

过氧化物酶活性与大豆抗旱性的关系

宋英淑 尹田夫 薛 津 刘丽君 王以芝

(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

在通常情况下,需氧生物在还原氧至水的过程中会产生氧自由基,它本身具有毒害作用。氧自由基还可以诱生其他毒物,如过氧化氢等。植物在逆境条件下,细胞自由基产生和清除的平衡遭到破坏而有利于产生方面,所积累的自由基就会对植物细胞造成伤害^[1]。过氧化氢等活性氧,能够直接或间接启动膜质的过氧化作用,导致膜的损伤和破坏^[2],从而膜透性增大、外渗液的电导率增加。曹宗巽等还认为,植物体内过氧化物酶,可催化有毒物质,使植物免于受毒。综上所述,作物在逆境条件下的抗性及其膜透性应与其过氧化物酶活性有密切关系。本研究试图探求在干旱条件下,不同大豆品种的抗性及其膜透性与其过氧化物酶活性之间的关系。

材料与方法

供试大豆材料有“呼80-1001”、“黑农26”和“绥农4号”等。在有塑料大棚控制雨水的条件下进行盆栽试验。盆土为当地试验地一般黑土和沙子4:1混合而成。5月22日播种,每盆播6粒,待真叶展平时选优定苗3株。按设计要求,不同处理分别在开花结荚期、结荚鼓粒前期、结荚鼓粒后期和鼓粒期分别进行一次性断水处理,至植株达中度萎蔫,以植株上数第三、四茎节叶片混合采样。每一处理重复5次,以水分供应良好的处理为对照,进行生育调查,并测定其过氧

化物酶活性、电导率及比叶重等。

1. 过氧化物酶活性的测定:每处理采上数3、4节叶片,剪碎混合,称取0.5克,加10毫升Tris-HCl缓冲液,于研钵中研成匀浆,过滤。滤液以400crpM离心15分钟,倾出上清液。吸上清液0.1毫升,加3毫升反应液,用721光电比色计测定反应5分钟的光密度值(以0.1M磷酸缓冲液做为校零对照)。读数于波长470nm下进行。读数的20倍为每一样品的酶活力。以DP470/分·蛋白质表示。

2. 细胞质膜透性的测定:用DDS-11A型电导仪测定叶片外渗液的电导率。

3. 比叶重以干重法计算。

4. 每处理除供采样测定生化指标外,余下3重复供成熟后的考种用。

结果与分析

一、过氧化物酶活性的品种间差异及其对干旱胁迫的反应

从供试品种“呼80-1001”、“黑农26”和“绥农4号”等在花期、结荚鼓粒前期及后期,和鼓粒期所测定的结果看,大豆生育期的过氧化物酶活性,随其生育期的进展(直至鼓粒期)而增强,但品种间存在着差异(表1)。在水分亏缺条件下,与其水分条件良好的对照相比,过氧化物酶活性的相对变化存在着品种间的差异(表2)。并从显著性测定结果看,其差异是极显著的。

注:本研究为中国科学院科学基金委员会基金资助项目。

表 1 在良好水分条件下, 不同品种的过氧化物酶活性

测定时期 品种名	开花期	结荚鼓粒前期	结荚鼓粒后期	鼓粒期
呼 80-1001	13.90 ± 4.16	19.07 ± 9.02	56.17 ± 3.18	71.30 ± 6.66
黑 农 26	12.20 ± 1.11	15.706 ± 0.64	21.80 ± 1.59	65.67 ± 5.86
绥 农 4 号	16.60 ± 0.87	18.93 ± 2.00	27.60 ± 2.56	71.00 ± 2.65

表 2 在干旱条件下, 大豆过氧化物酶活性的相对变化

测定时期 品种名	开花期	结荚鼓粒前期	结荚鼓粒后期	鼓粒期
呼 80-1001	1.633	1.361	0.601	0.792
黑 农 26	1.139	0.987	1.193	0.954
绥 农 4 号	1.114	1.180	2.246	1.151

二、在干旱条件下, 大豆产量与其过氧化物酶活性的关系

大豆的产量水平因品种有很大差异, 但从其对于干旱的反应有基本一致的趋势(表 3)。也就是说, 供试各品种由于结荚鼓粒期(处理 II 和 III)的干旱, 秕荚大量增加, 粒数减少; 而由于鼓粒期的干旱(处理 IV), 其百粒重大大降低。大豆单株子实产量归根结底是单株粒数及单粒重的乘积。所以, 结荚鼓粒期的干旱胁迫对产量的影响为最大。结荚鼓粒的前期和后期在干旱条件下, “呼 80-1001”、“黑农 26”和“绥农 4 号”的减产幅度(分别为 10%、17.9%和 32.2%), 说明其抗旱性前者强于后者。从过氧化物酶活性的测定结果看, 抗旱性强的品种“呼 80-1001”结荚鼓粒期酶活性的相对变化最小, 反之, 最大。也就是说, 不同品种在干旱条件下的减产幅度, 与其结荚鼓粒期和鼓粒期过氧化物酶活性的相对变化趋势相一致(见表 2)。这就是说品种的抗旱性越强, 其叶片过氧化物酶活性的相对变化越小, 其减产幅度也越小。

