

几个甘蔗品种的过氧化物酶活性及其同工酶多样性的比较研究

黄卓烈 潘 涛

(华南农业大学生物技术学院, 广州 510642)

摘要 在粤农 76/169、Q75、桂糖 1 号、福蔗 77/3003、印度 CO331 和 POJ2878 等 6 个品种甘蔗中, 同一品种不同器官的过氧化物酶活性有较大的差别; 不同品种同一器官过氧化物酶活性也不同。各品种的叶片、叶鞘、茎尖、成熟茎和根的过氧化物酶同工酶数量差异较大。同一品种各器官中以代谢旺盛的叶片和叶鞘的同工酶数较多。不同品种的同工酶数也有较大的变化。

关键词 甘蔗; 过氧化物酶同工酶; 过氧化物酶活性

中图分类号 Q 946

过氧化物酶(POD)是广泛存在于植物体内的一类酶。植物的生长、发育、细胞的代谢与分化都与 POD 的活性有关。当植物遇到不良的环境条件时, 植物体会调整自身的 POD 活性, 使之能适应不良的环境, 从而保护自己(陈永泉等, 1997)。据认为, POD 是遗传信息表现较好的标志, 其合成受到一系列基因所调控。因此, 有些学者便以 POD 的类型为依据, 对某些植物遗传上的亲缘关系进行探讨(Sawazaki et al, 1989; Glaszmann et al, 1989), 甚至有人用 POD 同工酶为标准对作物品种进行分类(Siqueira et al, 1985)。在甘蔗中, 也曾有人用 POD 同工酶作为一种标记, 研究各品种亲本之间的遗传关系。但事实上, POD 体系是一个较为复杂的体系。植物体的不同发育时期具有不同的 POD 同工酶组成。陈永泉等(1997)曾指出, 芒果在不同的贮藏期间, 其 POD 同工酶体系表现出不同的变化。而本文的研究结果显示, 不同品种的甘蔗的 POD 活性及其同工酶体系相差甚大; 同一植株不同器官之间 POD 同工酶体系也有极大差异。表现出甘蔗中 POD 同工酶体系的复杂性和多样性。

1 材料与方法

1.1 试验选用的甘蔗品种

粤农 76/169、Q75、桂糖 1 号、福蔗 77/3003、印度 CO331 和 POJ2878。各品种甘蔗春植于华南农业大学甘蔗园。常规管理。8 月份植株高度达 1.7 m 时, 分别取样测定叶片、叶鞘、茎尖、成熟茎和根的 POD 活性及其同工酶。

1.2 测定方法

蛋白质含量测定用考马斯亮蓝法(Bradford, 1977)。POD 活性测定用张志良(1994)的方法; POD 活性以每分钟每毫克蛋白质催化底物反应时光密度变化的单位数[$U/mg \cdot min$]表示。试验重复 3 次。

1.3 POD 同工酶的分离

本试验采用不连续聚丙烯酰胺板状凝胶电泳法分离 POD 同工酶。分离胶浓度 77 g/L, 浓缩胶浓度 39 g/L。样品用 0.1 mol/L 的 Tris—HCl 缓冲液 (pH 8.0, 内含 200 g/L 的蔗糖) 匀浆。离心后取上清液点样。每个样品槽点样 50 μL, 每块凝胶板 10 槽。电泳约 3 h。脱胶后用 20 g/L 联苯胺醋酸 (内含 30 g/L 过氧化氢) 染色 3 min, 然后用蒸馏水漂洗。脱去背景色后, 用日本产 GS—900 型凝胶薄层扫描仪扫描, 波长 610 nm, 得酶带吸收图谱。

2 结果与分析

2.1 各品种各器官 POD 活性比较

2.1.1 不同品种同一器官的比较 各品种甘蔗各器官的 POD 活性见表 1。各品种同一器官的酶活性差别很大。在叶片的酶活性中以桂糖 1 号的最高, 最低的是印度 CO331, 前者是后者的 8.31 倍。方差分析结果显示, 各品种叶片酶活性差异极显著 (表 2)。在叶鞘中, 酶活性最高的是桂糖 1 号, 最低是粤农 76/169。前者是后者的 31.08 倍。方差分析结果, 各品种叶鞘酶活性差异显著 (表 2)。在茎尖中, 酶活性最高的是印度 CO331, 是 Q75 的 2.84 倍。方差分析结果, 各品种茎尖酶活性差异极显著 (表 2)。在成熟茎中, 桂糖 1 号酶活性最高, Q75 最低, 前者是后者的 7.6 倍。方差分析结果, 各品种成熟茎酶活性差异极显著 (表 2)。在根中, 酶活性最高的是福蔗 77/3003, 最低的是 Q75。前者是后者的 2.18 倍。方差分析结果, 各品种根酶活性差异显著。

