外源亚精胺对根际低氧胁迫下黄瓜幼苗根系多胺含量和抗氧化酶活性的影响

李璟¹ 胡晓辉¹ 郭世荣^{1*} 王素平¹ 王鸣华²

(1 南京农业大学园艺学院, 南京 210095) (2 南京农业大学植保学院, 南京 210095)

摘要 采用营养液水培,研究了根际低氧胁迫下外源亚精胺对两个抗低氧能力不同的黄瓜(*Cucumis sativus*)品种(‘中农8号’和‘绿霸春4号’)根系中多胺含量和超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性的影响。结果表明,外源亚精胺能显著提高低氧胁迫下黄瓜幼苗根系中亚精胺和精胺含量,降低腐胺含量,同时,根系中SOD、POD、CAT活性也相应提高,使得幼苗鲜重和干重明显增加;单纯低氧处理及外源亚精胺的加入,抗低氧能力较强的品种‘绿霸春4号’较抗低氧能力较弱的品种‘中农8号’根系中抗氧化酶活性高。黄瓜幼苗根系中较高的亚精胺、精胺含量和较低的腐胺含量可能有利于提高抗氧化酶活性,增强幼苗的低氧逆境适应能力。

关键词 多胺 抗氧化酶 低氧胁迫 黄瓜

EFFECT OF EXOGENOUS SPERMIDINE ON POLYAMINE CONTENT AND ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES IN ROOTS OF CUCUMBER SEEDLINGS UNDER ROOT-ZONE HYPOXIA STRESS

LI Jing¹ HU Xiao-Hui¹ GUO Shi-Rong^{1*} WANG Su-Ping¹ and WANG Ming-Hua²

(1 Department of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(2 Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract Polyamines (PAs) have long been recognized to be linked with growth, differentiation, plant senescence and defense reactions of plants to various environmental stresses. However, little is known about their physiological relevance in plants subjected to hypoxia stress. In the present experiment, the effects of exogenous spermidine on polyamine content and antioxidant enzyme activities in seedlings of two cucumber cultivars (*Cucumis sativus* cv. Zhongnong No.8 and cv. Lübachun No.4) with different resistances to hypoxia stress were investigated. The results showed that under hypoxia treatment, the contents of putrescine (Put), spermidine (Spd), and spermine (Spm) in roots of seedlings of two cucumber cultivars increased significantly in the early period of treatment and then decreased in the later period. Over the entire treatment period, concentrations of PAs were significantly higher than those in the control. Activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) over the treatment period followed the same pattern as PAs. The fresh weight and dry weight of the two cucumber cultivar seedlings were significantly lower than the controls. Exogenous Spd treatment increased the contents of Spd and Spm in roots while decreased the Put content when compared to the hypoxia treatment, enhanced the activities of the antioxidant enzymes, and the fresh and dry weight of seedlings were similar to the controls. Under the same treatment, the activities of the antioxidant enzymes in the roots of the hypoxia-resistant cultivar (cv. Lübachun No.4) were higher than in the hypoxia-sensitive cultivar (cv. Zhongnong No.8). These results indicated that exogenous Spd can change the contents of PAs in the roots of both cucumber cultivars under hypoxia stress, and higher levels of Spd and Spm in roots can enhance both the activities of antioxidant enzymes and the growth of cucumber cultivar seedlings.

Key words Polyamines, Antioxidant enzyme, Hypoxia stress, Cucumber (*Cucumis sativus*)

植物在生长发育过程中产生的活性氧($O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 等)一般被认为是一类对植物有害的物质。超氧化物歧化酶(SOD)是 $O_2^{\cdot-}$ 的一种主要的清

除剂,它可将 $O_2^{\cdot-}$ 歧化为 H_2O_2 和 O_2 ,而过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等 H_2O_2 清除酶类对 H_2O_2 的清除起重要作用(任红旭等,2001)。因此,植物体

