

低温对玉米幼苗细胞保护酶活性 及胞质质量参数的影响*

张敬贤 李俊明 崔四平 魏建昆

(河北省农林科学院理化所, 石家庄 050051)

张海明 耿庆汉

(内蒙古农牧学院, 呼和浩特 010018)

摘要 用4℃低温处理玉米自交系幼苗二天发现细胞保护酶活性和胞质质量发生有规律的变化: 抗冷力弱的自交系过氧化氢酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶活性降低, 原生质层透性亦降低, 但膜脂过氧化水平显著增高; 抗冷力强的自交系细胞保护酶活性增高, 膜脂过氧化水平未发生明显变化, 但原生质层透性和粘滞度显著增加。这一结果表明保护酶活性和胞质质量与玉米抗冷性密切相关。

关键词 低温 玉米 自交系 保护酶 胞质质量

逆境条件下植物体内积累有毒物质, 这些物质(包括过氧化氢、过氧化物和超氧化物等)作为生成自由基的前体, 对植物组织具有潜在毒害^[9], 由此而形成的生物活性氧毒害学说正日益成为人们研究的热点^[1]。细胞保护酶类对于清除自由基等物质, 维持膜的稳定性至关重要^[1,2]。刘鸿先等^[3,4]报道, 黄瓜和水稻叶片冷害后超氧化物歧化酶活性降低。Omran^[10]报道, 低温下黄瓜幼苗过氧化物水平提高, 过氧化氢酶活性下降。李俊明等^[5]发现, 低温下玉米黄化幼苗叶片积累过氧化氢, 过氧化氢酶活性提高, 但抗冷力不同的自交系间存在差异。细胞质质量是植物抗逆性的内在基础, 与其抗旱、抗病诸特性密切相关^[6,12], 但是否与玉米抗冷性有关尚未见报道。因此我们研究了玉米自交系幼苗保护酶活性对低温的反应及胞质质量参数在低温条件下的变化规律, 旨在探讨保护酶类在防御活性氧对细胞伤害中的作用及胞质质量参数与抗冷性的关系, 以期为抗冷生理育种提供依据。

1 材料和方法

实验材料是内蒙古农牧学院提供的自交系 881086 (法 2 选系)、881089 (东引选

1992-06-12 收稿。

* 农业部和国家自然科学基金资助项目。

系)和 882014(半马 7 选系)。将种子用 0.2%的 HgCl_2 溶液消毒 2min, 然后用自来水冲洗 8h, 置于铺有两层吸水纸、浸有适量蒸馏水的培养皿中, 在 25~26℃ 恒温下催芽一天。幼苗培养条件: 温度 25/15℃, 光照 12h, 光强 4500lx。三叶期 4℃ 低温处理两天后, 取叶片 8g(鲜样), 剪碎, 加入 40ml 提取介质(20mmol Hepes, 0.2mol KH_2PO_4 , 0.3mol 甘露醇, 1mmol EDTA, 0.1%BSA, 10mmol Tris-HCl, pH=7.10), 冰浴研磨, 按刘鸿先等^[3]方法进行细胞器制备, 愈创木酚^[2]方法测定过氧化物酶活性, 汪宗立等^[7]方法测定过氧化氢酶活性, Giannopolitis 和 Ries^[8]方法测定超氧化物歧化酶活性。用 Heath 等^[9]方法测定丙二醛含量, 用紫外法测定可溶性蛋白含量。细胞基态渗透浓度 (O_g 值), 原生质层对非电解质甲脲的透性 (K_s) 和原生质表观粘滞度测定参照 Stadclmann 和 Wei^[11,12] 等方法进行。

2 结果与分析

2.1 低温对细胞保护酶活性的影响

供试材料 882014 是抗冷性最好的玉米自交系, 冷处理后叶片挺立, 水渍轻; 881089 抗冷性最差, 冷处理后叶片受害下垂, 水渍严重; 881086 抗冷性居中, 虽然叶片下垂, 但水渍较轻。

由表 1 看到, 冷处理后抗冷性好的自交系 882014 膜脂过氧化水平最低, 与常温下膜脂过氧化产物 MDA 含量没有显著差异。相反, 881086 和 881089 低温下丙二醛含量显著增加, 意味着膜伤害程度较重。

低温下不同抗冷力的自交系的酶活性变化也明显不同。抗冷力强的自交系 882014 过氧化氢酶、超氧化物歧化酶活性明显提高, 过氧化物酶活性没有发生明显变化。而抗冷力中等的自交系及抗冷力弱的自交系酶活性则呈下降的趋势, 但后者变化幅度不及前者。

从不同细胞器对低温的反应看, 低温下三个玉米自交系的叶绿体 SOD 活性大大降低, 而线粒体 SOD 活性则有升有降, 说明叶绿体可能对低温更为敏感。

表 1 低温下膜脂过氧化水平和保护酶活性的变化^{*}

	881086		881089		882014	
	对照	处理	对照	处理	对照	处理
丙二醛含量	30.31	41.73	30.75	36.67	32.31	30.09
过氧化氢酶活性	69.47	53.36	49.38	47.95	33.65	60.75
过氧化物酶活性	12.00	10.69	9.68	8.80	11.62	11.84
超氧化物歧化酶活性	9.78	6.60	12.66	13.27	10.09	14.00
线粒体 SOD 活性	12.45	5.07	19.11	19.32	14.28	17.97
叶绿体 SOD 活性	40.40	26.05	43.48	24.82	42.09	23.83

*. 丙二醛含量: $\mu\text{mol/g}$ 鲜重; 过氧化氢酶活性: 酶单位/ mg 蛋白 $\cdot\text{min}$; 过氧化物酶活性: 酶单位/ mg 蛋白 $\cdot\text{min}$; 超氧化物歧化酶活性: 酶单位/ mg 蛋白。

