

缺磷胁迫对甘蔗膜脂过氧化及 保护酶系统活性的影响*

万美亮 邝炎华 陈建勋

(华南农业大学生物技术学院, 广州, 510642)

摘要 利用水培试验研究了不同基因型甘蔗在缺磷条件下的叶片膜脂过氧化和保护酶系统的变化. 结果显示缺磷能引起甘蔗叶片膜脂过氧化程度的提高及保护酶系统活性的改变, 不同基因型的变化方式和幅度不同, 与其耐低磷特性之间有一定的相关性.

关键词 甘蔗基因型; 缺磷胁迫; 保护酶系统; 膜脂过氧化

中图分类号 Q 945

植物在逆境条件下的膜脂过氧化反应和保护酶系统超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性的变化已广泛用于植物对逆境的反应机理的研究(Bowler et al, 1992). 植物在某些营养胁迫下的保护酶系统的变化亦见诸报道(Vaughan et al, 1982; Cakmak et al, 1992; 1993; Mehlehorn et al, 1996; 吴振球等, 1990). 在缺磷胁迫下, 植物产生一系列生理生化反应, 缺磷对植物氧化胁迫的产生及保护酶系统的变化的影响尚少有研究. 有报道指出耐盐力不同的甘蔗品种在盐逆境其叶片膜脂过氧化和保护酶活性的变化不同(潘廷国等, 1995). 本试验研究不同耐低磷能力的甘蔗基因型在缺磷培养条件下的膜脂过氧化和保护酶系统的变化, 以探讨植物的耐低磷能力与保护酶系统的关系.

1 材料与方法

1.1 材料及处理

试验材料为甘蔗基因型: 粤糖(YT)57-423(耐低磷能力差)、粤糖(YT)71-210和台糖(TT)F-134(耐低磷能力强)、新台糖(XTT)10号(耐低磷能力中等)(其耐低磷能力的评价另文报告). 育苗至四叶期, 移于玻璃温室在 Hoagland 培养液中培养, 每盆 2 株, 6 L 培养液, 循环通气, 每周换 1 次培养液. 生长期气温 20~32 °C. 2 周后进行缺磷(-P; 不加磷)处理, 以供磷(+P; KH_2PO_4 1.0 mmol/L)作对照. 在处理后的第 6、12、19 d 取叶片(最嫩完全展开叶)测定各基因型(-P)处理和对照(+P)的 SOD、POD、CAT 活性和丙二醛(MDA)含量; 在 19 d 检测 SOD、POD 同工酶的变化. 测定重复 3 次.

1.2 测定方法

MDA 含量按林植芳(1984)和 Heath(1968)方法, 以每克鲜质量毫微摩尔表示; SOD 酶液的提取、测定依 Giannoplitis(1977)和王爱国(1983)等的方法, 以抑制 NBT 光还原 50% 为一个酶活性单位(u), 以每毫克蛋白的单位数表示酶活性; 按罗广华(1989)方法测定 POD 和 CAT, 以每分

1998-06-28 收稿 万美亮, 男, 34 岁, 现为华南农业大学博士生

* 广东省自然科学基金(950386)资助项目

钟每毫克蛋白代表的反应系统的消光值变化表示酶活性;酶液蛋白量的测定依 Bradford(1976)进行.SOD和POD同工酶采用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离[w (分离胶)=10%, w (浓缩胶)=2.5%],活性染色法(罗广华等,1983;1993;张维强,等1993),酶带经双波长薄层扫描仪(SHIMADZU,DUAL-WAVELENGTH TLC SCANNER,CS-930)扫描记录,扫描波长:SOD为560 nm,POD为450 nm.

2 结果与分析

2.1 缺磷培养对甘蔗叶片 MDA 含量的影响

停止培养液的磷供应(-P)导致甘蔗叶片MDA含量的增加(见表1),此现象在粤糖57-423和新台糖10号发生较早(6 d)且较明显,粤糖71-210、台糖F-134发生较晚(19 d).MDA含量升高表示膜脂过氧化程度增强,说明缺磷可导致氧化胁迫,引起甘蔗叶片膜脂过氧化程度的提高.

