

# 低氧胁迫下钙对网纹甜瓜幼苗多胺含量及多胺氧化酶活性的影响

高洪波<sup>1</sup> 刘艳红<sup>1,2</sup> 郭世荣<sup>1\*</sup> 孙艳军<sup>1</sup>

(1 南京农业大学园艺学院, 南京 210095) (2 红河学院, 云南蒙自 661100)

**摘 要** 以低氧性敏感的网纹甜瓜 (*Cucumis melo* var. *reticulatus*) 品种‘西域一号’(Xiyu 1) 为材料, 研究了钙对低氧胁迫下幼苗生长、游离态、结合态和束缚态的腐胺(Put)、亚精胺(Spd)、精胺(Spm)含量、二胺氧化酶(DAO)和多胺氧化酶(PAO)活性、 $H_2O_2$  含量的影响。结果表明: 与通气对照相比, 低氧胁迫处理幼苗鲜重和干重显著降低, 根、叶中 3 种形态的 Put、Spd、Spm 含量显著增加, DAO 和 PAO 活性、 $H_2O_2$  含量显著提高; 营养液加钙处理不但缓解了低氧胁迫对幼苗生长的抑制作用, 而且幼苗游离态、结合态和束缚态 Put、Spd、Spm 含量显著高于单纯低氧胁迫处理, DAO 和 PAO 活性、 $H_2O_2$  含量显著低于低氧胁迫处理; 低氧胁迫下缺钙处理加重了低氧胁迫对网纹甜瓜幼苗的伤害。表明在低氧胁迫下, 钙参与了网纹甜瓜幼苗多胺的代谢过程, 对增强幼苗耐低氧性起着重要的作用。

**关键词** 钙 低氧胁迫 网纹甜瓜 多胺 多胺氧化酶  $H_2O_2$

## EFFECT OF CALCIUM ON POLYAMINE CONTENT AND POLYAMINES OXIDASE ACTIVITY IN MUSKMELON SEEDLINGS UNDER HYPOXIA STRESS

GAO Hong-Bo<sup>1</sup> LIU Yan-Hong<sup>1,2</sup> GUO Shi-Rong<sup>1\*</sup> and SUN Yan-Jun<sup>1</sup>

(1 College of Horticulture, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, China) (2 Honghe University, Mengzi, Yunnan 661100, China)

**Abstract** Calcium has been found to be a second-messenger in plants involved in the perception and regulation of responses and adaptations of plants to the environment. During this period, polyamines (PAs) accumulation, the activities of diamine oxidase (DAO) and polyamine oxidase (PAO) play an important role in increasing stress-resistance of plants. However, little is known about the effect of  $Ca^{2+}$  on polyamines metabolism of seedlings under hypoxia stress. In this experiment, muskmelon cultivar ‘Xiyu 1’ (*Cucumis melo* var. *reticulatus*) seedlings with less hypoxia-resistance under hydroponic cultivation were used to study the relationship between  $Ca^{2+}$  and PAs metabolism under hypoxia stress. When seedlings grew to 3 euphylla, the seedlings were transferred from quartz sand to Hoagland nutrient solutions for preculture. After 2 days, the seedlings were divided into four sets. The first and second sets of seedlings were all cultured in normal Hoagland nutrient solutions containing  $4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Ca}^{2+}$ . The third set of seedlings was cultured in a calcium sufficient Hoagland nutrient solution which contained  $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Ca}^{2+}$ , and the fourth set of seedlings was cultured in a calcium deficient Hoagland nutrient solution with no  $Ca^{2+}$  ( $0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Ca}^{2+}$ ). The first set of seedlings was exposed to normal dissolved oxygen (DO) level by using vigorous aeration ( $30\text{ min}\cdot\text{h}^{-1}$ ) to keep DO level at  $8 - 8.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , and seedlings in the other treatments were exposed to hypoxia stress by using DO analyzer (QUANTUM-25) to maintain DO level at  $(2 \pm 0.2)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Hence, the four treatments were control, hypoxia stress,  $Ca^{2+}$  sufficient-hypoxia stress treatment, and  $Ca^{2+}$  deficient-hypoxia stress treatment. After 4 d of hypoxia stress, the growth of seedlings, PAs content, DAO and PAO activities, and  $H_2O_2$  content were all assayed. The results showed that the fresh weight and dry weight of seedlings declined significantly after 4 d of hypoxia stress, the content of three polyamines (Put, Spd, Spm) of different forms (free, conjugated, bound), DAO and PAO activities, and  $H_2O_2$  content in roots and leaves of seedlings all increased significantly with hypoxia stress treatment compared to the control. In the calcium sufficient-hypoxia stress treatments, seedling growth under hypoxia stress was not inhibited, PAs (Put, Spd, Spm) and their three different forms in roots and leaves were significantly higher in the  $Ca^{2+}$  sufficient-hypoxia stress than in the hypoxia stress treatment, but DAO and PAO activity and  $H_2O_2$  contents were lower. In the  $Ca^{2+}$  deficient treatment, seedlings incurred the greatest damage due to hypoxia stress, and PAs metabolism indices under  $Ca^{2+}$  deficient

cy showed opposite trends as compared to seedlings in the  $\text{Ca}^{2+}$  sufficient treatment. We suggest that  $\text{Ca}^{2+}$  might be involved in the regulation of polyamines metabolism and play an important role in enhancing hypoxia tolerance in muskmelon seedlings.

