

修复抑制剂对不同敏感性作物超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶活性的影响

宋道军 徐登益 万兆良 何首林

(西南农业大学中心室 重庆 630716)

辐射损伤修复抑制剂咖啡因(Caf)和 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ (EDTA)后处理对不同辐射敏感性作物大豆和油菜幼苗超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性的影响呈现为较一致的变化规律。两种作物幼苗下胚轴内,SOD酶活性均随着辐照剂量增大而增大,出现峰值后又陡然降低。大豆幼苗CAT酶活性与SOD酶有大致相同的变化规律,而油菜CAT酶活性在随辐照剂量变化过程中,在300~1000Gy范围内波动较小。POD酶活性则均是随着辐照剂量的增大而增大。除个别处理、个别剂量外,Caf、EDTA后处理与水处理(对照)相比,3种酶的活性有不同程度的提高,说明Caf、EDTA在抑制遗传物质DNA损伤修复的同时,减轻了因辐射产生的自由基造成的毒害。各处理中,抗辐射的油菜幼苗下胚轴中SOD、CAT和POD酶活性都高于对辐射敏感的大豆。

关键词:咖啡因 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 辐照 超氧化物歧化酶 过氧化氢酶 过氧化物酶

前 言

辐射诱变育种是改善作物品质、提高作物产量的一种行之有效手段。为进一步提高诱变频率,育种工作者应用辐照与化学因素复合处理的方法,抑制DNA的损伤修复,或使其产生错误修复,大大提高了突变频率^[1~5],其中Caf、EDTA两种辐射损伤修复抑制剂的使用尤为广泛。本文研究Caf、EDTA后处理对辐照作物幼苗下胚轴中SOD、CAT和POD酶活性的影响,以期探讨它们对辐射诱变频率和作物辐射敏感性的影响,为突变育种提供依据。

材 料 与 方 法

供试材料 对辐射敏感的豆科作物大豆(西豆3号,由本校农学系徐正华提供)和抗辐射的十字花科作物油菜(西油B-2.6-I,由本校技术应用研究室聂光明提供)。

辐照处理 选择风干饱满的大豆(含水量为13%)和油菜(含水量11%)的种子,用本校核技术应用研究室⁶⁰Co装置进行辐照,辐照时温度为25℃,相对湿度为85%,辐照剂量为0~1400Gy,剂量率为5.18Gy/min,种子距辐照源60cm。

Caf、EDTA后处理 上述辐照后的种子立即用下列浓度的溶液^[2,4]浸种5h。 H_2O 作为对照,

此文于1995年11月17日收到。

5mmol/L Caf, 1mmol/L EDTA 和 5mmol/L Caf + 1mmol/L EDTA (简称为 C + E, 下同)。

幼苗培养 浸种后, 用自来水冲净种子表面, 然后播种于有湿润草纸的培养皿上, 每皿大豆 60 粒, 油菜 200 粒, 置于 28℃ 恒温培养箱中, 定时定量浇水, 种子露白后, 光照 10h/d, 光强为 2000lx, 培养 7d。各处理 3 次重复, 取下胚轴作为 3 种酶活性的测试材料。

酶液的制备及测定 SOD 酶液制备及活性测定采用氮兰四唑 (NBT) 光还原法^[6,7]; CAT 酶采用碘量法^[8]; POD 酶采用氧化愈创木酚法^[9]。

结果与分析

(一) Caf、EDTA 后处理对幼苗 SOD 酶活性的影响

由图 1、2 可知: 1. 各处理 SOD 酶活性总体上高于水处理的对照; 2. 大豆在剂量小于 300 Gy 时, 酶活性随辐照剂量的增大而增大, 大于 300 Gy 时, 随辐照剂量增大而降低, 而油菜 SOD 酶活性变化的峰值则出现在 600 Gy 处。说明低剂量辐照对 SOD 酶有激活和促进合成作用, 从而刺激其活性增大, 而高剂量对 SOD 酶起抑制作用。3. EDTA 后处理对 SOD 酶活性的提高高于 Caf 后处理, 表明 EDTA 对 SOD 酶的刺激或合成作用比 Caf 大。4. Caf、EDTA 复合后处理未呈现有规律的协同或累加效应。5. 各处理油菜幼苗下胚轴中 SOD 酶活性高于大豆, 表明油菜体内 SOD 酶清除辐射产生的毒性极强的超氧阴离子自由基 (O_2^-) 的能力强于大豆。