2.2 低温下玉米芽鞘细胞质质量参数的变化

不同抗冷性的玉米自交系的细胞原生质质量参数有明显差异 (表 2)。低温处理后, 抗冷自交系 K_s 值和原生质粘滞度都大幅度增大, 而不抗冷自交系 K_s 值则降低, 原生质粘滞

度稍微增加;各自交系 O_g 值在低温处理后亦有不同程度的增加,但变化幅度远不及 K_s 值和原生质粘滞度。 O_g 值和原生质粘滞度的大小从不同方面反映了细胞汁液浓度高低及渗透调节能力的大小。较高的 O_g 值和原生质粘滞度是抗冷自交系比不抗冷自交系抗冷的细胞素质所在; K_s 值大小在一定程度上表示膜的流动性高低,而后者又与耐冷性呈正相关。低温处理后抗冷自交系 K_s 值增大,说明膜流动性增加;不抗冷自交系 K_s 值降低,标志膜流动性减弱。膜流动性改变对低温的反应不同是抗冷自交系与不抗冷自交系抗性不同的又一原因。

表2 低温下玉米细胞原生质质量参数的变化

项 目	881086		882014		881089	
	对照	低温	对照	低温	对照	低温
O_g 值(mol/kg)	0.383	0.449	0.367	0.402	0.353	0.418
K_s 值(10^{-6} cm/s)	2.51	4.19	1.89	6.36	5.44	3.05
粘滞度(min:s)	22:00	60:00	14:00	52:00	5:00	7:30

3 讨 论

自交系 882014 是玉米自交系半马 7 的后代选系,经多年连续定向选择,抗冷性得到明显改良。低温下 882014 植株的冷害程度轻,保护酶活性高,膜脂过氧化水平低是其抗冷的生化基础之一。相比之下,冷害程度重的自交系 881089 和 881086 保护酶类活性下降,膜脂过氧化产物 MDA 含量高。说明膜脂过氧化水平和保护酶活性与玉米抗冷性具有密切关系。

刘鸿先等^[3,4]报道,冷敏植物低温下 SOD 活性降低。玉米是喜温冷敏植物,抗冷力不同的自交系 SOD 活性低温下变化各异,抗性强的酶活性升高,抗性弱的酶活性降低,低温下过氧化物酶活性变化不大,过氧化氢酶活性变化趋势与超氧化物歧化酶相同,这与李俊明等^[5]的结果一致,而与 Omran^[10]的结果不同。

自交系 881086 的细胞基态渗透浓度和表观原生质粘滞度高于 882014,但二者膜脂过氧化水平和保护酶活性表现截然相反,意味着玉米抗冷性可能存在着不同的抗冷机制,细胞水平和分子水平的抗冷性分别起着作用。

参 考 文 献

- 1 王建华等. SOD 在植物逆境和衰老生理中的作用. 植物生理学通讯, 1989(1): 1~7
- 2 张敬贤等. 玉米细胞保护酶活性对苗期干旱的反应. 华北农学报, 1990, 5 (增刊): 19~23
- 3 刘鸿先等. 低温对不同耐寒力的黄瓜幼苗子叶各细胞器中超氧化物歧化酶的影响. 植物生理学报, 1985, 11(1): 48~57
- 4 刘鸿先等. 低温对杂优水稻及其亲本幼苗中超氧化物歧化酶的影响. 植物学报, 1987, 29(3): 262~270
- 5 李俊明等. 低温下玉米不同耐冷类型自交系的生理生化变化. 华北农学报, 1989, 4(2): 15~19
- 6 贾银锁等. 小麦苗期细胞原生质特性与水分胁迫的关系. 华北农学报, 1989, (增刊): 92~96

- 7 汪宗立等. 玉米的涝渍伤害与膜脂过氧化作用和保护酶活性的关系. 江苏农业学报, 1988(3): 1~8
- 8 Giannopolitis CN and Ries SK. Superoxide dismutase. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedling. Plant Physiol, 1977, 59: 315~318
- 9 Heath RL and Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys, 1968(125): 189~198
- 10 Omran RC. Peroxide levels and the activity of catalase, peroxidase and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings. Plant Physiol, 1980 65: 407~408
- 11 Stadlmann EJ. Evaluation of turgidity, plasmolysis and deplasmolysis of plant cells. In: Prescott DM (ed) Methods in Cell Physiology. Vol. 2. Academic Press. New York, 1966: 147~216
- 12 Wei JK et al. Protoplasmic parameters of *Zea mays* with normal and male sterile cytoplasm. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1989(35): 543~553

The Effect of Low Temperature on Activities of Cell Protective Enzymes and Protoplasmic Parameters in Leaves of *Zea mays*

Zhang Jingxian Li Juaming Cui Siping Wei Jiankun

(Agro-physics, Plant Physiology and Biochemistry Institute, Hebei Academy of Agricultural and
Forestry Sciences, Shijiazhuang)

Zhang Haiming Geng Qinghan

(Inner Mongolia College of Agriculture and Animal Husbandry)

Abstract After two days of 4°C treatment at three-leaf stage, the activities of catalase, peroxidase and superoxide dismutase, and permeability of protoplast layer to nonelectrolytes declined, but level of membrane lipid peroxidation increased in the leaves of cold sensitive inbred line of maize. In the cold resistant line, by contrast, the activities of the three protective enzymes, and permeability and viscosity of protoplast increased, and correspondingly, membrane lipid peroxidation had no significant change. The results suggested that there might be a close relationship between the activities of enzymes investigated or protoplasmic parameters and cold resistance of maize.

Key words: Maize; Low temperature; Protective enzyme; Protoplasmic parameters