

不同抗性大豆品种感染 SMV 后过氧化物酶、多酚氧化酶、超氧化物歧化酶的变化分析^{*}

栾晓燕¹ 陈 怡¹ 杜维广¹ 张桂茹¹ 满为群¹ 谷秀芝¹
李晗炜² 郭顺飞³ 焦平兰⁴

(1. 黑龙江省农科院大豆研究所 150086; 2. 大庆市大同区农业站; 3. 大庆市油田热电厂;
4. 齐齐哈尔市铁锋镇人民政府)

摘要 本文采用两个高抗 SMV3 号株系种质哈 91R₃-184、哈 91R₃-301, 两个感病品种合丰 25、黑农 16 于真叶期分别接种 SMV3 号株系, 在 R₁、R₃、R₅ 期分别测定过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、超氧化物歧化酶(SOD)同工酶活性, 结果表明: 1. 抗感病品种未接种健株 POD、PPO 酶谱构型没有差异, 只是活性高低有别, 说明抗性与 POD、PPO 活性有关。2. 接种 SMV 后感病品种 POD、SOD 酶活性明显高于未接种健株和抗病品种, 其 POD、PPO 部分酶带加宽色深, 部分酶带缺失。3. 各生育阶段抗感品种 PPO、POD、SOD 酶活性动态的变化, 可作为抗感病品种的生化鉴定指标。

关键词 大豆花叶病毒; 过氧化物酶; 多酚氧化酶; 超氧化物歧化酶; 成株抗性

中图分类号 S565. 035. 3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2001)03-0200-04

0 前言

酶是基因编码的产物, 同工酶作为基因的标志可以通过特有的生化活性, 反映机体的某些遗传信息。近年来许多学者打破了传统的生物学界限, 竞相将过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、超氧化物歧化酶(SOD)引入了作物的抗逆性、抗病性研究中, 并取得了一定的研究进展^[1,3,4]。笔者在前人研究的基础上, 分析了不同抗性大豆感染 SMV 后不同的生长发育阶段 POD、PPO 和 SOD 的动态变化与抗病性的关系, 为从分子生物学角度进一步揭示大豆对 SMV 成株抗性的生理机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试品种

感病品种合丰 25、黑农 16, 抗病种质哈 91R₃-

184、哈 91R₃-301, 上述品种在连续多年接种鉴定试验中表现了稳定的抗感反应。

1.2 供试毒源

SMV3 号株系由东北农业大学大豆所提供。

1.3 试验设置

试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, 于真叶期采用人工汁液摩擦法接种 SMV3 号株系(87-44 毒株), 并以未接种健株为对照, 分别在 R₁、R₃、R₅ 期取植株的同部位叶片测 POD、PPO、SOD 酶活性。

1.4 测定方法

POD、PPO 的提取液用 0.01mol/L KCl+0.3 mol/L 蔗糖+0.05mol/L 磷酸缓冲液(pH=7.2), SOD 的提取液用 0.05mol/L 磷酸缓冲液(pH=7.8), POD 活性的测定采用愈创木酚法, SOD 活性的测定按王爱国的方法进行, POD、PPO 同工酶的分析采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法。

* 收稿日期: 2000-12-29

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目。

作者简介: 栾晓燕(1964-), 女, 副研究员, 从事大豆育种工作。

2 结果与分析

2.1 不同抗性大豆种质 POD、PPO、SOD 酶活性变化

抗病品种(种质)未接种健株在 R₁ 期 POD 酶活性抗病高于感病, PPO 活性感病大于抗病, 而 SOD 酶活性抗感病品种间差异不大, 说明 POD、PPO 活性与抗性有关, 而 SOD 酶活性与抗性无关。接种 SMV 后, 感病品种在各生育阶段 POD、

PPO、SOD 酶活性都较健株提高, POD 活性 R₅ 期最高, 较健株变化率达 263%, 而 SOD 活性到 R₃ 期达最高值, 变化率为 56%。两个抗病种质 POD、PPO 和 SOD 活性较健株无大差异。

抗感病品种在各生育阶段 POD、SOD、PPO 活性的动态变化不一。抗病品种接种前后 POD、PPO 的活性的动态变化基本一致, 而与感病品种相比有明显差异, SOD 酶活性抗感病品种的变化动态比较接近, 说明 POD、PPO 的动态变化也与品种的抗性有关, 而 SOD 的动态变化与抗性无关(见图 1、2)。

