

# $\text{Ca}^{2+}$ 、BR 对玉米呼吸器官耐冷性的影响

姜亦巍

(北京蔬菜研究中心 100081)

王光洁

(沈阳农业大学 100161)

**摘 要** 研究了外源  $\text{Ca}^{2+}$ 、BR 对低温下玉米胚芽呼吸速率、膜透性以及线粒体呼吸控制比、SOD 活性和 MDA 含量的影响。结果表明,  $\text{Ca}^{2+}$ 、BR 处理, 相应提高了种苗胚芽的呼吸速率, 降低膜透性。低温下经  $\text{Ca}^{2+}$ 、BR 处理的玉米种苗, 其线粒体有较高的呼吸控制比。 $\text{Ca}^{2+}$  处理的线粒体中 SOD 活性比对照高; MDA 含量比对照低。 $\text{Ca}^{2+}$  和 BR 可能是在低温下通过维持膜系统的正常结构和功能来提高玉米种苗的耐冷性的。

**关键词** 钙 油菜素内酯 玉米种苗胚芽 低温 线粒体 呼吸速率

植物的呼吸作用是植物生命中极为重要的代谢机能。植物遭遇低温, 必然影响呼吸, 这是冷害机理和生理学反应中关键的问题。已知  $\text{Ca}^{2+}$  对膜有保护作用<sup>[9]</sup>, 油菜素内酯(BR)有促进植物器官生长、细胞伸长等多种效应<sup>[2, 10]</sup>。但有关二者对植物抗冷机理的报道不多, 尤其是对低温下器官和细胞线粒体呼吸功能的影响及其与膜的关系方面的研究更是鲜见。本文以玉米黄化幼苗胚芽为试材, 通过研究低温下  $\text{Ca}^{2+}$ 、BR 对幼苗呼吸功能的影响及其有关生理学反应, 以求进一步探讨  $\text{Ca}^{2+}$ 、BR 对玉米种苗耐冷性的生理效应。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料及低温处理

玉米品种为丹玉 13 号; BR 试剂由日本全国农业协同组合会提供, 日本富士药品工业株式会社合成。分别用  $10^{-5}$  mg/kg BR 和 0.25% 的  $\text{CaCl}_2$  溶液浸种, 以蒸馏水浸种为对照。温箱中催芽 24h 后, 播于铺有湿润滤纸的玻皿中, 分为两组, 暗中萌发生长。待幼苗长至 1~2cm 时, 取一组进行各种指标的测定; 另一组置于 0~4℃ 的冰箱中进行低温 24、48、72、96h 处理, 定时剪取黄化幼苗进行测定。实验重复三次。

### 1.2 测定指标及方法

1.2.1 线粒体的制备及活性的测定采用杨福愉的方法<sup>[11]</sup>。提取介质为 0.25M 蔗糖, 0.067M 磷酸缓冲液, 0.005M EDTA, 0.75mg/ml 牛血清蛋白; 悬浮介质为 0.3M、pH7.2 的甘露醇; 涨

破介质为 0.067M 磷酸缓冲液; 反应介质为由 10mM KCl, 5mM  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 0.1M、pH7.2 的磷酸缓冲液, 0.1M、pH7.2 Tris-HCl 缓冲液, 0.3M 甘露醇, 0.75mg/ml BSA 组成。

