

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2007)01-0011-04

NaCl 胁迫对马铃薯抗氧化系统的影响

张瑞玖¹, 尚国斌², 蒙美莲^{1*}, 门福义¹, 郇海龙¹, 郭俊秀¹

(1. 内蒙古农业大学, 内蒙古 呼和浩特 010019; 2. 内蒙古武川县财政局, 内蒙古 武川 011700)

摘要: 以紫花白、大西洋、克新 12 号 3 个马铃薯品种为试验材料, 研究了 NaCl 胁迫下其体内过氧化物酶活性、超氧化物歧化酶活性和过氧化物酶同工酶的变化。结果表明: 随着 NaCl 胁迫浓度的增加, 马铃薯 3 个品种过氧化物酶活性均表现为随 NaCl 浓度的增加先下降后上升, 而超氧化物歧化酶活性表现为随 NaCl 浓度的增加先降低, 再升高, 然后再降低的变化规律。但是, 3 个品种两种酶的变化幅度却不相同。克新 12 号在 0.3% 和 0.45% NaCl 浓度下两种酶的活性均迅速上升, 且在 0.45% 浓度下显著的高于对照; 紫花白在 NaCl 胁迫下两种酶活性变化较平稳, 和对照差异不显著; 大西洋在不同 NaCl 浓度下两种酶的活性均低于对照, 且过氧化物酶活性在 0.30% 和 0.45% 的 NaCl 浓度下显著的低于对照; 克新 12 号和紫花白在较高的 NaCl 浓度下过氧化物酶同工酶谱带较深, 大西洋则随 NaCl 浓度的升高同工酶谱带的颜色变浅, 同时, 耐盐品种克新 12 号和紫花白在 B 区均诱导出了一条明亮的谱带。

关键词: 马铃薯; NaCl 胁迫; 过氧化物酶; 超氧化物歧化酶

近年来, 随着工业污染加剧、灌溉农业的发展和化肥使用不当等原因, 盐碱化土壤面积不断增加, 这严重影响了农业生产^[1]。因此, 对植物抗盐碱的研究引起了人们的极大关注。自 Mccord 和 Fridovich^[2]提出生物自由基伤害学说以来, 人们广泛地开展了应用自由基伤害学观点来研究逆境对植物代谢调节的影响。大量研究表明, 在逆境条件下植物体内会产生超氧自由基、过氧化氢和单线态氧等活性氧自由基, 使植物膜系统受到伤害, 同时植物为保护自身免受伤害形成了一整套相应的抗氧化保护系统^[3]。超氧化物歧化酶、过氧化物酶是这一系统中重要的组成部分, 在逆境胁迫条件下, SOD 和 POD 活性的变化可以反映细胞清除活性氧的能力^[4], 因而这两种酶在植物的抗逆研究中颇受重视, 在许多植物上均有报道。但是, 马铃薯在逆境条件下抗氧化酶系统的变化研究还较少报道。因此, 本试验通过对盐胁迫下马铃薯不同品种抗氧化酶活性及过氧化物酶同工酶谱带的研究, 探讨抗氧化酶系统与马铃薯盐害及耐盐性的关系, 为马铃薯

耐盐机理的研究及耐盐突变体的筛选提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

马铃薯克新 12 号、紫花白、大西洋 3 个品种的脱毒苗。由内蒙古正丰马铃薯种业公司提供。每 20 d 在 MS 基本培养基上继代繁殖一次。

1.2 试验处理及方法

试验设 0, 0.15%, 0.30%, 0.45% 4 个 NaCl 浓度, 将不同浓度的 NaCl 分别添加到 MS+6 mg·L⁻¹ B₉+3%蔗糖+0.4%卡拉胶的培养基中, 形成不同 NaCl 浓度的胁迫培养基。将继代培养的脱毒苗按单节茎切段转移到含有不同 NaCl 浓度的胁迫培养基中进行培养。培养瓶直径为 6.5 cm, 内装 50 mL 胁迫培养基, 每瓶接入 30 个茎段, 每个处理 5 瓶, 重复 3 次。培养温度 (25 ± 1) °C, 光强 2 000 lx, 每天光照 12 h。

处理 30 d 时取正常叶片测定 SOD 活性, POD 活性与过氧化物酶同工酶。

1.3 各项指标的测定方法

1.3.1 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定

参照现代植物生理学实验指南^[5]。

收稿日期: 2006-12-16

作者简介: 张瑞玖 (1981-), 男, 硕士研究生, 主要从事马铃薯栽培生理研究。

* 通讯作者: E-mail: mmeilian@mail.china.com

1.3.2 过氧化物酶 (POD) 活性的测定

参照陈建勋和王晓峰^[6]的方法。

1.3.3 过氧化物酶同工酶测定

参照张志良^[7]的方法, 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对马铃薯 POD 活性的影响

