

低温处理对甜瓜、扁豆幼苗生长及同工酶的影响

王振英 彭永康 陈力军 李东明 胡悦

(天津师范大学生物系 300074)

摘 要 0~4℃低温处理华兰氏甜瓜幼苗后,生长受抑,并在低温处理至第8天死亡;低温对扁豆幼苗生长量也有明显影响,但幼苗生长尚未停止,只是变慢,在低温处理第24天死亡。检测华兰氏和扁豆幼苗期三种组织内 ATPase、COD 和 POD 同工酶发现,华兰氏幼苗组织中三种酶的同工酶均产生变化,而扁豆中只有 POD 有谱带减少或活性变弱的现象。这一结果表明,华兰氏和扁豆两种作物幼苗生长受抑与其组织内同工酶的变化存在一定相关性。

关键词 甜瓜 扁豆 同工酶 冷害 聚丙烯酰胺凝胶电泳

温度是植物生长发育过程中的一个重要生态因子。植物幼苗对低温的忍耐性有很大差异,已有很多报道表明,植物经低温锻炼后,能提高其耐低温的能力,且幼苗体内也可产生许多生物化学和同工酶上的变化^[1,2]。但迄今为止,对甜瓜(华兰氏)和扁豆方面的研究很少,对与冷害直接有关的膜结合蛋白 ATPase^[6,7],则未从同工酶的水平上进行探讨。为此,我们用 0~4℃低温处理华兰氏、扁豆两种作物,分析 0~4℃低温对上述两种作物幼苗的生长和 ATPase 同工酶的影响,同时也对过氧化物酶 POD、细胞色素氧化酶 COD 同工酶进行了分析。试图探讨幼苗受冷害状况与 ATPase、POD、COD 同工酶变化的关系,为了解植物幼苗的耐寒机理提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料培养和低温处理

甜瓜华兰氏 (*C. Melo*.L) 和扁豆 (*Dolichos lablab* L.)种子事先在室温下浸泡 24h,然后置培养皿中 25±1℃温箱内萌发 4 天,选择上述两种作物萌发一致的幼苗,置 0~4℃条件下分别处理 1~25 天,然后测定幼苗高度,根系长度和三种同工酶。

1.2 同工酶样品制备、电泳分析和染色

取在 0~4℃低温下分别处理 4、5、6、7、8 天的甜瓜和扁豆的根、叶、胚轴为酶分析材料,取上述两种作物幼苗组织各 0.1g,用冷蒸馏水洗净后加入 0.5ml 冷(4℃)的 0.1mol

磷酸缓冲液 (pH7.0), 冰浴下迅速研磨成匀浆, 冰箱内沉淀 15min, 取上清液作电泳分析用。为保持苗龄的一致, 对照幼苗的培养采用简令成提供的方法^[3]。

采用聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳^[8]。用 0.3mol Tris-HCl (pH8.9) 为凝胶缓冲系统, 电极缓冲液为 0.1mol Tris-Gly (pH8.3)。使用美国产 Bio-Rad 多功能电泳仪。电泳时分析样品的进样量为 100 μ l; ATPase, POD, COD 同工酶的染色采用我们以前报道的方法^[4,5]。

2 结果与分析

2.1 0~4℃低温处理对华兰氏和扁豆幼苗生长的影响

表 1 是在 25 \pm 1℃下萌发 4 天后移入 0~4℃条件下处理 1~25 天后两种作物幼苗生长情况。结果表明, 低温对华兰氏和扁豆幼苗生长的影响十分明显, 华兰氏从移入 0~4℃条件下处理的第 1 天起, 幼苗生长完全受抑。扁豆在 0~4℃下处理后, 尽管根系及幼苗生长影响明显, 但仍可观察到缓慢生长的现象。

表 1 0~4℃低温处理对华兰氏和扁豆幼苗生长的影响 (cm)

		培养天数	1d	5d	6d	7d	8d	15d
华兰氏	对照	苗高	1.03	2.57	3.01	3.70	4.03	
		根长	1.78	3.73	3.96	4.88	5.08	
	处理	苗高	1.03	1.03	1.03	1.03	1.03	
		根长	1.40	1.41	1.42	1.42	1.43	
扁豆	对照	苗高	2.00	11.7	12.0	13.0	13.4	13.9
		根长	1.80	4.05	4.80	5.40	5.50	5.70
	处理	苗高	2.01	2.34	2.38	2.43	2.45	2.49
		根长	1.79	2.03	2.05	2.08	2.08	2.09

