

# 大豆抗源抗 SCN 过程中 POD 酶动态分析\*

乔燕祥 高平平 李莹 周建萍

(山西省农业科学院品种资源研究所, 太原 030031)

刘剑华

(北京市海淀区农业科学研究所, 北京)

**摘 要** 通过对大豆抗源抗孢囊线虫(SCN)过程中过氧化物酶(POD)活性和酶谱的变化研究,探讨了大豆抗源在抗病过程中是通过提高体内 POD 酶活性来抵御 SCN 的侵染,抗源品种 POD 活性和酶谱呈动态变化。在侵染高峰期(30~35 d),高抗抗源体内 POD 酶活性最强,酶谱着色较深;而感病品种在侵染高峰期 POD 酶活性降至最低值,且一些酶带受损以至消失。另外,证实了 POD 酶在抗病过程中参与木质素的合成。抗病过程中酶活性强弱及酶谱表达形式可作为大豆抗源抗性强弱的生理指标。

**关键词** 过氧化物酶 大豆孢囊线虫 酶谱

过氧化物酶(POD)做为植物体内一种保护酶系统,在植物抗病过程中的重要作用已得到证实<sup>[1~5]</sup>。研究表明,受病虫害侵染后,植物体内 POD 酶活性发生改变,有的还表现出酶带变异。本研究以大豆抗源为试材,首次探讨了在 SCN 侵染过程中,抗源 POD 的表达情况,整个侵染期 POD 酶的动态变化以及它与抗性的关系,目的在于揭示抗源品种抗病的内在规律。

## 1 材料和方法

### 1.1 抗源品种

五寨赤不流黑豆、五寨黑豆、应县小黑豆和 PI 437654。前3个为山西抗源,经多个单位鉴定,五寨赤不流黑豆、五寨黑豆高抗4号生理小种,兼抗1、3、5号生理小种,为高抗抗源;应县小黑豆中抗4号生理小种,兼抗1、3、5号生理小种,抗性中等;PI 437654为美国高抗、多抗抗源<sup>[6]</sup>;感病品种 Lee 为典型感病材料。

### 1.2 方法

供试品种分别盆栽于沙质病土,并以正常沙质土壤中(土沙为4:1)栽培的植株作对照,每个处理设两个重复。在整个实验期间,控制其土壤含水量,以使 SCN 侵染更充分。

取5个不同时期(15 d, 19 d, 24 d, 30 d, 35 d)感染植株和对照植株的新鲜叶片,用蒸馏水冲洗干净制样。每个样品称取0.5 g,匀浆用10%的甘油和 Tris 柠檬酸(pH 为8.9),提取样品离心5 min (8000 r/min),取上清液备用。电泳采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳法,染色用改进的联苯胺染色法。酶活性用波钦诺克及华东师大介绍的愈创木酚显色法,反应液体在470 nm处测定光密度值。

1997-10-20 收稿。

\* 山西省自然科学基金资助项目。

## 2 结果与分析

### 2.1 受侵染后,不同抗性抗原及感病品种 POD 酶活性变化

不同大豆品种 POD 酶活性分析结果见表 1。从表 1 可知,受 SCN 侵染后,大豆品种体内的 POD 活性发生显著变化,但抗原品种和感病品种的酶活性变化不一。不同抗原抗性变化各异,同一抗性抗原的酶活性也不尽相同。

表 1 抗原品种和感病品种 POD 酶活性测定结果

OD/g·min

品 种	15 d		19 d		24 d		30 d		35 d	
	侵染	对照	侵染	对照	侵染	对照	侵染	对照	侵染	对照
五寨赤不流	24.50	15.85	34.64	35.40	39.05	24.05	120.10	94.80	193.40	122.50
五寨黑豆	29.70	41.70	21.80	26.20	33.70	41.80	114.40	102.10	163.70	117.50
PI 437654	25.90	42.20	71.30	42.90	39.20	77.30	82.10	96.60	172.00	115.20
应县小黑豆	36.45	29.95	30.45	39.85	24.90	29.70	88.55	70.15	136.40	115.70
Lee	15.60	17.10	18.27	26.20	21.30	30.20	45.80	60.47	29.99	67.20