表 3 干旱对大豆产量及其产量因子的影响

项目 处理	单株 荚数	单株 粒数	百粒重 (克)	单株 粒重 (克)	秕荚率 (%)	供试品种
OK	29.8	68.8	17.5	11.9	8.6	“绥 农 4 号”
I	26.6	63.8	16.9	10.6	7.4	
II	25.8	62.6	16.2	10.1	15.2	
III	22.6	56.4	12.4	7.0	25.3	
IV	26.4	63.6	14.9	9.5	11.4	
OK	23.8	56.6	18.3	10.3	5.6	“黑农 26”
I	28.6	69.4	18.8	12.7	4.5	
II	23.3	52.6	16.5	8.6	10.7	
III	21.7	45.1	19.5	8.8	21.2	
IV	25.7	61.0	15.7	9.3	7.1	
OK	35.2	82.5	16.7	13.7	2.9	“呼 80-1001”
I	31.7	76.0	16.5	12.5	6.7	
II	29.5	69.0	17.1	11.7	12.8	
III	33.8	78.8	16.9	13.2	8.4	
IV	36.2	86.0	14.9	12.9	6.4	

* OK 为水分供应良好的处理(对照)。处理 I、II、III 和 IV 分别为开花结荚期、结荚鼓粒前期、结荚鼓粒后期和鼓粒期经断水的处理。

讨 论

基于在逆境条件下, 由于自由基的产生所诱生的过氧化氢等, 对细胞膜系统的破坏作用, 以及细胞内过氧化物酶的作用, 在干旱条件下的叶片电导率与其过氧化物酶活性间应存在着密切的关系。从供试品种“黑农 26”和“绥农 4 号”大豆过氧化物酶活性与电导率的回归相分析, 肯定了这种假设(图 1、2), 其相关系数分别为 0.9854** 和 0.8993**。 t 值测定结果, $P=0.01$ 。

另外, 数据的统计分析过程中发现, 在干旱条件下的过氧化物酶活性, 与其比叶重之间呈高度正相关(图 3、4), 其相关系数 r 分别为 0.9735** 和 0.9508**。前人的研究曾认为, 大豆品种的抗旱性与叶片厚度有关系。

