

W_x 基因对灌浆期小麦叶片 SOD 活性的影响

孔治有¹,张玉荣²,段修安³,覃 鹏^{4*}

(1. 保山学院 资源环境学院,云南 保山 678000; 2. 玉溪市农业科学院,云南 玉溪 653100;
3. 保山市种子管理站,云南 保山 678000; 4. 云南农业大学 农学与生物技术学院,云南 昆明 650201)

摘要:为研究 W_x 基因对小麦叶片 SOD 活性的影响,对 8 个 W_x 近等基因系灌浆期旗叶和倒 2 叶 SOD 活性进行了测定和分析。结果表明:W_x-D1 基因的缺失可提高植株 SOD 活性,而 W_x-A1 和 W_x-B1 基因的缺失则无显著影响;W_xABD 丧失了所有 W_x 基因,但其 SOD 活性却相对更高,可能是几个 W_x 基因之间存在互作关系;旗叶 SOD 活性低于同时期倒 2 叶,SOD 活性在不利环境中可能降低。

关键词:小麦; W_x 近等基因系; SOD 活性; 灌浆期

中图分类号:S512.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-3268(2015)05-0035-03

Effect of W_x Genes on SOD Activity of Wheat Leaves at Filling Stage

KONG Zhiyou¹,ZHANG Yurong²,DUAN Xiuan³,QIN Peng^{4*}

(1. College of Resources and Environment,Baoshan University,Baoshan 678000,China;
2. Yuxi Agricultural Science Academy,Yuxi 653100,China;
3. Baoshan Seed Management Station,Baoshan 678000,China;
4. College of Agronomy and Biotechnology,Yunnan Agricultural University,Kunming 650201,China)

Abstract: In order to examine the effects of W_x genes on SOD activity of wheat leaves at grain filling stage, the SOD activities of flag leaf and top second leaf were measured in eight W_x near-isogenic wheat lines. The results showed that the absence of W_x-D1 gene could increase the SOD activity of leaves, but the absence of W_x-A1 and W_x-B1 genes had no significant effect. Although all W_x genes were absent, the SOD activity of W_xABD was relatively higher, so there might be some interaction among the W_x genes. The SOD activity of flag leaf was lower than that of top second leaf in the same period, and it might decrease in the environmental stress.

Key words: wheat; W_x near-isogenic lines; SOD activity; filling stage

植物发育过程中产生一定的活性氧类(ROS)物质,该类物质过量会对植物造成氧化胁迫,使细胞产生细胞水平和分子水平上的不可逆损伤,导致膜流动性的降低和透性的增加、蛋白质功能丧失及 DNA 的损伤与突变,从而造成细胞死亡和异常蛋白质形成,最终对植物体造成伤害^[1]。植物体中的抗氧化酶类对 ROS 的清除起着至关重要的作用,如抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、过氧

化氢酶(CAT)及超氧化物歧化酶(SOD)等。作为植物细胞中最主要的抗氧化酶,SOD 通过催化 O₂⁻ 的歧化反应:2O₂⁻+2H⁺→H₂O₂+O₂,将 O₂⁻ 异化为 H₂O₂ 和 O₂,而 H₂O₂ 又被 APX 和 CAT(前者是主要的)分解为 H₂O 和 O₂,从而解除 O₂⁻ 所造成的氧化胁迫^[2],因而 SOD 具有抗衰老、抗辐射等重要生理作用^[3]。研究表明,当植物遭遇干旱胁迫时,植物体内 SOD 活性上升,且植物的抗旱性越强其 SOD

收稿日期:2014-10-13

基金项目:国家自然科学基金项目(31000712)

作者简介:孔治有(1970-),男,云南腾冲人,副教授,本科,主要从事小麦遗传育种与品质改良研究。

E-mail: kongzhiyou@sina.com

* 通讯作者:覃 鹏(1977-),男,湖北利川人,副教授,博士,主要从事小麦遗传育种与品质改良研究。

E-mail: qinpeng77@163.com

活性上升幅度越大^[4-6];也有试验证明 SOD 活性下降,活性下降越多其抗旱性也越差^[7-11]。

六倍体小麦中的 Waxy 蛋白由 3 个不同的 *Wx* 基因编码,分别位于染色体臂 7AS (*Wx*-A1)、4AL (*Wx*-B1) 和 7DS (*Wx*-D1) 上^[12-15], *Wx* 基因的缺失、突变或遗传表达障碍会使胚乳中直链淀粉含量减少和支链淀粉含量增加,全部缺失的小麦胚乳不含直链淀粉表现为糯性^[10-15]。关于 *Wx* 基因对小麦淀粉品质及食品品质的影响已有较多研究,但目前尚无 *Wx* 基因对其他生理生化特性影响的报道。鉴于此,以小麦 *Wx* 近等基因系为材料,研究了 *Wx* 基因对小麦灌浆期叶片 SOD 活性的影响,明确 *Wx* 基因的缺失是否会引起 SOD 活性的改变、并最终导致小麦抗逆性的变化,以期为小麦 *Wx* 基因的深入研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