**Key words** Calcium, Hypoxia stress, Muskmelon (*Cucumis melo* var. *reticulatus*), Polyamines, Polyamine oxidase,  $\text{H}_2\text{O}_2$

$\text{Ca}^{2+}$  作为植物生长所必需的大量元素和偶联胞外信号与胞内生理反应的第二信使,能维持细胞壁、细胞膜及膜蛋白的稳定性,在调节植物细胞对逆境反应和逆境适应性过程中发挥着重要的作用(Xiong *et al.*, 2002)。植物体在受到生物和非生物胁迫时,细胞质内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度显著升高,能够将外界环境胁迫信号转导到细胞内,通过调节基因表达诱导一些生理生化代谢途径改变。有关  $\text{Ca}^{2+}$  与植物对不良环境抗性的关系已受到广泛的重视。但是,与低温(Gao *et al.*, 2004)、高温(Gong *et al.*, 1998)、干旱(Sulochana *et al.*, 2002)、盐胁迫(Sukar *et al.*, 2001)等逆境条件相比,低氧胁迫下  $\text{Ca}^{2+}$  的生理功能、作用机理及其与植物低氧耐性的关系尚不清楚。

多胺(Polyamines, PAs)是生物代谢过程中产生的具有强烈生理活性的低分子量脂肪族含氮碱,植物体内主要包括腐胺(Putrescine, Put)、亚精胺(Spermidine, Spd)、精胺(Spermine, Spm)等;植物体内多胺除了以游离态存在外,还以结合态(高氯酸可溶性共价结合态)和束缚态(高氯酸不溶性结合态)形式存在(Zhao *et al.*, 2000)。DAO(Diamine oxidase)和 PAO(Polyamines oxidase)是催化植物体内 PAs 氧化的关键酶,通过调节细胞的 PAs 水平和生成物的浓度,参与植物对逆境胁迫的反应(Santa-Gruz & Bolarin, 1997)。许多研究表明,不同形态的多胺与环境胁迫有密切关系(高洪波等, 2004a; Zhao *et al.*, 2003),但不同逆境下多胺的变化有明显的差异性(任红旭等, 2001),而且外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理参与盐胁迫(Jiang *et al.*, 2000)、渗透胁迫(檀建新等, 1998)下玉米幼苗体内多胺的代谢,然而外源  $\text{Ca}^{2+}$  对低氧胁迫下植物体多胺代谢的影响尚未见报道。

本文以典型的低氧敏感植物网纹甜瓜(*Cucumis melo* var. *reticulatus*)(郭世荣, 2003)幼苗为试验材料,通过营养液加钙和缺钙处理,研究了在低氧胁迫 4 d 后幼苗生长、不同形态 Put、Spd、Spm 的含量、DAO 和 PAO 活性、 $\text{H}_2\text{O}_2$  含量的变化,以阐明  $\text{Ca}^{2+}$  增强幼苗耐低氧性与多胺代谢的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料培养及试验处理

以网纹甜瓜品种‘西域一号’为材料,种子消毒后催芽,播种于装有石英砂的 8 cm × 8 cm 营养钵中育苗,温室昼温 27 ~ 30 °C,夜温 16 ~ 18 °C,出苗后浇灌 1/2 倍 Hoagland 营养液。待幼苗达三叶一心时,选整齐一致的幼苗分成 4 组移入装有 20 L Hoagland 营养液(pH (6.3 ± 0.1), EC 2.0 ~ 2.2)的水槽中预培养(每组 30 株)。预培养 2 d 后,第一组和第二组幼苗培养在正常钙浓度的营养液中(含  $\text{Ca}^{2+}$  4 mmol·L<sup>-1</sup>),第三组幼苗在高浓度钙的营养液中培养(含  $\text{Ca}^{2+}$  10 mmol·L<sup>-1</sup>),第四组幼苗在缺钙营养液中培养(含  $\text{Ca}^{2+}$  0 mmol·L<sup>-1</sup>);第一组幼苗用气泵正常通气(30 min·h<sup>-1</sup>),维持营养液溶氧浓度(Dissolved oxygen, DO)为 8.0 ~ 8.5 mg·L<sup>-1</sup>(通气对照);剩下的 3 组幼苗均在低氧条件下培养,用溶氧浓度调节仪(美国 QUANTUM 公司产 Q25D 型)控制营养液 DO 维持在(2 ± 0.2) mg·L<sup>-1</sup>,4 个处理分别为通气对照(CK)、低氧胁迫处理(Hy)、低氧胁迫 + 10 mmol·L<sup>-1</sup>  $\text{Ca}^{2+}$  处理(Hy + Ca)、低氧胁迫 + 0 mmol·L<sup>-1</sup>  $\text{Ca}^{2+}$  处理(Hy - Ca)。低氧胁迫处理 4 d 后,每处理分别取 20 株幼苗称取其鲜重、干重,并计算其含水量;同时分别取 10 株幼苗,剪取其中部根系和生长点下第二片展开叶,测定游离态、结合态和束缚态 Put、Spd、Spm 含量,并测定多胺氧化酶活性及  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量,测定结果重复 3 次。

