

影响报道较多,但未见到对损伤力最强的·OH 清除能力影响的报道;在自然条件下,干旱的发生存在间断与持续等不同方式,但文献报道中,关于模拟这些自然存在的不同干旱方式对植物损伤情况的研究却非常少。

因此,笔者拟研究不同的干旱方式(间断干旱与持续干旱)对小麦 3 种活性氧清除能力的影响,以比较不同干旱方式的异同及对 3 种活性氧清除能力的异同。

1 材料和方法

1.1 供试材料

小麦品种为郑麦 9023,试剂均为分析纯。

1.2 材料的培养与处理

种子经常规消毒、浸种、催芽后,选长势一致的幼苗用水培法种植,采用 Hoagland 培养液,用 20 cm×7 cm 无色透明聚乙烯塑料盆作培养容器(容量:1400 mL),将略大于培养盆的用铁丝固定的纱网置于其上,把发芽后的小麦种子均匀洒在上面,平均温度 25℃,平均湿度 74%,自然光培养,每 4 d 更换一次营养液,在整个培养期间使用加氧泵从水下通入新鲜空气。

将 10 d 苗龄小麦苗分为 3 组进行处理,处理当天为第 1 天,干旱方式:采用将小麦幼苗从营养液中取出置于空气中自然干旱。间断干旱,小麦每天处理 4 h,之后放回营养液中,连续 6 d,测定处理前,处理 8 h(2 d),处理 24 h(6 d)小麦幼苗的各项指标。为了检测每次间断干旱的影响,测定了第 3 天间断干旱处理前、干旱处理 4 h 及复水 2 h 的各项指标。持续干旱小麦在第 3 天处理,干旱 24 h,之后进行复水处理,测定干旱前、干旱 24 h、复水 6 h 及复水 72 h 小麦幼苗的各项指标。

1.3 指标测定

1.3.1 含水量的测定 方法按文献[7],略改动。

含水量(WC)计算: $WC = (FW - DW) / FW \times 100\%$

1.3.2 ·OH 清除能力测定 根据 Fenton 反应原理,即 H_2O_2 / Fe^{2+} 生成的·OH 进攻水杨酸分子的苯环,产生 2,3-二羟基苯甲酸(茶色溶液),在 510 nm 处测定其吸光度,可以反映·OH 的量和待测物质对·OH 的清除率^[8]。

1.3.3 O_2^- 清除能力测定 用 NBT 法,根据抑制率高下来研究小麦对 O_2^- 的清除能力^[9]。

1.3.4 H_2O_2 清除能力测定 采用紫外吸收法,测量 240 nm 吸光率的变化速度即可测出过氧化氢的

活性^[10]。

1.3.5 数据处理 为排除干旱引起的叶片鲜重变化的影响,3 种活性氧清除能力均以每毫克干重叶片的清除率或活力单位表示。所有数据以平均值±SD 表示,做 t 测验。每组指标重复 3 次,每次 3 个平行。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对小麦叶片·OH 清除能力的影响

由图 1 可知,正常生长小麦叶片·OH 清除能力基本在 2%左右,而根为 4%左右(图未列出),说明根具有较强的·OH 清除能力。持续干旱胁迫使小麦叶片·OH 清除率发生明显的变化,持续干旱 24 h 后,小麦叶片的清除率上升至 8.1%,上升幅度大于根;且复水后直至 72 h 一直维持在较高水平(图 1A)。根与叶反应不同,其·OH 清除率在复水后进一步上升,复水 72 h 恢复至正常水平(图未列出)。说明持续干旱对叶的影响较持久。

