

## 腐霉菌侵染条件下大豆下胚轴中 PAL 和 POD 活性的变化

于洪久<sup>1,2</sup>, 朱洪德<sup>1</sup>, 刘丽君<sup>3</sup>, 唐晓飞<sup>3</sup>, 魏 峡<sup>3</sup>

(1. 黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆 163319; 2. 黑龙江省农业科学院 农村能源研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:** 以对腐霉菌抗性不同的 6 个大豆品种为材料, 测定接种腐霉菌 (*Pythium aphanidematum*) 后下胚轴中的 PAL 和 POD 活性, 分析大豆与腐霉菌互作过程中, 不同抗性品种下胚轴中 PAL 和 POD 的活性变化规律。结果表明: 接种腐霉菌后, 抗病品种下胚轴的 PAL 活性呈先升高后降低, 再次升高后降低的变化趋势; 感病品种的 PAL 活性呈先升高后降低的趋势; 不同抗性品种接种腐霉菌后下胚轴的 POD 活性均不断升高; 抗病品种 POD 活性增加速度、PAL 和 POD 活性峰值均高于感病品种。

**关键词:** 腐霉菌; 大豆; 下胚轴; 苯丙氨酸解氨酶 (PAL); 过氧化物酶 (POD)

**中图分类号:** S565.1      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-9841(2012)03-0495-03

## PAL and POD Activities of Soybean Hypocotyls Infected by *Pythium*

YU Hong-jiu<sup>1,2</sup>, ZHU Hong-de<sup>1</sup>, LIU Li-jun<sup>3</sup>, TANG Xiao-fei<sup>3</sup>, WEI Lai<sup>3</sup>

(1. Agronomy College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, Heilongjiang; 2. Rural Energy Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, Heilongjiang; 3. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, Heilongjiang, China)

**Abstract:** The PAL and POD activities of soybean hypocotyls are closely correlated with soybean disease resistance. In this study, six soybean varieties with different resistance to *Pythium* were inoculated with *Pythium aphanidematum* and determined the PAL and POD activities of hypocotyls. The result showed that with the extension of inoculating time, PAL activities of resistant cultivar increased firstly, and then decreased, after that increased and finally decreased; PAL activities of susceptible varieties increased firstly and then decreased. The POD activities of resistant and susceptible soybeans increased gradually, but the increasing speed and the maximum of PAL and POD activities of resistant cultivars were higher than those of susceptible cultivars.

**Key words:** *Pythium aphanidematum*; Soybean; Hypocotyls; Phenylalanine ammonia-lyase (PAL); Peroxidase (POD)

植物受到病原菌、致病因子等逆境胁迫, 会启动酶促防御系统, 苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、过氧化物酶 (POD) 等是该防御系统中的关键酶, 在植物的生长发育、抗病、抗逆反应中起重要作用。PAL 是苯丙烷类代谢途径中的关键酶和限速酶, 可生成类黄酮、木质素等多种具有抗菌作用的次生产物<sup>[1]</sup>。刘亚光等<sup>[2]</sup>提出 PAL 的活性与大豆抗灰斑病性呈正相关。孙欣等<sup>[3]</sup>研究表明大豆对疫霉根腐病的抗性与 PAL 的活性有关。过氧化物酶通过与超氧化物歧化酶、过氧化氢酶相互协调配合, 清除植物组织内过剩的自由基, 使其体内自由基维持在一个正常的动态水平, 以提高植物的抗逆性<sup>[4]</sup>。蒋选利等<sup>[5]</sup>提出 POD 活性与植物的抗病性具有正相关关系。吴俊江等<sup>[6]</sup>研究表明大豆对疫霉根腐病的抗性与 POD 的活性密切相关。

腐霉菌侵染大豆未萌发的种子、幼苗、根尖及营养根, 引起种子未出土前腐烂、幼苗出苗前后倒伏及大豆腐霉菌根腐病的发生。大豆腐霉菌根腐病在全世界各个大豆产区都有发生<sup>[7]</sup>。该研究通过分析大豆不同抗性品种的幼苗接种腐霉菌后其下胚轴中 PAL 和 POD 的活性变化规律, 探讨大豆与腐霉菌互作过程中, PAL 和 POD 的防御作用, 为大豆抗腐霉菌机理研究提供理论参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 供试菌种 高致病性腐霉菌小种 *Pythium aphanidematum*。

1.1.2 植物材料 抗腐霉菌大豆品种: 黑农 55, 嫩丰 16, 嫩丰 19; 感腐霉菌大豆品种: 抗线 5, 东农 47,

收稿日期: 2012-02-29

基金项目: 国家科技支撑计划资助项目 (2011BAD35B06); 国家农业科技成果转化项目 (2010GB2B200128); 黑龙江省科技厅攻关计划资助项目 (GA09B101-1-12)。

