

PEG 对大豆 (*Glycine max*) 下胚轴脂氧合酶(LOX)活性及蛋白质含量的影响*

张荣平** 王振镒 高俊凤 薛 刚

(西北农业大学植物生理研究室 陕西杨陵 712100)

摘 要

众所周知,大豆脂氧合酶(LOX)活性与生长发育密切相关。业已证实,PEG(聚乙二醇)处理大豆种子可促进其下胚轴中蛋白质的合成。本实验结果表明:PEG处理大豆种子后,其下胚轴中的脂氧合酶活性与未经PEG处理的对照相比显著降低。而蛋白质的含量却高于对照。因此推测,下胚轴中引起酶促脂质过氧化作用的主要酶—脂氧合酶^[20]活性的降低,与蛋白质总含量的升高密切相关。

PEG高渗溶液具有引发种子的效果^[1,6],一方面是由于PEG处理可以改善种子的膜透性使损伤得到恢复,因而提高种子活力^[3]。另一方面是由于PEG处理种子会引起ATP的迅速合成与消耗^[4],最终使新陈代谢作用增强的缘故^[5]。对植物体内LOX活性与蛋白质含量间关系的研究报道不多,且争论颇大。本文在PEG处理种子的前提下,首次探讨了大豆下胚轴脂氧合酶活性与蛋白质含量之间的关系,为LOX生理功能和PEG引发种子机制的进一步研究提供了依据。

关键词 PEG; 大豆; 脂氧合酶; 蛋白质

材 料 与 方 法

1. 供试材料

“庆选101”、“哈85—6439”系黑龙江省农业科学院大豆所提供。

“鲁豆5号”、“东解选”系西北农业大学试验农场提供。

“豫豆2号”系河南省洛阳农业专科学校提供。

* 国家自然科学基金资助课题。

** 现在胜利油田农科所工作。

本文于1992年6月25日收到。

This paper was received on June 25, 1992.

2. 材料培养

采用郑光华(1985)的方法^[1]并稍作改进。选用大小均匀且无种皮破裂的籽粒供试验用。对进行 PEG 处理的种子手选后置 50ml 的小烧杯中,加入 30%PEG-6000(容量比)使其浸没种子约一厘米,置于 15-18℃条件下 48 小时。期间不时摇动小烧杯以利通气均匀。然后将种子取出,用自来水冲洗几遍,放入培养皿中置于恒温箱内萌发(25℃),每皿 50 粒,重复三次。

对照用自来水代替 PEG,其余步骤同处理。

3. 测定方法

3.1 酶液的制备:采用孙谷畴的方法^[6]并作改进。当培养的大豆下胚轴长至 3.0cm 左右时,停止培养,将下胚轴中间部分约 1.5cm 切下。准确称取 1.0 克,预冷几分钟后,放在研钵中,加入少量石英砂和 1%(W/V)PVP,并加入 4.0ml 0.1M 的磷酸缓冲液(pH 7.0)研成匀浆,经单层纱布过滤然后将滤液置低温冷冻离心机 4℃、5000xg 离心 10 分钟。收集上清液,用于测酶活。

底物(亚油酸)的配制采用 Kenneth surrey^[9]的方法。

3.2 脂氧合酶活性的测定 采用 Wennuan Liu(1991)的方法^[10]。注意,透光且或直接用测定的反应混合液的最终浓度不可超过 $10^{-3}M$ ^[11]。

3.3 蛋白质测定按改良 Lowry 法^[12],用 BSA 作标准。

结果与分析

1. PEG 预处理对不同大豆品种下胚轴中 LOX 活性的影响

由图 1 可以看出,所试各大豆品种经 PEG 处理后,其下胚轴中的 LOX 活性与对照相比,均有降低。但抗旱性强的“庆选 101”和“鲁豆 5 号”,LOX 活性降低的幅度最小,分别比对照降低 11.80%和 20.09%。抗旱性弱的其余品种,LOX 活性则有较大幅度的降低。

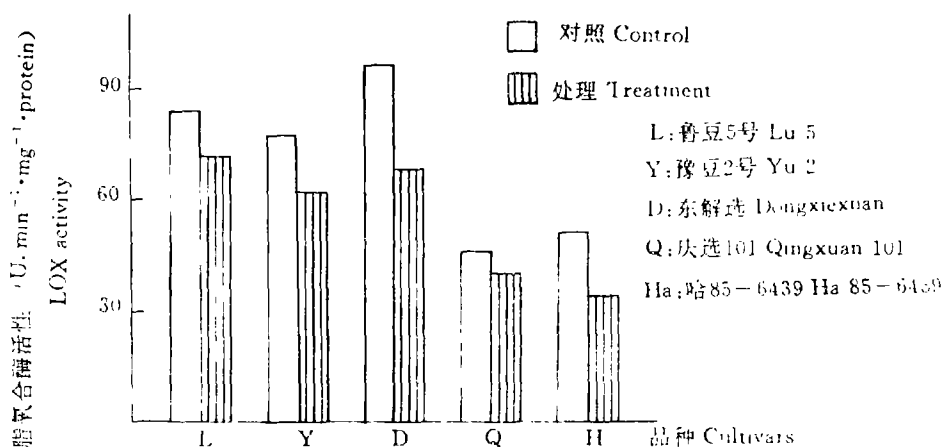


图 1 PEG 预处理对大豆下胚轴脂氧合酶活性的影响

Fig. 1 Effect of PEG pretreatment on the LOX activity in soybean hypocotyl

LOX 活性表现出上述变化的原因究竟是什么呢? 笔者以为,正如郑光华^[1]、陈光仪^[7]