同感病品种相比,抗原体内的 POD 酶活性较高,受侵染后,差异更加明显,特别是侵染高峰期。以五寨赤不流黑豆为例,侵染早期(15 d, 19 d, 24 d)其酶活性(单位为 OD/g·min,下同)为 24.50、34.64 和 39.05,而相应时期感病品种 Lee 的酶活性为 15.60、18.27 和 21.30。到侵染高峰期(30 d, 35 d)前者的酶活性分别为后者的 2.5 倍和 6.5 倍。

不同抗性抗原在抵御 SCN 侵染过程中的酶活性也不尽相同。中抗品种应县小黑豆受侵染 15 d, 30 d, 35 d 的酶活性有所增加,但增加幅度较小,侵染高峰期的酶活性亦明显低于高抗原品种。

3 个相同抗性的酶活性差异在于侵染早期酶活性动态变化的模式不一。侵染后期酶活性增加水平不一。30 d 时 PI 437654 的酶活性为 82.10;五寨赤不流黑豆则为 120.10。35 d 时,五寨赤不流黑豆仍居于榜首,为 193.40;五寨黑豆和 PI 437654 的酶活虽提高至 163.70 和 172.00,但仍比前者低。

### 2.2 抗原品种抵御 SCN 侵染过程中 POD 酶活性的动态变化

从表 1 可知,大豆抗原在抵御 SCN 侵染过程中,POD 酶活性显著增加,但没有呈现出线性规律,而是随着 SCN 侵染程度不同呈现动态性变化(图 1)。表现为侵染早期,酶活性变化为波动性,到侵染后期,随着侵染的深入,各抗原体内 POD 表达才趋于一致,酶活性显著提高。待充分发病期(35 d),它们的酶活性均达到最高值,且明显高于对照植株。这种动态变化与抗原本身的抗性大小相关。

侵染前期,高抗抗原五寨赤不流黑豆体内 POD 就保持了较高的活性,表现为处理高于对照。到后期,酶活性增加幅度更加明显,且高于其它抗原。不同于五寨赤不流黑豆,PI 437654 受侵染初期(15 d)体内酶活性降低,19 d 时出现了第一个酶活性高峰,增加幅度较大。但 24 d 时,酶活性再度降低至对照之下,到 30 d 时仍表现为处理低于对照,到 35 d 时,该酶再度急剧增加,出现了第二个酶活性高峰期。在整个侵染过程中,中抗应县小黑豆 POD 变化较平缓,初期酶活性表现为处理大于对照,而后(19d, 24d)则是对照大于处理,但两者差异不明显。30~ 35d,

其活性也显著增强, 但幅度仍较高抗品种小。不同于其它抗源, 尽管到侵染高峰期五寨黑豆的 POD 酶活性急剧增加, 但在侵染早期, 它受 SCN 侵染的影响较明显, 表现在该阶段的酶活性均低于对照。

### 2.3 SCN 侵染过程中大豆品种 POD 酶谱变化

同于 POD 酶活性变化, 同一抗源不同时期不同抗源同一时期 POD 酶谱变化不一, 不同抗性品种酶谱亦存在差异。在 SCN 相互作用过程中, 某些区域酶带着色发生改变, 感病品种和个别抗源品种有酶带丢失现象。在侵染早期, 大豆品种无论是对照还是处理的酶带着色都较浅。在 30 d 和 35 d 时, 酶谱着色逐渐加深, 酶谱趋于稳定, 可以看到处理的酶谱加深强度明显大于对照。

5 个时期的感病品种都表现为活性减弱, 酶带变浅, 在侵染高峰期 (35 d) 时, 一些弱小酶带丢失。抗源品种对 SCN 的反应也体现在酶谱着色深浅上, 变化大都发生在早期, 不具明显规律, 品种不同, 表现各异。