### 1.2 测定方法

多胺含量的测定:参照 Song 等(2002)的方法提取游离态、结合态和束缚态的腐胺、亚精胺和精胺,并加以改进。分别称取 1 g 幼苗根和叶片加入 3.2 ml 预冷的 5%(w/v)高氯酸(PCA)研磨,冰浴 1 h 后,于 14 000 × g 下离心 30 min(4 °C),等分上清液,其中一部分上清液直接甲酰化,提取游离态多胺。另一部分上清液和全部沉淀分别装入安培瓶内,加入 6 mol·L<sup>-1</sup> HCl 后封闭管口,分别在 110 °C 水解 18 h,使上清液和沉淀中的多胺转变为游离态多胺,然后溶液用铝水浴锅 70 °C 蒸干,剩余物用 5% PCA 溶解。上清液和沉淀的溶液中分别含有高氯酸可溶性多胺和高氯酸不溶性多胺。此后按游离态多胺的方法将高氯酸可溶性和高氯酸不溶性多胺甲酰化,并用甲醇溶解。取 10 μl 甲醇溶解液用 LC-10ATVP 型

高压液相色谱分析仪(日本产 SHIMADAZU)检测腐胺、亚精胺、精胺峰面积,以 64% 甲醇为流动相,层析柱为 ODS-反向 C18 柱(150 mm×4.6 mm),检测条件同文献(高洪波等, 2004a), Put、Spd、Spm 标样购自美国 Sigma 公司。结合态多胺含量等于高氯酸可溶性多胺的含量减去游离态多胺含量,束缚态多胺含量等于高氯酸不溶性多胺含量。

多胺氧化酶活性测定:参照汪天等(2004)方法。分别称取 0.5 g 幼苗根和叶,加入 1.6 ml 磷酸缓冲液(0.1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 6.5)冰浴中研磨,于 10 000×g 离心 20 min(4℃),上清液即为 PAO 提取液。反应混合液含 2.5 ml 磷酸缓冲液(0.1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 6.5),0.2 ml 显色液(用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> pH 6.5 的磷酸缓冲液配制,100 ml 中含 25 μl N, N-二甲基苯胺、10 mg 4-氨基氨基替吡啶),0.1 mL 过氧化物酶溶液(250 U·ml<sup>-1</sup>)及 0.2 ml 提取液。加入 10 ul Put 和 Spd + Spm(20 mmol·L<sup>-1</sup>)启动反应,混合反应液在 25℃下反应 30 min 后,用岛津 UV-1601 分光光度计测定波长 550 nm 处光密度值的变化,以 0.001 ΔOD<sub>550</sub>/min 为一个酶活单位(U)表示 DAO 和 PAO 活性,以加入 5% 高氯酸的提取液为对照。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的测定参照文献(Uchida *et al.*, 2002),略有改进。分别称 0.5 g 根和叶,加入 1.6 ml 预冷的 0.2 mol·L<sup>-1</sup> HClO<sub>4</sub> 冰浴研磨成匀浆后,于 10 000×g 离心 5 min(4℃),上清液加 4 mol·L<sup>-1</sup> KOH 调 pH 值为 7.5 后,再于 10 000×g 离心 5 min(4℃)。取上清液 1 ml,加 0.4 ml 显色液(用 0.1 mol·L<sup>-1</sup>, pH 6.5 的磷酸缓冲液配,100 ml 中含 25 μl N, N-二甲基苯胺,10 mg 4-氨基氨基替吡啶),0.1 ml 过氧化物酶溶液(250 U·ml<sup>-1</sup>),用岛津 UV-1601 分光光度计测定波长 550 nm 处光密度值的变化,以 μmol·g<sup>-1</sup> FW 表示 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的含量。

测定结果均采用 SAS 软件 Duncan 多重比较法进行统计分析,图中 a~d 不同字母表示 4 种处理之间的 5% 水平上的差异显著。

2 结果与分析

2.1 低氧胁迫下 Ca<sup>2+</sup> 处理对幼苗生长及植株含水量的影响

图 1 表明,低氧胁迫处理幼苗整株鲜重和干重显著低于通气对照处理,营养液加钙处理显著增加了低氧胁迫下幼苗的鲜重和干重,而缺钙处理却显著降低了幼苗的鲜重和干重。低氧胁迫下幼苗含水量与重量的变化趋势相反,单纯低氧胁迫处理幼苗含水

