

外源 6-BA 对缺镁胁迫下两优 培九幼苗的缓解效应

杨艳华¹, 陈国祥^{1*}, 刘少华¹, 王娜¹, 王贵民¹, 吕川根²

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏南京 210097; 2. 江苏省农业科学院粮食与作物研究所, 江苏南京 210014)

摘要: 以三叶一心期的两优培九幼苗为材料, 比较研究了缺镁及叶面喷施 6-BA 对缺镁胁迫下两优培九叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、硝酸还原酶(NR)活性, 可溶性蛋白含量及细胞膜透性的影响。结果表明: 随着两优培九缺镁胁迫程度的加剧, 叶绿素含量、可溶性蛋白含量呈下降趋势, SOD、POD、CAT 活性呈现先上升后下降的趋势, 而细胞膜透性、NR 活性则呈现升高的趋势; 喷施 6-BA 对缺镁胁迫具有一定程度的缓解作用。因而可推测外源 6-BA 可在一定程度上改善由于缺镁而造成的营养缺乏症。

关键词: 镁; 水稻; 6-BA; 胁迫

中图分类号: Q945.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2003)04-0347-05

Mitigative effect of exogenous 6-BA on the rice seedling under stress of magnesium deficiency

YANG Yan-hua¹, CHEN Guo-xiang¹, LIU Shao-hua¹,
WANG Na¹, WANG Gui-min¹, Lü Chuan-gen²

(1. College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China; 2. Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agriculture Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: The effects of magnesium deficiency and exogenous 6-BA to magnesium deficiency on content of chlorophyll, activities of SOD, POD, CAT and NR, content of soluble protein and permeability of cell membrane in three-leaf-stage seedlings of liangyoupeijiu were studied. The results showed that with the increasing of magnesium deficiency, the content of chlorophyll and soluble protein decreased, activities of SOD, POD and CAT increased first and decreased afterwards, but activities of NR and permeability of cell membrane increased. Exogenous 6-BA to the stress of magnesium deficiency has some functions of mitigative effect.

Key words: magnesium; rice; 6-BA; stress

镁是植物生长的必需元素, 对于植物的生长发育具有极其重要的生理作用, 主要表现在以下几个方面: ①酶的活化; ②光合作用; ③蛋白质的合成; ④活性氧的代谢(李延等, 2000)等等。6-BA(6-苄基

腺嘌呤)是一类促进细胞分裂的植物激素, 其主要作用是促进蛋白质的生物合成, 促进细胞分裂和扩大以及延缓叶片衰老等。目前在我国部分地区如浙江、福建(中科院土壤所提供)存在某种程度的缺镁

收稿日期: 2002-06-10 修订日期: 2002-10-28

基金项目: 江苏省资源生物技术重点实验室开放课题资助项目(KJS01036)

作者简介: 杨艳华(1973-), 女, 山东济宁人, 在读硕士生, 主要从事植物生理生化方向的研究。* 为通讯联系人 E-mail: gxchen@njnu.edu.cn

现象,而有关如何缓解缺镁胁迫尚少见报道。本实验选用水稻——两优培九作为实验材料,采用溶液培养法,研究在有镁、低镁及无镁条件下 6-BA 对两优培九生理生化反应的影响,旨在探讨 6-BA 对植物缺镁的缓解效应,为改善由于缺镁而造成的营养缺乏症提供一定的理论参考。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

由江苏省农科院提供。

1.2 培养方法

选取健壮饱满的种子,浮洗,用 0.1% HgCl_2 溶液消毒 15 min。充分漂洗后于 28 °C 浸种 36 h,然后 30 °C 暗中催芽 48 h。待露白后,挑选长势良好的种子播种于盛有蛭石的白磁盘中,光照培养箱培养。培养条件:28 °C/22 °C(昼/夜),2 000 lx 光照 12 h/d。培养过程中,每 2 d 更换一次木村 B 培养液。待幼苗长至一叶一心期时,分别用正常供镁(1 mmol/L,介于木村 B 培养液和 Hoagland 之间)、低镁(0.5、0.25 mmol/L)、无镁(0 mmol/L)。低镁、无镁各设两组,一组隔天喷施 1×10^{-5} mol/L(预实验结果)的 6-BA(添加少量的 Flucka 吐温-80)。待幼苗长至三叶一心期时,取第三叶测定各项生理指标。

