

李方安,李鑫,刘静,等.百草枯胁迫对延缓小麦叶片衰老及生理特性的影响[J].江苏农业科学,2013,41(8):76-78.

百草枯胁迫对延缓小麦叶片衰老及生理特性的影响

李方安¹,李鑫²,刘静³,罗培高²

(1. 四川农业大学农学院植物生理教研室,四川成都 611130; 2. 四川农业大学作物生物工程实验室,四川成都 611130;

3. 四川农业大学生命科学与理学院,四川雅安 625014)

摘要:以小麦品种川农 18 和川麦 107 灌浆期上旗叶为材料,通过不同浓度的百草枯(0、5、10、50、100、500 $\mu\text{mol/L}$)的胁迫,检测小麦叶绿素含量、抗氧化酶活性及丙二醛含量等抗氧化系统的生理生化指标,探讨小麦抗衰老的机制。试验结果表明,适当浓度(5、10 mg/L)的百草枯处理能够激活小麦叶片抗氧化酶活性,由于抗氧化酶系统被激活,植物组织中的 H_2O_2 及 O_2^- 含量降低,从而保护了植物体中的叶绿素,使 50 mg/L 处理组的叶绿素含量有所增加,同时,有效降低了膜脂的过氧化程度,使 10、50 mg/L 处理组的 MDA 含量明显减少。此外,与川麦 107 相比较,川农 18 对百草枯具有更强的抗性,具有更强的抗氧化及抗衰老能力。

关键词:百草枯;小麦;延缓衰老;生理特性

中图分类号: S512.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-0076-03

小麦籽粒产量的形成主要来自小麦上旗叶的光合同化产物,但是小麦籽粒灌浆时期正伴随着叶片衰老过程,在叶片衰老过程中,叶片生理生化指标会发生一系列变化,主要表现在叶片叶绿素含量、丙二醛含量以及植物体内各种酶促清除系统活性的变化。已有研究表明,小麦叶片在衰老过程中叶绿素大量丧失,叶绿体相继出现降解^[1]。在衰老过程中 O_2^- 可以直接引发叶绿素破坏。除草剂作为一种外源物质,对小麦生理生化特性也存在不同程度的影响,同时小麦叶片的衰老缩短了有效光合作用持续期进而造成产量的大幅下降^[2-4]。现已有多项研究表明,用化学除草剂后会对目标作物的养分吸收、转化、产量、品质及生理生化等产生一定影响^[5-8]。国外也有相关研究表明,使用百草枯等非选择性除草剂能加速灌浆、促进其生理成熟、加快作物衰老^[9-12]。百草枯是通过光合系统 I 进行抑制,经一系列转化后形成过氧化氢及羟基($\text{OH}\cdot$)等破坏细胞叶绿素及细胞膜,从而导致叶片提前衰老。在许多研究中,百草枯经常被用于光照下的氧化胁迫力,用于促进植物衰老的物质。本研究以川农 18 号与川麦 107 号小麦为材料,研究百草枯胁迫下小麦叶片抗衰老的生理生化特性,同时,就不同浓度的百草枯对小麦叶片衰老的影响进行研究,以便为小麦高产、优质生产提供更多的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验于 2012—2013 年在四川农业大学农学院试验农场进行。供试材料选用具延缓衰老特性的小麦品种川农 18^[13]和不具延缓衰老特性的小麦品种川麦 107。设置小区行宽

2 m,行距为 30 cm,共计 20 行,每行均匀播种 30 粒种子,保证足够的取材量。

1.2 取材与百草枯处理

用 0.05 mol/L Tris-HCl(pH 值 7.6)缓冲液分别配制浓度为 0、5、10、50、100、500 $\mu\text{mol/L}$ 的百草枯处理液。取灌浆期的小麦相同部位叶片,分别浸泡在盛有不同浓度百草枯的器皿中,并在 400 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光照强度下照射 24 h 后备用。每个指标设置 3 次重复,每次重复各材料取 5 株。

1.3 生理生化指标测定

叶绿素含量参照文献[14]的方法测定;超氧化物歧化酶(SOD)活性参照文献[15]的方法测定;过氧化氢酶(CAT)活性按文献[16]的方法测定;抗坏血酸专一性过氧化物酶(APX)活性参照文献[17]的方法测定;丙二醛(MDA)含量参照文献[14]的方法测定。