量低于通气对照处理,加钙处理显著降低了幼苗的含水量,缺钙处理幼苗含水量高于低氧胁迫处理。

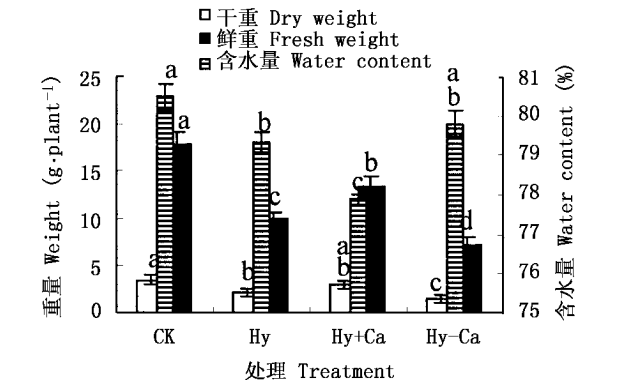


图 1 低氧胁迫(4 d)下钙对网纹甜瓜幼苗生长和含水量的影响  
Fig.1 Effect of calcium on growth and water content in muskmelon seedlings under hypoxia stress after four days  
CK: 对照 Control Hy: 低氧胁迫(2±0.2) mg·L<sup>-1</sup> Hypoxia stress (2±0.2) mg·L<sup>-1</sup> Hy + Ca: 低氧胁迫 + 10 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> Hypoxia stress + 10 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> Hy - Ca: 低氧胁迫 + 0 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> Hypoxia stress + 0 mmol·L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup>

2.2 低氧胁迫下 Ca<sup>2+</sup> 处理对幼苗根和叶多胺含量的影响

低氧胁迫处理网纹甜瓜幼苗根内游离态 Put、Spd、Spm 含量显著高于通气对照处理,营养液加钙处理幼苗根系 Put、Spd、Spm 等 3 种游离态多胺含量均显著增加,其中 Spd 含量变化最显著,Spm 含量最低,而且变化幅度最小。营养液缺钙处理根游离态多胺含量均显著低于单纯低氧胁迫处理。叶片游离态多胺含量低于同种处理条件下根内多胺含量,但两者有相似的变化趋势(图 2)。

4 种处理条件下结合态 Put、Spd、Spm 含量变化趋势与游离态多胺变化趋势相似,但无论根系还是叶片,结合态多胺含量显著低于游离态多胺含量。

各处理间束缚态 Put 含量变化显著,其中低氧胁迫处理、营养液加钙处理、营养液缺钙处理网纹甜瓜根系束缚态 Put 含量分别为通气对照的 1.88、3.43、0.98 倍,叶片束缚态 Put 含量分别为通气对照的 1.78、3.34、0.90 倍,根系束缚态精胺含量显著高于亚精胺,但叶片内束缚态精胺和亚精胺含量无显著差异。