1.3 实验方法

叶绿素含量的测定:按 Arnon(1949)方法并加以改进。

SOD、POD、CAT 酶液的制备:取材于预冷的研钵中,加入 pH7.8 磷酸缓冲液(50 mmol/L),冰浴中研磨成匀浆,10 000 rpm 低温离心 30 min。上清液即为所需酶液。

SOD 活性的测定:化学比色法,按从南京建成生物工程研究所所购买的试剂盒的顺序测定。(单位:NU/g·FW)以 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个亚硝酸盐单位。

CAT 活性的测定:薄膜氧电极法(张志良,1990)。

POD 活性的测定:愈创木酚法(张志良,1990)。

叶硝酸还原酶的活性:参照陈薇等(1980)方法。

可溶性蛋白含量的测定:Bradford(1976)法。

细胞膜透性的测定:紫外吸收法(谢田等,1986)。

2 结果与讨论

2.1 6-BA 缓解缺镁胁迫对叶绿素含量的影响

由图 1 可以看出,随着缺镁胁迫的加剧,叶绿素的含量呈现下降趋势,在完全缺镁的条件下叶绿素的含量仅为正常供镁叶绿素含量的 56.3%,叶片严重失绿。喷施外源 6-BA 可提高缺镁胁迫下叶绿素的含量,为对照的 72.3%,使得叶色褪绿的症状得到减轻,这与王三根等(1996)的研究结果相一致。叶绿素是植物进行光合作用的主要色素,严重玲等(1995)认为叶绿素含量的减少是衡量叶片衰老的重要指标。缺镁之所以会引起叶绿素含量下降,主要是由于镁是叶绿素的重要组成部分,是叶绿体正常结构所必需的(Huber 和 Maury,1980)。近来的研究(Marschner 和 Cakmak,1989;Cakmak,1994;Cakmak 等,1994)认为缺镁胁迫下的活性氧伤害也是叶绿素含量降低和叶片失绿黄化的原因。叶片喷施 6-BA 能够相应缓解缺镁胁迫下叶绿素含量下降的趋势,是由于 6-BA 具有维持叶绿体结构稳定,抑制叶绿素降解过程中酶的活性,从而延缓了叶绿素的降解(王三根,2000)。

2.2 6-BA 缓解缺镁胁迫对 SOD、POD、CAT 活性的影响

SOD、POD、CAT 活性随着缺镁胁迫的加剧皆呈现先上升后下降的趋势(图 2、3、4),只是各种酶活性变化的幅度各不相同,为 $\text{POD} > \text{SOD} > \text{CAT}$ 。在完全缺镁胁迫的条件下 SOD、POD、CAT 的酶活性各为正常供镁的 134.6%、160.6% 和 121.2%。6-BA 可以提高 SOD、POD、CAT 的酶活性,SOD 和 POD 的变化趋势大致相同,而 CAT 的酶活性变化则有些波动:Mg 浓度为 0.25 mmol/L 时,喷施 6-BA 的酶活性比同浓度条件下的酶活性稍有下降,这可能与 CAT 本身的酶特性有关。SOD、POD、CAT 是植物抗氧化系统中的重要酶,它们在活性氧的清除、抑制膜脂过氧化等植物抗性生理方面发挥作用。本实验中缺镁胁迫下引起 SOD、POD、CAT 活性皆呈现先上升后下降的趋势。在 0.5 mmol/L 镁浓度时 SOD、POD、CAT 这些酶活性增加,机体内抗氧化系统被诱导而加强生理活性,参与清除自由基,是水稻对缺镁胁迫逆境的响应,能加速对活性氧的清除,有效地阻止它在植物体内的过多积累,从而减轻了膜脂过氧化程度,保护了膜系统。另一方

