

高温胁迫对不同小麦品种幼苗叶片中 抗氧化酶活性的影响

陈小霞, 李 磊, 牛洪斌, 尹 钧

(河南农业大学 国家小麦工程技术研究中心, 河南 郑州 450002)

摘要: 以 2 个耐热性存在差异的小麦品种中国春和偃展 4110 为材料, 采用 42℃ 高温对 4 叶 1 心幼苗进行时间梯度胁迫处理, 研究高温胁迫对小麦幼苗叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性的影响。结果表明, 高温胁迫可显著诱导小麦叶片中 SOD 和 POD 活性, 并表现为先升后降, CAT 的活性总体呈现下降趋势; 抗氧化酶活性在 2 个品种间存在差异, 偃展 4110 的 SOD 和 CAT 活性显著高于中国春, 而中国春的 POD 活性在胁迫早期与偃展 4110 无显著差异, 胁迫后期显著高于偃展 4110。

关键词: 小麦; 幼苗; 高温胁迫; 抗氧化酶活性

中图分类号: S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2008)12-0038-04

Changes of Antioxidant Enzymes Activity in Wheat Seedlings Leaves under High Temperature Stress

CHEN Xiao-xia, LI Lei, NIU Hong-bin, YIN Jun

(National Engineering Research Center for Wheat, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: In order to elucidate the antioxidation mechanism of wheat subjected to high temperature stress, changes of antioxidant enzymes activity under high temperature stress at seedling stages were studied by using two different heat-tolerance wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars, Chinese Spring and Yanzhan 4110. The results showed that the activity of SOD and POD in heat-stressed wheat leaves increased significantly in both cultivars, while heat stress caused a progressive inhibition of the activity of CAT in high temperature treatments comparing with the un-treatment control. The results also showed that the activity of SOD and CAT in Yanzhan 4110 were significantly higher than that in Chinese Spring. During the early stage of heat stress the activity of POD showed no significant difference in the two wheat cultivars, while in the last 2 hours the activity of POD in Chinese Spring was higher than that of Yanzhan 4110 significantly.

Key words: Wheat (*Triticum aestivum* L.); Seedlings; Heat stress; Antioxidant enzymes activity

高温胁迫是农业生产上广泛存在的世界性难题, 作物在生育期内遭遇短暂或持续高温胁迫将对植物体产生一系列的伤害, 诸如形态异常、生理生化变化, 影响植物的生长和发育^[1, 2]。小麦属于喜凉作物, 生长期遭遇高温逆境, 尤其是籽粒灌浆期高温胁迫将严

重影响小麦产量并降低品质^[3~5]。近年来, 随着全球工业化程度的提高, 受温室气体排放量增加等因素引起的全球气温持续上升日渐严峻。据权威研究机构预测, 至 21 世纪末全球温度平均上升 1.4~5.8℃^[6]。研究表明, 不同遗传背景的小麦品种间耐热性存在显

收稿日期: 2008-10-08

基金项目: 河南省科技攻关项目(30200302)

作者简介: 陈小霞(1981-), 女, 河南安阳人, 硕士, 主要从事麦类作物抗逆生理及分子改良研究。

著性差异,为通过遗传改良途径提高耐热性小麦品种提供了可能^[7]。决定小麦品种耐热性强弱的因素众多,其中负责清除高温胁迫产生的活性氧的抗氧化酶类的活性高低在一定程度上能够反映出特定小麦品种的耐热性,并可作为品种耐热性鉴定的指标之一。为此,研究了小麦苗期高温胁迫下主要抗氧化酶活性的变化,以期小麦耐热性的生理生化机制和小麦耐热性育种提供有益探索。

1 材料和方法

1.1 供试材料及其培养

供试小麦品种为耐热性弱的中国春和耐热性强的偃展 4110。选取籽粒饱满的小麦种子,以 0.1% HgCl₂ 表面消毒 10 min,无菌水充分冲洗后于 25℃培养箱中暗发芽,发芽后选择芽长一致的种子,用 Hoagland 营养液置于光照培养箱中水培,温度设置为 25℃/22℃(昼/夜),每天光照 12 h,光照强度为 300 μmol/(m²·s),相对湿度为 60%。

