

CO₂ 激光预处理对干旱胁迫引起小麦幼苗脂质过氧化伤害的防护作用

邱宗波^{1,2}, 刘 晓¹, 李方民¹, 田向军¹, 岳 明¹

(1.西部资源生物与现代生物技术省部共建教育部重点实验室(西北大学), 陕西 西安 710069; 2.河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453007)

摘 要:用 CO₂ 激光(20.1 mW·mm⁻²)对小麦种子分别辐照 0、1、3、5 min, 待其长至 12 d 时,用 10% (w/v) PEG6000 胁迫其幼苗,研究激光预处理对小麦幼苗干旱胁迫损伤的防护作用。结果表明,激光预处理(1、3 min)可使干旱胁迫的小麦幼苗 MDA 含量和 O₂⁻ 产生速率显著降低(P<0.05),而 AsA 和 GSH 含量和根长却显著增加(P<0.05);另外激光预处理(1、3 min)可显著(P<0.05)提高小麦幼苗 SOD 酶活和根系活力,而对 POD 和 CAT 活性没有显著作用。其综合效果表现为激光预处理 3 min 可抑制由干旱胁迫引起的小麦脂质过氧化作用,从而增强小麦的抗旱性。

关键词:CO₂ 激光;小麦;干旱胁迫;脂质过氧化

中图分类号:Q945.78 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)01-0035-05

Protective Effect of CO₂ Laser Pretreatment on Wheat Seedlings Lipid Peroxidation Under Drought Stress

QIU Zong-bo^{1,2}, LIU Xiao¹, LI Fang-min¹, TIAN Xiang-jun¹, YUE Ming¹

(1.Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China (Northwest University), Ministry of Education, Xi'an 710069, China; 2.College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: In order to determine the role of laser in protecting wheat (*Triticum aestivum* L.) against drought induced oxidative stress, wheat seed embryos were exposed to CO₂ laser radiation for 0 min, 1 min, 3 min and 5 min, respectively and when the seedlings were 12 days old they were treated with 10% (W/V) PEG6000 solution for 8 d. Changes in the concentration of malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), ascorbate (AsA), the production rate of superoxide radical (O₂⁻), the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and root length and root activity were measured to test the effects of laser pretreatment. The results showed that suitable laser pretreatment of embryos improved drought tolerance in wheat seedlings by decreasing the concentration of MDA, the production rate of O₂⁻ and increasing the activities of SOD, AsA and GSH concentration and root length and root activity. It was suggested that those changes in MDA, O₂⁻, anti-oxidative enzymes and anti-oxidative compounds were responsible for protection wheat against drought induced oxidative damage.

Keywords: CO₂ laser; wheat; drought stress; lipid peroxidation

小麦是我国主要粮食作物之一,但由于干旱胁迫,长期以来小麦产量低而不稳,严重影响小麦生产的发展。干旱对作物的影响,无论在我国还是在世界上都是相当普遍和深刻的^[1,2]。了解干旱对植物的作用

机理一直是科学家努力研究的方向之一。植物适应环境特征的研究即植物生理生态学的研究对于阐明植物适应逆境的生理生态机制,寻找植物新的抗逆途径,从而对开发优良种质资源、育种、育苗、生态恢复以及抗旱性能等都具有重要意义。适量的激光辐射可以提高种子的产率,促进生长,增强植物的抗逆性^[3,4]。韩榕等^[5,6]报道,用 He-Ne 激光辐照小麦可提高其酶活性,对细胞膜损伤具有修复作用,增强抗逆性。齐智等^[7]发现 He-Ne 激光辐照对 UV-B 辐射损伤植物

收稿日期:2007-01-27

基金项目:国家自然科学基金(30370269)

作者简介:邱宗波(1978—),女,河南南阳人,博士,主要从事植物生理生态和分子生物学方面的研究。

E-mail: zongboqiu7711@163.com

通讯联系人:岳明 E-mail: yueming@nwnu.edu.cn

具有一定的防护和修复作用。基于上述研究,我们推测适当剂量的激光对植物干旱胁迫损伤可能具有防护作用,这方面的工作至今在国内外尚未见有报道。

本研究主要利用 CO₂ 激光对小麦种子进行预处理,测定其植株能反映抗旱能力的多项生理生化指标,初步探讨激光提高植物抗逆性的机理,为提高作物抗旱等抗逆性提供一种新的种子前处理的技术方法和增产措施,供农业生产部门应用。