华兰氏从 0~4℃低温处理的第 1 天起, 幼苗便停止生长, 于第 8 天死亡; 而扁豆幼苗则还可以看到有一定程度生长的现象, 并且到低温处理 24 天后死亡。但两种作物对低温的反应都是敏感的。与各自的对照相比明显表现出幼苗生长严重受抑的状况。

2.2 0~4℃低温对华兰氏幼苗组织内三种同工酶的影响

经 0~4℃低温处理后, 华兰氏幼苗各组织内三种同工酶的分析结果表明, 根系中的 COD 胚轴中的 POD, ATPase, 叶子中的 POD 和 COD 同工酶均有明显变化 (表 2, 图 1, 2)。如根系中的 COD, 由 3 条谱带 (COD₁~COD₃) 减少至 2 条 (COD₁~COD₂), 叶子中由 3 条 (COD₁~COD₃) 减少至 1 条 (COD₁); 叶子中的 POD 由 3 条 (POD₁~POD₃) 减少至 1 条 (POD₁); 胚轴中的 POD 由两条 (POD₁~POD₂) 谱带组成, 低温处理后, 该两条谱带均消失, ATPase 由原来的 3 条 (ATPase₁~ATPase₃) 减少至 2 条 (ATPase₁, ATPase₂), 活性很强的 ATPase₃ 消失。

植物在遭受受害或低温处理后, 幼苗体内产生生物化学和其它某些同工酶的变化, 这种现象已被很多研究者证实。如郑光华等在研究瓜尔豆种子发芽时发现, 低温处理后, POD

同工酶谱带增多,认为经低温锻炼过的种子中酶带改变可能是一种适应性反应⁽²⁾。Gerloff等⁽⁹⁾用低温锻炼不同抗寒力的苜蓿品种,发现经低温锻炼过的苜蓿品种中,增加两条新的POD同工酶谱带⁽¹¹⁾。类似的报道还有 McCown⁽¹⁰⁾在石竹中,Roberts在小麦中,而对低温处理的华兰氏幼苗的某些器官中COD的变化报道目前还不多见,仅从我们的实验结果看,低温处理后引起COD的变化是客观事实。因此深入开展植物组织中COD变化与冷害的相关性问题,对研究植物耐寒机理很有帮助。

表2 0~4℃低温对华兰氏幼苗组织内三种同工酶的影响

		POD	COD	ATPase
根	对照	POD ₁ ,POD ₂ ,POD ₃ ,POD ₄	COD ₁ ,COD ₂ ,COD ₃	ATPase ₁ ,ATPase ₂ ,ATPase ₃
	处理	POD ₁ ,POD ₂ ,POD ₃ ,POD ₄	COD ₁ ,COD ₂	ATPase ₁ ,ATPase ₂ ,ATPase ₃
胚轴	对照	POD ₁ ,POD ₂	COD ₁ ,COD ₂	ATPase ₁ ,ATPase ₂ ,ATPase ₃
	处理		COD ₁ ,COD ₂	ATPase ₁ ,ATPase ₂
叶	对照	POD ₁ ,POD ₂ ,POD ₃	COD ₁ ,COD ₂ ,COD ₃	ATPase ₁ ,ATPase ₂ ,ATPase ₃
	处理	POD ₁	COD ₁	ATPase ₁ ,ATPase ₂ ,ATPase ₃

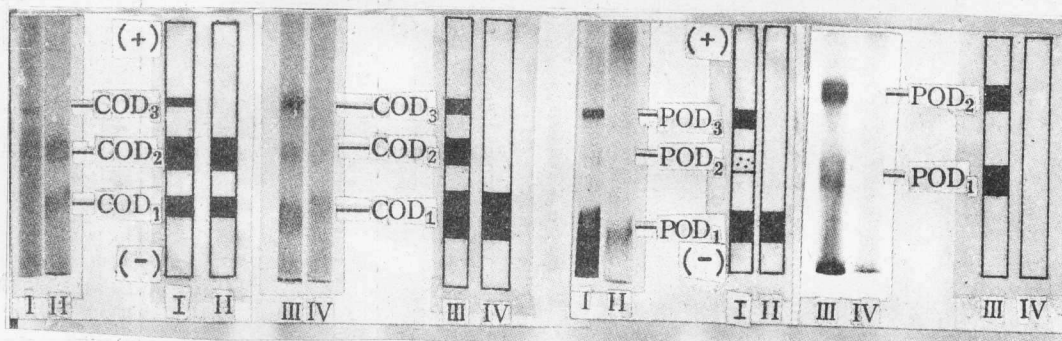


图1 0~4℃低温对华兰氏根、叶
COD同工酶的影响

I 根 COD (ck); II 根 COD(处理);
III 叶 COD (ck); IV 叶 COD(处理);