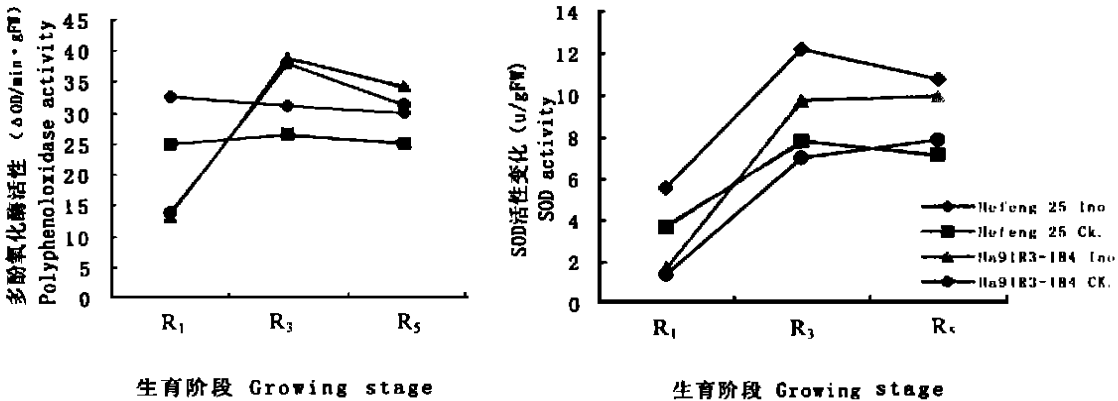


图 1 不同抗性大豆品种接种 SMV 后酶活性变化
Fig 1 The change of oloxidase activity of soybean with different resistance to SMV at growing stages

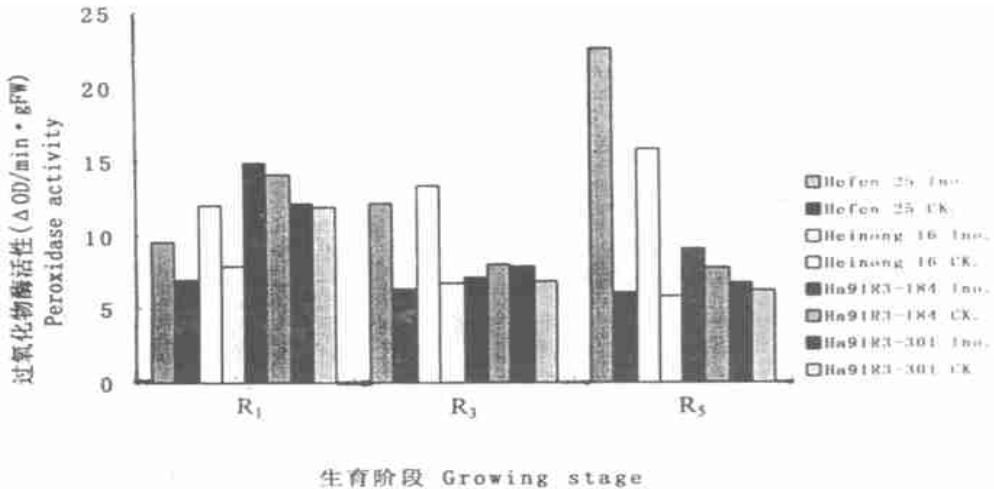


图 2 不同抗性品种各生育阶段过氧化物酶活性变化
Fig 2 The change of peroxidase activity of soybean with different resistance to SMV at growing stages

2.2 不同抗性大豆品种(种质)接种 SMV 后 POD、PPO 同工酶谱分析

将各生育阶段 POD 酶谱图列于图 3 中, 从 POD 图中可见各生育期抗感病品种未接种健株酶谱构型没有明显差异, 只有活性强弱之分, 说明抗性与 POD 酶带数目无相关, 接种 SMV 后, 感病品种在 A、C 区酶带加宽、加深、活性增强, B 区中 R₁ 期 B₁ (R_f = 0. 208)、B₃ (R_f = 0. 418) 的酶带缺失(合丰