面,在完全缺镁胁迫时 SOD、POD、CAT 活性下降,说明酶系统受到破坏,植物对自由基和过氧化物的防御能力减弱。叶片喷施外源 6-BA 能在一定程度上加强 SOD、POD、CAT 的活性,进一步说明了 6-

BA 可直接间接地清除自由基,减少膜脂的过氧化作用(Leshem 等,1981)。推测 6-BA 可能是通过增加抗氧化酶量和加强抗氧化酶自身活性来提高 SOD、POD、CAT 活性。

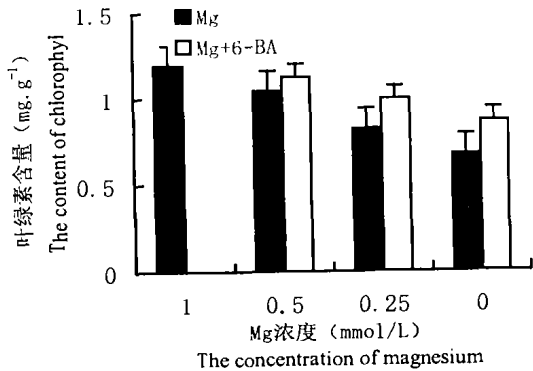


图 1 6-BA 缓解缺镁胁迫对叶绿素含量的影响
Fig. 1 Mitigative effect of exogenous 6-BA on content of chlorophyll under the stress of magnesium deficiency

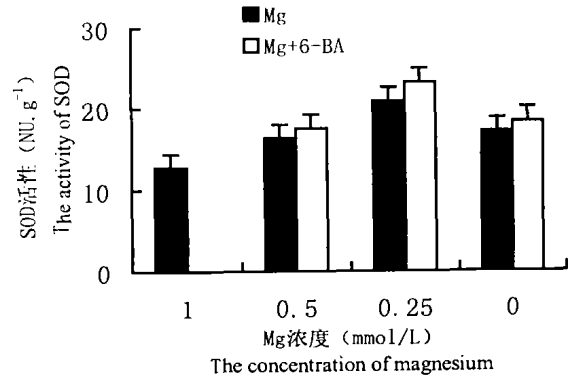


图 2 6-BA 缓解缺镁胁迫对 SOD 活性的影响
Fig. 2 Mitigative effect of exogenous 6-BA on the activity of SOD under the stress of magnesium deficiency

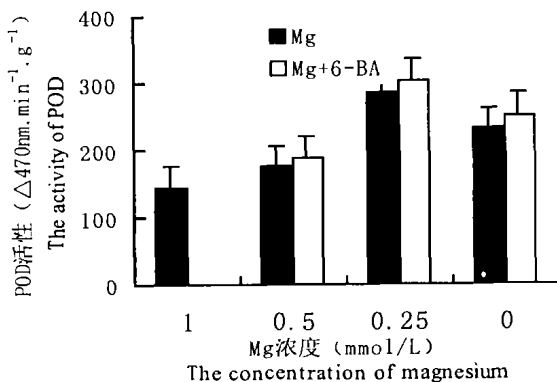


图 3 6-BA 缓解缺镁胁迫对 POD 活性的影响
Fig. 3 Mitigative effect of exogenous 6-BA on the activity of POD under the stress of magnesium deficiency

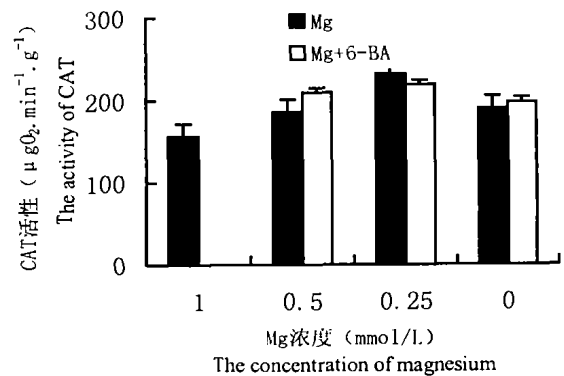


图 4 6-BA 缓解缺镁胁迫对 CAT 活性的影响
Fig. 4 Mitigative effect of exogenous 6-BA on the activity of CAT under the stress of magnesium deficiency

