

不同抗性大豆品种(系)感染 SMV 后可溶性糖和游离氨基酸的研究*

栾晓燕 陈 怡 杜维广 张桂茹 满为群 谷秀芝

(黑龙江省农科院大豆研究所 哈尔滨 150086)

摘要 大豆品种感染 SMV 后,感病植株各生育阶段(R_1 、 R_3 、 R_5)单株可溶性总糖含量明显低于健株,叶片中总游离氨基酸含量明显增加。表明:SMV 的侵染抑制了大豆碳水化合物的代谢,而促进了氮化物的代谢合成各种氨基酸,以利于 SMV 的复制与增殖。天门冬氨酸(ASP)、异亮氨酸(ILE)、苯丙氨酸(PHE)、组氨酸(His)在感病品种中含量的显著增加,是大豆植株感病的又一生化症状。

关键词 大豆;SMV;碳氮代谢;生化症状

0 前言

关于病毒侵染对寄主碳氮代谢的影响国内外曾有报导。碳水化合物作为基础代谢物质与抗病性有一定关系;氨基酸作为蛋白质(包括酶)的基本构成单位也与植物对病毒病的抗性有关。陆京杰(1994)研究了大豆花叶病毒侵染对大豆碳氮代谢的影响,表明发病初期叶片可溶性糖含量下降,而总游离氨基酸含量明显增加。李盾(1995)研究了锈菌侵染后花生体内碳水化合物和氨基酸的变化过程,结果表明该病害是高糖病害,健叶中碳水化合物与抗病性的关系基本上是碳水化合物含量越高的品种越感病;花生体内组氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和丙氨酸的变化与抗病性有一定程度相关。郑翠明(1998)研究了不同种粒抗性大豆品种感染 SMV 后可溶性蛋白和游离氨基酸变化,结果表明:种皮中可溶性蛋白含量与种粒抗性成正相关,感斑驳品种接种后,种皮中苏、异亮、苯丙、缬氨酸含量增加,这些氨基酸能促进色素的形成。以上研究多集中在作物生长的某一特定时期,本文是在前人的基础上就不同抗性大豆品种感染 SMV 后各生育阶段单株可溶性总糖、叶片中游离氨基酸的变化进行分析,试图阐明大豆的碳氮代谢与大豆品种成株抗性的关系,为揭示大豆对花叶病毒成株抗性生理机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

* 收稿日期 2000-01-25 Received on Jan. 25, 2000

高抗 SMV3 号株系品种 91R3-184、哈 91R3-301,高感 SMV3 号株系的品种合丰 25、黑农 16,上述品种经多年连续接种鉴定,试验中表现了稳定的抗性反应,实验设置在黑龙江省农科院大豆所防虫网室内,采用盆栽播种,每盆 3 株,3 次重复,于对生真叶期采用人工汁液摩擦法分别接种 SMV3 号株系(由东北农业大学大豆所提供),并以未接种健株为对照,分别在 R_1 、 R_3 、 R_5 、 R_8 期进行单株可溶性总糖测定,叶片游离氨基酸的测定(除 R_8)。

1.2 测定方法

1.2.1 单株可溶性总糖测定

取大豆植株在 105℃ 下杀死,再于 80℃ 烘干到恒重,粉碎后用硫蒽酮法测定可溶性总糖。

1.2.2 游离氨基酸的测定

称取 2.0g 大豆叶片,加入 3% 磺基水杨酸 8.3ml,研磨提取,提上层液置指型离心管 2ml 中,15000 转/min 离心 10 分钟,上清液通过 0.2um 滤膜过滤后在日立 835-50 氨基酸分析仪上分析游离氨基酸含量。