25), R₃、R₅ 期又出现且活性较健株增强, B₂ 条酶带各时期都较对照增宽, 色深, 活性明显增强。抗病品种接种前后没有酶带的增减情况, 只是接种后部分酶带着色略深, PPO 酶谱与 POD 有着极其相似的构型, 抗感病品种未接种健株无明显差异, 抗性亦与 PPO 酶带数目无关, 接种 SMV 后, 感病品种只有 C 区酶带加宽、加深、活性加强, A、B 区酶带变化不大, 只有合丰 25R₁ 期 B₃ 条带略浅, 而在 R₃、R₅ 期着色

加深。抗感病品种在 POD、PPO 酶谱上的表现与在活性中的变化基本一致。

Ha91R₃ CK Others same A. B

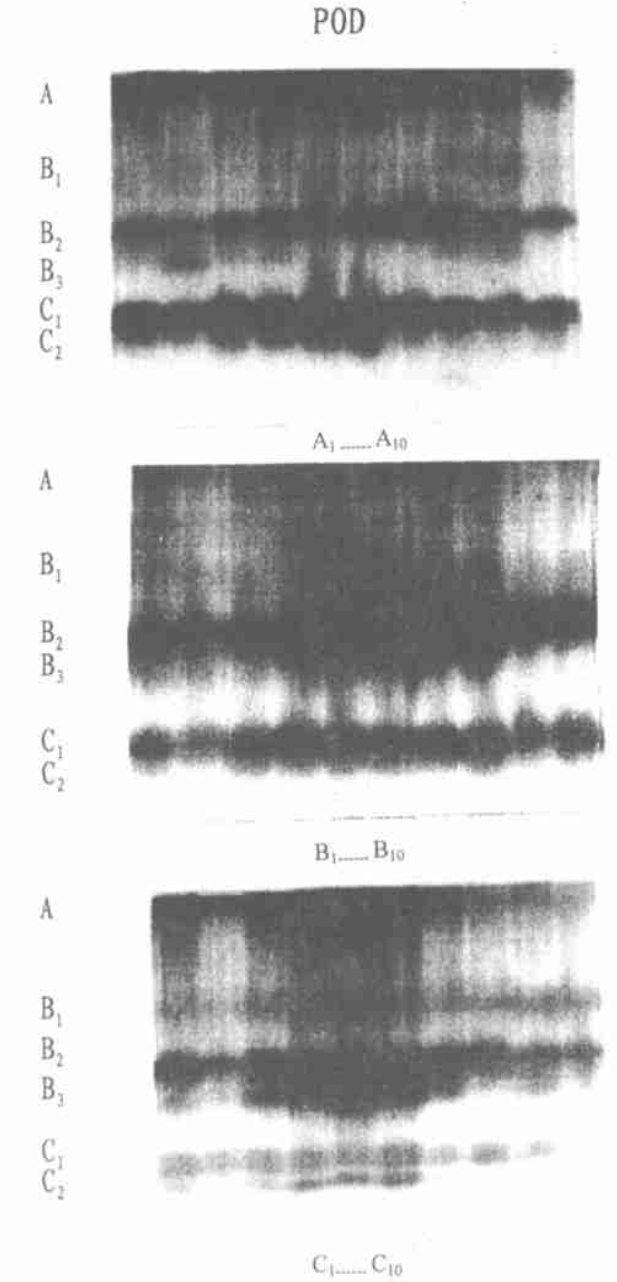
3 讨论

过氧化物酶和多酚氧化酶同属于氧化酶体系,主要参与酚类氧化为醌及木质素前体的聚合作用,其活性与抗性有密切关系,云兴福(1995)报导了抗霜霉病的黄瓜品种 POD、PPO、SOD 活性高于感病品种^[4] 郑翠明 1999 年研究结果表明:大豆种皮中 POD、PPO、SOD 活性与种粒抗性正相关^[3];而徐金星(2000 年)报导了,大豆叶片中 POD 酶活性强弱与其对 SMV 的成株抗性没有相关^[5],且抗感病品种未接种健株叶片同工酶谱带数没有差异。本研究得到了大豆对 SMV3 号株系的成株抗性与叶片 POD、PPO 的酶带数目无关,而与其活性强弱及动态变化有关,而 SOD 活性强弱及动态变化与品种抗性无相关。郑翠明、徐金星等研究结果有同有异,这可能与所选的试验材料、SMV 株系及测定时期有关。