等所指出的:PEG 对种子进行预处理的主要作用在于保护了膜和细胞器的修复功能,使膜损伤程度降低。膜损伤程度的降低就意味着脂质过氧化作用的降低,脂质过氧化作用的降低当然是由 LOX 活性降低所致^[20]。另外,PEG 处理种子后,可使下胚轴以相对较慢和较为合理的速度伸长(与对照相比),因而其 LOX 活性较对照低。

至于抗旱性不同的大豆品种经 PEG 处理后,品种的抗旱性越强,其细胞膜的完整度就越高,PEG 处理对膜结构和功能的修复率就越小,LOX 活性降低的幅度当然就小了。抗旱性弱的品种,情形恰好相反,LOX 活性表现出较大幅度的降低,从表 1 和前人的结论^[2,5]就可以推出。

2. PEG 预处理对不同大豆品种下胚轴总蛋白质含量的影响

由表 1 可看出,经 PEG 处理后,所试大豆品种下胚轴中的蛋白质含量与对照相比,均有不同程度的增加。这种蛋白质含量的增加,与陈文涛^[4]的实验结果一致。

表 1 PEG 预处理对大豆下胚轴蛋白质含量的影响

Table 1 Effect of PEG pretreatment on the protein content in soybean hypocotyl

品 种 Cultivars	蛋白质含量(毫克/克·干重) Protein content (mg/g. d. w)			蛋白质含量的增加占对照(%) Increase of protein content (% of control)
	对 照 Control	处 理 Treatment	增 加 量 Increase	
鲁豆 5 号 Lu 5	315.4	354.0	38.6	12.24
豫豆 2 号 Yu 2	486.2	561.5	75.3	15.49
东解选 Dongxiexuan	323.1	421.2	98.1	30.37
庆选 101 Qingxuan 101	610.0	650.8	40.8	9.69
哈 85-6439 Ha 85-6439	545.4	737.8	192.4	35.28

将图 1 和表 1 综合起来分析就会发现 LOX 活性的降低与蛋白总含量的增加呈负相关($R = -0.9909$)。十分有趣的是,本试验中,抗旱性强的大豆品种经 PEG 处理后,其蛋白质含量的增加幅度较小,LOX 活性降低的幅度也较小;而抗旱性弱的品种,蛋白质含量有较大幅度的增加,LOX 活性有较大幅度地降低。由此结果,我们认定蛋白质含量的增加是 LOX 活性降低的主要原因。至于抗旱性不同的大豆品种,其 LOX 活性与蛋白质含量的变化趋势也并不相同的现象,我们的解释是:抗旱性强的品种,其本身的“内环境”较为稳定,因此受外界因素(如 PEG)的影响就小,LOX 活性与蛋白质含量的变化幅度就小。抗旱性弱的品种恰好相反。

讨 论

1. 前人的研究^[13,1]表明:植物地下部分(如大豆下胚轴)的生长速度与 LOX 活性有相关性。当植物体受到伤害时^[15],LOX 活性急剧增加。对冬油菜的研究^[16]发现:抑制冬油菜

下胚轴伸长的处理(如光和冷)会降低 LOX 活性。Grossman and Leshem^[19](1978)指出:激动素可降低 LOX 活性,LOX 活性的降低在维持膜功能方面可能起一定作用。我们的试验结果与上述结果趋于一致。PEG 处理大豆种子,会引起下胚轴中 LOX 活性降低,笔者推测 PEG 可能有类似于激动素的作用。

2. PEG 处理种子,导致大豆下胚轴中蛋白质含量的增加已被确认。蛋白质含量与 LOX 活性的变化之间的关系却极为复杂。

在一项早期的研究中,P. L. Guss(1968)^[17]发现:在 3.5 天的 wheat 幼苗中,根中 LOX 具有高的专一活性主要是由于提取的组织中蛋白质含量较低缘故。P. M. Swamy 和 P. Suguna^[18]指出:LOX 活性的升高可能是豌豆叶片衰老的标志,或者可作为叶绿素或蛋白质含量降低的标志。以上实验结果都说明植物体内的 LOX 活性与蛋白质含量呈负相关,与本实验结果趋于一致。

Ohta, H^[21],则发现,LOX 活性的增加,可随着环己酰亚胺的加入而受到抑制,因而认为 LOX 活性的出现以蛋白质的合成为条件。Thompson, J. E.,指出^[22]:如果有与衰老相联系的 LOX 活性存在,此酶很可能就是与膜结合的蛋白质,当膜受到严重伤害时,此酶最终被降解下来。