表1 缺磷培养后甘蔗叶片MDA含量的变化¹⁾

nmol/g

基因型	处理	$t_{\text{胁迫}}/d$			
		0	6	12	19
YT 57 423	+P	33.35 ± 4.37	31.63 ± 2.85(100)	26.58 ± 4.18(100)	36.22 ± 1.94(100)
YT 57 423	-P		61.39 ± 6.34(194)	35.67 ± 2.78(134)	36.88 ± 2.63(98)
YT 71 210	+P	48.26 ± 5.32	42.22 ± 6.96(100)	37.55 ± 4.71(100)	17.39 ± 1.70(100)
YT 71 210	-P		40.44 ± 5.41(96)	38.63 ± 3.93(103)	30.93 ± 6.80(178)
TT F-134	+P	28.31 ± 2.73	34.07 ± 3.18(100)	25.08 ± 1.88(100)	17.91 ± 1.13(100)
TT F-134	-P		21.03 ± 3.20(62)	23.25 ± 2.95(93)	30.18 ± 2.03(169)
XTT 10	+P	29.81 ± 5.01	33.94 ± 5.68(100)	36.25 ± 2.42(100)	20.73 ± 0.17(100)
XTT 10	-P		47.33 ± 4.65(139)	38.55 ± 3.26(106)	24.13 ± 1.52(116)

1)以上为3次重复测定平均值,按鲜质量计算.2)括号里的数字代表基因型内-P与+P的相对值

2.2 缺磷培养对SOD、POD、CAT活性的影响

缺磷胁迫引起甘蔗叶片的保护酶活性发生变化.与供磷相比,在胁迫初期一般表现为SOD和CAT活性下降,POD活性下降或上升;随胁迫时间的延长(至19 d),缺磷处理3种酶的相对活性都有升高趋势.不同基因型甘蔗在缺磷胁迫下,其保护酶系统的活性变化方向和幅度有所不同.

粤糖57-423在缺磷培养6 d后,其叶片SOD、POD、CAT活性即明显低于对照,至胁迫19 d时其3种酶的活性仍较对照为低(见图1).

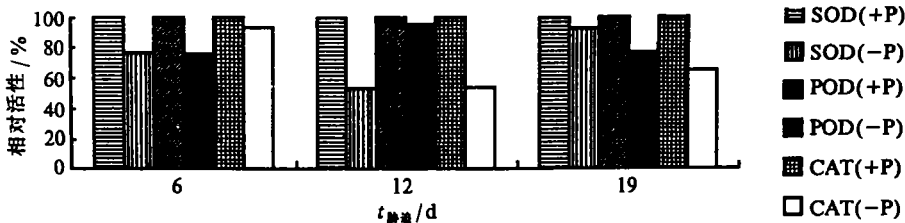


图1 缺磷培养时粤糖57-423 SOD、POD、CAT的活性变化

粤糖 71-210、台糖 F-134 在缺磷胁迫初期其保护酶系统活性没有显著性变化(CAT 轻微下降),延长胁迫时间酶的相对活性上升,至 19 d 时;缺磷处理的 SOD、POD、CAT 活性均明显高于对照(见图 2、图 3)。

新台糖 10 号在缺磷胁迫初期 SOD、CAT 活性下降较多,但 POD 活性显著升高,胁迫时间延长时 CAT、SOD 活性回升,19 d 时缺磷处理 SOD、POD 活性高于对照,提高幅度不及粤糖 71-210 和台糖 F-134, CAT 活性也上升至与对照接近(见图 4)。

2.3 缺磷培养下甘蔗叶片的 SOD 和 POD 同工酶

缺磷培养 19 d 后检测叶片的 SOD、POD 同工酶(见图 5、图 6)。结果表明:缺磷胁迫没有引起甘蔗各基因型内叶片 SOD、POD 同工酶酶谱的变化,仅个别酶带的强度有所不同;各基因型间酶带数目及迁移率有差别(见表 2)。

