

氯化铈、硝酸稀土对甘蔗过氧化物酶同工酶和酯酶同工酶的影响

马 林¹, 邝炎华²

(1 绵阳市生物工程研究中心, 四川 绵阳 621000; 2 华南农业大学生物技术学院, 广东 广州 510642)

摘要:甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)分蘖中期以 100、300、600 mg/L 质量浓度叶面喷施氯化铈和硝酸稀土溶液,以喷清水作对照,分别于处理后第 3 d 和第 20 d 对甘蔗+1 叶片过氧化物酶和酯酶同工酶作电泳分析。结果表明,单质稀土元素铈和混合硝酸稀土对 2 种酶的同工酶均有影响,但存在一定差异,在不同浓度处理中,以 300 mg/L 处理结果最为明显,表现为多条酶带的染色加深,100 mg/L 处理次之,600 mg/L 处理相对影响较小。稀土元素处理后酶带数的变化不是很明显,但从酯酶同工酶酶谱及氯化铈处理时过氧化物同工酶酶谱可见,在一些酶带区域出现了酶带的增加或减少。

关键词:甘蔗;氯化铈;硝酸稀土;过氧化物酶;酯酶;同工酶

中图分类号:Q 945

文献标识码:A

一定浓度的稀土元素(REE)对甘蔗有促进生长和分蘖、促进提早成熟、增产增糖、提高蔗汁纯度、降低还原糖含量等良好效应^[1-3],且能促进甘蔗对磷、钾素的吸收利用^[4,5],促进根系活力及氮素同化作用^[4,6],并能提高其抗逆性能^[7]。在 REE 的生理效应方面,REE 对甘蔗一些酶活性的影响已有不少报道^[8-10],研究者的结果表明 REE 处理后甘蔗酶活性的改变对甘蔗的生理代谢有重要影响,但研究 REE 对植物同工酶的影响仅在水稻^[11]和玉米^[12]有报道。本文研究了甘蔗叶面喷施氯化铈和硝酸稀土后叶片过氧化物酶和酯酶同工酶的变化,以进一步揭示和阐明 REE 促进甘蔗增产增糖的作用机理。

1 材料与方法

1.1 材料

甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)品种为粤农 83/511 和粤糖 63-237(由广东省农科院经作所提供)。单质氧化稀土(Ce_2O_3)为广东省珠江冶炼厂产品,氧化铈的质量分数为 99.99%。混合硝酸稀土 $[\text{RE}(\text{NO}_3)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 为河南省商丘冶炼厂产品,氧化稀土(RexOy)的质量分数为 38.7%。薄层色谱双波长扫描仪(CS930 型)为日本 Shimadzu 公司产品。中压电泳仪(DY600 型)为广东省汕头市广播仪器厂产品。试剂为国产分析纯。

1.2 稀土处理

盆栽秋植蔗于分蘖中期以 100、300、600 mg/L 3

个浓度分别喷施 CeCl_3 溶液(Ce_2O_3 用 6 mol/L HCl 溶解)和硝酸稀土溶液,均匀喷施于叶片,以喷清水作对照。

1.3 粗酶液的提取

CeCl_3 喷施处理后第 3 d 取样,硝酸稀土喷施处理后第 20 d 取样。上午 8 时取样,对照和处理任选 3 株生长较一致的植株,剪取主茎+1 叶,去中脉,取叶片中部长约 10 cm 的一段,剪碎混匀按郑德森^[13]的方法提取酶液。