2.3 低氧胁迫下 Ca<sup>2+</sup> 处理对幼苗根和叶多胺总含量的影响

低氧胁迫处理网纹甜瓜幼苗根内和叶片游离态、结合态和束缚态多胺总含量均显著高于通气对

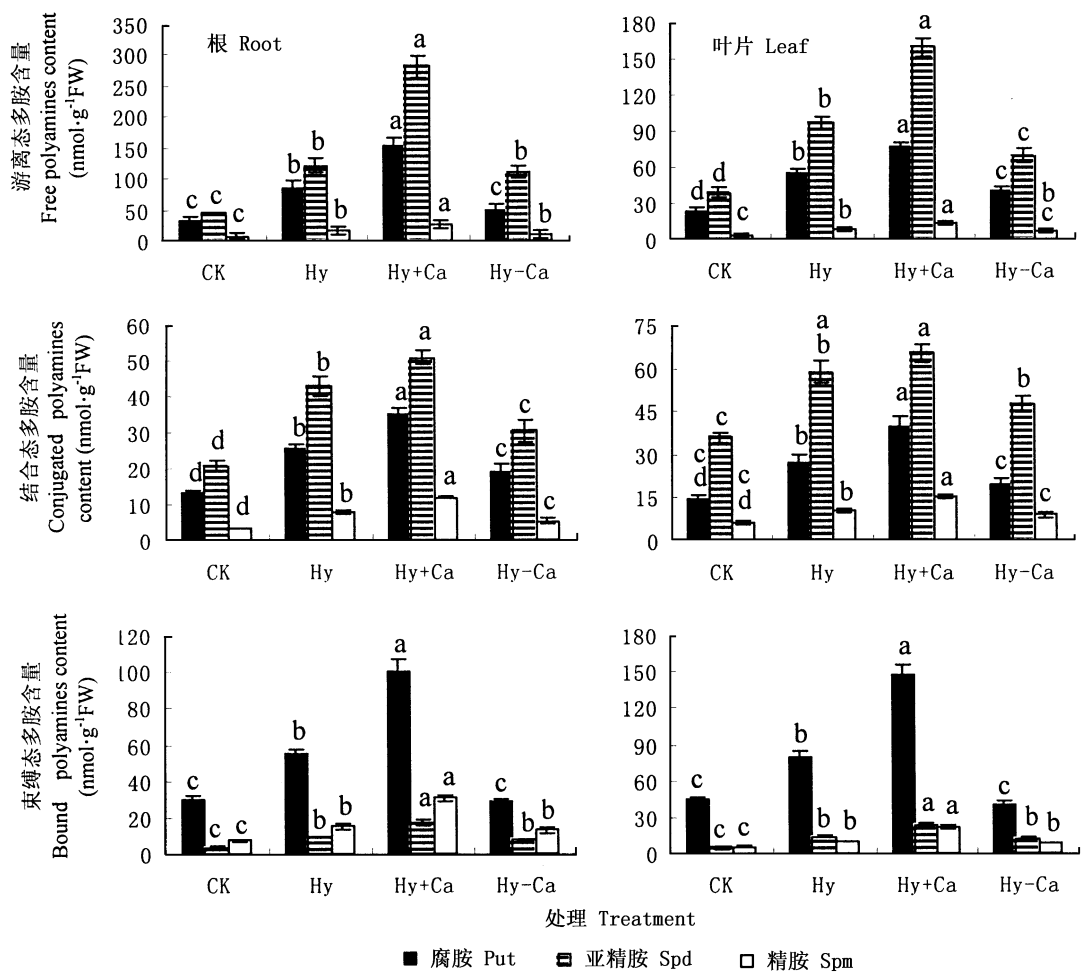


图2 低氧胁迫下钙对网纹甜瓜幼苗游离态、结合态和束缚态多胺含量的影响  
Fig.2 Effect of Ca<sup>2+</sup> on free, conjugated and bound polyamines contents in muskmelon seedlings under hypoxia stress  
CK、Hy、Hy + Ca、Hy - Ca: 同图1 See Fig.1

照处理,营养液加钙处理幼苗根系和叶片3种形态多胺总含量均显著高于低氧胁迫处理,其中根系游离态多胺含量变化最显著,而叶片束缚态多胺含量增加幅度最大,而叶片和根系结合态多胺总含量变化幅度小于游离态和束缚态多胺含量。营养液缺钙处理根系游离态、结合态和束缚态含量分别为通气对照的2.02、1.46和1.23倍,叶片分别为通气对照的1.74、1.33和1.09倍;但缺钙处理根系和叶片3种形态多胺总含量均显著低于低氧胁迫处理(图3)。

2.4 低氧胁迫下Ca<sup>2+</sup>处理对幼苗根和叶多胺氧化酶活性的影响

由图4可以看出,低氧胁迫处理网纹甜瓜幼苗根系DAO活性显著高于通气对照处理,营养液加钙处理显著降低了低氧胁迫下DAO活性,而营养液缺钙处理DAO活性显著高于单纯低氧胁迫处理;各处

理幼苗叶片DAO活性变化趋势与根组织相似,但是叶片DAO活性显著高于根系。

4种处理条件下PAO活性的变化规律与DAO相似,但在相同处理条件下PAO活性低于DAO活性。低氧胁迫处理、营养液加钙处理、营养液缺钙处理网纹甜瓜根系PAO活性分别比通气对照增加114.0%、6.2%和251.7%,叶片PAO活性分别比通气对照处理增加69.77%、16.25%和112.6%。

2.5 低氧胁迫下Ca<sup>2+</sup>处理对幼苗根和叶H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的影响

由图5可知,单纯低氧胁迫处理网纹甜瓜幼苗根系和叶片H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量显著高于通气对照处理,营养液加钙处理幼苗根系和叶片H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量显著低于单纯低氧胁迫处理,而缺钙处理H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量却显著高于单纯低氧胁迫处理。4种处理条件下叶片H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含

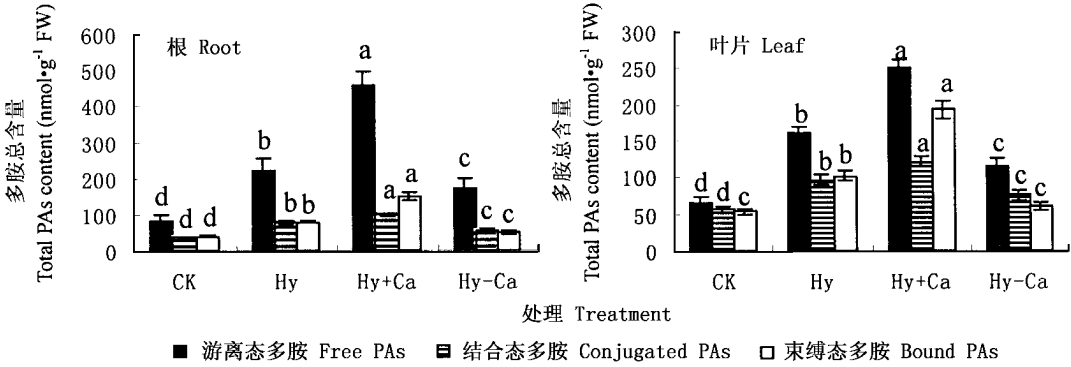


图3 低氧胁迫下钙对网纹甜瓜幼苗游离态、结合态和束缚态多胺总含量的影响  
Fig.3 Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  on total polyamines contents of free, conjugated and bound contents in muskmelon seedlings under hypoxia stress  
CK、Hy、Hy + Ca、Hy - Ca: 同图1 See Fig.1