内抗氧化酶类和活性氧之间的平衡,对植物的正常生长发育至关重要。低氧逆境使细胞内正常的电子传递链被阻断,造成 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 等活性氧含量增加,引起细胞结构和功能的破坏,影响地上部正常发育而出现种种生理障碍(van Toai & Bolles, 1991)。多胺(Polyamines, PAs)是生物代谢过程中产生的一类具有生物活性的低分子量脂肪族含氮碱,主要包括腐胺(Put)、亚精胺(Spd)和精胺(Spm)。研究表明,多胺广泛作用于植物生长、形态建成、衰老和对环境胁迫的反应,在多种逆境条件下,植物体内多胺含量迅速发生变化(Bouchereau *et al.*, 1999)。目前,对低氧胁迫下植物体内多胺代谢变化和其相关的作用机理还了解不多。本实验以对低氧敏感性不同的两个黄瓜品种为材料,通过对低氧胁迫下水培黄瓜幼苗施用外源亚精胺,检测其根系中抗氧化酶活性和多胺含量的变化,探讨多胺在黄瓜根际低氧胁迫下的生理作用。

1 材料和方法

1.1 材料及处理

试验于 2004 年 9~11 月在南京农业大学玻璃温室内进行。以筛选出的抗低氧能力较强的黄瓜‘绿霸春 4 号’(*Cucumis sativus* cv. Lübachun No.4)和抗低氧能力较弱的黄瓜‘中农 8 号’(*Cucumis sativus* cv. Zhongnong No.8)(马月花和郭世荣, 2004)为试材。当幼苗第二片真叶展平时定植于装有 1 倍 Hoagland 营养液的水槽中,营养液 pH 值调至(6.3 ± 0.1)。预培养 2 d 后,各分成 3 部分进行处理,第一部分为对照(CK),进行正常通气栽培,用气泵维持营养液溶氧浓度(DO)为 6~8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;第二部分为低氧处理,用溶氧调节仪(昆腾,美国生产)控制营养液 DO 值保持为(1.0 ± 0.1) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;第三部分为低

氧 + Spd 处理,在控制营养液 DO 值为(1.0 ± 0.1) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的同时,向营养液中加入 Spd(Sigma 公司提供),营养液 Spd 浓度为 0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。分别于处理后 0、1、3、5 和 7 d 时取根系进行各项指标的测定,每处理每次取样 3 株,试验重复 3 次。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 多胺含量的测定

在刘俊和刘友良(2004)测定方法的基础上加以改进。用 Waters515 型高压液相色谱分析仪检测。流动相为 64%的甲醇, Waters 反相 C18 柱(3.9 mm × 150 mm),检测波长 254 nm。

1.2.2 鲜重、干重的测定

仅在处理 7 d 时取整株幼苗,擦干水分后测定其鲜重,然后在 115 $^{\circ}\text{C}$ 下杀青 15 min, 80 $^{\circ}\text{C}$ 下烘干测定其干重。

1.2.3 SOD、POD、CAT 活性的测定

SOD 活性的测定参照李合生(2000)的方法,以抑制氮蓝四唑(NBT)光还原 50% 为一个酶活性单位(U); POD 活性按照曾韶西等(1997)的方法,以 OD₄₇₀ 每分钟增加 1 为 1 个酶活性单位(U); CAT 活性采用 Dhindsa 等(1981)方法测定,以 OD₂₄₀ 每分钟减少 0.1 为 1 个酶活性单位(U)。酶活性以 $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白表示。

2 结果与分析

2.1 外源 Spd 对低氧胁迫下黄瓜植株鲜重和干重的影响

表 1 表明,低氧胁迫下两品种黄瓜植株的鲜重和干重均显著低于通气对照,外源亚精胺的加入可以减轻低氧胁迫,提高低氧胁迫下黄瓜幼苗的鲜重和干重,除‘中农 8 号’鲜重外,其它指标与对照均无显著差异。

表 1 外源 Spd 对低氧胁迫下黄瓜植株鲜重和干重的影响
Table 1 Effect of exogenous Spd on fresh weight and dry weight of cucumber seedlings under hypoxia stress

