

水分是影响作物生长发育及产量的重要环境因子,但水分过多会使植物中活性氧(ROS)水平增高、膜脂过氧化作用加强、生物膜受到伤害、叶绿素含量下降,最终降低作物产量^[1~4]。正常条件下,植物中存在抗氧化保护酶类,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(GR)等,其中,SOD可使植物体内产生的超氧阴离子(O_2^-)歧化生成活性较弱的 H_2O_2 和 O_2 ,然后再由CAT,APX和GR将 H_2O_2 还原为水,降低体内的ROS,使生物体内自由基的生成与清除处于平衡状态而得以维持正常的生理功能^[5]。而水分过多还会引起植株中抗氧化酶活性迅速下降,使ROS快速积累,从而加剧了膜脂过氧化作用^[2,3]。因此,弄清水分胁迫危害作物的生理和生化机制对提高作物产量具有重要意义。为此,我们以抗旱性较强的小麦品种洛旱20为材料,研究了水分胁迫对小麦幼苗叶片中ROS水平和抗氧化酶活性的影响,结果发现,水分胁迫能够显著提高小麦中 O_2^- 的含量及SOD和APX的活性,而MDA和 H_2O_2 的含量及CAT和GR的活性无明显变化。

1 材料和方法

1.1 供试材料

洛旱20小麦种子来自河南大学李锁平教授实验室。

1.2 方法

1.2.1 小麦幼苗的培养方法

用2%次氯酸钠将

小麦种子消毒15 min后去离子水冲洗干净,30℃催芽约24 h,将种子播于蛭石中,在25℃、自然光照下生长。

1.2.2 试剂处理 将生长2周的小麦幼苗分别进行水分胁迫处理0,6 h,12 h和24 h,正常浇水的幼苗作对照,处理后将叶剪下,立即用于其后的研究。

1.2.3 丙二醛(MDA)、ROS和抗氧化酶活性的测定 MDA含量按照Du和Bramlage^[6]的方法测定。 H_2O_2 含量按照Brennan和Frenkel^[7]的方法测定。 O_2^- 含量按照Elster和Heupel^[8]的方法测定。按Jiang和Zhang^[9]的方法制备粗酶液,并测定SOD,CAT,APX,GR的活性。所有操作均在4℃下进行。蛋白质含量根据Bradford^[10]的方法测定。

1.3 统计分析

以上试验3次重复,结果用Student's *t* 检验在0.05 概率水平计算显著性水平。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫对小麦叶片中 H_2O_2 和 O_2^- 含量的影响

研究发现,水分胁迫处理24 h之内,小麦叶片中 H_2O_2 积累虽呈上升趋势,但与对照相比无显著变化(图1A)。而相比之下,水分胁迫处理后, O_2^- 在叶中快速积累,至12 h时含量增加了约5倍,12 h后 O_2^- 含量虽有所下降,但远远高于对照(图1B)。上述结果表明,洛旱20小麦品种在遭受水分胁迫时,叶片中 O_2^- 的积累是活性氧变化的主要因素。

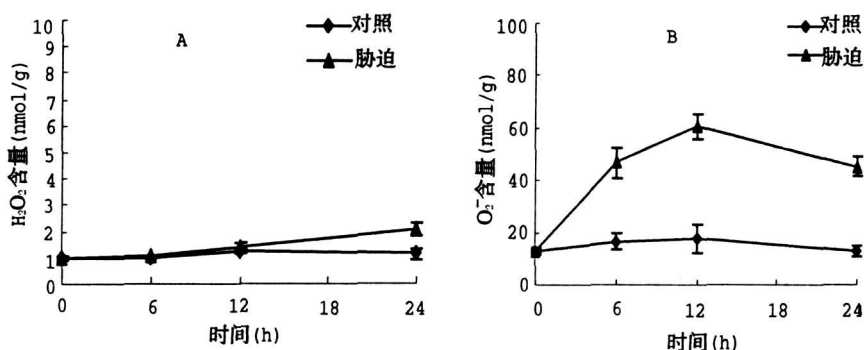


图1 水分胁迫对小麦叶片中活性氧 H_2O_2 (A)和 O_2^- (B)含量的影响

2.2 水分胁迫对小麦叶片中MDA含量的影响

图2显示,水分胁迫处理6 h之内,小麦叶片中MDA含量有明显积累的趋势,至6 h时,叶片中MDA含量比处理前增加了1.3倍,6 h后下降,至12 h时下降到对照水平,随后有一缓慢的上升,至处理24 h时,MDA含量仍然低于6 h的水平。上述结