2 结果与分析

2.1 不同抗性大豆品种(系)感染 SMV 后单株可溶性总糖的变化

将抗感各二品种感染 SMV 后四个时期叶片可溶性总糖含量的三次重复测定的平均结果列于表 1,试验结果表明:各品种单株可溶性总糖在 R_1 期就存在差异,感病品种单株可溶性总糖低于抗病品种,说明可溶性总糖含量与抗性有关。到 R_8 期各品种积累达最高峰,尽管接种与健株从 R_1 到 R_8 变化趋势一致,但感病品种合丰 25、黑农 16 接种后各生育阶段可溶性总糖较对照明显降低,在 R_3 期变化率最大。而抗病品种各生育阶段接种与对照之间差异不大,只有 R_3 期单株可溶性总糖略有增加,这说明病毒的侵染抑制了大豆碳水化合物的代谢,而可溶性总糖在一定时期的增加,可能是抗病品种用来抵制病毒侵染的一种保护反应。

表 1 不同抗性品种各生育阶段单株可溶性总糖变化%

Table 1 Soluble total sugar content per plant of soybean cultivars with different resistance at different growing stages (%)

生育阶段 Growth stage	合丰 25 Hefeng25			黑农 16 Heinong16			哈 91R3-184 Ha91R3-184			哈 91R3-301 Ha91R3-301		
	接种 Inoculate	CK	变化率% Change rate	接种 Inoculate	CK	变化率% Change rate	接种 Inoculate	CK	变化率% Change rate	接种 Inoculate	CK	变化率% Change rate
R_1	3.4	3.84	-11.46	2.85	3.34	-14.67	4.28	4.20	1.90	4.51	4.46	1.12
R_5	3.35	4.07	-17.69	3.08	3.69	-16.53	5.24	4.61	13.09	5.22	4.70	11.06
R_3	4.44	5.16	-13.95	4.26	4.85	-12.16	4.78	4.81	-0.62	5.87	5.86	0.17
R_8	5.60	6.40	-12.50	5.47	6.39	-14.40	5.90	6.01	-1.83	5.89	5.93	-0.67

2.2 不同抗性大豆品种感染 SMV 后叶片中游离氨基酸的变化

测定了抗感病品种不同生育阶段健株与接种3号株系条件下叶片中20种氨基酸含量,试验3次重复,将平均结果列于表2。

从表2可见,各品种健株叶片中游离氨基酸含量有所差别,但都有从 R_1 到 R_5 不断增加的趋势,其总量似乎与成株抗性无关。接种3号株系后,各品种游离氨基酸总量发生了明显变化,其变化规律品种间亦存在差异。感病品种合丰25、黑农16接种后各生育阶段氨基酸总量均明显增加,其变化率在23.18%至47.43%之间。而抗病品种哈91R3-184、哈91R3-301接种后其氨基酸变化率不大,说明病毒的侵染促进了感病品种的氮化物代谢过程。从单个氨基酸看,感病品种合丰25、黑农16、接种SMV3号株系后除脯氨酸

表2 不同抗性大豆感染SMV后游离氨基酸含量的变化(ug/100mg. fr. w)

Table 2 Changes free amino acids of soybean with different resistance to SMV No. 3 after infection