处理 Treatment	鲜重 Fresh weight ($\text{g}\cdot\text{plant}^{-1}$)		干重 Dry weight($\text{g}\cdot\text{plant}^{-1}$)	
	‘中农八号’ ‘Zhongnong No.8’	‘绿霸春 4 号’ ‘Lübachun No.4’	‘中农 8 号’ ‘Zhongnong No.8’	‘绿霸春 4 号’ ‘Lübachun No.4’
对照 Control	27.34 ± 0.80 ^a	29.43 ± 0.98 ^a	1.71 ± 0.07 ^a	1.84 ± 0.03 ^a
低氧胁迫 Hypoxia stress	18.08 ± 0.92 ^c	21.47 ± 0.57 ^b	1.28 ± 0.03 ^b	1.44 ± 0.04 ^b
低氧 + Spd Hypoxia + Spd	24.73 ± 0.81 ^b	27.59 ± 0.41 ^a	1.59 ± 0.04 ^a	1.76 ± 0.04 ^a

表中各数值均为 15 次重复的平均值 ± 标准误差。同一列中相同字母表示在 $p < 0.05$ 水下差异不显著 Each number is the mean of 15 replicates with SE. Values within a column followed by the same letters show no significant difference ($p < 0.05$)

2.2 外源 Spd 对低氧胁迫下黄瓜根系多胺含量的影响

由图 1 可以看出,在低氧胁迫下,随处理时间延长,‘中农 8 号’和‘绿霸春 4 号’幼苗根系中腐胺、亚精胺、精胺含量均呈现先上升后下降的变化趋势,且在整个处理期间其含量均显著高于通气对照($p < 0.05$)。外源亚精胺能显著降低低氧胁迫下根系中腐胺含量($p < 0.05$),‘绿霸春 4 号’根系中腐胺含量的下降幅度要比‘中农 8 号’明显。低氧胁迫下外源

亚精胺的加入,使得根系中亚精胺含量在处理 1 d 后就迅速升高到最大值,除‘中农 8 号’处理后 5 d 外,其它均显著高于同期下未加亚精胺的低氧处理($p < 0.05$)。外源亚精胺的施入使根系中精胺含量在处理前期要显著高于同期下未加亚精胺的低氧处理($p < 0.05$),后期两种处理根系中精胺含量水平接近。两品种的通气对照在处理期间根系中腐胺、亚精胺、精胺含量均保持相对稳定。

图 1 根际低氧胁迫下外源亚精胺对黄瓜根系多胺含量的影响
Fig.1 Effect of exogenous Spd on PAs content of roots in cucumber seedlings under hypoxia stress

2.3 外源 Spd 对低氧胁迫下黄瓜根系抗氧化酶活性的影响

由图 2 可以看出：低氧处理下，随处理时间的延长，‘中农 8 号’和‘绿霸春 4 号’幼苗根系中 SOD、POD、CAT 活性均呈现先上升后下降的变化趋势，且在整个处理期间都显著高于通气对照 ($p < 0.05$)，而

通气对照下两个品种根系的 SOD、POD、CAT 活性变化不明显。外源亚精胺的加入使低氧胁迫下根系的 SOD、POD、CAT 活性显著高于同期下未加亚精胺的低氧处理 ($p < 0.05$)。单纯低氧处理及外源亚精胺的加入，耐低氧性较强的‘绿霸春 4 号’均比不耐低氧的‘中农 8 号’根系中 SOD、POD、CAT 活性要高。

图 2 低氧胁迫下外源亚精胺对黄瓜幼苗根系抗氧化酶活性的影响
Fig.2 Effect of exogenous Spd on antioxidant enzyme activity in roots of cucumber seedlings under hypoxia stress
图例同图 1 Legends see Fig.1

3 讨论与结论

低氧胁迫下，植物线粒体电子传递链受到阻碍，活性氧含量增加。过高的活性氧含量刺激植物体内的 SOD、POD 和 CAT 活性增加，这是植物对低氧胁迫的一种适应机制(Ushimaru *et al.*, 2001)。在营养液 DO 值为 1 mg·L⁻¹时，黄瓜仍可正常生育，属于较