1.4 同工酶的电泳分析

参照廖兆周^[14]的方法稍作修改,聚丙烯酰胺双垂直平板电泳。进样量为 50 μL 。过氧化物酶的起始电流为 15 mA,30 min 后升至 30 mA,保持电流恒定,电泳时间约 4 h,凝胶用改良醋酸联苯胺法显带,染色液由 20 g/L 联苯胺溶液、40 g/L 氯化胺溶液、50 g/L EDTA 溶液(用 NaOH 调节 pH 至 6.0)和质量分数 0.3% H_2O_2 溶液各 1 份加水 8 份混合而成,在室温下染色 5~10 min,用清水冲洗 1~2 h。酯酶同工酶电泳的起始电流为 15 mA,30 min 后升至 24 mA,保持电流恒定,电泳时间约 8 h,电泳结束,将凝胶浸入 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH 6.0)于 37℃ 下保温 1 h 左右,然后取出,浸入染色液中(由 80 mg α -醋酸萘酯、80 mg β -醋酸萘酯、120 mg 坚牢兰 RR 盐溶于 10 mL 丙酮中,加入 90 mL 0.1 mol/L pH6.0 磷酸缓冲液),在 37℃ 下保温 30~40 min,染色完毕,凝胶用 50 mL/L 乙酸浸洗至背景清晰。

1.5 酶谱扫描

用薄层色谱扫描仪扫描,过氧化物酶同工酶谱扫描波长 450 nm,酯酶同工酶酶谱扫描波长 490 nm.

2 结果

2.1 氯化铈对过氧化物酶同工酶的影响

3 个浓度处理对过氧化物酶同工酶酶谱均有影

响.100 mg/L 处理与对照比较酶带完全相同,但迁移慢的酶带有不同程度的染色减弱,尤以 D 酶带明显, E、H 酶带则染色加深;300 mg/L 处理在迁移慢的区域增加了一条酶带(C), E、F、G 酶带染色则明显加深;600 mg/L 处理与300 mg/L处理的结果类似,但 A 酶带染色明显减弱, E 酶带染色加深不如 300 mg/L 处理, F、G 酶带染色比对照更浅. 结果见图 1.

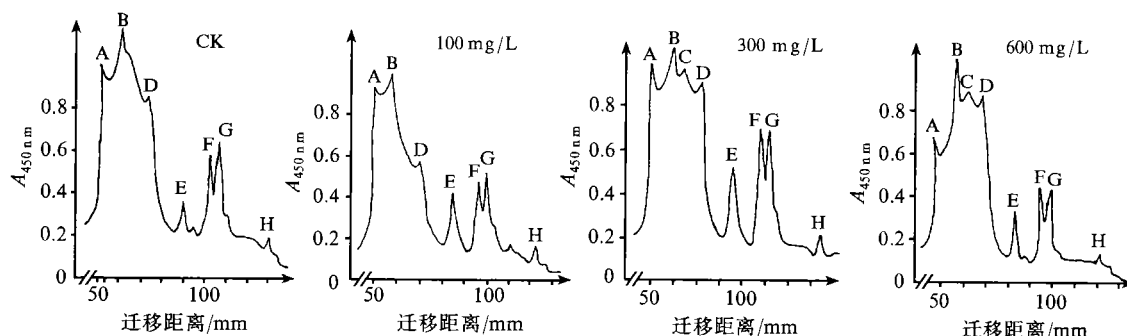


图 1 不同浓度 CeCl_3 处理对甘蔗过氧化物酶同工酶的影响

Fig.1 Effects of different CeCl_3 concentrations on peroxidase isozyme in sugarcane

2.2 硝酸稀土对过氧化物酶同工酶的影响

100 mg/L 硝酸稀土处理同工酶谱与对照相比差异不明显,300 mg/L 和 600 mg/L 处理各条酶带均比对照同一位置带的光密度值明显增高,表明 REE 处理促进了过氧化物酶活性的增强,但 300 mg/L 与 600 mg/L 处理之间差异不明显. 3 个浓度处理均未见有酶带的增加或减少. 结果见图 2.