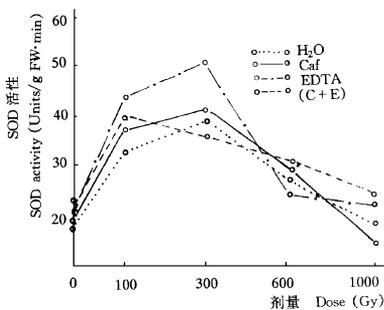


图 1 Caf、EDTA 后处理对大豆幼苗下胚轴中 SOD 酶活性的影响

Fig. 1 Effect of Caf, EDTA post-treatment on SOD activity in hypocotyl of soybean seedling

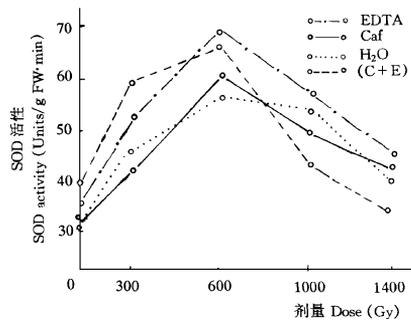


图 2 Caf、EDTA 后处理对油菜幼苗下胚轴中 SOD 酶活性的影响

Fig. 2 Effect of Caf, EDTA post-treatment on SOD activity in hypocotyl of *Brassica napus* L. seedling

(二) Caf、EDTA 后处理对幼苗 CAT 酶活性的影响

从图 3、4 可知: 1. 各后处理 CAT 酶活性高于水处理 (对照)。2. 大豆 CAT 酶在剂量小于 300 Gy 时, 其活性随辐照剂量的增大而增大, 大于 300 Gy 时, CAT 酶活性下降, 而油菜则在 300 ~ 1000 Gy 范围内变化不大, 超过此范围才明显降低。3. Caf、EDTA 后处理不同程度地提高了两种作物 CAT 酶活性, 各剂量下, C + E 复合处理没起到累加效应。

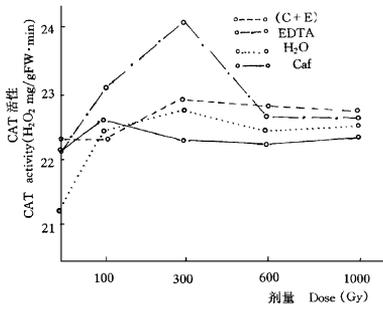


图 3 Caf、EDTA 后处理对大豆幼苗下胚轴中 CAT 酶活性的影响

Fig. 3 Effect of Caf, EDTA post-treatment on CAT activity in hypocotyl of soybean seedling

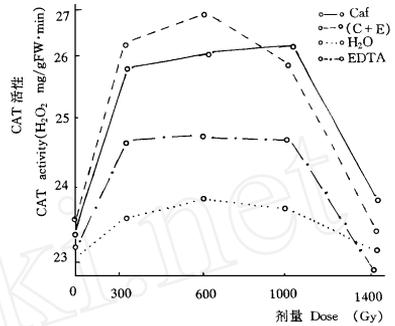


图 4 Caf、EDTA 后处理对油菜幼苗下胚轴中 CAT 酶活性的影响

Fig. 4 Effect of Caf, EDTA post-treatment on CAT activity in hypocotyl of *Brassica napus* L. seedling

(三) Caf、EDTA 后处理对幼苗 POD 酶活性的影响

Caf、EDTA 后处理对大豆和油菜幼苗 POD 酶活性的影响,从图 5、6 可看出有如下结果:

1. 两种作物的 POD 酶活性均随着辐照剂量的增大而增加。
2. Caf 后处理对 POD 酶活性的提高高于 EDTA 后处理。
3. 各处理的油菜幼苗下胚轴中 POD 酶活性高于大豆。试验结果说明,油菜幼苗体内 POD 酶消除氧化作用极强的 H₂O₂ 作用强于大豆。

综观整个试验结果,SOD、CAT 和 POD 3 种保护酶活性,油菜均不同程度地高于大豆,从而增强了体内清除辐射产生活性氧自由基的能力,这从一个侧面说明了油菜比大豆抗辐射。

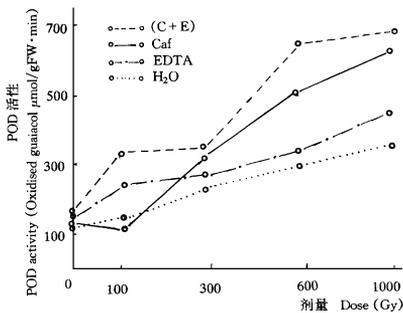


图 5 Caf、EDTA 后处理对大豆幼苗下胚轴中 POD 酶活性的影响

Fig. 5 Effect of Caf, EDTA post-treatment on POD activity in hypocotyl of soybean seedling