耐低氧的植物(Guo & Tachibana, 1997)，因此在低氧胁迫下，黄瓜体内必然要发生一系列生理生化变化以适应低氧环境。本实验结果表明，低氧胁迫下，黄瓜幼苗根系中 SOD、POD、CAT 活性比通气对照有显著提高，且耐低氧的品种比不耐低氧的品种抗氧化酶活性要高，表明黄瓜幼苗可通过提高自身抗氧化酶活性来适应低氧胁迫。

多胺作为一种生物活性物质,被认为在生物体内信号传递中起“第二信使”的作用,与植物的生长、形态建成和对胁迫的反应密切相关。在多种胁迫条件下,多胺含量的改变可以稳定膜结构(Borrell *et al.*, 1997),调节生物大分子合成(Tiburcio *et al.*, 1993),提高抗氧化酶活性(任红旭等, 2001),清除活性氧(Tadolini, 1988),抑制乙烯合成(Lee *et al.*, 1997),对提高植物逆境下的抗性起重要作用。本实验中,低氧胁迫下,黄瓜幼苗根系中多胺含量显著上升,外源亚精胺的加入会进一步提高根系中 Spd 和 Spm 的含量,同时抗氧化酶活性也相应提高,表明低氧胁迫下,黄瓜幼苗根系多胺含量和抗氧化酶活性提高间可能存在着某种联系。分析表明,根系中(亚精胺 + 精胺)/腐胺的比值与抗氧化酶活性间有正相关性,其中在外施亚精胺处理下,这一比值与 SOD、POD、CAT 活性间的相关系数 R 值在‘中农 8 号’根系中分别为 0.583 2、0.651 8 和 0.782 8,在‘绿霸春 4 号’根系中分别为 0.972 2、0.734 7 和 0.976 1。多胺含量的增加促使体内抗氧化酶活性提高的原因可能有两方面:一方面多胺在生物体内是以多聚阳离子方式存在,可与带负电的核酸、蛋白质结合,刺激蛋白质合成的各个中间步骤,如激活一系列氨酰-tRNA 合成酶与核糖体结合,起装备核糖体和稳定亚基的作用,从而对某些蛋白质基因的表达起调控作用;另一方面,它又能与已有的抗氧化酶分子结合,影响其结构,从而调节酶活性(徐仰仓等, 2001; Tiburcio *et al.*, 1993)。

多胺的种类和相互间的转换也是影响植物抗性的重要因素(Tiburcio *et al.*, 1993)。Liu 等(2004)研究发现,在渗透胁迫下,抗性强的品种叶片中的自由态亚精胺(Free-Spd)和自由态精胺(Free-Spm)水平显著增加,而抗性弱的品种叶片中自由态腐胺(Free-Put)含量显著增加,推断高的(Free-Spd + Free-Spm)/Free-Put 比值有利于小麦抗渗透胁迫能力的提高。有人认为,胁迫下 Free-Put 的上升是对植物的一种伤害,通过 Free-Put 向 Free-Spd 和 Free-Spm 的转化,可提高植物的抗逆性(Hummel *et al.*, 2002)。由于在生物体内腐胺是亚精胺合成的前体,亚精胺则可进一步生成精胺,因此在本实验中植物吸收外源亚精胺后,体内高的亚精胺含量可对腐胺的合成产生负反馈作用,从而降低了植物体内的腐胺含量,而高的亚精胺含量又有利于精胺的生成,从而提高了体内精胺含量。亚精胺、精胺含量的提高与腐胺含量的降低,即(Free-Spd + Free-Spm)/Free-

Put 比值的上升增强了根系中抗氧化酶的活性,黄瓜幼苗生长受到明显促进,鲜重和干重等生长指标也相应增加。

总之,在低氧胁迫下,黄瓜幼苗根系中抗氧化酶活性和多胺含量之间存在着密切的关系,外源亚精胺的施用可明显提高植株体内亚精胺、精胺含量,降低腐胺含量,增加抗氧化酶活性,增强植株的耐低氧能力。