2 结果与分析

2.1 不同浓度百草枯对小麦叶绿素含量的影响

叶片内叶绿素降解与合成的不平衡反映为叶绿素含量的变化。由图 1 可以看出,随着百草枯浓度的增大,2 种小麦叶片叶绿素含量均呈现为单峰的变化趋势。在 5 $\mu\text{mol/L}$ 和 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下,2 种小麦的叶绿素含量比其他处理组都高,说明在 5 $\mu\text{mol/L}$ 和 50 $\mu\text{mol/L}$ 的百草枯作用下,2 种小麦对百草枯具有较强的抗性。在对照组中,川农 18 叶片叶绿素含量较川麦 107 叶片多 46.63%,说明川农 18 本身就具有较高的叶绿素含量,但经过百草枯处理后,2 个品种叶绿素含量无较大区别,说明经百草枯处理后小麦叶片的叶绿素含量只与百草枯浓度相关,而与品种无较大关联。

2.2 不同浓度百草枯对小麦超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

SOD 是活性氧清除中的第一道防线,其活性高低对于植物抵抗氧化胁迫极其重要。由图 2 可以看出,经百草枯处理后,2 个品种的 SOD 活性均降低。对 2 种小麦而言,随百草枯浓度的增大,SOD 活性在 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组降低后,在

收稿日期:2013-05-29

基金项目:国家自然科学基金(编号:31271721)。

作者简介:李方安(1958—),男,四川眉山人,实验师,主要从事植物生理生化的研究。E-mail:442878713@qq.com。

通信作者:罗培高,博士,教授,主要从事小麦逆境生理研究。

E-mail: lpg052000@yahoo.com.cn。

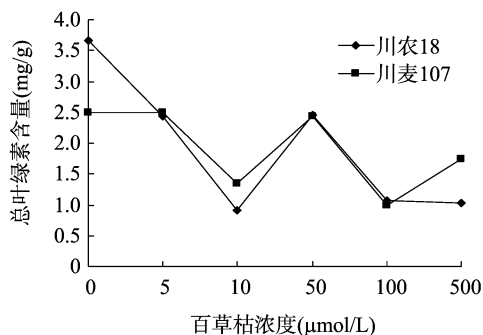


图1 不同浓度百草枯对 2 种小麦叶绿素含量的影响

10 $\mu\text{mol/L}$ 处理组中活性又有明显升高, 在 50、100、500 $\mu\text{mol/L}$ 处理组的酶活性又逐渐降低。表明用 10 $\mu\text{mol/L}$ 的百草枯处理 2 种小麦时, 小麦抗百草枯能力最强。

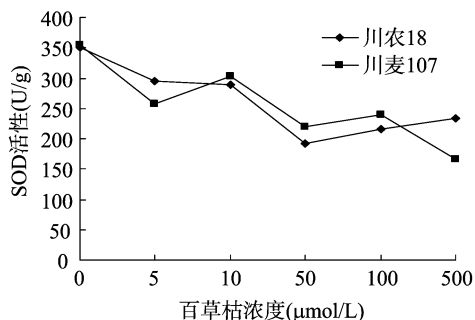


图2 不同浓度百草枯对 2 种小麦叶片SOD活性的影响

2.3 不同浓度百草枯对小麦过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响

CAT 是活性氧防御系统的关键酶之一, 专一清除 H_2O_2 , 其活性越高, 表明对逆境的抗性越强^[18]。由图 3 可以看出, 经百草枯处理后, 不同品种小麦的 CAT 活性均低于相对应的对照组, 且 2 个品种小麦的 CAT 活性差异较大。在对照组及 5、10、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 处理组中, 川农 18 叶片的 CAT 活性均高于川麦 107, 而在 10 $\mu\text{mol/L}$ 处理组中, 2 个品种小麦叶片中的 CAT 活性均比 5、50 $\mu\text{mol/L}$ 处理组高。在低浓度百草枯处理时, 川农 18 对百草枯的抗性比川麦 107 强; 而当处理浓度大于 50 $\mu\text{mol/L}$ 后, 2 个品种的 CAT 活性均低于 500 $\mu\text{mol/L}$, 且表现较稳定。以上表明, 百草枯对 2 个品种小麦 CAT 活性均有抑制作用, 而 10 $\mu\text{mol/L}$ 的百草枯对 CAT 抑制作用最弱。在高于 50 $\mu\text{mol/L}$ 的处理组中, 叶片中已经受到一定损害, 活性降低至一定值后没有出现太大变化。