1.2.2 呼吸速率及呼吸控制比的测定, 采用薄膜氧电极法, 于 28℃ 下测定。

1.2.3 膜透性采用电导法, 用 DDS-11 电导率仪测定。

1.2.4 线粒体 SOD 活性采用 Fridovich 法<sup>[7]</sup>, 最终换算成每毫克线粒体蛋白中 SOD 的活力。

1.2.5 MDA 含量测定采用 Heath 方法<sup>[8]</sup>, 以  $\Delta E_{532-560} = 155$  计算, 并换算成每毫克线粒体蛋白中 MDA 含量。

## 2 结果与分析

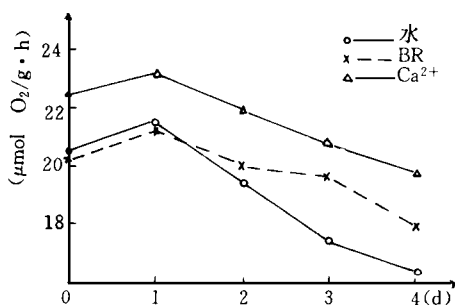


图 1 低温期间玉米胚芽呼吸速率的变化

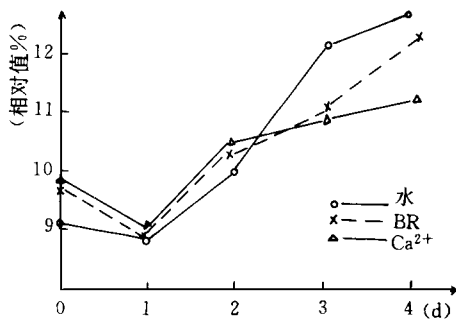


图 2 低温期间玉米胚芽膜透性的变化

### 2.1 $Ca^{2+}$ 、BR 对低温下玉米种苗胚芽呼吸速率、膜透性的影响

低温对玉米种苗呼吸速率的影响如图 1 所示, 随着低温时间的延长, 种苗胚芽的呼吸速率表现出先上升后下降的趋势, 这与前人的结果相似<sup>[5,6]</sup>。 $Ca^{2+}$ 、BR 处理与对照的呼吸速率均在受冷 24h 增加, 至低温 4 天时,  $Ca^{2+}$ 、BR 处理分别为常温值(基础值)的 90.4%、89.2%, 而水处理为常温值的 79.3%。可见  $Ca^{2+}$ 、BR 处理缓解了玉米呼吸速率的下降。

图 2 表明, 低温处理 24h 后, 随着低温时间的延长, 种苗胚芽膜透性越来越高。至低温 4 天时  $Ca^{2+}$  处理透性增加了 12.5%, BR 增加了 26.9%, 而水处理则增加了 41.2%。 $Ca^{2+}$ 、BR 在一定程度上维持了膜在低温下的稳定性, 从而保持了种苗胚芽有较高的呼吸速率。

### 2.2 $Ca^{2+}$ 、BR 对低温下玉米线粒体呼吸控制比(RCR)的影响

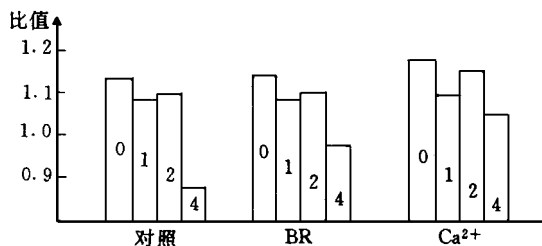


图 3 低温过程中各处理线粒体的 RCR  
(数字 0、1、2、4 表示处理天数)

RCR 是反映生活细胞的线粒体膜结构的功能的一项综合指标。本实验结果(图 3)表明, 低温 4 天线粒体的 RCR 明显降低, 水处理比常温基础值降低了 23.0%, 处理降低了 14.9%,  $Ca^{2+}$  处理降低了 11.2%。RCR 降低, 说明此时的线粒体膜结构和功能已受到伤害, 与对照相

比,  $\text{Ca}^{2+}$  和 BR 处理后 RCR 降低的幅度要小, 可以保持其线粒体相对稳定。同时还看出冷处理 48h, 线粒体的 RCR 可恢复到接近原有水平, 线粒体活性对低温的早期反应是可逆的。但受冷 48h 后, 其机能便出现不可逆的失调, 导致植物的严重伤害。这与 Yoshida 和 Hiki 研究杞柳山果莢受冷害愈伤组织的线粒体结果相似。

### 2.3 $\text{Ca}^{2+}$ 对低温下玉米线粒体 SOD 和 MDA 含量的影响

低温可使消除自由基的保护酶类活性下降, SOD 被认为是一种能消除自由基, 控制膜脂过氧化水平的酶,  $\text{Ca}^{2+}$  对线粒体 SOD 活性的影响如表 1 所示。

表 1  $\text{Ca}^{2+}$  对低温下玉米线粒体 SOD 活性的影响

处理	SOD 活性(units/ mg 线粒体蛋白)			
	0 天	1 天	2 天	4 天
水	7. 49	7. 29	6. 55	6. 07
%	100	97. 3	87. 5	81. 0
$\text{Ca}^{2+}$	8. 28	7. 58	7. 30	6. 91
%	100	91. 6	88. 2	83. 5

表 2  $\text{Ca}^{2+}$  对低温下玉米线粒体 MDA 含量的影响

处理	MDA 活性(nmoles/ mg 线粒体蛋白)			
	0 天	1 天	2 天	4 天
水	2. 74	2. 94	4. 15	3. 79
%	100	107. 3	151. 5	138. 3
$\text{Ca}^{2+}$	2. 89	3. 61	3. 90	3. 53
%	100	124. 9	140. 0	122. 2

试验结果表明, 低温使线粒体 SOD 活性逐渐下降,  $\text{Ca}^{2+}$  处理后, SOD 活性下降速度减慢, 说明  $\text{Ca}^{2+}$  对 SOD 有一定保护作用。与此同时,  $\text{Ca}^{2+}$  处理后线粒体中膜脂过氧化产物 MDA 含量变化如表 2 所示。结果还表明, 低温 2 天时, 膜脂过氧化产物 MDA 含量增加显著; 低温 4 天时, MDA 略有下降, 但仍高于常温值。  $\text{Ca}^{2+}$  处理虽然 MDA 基础值比对照高, 但随低温时间的延长,  $\text{Ca}^{2+}$  能够减轻膜脂过氧化的伤害, 表现出对膜的保护效应, 因而在一定程度上保护了线粒体的呼吸活性。