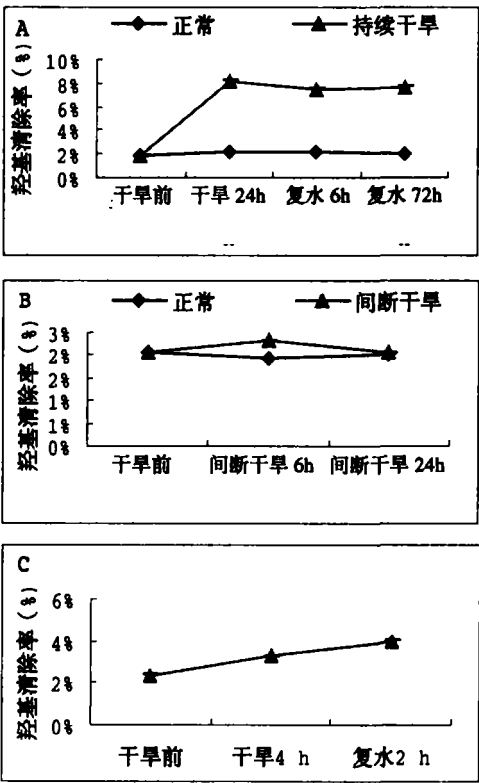


图 1 干旱胁迫对小麦叶片·OH 清除能力的影响

间断干旱对小麦幼苗叶·OH 清除能力影响较小,初期(间断干旱 8 h)有轻微上升,后期下降,间断干旱 24 h 恢复至正常水平(图 1B)。间断干旱 4 h 及复水 2 h 的测定结果表明,短期干旱及复水均导

致小麦幼苗叶片·OH清除能力上升,为干旱前的1.7倍(图1c)。根·OH清除能力表现为下降,与叶反应不同(图未列出)。

2种干旱方式均可导致小麦·OH清除能力上升,但持续干旱对小麦影响较大,持续干旱24h使小麦·OH清除能力提高4.3倍,而间断干旱24h·OH清除能力与对照持平,说明持续干旱导致·OH清除能力变化幅度大,且可延续到复水后相当长的一段时间。

2.2 干旱胁迫对小麦叶片O₂⁻清除能力的影响

从图2可以看出,正常生长小麦叶片的O₂⁻清除率基本维持在35%左右,根的O₂⁻清除率是叶的2倍(70%左右,图未列出);持续干旱胁迫使小麦叶片的O₂⁻清除率发生较大变化,干旱24h后清除率上升了2.2倍,由35%上升至77%;复水6h清除率略有下降(72%),复水72h清除率下降较多(43%),但仍高于对照(31%)(图1A)。根的O₂⁻清除率复水6h即下降至对照水平,而复水72h已恢复至正常水平(图未列出),说明叶O₂⁻清除率对干旱的反应较根滞后。

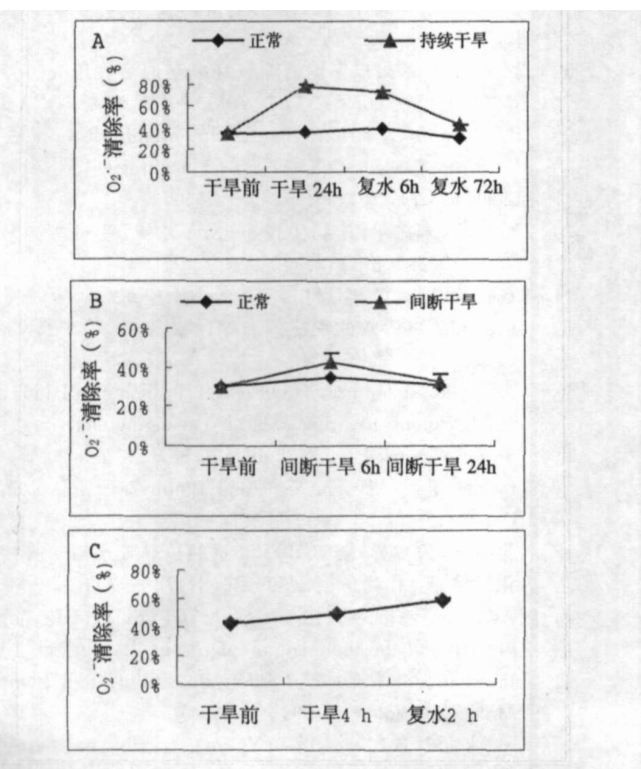


图2 干旱胁迫对小麦叶片O₂⁻清除能力的影响

间断干旱胁迫小麦叶片的O₂⁻清除率在处理过程中呈现轻微上升趋势,间断干旱24h后清除率较对照略有上升(图1B)。单次间断干旱4h及复水2h清除率均轻微上升(图1C)。根与叶反应趋势相