氨基酸 Amino acids ug/100 mg. fr. w	黑农16 Heinong 16								
	R_1			R_2			R_3		
	接种 Inoculate	CK	变化率 Change rate	接种 Inoculate	CK	变化率 Change rate	接种 Inoculate	CK	变化率 Change rate
天门冬氨(ASP)	111.64	35.22	216.98	179.34	42.75	319.51	321.36	130.56	146.14
苏氨酸(Thr)	88.54	66.04	34.07	64.98	32.58	99.45	33.92	28.81	17.74
丝氨酸(Ser)	211.09	121.51	73.72	256.23	132.43	93.48	176.38	104.57	68.67
谷氨酸(Glu)	84.55	71.16	18.82	68.43	56.21	21.74	105.83	155.33	-31.87
脯氨酸(Pro)	39.41	22.19	77.60	28.63	25.59	11.88	28.89	29.49	-2.03
甘氨酸(Gly)	28.40	29.08	-2.34	38.69	58.50	-33.86	19.52	20.18	-3.27
丙氨酸(Ala)	163.17	172.75	-5.55	159.49	177.24	-10.01	148.53	188.01	-21.00
胱氨酸(Cys)	2.72	0.752	261.70	2.83	1.98	42.93	—	—	
甲硫氨酸(Met)	0.782	3.56	-78.03	0.18	1.01	-82.18	—	—	
缬氨酸(Val)	42.68	25.62	66.59	38.92	22.90	69.96	20.96	21.96	-4.55
异亮氨酸(Ile)	19.66	13.59	44.67	10.01	6.09	64.37	6.93	8.66	19.98
亮氨酸(Leu)	33.07	19.67	68.12	30.26	21.84	38.55	15.62	15.98	-2.25
酪氨酸(Tyr)	15.78	12.15	29.88	17.28	18.51	-6.65	12.02	20.48	-41.31
苯丙氨酸(Phe)	69.44	39.25	76.92	76.57	13.42	470.57	14.55	10.44	39.37
赖氨酸(Lys)	30.30	21.17	43.17	32.66	20.47	59.55	21.39	24.97	14.34
氨(NH ₃)	14.48	23.65	-38.77	32.69	39.58	-17.41	12.96	11.49	12.79
组氨酸(His)	15.95	5.16	209.11	27.66	8.57	222.75	6.46	6.00	76.7
精氨酸(Arg)	49.93	35.65	40.06	141.47	64.24	120.22	42.53	23.83	78.47
色氨酸(Trp)	15.63	14.33	9.07	15.17	25.95	-41.50	—	—	
γ -氨基丁酸(ABA)	889.76	601.10	48.02	720.96	554.96	29.91	958.10	760.63	25.96
总量(Total)	1926.76	1333.60	44.49	1942.46	1324.82	46.62	1945.59	1561.39	24.61

(续表 2)

氨基酸 Amino acids ug/100 mg. fr. w	哈 91R ₃ -184 Ha91R ₃ -184								
	R ₁			R ₂			R ₃		
	接种 Inoculate	CK	变化率 Change rate	接种 Inoculate	CK	变化率 Change rate	接种 Inoculate	CK	变化率 Change rate
天门冬氨(ASP)	112.14	70.86	58.26	123.21	170.17	-27.60	154.74	155.15	-0.26
苏氨酸(Thr)	63.49	33.32	90.55	89.51	43.27	106.86	67.30	40.15	67.62
丝氨酸(Ser)	123.98	131.23	-5.52	128.07	108.10	18.47	118.47	135.81	-12.77
谷氨酸(Glu)	74.82	56.78	31.77	53.19	58.31	-8.78	81.40	77.46	5.09
脯氨酸(Pro)	21.15	19.94	6.07	23.30	18.28	27.46	23.62	24.81	4.80
甘氨酸(Gly)	21.46	18.06	18.83	44.97	27.63	62.76	18.10	19.45	6.94
丙氨酸(Ala)	191.54	222.78	-31.24	169.33	148.44	14.07	175.88	205.35	-14.35
胱氨酸(Cys)	281	0.921	-205.10	0.340	0.39	-12.82	1.63	—	—
甲硫氨酸(Met)	1.19	0.973	22.30	0.7	0.53	32.13	0.620	0.520	19.23
缬氨酸(Val)	28.37	17.98	57.79	24.83	20.17	23.10	24.90	21.44	16.14
异亮氨酸(Ile)	6.01	5.19	15.80	9.36	8.33	12.36	11.00	10.69	2.90
亮氨酸(Leu)	25.75	6.29	309.38	22.89	13.01	75.79	9.61	8.99	6.90
酪氨酸(Tyr)	94.1	8.08	16.46	19.28	12.79	50.74	22.83	21.48	6.28
苯丙氨酸(Phe)	22.91	18.15	26.23	15.07	16.85	-10.56	55.39	41.41	33.76
赖氨酸(Lys)	20.76	12.24	69.61	17.31	16.72	3.53	18.02	15.71	14.70
氨(NH ₃)	11.74	10.91	7.61	35.86	29.26	22.56	16.57	9.96	66.37
组氨酸(His)	4.46	3.40	31.18	11.19	10.51	6.47	6.62	5.70	16.14
精氨酸(Arg)	27.67	12.17	127.36	220.62	126.57	74.31	163.22	50.62	222.44
色氨酸(Trp)	4.35	3.34	120.06	30.49	30.29	0.66	16.24	9.25	75.57
r-氨基丁酸(ABA)	726.66	790.23	-8.04	446.29	459.02	24.85	209.80	846.50	-16.15
总量(Total)	1500.67	1442.84	4.00	1465.82	1328.64	4.83	1695.96	1700.24	0.03