果表明,洛旱20小麦品种在遭受水分胁迫时,叶片中MDA在12 h前积累较多,12 h后变化不太明显。

2.3 水分胁迫对小麦叶片中抗氧化酶活性的影响

研究发现,短时间水分胁迫就能显著提高洛旱20小麦叶片中SOD和APX的活性(图3A,B)。与对照相比,在水淹处理6 h时,SOD和APX的活

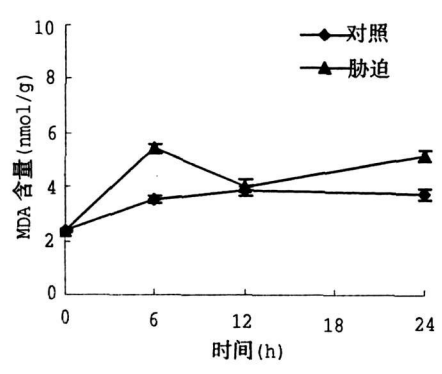


图2 水分胁迫对小麦叶片中MDA含量的影响

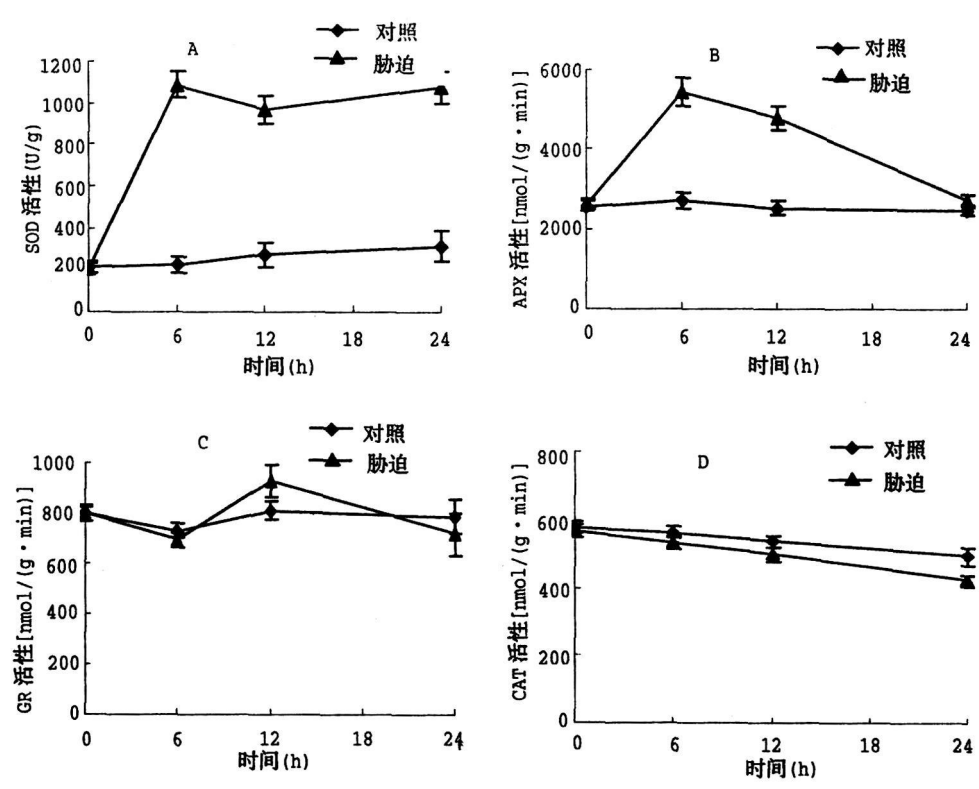


图3 水分胁迫对小麦叶片中SOD(A), APX(B), GR(C)和CAT(D)活性的影响

细胞内各种成分发生反应,引起植物叶片膜和酶的严重损伤,最终会导致膜结构及生理功能的破坏。因此可通过MDA含量的变化来推测植株受伤害的程度。洛旱20小麦是一种抗旱性较强的品种,短时间水分胁迫处理,MDA含量增加了1.3倍,但该含量仍低于以前报道的结果^[3],这可能是洛旱20小麦有较强抗膜脂过氧化能力的原因。另外,目前已经清楚,膜脂过氧化作用与 O_2^- 的产生有关,我们的研究也证实了这一点:短时间水分胁迫处理后,MDA与 O_2^- 的含量都快速增加。

SOD是植物体内很重要的保护酶,对逆境下膜结构和功能完整性有很重要的作用。已有研究报

性比处理前分别增加了4倍和2倍;6h后SOD的活性无显著变化,基本保持在6h的水平(图3A),而APX的活性开始下降,至24h时下降到对照水平(图3B)。而GR和CAT的活性与对照相比无明显差异(图3C,D)。

3 讨论

水分胁迫条件下,由于植株叶片中抗氧化酶(SOD, POD, CAT)活性迅速下降,使ROS快速积累^[2,3],ROS作为一种次级胁迫,可使植物膜脂过氧化。MDA是膜脂氧化的主要产物,能强烈地与