表 1 各品种甘蔗各器官过氧化物酶活性比较

品 种	过 氧 化 物 酶 活 性/[U °(mg°min) ⁻¹]				
	叶 片	叶 鞘	茎 尖	成熟茎	根
粤农 76/169	0. 306	0.037	0.136	0.057	1.193
Q75	0.299	0.062	0.050	0.015	1.061
桂糖 1 号	1.762	1.150	0.105	0.114	1.367
福蔗 77/3003	0.294	0.040	0.128	0.074	2.317
印度 CO331	0.212	0.064	0.142	0.062	2.263
POJ2878	0.439	0.262	0.126	0.017	1.738

表 2 各品种各器官过氧化物酶活性方差分析

器官	DF		SS		MS		F	F _{0.05}	F _{0.01}
	品种间	误差	品种间	误差	品种间	误差			
叶 片	5	12	5.996	1.206	1.199	0.100	11.93 ^{**}	3.11	5.06
叶 鞘	5	12	2.902	1.778	0.580	0.148	3.92 [*]	3.11	5.06
茎 尖	5	12	0.017	0.006	0.0034	0.0005	6.80 ^{**}	3.11	5.06
成熟茎	5	12	0.021	0.006	0.0042	0.0005	8.40 ^{**}	3.11	5.06
根	5	12	4.396	3.401	0.879	0.283	3.11 [*]	3.11	5.06

2.1.2 同一品种不同器官间酶活性的差异 在同一品种中, 不同器官之间酶活性的差别较大

(表1). 在粤农 76/169 中, 酶活性最高的是根, 最低是叶鞘, 前者是后者的 32.24 倍. 桂糖 1 号叶片酶活性是成熟茎的 15.46 倍. 福蔗 77/3003 的根酶活性是叶鞘的 57.93 倍. 印度 CO331 的根酶活性是成熟茎的 36.50 倍. Q75 的根酶活性是成熟茎的 70.73 倍. 而 POJ2878 的根酶活性竟是成熟茎的 102.24 倍. 可见, 同一品种不同器官间 POD 活性差异相当悬殊.

2.2 甘蔗叶片 POD 同工酶谱比较

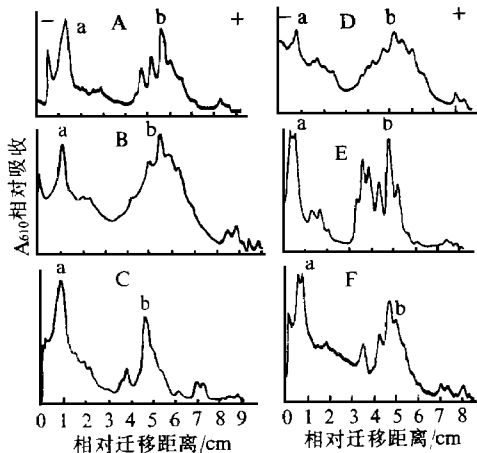
供试的品种中, 叶片的 POD 同工酶数是有差异的. 粤农 76/169、Q75、桂糖 1 号、福蔗 77/3003、印度 CO331、POJ2878 的叶片分别分离到 13、14、13、15、16 和 13 个酶峰(图1). 各品种都有共同的酶峰 2 个(见图1中的 a、b 两峰), 可认为此两峰是甘蔗的特征峰. 在此两峰之间各品种包含的峰数亦异. 粤农 76/169、Q75、桂糖 1 号、福蔗 77/3003、印度 CO331、POJ2878 在两峰之间分别有 7、4、5、7、7 和 4 个酶峰(图1).

2.3 甘蔗叶鞘 POD 同工酶谱比较

各品种叶鞘 POD 同工酶谱见图2. 粤农 76/169、Q75、桂糖 1 号、福蔗 77/3003、印度 CO331 和 POJ2878 的叶鞘分别有 10、11、14、13、9 和 15 个同工酶峰. 在 a、b 两特征峰之间, 各品种分别有 2、3、2、5、3、2 个酶峰. 差别明显(图2).

2.4 甘蔗茎尖 POD 同工酶谱的比较

从图3可见, 粤农 76/169、Q75、桂糖 1 号、福蔗 77/3003、印度 CO331、POJ2878 的茎尖分别有 9、9、10、8、11 和 12 个 POD 同工酶, 而各品种在 a、b 两特征峰之间分别有 1、1、3、2、1 和 1 个酶峰. 可见其间的差异也很大.