(Pro)、甲硫氨酸(Met)、酪氨酸(Tyr)和氨(NH₃)含量降低外,其它各氨基酸均有不同程度的增加趋势,尤以天门冬氨酸(ASP)、异亮氨酸(Ile)、苯丙氨酸(Phe)、组氨酸(His)增加最多,(见图 1)而两个抗病品种接种后 Pro、Met、Tyr 和 NH₃ 的变化率提高,而 ASP、Ile、Phe、His 变化率略有降低,(哈 91R₃-301,R₃ 期 ASP 除外)说明病毒侵染刺激了大豆体内某些氨基酸的形成与积累,以供病毒的复制与增殖。大豆在接种后 ASP、Ile、Phe、His 在病株叶片中含量的显著增加,是感病品种的又一生化症状。

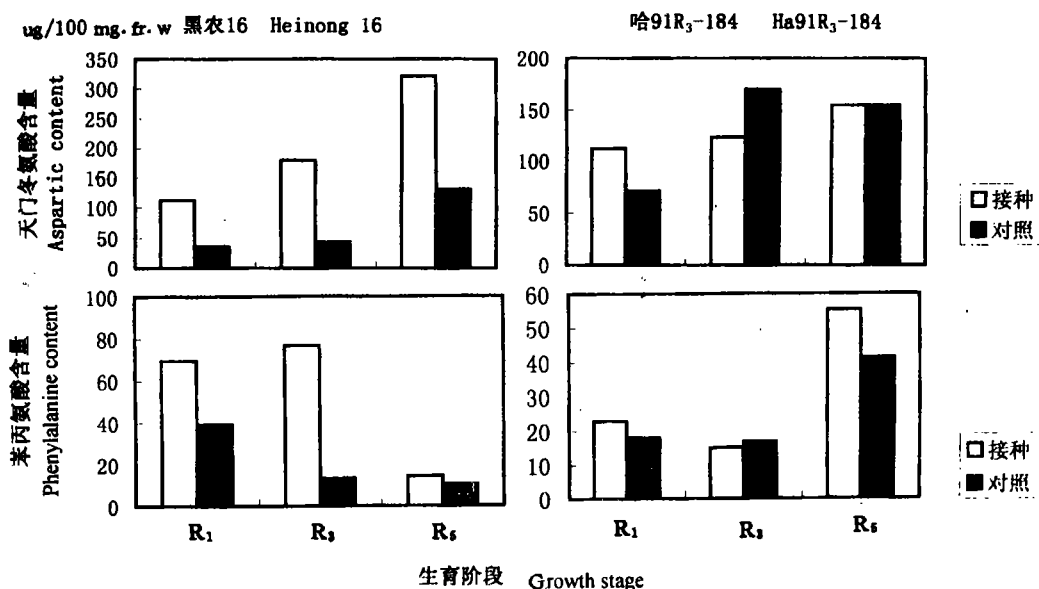


图1 不同抗性品种各生育阶段氨基酸含量变化

Fig. 1 Changes of contents of amino acid of varieties with different resistance to SMV at various growth stage