图2 0~4℃低温 对华兰氏幼苗组织内
POD同工酶的影响

I 叶 POD(ck); II 叶 POD处理;
III 胚轴 POD(ck); IV 胚轴 POD处理

ATPase是一种与细胞膜结合的酶^(6,7)。许多研究表明,植物遭受冷害后,膜是产生损伤的最初部位,植物遭冷害后可使与细胞膜结合的ATPase产生变化⁽¹²⁾。本工作所得到的华兰氏遭受低温处理后引起胚轴中ATPase同工酶谱带的减少是与冷害有关的。

应该指出的是,从大部分文献中可知,植物经低温锻炼后,同工酶谱带一般都会增多,而我们经多次重复的结果则表明是谱带减少。这种实验结果上的差异,也许是不同的实验材料所造成的。这个问题还有待于进一步的研究。但有两点应该说明:其一,同一组织中不同的酶系统对温度的反应亦不同,如根系中COD产生变化,POD和ATPase相同;胚轴中POD和ATPase产生变化,COD相同;叶子中POD和COD产生变化,而ATPase却相

似。其二,不同组织中同一种酶系统对温度的反应也不相同。如 POD 在根系中对低温表现不敏感,但在胚轴和叶子中低温处理后谱带减少, COD 在胚轴内不敏感,在根系和叶子中则对低温反应敏感。ATPase 在胚轴中敏感,根系和叶子内无差异。造成这种差异的原因可能是因为低温对植物体内不同酶变化的影响是不同的;同时低温对某一种酶的效应还与它所在的不同器官有关,所以研究冷害与植物体内同工酶变化的关系时要考虑到同工酶的种类和不同的组织器官这两个问题。这样可使实验结果更趋正确。

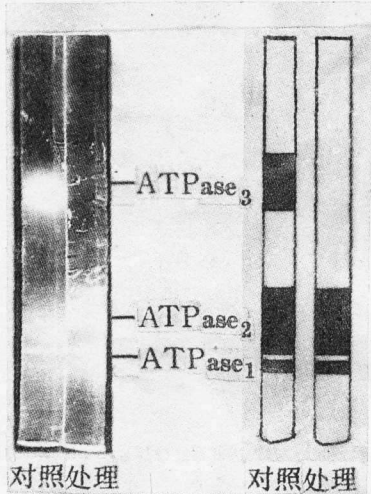


图3 0~4℃低温对华兰氏幼苗胚轴内 ATPase 同工酶的影响

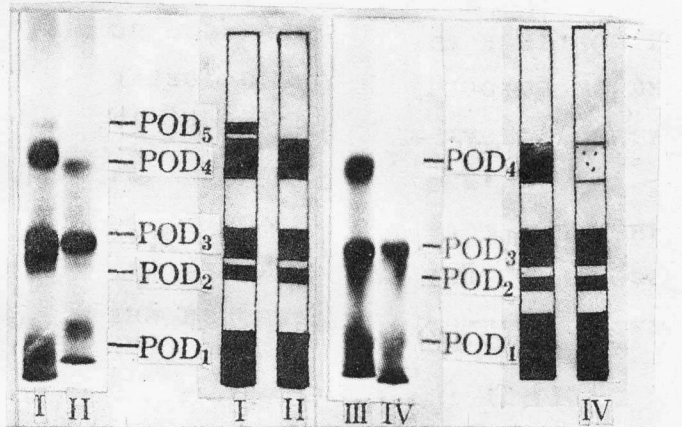


图4 0~4℃低温处理对扁豆幼苗胚根、胚轴 POD 同工酶的影响

I.根 POD(ck) II.根 POD(处理) III.胚轴 POD(ck) IV.胚轴 POD(处理)