1.2 试验处理

当幼苗长至 4 叶 1 心时,选取生长一致的健壮幼苗进行 42℃连续高温胁迫处理,以未处理为对照,并于 0, 2, 4, 6 h 时取倒 2 叶进行各项指标测定。每个处理 20 株,3 次重复。

1.3 生理生化指标的测定

SOD 活性采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法测定^[8],CAT 活性采用紫外吸收法测定^[9],POD 活性采用愈创木酚显色法测定^[8]。

1.4 数据分析

试验所得数据用 SPSS 13.0 统计软件进行方差和平均数差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对不同小麦品种幼苗叶片中 SOD 活性的影响

SOD 的主要功能是催化 O² 发生歧化反应,从而清除 O² 对细胞的毒害。从图 1 可知,在 42℃连续高温胁迫下小麦幼苗叶片中 SOD 活性呈现出先升后降的 S 型变化趋势,但是两者的活性始终高于对照。胁迫 2 h 中国春和偃展 4110 叶片中 SOD 活性分别为对照的 1.64 倍和 1.29 倍;胁迫 4 h 和 6 h,活性分别比对照提高了 16.02%和 2.7%,6.94%和 17.26%。从图 1 还可看出,在整个高温处理期间,偃展 4110 的 SOD 活性始终高于中国春,处理 0 h, 2 h, 4 h 和 6 h 时,偃展 4110 的活性分别比中国春高 45.68%,

14.21%, 28.91%和 59.73%,表明在高温胁迫下偃展 4110能够保持较高的 SOD 活性缓解高温胁迫对细胞的伤害。

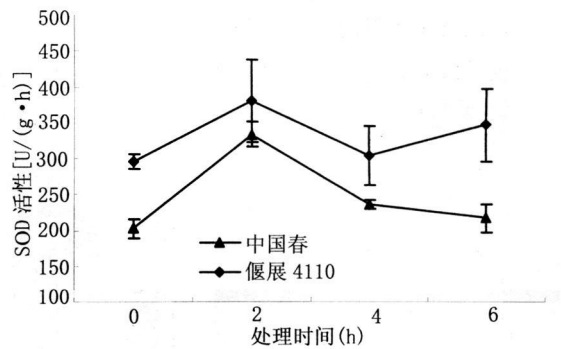


图 1 高温胁迫下不同小麦品种幼苗叶片中 SOD 活性的变化

2.2 高温胁迫对不同小麦品种幼苗叶片中 CAT 活性的影响

CAT 是负责清除植物体内 O[·] 的主要酶类。从图 2 可看出,在高温胁迫下,2 个供试品种的活性变化呈现出较大的差异,主要表现为:初始期(0 h)偃展 4110 的活性是中国春的 3.81 倍,差异达极显著水平(P<0.01);在 42℃连续高温胁迫下,偃展 4110 的活性逐步递降,而中国春呈现先降一后升一再下降的 S 型变化趋势;在各处理时间段内,偃展 4110 的活性始终高于中国春,尤其是在处理 0 h, 2 h 和 6 h 时两者的差异达极显著水平(P<0.01)。上述 CAT 活性变化说明偃展 4110 比中国春具有较强适应高温胁迫的能力。

