

# 水分胁迫对马铃薯试管苗抗氧化酶活性的影响

李建武<sup>1</sup>, 王 蒂<sup>2,3</sup>

(1. 甘肃省农业科学院 马铃薯研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室  
甘肃农业大学, 甘肃 兰州 730070; 3. 甘肃农业大学 农学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘 要:** 采用聚乙二醇(Polyethylene Glycol-6000)(PEG-6000)模拟根际水分胁迫法, 对马铃薯试管苗进行了水分胁迫处理, 选用了陇薯 3 号和大西洋 2 个品种, 设对照(0% PEG)和处理(10% PEG)2 个水平, 对 MDA 含量和消除活性氧代谢的保护酶(CAT、POD 和 SOD)的活性进行了动态变化规律研究。结果表明: 经水分胁迫后, 马铃薯试管苗叶片 MDA 含量、CAT、POD 和 SOD 活性上升; 再经过一定时间的水分胁迫后, 陇薯 3 号和大西洋叶片 MDA 含量、CAT、POD 和 SOD 活性分别达到不同峰值, 随后各品种活性氧清除酶类 SOD、POD 和 CAT 活性及 MDA 含量开始下降; 当解除水分胁迫后, CAT、POD、SOD 活性开始上升, MDA 含量降低, 试验中 2 个马铃薯品种对水分胁迫敏感程度存在差异。

**关键词:** 水分胁迫; 马铃薯; SOD; POD; CAT; MDA

**中图分类号:** S 532.035.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)01-0007-03

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是重要的粮食、蔬菜及经济作物, 栽培范围遍布全球, 由于它自身的优势, 使其播种面积不断扩大。近年来我国马铃薯的种植面积得到迅速发展。2004 年我国马铃薯种植面积占全球种植面积的 20%以上<sup>[1]</sup>。然而干旱严重影响着马铃薯生产, 为此国内学者进行了大量研究。试验利用 PEG-6000 模拟根际水分胁迫方法, 研究了水分胁迫对马铃薯试管苗叶片活性氧代谢的影响, 为进一步研究马铃薯抗旱机理、综合评价马铃薯抗旱能力及筛选抗旱马铃薯品种提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验选用陇薯 3 号和大西洋(Atlantic)2 个马铃薯品种的脱毒试管苗, 采用 MS 固体培养基, 在 25~30℃、2 000~3 000 lx 光照强度条件下培养。每 20 d 继代培养 1 次。

### 1.2 培养方法与处理

1.2.1 多层滤纸床静止培养 培养方法同李建武等<sup>[2]</sup>, 在 25~30℃、2 000~3 000 lx 条件下培养。

1.2.2 水分胁迫处理 培养 18 d 后, 待马铃薯试管苗长出大量根系。在超净工作台内, 将剩余的 MS 培养液倒掉, 加入 30 mL 含 10% PEG-6000 的 MS 培养液进行根际处理, 对照加入 30 mL 不含 PEG-6000 的 MS 培养液。

液。分别在第 2、4、6、8 天采样, 第 8 天采样后, 在超净工作台上倒去 PEG-6000 处理液, 解除水分胁迫, 再加入 30 mL 不含 PEG-6000 的 MS 培养液, 复水后 2 d 即第 10 天采样, 整个过程在无菌条件下进行, 3 次重复。

### 1.3 测定方法

剪取试管苗叶片及顶部嫩茎, 用去离子水冲洗 3 遍, 再用干净吸水纸吸干, 称样 100 mg。

丙二醛(MDA)含量的测定参考赵世杰等<sup>[3-4]</sup>方法, 过氧化氢酶(CAT)活性采用 KMnO<sub>4</sub>滴定法<sup>[4]</sup>测定, 其活性以 1 g 鲜样 1 min 内分解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的毫克数表示; 过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法<sup>[5-6]</sup>测定, 以 1 g 鲜样中所含 POD 在 1 min 内氧化愈创木酚的微克分子数表示; 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 NBT 光还原法<sup>[4]</sup>, 以每单位时间内光还原 50%的氮蓝四唑(NBT)为 1 个酶活性单位。