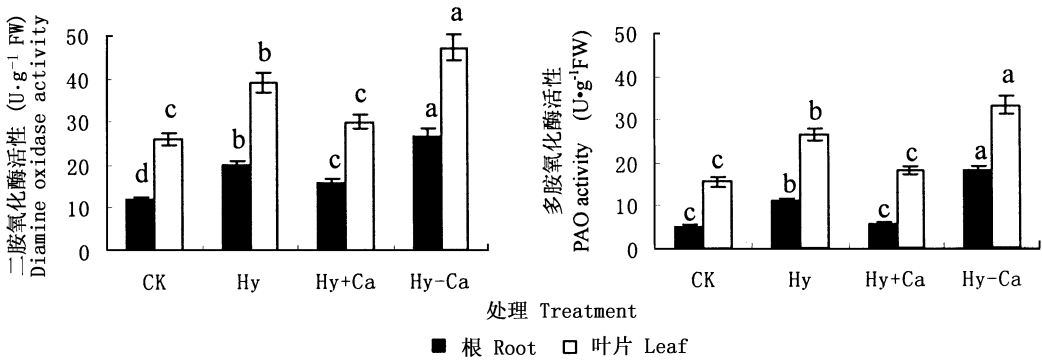


图4 低氧胁迫下钙对网纹甜瓜幼苗 DAO 和 PAO 活性的影响  
Fig.4 Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  on DAO and PAO activities in muskmelon seedlings under hypoxia stress  
CK、Hy、Hy + Ca、Hy - Ca: 同图1 See Fig.1

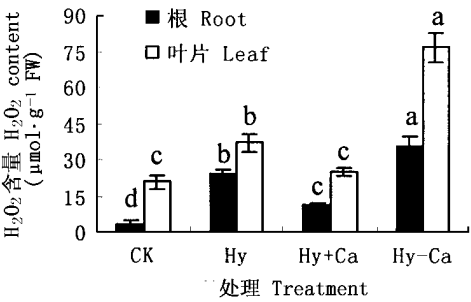


图5 低氧胁迫下钙对网纹甜瓜幼苗  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量的影响  
Fig.5 Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  on  $\text{H}_2\text{O}_2$  contents in muskmelon seedlings under hypoxia stress  
CK、Hy、Hy + Ca、Hy - Ca: 同图1 See Fig.1

量显著高于根系。

3 讨论

目前越来越多的研究表明第二信使  $\text{Ca}^{2+}$  通过信号转导能够调节植物对环境胁迫的反应,稳定细胞膜的结构,缓解环境逆境对植物体造成的伤害,可

促进植株生长等(Gao *et al.*, 2004)。本试验结果表明低氧胁迫处理下,植物根系的吸收能力降低,植株体内含水量降低,因此在处理后期叶片出现轻微萎蔫症状,网纹甜瓜幼苗的生长受到显著抑制;为了弥补细胞内能量的不足,植物体内启动无氧呼吸(Guo *et al.*, 1999),消耗更多的营养物质,但营养液加钙处理缓解了低氧胁迫对植株生长的抑制作用,表现为植物体鲜重和干重明显增加,缓解了植物体自身物质的消耗,干物质含量提高,植株含水量降低;缺钙处理对幼苗生长的影响与加钙处理相反。表明适当提高生长介质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度( $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),可增强植株的耐低氧能力,缓解低氧胁迫下细胞自身营养物质的大量消耗。

多胺的含量与外界环境胁迫关系密切(Kakkar & Sawhney, 2002),多胺的代谢特征之一是植物体受到非生物逆境胁迫时,体内多胺浓度迅速发生变化,并且不同种类、不同状态的多胺可以相互转化,如游离态 Put 可以向 Spd 或 Spm 转变;游离态多胺可以向结合态和束缚态多胺进行转化,从而提高植物体

内结合态和束缚态多胺的含量, 增强胁迫条件下膜的稳定性(Zhao *et al.*, 2000)。Zhao 等(2003)研究指出游离态腐胺向结合态形式以及亚精胺、未知多胺转化有利于大麦耐盐性的提高。渗透胁迫下游离态腐胺、亚精胺、精胺和束缚态腐胺含量的上升有利于增强小麦幼苗的抗胁迫能力, 而结合态多胺对幼苗的抗渗能力影响不大(Liu *et al.*, 2004)。外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理提高了渗透胁迫下玉米体内游离态腐胺、亚精胺和精胺的含量(檀建新等, 1998), 而且在盐胁迫下, 二环乙基胺引起多胺含量严重下降的情况在一定程度上能被外加氯化钙处理所缓解(Jiang *et al.*, 2000)。本试验结果表明低氧胁迫条件下网纹甜瓜幼苗根系和叶片内游离态 Put、Spd、Spm 含量迅速积累, 在游离态多胺含量增加的同时, 结合态和束缚态多胺的含量也随之增加, 但结合态多胺增加的幅度低于游离态多胺, 束缚态多胺以 Put 为主。低氧胁迫下营养液加钙处理显著提高了游离态、结合态、束缚态的 Put、Spd、Spm 含量, 而缺钙处理幼苗游离态、结合态、束缚态多胺含量低于单纯低氧胁迫处理, 表明低氧胁迫条件下  $\text{Ca}^{2+}$  与多胺的合成、形态转换以及低氧胁迫下网纹甜瓜的生长之间存在一定的关系, 其机理还有待进一步研究。