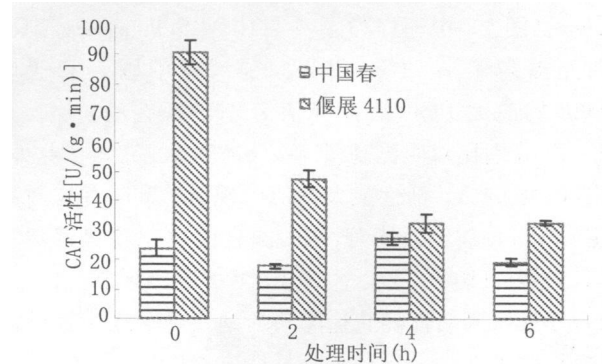


图 2 高温胁迫下不同小麦品种幼苗叶片中 CAT 活性的变化

2.3 高温胁迫对不同小麦品种幼苗叶片中 POD 活性的影响

在 42℃连续高温胁迫下,2 个供试小麦品种幼苗叶片中 POD 的活性均呈现出先升后降的趋势。图 3 显示,初始期偃展 4110 和中国春 POD 的活性分别为 26.16 U/(g·min)和 29 U/(g·min),随着

处理时间的延长酶活性呈现出缓慢上升, 两者的峰值分别为31.53U/(g·min)和42.97U/(g·min), 此后酶活性逐渐下降并维持在较高的水平。从图3还可看出, 处理2h时, 偃展4110的POD活性略高于中国春($P>0.05$), 而在其他处理时间, 中国春的POD活性均高于偃展4110, 并且在处理4h和6h时差异达显著水平($P<0.05$)。

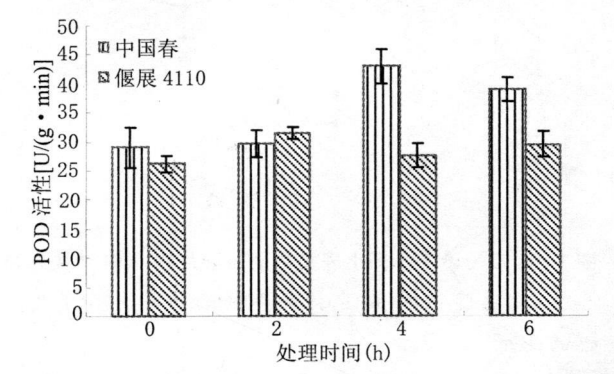


图3 高温胁迫下不同小麦品种幼苗叶片中POD活性的变化

3 讨论

植物体在遭受高温胁迫后, 细胞内将积累大量的活性氧, 诱使细胞内合成表达抗氧化酶类以消除/缓解活性氧对细胞的毒害作用。作为内源性保护酶, SOD负责催化 O^2 转变为 H_2O_2 , 并在过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)的作用下将其分解为 H_2O 和 O_2 , 消除高温胁迫产生的活性氧对细胞的伤害。本研究同样发现, 高温胁迫可以有效地诱导SOD和POD的产生, SOD活性的最大峰值均出现在胁迫2h后(图1), 中国春和偃展4110的SOD活性分别比对照提高了64.14%和28.68%, 而中国春和偃展4110的最大POD活性峰值分别出现在胁迫4h和2h, 并分别比对照提高了48.16%和20.52%。此外, 中国春的CAT活性最大峰值出现胁迫4h, 并比对照提高了14.16%。然而, 与中国春的变化趋势截然不同, 偃展4110的最大CAT活性峰值出现在0h(图2), 导致该酶活性随胁迫时间的延长呈现逐步递减的趋势, 这可能是由品种本身特性决定的。

已有研究报道表明, 不同遗传背景的小麦品种间的耐热性存在较大的差异, 这种差异是由众多因素共同作用的结果, 其中, 清除活性氧的抗氧化酶类的活性高低在一定程度上决定了具体品种的耐热性。本研究同样发现, 耐热性较强的品种偃展4110的SOD和CAT的活性均显著高于热敏感品种中国春的活性, 并且在多数测定时间两品种活性差异