2.3 6-BA 缓解缺镁胁迫对 NR 活性的影响

NR 活性随着培养液中镁浓度减少呈现上升趋势,喷施 6-BA 可以降低 NR 的活性(图 5)。NR 是植物氮代谢中的限速酶,可直接调节 NO₃⁻ 的还原,从而调节氮代谢。缺镁胁迫引起 NR 活性的上升,这可能是缺镁胁迫导致了氮代谢的紊乱,使得 NR 活性变化的失调,这与 Riens 等(1992)和朱祝军(1993)的报道相一致。喷施外源 6-BA 可以降低 NR 的活性,这与 Downes 等(1998)的结果不完全相同,可能是由于 6-BA 使得缺镁胁迫造成的氮代

谢紊乱的情况得以部分缓解,从而使 NR 活性的变化趋于正常。

2.4 6-BA 缓解缺镁胁迫对可溶性蛋白含量的影响

缺镁胁迫可显著地降低可溶性蛋白的含量,在完全缺镁的条件下可溶性蛋白的含量仅为正常供镁的 52.7%(图 6)。在 RNA 的生物合成中,DNA 指导的 RNA 聚合酶催化反应需要镁(沈同等,1991)。所以可溶性蛋白含量降低的原因可能是由于缺镁胁迫影响了体内蛋白质的合成。而喷施 6-BA 延缓水稻叶片可溶性蛋白的降解,可能是由于 6-BA 可以

促进蛋白质的生物合成。

2.5 6-BA 缓解缺镁胁迫对细胞膜透性活性的影响

由图 7 可以看出:两优培九的细胞膜透性随着缺镁胁迫的加剧而升高,喷施外源 6-BA 可以降低相应的细胞膜透性。植物的细胞膜透性的变化可反映环境胁迫对植物的伤害程度(金明红等,2000)。

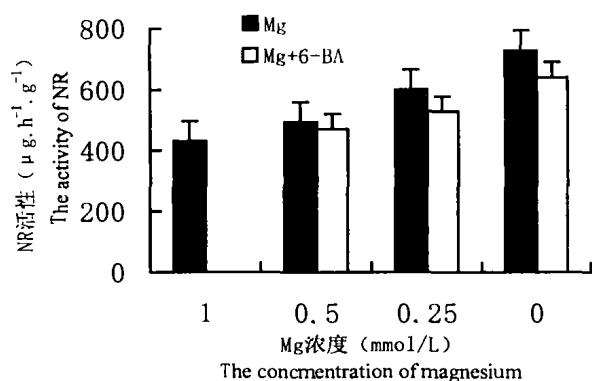


图 5 6-BA 缓解缺镁胁迫对 NR 活性的影响
Fig. 5 Mitigative effect of exogenous 6-BA on the activity of NR under the stress of magnesium deficiency

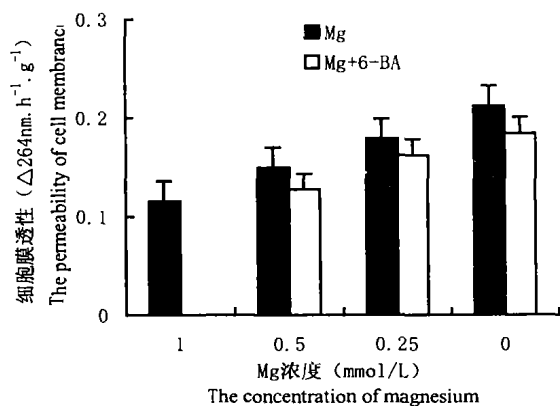


图 7 6-BA 缓解缺镁胁迫对细胞膜透性的影响
Fig. 7 Mitigative effect of exogenous 6-BA on the cell membrane permeability under the stress of magnesium deficiency