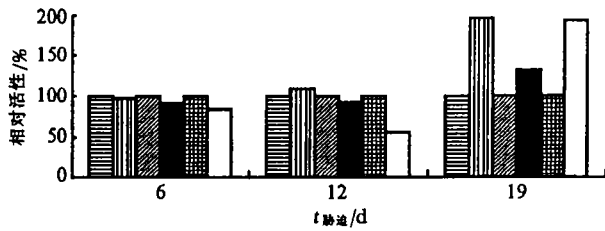


图 2 缺磷培养下粤糖 71-210 之 SOD、POD、CAT 活性变化(图例同图 1)

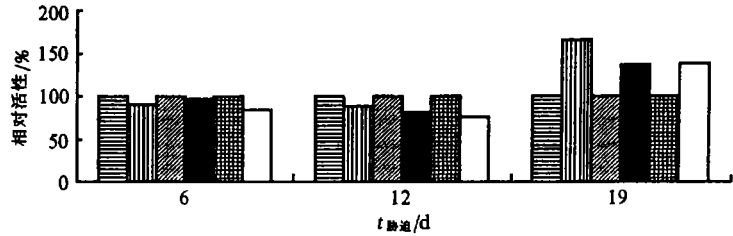


图 3 缺磷培养下台糖 F-134 之 SOD、POD、CAT 活性变化(图例同图 1)

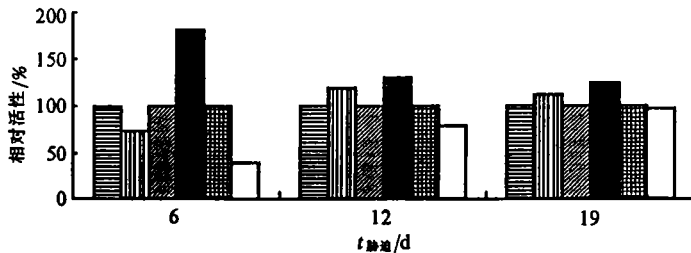
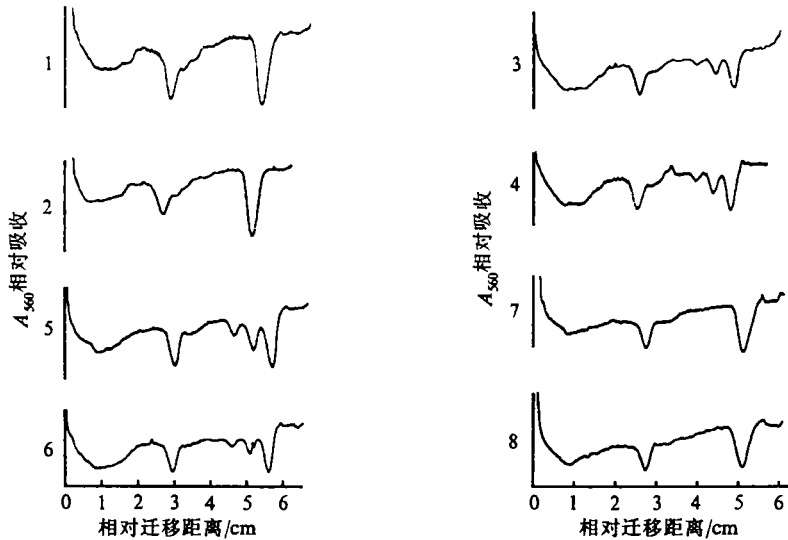


图 4 缺磷培养下新台糖 10 号之 SOD、POD、CAT 活性变化(图例同图 1)