笔者将 PEG 处理大豆种子,引起 LOX 活性及蛋白质含量变化的可能机制归纳为:PEG 处理种子,使膜结构与功能得到修复,新陈代谢作用增强,蛋白质合成能力增强,从而引起 LOX 活性降低,最终导致脂质过氧化作用降低,幼苗生活力提高。

参 考 文 献

- [1] 郑光华,1985,PEG“引发”种子的效果 植物学报,27(3):329—333
- [2] 郑光华等,1985,聚乙二醇(PEG)渗透调控法处理种子能提高活力,增强抗逆能力,种子(2):55—56
- [3] 李卓杰等,1988,人工老化和聚乙二醇(PEG)对花生种子活力及乙烯释放的影响,种子,(5):1—5
- [4] 陈文涛等,1990,PVA 和 PEG(6000)预处理对大豆下胚轴生长,蛋白质合成及 ATP 含量的影响,亚热带植物通讯,(1):12—16
- [5] 郭金铨等,1989,聚乙烯醇预处理对提高大豆种子活力和抗冷能力的作用,植物生理学报,15(3):251—256
- [6] 孙谷畴,1990,激动素与黄嘌呤氧化酶对水稻和豌豆叶片脂氧合酶活性的影响,植物生理学通讯,(6):32—34
- [7] 陈光仪,1986,PEG 处理种子的条件及其模拟种子,(1):1—5
- [8] Heydecker, W., J. Higgins and R. L. Gulliver. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature*, 246:42—44
- [9] Kenneth surrey, 1964. Spectrophotometric Method for Determination of Lipoxidase Activity. *Plant Physiol.* Vol. 39:65—70
- [10] Wennuan Liu et al. 1991. Effects of Exogenous Auxins on Expression of Lipoxigenases in Cultured soybean Embryos. *Plant Physiol.* 97:969—976
- [11] Shlomo Grossman and Rina Zakut, *Methods of Biochemical Analysis*, Vol. 25:303—329
- [12] Bensadoun A, Weinstein D (1976) Assay of proteins in the presence of interfering materials. *Anal Biochem* 70:241—250
- [13] Hildebrand, D. E., Snyder, K. M., et al. 1989. Expression of Lipoxigenase isozymes in soybean tissue. In *Biological Role of Plant Lipids*, ed. P. A. Biacs. K. Gruiz, T. Kremmer, pp. 51—56. New York:

Plenum

- [14] Park, T. K., Polacco, J. C. 1989. Distinct Lipoxygenase species appear in the hypocotyl/radical of germinating soybean. *Plant Physiol.* 90:285—290
- [15] Hildebrand, D. F., et al. 1988. Plant Lipoxygenase: occurrence, properties and possible functions, *Curr. Top. Plant Biochem. Physiol.* 7:201—219
- [16] Kubacka—Zebalska, M., Kacperska—Palacz, A. 1980. Lipoxygenase, an enzyme involved in plant growth? *Physiol. Veg.* 18:339—347
- [17] P. L. Guss, et al. 1968. Lipoxidase in early growth of wheat. *Plant Cell Physiol.* 9:415—422
- [18] P. M. Swamy and P. Suguna. 1992. Influence of calcium chloride and benzyladenine on Lipoxygenase of *Vigna Unguiculata* leaf discs during senescence. *Physiol. Plant.* 84:467—471
- [19] Grossman, S. and Leshem, Y. 1978. Lowering of endogenous Lipoxygenase activity in *Pisum Sativum* foliage by cytokinin as related to senescence. *Physiol. Plant.* 43:359—362
- [20] Galliard T et al. In *Biochemistry of Plants*. Vol. 4. Academic Press. New York. 1980. P. 131
- [21] Ohta, H., Ida, S., Mikami, B., Morita, Y. 1986. Changes in Lipoxygenase components of rice seedlings during germination. *Plant Cell Physiol.* 27:911—918
- [22] Thompson, J. E., Paliyath, G., Brown, J. H., Duxbury, C. L. 1987. The involvement of activated oxygen in membrane deterioration during senescence. In *Plant Senescence*, ed. W. W. Thompson, E. A. Nothnagel, R. C. Huffaker, PP. 146—155. Kockville: Am. Soc. Plant Physiol.

EFFECTS OF PEG PRETREATMENT ON THE LOX ACTIVITY AND PROTEIN CONTENT IN SOYBEAN HYPOCOTYL

Zhang Rongping Wang Zhenyi Gao Junfeng Xue Gang

(Plant Physiology Laboratory, Northwestern Agricultural
University, Yang Ling, Shanxi. 712100)

Abstract

It is well known that the Lipoxygenases in soybean are closely related to growth and development. It has been proven that the pretreatment of PEG on soybean seeds may accelerate the synthesis of protein in soybean hypocotyl. Our results indicated, after the PEG pretreatment on soybean seeds, the Lipoxygenase in soybean hypocotyl would decrease, (compared with the untreated). However, the protein content would increase. So, we speculate that the decline of the Lipoxygenase activity was closely related to the raise of the protein content in soybean hypocotyl.

Key words PEG; Soybean; LOX; Protein