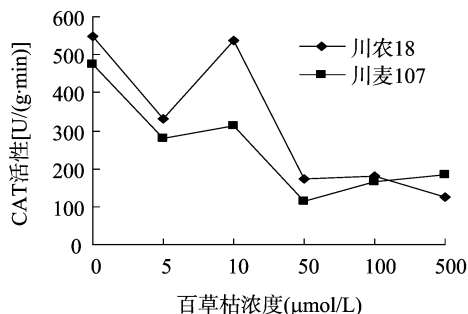


图3 不同浓度百草枯对 2 种小麦 CAT 活性的影响

2.4 不同浓度百草枯对小麦抗坏血酸专一性过氧化物酶 (APX) 活性的影响

抗坏血酸过氧化物酶以抗坏血酸为电子供体, 一般认为

APX 是叶绿体中清除 H_2O_2 的主要酶^[19]。由图 4 可以看出, 川农 18 经百草枯处理后, 叶片中 APX 活性均低于对照组, 其中 10 $\mu\text{mol/L}$ 处理组的活性降低最少。对川麦 107 而言, 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组的 APX 活性比对照组高出 31.78%; 当处理浓度大于 5 $\mu\text{mol/L}$ 后, 随百草枯浓度的增大, APX 活性逐渐降低, 最后趋于平稳。结果表明, 不同品种小麦中 APX 活性受百草枯影响的差异较大。

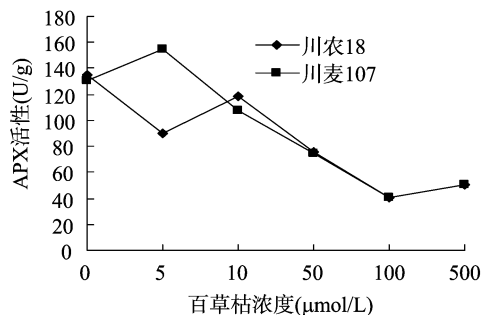


图4 不同浓度百草枯对 2 种小麦 APX 活性的影响

2.5 不同浓度百草枯对小麦丙二醛 (MDA) 含量的影响

MDA 是细胞膜脂过氧化作用的产物之一, 它的产生还能加剧膜的损伤, 因此, MDA 产生的多少能够代表膜脂过氧化程度, 也可间接反映植物组织抗氧化能力的强弱。由图 5 可以看出, 经百草枯处理后, 2 个不同品种小麦的 MDA 含量差异较小。且对于 2 个不同小麦品种而言, 5、10、50 $\mu\text{mol/L}$ 处理组的 MDA 含量均低于对照组, 而 100、500 $\mu\text{mol/L}$ 处理组的 MDA 含量则高于对照, 表现为随百草枯的浓度的增加, MDA 含量先逐渐降低后又急剧增加, 且 10 $\mu\text{mol/L}$ 和 50 $\mu\text{mol/L}$ 处理组的 MDA 含量最低。以上表明, 适当浓度的百草枯处理降低了膜脂过氧化程度, 从而可以延长叶片光合时间, 延缓叶片的衰老; 但浓度过高, 则加剧了膜的损伤和破坏程度。

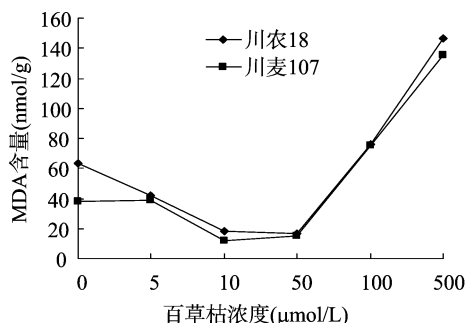


图5 不同浓度百草枯对 2 种小麦 MDA 含量的影响

3 结论与讨论

叶绿体结构与光合作用密切相关, 叶绿体基粒数和基粒片层数越多, 基粒片层排列越致密, 光合能力越强, 叶绿素含量与净光合速率呈正相关^[20], 而光合速率的大小常常反映出植物生存能力的强弱。经百草枯处理后, 叶绿素含量均有所降低。随百草枯浓度的增大, 2 个品种小麦叶绿素含量变化趋势较为一致: 先降低后增加, 然后再降低, 最后趋于平稳。其中, 50 $\mu\text{mol/L}$ 处理组较高的叶绿素含量表明, 一定浓度的百草枯有助于保护叶绿体膜, 保持其结构的稳定性, 维持小麦