表 2 各基因型甘蔗 POD 及 SOD 同工酶酶带数目及迁移率

基因型		SOD 酶带数目	SOD 酶带迁移率	POD 酶带数目	POD 酶带迁移率
YT 57-423	-P	4	0.407, 0.627, 0.693, 0.787	5	0.119, 0.213, 0.369, 0.431, 0.463
YT 57-423	+P	4	0.407, 0.627, 0.693, 0.787	5	0.119, 0.213, 0.369, 0.431, 0.463
YT 71-210	-P	2	0.407, 0.787	6	0.119, 0.213, 0.250, 0.369, 0.431, 0.463
YT 71-210	+P	2	0.407, 0.787	6	0.119, 0.213, 0.250, 0.369, 0.431, 0.463
TT F-134	-P	4	0.407, 0.627, 0.693, 0.787	5	0.119, 0.181, 0.213, 0.369, 0.463
TT F-134	+P	4	0.407, 0.627, 0.693, 0.787	5	0.119, 0.181, 0.213, 0.369, 0.463
XTT 10	-P	2	0.407, 0.787	5	0.119, 0.213, 0.250, 0.369, 0.463
XTT 10	+P	2	0.407, 0.787	5	0.119, 0.213, 0.250, 0.369, 0.463



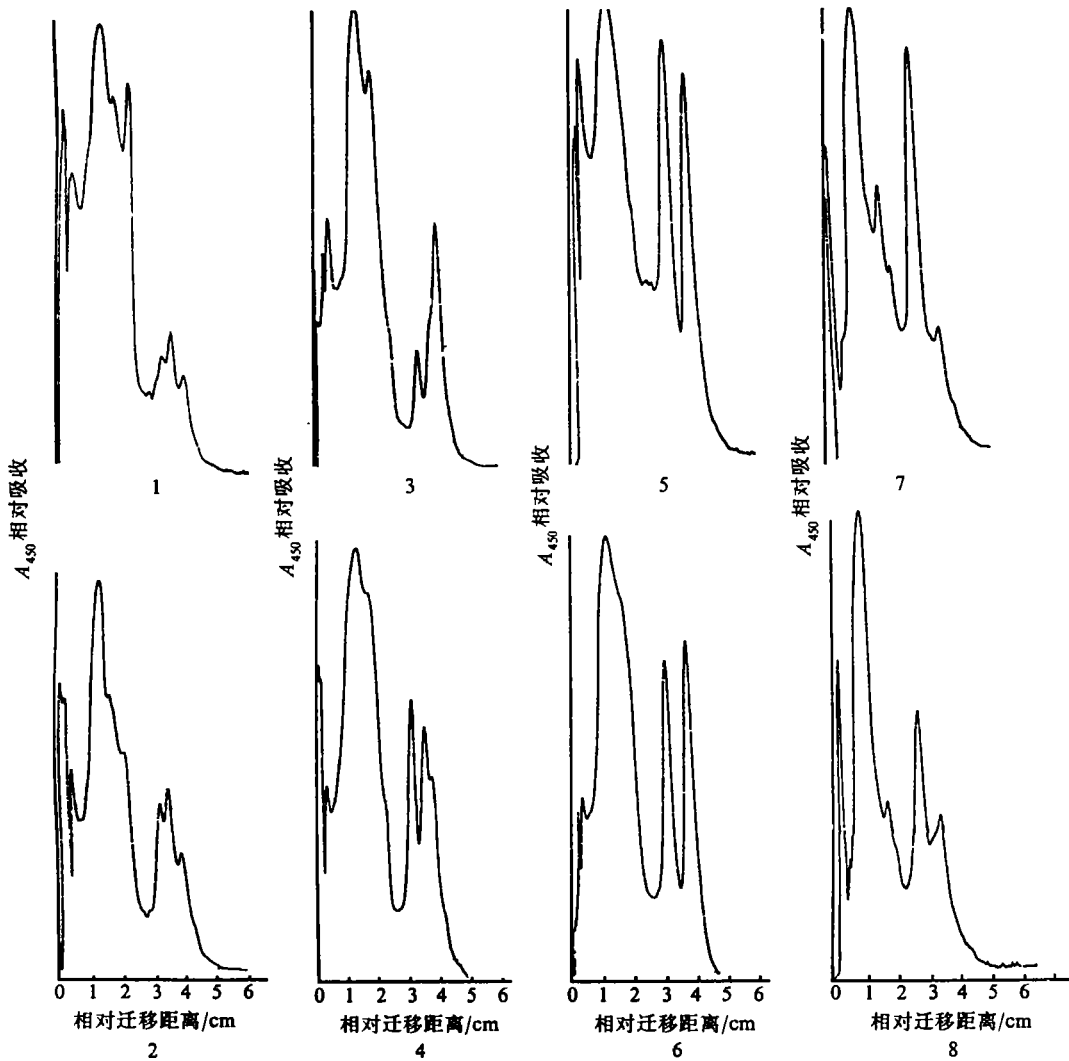
(1: Y171-210 + P 2: Y171-210 - P; 3: Y157-423 + P; 4: Y157-423 - P
5: TTF-134 + P 6: TTF-134 - P; 7: XIT 10 + P; 8: XIT 10 - P)