参 考 文 献

- Borrell A, Carbonell L, Farràs R, Puig-Parellad P, Tiburcio AF (1997). Polyamines inhibit lipid peroxidation in senescing oat leaves. *Physiologia Plantarum*, 99, 385 – 390.
- Bouchereau A, Aziz A, Larher F, Martin-Tanguy J (1999). Polyamines and environmental challenges: recent developments. *Plant Science*, 140, 103 – 125.
- Dhindsa RS, Plumb-Dhindsa P, Thorpe TA (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32, 93 – 101.
- Guo SR, Tachibana SJ (1997). Effect of dissolved O_2 levels in a nutrient of tomato and mineral nutrition of tomato and cucumber seedlings. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 66, 331 – 337.
- Hummel I, Couee I, ElAmrani A, Martin-Tanguy J, Hennion F (2002). Involvement of polyamines in root development at low temperature in the subantarctic cruciferous species *Pringlea anti-scorbutica*. *Journal of Experimental Botany*, 53, 1463 – 1473.
- Lee MM, Lee SH, Park KY (1997). Effects of spermine on ethylene biosynthesis in cut carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers during senescence. *Journal of Plant Physiology*, 151, 68 – 73.
- Li HS (李合生) (2000). *Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment* (植物生理生化实验原理和技术). Higher Education Press, Beijing, 167 – 169. (in Chinese)
- Liu HP, Dong BH, Zhang YY, Liu ZP, Liu YL (2004). Relationship between osmotic stress and the levels of free, conjugated and bound polyamines in leaves of wheat seedlings. *Plant Science*, 166, 1261 – 1267.
- Liu J (刘俊), Liu YL (刘友良) (2004). The relations between polyamine types and forms and polyamine oxidase activities in barley seedlings under salt stress. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* (植物生理与分子生物学学报), 30, 141 – 146. (in Chinese with English abstract)
- Ma YH (马月花), Guo SR (郭世荣) (2004). Evaluation of tolerance to root-zone hypoxia stress of different cucumber varieties. *Jiangsu Agricultural Sciences* (江苏农业科学), (5), 68 – 70. (in Chinese)

Ren HX (任红旭), Chen X (陈雄), Wang YF (王亚馥) (2001). Changes in antioxidative enzymes and polyamines in wheat seedlings with different drought resistance under drought and salt stress. *Acta Phytoecologica Sinica* (植物生态学报), 25, 709 – 715. (in Chinese with English abstract)

Tadolini B (1988). Polyamine inhibition of lipoperoxidation: the influence of polyamines on iron oxidation in the presence of compounds mimicking phospholipid polar heads. *Biochemical Journal*, 249, 33 – 36.

Tiburcio AF, Campos JL, Figueras X, Besford RT (1993). Recent advances in the understanding of polyamines functions during plant development. *Plant Growth Regulation*, 12, 331 – 340.

Ushimaru T, Kanematsu S, Katayama M (2001). Antioxidative enzymes in seedlings of *Nelumbo nucifera* germinated under water. *Physiologia Plantarum*, 112, 39 – 46.

van Toai TT, Bolles CS (1991). Postanoxic injury in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Plant Physiology*, 97, 588 – 592.

Xu YC (徐仰仓), Wang J (王静), Liu H (刘华), Wang GX (王根轩) (2001). Promoting effect of exogenous spermine on anti-oxidative enzyme activity in wheat seedlings. *Acta Phyto-physiologica Sinica* (植物生理学报), 27, 349 – 352. (in Chinese with English abstract)

Zeng SX (曾韶西), Wang YR (王以柔), Li MR (李美如) (1997). Comparison of the changes of membrane protective system in rice seedlings during enhancement of chilling resistance by different stress pretreatment. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 39, 308 – 314. (in Chinese with English abstract)

责任编辑：彭长连 责任编辑：刘丽娟