## 2 结果与分析

### 2.1 水分胁迫对马铃薯叶片内 MDA 含量的影响

MDA 是膜脂过氧化作用的最终产物之一, 从图 1 可看出, 随着时间的延长, 在 PEG 模拟水分胁迫条件下马铃薯叶片细胞内 MDA 含量先上升后下降, 复水后, MDA 含量降低, 这与马铃薯试管苗生长培养液水势的增大有关。正常培养条件下, 大西洋和陇薯 3 号 MDA 含量变化平缓, 在复水后均降低。在正常和水分胁迫条件下大西洋叶片内 MDA 含量水平均高于陇薯 3 号, 这可能与抗旱能力差异有关。水分胁迫后大西洋 MDA 含量的最大变化幅度为 100%, 远远高于陇薯 3 号的 60%。马铃薯叶片 MDA 含量水平与变化在一定程度上

第一作者简介: 李建武(1978-), 男, 甘肃陇西人, 硕士, 从事马铃薯育种与栽培研究。E-mail: ljw0931@163.com.  
收稿日期: 2007-08-18

反映了 2 个品种对水分胁迫的敏感程度存在差异。

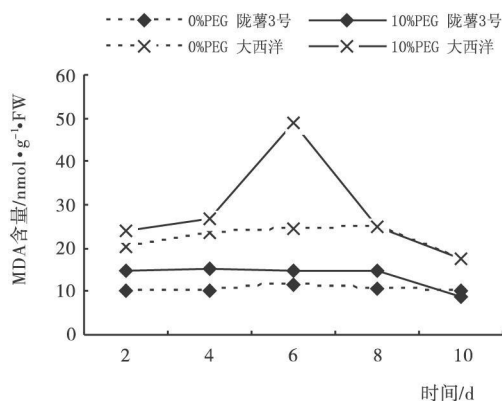


图1 水分胁迫对马铃薯 MDA 含量的影响

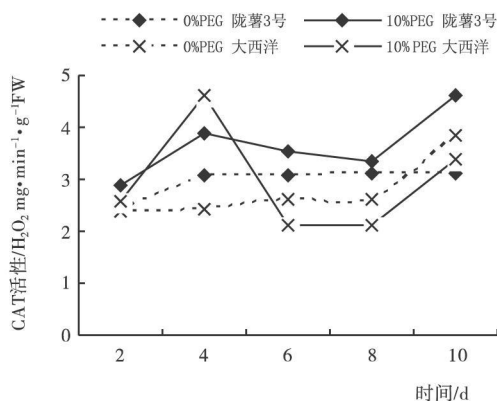


图2 在水分胁迫下马铃薯 CAT 活性的变化

## 2.2 CAT 活性的变化

CAT 是细胞内抗氧化防御酶之一。从图 2 可以看出,在水分胁迫过程中, CAT 活性开始增大,在第 4 天出现峰值后减小,复水后,其活性再次增大。大西洋和陇薯 3 号的 CAT 活性峰值分别比对照增大 89%、27%,但

在第 6 天开始大西洋 CAT 活性水平开始低于对照。在整个水分胁迫过程中陇薯 3 号 CAT 活性变化平缓,在正常和逆境中始终保持较高的 CAT 活性水平。说明在正常或水分胁迫逆境条件下,陇薯 3 号消除细胞内活性氧的能力较强。