POD 和 SOD 又是植物体内重要的活性氧防御酶。植物在正常状态下,体内活性氧的产生与消除处于平衡状态,因此防御酶体系也相对稳定。本研究结果中,大豆感染 SMV 后 POD 和 SOD 活性发生了变化,说明大豆感病过程中确实发生了活性氧的毒害作用。感病品种 POD 活性较低,接种 SMV 后引起了活性氧的积累,诱导了防御酶活性的增强,使 POD、SOD 活性增加。抗病种质健株 R₁ 期 POD 活性较高,在受到 SMV 侵染后能清除活性氧减少其对细胞膜的伤害,而起到抗病作用。至于感病品种 R₁ 期部分酶带缺失,可能是其结构中有一些活性基团是 SMV 在大豆植株体内复制与代谢所必需的物质,因 SMV 的侵染而减少,也因 SMV 在大豆生育后期能稳定代谢而恢复常态。本研究所采用的试材具有一定的代表性,但此结果是否适于所有品种,有待进一步研究。

参 考 文 献

1 庄炳昌,徐豹,廖林. 接种不同花叶病毒后大豆叶片 SOD、POD 和蛋白组分的变化[J]. 植物病理学报, 1993, 23(3): 260—265.
2 沈文彪,徐朗莱,胡蕴珠等. 大豆花叶病毒 SMV 的侵染对大豆叶片过氧化物酶及其同工酶的影响[J]. 南京农业大学学报, 1997, 20(4): 88—92.
3 郑翠明,滕冰,高凤兰等. 感染 SMV 后大豆种皮超氧化物歧化酶过氧化物酶和多酚氧化酶的变化[J]. 中国农业科学, 1999, 32(4): 99—101.



A: R₁ stage B: R₃ stage C: R₅ stage
A. B : 1—Hefeng 25Ion 2—Hefeng 25 CK 4—Heinong 16 Ion 5—Heinong 16 CK 7—Ha91R₃—184 CK 8—Ha91R₃—184 Ino. 9—Ha91R₃—301. 10. Ha91R₃—301 CK C: 4—Heinong 16 CK 5—Heinong 16 Ion 7—Ha91R₃—814 Ino. 8—
©1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

- 4 云兴福, 崔世茂, 霍秀文. 黄瓜组织中几种酶活性与其对霜霉病抗性的关系[J]. 华北农学报, 1995, 10(1): 92—98.
- 5 徐金星, 刘忠民, 刘翠明. 大豆品种接种 SMV 叶片 POD 同工酶的研究[J]. 东北农业大学学报, 2000, 31(1): 20—25.
- 6 王爱国, 罗广华, 邵从本等. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究[J]. 植物生理学报, 1983, 9(1): 78—83.
- 7 Ritig N. Changes in peroxidase and polyphenoloxidase associated with natural induced resistance of tomato to Fusarium wilt[J]. Physiological plant pathology 1974, (4): 145—150.

STUDIES ON THE CHANGES OF PEROXIDASE, POLYPHENOL OXIDASE AND SUPEROXIDE DISMUTASE IN PLANTS OF DIFFERENT SOYBEAN CULTIVARS INFECTED BY SMV

Luan Xiaoyan¹ Chen Yi¹ Du weiguang¹ Zhang Guiru¹ Man Weiqun¹ Gu Xiuzhi¹
Li Hangwei² Guo Shunfei³ Jiao Pinglan⁴

(1. Soybean Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086; 2. Agricultural Experiment stations of Datong District, Daqing City; 3. Thermoelectricity plant of Daqing Oil Field; 4. People's Government of Tiefeng Town, Qiqihar City)

Abstract Two resistant and two susceptible soybean varieties were inoculated with Soybean Mosaic Virus (SMV). The leaves were taken from tested varieties at R₁, R₃, R₅ stages for biochemical analysis. The result showed as follows:

- 1 There were no apparent differences in Peroxidase (POD) and Polyphenoloxidase (PPO) isozyme zymogram in the leaves of uninoculated resistant and susceptible soybean, but there were differences in POD and PPO activity.
- 2 After inoculation with SMV 3 POD, PPO and Superoxide Dismutase (SOD) activities were increased more rapidly in susceptible varieties than those in uninoculated cultivars. There were some bands of POD, PPO in susceptible varieties loss in the inoculated compared with the uninoculated.
3. There were significant differences in the changing of POD, PPO, SOD activities in leaves of resistant and susceptible soybean along growth proceeding.

Key words Soybean Mosaic Virus (SMV); Peroxidase; Polyphenoloxidase; Superoxide dismutase; Plant resistance