由图 1 可见, 马铃薯品种间随着 NaCl 胁迫浓度的增加过氧化物酶活性存在差异, 表现为大西洋>紫花白>克新 12 号。马铃薯 3 个品种过氧化物酶活性变化趋势相似, 均是先下降后上升。但是,

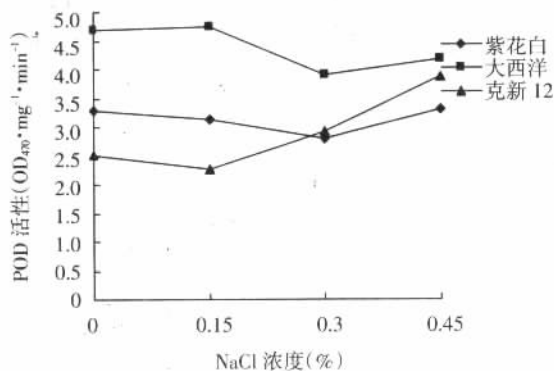


图 1 NaCl 胁迫下马铃薯 POD 活性变化

表 1 过氧化物酶活性方差分析

变异来源	DF	SS	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
品种间	2	10.31	5.15	82.14**	3.89	6.93
处理间	3	1.09	0.36	5.78*	3.49	5.95
品种 × 处理	6	3.24	0.54	8.60**	3.00	4.82
试验误差	12	0.69	0.06			
总变异	23	15.46				

注: * 表示差异显著; ** 表示差异极显著; 下同。

3 品种间过氧化物酶活性开始上升的 NaCl 浓度和上升幅度却并不相同。紫花白和大西洋 2 品种随 NaCl 浓度的升高, 过氧化物酶活性逐渐下降, 在 NaCl 浓度为 0.30% 时达到最低点, 随后活性又开始上升。紫花白品种上升的幅度较大, 且在 NaCl 浓度为 0.45% 时达到了其活性的最高点, 但与对照比差异不显著。而大西洋上升的幅度较小, 其活性始终低于对照, 且在 0.30% 和 0.45% 的 NaCl 浓度下显著地 (P<0.05) 低于对照。与紫花白和大西洋相比, 克新 12 号过氧化物酶活性开始增加的 NaCl 浓

度低, 而且增加幅度大, 从 0.15% 的 NaCl 浓度开始, 其活性直线上升, 当 NaCl 浓度为 0.45% 时达到了最高点, 且较对照增加了 1.5 倍。

表 1 结果表明, 过氧化物酶的活性在品种间和品种与处理交互间差异极显著。在同一品种的不同 NaCl 浓度处理间过氧化物酶的活性存在显著的差异。

2.2 NaCl 胁迫对马铃薯 SOD 活性的影响

由图 2 可见, 不同 NaCl 浓度胁迫下马铃薯 3 品种超氧化物歧化酶活性大小始终表现为克新 12 号>紫花白>大西洋。随 NaCl 胁迫浓度的增加 3 品种超氧化物歧化酶活性均表现为先降低, 再升高, 然后再降低的变化规律。但是, 3 个品种变化幅度

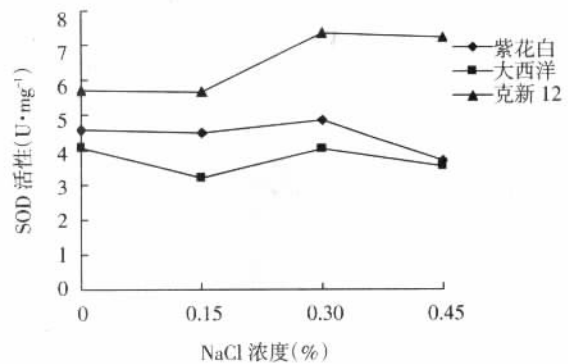


图 2 NaCl 胁迫下马铃薯 SOD 活性变化

表 2 超氧化物歧化酶活性方差分析

变异来源	DF	SS	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
品种间	2	33.52	16.78	63.44**	3.89	6.93
处理间	3	2.81	0.94	3.54*	3.49	5.95
品种 × 处理	6	4.78	0.80	3.01*	3.00	4.82
试验误差	12	2.91	0.27			
总变异	23	44.04				