叶片较高的叶绿素含量,从而维持小麦灌浆期叶片的较高光合速率。

通常情况下,植物细胞的叶绿体在光合作用过程中会产生一些活性氧,对细胞产生一定的损害;但由于细胞内存在抗氧化酶而使这些活性氧得以清除。SOD 是细胞内防御系统的关键酶,CAT 及 APX 能有效清除细胞内过量的 H_2O_2 ,它们与 SOD 协同作用,共同维持植物体内活性氧的平衡,从而对细胞起到保护作用,因此,SOD、CAT 及 APX 活性是小麦衰老生理的重要生理指标。

SOD 是植物活性氧酶促清除系统中的关键酶,它可迅速清除代谢过程中产生的超氧自由基,使超氧自由基的含量始终处于一个较低的水平,保护植物免受超氧自由基的氧化损伤。SOD 是一种典型的诱导酶,其活性受到环境及植物自身代谢等多方面因素的影响^[21]。本试验中,在百草枯胁迫下,小麦 SOD 活性均受到不同程度的抑制,但在 $10\ \mu\text{mol/L}$ 处理组中 SOD 的活性较高,表明 SOD 对 $10\ \mu\text{mol/L}$ 百草枯不敏感。CAT 活性同 SOD 一样,经百草枯处理后也受到不同程度的抑制,在 $10\ \mu\text{mol/L}$ 处理组中,CAT 在处理组中活性最高,随百草枯浓度的增大活性迅速降低。而 APX 活性的变化在 2 个小麦品种中存在一些差异。由于百草枯与 SOD 的作用,植物组织中 H_2O_2 增加,在 $5\ \mu\text{mol/L}$ 处理组中川麦 107 叶片 APX 活性最高,并且高于对照组,而川农 18 APX 活性在 $10\ \mu\text{mol/L}$ 处理组中最高。随百草枯浓度的增大,2 种小麦的 APX 活性也均受到不同程度的抑制。出现这一结果可能是由于过氧化氢的产生能够诱导 APX 的表达,但高浓度的过氧化氢能够破坏 APX 催化中间产物——化合物 I 的血红素辅基,从而导致 APX 活性被抑制^[22]。

自由基启动膜脂过氧化作用,导致膜的损伤和破坏,从而积累 MDA。MDA 是膜脂过氧化作用的主要产物之一,其含量是判断膜脂过氧化程度的重要指标^[13]。用不同浓度百草枯处理小麦叶片, $10\ \mu\text{mol/L}$ 和 $50\ \mu\text{mol/L}$ 处理组叶片丙二醛含量最低,且均低于对照组。综合之前各抗氧化酶活性的变化,可推断在 $10\ \mu\text{mol/L}$ 和 $50\ \mu\text{mol/L}$ 处理组中,抗氧化酶系统被激活,活性有所增加,减少了植物组织中的 H_2O_2 及 O_2^- 含量,从而有效降低了膜脂的过氧化程度,导致 MDA 含量减少。而随百草枯浓度的增大,各种抗氧化酶活性降低, H_2O_2 及 O_2^- 含量增多,使植株体内发生严重的氧化作用,因而植物细胞组织受到严重损伤。

总而言之,在较低浓度的百草枯胁迫下,植物体内的活性氧清除系统被激活,其产生的作用超过了活性氧对植物的损伤作用,可以保护植物不受损害;但是,随着百草枯浓度的增大,抗氧化酶系统逐渐被抑制, H_2O_2 及 O_2^- 含量增多,细胞内细胞膜及叶绿素等细胞组织被破坏,直至细胞凋亡。

川农 18 和川麦 107 相比较,随百草枯浓度的变化,叶绿素含量、几种抗氧化酶活性及丙二醛含量变化趋势较为一致;但综合试验结果来看,川农 18 较川麦 107 有更高的叶绿素含量、更高的抗氧化酶活性及较低的 MDA 含量,具有更强的抵抗百草枯胁迫的能力,即更强的抗氧化能力及延缓衰老能力。以上结果表明,川农 18 较川麦 107 具有更强的延缓叶片延缓衰老的能力,造成这一现象的原因也许是因为川农 18 体内含有黑麦的 IRS 染色体臂,IRS 染色体臂具抵抗和延缓叶片衰