第一作者简介: 于洪久 (1981-), 男, 助理研究员, 在读硕士, 研究方向为大豆遗传育种。E-mail: yhj3130618@126.com。

通讯作者: 朱洪德 (1962-), 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: zhd495@163.com。

刘丽君 (1958-), 女, 研究员, 主要从事大豆遗传育种研究。E-mail: nkyssbd@126.com。

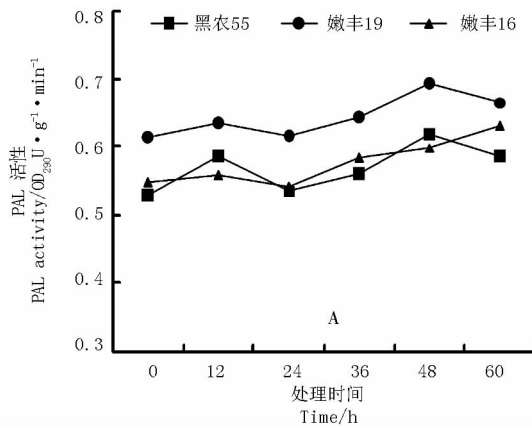
抗线3。

## 1.2 方法

所有的大豆种子用蒸馏水洗净、晾干,用氯气灭菌12 h,然后用无菌去离子水浸泡12 h,均匀摆放在装有WA(water agar)培养基的平皿上,放置生长箱中于室温下进行发芽培养。

从培养 *Pythium aphanidematum* 的 V8 培养基上取 5 mm<sup>2</sup> 的小块,放在装有 20 mL WA(water agar)培养基的直径 9 cm 的平皿中心,将平皿放置于生化培养箱中培养。待菌块在 WA 培养基上培养 3 d 后,将下胚轴长至 2 cm 左右长势基本一致的 10 粒大豆种子均匀摆放在距离平皿边缘 1 cm 左右的位置,下胚轴指向平皿中心,每个品种接种 12 个平皿,3 次重复,然后将平皿置于生长箱(20℃)中暗室培养。并于 0、12、24、36、48 和 60 h 连续取样,沿子叶与下胚轴结合处将下胚轴切下,快速放于液氮中速冻,保存在 -80℃ 冰箱内备用,每个品种每次取 2 个平皿中的样品,3 次重复。以不接菌的 WA 培养基为对照,处理方法同上。

PAL 和 POD 酶液的提取及酶活性的测定方法参考《植物生理学实验》<sup>[8]</sup>。

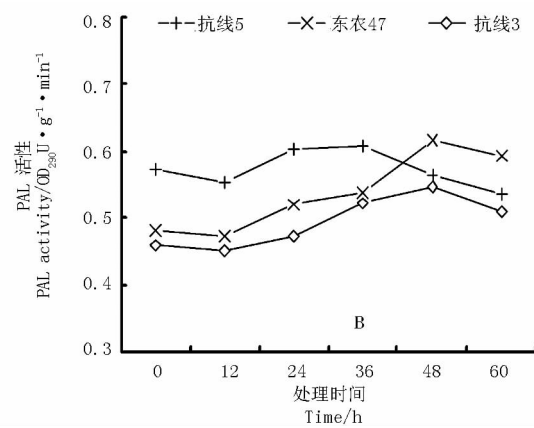


## 2 结果与分析

### 2.1 腐霉菌对不同抗感大豆品种 PAL 活性的影响

2.1.1 抗病品种 由图 1A 可以看出,抗病品种在接种后,下胚轴中的 PAL 活性呈先升高后降低,再次升高后降低的变化趋势,嫩丰 19 的整体 PAL 活性高于黑农 55 和嫩丰 16。黑农 55 和嫩丰 19 接种后 12 h 出现第 1 个峰值,在接种后 48 h 出现第 2 个峰值;嫩丰 16 在接种后 12 h 出现第 1 个峰值,在接种后 60 h 出现第 2 个峰值。黑农 55、嫩丰 16 和嫩丰 19 在第 2 次波峰时下胚轴中的 PAL 活性最大,分别为 0.619、0.631 和 0.693 OD<sub>290</sub> U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>。

2.1.2 感病品种 由图 1B 可以看出,感病品种在接菌后,下胚轴中的 PAL 活性呈先降低后升高再降低的趋势;接种后 0~36 h,抗线 5 PAL 活性高于东农 47 和抗线 3;接种后 48~60 h,东农 47 高于抗线 5 和抗线 3。东农 47 和抗线 3 在接种后 12 h 出现最低值,在接种后 48 h 出现最大值;抗线 5 在接种后 36 h 出现最大值。抗线 3、抗线 5 和东农 47 下胚轴中的 PAL 活性最大值分别为 0.547、0.607 和 0.615 OD<sub>290</sub> U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>。