同。结果表明,2种干旱方式均可导致小麦O₂⁻自由基清除能力提高,但持续干旱对小麦影响更大,O₂⁻自由基清除能力变化幅度大,且可延续到复水后很长一段时间。

2.3 干旱胁迫对小麦叶片H₂O₂清除能力的影响

从图3可以看出,正常生长小麦叶片的H₂O₂清除能力在处理过程中基本维持在8.5U/mg左右,远远高于根(0.4U/mg,图未列出),为根的21倍;持续干旱胁迫使小麦叶片的H₂O₂清除能力下降,干旱24h后清除率下降1/4,复水初期有所恢复,后期仍维持在较低水平,始终低于对照(图3A)。间断干旱胁迫初期,小麦叶片的H₂O₂清除能力下降,处理后期呈上升趋势,间断干旱24h后略高于对照(图3B)。根与叶不同,整体呈上升趋势。单次间断干旱4h及复水2h清除能力均提高,达处理前的2倍(图3C),根、叶趋势相同。

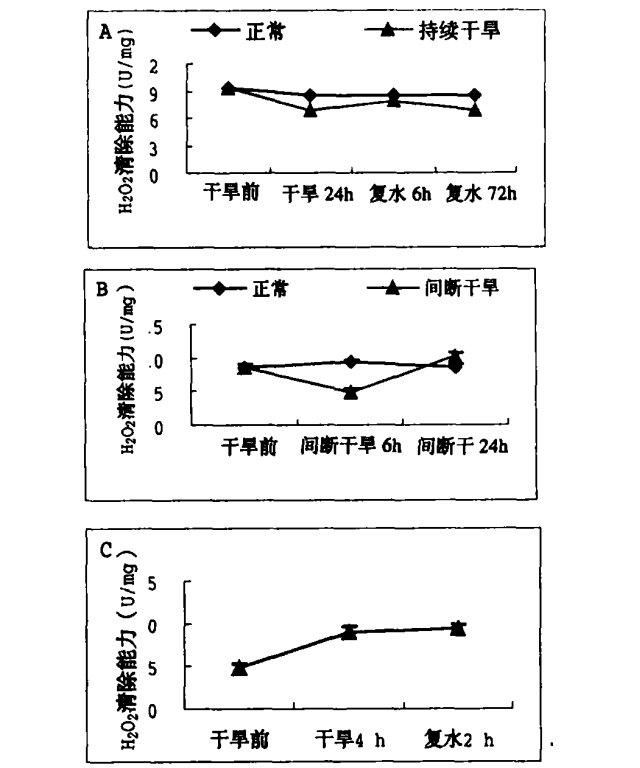


图3 干旱胁迫对小麦叶片H₂O₂清除能力的影响

上述结果表明,2种干旱方式均可导致小麦H₂O₂清除能力下降,但持续干旱24hH₂O₂清除能力仍处于较低水平,而间断干旱24h已恢复至正常水平,说明持续干旱导致的小麦H₂O₂清除能力下降恢复较间断干旱慢,影响时间较长。

3 结论与讨论

在2种干旱处理过程中,小麦叶片·OH,O₂⁻清

除能力都呈上升趋势,而对 H_2O_2 的清除能力呈下降趋势。第 3 天的间断胁迫及复水过程中 3 种活性氧变化趋势一致,均呈上升趋势。总体上持续干旱的影响大于间断干旱。

小麦根 $\cdot\text{OH}$, O_2^- 的清除能力大于叶,而叶 H_2O_2 清除能力大于根;根与叶 $\cdot\text{OH}$, O_2^- 清除能力变化趋势相似,均为上升, H_2O_2 清除能力变化趋势相反,根为上升而叶为下降;根、叶对干旱胁迫响应方式不同,根对干旱胁迫较敏感,响应快速,反应幅度大,而叶则相对滞后。说明小麦的 2 个主要器官——根和叶对干旱胁迫的反应机制不同,敏感程度也不同,根作为直接感受干旱胁迫的器官,对胁迫反应更加敏感。

长时间干旱使植物体内产生更多的活性氧,机体为减少活性氧造成的伤害,应激的产生了更多的活性氧清除剂。目前,一般认为在干旱条件下植物的清除酶超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)是清除 O_2^- 和 H_2O_2 的主要物质,关于其他清除这 2 种活性氧的物质,则报道非常少。而干旱条件下 $\cdot\text{OH}$ 清除能力变化情况则没有相应的报道。