多胺作为 PAO 的作用底物, 推断逆境下多胺的积累刺激了氧化酶活性提高(关军锋等, 2003)。在植物体内氧化多胺的酶主要是 DAO 和 PAO, 它们的底物分别为 Put 和 Spd + Spm, 其氧化产物为  $\text{H}_2\text{O}_2$ 、吡咯琳等, 因此 DAO 和 PAO 通过调节细胞内多胺的水平和生成物的浓度参与各种植物体对逆境胁迫的反应(Santa-Gruz & Bolavin, 1997)。多胺氧化分解过程中生成的  $\text{H}_2\text{O}_2$  等代谢产物对病原微生物有抵御作用, 还参与细胞壁木质素的形成以及修复损伤, 有利于通气组织的形成(Federico & Angelini, 1991), 但  $\text{H}_2\text{O}_2$  作为活性氧, 超过临界浓度会导致细胞膜透性增大, 细胞内抗氧化代谢功能失调, 植物体抗逆性降低。汪天等(2004)研究表明低氧胁迫下黄瓜根系 PAO 活性提高 2.45 倍, PAO 参与黄瓜植株对低氧胁迫的反应。刘俊和刘友良(2004)研究发现盐胁迫下小麦叶片中 PAO 活性降低, 根系在盐胁迫初期 PAO 活性增加。本研究表明低氧胁迫处理提高了 DAO 和 PAO 活性, 而加钙处理氧化酶活性显著降低, 缓解了多胺的降解, 使多胺含量维持在一个相对较高的水平, 暗示营养液内钙通过影响氧化酶活性从而调节幼苗体内多胺含量和代谢产物  $\text{H}_2\text{O}_2$  的含量。

虽然植物通过进化已经具有了抗低氧逆境

(Drew, 1997)等不良环境的能力, 但植物各组织抗性产生的方式不一致, 机理也不同。Ellis 等(1999)研究发现乙醇脱氢酶突变体根系抗低氧能力降低, 但是叶片适应低氧的能力却没有改变, 表明植物根系和叶片有不同的感受和适应低氧逆境胁迫的机理。乙醇发酵对植物适应低氧逆境非常重要, 逆境胁迫诱导拟南芥根系乙醇脱氢酶活性显著增加, 而叶片中乙醇脱氢酶活性受逆境影响较小(Dolferus *et al.*, 1997), 而且营养液低氧胁迫下网纹甜瓜幼苗的根系比叶片反应更敏感(高洪波等, 2004b)。本试验中, 根系是低氧胁迫的直接部位, 根系 DAO 和 PAO 活性显著低于叶片, 从而造成低氧胁迫下根系多胺含量的增加幅度高于叶片, 根系多胺代谢产物  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量却显著低于叶片。而且外源钙处理对根系氧化酶活性的影响小于叶片, 造成钙处理下根系游离态多胺显著高于叶片, 而钙处理下叶片束缚态多胺含量却高于根系, 表明叶片适应性的产生并不依赖于根系, 根系多胺含量的增加对增强植株耐低氧能力发挥着重要的作用。

综合上述结果可以认为, 低氧胁迫下在网纹甜瓜幼苗生长受到抑制的同时, 其体内也发生一系列的生理生化变化, 根、叶中 PAs 含量显著增加, 可能是低氧胁迫反应的一种应急产物, 有利于增强对低氧胁迫的抵抗能力。但 PAs 含量增加的同时刺激了 PAO 活性的提高, 分解 PAs, 产生较多的  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 对细胞膜造成伤害。在这一变化过程中,  $\text{Ca}^{2+}$  可缓解低氧胁迫对幼苗生长的抑制作用、提高 PAs 含量、降低 PAO 活性和  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量。因此可以认为  $\text{Ca}^{2+}$  参与了低氧胁迫下网纹甜瓜幼苗多胺的代谢过程, 通过减缓多胺的分解促进了多胺的积累, 增强了幼苗的耐低氧能力。但对于  $\text{Ca}^{2+}$  是否直接参与了低氧胁迫下 PAs 的代谢以及对其它代谢产物的影响还在进一步研究之中。

## 参 考 文 献

- Dolferus R, Ellis M, de Bruxelles G, Trevaskis B, Hoeren F, Dennis ES, Peacock WJ (1997). Strategies of gene action in *Arabidopsis* during anoxia. *Annals of Botany*, 79, 21–31.
- Drew MC (1997). Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48, 223–250.
- Ellis MH, Dennis ES, Peacock WJ (1999). *Arabidopsis* roots and shoots have different mechanisms for hypoxic stress tolerance. *Plant Physiology*, 119, 57–64.
- Federico R, Angelini R (1991). Polyamine catabolism. In: Slocum RD, Flores HE eds. *Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants*. CRC Press, Boca Raton, 41–56.

