

水分胁迫对玉米SOD和POD 活力及同工酶的影响*

王振镒 郭蔼光 罗淑萍

(基础部)

(农学系)

摘 要

随土壤水势下降,抗旱性玉米二叶的SOD活力明显上升,而不抗旱玉米变化不大,其SOD同工酶谱均为四条带,且不受水分胁迫影响,但正极向条带活性与品种抗旱性有关。随土壤水势下降,玉米POD活力虽均上升,但不抗旱品种上升幅度小或上升后又下降。抗旱品种POD同工酶谱有明显增加。表明玉米SOD和POD对不同水分胁迫响应的差异与品种抗旱性有关。

关键词: 超氧化物歧化酶; 过氧化物酶; 水分胁迫; 同工酶; 水势; 自由基

超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)作为一种清除氧自由基的防护酶,普遍存在于需氧生物中,近年来引起许多学者的重视,特别在医学方面报道较多。在高等植物抗逆性研究中也有一些报道^[1,2],但在干旱伤害及抗旱关系方面报道较少。过氧化物酶(Peroxidase, POD)可进一步清除SOD形成的过氧化物,因此两者协同作用构成生物体的防护酶系,两者在逆境下活性变化情况,可能反映植物体对外界不良环境的抵抗能力。本实验以土壤水分胁迫下不同抗旱性玉米幼苗为材料,利用灵敏度较高的化学发光法,探讨了SOD, POD与植物水分胁迫和抗旱性的关系。

1 材料和方法

材料处理: 供试玉米为抗旱品种武109、武105、M017和不抗旱品种南55、B77、获白。4月21日同时均匀地把六个品种播在同一盆中(盆直径28cm,高28cm,内装10kg重壤土),共播32盆。保持土壤湿度在60%(田间最大持水量)。出苗后,从三叶期开始以称重法控制土壤水分分别在-0.1MPa(对照),-0.5MPa,-1.0MPa,-1.5MPa,共设8个重复。6月11日和6月21日分别采2叶和3叶测定。

酶液提取: 取0.5g去中脉叶片,置研钵中,加入1ml-1.5Mpa0.05M, pH7.8的磷酸缓

本文于1987年12月30日收到。

* 本文系国家自然科学基金资助项目的一部分。

冲液研成匀浆后定容至 5 ml, 于 4 °C, 10000rpm 离心 10min, 上清液即为酶提取液, 置 0 ~ 4 °C 冰箱中待用。

酶活力测定: 两种酶均用化学发光法测活力。所用仪器为 LKB-125 型发光光度计。SOD 活力用邻苯三酚自氧化法: 在测定管中加 10 μ l 酶提取液 (空白以磷酸缓冲液代替), 50 μ l 0.0025M 邻苯三酚, 注入 940 μ l 1 mM 鲁米诺-0.05M pH10.2 碳酸缓冲液启动反应, 记录发光值。有 SOD 存在时, 发光被抑制, 根据抑制发光程度可确定酶活力 (一般以发光被抑制 50% 时的 SOD 浓度定义为一个酶活力单位)。POD 活力用张志良^[3]法稍作改进: 于测定管中加入 10 μ l 酶提取液 (空白以磷酸缓冲液代替), 加入 400 μ l 鲁米诺-甘氨酸-EDTA 缓冲液, 即 1 M μ H9.0Gly-NaOH 缓冲液: 10⁻³M EDTA: 10⁻³M Luminol=3:3:2 (V/V), 最后加 1 ml 5 \times 10⁻⁴M H₂O₂ 启动反应, 记录最大发光值, 以样品最大发光值减去空白最大发光值表示相对酶活力。

可溶性蛋白质测定: 用 lowry 法。

同工酶测定: 上述酶提取液直接用于垂直聚丙烯酰胺凝胶 (20 \times 20 \times 0.1cm) 电泳。① SOD 同工酶: 浓缩胶浓度 2.5%, 分离胶浓度 10%, 电压 210V, 约 6 小时电泳完毕, 酶活染色按王爱国^[4]方法进行。② POD 同工酶: 分离胶为 7%, 其它同上, 活性染色用醋酸联苯胺法。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫对叶片 SOD 活力和同工酶的影响

从图 1 可看出, 抗旱品种二叶在 -0.5MPa 时 SOD 变化不大, 估计在此阶段抗旱品种可能还有其它抗旱机制, 因此尚未引起防护酶系统的响应, 而不抗旱品种二叶在 -0.5MPa 时 SOD 活力已上升, 反应了抗旱性不同的品种响应胁迫的强度不同。在重度胁迫 (-1.0MPa)