2.3 0~4℃低温处对扁豆幼苗组织内三种同工酶的影响

0~4℃低温处理对扁豆幼苗根、叶、胚轴中的 ATPase、COD 同工酶未呈现出明显的变化。根和胚轴中 POD 同工酶有谱带减少 (POD₅) 或活性减弱 (POD₄) 的现象 (图4)。这一结果表明,扁豆幼苗组织内的三种同工酶系统 (ATPase, POD, COD) 中,除根系和胚轴中的 POD 对低温有一定的反应外,幼苗根系、胚轴和叶中的其它两种酶对冷害是不敏感的。

从所测试到的 0~4℃低温对华兰氏和扁豆幼苗生长的影响中也可以看到,低温对华兰氏幼苗生长的抑制作用非常明显,低温处理第8天幼苗死亡,而低温对扁豆幼苗的生长尽管也有影响,但未被抑制住,仍能缓慢生长,幼苗到第24天死亡。这一结果表明,扁豆对低温的抗性强于华兰氏。三种同工酶的分析结果表明,低温处理华兰氏幼苗后,三种组织内三种同工酶系统不同程度地产生变化;而低温对扁豆幼苗三种组织内三种同工酶的影响,除根和胚轴的 POD 外,其余未见变化。因此幼苗期三种组织内 ATPase、COD、POD 三种同工酶的变化与幼苗的耐寒性之间有一定的相关性。这一结果,可望为我们探讨植物耐冷性机理提供一些线索,也可望为我们在生产上通过同工酶检测法来检测选择耐冷性作物品种提供一种比较简易的方法。

参 考 文 献

- 1 刘鸿先.植物抗寒性与酶系统多态性的关系.植物生理学通讯,1981(6): 6~11
- 2 郑光华等.瓜尔豆 (*Cyamopsis tetragonoloba* L. Taub)种子发芽生理的研究. 1980, 6(2): 115~125
- 3 简令成等.番茄子叶细胞内三磷酸腺苷酶活性的超微结构定位及其在冷害中的变化.植物学报,1981(23): 257~261
- 4 彭永康等.高粱同核异质与异核异质雄性不育系,保持系花药及雌蕊过氧化物酶同工酶的比较研究.中国农业科学,1988,21(6): 45~52
- 5 胡能书,万国贤.同工酶技术及其应用.长沙:湖南科学技术出版社,1982, 81
- 6 Katz DB, Sussman MR. Inhibition and labelling of the plant plasma membrama H^+ -ATPase with N-ethylmaleimid. Plant Physiol, 1987(83):977~988
- 7 Swrowy TK, Sussman MR. Immunological cross-reactivity and inhibition sensitivities of the plasma membrane H^+ -ATPase from plant and fungi. Biochem Biophys Acta, 1986, (848): 24~34
- 8 Siciliano MJ and Shaw CR. In: Chromatographic and Electrophoretic Techniques. Zone electrophoresis. Smith I(ed). London, 1976, 185~209
- 9 Gerloff ED, Stahmann MA, Smith, D. Soluble protein in alfalfa as related to cold hardness. Plant Physiol, 1967,42:859~899
- 10 McCown BH, Melcester RC, Bech GE, Hall TC. Environment-induced changes in peroxidase zymoyrams in the stems. Gryobiology, 1969(5): 410~412
- 11 Roberts DWA. Changes in the forms of invertase during the development of wheat leaves growing under cold-hardening and non-hardening conditions. Can J Bot, 1983(4):601~606
- 12 Palta JP and Li PH. Cell membrane properties in relation to preezing injury. In: Li PH and Sakaieds A (ed). Plant Cold Hardiness and Freezing Stress. New York: Academic Press, 1978, 93~115

The Effect of Low Temperature on Seedling Growth and Isozymes in Muskmelon and Dolichos

Wang Zhenying Peng Yongkang Chen Lijun Li Dongming Hu Yue

(Department of Biology, Tianjin Normal University, Tianjin)

Abstract The exparimental results showed that low temperature (0-4℃) could inhibite growth of muskmelon seedlings and change the contents of ATPase, COD and POD isozymes in the plant. For dolichos, the contents of POD isozyme changed, but the inhibitive effect on seedling growth was not serious. under the low temperature significant correlation was demonstrated between the growth inhibitive effect and the changes of contents of ATPase, COD and POD isozyme in muskmelon and dolichos.

Key words: Muskmelon; Dolichos; Isozyme, Chilling damage; PAGE