A:抗病品种;B:感病品种

A:Resistant cultivar;B:Susceptible cultivar

图 1 腐霉菌侵染大豆品种下胚轴 PAL 活性变化

Fig. 1 PAL activities of soybean hypocotyls infected by *Pythium*

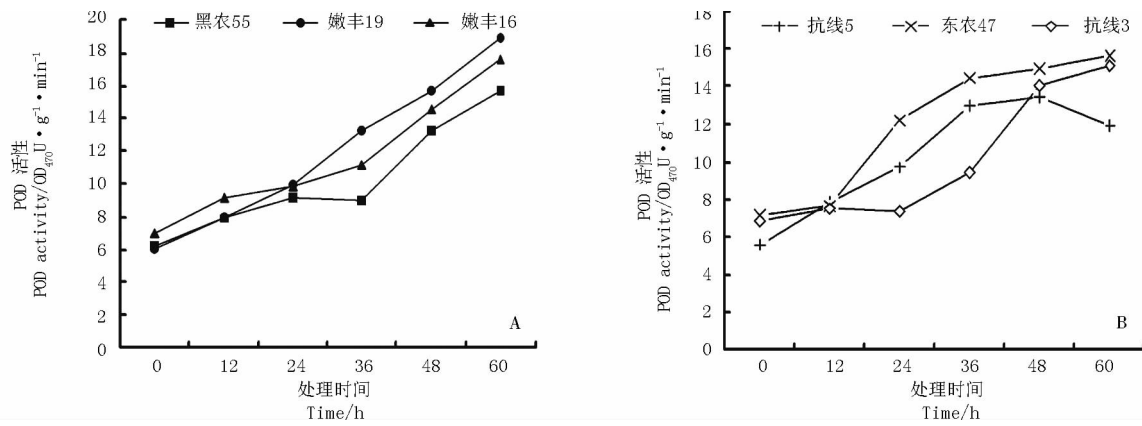
### 2.2 腐霉菌对大豆下胚轴中 POD 活性的影响

2.2.1 抗病品种 由图 2A 可以看出,抗病品种在接种后,下胚轴中的 POD 活性呈递增趋势,接种后 36~60 h 增加速度较快,在 60 h 达到最大值。接种后 24~60 h 嫩丰 19 POD 活性整体高于黑农 55 和嫩丰 16。黑农 55、嫩丰 16、嫩丰 19 下胚轴中的 POD 活性最大值分别为 15.71、17.59 和 18.89 OD<sub>470</sub> U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>。

2.2.2 感病品种 由图 2B 可以看出,感病品种在接种后,下胚轴中的 POD 活性整体上呈递增趋势。接种后 12~60 h,东农 47 POD 活性整体高于抗线 5 和抗线 3。抗线 3 和东农 47 在接种后 60 h POD 活性达到最大值;抗线 5 在接种后 48 h 达到最大值。

## 3 讨论

植物受到病原菌侵染后,体内会发生复杂的生理生化变化,以抵抗病原菌的侵入和危害<sup>[9-11]</sup>。有研究表明 PAL 和 POD 与植物抗病性密切相关<sup>[12-14]</sup>。该研究表明,不同抗、感病品种在接种腐霉菌后都表现出抗病机制,启动酶促防御系统,激活和产生 PAL 和 POD。PAL 和 POD 活性的提高诱导木质素等多种具有抗菌作用的次生产物的产生和引起细胞坏死来抵抗腐霉菌的侵入和扩展。抗病品种嫩丰 19 在接种腐霉菌后 PAL 和 POD 活性整体高于黑农 55 和嫩丰 16,表现出较好的抗病性反应。抗病品种 PAL 活性均在接种后 12 h 出现第一



A:抗病品种;B:感病品种

A:Resistant cultivar;B:Susceptible cultivar

图2 腐霉菌侵染大豆品种下胚轴 POD 活性变化

Fig.2 POD activities of soybean hypocotyls infected by *Pythium*

次峰值,但感病品种在此时均表现为较低的活性值;抗病品种的 POD 活性随接种时间的延长呈现整体快速上升的趋势,感病品种 POD 活性上升则相对缓慢;抗病品种的 POD 和 PAL 峰值均高于感病品种,表明抗病品种在接种腐霉菌后能在较短的时间内产生高效的抗病反应,抵御腐霉菌侵染。