8 个小麦 *Wx* 近等基因系(宁麦 14 回交后代,表 1)种植于保山学院基地。

表 1 8 个小麦 *Wx* 近等基因系

基因型	<i>Wx</i> 基因		
	<i>Wx</i> -A1	<i>Wx</i> -B1	<i>Wx</i> -D1
野生型	+	+	+
<i>WxA</i>	-	+	+
<i>WxB</i>	+	-	+
<i>WxD</i>	+	+	-
<i>WxAB</i>	-	-	+
<i>WxAD</i>	-	+	-
<i>WxBD</i>	+	-	-
<i>WxABD</i>	-	-	-

注: +, 显性; -, 隐性。

1.2 方法

试验设叶位(A:倒 2 叶、旗叶)、基因型(B:8 个基因型)、取样时间(C:5 个取样时间)3 个因素,从开花后第 0、10、20、30、40 天取样,每种基因型每次取 5 个单株(即 5 次重复)的旗叶和倒 2 叶。SOD 活性采用氯化硝基四氮唑蓝法^[16]进行测定。

数据以 SAS 9.0 进行统计分析,显著性检验为 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 不同 *Wx* 基因型对小麦叶片 SOD 活性的影响

在叶位、基因型和取样时间 3 个处理因素中,除基因型与叶位互作、基因型与取样时间互作外,SOD 活性受任何单一因素或两因素互作的影响均达到极显著水平(表 2)。

8 个基因型中, *WxABD* 的 SOD 活性最高, *WxD*

次之,野生型、*WxA*、*WxB* 和 *WxAD* 较低(表 3)。

2.2 *Wx* 基因对不同灌浆期小麦叶片 SOD 活性的影响

据测定,SOD 活性随灌浆时间延长先增加后降低,以花后 20 d 达最大值(表 4),花后不同测定时之间 SOD 活性差异均达到显著水平。

表 2 处理因素间方差分析

变异来源	平方和	df	均值	F 值	P 值
A	72 869.79	1	72 869.786	71.105	0.000
B	33 724.98	7	4 817.855	4.701	0.001
C	769 228.10	4	192 307.020	187.650	0.000
A × B	11 654.46	7	1 664.923	1.625	0.170
A × C	26 714.91	4	6 678.727	6.517	0.001
B × C	41 564.65	28	1 484.452	1.449	0.166

表 3 基因型间 SOD 活性差异显著性比较(LSD)

基因型	SOD 活性/(U/mg)
野生型	152.284eC
<i>WxA</i>	150.790eC
<i>WxB</i>	155.214eC
<i>WxD</i>	195.508aAB
<i>WxAB</i>	184.577abABC
<i>WxAD</i>	155.196eC
<i>WxBD</i>	158.688bcBC
<i>WxABD</i>	205.516aA

注: 数据后不同大、小写字母表示差异达 0.01、0.05 显著水平,下同。

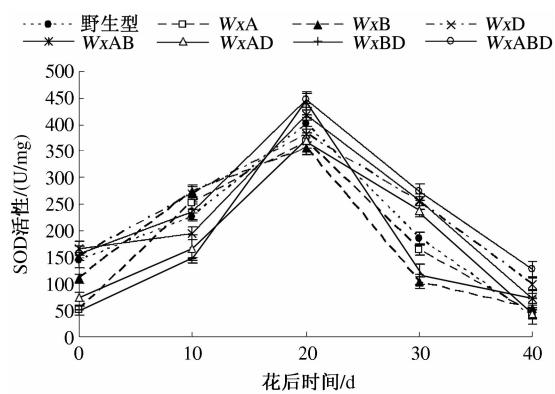
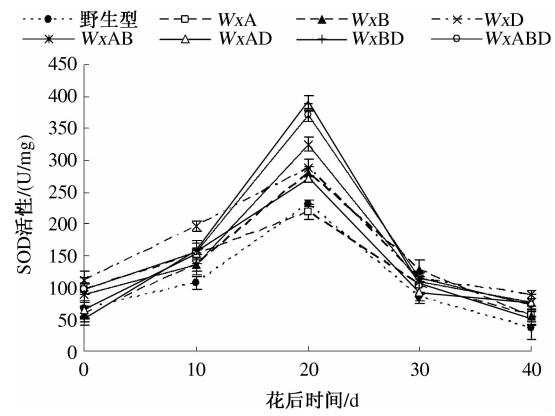
表 4 不同灌浆时间叶片 SOD 活性变化

花后时间/d	SOD 活性/(U/mg)
0	96.149dD
10	185.224bB
20	347.411aA
30	152.898eC
40	66.926eD

2.3 *Wx* 基因对不同叶位小麦叶片 SOD 活性的影响

随灌浆时间的延长,小麦 8 个 *Wx* 基因型倒 2 叶 SOD 活性先逐渐增加,到花后 20 d 达到最大,此后急剧降低且始终维持降低趋势(图 1)。所有基因型尽管 SOD 活性变化趋势一致,但活性水平有较大差异,其中花后 20 d、30 d *WxB* 的 SOD 活性低于同时期其他基因型。