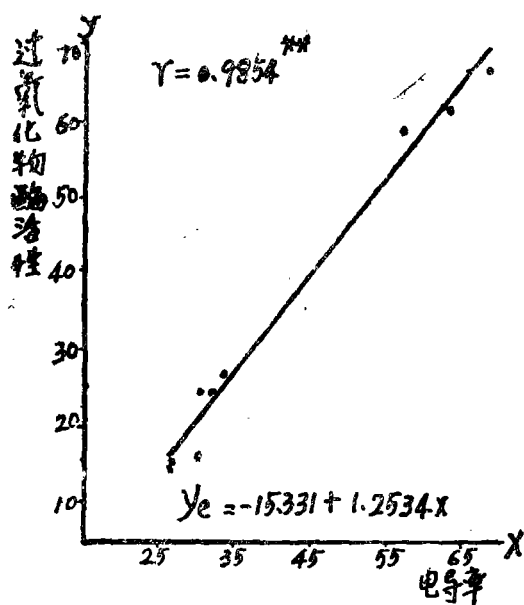


图1 “黑农26”大豆过氧化物酶活性与电导率的回归相关图

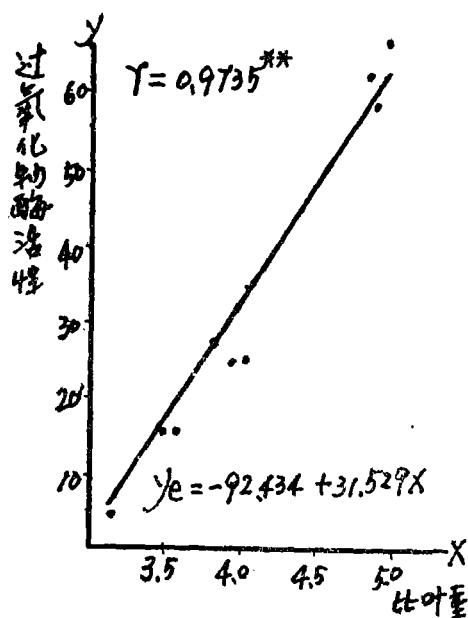


图3 “黑农26”大豆过氧化物酶活性与比叶重的回归相关图

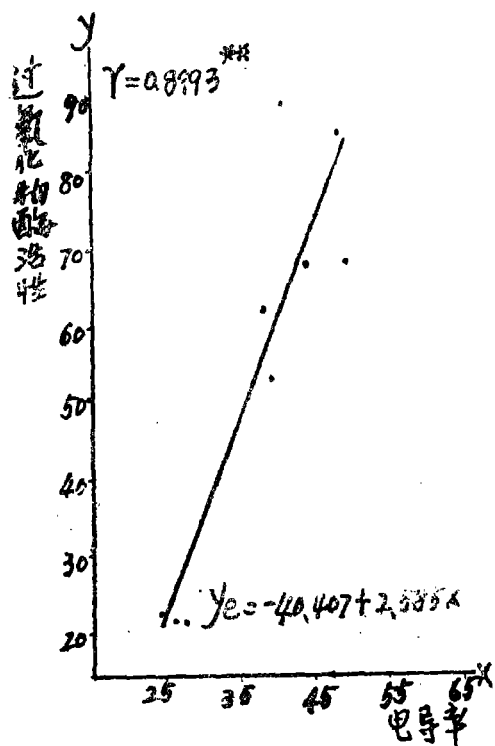


图2 “缓农4号”大豆过氧化物酶活性与电导率的回归相关图

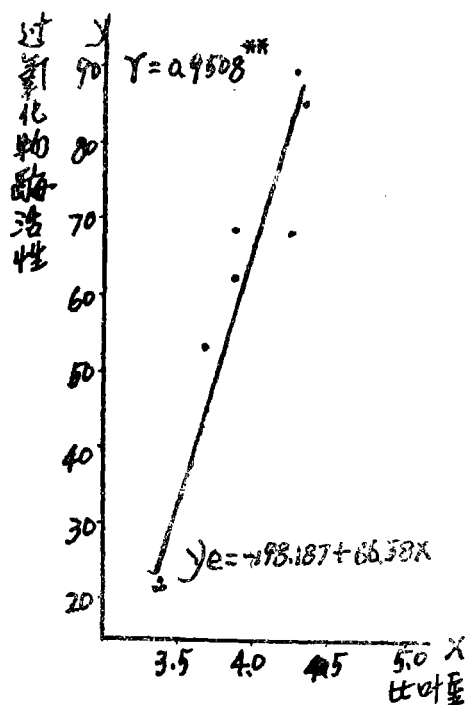


图4 “缓农4号”大豆过氧化物酶活性与比叶重的回归相关图。

从这一点看,上述结果还可间接的说明,作物的抗旱性与其叶片的过氧化物酶活性有一定关系。但是,以上试验的分析结果只限一年的试验数据,其可靠性及内在联系,需以更多的试验来考证。

最后需要提及的是:供试诸品种的过氧化物酶活性,虽然随其生育期的进展(至鼓粒期)而增强,而且干旱条件下的过氧化物酶活性比对照高,但是,个别品种在个别生育期的测定结果,出现了一些相反结果(对照的酶活性比处理的高)。这种结果,是否与样品植株已超过其水分胁迫“临界”有关,有待进一步研究。

参考文献

- [1] 武宝珩、格林·托德,1985,《植物学报》27(2):152—160。
- [2] 林植芳、李双顺、林桂珠、孔谷寿、郭俊彦,1984,《植物学报》26(6):605—615。
- [3] 曹宗巽、吴相钰,1980,《植物生理学》上册,59—62。
- [4] 李云荫、王桂霞、郭继红,1984,《大豆科学》3(2):121—126。
- [5] 刘文彰、孙典兰,1985,《植物生理学通讯》(3):22—24。

水稻合江 19 号的组织培养及同工酶分析

王进中

(牡丹江师范学院生物系)

水稻是世界上重要的粮食作物,因此人们对水稻的组织培养研究工作都十分重视。水稻的组织培养,自 Nishi 首次从体细胞获得小植株以来,已从水稻的根、茎、叶等不同的营养器官中培养出了小植株。

在本篇报告中,对水稻品种合江 19 号由种胚诱发的愈伤组织的分化过程进行了观察,以期寻求愈伤组织分化成苗的变化规律,并做了过氧化物酶、细胞色素氧化酶同工酶的分析,进而通过同工酶谱的差异来探索其与愈伤组织再分化成苗的相关性,现总结如下。

材料和方法

1. 愈伤组织的诱发及分化

试验材料为水稻品种合江 19 号。消毒后在超净工作台上将其转入脱分化培养基

MS+2.4-D 2 毫克/升+6-BA 0.2 毫克/升+IAA 0.2 毫克/升, pH=5.8。间断光照培养,光强 1500Lux,室温 22—25℃。7—15 天后出现愈伤组织再将其转至分化培养基 MS+6-BA 2 毫克/升+IAA 0.1 毫克/升, pH=5.8,进行分化培养。

2. 过氧化物酶、细胞色素氧化酶同工酶鉴定

将诱发的水稻种胚愈伤组织按 100 克愈伤组织加 1 毫升预冷的 0.1M 磷酸缓冲液 (pH7.0) 冰浴研磨迅速制成匀浆,10000 转/分钟离心 10 分钟,取上清液置冰箱中备用。

采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳,用 0.3M Tris-HCl (pH8.9) 为凝胶缓冲系统,电极缓冲液为 Tris-甘氨酸电极缓冲液 (pH8.3)、Acr+Bis 总浓度为 7%,交联剂百分比为 4%,点样量为 50 微升,电泳在冰

注: 本实验承蒙复旦大学遗传研究所植物细胞分子遗传研究室邵高治老师、章扣林副教授等指导和帮助,并由牡丹江师范学院刘俊三副教授提供试验材料,在此一并致谢。