达显著或极显著水平。虽然偃展4110的CAT活性随着处理时间的延长而逐渐降低, 但是该酶活性的初始值(0h)是中国春的3.81倍, 并且始终高于中国春, 从而保证偃展4110有效地清除活性氧。除CAT之外, 清除 H_2O_2 的酶类还包括POD, 并且与CAT相比, 该酶与 H_2O_2 具有较高的亲和力^[10], 但是POD具有双重作用, 一方面可以清除 H_2O_2 , 另一方面可以参与叶绿素的降解, 产生活性氧并引发膜脂过氧化^[11], 胁迫条件下POD活性的迅速升高是植物衰老到一定阶段的产物, 表现为伤害作用, 甚至可以作为衰老的指标^[9, 12]。此外, 施大伟^[13]和姜春明^[14]发现, 衰老期小麦旗叶的POD活性迅速上升, 并认为是引起旗叶早衰的重要原因。与偃展4110相比, 热敏感品种中国春的POD活性普遍较高, 尤其是在处理后该酶的活性显著高于前者(图2), 这可能是连续进行高温胁迫已对热敏品种中国春幼苗产生了严重伤害, 幼苗处于衰老、死亡阶段, POD的作用主要体现在加速细胞内组分的降解和活性氧的产生, 表现为伤害作用, 其作用产物进一步加速高温胁迫下小麦幼苗的衰老死亡, 而在胁迫后期偃展4110的POD活性较低是由于该品种具有较强的耐热性, 现有胁迫条件还未使其进入快速衰老的阶段, POD的伤害效应还未体现。在高温胁迫条件下, 研究热敏感品种中国春和耐热品种偃展4110叶片中抗氧化酶类活性的差异, 将有助于对耐热性小麦品种进行早期鉴定和筛选。

参考文献:

[1] John R P, Megan G. Temperatures and the growth and development of wheat: a review [J]. European Journal of Agronomy, 1999, 10: 23—36.

[2] Wahid A, Gelania S, Ashrafa M, *et al.* Heat tolerance in plants: An overview [J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 61(3): 199—223.

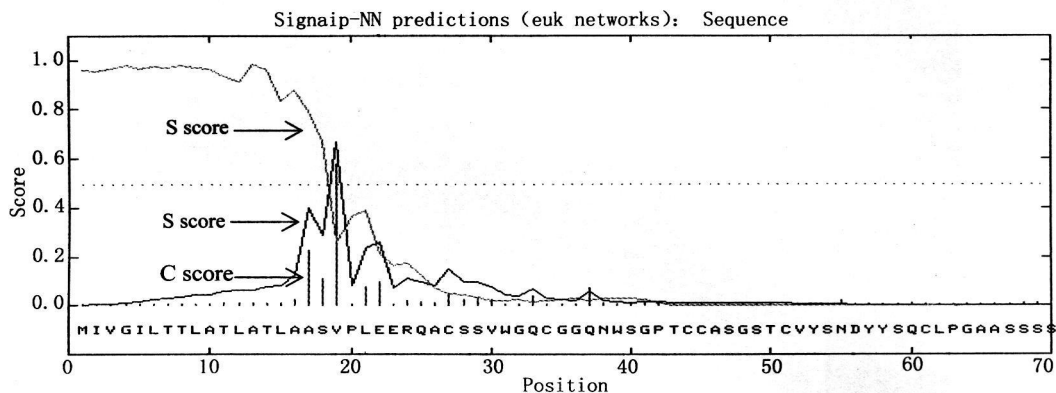
[3] Ferris R, Ellis R H, Wheeler T R, *et al.* Effect of high temperature stress at anthesis on grain yield and biomass of field grown crops of wheat [J]. Plant Cell Environ, 1998, 34: 67—78.

[4] Perrotta C, Treglia A S, Mita G, *et al.* Analysis of mRNAs from ripening wheat seeds: the effect of high temperature [J]. J Cereal Sci, 1998, 27: 127—132.

[5] 王海燕 左灵芝 郝素华. 河南省小麦生长后期青枯、干热风 and 倒伏的防御 [J]. 河南农业科学 1999(3): 7—8.

[6] Houghton J T, Ding Y, Griggs D J, *et al.* Climate Change 2001: Scientific Basis[M]. Cambridge University Press, New York, USA, 2001: 537.