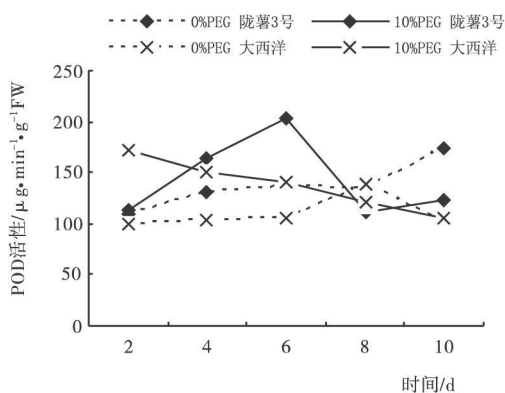


图3 在水分胁迫下马铃薯叶片 POD 活性的变化

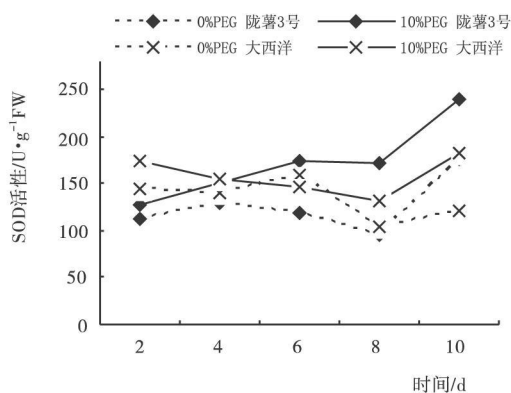


图4 在水分胁迫下马铃薯叶片 SOD 活性的变化

## 2.3 POD 活性的变化

同 CAT 一样, POD 也是一种活性氧自由基清除剂,减轻细胞遭受膜脂过氧化作用引起的伤害。由图 3 可以看出,随着水分胁迫进行,马铃薯叶片 POD 活性出现不同程度的上升趋势,并先后出现峰值(大西洋在第 2 天、陇薯 3 号在第 6 天),经长时间的水分胁迫后叶片 POD 活性下降,复水后,陇薯 3 号开始升高,而大西洋叶片 POD 活性继续降低,可能与大西洋在严重水分胁迫后植株体受到较严重的伤害有关。在正常或水分胁迫条件下陇薯 3 号 POD 活性水平高于大西洋,说明陇薯 3 号更易于消除活性氧对植株体的伤害。

## 2.4 SOD 活性的变化

SOD 是植物体内保护氧自由基对细胞膜系统伤害

的保护性金属酶类之一。由图 4 可以看出,经水分胁迫后马铃薯叶片 SOD 活性增大,随水分胁迫强度的加大,植株体受到的伤害程度加深, SOD 活性开始降低,当解除水分胁迫后, SOD 活性均出现增大趋势。在水分胁迫过程中,大西洋 SOD 活性峰值出现在第 2 天,比陇薯 3 号提前 2 d,说明大西洋更易受到水分胁迫的影响,大西洋 SOD 活性在出现峰值以后持续降低说明水分胁迫严重的损伤了植株体内自我调节机制。

## 3 讨论

MDA 是膜脂过氧化作用的产物之一,其含量的高低代表膜脂过氧化的程度,即 MDA 含量越高,膜脂过氧化程度越严重,膜透性越大<sup>[7]</sup>。从试验结果看出, MDA 含量随水分胁迫的加剧而上升,马铃薯对水分胁迫的适

应存在有自我调节能力,过度的水分亏缺则引起活性氧产生与清除平衡系统的失调,所以当其上升到一定程度时(大西洋在水分胁迫第2天出现峰值),超过其自身调节能力范围,出现下降,解除水分胁迫后,植物细胞活性氧保护系统在一定程度得以修复。

在植物细胞正常代谢过程中,活性氧可由多种途径产生,如叶绿体、线粒体和质膜上的电子传递产生了一个不可避免的结果:即电子传递至分子氧上,随之产生活跃的、具有毒性的活性氧。生物和非生物的胁迫都可使活性氧的水平上升<sup>[1]</sup>。SOD、CAT 和 POD 3 种酶是细胞抵御活性氧伤害的重要保护性酶。它们在清除 O<sup>2-</sup>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和过氧化物,阻止或减少羟基自由基形成,从而保持膜系统免受损伤方面起着重要作用, Van Der Mescht 等<sup>[8]</sup>研究了 12 个马铃薯品种在干旱条件下 Cu/Zn SOD、谷胱甘肽还原酶、抗坏血酸过氧化物酶的变化,得出 Cu/Zn SOD 对干旱耐受可能更重要。Carlos 等<sup>[9]</sup>发现,在植物光合组织中 SOD 在清除叶绿体中自由基时起重要作用。试验结果表明,水分胁迫明显地影响马铃薯试管苗叶片活性氧的产生与活性氧清除系统(即细胞保护系统)之间的动态平衡,伴随着水分胁迫,叶片 SOD、POD、CAT 活性上升,这是马铃薯试管苗适应水分胁迫的一种应激保护反应;而当水分胁迫强度加大时,其活性下降是因为在高度的水分亏缺环境下,植物严重脱水,SOD、POD、CAT 受到破坏而降低其活性,有机体内活性氧的产生与消除平衡系统遭到破坏;水分胁迫解除后,陇薯 3 号 SOD、CAT、POD 活性上升,说明已破坏的活性氧产生与消除平衡系统在一定程度上得以修复,与崔秀敏等<sup>[10]</sup>结果一致,而大西洋 POD 活性则在复水后持续下降,可能是活性氧产生与消除平衡系统遭受破