侵染初期 (15 d), 五寨赤不流黑豆的酶活性较对照高, 酶带着色也较对照深, 以迁移率 ( $R_f$  值) 为 0.61、0.64 和 0.71 的三条酶带变化明显。19 d 时, 处理酶活性略低于对照,  $R_f$  值为 0.61 和 0.64 的两条酶带随之变浅。24 d 时, 伴随着处理酶活性的再度提高,  $R_f$  值为 0.47~0.58 区域的酶带显著加深。五寨黑豆在早期, 不仅表现为酶活性降低, 而且  $R_f$  值为 0.61、0.64 和 0.71 的三条酶带两度消失 (15 d 和 24 d)。30 d 时, 这三条酶带再次出现, 但着色较对照浅, 35 d 时和对照趋于一致。15 d 时, 抗源 PI 437654 处理酶活性低于对照, 酶谱亦着色较浅。19 d 时, 酶活性明显增加,  $R_f$  值为 0.61 和 0.64 的酶带也明显加深。24 d 时对照体内  $R_f$  值为 0.64 和 0.71 的酶带活性增强。30 d 时, 该抗源  $R_f$  值为 0.47~0.58 区域的酶带活性增强, 但  $R_f$  值为 0.61、0.64 和 0.71 的三条酶带仍处于较低水平。15 d 时, 应县小黑豆对照和处理酶谱趋于一致。19 d 和 24 d 感染后的酶带表达  $R_f$  值为 0.61、0.64 和 0.71 三条酶带变浅。30 d 和 35 d 时, 这三条酶带仍保持着较低水平, 但 0.47~0.58 区域的酶带着色显著加强 (图 1)。

在对抗源品种进行 POD 分析的同时, 我们也进行了超氧化物歧化酶 (SOD) 的分析研究, 结果表明, SOD 表现稳定, 不同品种和不同处理之间的酶谱表现一致。

## 3 讨论

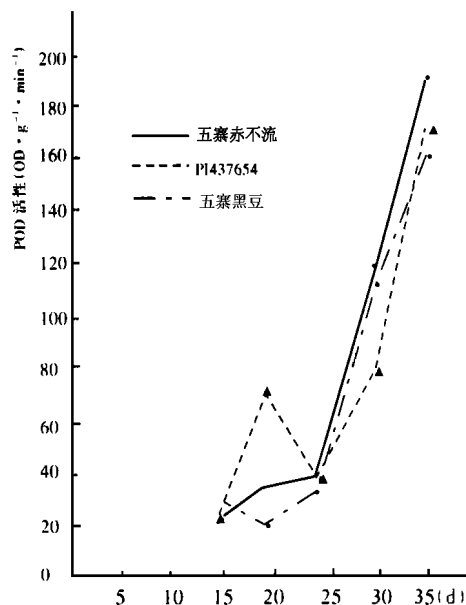


图 1 抗源品种受侵染过程中 POD 酶活性动态变化

在与 SCN 相互作用过程中,大豆品种体内的 POD 与其抗病性有着明显的相关。受侵染后,感病品种酶活性持续下降,到侵染高峰期降至最低值,一些酶带受损以至消失,而抗源品种则是通过提高体内 POD 酶活性来抵御 SCN 的侵染。

抗病过程中,抗源品种体内 POD 酶活性呈动态变化。侵染早期,POD 酶活性变化不一。不同抗源也表现各异,随着侵染程度的加深,抗源体内的酶活性明显增加。到侵染高峰期时(35 d),酶活性最强,明显高于对照,且抗源的抗性越强,变化越显著。

抗源品种体内 POD 活性的动态变化,也体现在酶带变化上,早期 POD 酶活性的高低,与迁移率为 0.61、0.64 和 0.71 的三条酶带密切相关。酶活性高,三条酶带稳定,着色深;反之,酶带着色浅,甚至消失。而后期抗源体内 POD 的变化则与迁移率为 0.40~0.58 的酶带相关,其体内 POD 酶活性的急剧增加,可从该酶带的着色明显加深得以体现。可以认为,这两个区域的酶带与抗性相关。它们的酶活性以及酶谱变化可做为衡量大豆品种抗性强弱的生理指标。