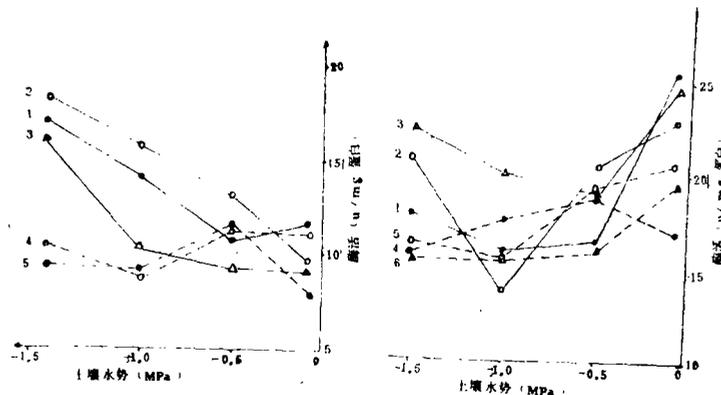


图 1 SOD 活力随土壤水势不同的变化 (左, 二叶; 右, 三叶)

1—武109; 2—武105; 3—M017; 4—南55; 5—B77; 6—藜白

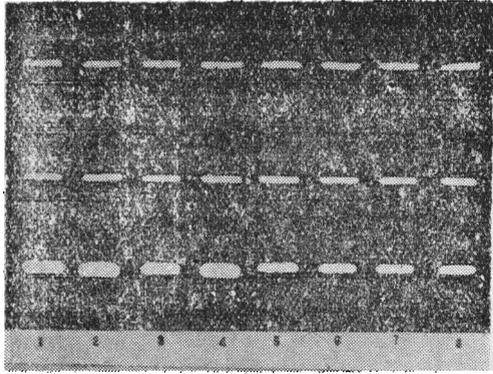


图2 不同水分胁迫下玉米二叶的SOD同工酶谱
1, 2—武109; 3, 4—武105; 5, 6—南55; 7, 8—B77
单数为-0.1MPa; 双数为-1.5MPa。

-1.5MPa)下, 不抗旱品种因受到伤害而SOD不再有上升变化, 而抗旱品种SOD明显上升(平均增加74%), 这可能是两者抗旱性不同的原因之一。三叶的SOD活力在水分胁迫后虽然均有下降, 但抗旱性不同品种的变化趋势不同。抗旱品种在-1.5MPa时有明显的回升趋势, 而不抗旱品种无。说明抗旱品种三叶在重度胁迫时仍有较活跃的SOD合成调节。

不同玉米叶片的SOD同工酶(图2)都呈现四条酶带, 在不同水分胁迫下酶谱无变化, 反映了SOD在结构上是一个保守性较强的酶, 但抗旱性品种靠近阳极端谱带在重度胁迫下有增强, 说明此条带可能受干旱诱导调节。

2.2 水分胁迫对POD活力和同工酶的影响

图3表明, 随土壤水分胁迫强度增加, 抗旱品种的POD变化有与SOD相似的趋势, 这可能与POD是SOD的协同防护酶有关。抗旱品种在重度胁迫下POD, SOD的上升, 增加了品种抵御逆境下氧自由基伤害的能力。不抗旱品种POD的变化趋势略有不同, 在轻度胁迫下上升是其适应干旱的保护性反应; 在重度胁迫下虽有下降, 但个别品种仍有缓慢上升趋势。而三叶POD的变化紊乱, 这些均与POD在生物体内与多种代谢途径关联, 是一个生理功能较复杂的酶有关。POD同工酶谱带(图4)抗性品种多于不抗旱品种。在水分胁迫下不抗旱品种变化不明显, 而抗旱品种条带增多, 中部一些谱带活性增强, 在阳极端出现一些原来不明显的谱带(其它所试品种与武₁₀₅和B₇₇变化类似)。说明近正极向的小分子条带可能与抗旱机制有关, 这与刘鸿先等^[6]在植物抗冷力研究上报道的结果一致。