2.3 氯化铈对酯酶同工酶的影响

从图 3 可见,3 种浓度处理对酯酶同工酶的影响

各有差异. 与对照相比,100 mg/L 处理有 3 条酶带染色加深(F、J、K),300 mg/L 处理有 5 条酶带染色加深(F、G、K、M、N),在 F、K 位置 300 mg/L 处理比 100 mg/L 处理更明显,600 mg/L 处理与对照相比酶带染色深浅无大的差异. 3 种浓度处理均见减少一条酶带(E),600 mg/L 处理还发现在迁移慢的区域减少 1 条酶带(B),同时增加 1 条酶带(D),但不是十分明显.

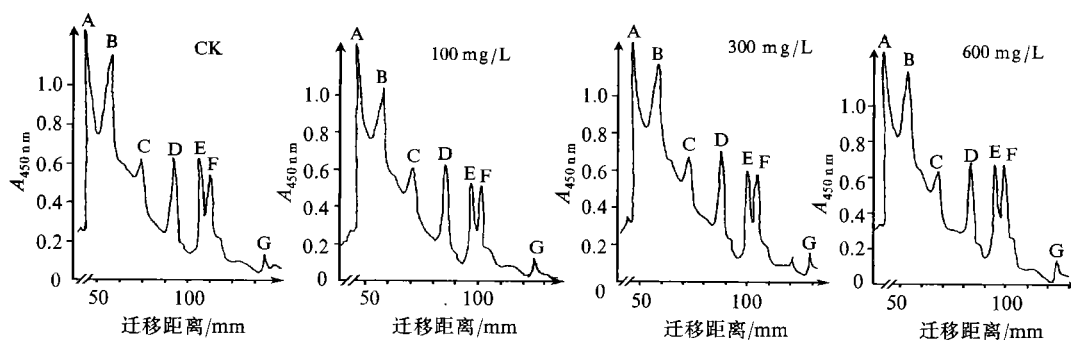


图 2 不同浓度硝酸稀土处理对甘蔗过氧化物酶同工酶的影响

Fig.2 Effects of different rare earth nitrate concentrations on peroxidase isozyme in sugarcane

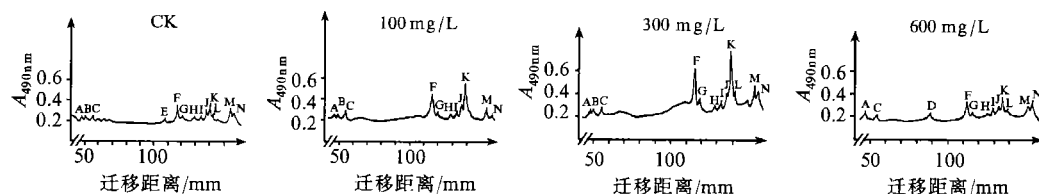


图 3 不同浓度 CeCl_3 处理对甘蔗酯酶同工酶的影响

2.4 硝酸稀土对酯酶同工酶的影响

不同浓度硝酸稀土处理对酯酶同工酶的影响表现出不同的特点,100 mg/L 处理在 A、C 酶带明显比对照染色加深,D 酶带则减弱,300 mg/L 处理则 D、F 酶带比对照明显加深,600 mg/L 处理在 D 位置酶带

染色加深更明显,但 F 酶带则与对照相差不大,此外,100 mg/L 和 300 mg/L 浓度处理在迁移慢的区域出现了 1 条新的酶带(B),300 和 600 mg/L 处理在 J 位置明显可见新增 1 条酶带.结果见图 4.