(下转 58 页)



C score: 酶切位点; 数值越高说明其作为酶切位点的可能性越高; S score: 氨基酸数值; 越高说明该氨基酸作为信号肽部分的可能性越高; Y score: C 值和 S 值的派生值, 更准确地确定酶切位点, 数值最高处为酶切位点

图 5 CBH II 蛋白信号肽分析(SignalP- NN 分析结果)

取方法研究较少, 本研究选用与真菌细胞结构较为接近的植物的 RNA 提取方法成功地提取了康宁木霉总 RNA。试验中发现, 在 RNA 提取时的起始菌体量不能过高, 否则会导致 RNA 的迅速降解, 将严重影响 RNA 的完整性和得率。

参考文献:

[1] 陈书峰, 赵亮, 刘德华. 绿色木霉在稻壳和麸皮混合基质上固态发酵生产纤维素酶的研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30 (1): 9—12.

[2] 张煜, 刘刚, 余少文. 里氏木霉纤维二糖水解酶 II 在毕赤酵母中的高效表达[J]. 菌物学报, 2005, 24 (3): 367—375.

[3] 刘北东, 杨谦, 周麒. 绿色木霉 AS313711 的葡聚糖内切酶基因的克隆与表达[J]. 环境学报, 2004, 9(2): 127—133.

[4] Wang T H, Liu T, Wu Z H. Novel cellulase profile of *Trichoderma reesei* strains constructed by *cbhl* gene replacement with *eg3* gene expression cassette[J]. Acta

Biochim Biophys Sin, 2004, 36(10): 667—672.

[5] Seiboth B, S Hakola, R L Mach. Role of four major cellulases in triggering of cellulase gene expression by cellulose in *Trichoderma reesei*[J]. Journal of Bacteriology, 1997, 179(17): 5318—5320.

[6] Kubicek-Pranz E M, Gruber F, Kubicek C P. Transformation of *Trichoderma reesei* with the cellobiohydrolase II gene as a means for obtaining strains with improved cellulose productivity and specificity[J]. Journal of Bacteriology, 1991, 20: 83—94.

[7] Fritscher C, Messner R, Kubicek C P. Cellobiose metabolism and cellobiohydrolase I biosynthesis in *Trichoderma reesei*[J]. Experimental Mycology, 1990, 14: 451—461.

[8] Mach R L, Seiboth B, Myasnikov A, et al. The *bgII* gene of *Trichoderma reesei* QM9414 encodes an extracellular, cellulose-inducible-glucosidase involved in cellulase induction by sophorose[J]. Molecular Microbiology, 1995, 16: 687—697.

(上接第 40 页)

[7] Maheswari M, Joshi D K, Saha R, et al. Transverse relaxation time of leaf water protons and membrane injury in wheat (*Triticum aestivum* L.) in response to high temperature[J]. Annals of Botany, 1999, 84: 741—745.

[8] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 164—167.

[9] Chance B, Maddy A C. Assay of ascorbate peroxidase [M] // Method of Enzymology. Academic Press, New York, USA, 1955: 755—764.

[10] 杜秀敏, 殷文璇, 赵彦修, 等. 植物中活性氧的产生及

清除机制[J]. 生物工程学报, 2001, 17(2): 121—124.

[11] 许长成, 邹琦. 大豆叶片早促衰老及其与膜脂过氧化关系[J]. 作物学报, 1993, 19(4): 359—364.

[12] Yan C—S. Antioxidant responses to water stress in plant leaves [J]. J Yantai Normal Univ (Nat Sci), 2002, 18(2): 220—225.

[13] 施大伟, 陈国祥, 张成军, 等. 两种高产小麦旗叶自然衰老过程中生理特性的比较[J]. 西北农业学报, 2005, 14(2): 23—26.

[14] 姜春明, 尹燕桦, 刘霞, 等. 不同耐热性小麦品种旗叶膜脂过氧化和保护酶活性对花后高温胁迫的响应[J]. 作物学报, 2007, 33(1): 143—148.