### 参考文献

- [1] 王敬文,薛应龙. 植物苯丙氨酸解氨酶的研究 I [J]. 植物生理学报,1981,7(4):373-375. (Wang J W, Xue Y L. Research on plant phenylalanine ammonia-lyase I [J]. Plant Physiology Journal, 1981, 7(4): 373-375.)
- [2] 刘亚光,李海英,杨庆凯. 大豆品种的抗病性与叶片内苯丙氨酸解氨酶活性关系的研究[J]. 大豆科学,2002,21(3):195-198. (Liu Y G, Li H Y, Yang Q K. Study on the relationship between resistance of soybean and activity of PAL in leaves of soybean infected by *Cercospora sojina* Hara [J]. Soybean Science, 2002, 21(3): 195-198.)
- [3] 孙欣,刘丽君,薛永国,等. 接种疫霉根腐菌对大豆苯丙氨酸解氨酶活性的影响[J]. 大豆科学,2008,27(4):641-644. (Sun X, Li L J, Xue Y G, et al. Changes of L-phenylalanin ammonia-lyase activity in soybean inoculated with *Phytophthora sojae* [J]. Soybean Science, 2008, 27(4): 641-644.)
- [4] 梁艳荣,胡晓红,张颖力,等. 植物过氧化物酶生理功能研究进展[J]. 内蒙古农业大学学报,2003,24(2):110-113. (Liang Y R, Hu X H, Zhang Y L, et al. Progress on physiological function research of plant peroxidase [J]. Journal of Inner Mongolia Agricultural University, 2003, 24(2): 110-113.)
- [5] 蒋选利,李振岐,康振生. 过氧化物酶与植物抗病性研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2001,29(6):124-129. (Jiang X L, Li Z Q, Kang Z S. The recent progress of research on peroxidase in plant disease resistance [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition), 2001, 29(6): 124-129.)
- [6] 吴俊江,刘丽君,高明杰,等. 大豆接种疫霉根腐病菌后过氧化物酶活性的变化[J]. 中国油料作物学报,2003,25(3):67-70. (Wu J J, Liu L J, Gao M J, et al. The change of POD activity in soybean varieties after inoculation with *Phytophthora sojae* [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2003, 25(3): 67-70.)
- [7] Hartman G L, Sinclair J B, Rupe J C. Compendium of soybean diseases [M]. St Paul: American Phytopathological Society Press, 1999:42-44.
- [8] 郝再彬,苍晶,徐伸. 植物生理学实验[M]. 北京:中国农业出版社,2004. (Hao Z B, Chang J, Xu S. Plant Physiology Experiment [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2004.)
- [9] 郑殿峰,梁喜龙,左豫虎,等. 大豆根腐病菌对大豆幼苗生理生化指标的影响[J]. 中国油料作物学报,2004,26(3):57-61. (Zheng D F, Liang X L, Zuo Y H, et al. Pathogen (*Fusarium oxysporum*) of soybean root rot impacting on biochemical and physiological indexes of soybean seedling [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2004, 26(3): 57-61.)
- [10] 金庆超,叶华智,张敏. 苯丙氨酸解氨酶活性与玉米对纹枯病抗性的关系[J]. 四川农业大学学报,2003,21(2):116-118. (Jin Q C, Ye H Z, Zhang M. Relationship between the activity of PAL and resistance of corn to maize sheath blight [J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2003, 21(2): 116-118.)
- [11] 周博如,刘天国,杨微,等. 不同抗性的大豆品种感染细菌性疫病后 POD、PPO 变化的研究[J]. 大豆科学,2002,21(3):183-186. (Zhou B R, Liu T G, Yang W, et al. Study on the change of POD activity and PPO activity in soybean varieties with different resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *Glycinea* (PSG) [J]. Soybean Science, 2002, 21(3): 183-186.)
- [12] 曾水三,王振中. 豇豆与锈菌互作中的多酚氧化酶和过氧化物酶活性及其与抗病性的关系[J]. 植物保护学报,2004,31(2):145-150. (Zeng S S, Wang Z Z. Relationships between activities of polyphenol oxidase and peroxidase, and resistance of cowpea to *Uromyces vignae* [J]. Acta Phylacica Sinica, 2004, 31(2): 145-150.)
- [13] 邢会琴,李敏权,徐秉良,等. 过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶与苜蓿白粉病抗性的关系[J]. 草地学报,2007,15(4):376-380. (Xing H Q, Li M Q, Xu B L, et al. Relationships between leaf POD and PAL and the resistance of *Alfalfa* cultivars against powdery mildew [J]. Acta Agrestia Sinica, 2007, 15(4): 376-380.)
- [14] 王安乐,邓稳桥,朱海全,等. 黄瓜感染霜霉病菌后关键酶活性的变化[J]. 长江蔬菜,2008(10):52-54. (Wang A L, Deng W Q, Zhu H Q, et al. On the change of enzyme activities of cucumber infected by *Pseudoperonospora* [J]. Journal of Changjiang Vegetables, 2008(10): 52-54.)