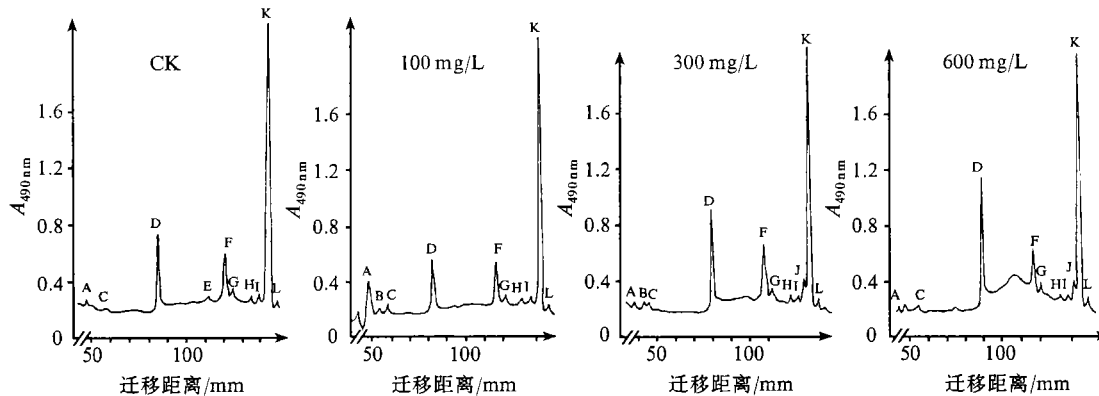


图4 不同浓度硝酸稀土处理对甘蔗酯酶同工酶的影响

Fig.4 Effects of different rare earth nitrate concentrations on esterase isozyme in sugarcane

3 讨论

同工酶的表达是遗传因子和环境因子共同作用的结果,其变化在植株内的代谢调节上有较大作用,已有研究表明光、温度、外源激素、矿质元素等外界条件对植物同工酶均有影响^[15,16].本文研究结果证实了 REE 作为一种环境因子对甘蔗同工酶的效应,其作用机理一方面可能是 REE 与酶蛋白结合而改变了辅酶或辅基数目导致同工酶的变化,另一方面可能是对酶蛋白亚单位聚合程度产生影响,对多肽链间二硫键、氢键的作用引起酶的三维空间结构改变从而产生同工酶^[17].

过氧化物酶是一种能利用 H_2O_2 氧化供氢体的酶,分布广泛,过氧化物酶活性的提高与植物器官和组织的衰老密切相关,也与蔗株的伸长生长及适应性有关.李杨瑞的研究表明生长后期叶片过氧化物酶活性的提高与环境温度降低、甘蔗茎内大量积累糖分表现相一致,其原因是过氧化物酶能使生长素氧化分解,促进乙烯的合成,从而促进组织和器官的分化,促进甘蔗成熟^[18].REE 处理后过氧化物酶同工酶酶带的变化,根据使用的浓度和测定时期而有差异,这与杨丽涛等用硝酸镧和混合稀土处理甘蔗后测定过氧化物酶活性的结果类似^[9],分蘖后期及伸长前期酶带染色的加深,说明与过氧化物酶有关的代谢活动较旺盛,这对甘蔗的生长是有利的.

酯酶能催化羧酸酯类的水解,在代谢中可能还有转脂化的作用.REE 处理引起酯酶同工酶酶带的明显加深,表明酯酶活性的增强,这同样能对甘蔗的脂类代谢起调控作用.

REE 对同工酶的诱导,可能在代谢中有特殊的调节作用,同工酶的产生会在更细微的水平上控制代谢途径,从而保证器官组织所特有的新陈代谢的专一性,并能更进一步协调细胞内各种代谢过程,这反映了甘蔗对外界条件(REE 处理)的适应性,但同工酶的变化与甘蔗生长发育之间到底有什么样的必然因果关系仍然十分复杂,有待进一步研究.

参考文献:

- [1] 庄学调,梁仲文,伍小萍,等.稀土对甘蔗有明显增产增糖效果[J].甘蔗糖业—甘蔗分刊,1987,(1):37~40,34.
- [2] 苏广达,刘汉德.甘蔗喷施稀土增产增糖机理的研究 V.产量构成、产量和品质的研究[J].甘蔗糖业,1990,(6):4~9.
- [3] 李杨瑞,黎兆安,杨丽涛,等.富镧稀土对甘蔗品种新台糖 1 号经济性状的效应[J].广西农业大学学报,1994,13(4):334~338.
- [4] 邝炎华,刘琼英,郑粤美,等.稀土元素在甘蔗体内运转、分配及其对磷、钾素吸收的影响[J].核农学报,1991,5(3):146~152.
- [5] Kuang Y H, Liu Q Y, Zheng Y M. Effects of rare earths on phosphorus and potassium absorption in sugarcane[J]. Bulletin