图5 SOD同工酶扫描图谱

3 讨论

植物体内活性氧自由基的产生是多部位和多途径的。植物体内的多数氧化还原反应都有可能产生少量的超氧化物自由基($O_2^{\cdot-}$)，特别是线粒体呼吸链和叶绿体照光时的光化学反应。 $O_2^{\cdot-}$ 可通过启动自由基的链式反应及其它类型的再氧化等产生羟基自由基($OH\cdot$)、单线态氧(1O_2)和过氧化氢(H_2O_2)。这些活性氧与细胞内的成分具有很强的反应能力，它们能够直接或间接启动膜脂的过氧化作用，导致膜的损伤和破坏。在生物进化过程中细胞内形成了防御活性氧毒害的保护机制，即被称为保护酶系统的超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶(Fridovich, 1975)和非酶系统 VitE、GSH、ASA 等。许多逆境条件(如高光强、干旱、盐渍、高温、冷冻、营养元素缺乏)及衰老等都会导致植物细胞内自由基的产生量的增多和自由基清除能力的改变。轻微逆境能刺激植物保护酶系统活性的提高，而提高植物对逆境的抵抗能力。保护酶系统对自由基的清除能力的变化可能是植物抗逆性的共同机制。

营养胁迫影响植物活性氧自由基的产生和消除的变化可能有几种原因：(1)营养元素直接作为抗氧化胁迫酶的组成成分，从而影响自由基清除系统酶的活力，如 Zn、Cu、Mn 为 SOD 的金属辅基，Fe 为 SOD 及 CAT 的辅基(Vaughan, 1982)。(2)影响活性氧产生和积累的过程。如缺硼引起活性氧自由基前体物质酚类和醌类化合物的累积；缺锌使植物体内 NADPH 氧化酶活性提高，SOD 活性受到抑制，导致 $O_2^{\cdot-}$ 水平上升；缺镁使 CO_2 的同化速率降低及同化产物的运输受阻，导致叶绿体的光氧化(Cakmak et al, 1988; 1992)；磷参与和调节着线粒体的电子传递链和氧化磷酸化、叶绿体的能量传递和光合磷酸化过程。无机磷酸基的不足使 ATP 的合成受阻，电子传递与磷酸化的解偶联，过多的能量经还原 O_2 产生自由基而消耗掉；[ADP]/[ATP] 比例升高，促进 NADH 的氧化，直接将电子传递给分子氧，也会导致氧自由基的产生。自由基的过量产生引起膜脂过氧化程度的提高。本试验结果表明甘蔗缺磷培养后 MDA 含量升高，说明缺磷能引起超氧自由基的积累并引起叶片膜脂过氧化程度的提高。



(1:YT71-210 +P 2:YT71-210 -P; 3:YT57-423 +P; 4:YT57-423 -P
5: TTF-134 +P 6: TTF-134 -P; 7:XIT 10 +P; 8:XIT 10 -P)

图6 POD同工酶扫描图谱

缺磷培养引起SOD、POD、CAT活性降低的原因尚不清楚,很可能是间接的作用。缺磷培养后活性氧自由基的积累刺激了保护酶系统活性的提高,甘蔗不同耐低磷能力的基因型在反应时间和强度上存在差异,耐低磷能力强的基因型保护酶系统活性的上升快、幅度大,提高了缺磷植株的抗逆能力。基因型抗缺磷的能力不同,在缺磷胁迫时其保护酶系统的变化也不同,这一结果提示了甘蔗植株在缺磷胁迫下保护酶系统活性的变化与甘蔗基因型耐低磷的能力之间存在一定的联系。因此可以认为,保护酶系统的变化及其对活性氧的清除也是植物耐低磷特性的生理机制之一。

缺磷引起甘蔗保护酶系统活性的升高,但并未引起同工酶酶谱的改变。甘蔗各基因型有不同的遗传来源,其SOD、POD同工酶的组成可能会有不同(廖兆周,1988)。基因型间同工酶的

差异与耐低磷能力之间有无联系,尚不清楚.