在本项研究中,还看到不同抗源同一时期的 POD 变化不一,同一抗源不同时期的 POD 亦不尽相同;不同抗性品种酶谱及酶活性存在差异,同一抗性品种的酶变化也不一样。说明抗源品种的抗病形式除和其本身的抗性大小相关外,可能还和其生理基础、遗传特性有关。超氧化物歧化酶(SOD)作为植物体内的另一种保护酶系,在植物抗盐、抗衰老、抗病中的作用已有报道<sup>[7]</sup>。在本研究中,我们也对 SOD 在大豆抗源抗病生理中所起的作用进行了探索,发现 SOD 与抗性没有明确的相关性。不同品种和不同处理之间的酶活性和酶谱表现一致,说明植物不同,抗病机制不一。

POD 在植物抗病过程中,一个主要作用就是参与木质素的合成<sup>[8]</sup>,对应县小黑豆等抗源根部的木质素含量分析表明,二者呈现出明显的相关性。抗源品种抗性强,POD 酶活性高,其根部木质素含量高。POD 酶活性迅速增加时期,也是其木质素合成能力提高时期。陈品三等在对兴县灰布支黑豆和五寨赤不流黑豆等抗源的抗病性研究中发现,SCN 侵入抗源根部后,二龄幼虫全部死亡,并指出这些抗源不抗侵染抗发育。

本研究结果也从理论上阐明了陈品三等的这一观点,即在侵染早期,抗源品种体内的 POD 酶呈波动性变化,根部木质素含量较少,未能建立起有效的防御机制,阻止 SCN 的侵入。木质素合成和体内 POD 出现高峰期正是 SCN 二龄幼虫侵入大豆根部的时期。在二者的共同作用下,SCN 不能正常发育,最后死亡。

## 参 考 文 献

- 1 徐朗莱,叶茂炳,徐雍皋等. 过氧化物酶及其同工酶与小麦抗赤霉病性的关系. 植物病理学报, 1991, (4): 285~289
- 2 杨家书,李舜芳,吴畏等. 小麦品种对白粉病抗病性与过氧化物酶的关系. 植物病理学报, 1984, (4): 235~239
- 3 叶华智,伍光庆. 小麦与禾谷镰刀菌相互作用下病穗过氧化物酶和酯酶的变化. 植物病理学报, 1988, (3): 169~173
- 4 陈怡,栾晓燕,黄承运等. 病毒病抗性不同的大豆品种及其 F<sub>1</sub> 代过氧化物酶酯酶同工酶分析. 大豆科学, 1993, (1): 30~35

- 5 田秀明, 杜利锋. 棉花对叶枯黄萎病的抗性与过氧化物酶活性的关系. 植物病理学报, 1989, 21(2): 94
- 6 李莹, 李原平, 赵卫红. 抗大豆孢囊线虫 4 号生理小种新品系的选育. 华北农学报, 1994, 9(2): 33~ 38
- 7 赵可夫主编. 植物抗性生理研究. 济南: 山东科技出版社, 1995.
- 8 铃木直治 等. 近代植物病理化学. 汗泳峰 等译. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.

## Dynamics of Peroxidase (POD) of Resistant Soybeans in the Process of Resisting Soybean Cyst Nematode (SCN)

Qiao Yanxiang Gao Pingping Li Ying Zhou Jianping

(Crop Germplasm Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031)

Liu Jianhuan

(Haidian Institute of Agricultural Sciences, Beijing)

**Abstract** Three different resistant cultivars of soybean, high disease-resistant (Xingxian huibuzhihedou), middle disease-resistant (Yingxian xiaohedou), or sensitive (Lee, U S), were used to study the changes of peroxidase (POD) activity and isoperoxidase (SOD) in the course of SCN infection. The results showed that the disease-resistant soybean cultivars, may increase their peroxidase activity in order to resist an attack of SCN. The POD isoenzyme activity fluctuated in the course of resisting SCN attack. During the peak period of attack (30– 35 days) the activity of high-resistant cultivar was higher than those in the other two cultivars, and the color of isoperoxidase was more than those of the other two cultivars. Whereas the value of POD activity of the sensitive cultivar became the lowest in the same period, and the number of the bands decreased, and some of them even disappeared. Besides, it was found that POD participated the synthesis of lignin in the process of resisting SCN attack. So both the value of POD activity and expression style can be considered as a physiological index to evaluate the resistance to SCN.

**Key words:** Peroxidase; Isoenzyme; Soybean cyst nematode