注: * 表示差异显著; ** 表示差异极显著; 下同。

不同, 克新 12 号品种在 0.30% 和 0.45% 的盐浓度下超氧化物歧化酶活性均显著 (P<0.05) 高于对照。紫花白随 NaCl 浓度的升高其酶的活性保持在一个较稳定的水平上, 当 NaCl 浓度达到 0.45% 时其活性迅速下降, 但与对照相比差异不显著。大西洋在 NaCl 浓度达到 0.15% 时酶的活性就大幅度下降, 之后虽然在 0.30% 盐浓度下酶的活性有一定增加, 但仍低于

对照, 当 NaCl 浓度继续增加时, 其酶的活性又迅速下降, 但在不同的 NaCl 浓度下差异不显著。

由表 2 可见, 品种间超氧化物歧化酶的活性存在极显著差异。试验处理间及处理与品种间超氧化物歧化酶的活性存在显著差异。

2.3 NaCl 胁迫对马铃薯 POD 同工酶谱带的影响

马铃薯 POD 酶同工酶谱带的变化见图 3, 根据酶带的集中程度和迁移率的大小, 将酶谱从正极到负极依次分为 A、B、C 3 个区。由于品种特性的差异, 3 个品种在 NaCl 浓度为 0 的条件下过氧化物酶同工酶谱并不相同, 克新 12 号有两条谱带, 紫花白有 3 条谱带, 大西洋有 5 条谱带。因此, 在

NaCl 胁迫下 3 个品种的变化也不尽相同, 在 C 区 3 品种均只有一条扩散带, 随 NaCl 浓度的增高谱带的颜色逐渐变浅。在 B 区, NaCl 胁迫下谱带的条数发生了很大变化, 紫花白在高盐浓度 (0.45%) 下, 迁移率 $R_f=0.44$ 处诱导出了 1 条明亮的谱带, 克新 12 号同样在高盐浓度 (0.45%) 下, 迁移率 $R_f=0.42$ 处诱导出了 1 条明亮的谱带。而大西洋谱带的条数没有发生变化, 且谱带的颜色也变化甚微。在 A 区, 3 品种谱带的条数没发生变化, 只是谱带的颜色在不同 NaCl 浓度下有所差异, 克新 12 号和紫花白 NaCl 胁迫下, 其谱带的颜色及宽度均逐渐加大。而大西洋谱带的颜色及宽度均逐渐降低。

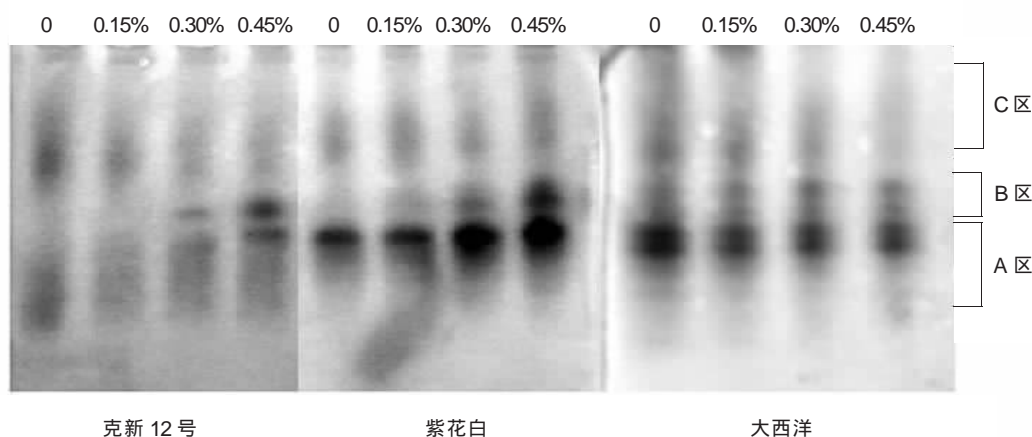


图 3 不同 NaCl 浓度胁迫下马铃薯 POD 同工酶谱变化

3 讨论

盐胁迫下, 抗氧化酶活性的提高是活性氧自由基增加和胁迫条件下减少氧伤害保护系统建立的标志^[8]。植物在逆境条件下保持较高的抗氧化酶活性, 能有效地清除代谢过程产生的活性氧, 使生物体内活性氧维持一个低水平上, 从而防止了活性氧引起的膜脂过氧化及其它伤害过程, 提高了抗逆性。Gosset 等^[9]研究报道, 高水平的抗氧化剂与棉花的耐盐能力相关。代红军等^[10]研究报道, 在 NaCl 胁迫下甘薯的保护酶系统与其品种的耐盐性有关。本试验研究表明, 在 NaCl 胁迫下, 马铃薯 3 个品种的超氧化物歧化酶及过氧化物酶活性变化趋势相似, 均存在某一盐浓度下活性突然增加的趋势, 但品种之间变化的幅度却存在较大的差异。克