道,涝害可使大麦和小麦中SOD活性下降,并且还发现SOD活性下降可能与膜透性增加有关^[4],并且在玉米中也观察到一致的结果^[1]。而我们的研究发现,短时间水分胁迫处理洛旱20小麦后,SOD和APX的活性均显著升高,这可能是 O_2^- 的快速积累激活了SOD的活性,使胁迫下积累的 O_2^- 快速被转化为活性较弱的 H_2O_2 ;由于APX活性的快速提高,进而将 H_2O_2 还原为水,因此才导致了水分胁迫处理后 H_2O_2 的含量无显著变化的结果。此外,CAT和GR在水分胁迫处理过程无明显变化,可能的原因是这2个酶活性增加的速度与降低的速度大致相同,酶活性的降低是由于清除 H_2O_2 消耗导致

的。上述研究说明, 在洛旱 20 小麦中 SOD 和 APX 在清除水分胁迫诱导的 ROS 中起重要作用。虽然我们的结果与以前报道的结果有一定差异, 这主要是由于品种的抗性存在差异导致的。

综上所述, 我们认为在遭受水分胁迫时, 抗性品种可能由于存在较高的抗氧化酶活性从而提高了抗逆性, 而抗性差的品种由于抗氧化酶活性较低, 才使膜脂过氧化增强, 抗性降低, 这与刘晓忠等^[1] 在玉米上报道的结果一致; 短时间水分胁迫可影响植物体内抗氧化酶的活性, 因此, 抗氧化酶活性的变化可以作为一种耐水分胁迫的生理指标用于抗性品种的选择; 洛旱 20 小麦虽是一抗旱品种, 但也能耐受水分胁迫, 这可能是由于植物对干旱与水分胁迫具有共同的抗性生理机制。

参考文献:

[1] 汪宗立, 刘晓忠, 李建坤, 等. 玉米的涝渍伤害与膜脂过氧化作用和保护酶活性的关系[J] . 江苏农业学报, 1988, 4(3) : 1 - 8.

[2] 王三根, 何立人, 李正玮, 等. 淹水对大麦与小麦若干生理生化特性影响的比较研究[J] . 作物学报, 1996, 22(2) : 228 - 232.

[3] 王晨阳, 马元喜, 周苏玫, 等. 土壤渍水对冬小麦根系活性氧代谢及生理活性的影响[J] . 作物学报, 1996, 22(6) : 712 - 719.

[4] 王群, 尹飞, 李潮海. 水分胁迫下植物体内活性氧自由

基代谢研究进展[J] . 河南农业科学, 2004(10) : 25 - 28.

[5] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance [J] . Trends in Plant Science, 2002, 7: 405 - 410.

[6] Du Z, Bramlage W J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar rich plant tissue extracts[J] . J Agri Food Chem, 1992, 40: 1566 - 1570.

[7] Brennan T, Frenkel C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear[J] . Plant Physiol, 1977, 59: 411 - 416.

[8] Elster E F, Heupel A. Inhibition of nitrite from hydroxylammoniumchloride; a simple assay for superoxide diamutase[J] . Analytical Biochemistry, 1976, 70: 616 - 620.

[9] Jiang M, Zhang J. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings[J] . Plant and Cell Physiology, 2001, 42: 1265 - 1273.

[10] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein dye binding [J] . Annals of Biochemistry, 1976, 72: 248 - 254.

[11] 刘晓忠, 李建坤, 王志霞, 等. 涝渍逆境下玉米叶片超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性与抗涝性的关系[J] . 华北农学报, 1995, 10(3) : 29 - 32.

本刊常用单位符号及换算

依据国家标准, 本刊在刊发稿件中一律使用法定计量单位, 为便于读者阅读, 现将本刊常用单位符号及其换算方法介绍如下:

- 1 长度单位: km= 公里, 千米 m= 米, cm= 厘米, mm= 毫米; 换算: 1 km= 1 000m, 1 m= 100cm= 3 尺, 1 cm= 10 mm
- 2 重量单位: t= 吨或 1 000 kg, kg= 公斤, 千克, g= 克, mg= 毫克; 换算: 1 t= 1 000kg, 1 kg= 1000 g, 1 g= 1 000mg, 500g= 1 市斤, 50g= 1 两
- 3 面积单位: m²= 平方米, hm²= 公顷, cm²= 平方厘米; 换算: 1 hm²= 10 000 m²= 15 亩, 1 亩= 667 m²
- 4 浓度单位: 1mg /kg, mg /L 或 mg · kg⁻¹, mg · L⁻¹, μl · L⁻¹= 1× 10⁻⁶= 1 ppm, 即百万分之一, 不用 ppm 和 1× 10⁻⁶表示
- 5 时间单位: “天、小时、分钟、秒”分别用“d, h, min, s”表示

(本刊编辑部)