3 结 论

由此可以看出,缺镁胁迫会对植物代谢造成一定程度的破坏,而喷施 6-BA 可在一定程度上缓解缺镁胁迫对植物造成的伤害,因此可改善缺镁造成的植物营养缺乏症。

李元等(1992)认为细胞膜透性的增大是由膜损伤引起的。本实验用紫外吸收物质的泄露率来表示细胞膜透性的大小。结果表明,两优培九的细胞膜透性随着缺镁胁迫的加剧而升高,二者具有一定的相关性。6-BA 降低相应的细胞膜透性,是由于 6-BA 可以在一定程度上保护细胞膜(王三根,2000)。

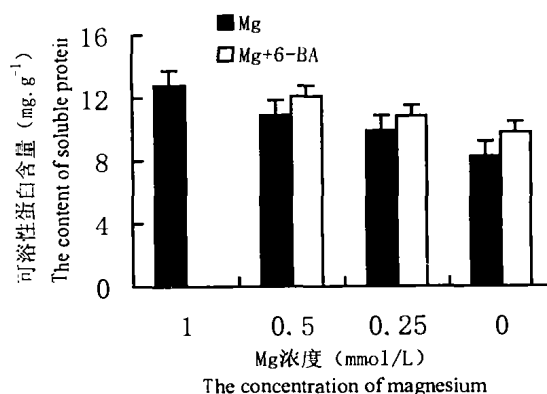


图 6 6-BA 缓解缺镁胁迫对可溶性蛋白含量的影响
Fig. 6 Mitigative effect of exogenous 6-BA on the content of soluble protein under the stress of magnesium deficiency

参 考 文 献:

- 沈 同,王镜岩. 1991. 生物化学(下册)(第二版)[M]. 北京:高等教育出版社, 358.
- 张志良. 1990. 植物生理学实验指导(第二版)[M]. 北京:高等教育出版社, 154—157.
- 陈 薇,张得颐. 1980. 植物组织中硝酸还原酶的提取、测定和纯化[J]. 植物生理学通讯, (4): 45—49.
- Arnon DL. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Bete bulgaris*[J]. *Plant Physical*, (24): 1—15.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Anal Biochem*, 72: 248—254.
- Cakmak I. 1994. Activity of ascorbate-dependent H₂O₂-scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium and potassium deficient leaves, but not in phosphorus-deficient leaves[J]. *Journal of Experimental Botany*, 45(278): 1 259—1 270.
- Cakmak I. Hengeler C. Marschner H. 1994. Partitioning of shoot and root dry matter and carbohydrates in bean plants suffering from phosphorus, potassium and magnesium deficiency[J]. *Journal of Experimental Botany*, 45 (278): 1 245—1 250.