随灌浆时间的延长,小麦各 *Wx* 基因型旗叶 SOD 活性变化趋势与倒 2 叶基本一致,开花后先缓慢增加,花后 10 d 开始急剧增加,在花后 20 d 达到最大值,此后迅速降低,花后 30 d 起降低趋势减缓(图 2)。在所有基因型中, *WxBD* 的 SOD 活性开花时较低,但花后 20 d 迅速升高超过其他基因型,此后迅速降低,到花后 30 d 即与其他基因型相当; *WxA* 在整个灌浆期间 SOD 活性均很低。

图1 小麦W_x近等基因系灌浆期倒2叶SOD活性图2 小麦W_x近等基因系灌浆期旗叶SOD活性

3 结论与讨论

SOD是最为重要的清除活性氧的保护酶,其活性强弱反映了植物抗逆境及衰老的能力。本试验中叶位、基因型和取样时间均对SOD活性产生较大影响,其中全糯型(W_xABD)的活性最高,而W_xA最低,W_x-D1基因的缺失很大程度上可增加植株SOD活性,而W_x-A1和W_x-B1基因缺失对叶片SOD活性无显著影响。SOD活性随灌浆时间延长先增加后降低,以花后20 d达最大值,此后急剧降低,其中W_xA大多低于同时期其他基因型,表明W_x-A1基因缺失后植株SOD活性一直维持在较低水平,可能导致小麦植株对逆境抵抗能力的降低。W_xABD丧失了所有W_x基因,其SOD活性理论上应低于W_xD(因W_x-D1基因的缺失很大程度上可增加植株SOD活性,而另2个W_x基因缺失会降低SOD活性或影响不大),但实际上W_xABD植株的SOD活性一段时期内相对更高,其原因可能是几个W_x基因之间存在互作关系,有待于进一步研究证明。

所有W_x基因型在相同灌浆时间均表现为旗叶SOD活性低于倒2叶,表明旗叶可能更多地进行光合作用形成光合产物供给小麦籽粒以最终形成淀粉,从而在一定程度上削弱了其抵抗逆境的能力,此

外在高光强下进行光合、光呼吸等也可造成小麦叶片的损伤,从而最终导致SOD活性普遍偏低;而倒2叶处于群体内部,很多环境因子如紫外线、水分条件等较旗叶相对更好,因此能维持较高的SOD活性。由此推断,SOD活性在不利环境下可能降低。

参考文献:

- [1] 秦小琼,贾士荣.植物抗氧化逆境的基因工程[J].农业生物技术学报,1997,5(1):14-21.
- [2] 覃鹏,刘飞虎,梁雪妮.超氧化物歧化酶与植物抗逆性[J].黑龙江农业科学,2002(1):31-34.
- [3] 段文贵.超氧化物歧化酶的研究概况[J].广西大学学报:自然科学版,1994,19(4):347-351.
- [4] 王建华,刘鸿先,徐同.超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用[J].植物生理学通讯,1989(1):1-7.
- [5] 周瑞莲,王刚.水分胁迫下豌豆保护酶活力变化及脯氨酸积累在其抗旱中的作用[J].草业科学,1997,6(4):39-43.
- [6] van Rensberg L, Kruger G H J. Evaluation of components of oxidative stress metabolism for use in selection of drought tolerant cultivars of *Nicotiana tabacum* L [J]. Journal of Plant Physiology, 1994, 143(6):730-737.
- [7] 邵云枝,杜勇军.干旱胁迫下黄瓜及蚕豆膜透性改变及其机理的初步研究[J].陕西农业科学,1997(4):6-7.
- [8] 许东河,李东艳,程舜华.大豆超氧化物歧化酶(SOD)活性与其抗旱性关系研究[J].河北农业技术师范学院学报,1991,5(3):1-3.
- [9] 杨特武,鲍健寅,何光明,等.干旱胁迫下白三叶器官生理特性变化及其SOD在抗旱中的作用[J].中国草地,1997(4):55-61.
- [10] 蒋明义,郭绍川.水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用[J].植物生理学通讯,1996,32(2):144-150.
- [11] 韩阳,王秋雨,韩光燮.植物叶片SOD活性分析及植物抗性等级的划分[J].辽宁大学学报,1995,22(2):71-74.
- [12] Anisworth C, Tarvis M, Clark J. Isolation and analysis of cDNA clone encoding the small subunit of ADP-glucose pyrophosphorylase from wheat[J]. Plant Molecular Biology, 1993, 23:23-33.
- [13] Nakamura T, Yamamori M, Hirano H, et al. Identification of three waxy proteins in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Biochemical Genetics, 1993, 31(1/2):75-86.
- [14] Yamamori M, Endo T R. Variation of starch granule proteins and chromosome mapping of their coding genes in common wheat [J]. Theor Appl Genet, 1996, 93:275-281.
- [15] Sun C, Puthigae S, Staffan A, et al. The two genes encoding starch-branched enzymes IIa and IIb are differentially expressed in barley [J]. Plant Physiology, 1998, 118:37-49.
- [16] 覃鹏.转基因SOD高表达烟草抗旱性研究[D].昆明:云南大学,2003.