坏,在一定程度上难以修复。

在水分胁迫下,马铃薯试管苗叶片活性氧清除保护酶活性与 MDA 含量的变化能否作为在马铃薯组织培养脱毒快繁过程中筛选抗旱品系或品种的重要指标,还需进一步研究。需要指出的是,根据有关文献报道用 PEG-6000 模拟水分胁迫时,常用 1/2 Hogland 培养液,试验根据马铃薯试管苗常用的 MS 培养基而采用 MS 培养液,还需进一步研究 MS 培养液对水势的影响。

参考文献

[1] 范敏,金黎平,刘庆昌.等.马铃薯抗旱机理及其相关研究进展[J].中国马铃薯,2006 20(2): 101-107.  
[2] 李建武,王蒂,司怀军.等.马铃薯试管苗对水分胁迫的生理反应[J].甘肃农业大学学报,2005,40(3): 319-323.  
[3] 赵世杰,许长成,邹琦.等.植物组织中丙二醛测定方法的改进[J].植物生理学通讯,1994,30(3): 207-210.  
[4] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000.  
[5] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000: 164-165.  
[6] 波钦诺 X H.植物生物化学分析方法(邢家海,丁钟荣译)[M].北京:科学出版社,1981: 197-201.  
[7] 王启明,徐心诚,马原松.等.干旱胁迫下大豆开花期的生理生化变化与抗旱性的关系[J].干旱地区农业研究,2005,23(4): 98-101.  
[8] 崔秀敏,王秀峰,许衡.甜椒对不同程度水分胁迫、复水的生理生化响应[J].中国农学通报,2005 21(5): 225-229.  
[9] Van Der Mescht A, De Ronde J A, y Rossouw F T. Cu-Zn superoxide dismutase, glutathione reductase, and ascorbate peroxidase levels, during drought stress in potato[J]. South African Journal of Science, 1998, 496-500.  
[10] Carlos A, Martinez Marcelo E, et al. Differential responses of superoxide dismutase in freezing resistant Solanum curtilobum and freezing sensitive Solanum tuberosum subjected to oxidative and water stress [J]. Plant Science, 2001, 160: 505-515.

The Effect of Water Stress on the Activity of Antioxidant Ezymes of *Solanum tuberosum* L.

LI Jian-wu<sup>1</sup>, WANG Di<sup>2,3</sup>

(1. Potato Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Science, Lanzhou Gansu, 730070, China; 2. Gansu Key Laboratory of Crop Genetic and Germplasm Enhancement, Gansu Agriculture University, Lanzhou, Gansu 730070, China; 3. College of Agronomy, Gansu Agriculture University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

**Abstract:** Under water stress by polyethylene glycol-6000 (PEG-6000), the changes of MDA content and activity of antioxidant enzymes (CAT, POD and SOD) was analyzed by control (0% PEG) and treatment (10% PEG) on Longshu No.3 and Atlantic of the *solanum tuberosum* L. tissue-cultured seedling. The results showed that, the activities of SOD, POD, CAT and MDA content of potato increased during the prophase of water stress; they attain peak value separately after certain extent time, subsequently MDA content and activity of antioxidant enzymes such as CAT, POD, SOD began to declined; after water stress had been released, the activities of CAT, POD, and SOD ascended again, but MDA content declined. The two cultivars expressed different sensitivity to water stress during the whole process of stress.

**Key words:** Water stress; *Solanum tuberosum* L; SOD; POD; CAT; MDA