新 12 号在盐胁迫下两种酶的活性均显著的高于对照, 可见, 克新 12 号具有较强的清除氧自由基的能力, 在一定程度上减缓膜的伤害, 具有较强的耐盐能力, 这与王新伟等^[11]的研究结果一致。大西洋在不同 NaCl 浓度下两种酶的活性均低于对照, 且过氧化物酶活性在 0.30% 和 0.45% 的 NaCl 浓度下显著的低于对照。可见, 大西洋清除自由基的能力较弱, 其耐盐能力较差。紫花白在 NaCl 胁迫下过氧化物酶活性在 0.45% 的盐浓度下有一个迅速增加的趋势, 而超氧化物歧化酶活性在 0.30% 的 NaCl 浓度下有增加的趋势, 但对对照相比差异不显著。因此, 马铃薯过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性与品种的耐盐性有一定的关系。

通过对马铃薯过氧化物酶同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳结果的分析可见, 在不同盐浓度下不同品种

存在较大差异。从谱带的颜色上可以看到克新12号以及紫花白在较高的盐浓度下较深, 表明酶的活性明显增强, 而不耐盐品种大西洋随盐浓度的升高谱带颜色变浅, 表明酶的活性逐渐降低, 这与对过氧化物酶活性测定的结果基本一致。同时, 克新12号和紫花白品种在B区均诱导出了一条明亮的谱带, 这很显然是因为盐胁迫的结果, 但是, 这条带和马铃薯耐盐性如何还有待于进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 李晓燕, 宋占午, 董志贤. 植物的盐胁迫生理 [J]. 西北师范大学学报, 2004, 40(3): 106-111.
- [2] Mccord J M. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte hemocuprein [J]. J Biol Chem, 1969, 244: 6049-6055.
- [3] 任红旭, 陈雄, 王亚馥. 抗旱性不同的小麦幼苗在水分和盐胁迫下抗氧化酶和多胺的变化 [J]. 植物生态学报, 2001, 25(6): 709-715.
- [4] Abed Shalata, Peter M Neumann. Exogenous ascorbic acid(vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation [J]. J Exp Bot, 2001, 52(364) : 2207- 2211.
- [5] 上海市植物生理协会. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 314- 315.
- [6] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 华南理工大学出版社, 2000: 119- 122.
- [7] 张志良. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1990: 305- 312.
- [8] Meloni D A, Oliva M A, Martinez C A, et al. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress [J]. Environ Exp Bot, 2003, 49: 69- 76.
- [9] Gosset D R, Millhollon E P, Lucas M C. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton [J]. Crop Sci, 1994, 34: 706- 714.
- [10] 代红军, 柯玉琴, 潘廷国. NaCl 胁迫下甘薯苗叶片活性氧代谢与甘薯耐盐性的关系 [J]. 宁夏农学院学报, 2001, 22(1) : 15- 18.
- [11] 王新伟, 李照河, 栾鸿坤, 等. 马铃薯高淀粉资源试管苗抗盐性鉴定 [J]. 马铃薯杂志, 1998, 12(1) : 15- 18.

Effect of NaCl Stress on Antioxidant Defense System of Potato

Zhang Ruijiu¹, Shang Guobin², Meng Meilian¹, Men Fuyi¹, Li Hailong¹, Guo junxiu¹

(1. Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, Inner Mongolia 010019, China;

2. Wuchuan Department of Finance, Wuchuan, Inner Mongolia 011700, China)

Abstract: Three potato cultivars, Zihuabai, Atlantic and Kexin 12, were used to do an experiment which monitored the changes in peroxidase activity, superoxide dismutase activity and peroxidase isoenzyme under NaCl stress. With the increase of NaCl concentrations, the peroxidase activity of the three potato cultivars decreased at first, then increased, while superoxide dismutase activity declined at first, then increased and decreased finally. However, the range of changes of the two enzymes in the three cultivars was different. When NaCl concentrations reached 0.30% and 0.45%, the two enzyme activity of Kexin 12 increased rapidly and was significantly higher under the concentration of 0.45% than that of the control; the two enzyme activity of Zihuabai changed little bit under NaCl stress, and had no significant difference under stress compared with controls; the two enzyme activity of Atlantic was lower than the control in different concentrations, and peroxidase activity was significantly lower than that of the control under the concentrations of 0.30% and 0.45%. The band color of peroxidase isoenzyme blackened in Zihuabai and Kexin 12 under higher concentrations of NaCl, whereas the band color of Atlantic lightened gradually with increase of NaCl concentrations. In addition, Kexin 12 and Zihuabai was induced a bright band in region B.

Key Words: potato; NaCl stress; peroxidase; superoxide dismutase