## 3 讨论

近年来, 一些研究结果表明, 低温胁迫使细胞膜结合的  $\text{Ca}^{2+}$  脱落, 外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理, 增加了膜结合  $\text{Ca}^{2+}$  量, 而提高膜系统在逆境胁迫下的稳定性。本实验结果表明,  $\text{Ca}^{2+}$  能缓解低温下玉米质膜透性升高, 维持线粒体膜系统的稳定性, 从而保持低温下玉米种苗胚芽和线粒体有较高的呼吸速率和呼吸控制比。已有资料证明线粒体对  $\text{Ca}^{2+}$  的吸收<sup>[11]</sup>, 钙调素(CAM) 依赖的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 可将  $\text{Ca}^{2+}$  泵入线粒体内。随着人们对  $\text{Ca}^{2+}$  和 CAM 为核心的  $\text{Ca}^{2+}$  信使系统参与调节植物的逆境伤害与适应过程方面研究的进展,  $\text{Ca}^{2+}$  对植物的抗冷机理将会更加明确。

BR 能够促进低温下植株的生长, 表明 BR 的抗冷效果一方面来自它的激素效应, 尤其表现其促进冷胁迫后的恢复生长上, 它调节和补偿冷害所造成的内源激素的不平衡, 同时 BR 作为固醇物质对生物膜系统有保护作用<sup>[3, 4]</sup>, 借以防御冷胁迫对膜的伤害。本实验结果表明, BR 有缓解低温下种苗胚芽透性升高、增加胚芽呼吸速率的作用, 证明 BR 低温下具有保护效应。

## 参 考 文 献

1 杨福愉, 邢菁如, 王淑娅. 玉米线粒体抗氰化物氧化的研究. 中国科学, 1980( 1): 60

- 2 王光洁. 油菜素内酯对低温下玉米胚芽鞘和中胚轴切段伸长的生理效应. *Res Bull Physiol Characters Major Crops*, 1988, 2: 67—70
- 3 周爱清, 骆炳山等. 油菜素内酯对水稻幼苗生长及耐冷性的影响. *华中农业大学学报*, 1987, 6(1): 8~13
- 4 何若韞, 王光洁等. 油菜素内酯研究简介. *沈阳农业大学学报*, 1988, 19(4): 90~92
- 5 汪曼丽, 吴少龙等. 低温处理对籼稻芽鞘呼吸、透性和过氧化物同功酶的影响. *植物生理学通讯*, 1986(6): 35~37
- 6 刘鸿先, 王以柔等. 低温对不同耐冷力的黄瓜幼苗呼吸代谢的影响. *植物生理学报*, 1984, 10(3): 192~199
- 7 Fridovich I. Oxygen Radical, Hydrogen Peroxide and Oxygen Toxicity. Chapter 6. Academic Press. New York, 1976
- 8 Heath RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I: Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem, Biophys*, 1968, 125: 189
- 9 Jones RG, Lunt OR. The function of calcium in plants. *Bot Rev*, 1967, 33: 407—426
- 10 Yopp JH, Mandava NB, Sasse JM. Brassinolide, a growth-promoting steroidal lactone I. Activity in selected auxin bioassays. *Physiol Plant*, 1981, 53: 445—452
- 11 David EE, Sally AB et al. Active calcium transport by plant cell membranes. *Journal of Experimental Botany*, 1991, 42(236): 285—303

## Physiological Effects of $\text{Ca}^{2+}$ and BR on Chilling Tolerance in Maize Seedlings

Jiang Yiwei

(Beijing Vegetable Research Center 100081)

Wang Guangjie

(Shenyang Agricultural University 100161)

**Abstract** The effects of exogenous  $\text{Ca}^{2+}$  and BR on respiratory rate and membrane permeability of maize plumule as well as on RCR, SOD activity and MDA contents in maize plumular mitochondria under chilling temperature were studied. The results showed that exogenous  $\text{Ca}^{2+}$  or BR treatments could increase the respiratory rate and decrease the membrane permeability. Higher mitochondria RCR was found in seedlings treated with  $\text{Ca}^{2+}$  and BR under chilling temperature. The SOD activity in mitochondria treated by exogenous  $\text{Ca}^{2+}$  was higher than that in the control, with lower MDA contents. It was considered that  $\text{Ca}^{2+}$  and BR might keep up the normal structure and function of the membrane system and thus promote the chilling tolerance of maize seedlings.

**Key words:**  $\text{Ca}^{2+}$ ; BR; Maize plumule; Chilling temperature; Mitochondria; Respiratory rate