参 考 文 献

- 王爱国,罗广华,邵从本,等.1983.大豆种子超氧化物歧化酶的研究.植物生理学报,9(1):77~83
- 林植芳,李双顺,林桂珠,等.1984.水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化物的关系.植物学报,26(6):605~615
- 吴振球,吴岳轩.1990.铜、锌对水稻幼苗生长及超氧化物歧化酶的影响.植物生理学报,16(2):139~146
- 罗广华.1989.高浓度氧对水稻幼苗的伤害与活性氧的防御酶.中国科学院华南植物研究所集刊,(4):169~176
- 罗广华,王爱国.1983.植物SOD的凝胶电泳及活性显示.植物生理学通讯,19(6):44
- 罗广华,王爱国.1993.植物SOD同工酶活性显示的某些干扰.植物生理学通讯,29(2):119~122
- 张维强,唐秀芝.1993.同工酶与植物遗传育种.北京:北京农业大学出版社,172~173
- 廖兆周.1988.甘蔗、斑茅及其杂种的过氧化物酶同工酶.植物学报,30(2):214~219
- 潘廷国,柯玉琴,王元贞,等.1995.盐逆境下甘蔗叶片膜脂过氧化与保护酶的活性.福建农业大学学报,24(2):129~132
- Bradford M M.1976.A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem,72:248~538
- Bowler C, Van Montagu M, Inze D.1992.Superoxide dismutase and stress tolerance. Annu Rev Plant Mol Biol, 43:83~116
- Cakmak I, Marschner H.1988.Zinc-dependent changes in ESR signals, NADPH oxidase and plasma membrane permeability in cotton roots. Physiol Plant, 73: 182~186
- Cakmak I, Marschner H.1992.Magnesium deficiency and high light intensity enhance activity of superoxide dismutase ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. Plant Physiol, 98:1222~1227
- Cakmak I, Marschner H.1993.Effect of zinc nutritional status on activities of superoxide radical and hydrogen peroxide scavenging enzymes in bean. Plant Soil, 156:127~130
- Fridovich.1975.Superoxide dismutase. Ann Rev Biochem,44: 147~159
- Giannopolitis C N, Ries S K.1977.Superoxide dismutase I.Occurrence in higher plants. Plant Physiol, 59:309~314
- Giannopolitis C N, Ries S K.1977.Superoxide dismutase II: Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. Plant Physiol, 59:315~318
- Mehlhorn h, Wenzel A.1996.Manganese deficiency enhance ozone toxicity in bush beans (*Phaseolus vulgaris* L. cv. *Saxa*). J Plant Physiol, 148:155~159
- Vaughan D, DeKock P C, Ord B G.1982.The nature and localization of superoxide dismutase in fronds of *Lemna gibba* L. and the effect of copper and zinc deficiency on its activity. Physiol Plant, 54: 253~257

Studies on Membrane Lipid Peroxidation and Protective Enzyme Activity of Sugarcane Under Phosphorus Deficiency

Wan Meiliang Kuang Yanhua Chen Jianxun

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

Abstract The membrane lipid peroxidation and protective enzyme activity were compared in leaves of various sugarcane genotypes in solution culture by full strength and phosphorus-deficient Hoagland solution. It showed that phosphorus deficiency could increase the membrane lipid peroxidation and change the activity of protective enzymes. The changes were somewhat different between different genotypes, it may be connected with the ability of low phosphorus tolerance.

Key words genotypes of sugarcane; phosphorus deficiency membrane lipid peroxidation; protective enzymes

【责任编辑 李玲】