老的能力,并且对叶片具有保绿功能^[3,13,23]。

参考文献:

- [1] 伍泽堂,杨大旗. 离体小麦叶片衰老过程中酶活性与质膜破坏关系的研究[J]. 西南农业大学学报,1990,12(4):371-374.
- [2] 肖凯,张荣铎. 小麦叶片老化过程中光合功能衰退的可能机制[J]. 作物学报,1998,21(6):805-810.
- [3] 岳寿松,于振文,余松烈. 小麦旗叶与根系衰老的研究[J]. 作物学报,1996,22(1):55-58.
- [4] 曾旭. 小麦抗衰老产量生理特性及多效唑对小麦叶片衰老的影响[D]. 雅安:四川农业大学,2007:1-47.
- [5] 党建友,张定一,裴雪霞,等. 除草剂对冬小麦光合特性、籽粒产量及品质的调控效应[J]. 西北植物学报,2007,27(7):1438-1445.
- [6] 党建友,张定一,裴雪霞,等. 除草剂对优质小麦品质和旗叶保护酶的调控效应[J]. 应用与环境生物学报,2008,14(1):18-23.
- [7] 于基成,刘秋,曹远银. 3 种生物药剂对小麦防御酶系的影响[J]. 江苏农业科学,2004(6):67-69.
- [8] 李颖娇,叶非. 除草剂安全剂对作物细胞色素 P450 及其他酶活性和水平的影响[J]. 农药学报,20035(3):9-15.
- [9] Calvino P A, Studdert G, Abbate P E, et al. Use of non-selective herbicides for wheat physiological and harvest maturity acceleration[J]. Field Crops Res,2002,77:191-199.
- [10] Grundy A C, Boatman N D, Froud-Williams R J. Effects of herbicide and nitrogen fertilizer application on grain yield and quality of wheat and barley[J]. Agric Sci,1996,126(4):374-385.
- [11] Gogoi A K, Kalita H. Effect of seeding method and herbicide on weed and growth and yield of wheat[J]. Indian J Agronomy,1995,40(2):209-211.
- [12] Stashinskis E. Influence of herbicide use on yield and quality of wheat[C]//Proceedings of the International Conference on Sustainable Agriculture in Baltic States. Tartu, Estonia,2001:178-182.
- [13] 任正隆,张怀琼,谭飞泉,等. 高产抗病优质抗早衰“协调型”小麦新品种——川农 18[J]. 麦类作物学报,2004,24(4):158.
- [14] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都:四川科学技术出版社,2003:68-69.
- [15] Giannopolitis C N, dismutasei R S. Occurrence in high plants[J]. Plant Physiology,1977,59:309-314.
- [16] Aebi H. Catalase *in vitro* [J]. Methods in Enzymology,1984,105:121-126.
- [17] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant & Cell Physiology,1981,22:867-880.
- [18] Choi D G, Yoo N H, Yu C Y, et al. The activities of antioxidant enzymes in response to oxidative stresses and hormones in paraquat-tolerant *Rehmannia glutinosa* plants[J]. Journal of Biochemistry and Molecular Biology,2004,37(5):618-624.
- [19] 李惠华,赖钟雄. 植物抗坏血酸过氧化物酶研究进展[J]. 亚热带植物科学,2006,35(2):66-69.
- [20] Luo P G, Ren Z L. Wheat leaf chlorosis controlled by a single recessive gene[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology,2006,32(3):330-338.
- [21] Lin W J, Chen L H. The free radicals in plants[J]. Natural Science Journal of Hainan University,1998,16(4):370-375.
- [22] Hiner N, Rodríguez-López J N, Arnao M B, et al. Kinetic study of the inactivation of ascorbate peroxidase by hydrogen peroxide[J]. Biochemistry,2000,34(8):321-328.
- [23] 晏本菊,张怀琼,任正隆. 黑麦碱基因(*Sec-1*)表达缺失的 1RS/1BL 易位系的鉴定[J]. 遗传,2005,27(4):513-517.