- Downes BP, Crowell DN. 1998. Cytokinin regulates the expression of a soybean β -expansion gene by a post-transcriptional mechanism[J]. *Plant Mbl Biol*, **37**: 437—444.
- Huber SC, Maury W. 1980. Effects of Magnesium on intact Chloroplasts[J]. *Plant Physiol*, **65**: 350—354.
- Jin MH(金明红)、Feng ZW(冯宗炜)、Zhan FZ(张福珠). 2000. Effects of Ozone on Membrane Lipid Peroxidation and Antioxidant System of Rice Leaves(臭氧对水稻叶片膜脂过氧化和抗氧化系统的影响)[J]. *Environmental Science(环境科学)*, **20**(3): 1—5.
- Leshem YY, Wurzbarger J, Grossman S. 1981. Cytokinin interaction with free radical metabolism and senescence[J]. *Plant Physiol*, **53**: 9—12.
- Li Y(李元)、Wang HX(王焕校)、Wu YS(吴玉树). 1992. Effect of Cadmium and Iron on the some Physiological Indicators in Leaves of Tobacco(Cd、Fe 及其复合污染对烟草叶片几项生理指标的影响)[J]. *Acta Ecologica Sinica(生态学报)*, **12**(2): 147—154.
- Li Y(李延)、Liu XH(刘星辉)、Zhuang WM(庄卫民). 2000. Advances in Magnesium Nutritional Physiology in Plants(植物镁素营养生理的研究进展)[J]. *Journal of Fujian Agricultural University(福建农业大学学报)*, **29**(1): 74—80.
- Marschner H, Cakmak I. 1989. High light intensity enhances chlorosis and necrosis in leaves of zinc, potassium and magnesium deficient bean (*Phaseolus vulgaris*) plants [J]. *Plant Physiol*, **134**: 308—315.
- Reins B, Held THW. 1992. Decrease of nitrate activity in spinach leaves during light-dark transition [J]. *Plant Physiol*, **98**: 573—577.
- Wang SG(王三根). 2000. Roles of Cytokinin on Stress-Resistance and Delaying Senescence in Plant(细胞分裂素在植物抗逆和延衰中的作用)[J]. *Chinese Bulletin Of Botany(植物学通报)*, **17**(2): 121—126.
- Wang SG(王三根)、He LR(何立人)、Li ZW(李正玮). 1996. A Comparative Study on the Resistance of Barley and Wheat to Waterlogging(淹水对大麦与小麥若干生理生化特性影响的比较研究)[J]. *Acta Agronomica Sinica(作物学报)*, **22**(2): 228—232.
- Xie T(谢田)、Xu ZJ(徐中际). 1986. Ultraviolet Absorption Method for Determination of Cell Membrane Permeability (测定细胞膜透性的紫外吸收法)[J]. *Plant Physiology Communications(植物生理学通讯)*, **26**(1): 45—46.
- Yan ZL(严重玲)、Li RZ(李瑞智)、Zhong ZC(钟章成). 1995. Effect of Simulated Acid Rain on Ecophysiological Characteristics of Mung Bean and Malze(模拟酸雨对绿豆、玉米生理生态特性的影响)[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology(应用生态学报)*, **6**(增刊): 124—131.
- Zhu ZJ(朱祝军). 1993. Effect of N, P, K treatments on the Cumulation of Nitrate and the Activities of Nitrate Reductase And Glutamine Synthetase in Chinese Cabbage(氮磷钾对白菜硝酸盐积累和硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶活性的影响)[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural University(浙江农业大学学报)*, **19**(2): 208—212.

(上接第 381 页 Continue from page 381)

- 盐及维生素 C 含量的研究[J]. *植物学通报*, **11**(增刊): 42.
- 邱贺媛. 1998. 四种野菜硝酸盐、亚硝酸盐及维生素 C 的含量[J]. *植物资源与环境*, **7**(3): 63—64.
- 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 1990. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 120—122.
- 刘祖棋, 张石城. 1994. 植物抗性生理学[M]. 南京: 中国农业出版社, 222—224, 370—371.
- 张志良. 1990. 植物生理学实验指导(第二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 172—175.
- 陈振德, 程炳嵩. 1988. 蔬菜中的硝酸盐及其与人类健康[J]. *中国蔬菜*, **27**(1): 40—42.
- 宁正祥, 赵谋明, 祁荣泽. 1992. 新鲜果蔬保健作用的探讨[J]. *营养学报*, **14**(3): 260—265.
- 王志文, 尹富玲. 1997. Vc 帮助免疫系统抵抗疾病[J]. *生物学杂志*, **14**(75): 46.
- 张有林, 张宝善, 陈锦屏. 1999. 苦菜沙棘复合饮料的研制[J]. *食品工业科技*, **20**(3): 40—42.
- 郑集. 1996. 元素与生命[J]. *生命科学*, **8**(3): 28—31.
- 中华本草编委会. 中华本草(七)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 880.