- of the Australian Nuclear Association, 1991, 8(3): 1~3.
- [6] 邝炎华, 刘琼英, 郑粤美. 稀土元素处理对甘蔗体内氮素同化作用的影响研究[J]. 华南农业大学学报, 1992, 13(1): 60~68.
- [7] 邝炎华, 刘琼英, 郑粤美. 稀土元素在甘蔗体内分配、残留累积及其对甘蔗抗逆性能的影响[J]. 华南农业大学学报, 1992, 13(2): 47~54.
- [8] 欧顺清, 陈西凯. 稀土对甘蔗叶片几种酶活性的影响及其与生长发育的关系[J]. 四川甘蔗, 1989, (4): 1~6.
- [9] 杨丽涛, 李杨瑞, 莫家让. 硝酸铈、混合稀土对甘蔗叶片多酚氧化酶和过氧化物酶活性的影响[J]. 广西农学院学报, 1990, 9(3): 80~84.
- [10] 潘廷国, 王元贞, 柯玉琴, 等. 喷施稀土对甘蔗植株ATP酶和根际土壤酶活性的影响[J]. 作物学报, 1993, 19(2): 133~139.
- [11] 陈克成, 黄太南, 廖启芳. 稀土元素对作物生理效应的初步研究[J]. 湖北农业科学, 1986, (5): 14~16.
- [12] 汤锡珂, 李国凤. 铈对玉米幼苗生长及其酶谱的影响[J]. 中国稀土学报, 1983, 1(2): 56~59.
- [13] 郑德森. 甘蔗12个种和品种的6种同工酶比较[J]. 福建农学院学报, 1987, 16(2): 101~110.
- [14] 廖兆周. 甘蔗酯酶和过氧化物酶同工酶的聚丙烯酰胺凝胶电泳[J]. 甘蔗糖业—甘蔗分刊, 1987, (2): 8~10.
- [15] 刘富林. 作物生活中的同工酶[J]. 河北农业大学学报, 1987, 10(2): 71~79.
- [16] 朱立武. 植物同工酶研究与应用的现状[J]. 安徽农学院学报, 1990, 17(1): 57~62.
- [17] 陆士伟, 赖天斌. 同工酶在农业上的应用[M]. 广州: 广东科技出版社, 1987. 3~9.
- [18] 李杨瑞. 甘蔗组织中过氧化物酶活性及其与生长和工艺成熟的关系初探[J]. 广西农学院学报, 1990, 9(1): 13~18.

Effects of Cerium Trichloride and Rare Earth Nitrate on Peroxidase Isozyme and Esterase Isozyme in Sugarcane

MA Lin¹, KUANG Yan-hua²

(1 Mianyang Biotechnology Research Center, Mianyang 621000, China;

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

Abstract: The treatment of spraying cerium trichloride and rare earth nitrate on sugarcane with three concentrations (100, 300, 600 mg/L) were done at middle tillering stage. The isozyme of peroxidase and esterase of leaf was assayed by means of polyacrylamide gel electrophoresis at the 3th day for the treatment of cerium trichloride and at the 20th day for the treatment of rare earth nitrate. The results showed that both types of rare earth had influences on the isozyme level, but were different from each other. In the treatments of three concentrations, it was found that the effect of 300 mg/L was most distinct with more enzyme bands coloured deeply, 100 mg/L secondly and 600 mg/L indistinct. On zymograms of esterase isozyme and peroxidase isozyme treated with cerium trichloride, the enzyme bands were increased or decreased in some zones.

Key words: sugarcane; cerium trichloride; rare earth nitrate; peroxidase; esterase; isozyme

【责任编辑 李玲】