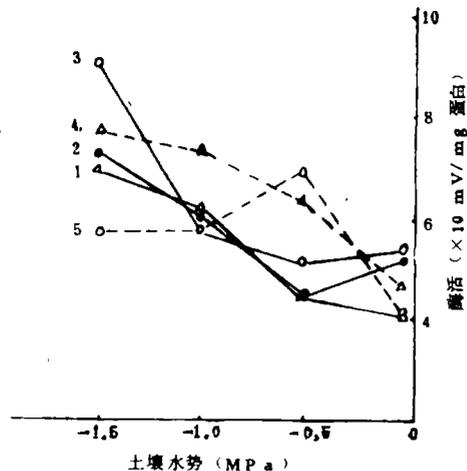


图3 玉米POD活力随土壤水势的变化(二叶)
1—武109; 2—武105; 3—Mo17;
4—南55; 5—B77

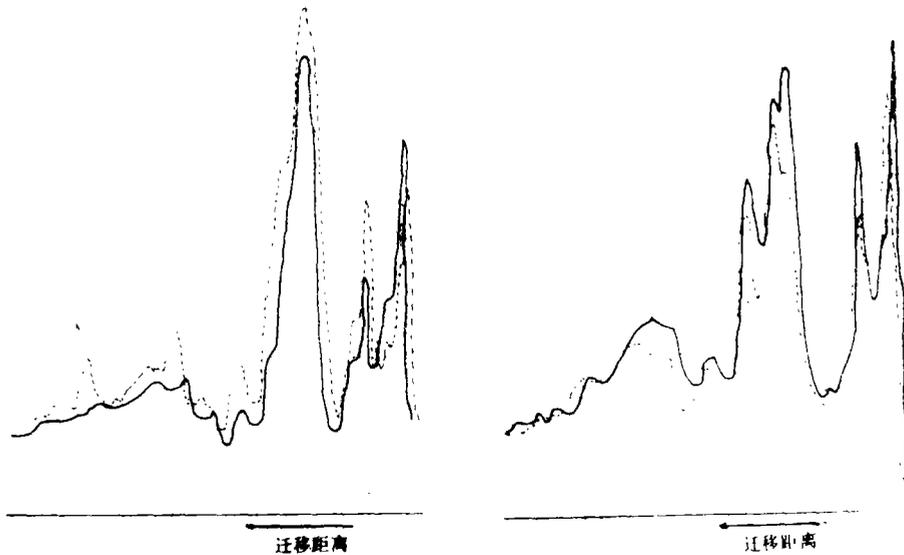


图4 两种玉米POD同工酶扫描图谱

—— -0.1MPa, -1.5MPa

岛津CS-930双波长光谱扫描仪, 样品波长380nm, 参比波长600nm

3 讨论

3.1 SOD与品种抗旱性的关系

本试验结果表明, 玉米幼苗受胁迫后抗旱性品种的SOD活力大于不抗旱品种, 这与前人在抗寒和抗SO₂伤害所得的结果一致^[3, 6]。由于逆境下植物体内O₂的产量增多, SOD活性的增强使O₂及时清除而避免伤害, 从而提高了品种抗旱性。抗旱品种二叶在重度胁迫下SOD活力的大幅度增加及三叶的明显回升(不抗品种呈相反变化), 说明抗旱品种比不抗旱品种可能存在着较强的SOD合成调节系统, 这种调节系统在细胞蛋白质合成活跃的幼叶中比大龄叶中更为活跃。这种调节的诱导因素是干旱胁迫, 不同抗性品种引起诱导的胁迫强度不同, 这与Tanakak^[6]关于SO₂熏蒸诱导SOD活力增强的结果一致。

3.2 POD与品种抗旱性的关系

POD作为生物体的保护酶与SOD及过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等协同作用, 清除逆境下体内产生的有害自由基^[7], 此论点在动物体内已得到充分证明。从本试验结果看, POD与品种抗旱性的正相关只存在于幼叶中, 而在老叶中POD活力与品种抗旱性之间无规律关系, 这可能与老叶中存在着更复杂的生理过程有关。植物的抗旱特性由其代谢决定, 而代谢又决定于酶的催化反应。水分胁迫后抗性品种POD同工酶谱的增加及某些条带活力的增强, 说明在水分胁迫下抗旱品种可诱导出新的同工酶, 并使某些同工酶增加, 从而使正常代谢改组以适应干旱条件。不抗旱品种因没有这一代谢上的改组而对于干旱耐受力差。由此也说

明，水分胁迫下新条带的出现可能与抗旱机制有关。

综上所述，抗旱品种在较强的胁迫下能保持SOD和POD的高活性可能是抗旱品种的抗旱机制之一。同时也说明苗期玉米在不同水分胁迫下二叶SOD和POD变化情况可反应品种的干旱耐受力。但干旱胁迫引起植物保护酶系的响应机制，以及在其它作物中是否也存在类似的反应还值得进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Dee E H. Plant physiol, 1982; 69: 1444—1449
- 2 刘鸿先等. 植物生理学报, 1985; 11 (1): 48—55
- 3 张志良等. 植物生理学通讯, 1986; 1: 47—50
- 4 王爱国. 植物生理学报, 1983; 9 (1): 77—88
- 5 刘鸿先等. 植物生理学报, 1981; 7 (4): 337—343
- 6 Tanakak Sugahara K. Plant cell physiol 1980; 21: 601—611
- 7 孔祥瑞. 生物科学动态, 1984 (4): 11—18

EFFECT OF WATER STRESS UPON SOD AND POD ACTIVITY AND ISOENZYME OF CORN

Wang Zhenyi

Guo Aiguang

Luo Shuping

(Northwestern Agricultural University)

Abstract

With soil water potential reduction, the activity of SOD in the second leaves of the drought-resistant corn cultivars goes up apparently. The activity of SOD in thesecond leaves of non-drought-resistant doesn't vary much. The isoenzyme pattern of SOD had four bands in both drought-resistant and non-drought-resistant corn cultivars without being affected under different water stress. The activity of SOD bands near the positive pole was related to the drought-resistant properties of corn cultivars. With the reduction in soil water potential, the activity of POD in the second leaves of either drought-resistant or non-drought-resistant corn cultivass may go up. In the drought-resistant corn cultivars, the isoenzyme patterns of POD have an obvious increase, thus, indicating that the difference of SOD and POD of corn cultivars response to different water stress are related to the drought-resistant properties of corn cultivars.

Key Words: superoxide dismutase (SOD) ; peroxidase (POD)

water stress; isoenzyme pattern; water potential; free radical