A. 粤农 76/169 B. Q75 C. 桂糖 1 号 D. 福蔗 77/3003
E. 印度 CO331 F. POJ2878

图1 各品种甘蔗叶片 POD 同工酶扫描图

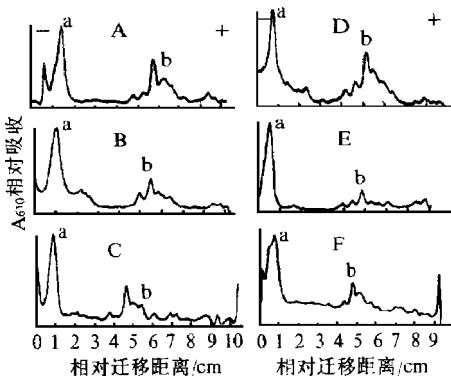


图2 各品种甘蔗叶鞘 POD 同工酶扫描图

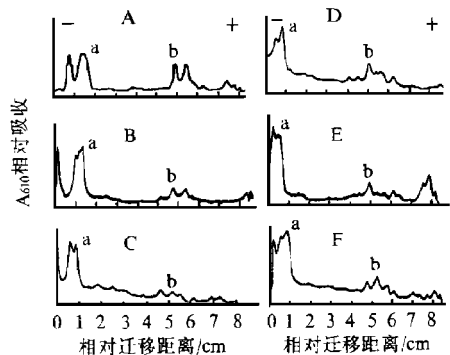


图3 各品种甘蔗茎尖 POD 同工酶扫描图

2.5 甘蔗成熟茎 POD 同工酶谱比较

各品种成熟茎是同工酶最少的器官, 见图 4. 粤农 76/169、Q75、桂糖 1 号、福蔗 77/3003、印度 CO331、POJ2878 的成熟茎分别有 7、6、6、10、6、7 个同工酶, 而在 a、b 两峰间分别有 1、1、2、3、1、1 个酶峰, 表现也各异(图 4).

2.6 甘蔗根的 POD 同工酶谱比较

各品种根的 POD 同工酶谱见图 5. 粤农 76/169、Q75、桂糖 1 号、福蔗 77/3003、印度 CO331、POJ2878 的根分别有 11、8、7、10、10、6 个同工酶, 在 a、b 两特征峰之间, 各品种分别有 5、1、5、2、3、1 个酶峰. 其差异也很悬殊.

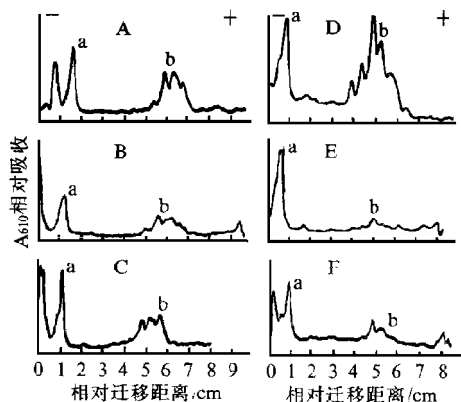


图 4 各品种成熟茎 POD 同工酶扫描图

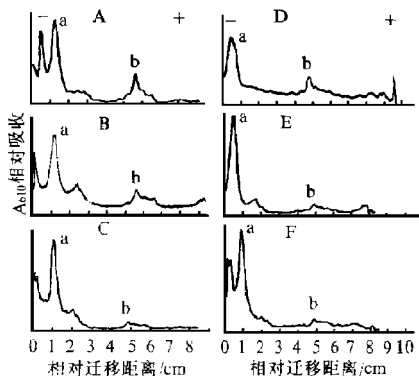


图 5 各品种甘蔗根的 POD 同工酶扫描图

3 讨论

在植物体内, POD 的作用底物很多, 不仅可以分解 H_2O_2 、吲哚乙酸 (Barm an, 1969), 而且还可以作用诸如酚酸化合物等一系列其它物质 (Al Barazi et al, 1984). 其实, POD 是一种多功能的酶, 它不仅可以将体内某些有害的代谢副产物转变为无害物质, 而且可以促进体内某些中间物质转化, 从而对植物的生长、发育和提高抗性起积极作用. 本试验发现: ①甘蔗各器官 POD 活性相差极大, 以根和叶片的酶活性较高, 而以成熟茎或叶鞘的酶活性较低. 这可能与器官的代谢强弱有关. ②各器官的 POD 同工酶数各不相同. 在同一植株中, 以叶的同工酶较多, 而以成熟茎的同工酶数较少. ③不同品种的同一器官的 POD 同工酶数不同, 甚至相差悬殊. 这点可能说明不同品种有不同的代谢水平和不同的抗逆性. ④各品种各器官都起码有 2 个共同的同工酶峰, 这可能是甘蔗的共同遗传特征.

