lipase isozyme zymograms in the parents and their F₁ hybrids with different degree of resistance

亲本及F ₁ 代 Parents and F ₁	感病等级 Susceptible degree	迁 移 率 (RF)								
		0.13	0.33	0.51	0.55	0.57	0.59	0.62	0.64	0.67
黑农 16 Heinong No. 16	4	+	+	+	+	+	+	+		
黑农 16 Heinong No. 16 CK	0	+	+		+	+	+	+		
♀ D82-198	2	+			+	+	+	+		
♂ Marshall	1	+			+	+	+	+		
F ₁	1	+			+	+	+	+		
♀ D82-198	2	+			+	+	+	+		
♂ 合丰 25 Hefeng 25	4	+			+	+	+	+		+
F ₁	2	+			+	+	+	+		+
♀ D82-198	2	+			+	+	+	+		
♂ 黑农 16 Heinong No. 16	4	+	+	+	+	+	+	+		
F ₁	2	+		+	+	+	+	+		
♀ Marshall	1	+			+	+	+	+		
♂ 合丰 25 Hefeng 25	4	+			+	+	+	+		+
F ₁	1	+			+	+	+	+		
♀ Marshall	1	+			+	+	+	+		
♂ 黑农 16 Heinong No. 16	4	+	+	+	+	+	+	+		
F ₁	1	+				+	+	+		
♀ 合丰 25 Hefeng 25	4	+			+	+	+	+		+
♂ 黑农 16 Heinong No. 16	4	+	+	+	+	+	+	+		
F ₁	4	+		+	+	+	+	+	+	+
♀ 合丰 25 Hefeng 25	4	+			+	+	+	+		+
♂ D82-198	2	+			+	+	+	+		
F ₁	2	+			+	+	+	+		+
♀ 黑农 16 Heinong No. 16	4	+	+	+	+	+	+	+		
♂ Marshall	1	+			+	+	+	+		
F ₁	1	+		+		+	+	+		

从图2和表2可见,当接种SMV1号株系后,抗性亲本Marshall和D82-198酯酶同工酶显示5条酶带,其迁移率为0.13、0.55、0.57、0.59和0.62。感病品种黑16显现7条酶带,合丰25出现6条酶带。感病品种黑农16较自身不接种的对照多1条酶带。感病×感病的F₁代接种后诱导产生一条新的杂种酶带,其迁移率为0.64,为双亲所没有的酶带。抗病×抗病的F₁代的酶谱与双亲完全相同。抗病×感病的F₁代,除中抗×高感的D82-198×合丰25的正反交F₁外,其余高抗×高感的Marshall×黑农16的正反交,

Marshall×合丰25和D82-198×黑农16四个组合的F₁代均较感病亲本少一条酶带,它们的酶谱倾向抗性亲本。酯酶与过氧化物酶同工酶具有相同的趋势。

讨 论

植物的同工酶与植物的病害存在着密切的关系,同工酶是生物体中分子表达的天然标记。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、酯酶同工酶有明显的变化,表明同工酶谱型具有高度的特异性。感病亲本及F₁代感染病毒后酶的活性显著增强,表明其组织代谢发生了特殊的变化,这也是寄主对病原的一种重要保卫反应。抗病品种及感病自身未接种的对照的酶带较少,酶的活性变化不大,这与前人^[1~3]在其它作物上的研究结果相一致。但在抗病×感病的杂交后代的表现未见报导,我们的研究结果初步认为,抗病×抗病的F₁代酶谱完全同于双亲;感病×感病的F₁代可产生新的杂种酶带;抗病×感病的F₁代酶谱基本倾向抗性亲本;正反交F₁代酶谱表现一致,表明无母体效应。感病的同工酶变化可看作是植株内部的“生化症状”,可利用接种后感病比抗病的产生酶带多的特点,作为筛选抗病毒杂交后代的一种技术。

本研究采用两种酶进行测定比较,当接种SMV1号株系后,感病品种的过氧化物酶同工酶变化更为明显,故在抗病毒育种中,以测定过氧化物酶同工酶鉴定抗性效果较好。

参 考 文 献

- [1] 沈其益等:1978,植物学报,20(2):108~113
- [2] 吴振功等:1981,植物学报,23(3):251~253
- [3] 黄永芬等:1985,遗传学报,12(3):193~199
- [4] 靳华芬等:1985,植物学报,27(2):222~224
- [5] 赵丽哲等:1989,华北农学报,4(2):44~49
- [6] 李星华等:1991,大豆科学,10(2):149~152

ANALYSIS OF THE PEROXIDASE ISOZYME AND LIPASE ISOZYME ZYMOGRAMS IN SOYBEAN VARIETIES AND THEIR F_1 HYBRIDS WITH DIFFERENT DEGREE OF RESISTANCE TO SMV

Chen Yi Luan Xiaoyan Huang Chengun Gu Xiuzhi

Du Weiguang Zhang Guiru Man Weiqun Liu Lijun

(*Soybean Institute of Heilongjiang Academy of Agri. Sci.*)

Abstract

The changes of the peroxidase isozyme and lipase isozyme zymograms were analysed on soybean varieties and their F_1 hybrids with different resistance by inoculating SMV No. 1 strain. The result indicated that there were obvious difference on the parents and their F_1 hybrids. The zymic activity of the inoculated susceptible parents and F_1 hybrids was obviously higher and the zymic bands were more, some of the bands were wider and the color was more dark than those of the resistant. The zymic bands of F_1 hybrids of resistant \times resistant parents were complete the same with their parents. The F_1 hybrids of susceptible \times susceptible parents produced 1 new hybrid zymic band which their parents were in shortage. The F_1 hybrids of resistant \times susceptible parent showed the zymic bands resembling their resistant parent. The changes of zymograms within the plant were agree with the plant resistance. Therefore, we think peroxidase isozyme can be used as one biochemical indicator for evaluating resistance to SMV in soybean.

Key words Peroxidase; Lipase; Isozyme; Zymic band

西瓜增产增糖素(西瓜素)

黑龙江省农科院土肥所研制的西瓜增产增糖素为西瓜专用的一种微量复合制剂。主要成分除无机稀土和有机钛化合物外,还有若干营养元素及增效物质和表面活性材料。其功能可促进西瓜根系对土壤中 N、P、K、微量元素及水分的吸收与代谢,提高叶片中叶绿素含量,增强光合作用和有机物积累,从而促进果实膨大和糖分合成与运转,提高瓜秧抗病力。1990 年在黑龙江和吉林省西瓜和甜瓜上应用,使用西瓜素发秧快,叶片厚,叶色深,茎蔓粗壮,提高座瓜,瓜型正,个大,瓜甜,还可防治炭疽病和枯萎病。西瓜素可与尿素及各种杀虫剂、杀菌剂混合使用,但不宜与磷酸二氢钾混配。每袋 100 克,用于一亩地。每次 50 克,用 40~50 公斤水溶解后叶面喷施。

崔文馥

(“大豆科学”)编辑部