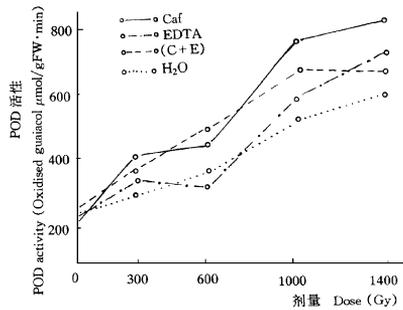


图 6 Caf、EDTA 后处理对油菜幼苗下胚轴中 POD 酶活性的影响

Fig. 6 Effect of Caf, EDTA post-treatment on POD activity in hypocotyl of *Brassica napus* L. seedling

讨 论

辐射敏感性不同的作物,只有选用与之相适应的诱变剂量辐照才具有良好的诱变效果,但

这种辐射对生物大分子的损伤多半可自行修复,因此,诱变频率往往较低。Caf、EDTA 后处理,能很好地抑制辐射造成的 DNA 损伤的修复,因而能提高诱变频率。但 Caf、EDTA 后处理,使有效清除致畸、致变作用极强的活性氧自由基的 3 种保护酶 SOD、CAT 和 POD 活性得到提高,对诱变又是不利的。因此,在用 Caf、EDTA 进行辐照后处理的诱变育种中,适量加入 SOD、CAT 和 POD 3 种酶活性抑制剂,以便使自由基充分起作用,可能会进一步提高诱变频率。

本研究得到本校生化教研室刘大永教授悉心指导,特表感谢。

参 考 文 献

- 1 李国全等. 苯甲酰胺对大豆辐射诱变效应的影响. 核农学报, 1994, 8(3) 141 ~ 148
- 2 李国全等. 咖啡因对辐照大豆辐射损伤的遗传效应的影响. 吉林农业大学学报, 1986, 18(1) 31 ~ 36
- 3 Yamamoto K, Yamaguchi H. Mutation in plant breeding. Mutation Res, 1969, 8 428 ~ 430
- 4 赵孔南等. EDTA 对辐射诱发水稻突变的修饰效应. 浙江农业大学学报, 1985, 11(3) 271 ~ 279
- 5 龙运森等. 咖啡因和 EDTA 对大麦辐射效应影响的研究. 西南农业大学学报, 1993, 15(2) 170 ~ 174
- 6 朱广廉等. 植物生理学实验. 北京: 北京大学出版社, 1990, 242 ~ 245
- 7 庄炳昌等. 萌发过程中野生大豆和栽培大豆 SOD 酶的变化. 大豆科学, 1988, 17(3) 241 ~ 244
- 8 北京农业大学、西北农业大学、山东农业大学合编. 植物生化. 北京: 北京农业大学出版社, 1990, 49 ~ 52
- 9 波钦诺克 XH 著, 荆家海等译. 植物生化分析方法. 北京: 科学出版社, 1981, 197 ~ 201

INFLUENCE OF RADIATION DAMAGE REPAIR INHIBITOR ON SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD), CATALASE (CAT) AND PEROXIDASE (POD) IN DIFFERENT SENSITIVE CROPS

Song Daojun Xu Dengyi Wan Zhaoliang He Shoulin
(Central Laboratory, Southwest Agricultural University, Chongqing 630716)

ABSTRACT

The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) were affected remarkably by ^{60}Co -ray irradiation and radiation damage repair inhibitor (Caf, EDTA). SOD, CAT and POD activities showed the similar change pattern in both soybean (sensitive to radiation) and *Brassica napus* L. (resistant to radiation) seedlings in all treatments. After reaching the maximum value, SOD activity decreased with the increase of doses. CAT activity had the same change pattern as that of SOD in soybean, while with *Brassica napus* L., CAT activity remained relatively steady from 300 Gy to 1000 Gy. And POD activity increased with the increase of doses. Compared with H_2O -treatments, Caf, EDAT post-treatments obviously enhanced SOD, CAT and POD activities. With all the treatments, the three enzyme activities were higher in *Brassica napus* L. than those in soybean seedlings.

Key word: Caf, EDTA, post-treatment, radiation, SOD, CAT, POD