3 讨论

试验结果表明,大豆感染 SMV 后,各生育阶段可溶性总糖含量明显低于健株,而总氨基酸含量明显高于健株,这说明 SMV 的侵染明显抑制了大豆的碳水化合物代谢,而促进了大豆的氮化物代谢,以利于 SMV 的复制,这一结论与陆京杰、郑翠明的观点相一致。

本研究测定了不同抗性大豆接种 SMV 后各生育阶段叶片中 20 种游离氨基酸的含量变化。从单个氨基酸来看,抗感病品种各生育阶段的含量及变化率都存在差异,尤以天门冬氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、组氨酸在感病品种中增加最多,这与郑翠明研究的:“大豆感斑驳品种接种 SMV 后种皮中苏、异亮、苯丙、缬氨酸含量增加”结果相比有同有异,这一结论的获得也从生化的角度上进一步说明了成株感病和种粒斑驳作为 SMV 侵染大豆的两种表现形式,既相对独立遗传(受不同基因控制),又有着其内在的必然联系。本试验选材具有一定的代表性,但试验结果是否适于所有的品种,尚需进一步研究。

参 考 文 献

- 1 陆京杰,南京农业大学学报 1994,17(2):43-47
- 2 李盾,华南农业大学学报,1995,16(1):67-75
- 3 王爱民,植物病理学报,1991,21(3):193-197
- 4 郑翠明,植物病理学报,1998,28(3):227-231
- 5 Buss-GR: Ciop Science, 1989, 29: 6 1439-1441

STUDIES ON SOLUBLE SUGAR AND FREE AMINO ACID IN PLANTS OF DIFFERENT SOYBEAN CULTIVARS INFECTED BY SMV

Luan Xiaoyan Chen Yi Du Weiguang Zhang Guiru Man Weiqun Gu Xiuzhi

(*Soybean Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086*)

Abstract After infection of SMV, the total soluble sugar in infected soybean plant at R_1 , R_3 and R_5 was obviously lower than that in sound plant, and the total free amino acid in leaves increased remarkably, which indicates that the infection of SMV inhibit the metabolism of carbohydrates and promote the metabolism of nitrogenous compounds and the synthesis of amino acids, being advantageous to the replication and propagation of SMV. The significant increase of amino acids of Asp Ile Phe and His is another biochemical symptom of infected soybean plants.

Key words Soybean; SMV; Metabolism of carbohydrates and nitrogenous compounds; Biochemical symptom

欢 迎 订 阅

《作物杂志》是中国作物学会主办的农作物综合性科学技术期刊。本刊融技术性、学术性、信息性和知识性于一体,旨在传播作物科学知识,报道最新科研成果、研究进展、科技动态、新品种、实用新技术及丰产经验等。辟有专家建议、专题综述、品种与种子生产、栽培技术、种植制度、资源与环境、新技术、研究简报、国外农业及品种信息等栏目。

《作物杂志》为双月刊,16开本,2001年页码增至48页,每期订价3.00元,全年18.00元。邮发代号82-220,全国各地邮局(所)均可订阅。本刊编辑部亦可随时订阅,并存有部分过刊,欢迎邮购。

《种子世界》杂志是由黑龙江省种子协会主办,中国种子协会、中国种子贸易协会等单位协办的种子行业指导综合性月刊,内容丰富,涉及种子行业各方面内容,面向国内外发行,内文48页,国际标准16开本,封面彩色精印。

本刊自办发行,每月15日出版,每期定价4.50元,全年定价54.00元,可破季订阅。

杂志社地址:哈尔滨市文昌街99号 邮编:150008 电话:0451-2624517

传真:0451-2631124 E-mail:zsj@mail.hl.cn

开户行:农行哈尔滨市南岗支行 户头:种子世界杂志社

帐号:045108010016054