尽管前人对植物 POD 及其同工酶有过大量研究, 但用甘蔗作材料的并不算多. Saw azaki 等 (1989) 研究了 3 个甘蔗品种及其体细胞克隆体的 POD 同工酶体系, 证明各品种具有不同的同工酶, 而同一品种的不同体细胞克隆体之间, 其 POD 同工酶却无明显的区别. 有人用同工酶体系鉴别甘蔗属 (*Saccharum*) 各种植物的亲缘关系, 认为这是个鉴定亲本的较好方法. Glaszmann 等 (1989) 也用 POD 同工酶体系研究甘蔗基因组的遗传规律, 以鉴别甘蔗的不同种类. 据认为, 品种间 POD 同工酶谱越接近, 其亲缘关系越接近. 但从本试验结果中, 并未找到供试的 6 个品种的亲缘关系. 因为各品种各器官的同工酶谱并未见表现出高度相似性. 而从本试验结果发现一个有趣的现象就是, 各品种甘蔗不同器官有着不同的同工酶谱. 这表明各

器官的同工酶有着不同的遗传基础。即使是同一个植株,在不同的器官也表现出不同的 POD 同工酶体系。例如,成熟茎、叶片和叶鞘都是由茎尖的分生组织发育分化而来的,按理应有统一的遗传基础和相同的同工酶体系。但事实并非如此,各器官均有其独特的同工酶体系。这在供试的 6 个品种中均是如此。足可证明甘蔗 POD 同工酶体系的多样性与复杂性。

从另一角度看,叶片是植物的重要器官。在叶片中新陈代谢最旺盛,POD 活性较高,同工酶数也较多。根是吸收器官,根内的代谢也很旺盛,因而 POD 活性也较高。成熟茎是贮藏器官,在茎中代谢不太旺盛,所以 POD 活性较低,同工酶数也少。看来,POD 活性高低及同工酶数的多少倒可以作为植物组织新陈代谢强弱的重要标记。

致谢 谭中文教授为本试验提供植物材料,谨致谢意。

参 考 文 献

- 张志良. 1994. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 154 ~ 155
- 陈永泉, 刘 欣, 林日高, 等. 1997. 芒果贮藏期间过氧化物酶同工酶的变化研究. 华南农业大学学报, 18(3): 81 ~ 85
- Al Barazi Z, Schwabe W W. 1984. The possible involvement of polyphenol oxidase and the auxin-oxidase system in root formation and development in cuttings of *Pistacia vera*. J Hort Sci, 59(3): 453 ~ 461
- Barman T E. 1969. Enzyme Handbook. 1. Berlin: Springer-Verlag, 10 ~ 257
- Bradford M M. 1977. A rapid and sensitive method for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, 72(2): 248 ~ 254
- Glaszmann J C, Fautret A, Noyer J L, et al. 1989. Biochemical genetic markers in sugarcane. Theor Appl Genet, 78(4): 537 ~ 543
- Sawazaki H E, Silvarolla M B, Alvarez R. 1989. Isoenzymic characterization of sugarcane clones and somaclones. Bragant, 48(1): 1 ~ 11
- Siqueira N J, Medina F, Herculano P, et al. 1985. Morphological and electrophoretic characterization of garlic clones. Bragant, 44(1): 357 ~ 374

COMPARATIVE STUDIES OF PEROXIDASE ACTIVITIES AND ISOENZYMES IN SIX VARIETIES OF SUGARCANE

Huang Zhuolie Pan Tao

(College of Biotechnology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642)

Abstract

The results of this investigation indicated that peroxidase activities were very different both among the different organs in the same variety and among the same organs of different varieties in 6 sugarcane cultivars i. e. Yuenong 76/169, Q75, Guitang NO. 1, Fuzhe 77/3003, India CO 331, and POJ 2878. In the blades, petioles, stem tips, mature stems, and roots, the numbers of isoperoxidases were significantly different both among the organs of the same variety and among the same organs of different varieties.

Key words Sugarcane (*Saccharum officinarum* Linn.); peroxidase activity; isoperoxidase

[责任编辑 李 玲]