- Gao HB (高洪波), Guo SR (郭世荣), Wang T (汪天) (2004a). Effect of hydroponic hypoxia stress on proline and polyamines contents of muskmelon seedlings. *Plant Physiology Communication* (植物生理学通讯), 40, 434 – 436. (in Chinese)
- Gao HB (高洪波), Guo SR (郭世荣), Wang T (汪天) (2004b). Effect of root-zone hypoxia on  $\text{NO}_3^-$ -N,  $\text{NH}_4^+$ -N and protein contents of muskmelon seedlings. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 31, 236 – 238. (in Chinese with English abstract)
- Gao HB, Chen GL, Han LH, Lin H (2004). Calcium influence on chilling resistance of grafting eggplant seedlings. *Journal of Plant Nutrition*, 27, 1327 – 1339.
- Gong M, van der Liut A, Knight MR, Trewaveas AJ (1998). Heat-shock-induced changes in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  level in tobacco seedlings in relation to thermotolerance. *Plant Physiology*, 116, 429 – 437.
- Guan JF (关军锋), Liu HL (刘海龙), Li GM (李广敏) (2003). Changes of polyamines content and polyamine oxidase activity of roots and leaves during drought stress in wheat seedlings. *Acta Phytoecologica Sinica* (植物生态学报), 27, 655 – 660. (in Chinese with English abstract)
- Guo SR (郭世荣) (2003). *Soilless Culture* (无土栽培学). China Agriculture Press, Beijing, 127. (in Chinese)
- Guo SR, Nada KY, Katoh HS, Tachibana SJ (1999). Differences between tomato and cucumber in ethanol, lactate and malate metabolisms and cell sap pH of roots under hypoxia. *Journal of Japan Society Horticulture Science*, 68, 152 – 159.
- Jiang XY, Song J, Fan H, Zhao KF (2000). Regulations of exogenous calcium and spermidine on ion balance and polyamine levels in maize seedlings under NaCl stress. *Acta Phytophysiology Sinica* (植物生理学报), 26, 539 – 544.
- Kakkar RK, Sawhney VK (2002). Polyamine research in plants—a changing perspective. *Physiology Plantarum*, 116, 281 – 292.
- 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. *Jouranal 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)
- 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)
- Santa-Gruz A, Bolarin C (1997). Changes in free polyamine levels induced by salt stress in leaves of cultivated and wild tomato species. *Physiology Plantarum*, 101, 341 – 346.
- Song JJ, Nada K, Tachibana SJ (2002). Suppression of S-adenosylmethionine decarboxylase activity is a major cause for high-temperature inhibition of pollen germination and tube growth in tomato. *Plant Cell Physiology*, 43, 619 – 627.
- Sukar R, Chinta S, Ramanjulu S (2001). Alleviation of NaCl salinity stress by calcium is partly related to the increased proline accumulation in mulberry (*Morus alba* L.) callus. *Journal of Plant Biology*, 28, 203 – 206.
- Sulochana C, Rao TJVS, Savithramma N (2002). Effect of calcium on water stress amelioration through calmodulin and scavenging enzymes in groundnut. *Indian Journal of Plant Physiology*, 7, 152 – 158.
- Tan JX (檀建新), Dong YH (董永华), Zhang W (张伟), Li GM (李广敏), Shang ZQ (商振清), Han JM (韩建民) (1998). Effect of calcium on content of endogenous hormones and polyamines in maize seedlings under osmotic stress. *Plant Physiology Communication* (植物生理学通讯), 34, 94 – 96. (in Chinese)
- Uchida A, Andre TJ, Takashi H (2002). Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Science*, 163, 515 – 523.
- Wang T (汪天), Guo SR (郭世荣), Liu J (刘俊), Gao HB (高洪波) (2004). An improved method for measuring polyamine oxidase and it's application to the study of cucumber root under hypoxia stress. *Plant Physiology Communication* (植物生理学通讯), 40, 358 – 360. (in Chinese)
- Xiong L, Schumaker KS, Zhu JK (2002). Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell*, 14, 165 – 183.
- Zhao FG, Sun C, Liu YL, Zhang WH (2003). Relationship between polyamine metabolism in roots and salt tolerance of barley seedlings. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 45, 295 – 300.
- Zhao FG, Sun C, Liu YL, Liu ZP (2000). Effect of salinity stress on the levels of covalently and noncovalently bound polyamines in plasma membrane and tonoplast isolated from leaves and roots of barley seedlings. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 42, 920 – 926.