本试验结果显示,干旱过程导致小麦活性氧清除能力提高,持续干旱 24 h 后,小麦叶片 $\cdot\text{OH}$ 和 O_2^- 的清除率分别上升了 4.3 倍和 2.2 倍,说明持续干旱激发了小麦本身的清除能力,这一点与相关文献的报道一致^[9]。关于复水后小麦对活性氧清除能力的变化的报道较少。本研究中, $\cdot\text{OH}$ 和 O_2^- 清除能力在复水后仍维持在较高水平,说明干旱胁迫具有后效应,其影响可持续到胁迫解除后^[11],对于植物损伤的响应和修复抵抗在复水后也可能发生。 H_2O_2 在干旱及复水后均处于较低水平,与 $\cdot\text{OH}$ 和 O_2^- 相反,说明小麦对不同活性氧的清除能力对干旱的响应机制不同, H_2O_2 清除系统的薄弱可能是导致植物损伤的原因。

干旱胁迫使小麦发生应激反应,自身产生抵御活性氧侵害的物质。干旱胁迫会导致多种物质含量增加,如脯氨酸、甘氨酸、瓜氨酸、甜菜碱、海藻糖、还原糖,多胺类化合物等作为渗透调节剂调节渗透压从而抵抗干旱,而目前已经证明,许多在干旱条件下累积的小分子物质同时具有清除活性氧的性质^[12~14],并能使 DNA 和酶免遭损伤^[12]。干旱条件下产生的其他一些蛋白类物质也具有清除活性氧的性质,如 K Akashi 等^[15]曾报道,野生西瓜在干旱胁迫

下产生的 CLMT2 蛋白对 $\cdot\text{OH}$ 具有很强的清除能力。本研究中显示的活性氧清除能力提高,可能是由于干旱胁迫引起以上清除物质产生而导致的。

本研究结果表明,不同干旱方式对小麦活性氧的清除能力影响不同,持续干旱对其影响更大;不同活性氧清除能力对干旱胁迫的响应不同;根和叶对干旱胁迫的响应也不同。

参考文献:

- [1] 余叔文,汤章城.植物生理与分子生物学(第 2 版)[M].北京:科学出版社,1998.
- [2] 郑荣梁,黄中洋.自由基医学与农学基础[M].北京:高等教育出版社,2001:177.
- [3] 赵保路.氧自由基与天然抗氧化剂[M].北京:科学出版社,2001:24-25.
- [4] 冯佰利,高小丽,王长发,等.干旱条件下不同温型小麦叶片衰老与活性氧代谢特性的研究[J].中国生态农业学报,2005,13(4):74-76.
- [5] 邵雪梅,范金梅.树轮宽度资料所指示的川西过去气候变化[J].地理学报,1999,13(1):81-89.
- [6] 刘禹,史江峰,Shishov V,等.以树轮晚材宽度重建公元 1726 年以来贺兰山北部 5~7 月降水量[J].科学通报,2004,49(3):265-269.
- [7] 王万里.植物对水分胁迫的响应[J].植物生理学通讯,1981(5):55-64.
- [8] 张海容.沙棘果皮多糖清除氧自由基的活性研究[J].植物学通报,2005,22(6):703-707.
- [9] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: Inprovided assay applicable to acrylamidgels[J]. Anal Biochemistry, 1971, 44: 276-287.
- [10] 曹仪值,宋占午.植物生理学[M].兰州:兰州大学出版社,1998:105-112.
- [11] 杨贵羽,罗远培,李保国,等.冬小麦根系对水分胁迫期间和胁迫后效的响应[J].中国农业科学,2005,38(12):2408-2413.
- [12] Noriyuki Nishimura, Kinya Akashi, Yoshinori Ishida, et al. Potent hydroxy radical scavenging activity of drought induced type-2 metallothionein in wild watermelon[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2004, 323: 72-78.
- [13] 蒋明义,杨文英,徐江,等.渗透胁迫导致水稻幼苗氧化损伤[J].作物学报,1994,20(6):733-738.
- [14] Avies W J, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil[J]. International Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1991, 42: 55-76.
- [15] K Akashi, C Miyake, A Yokota. Citrulline, a novel compatible solute in drought tolerant wild watermelon leaves is an efficient hydroxyl radical scavenger[J]. FEBS Letters, 2001, 508: 438-442.