1 材料与方法

1.1 材料

春小麦(*Triticum aestivum* L.)品种为绵阳 26 号,由杨凌示范区种子公司提供。

1.2 材料培养及处理

选取籽粒饱满、大小均匀的小麦种子用 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min 后,用自来水冲洗 50 min,自然干燥后,无激光和干旱胁迫处理的种子为对照组(CK),进行激光照射的种子为处理组。所用 CO₂ 激光器的波长为 10 600 nm,光斑直径为 30 mm,辐射剂量为 20.1 mW·mm⁻²,距离为 36 cm,直射小麦种子胚,辐射时间分别为 0、1、3、5 min,然后置于 25℃ 恒温箱中浸种 36 h,播种在铺有 2 层滤纸的培养皿中催芽,40 粒/皿,每组 5 个重复,待出芽后,培养于(25±1)℃ 人工气候室内,浇以 Hoagland's 营养液,12 h·d⁻¹ 光照,相对湿度为 70%。待幼苗长至 12 d 时,用 10% (w/v) PEG6000(聚乙二醇)溶液进行干旱胁迫处理。在干旱胁迫的第 8 d 分别取小麦幼苗和根测定各项指标。

1.3 生理生化指标测定

MDA 含量的测定按 Predieri 等^[8]方法。O₂⁻ 产生速率的测定按王爱国和罗广华^[9]的方法。SOD 活性根据 Giannoplitis 和 Ries 的方法^[10]测定。以每单位时间内抑制光化还原 50% 的氮蓝四唑(NBT)为一个酶活性单位(U)。POD 活性测定参照文献^[11]的方法。CAT 活性测定参照文献^[12]的方法。GSH 含量测定按 Ellman^[13]的方法。AsA 含量测定按 Arakawa^[14]的方法。根系活力测定参照李合生^[15]的方法。单位根鲜重的氯化三苯基四氮唑(TTC)还原强度 = TTC 还原量/(根重×时间)(mg·g⁻¹·h⁻¹)。

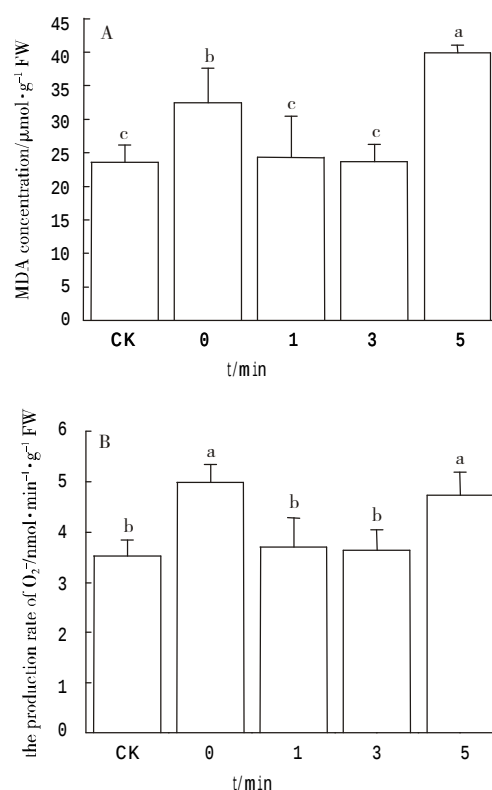
1.4 统计分析

对所有数据进行方差分析,处理间的差异显著性用新复极差(Duncan's)检验。不同字母表示不同处理之间方差分析结果的差异显著性(P<0.05, n=6)。整个计算过程在 SPSS 和 EXCEL 软件系统下完成。

2 结果

2.1 CO₂ 激光预处理对干旱胁迫小麦叶片 MDA 和 O₂⁻ 产生速率的影响

MDA 是膜脂过氧化作用的主要产物之一,其含量可表示膜脂过氧化作用的程度。从图 1 可以看出,与对照(CK)相比,干旱胁迫下(0 min)小麦叶片的 MDA 和 O₂⁻ 产生速率显著增加(P<0.05)。1、3 min 激光预处理可显著降低(P<0.05)因干旱引起的小麦叶片 MDA 和 O₂⁻ 产生速率,说明 1、3 min 激光预处理可以有效促进植物体内活性氧的清除。



图中不同字母表示不同处理之间方差分析结果的差异显著性(P<0.05, n=6),图 2、3、4 同。

图 1 CO₂ 激光预处理对干旱胁迫小麦幼苗 MDA 含量(A)和 O₂⁻ 产生速率(B)的影响

Figure 1 Effect of CO₂ laser pretreatment on MDA concentration (A) and production rate of O₂⁻ (B) in wheat seedlings under drought stress

2.2 CO₂ 激光预处理对干旱胁迫小麦叶片抗氧化酶活性的影响

SOD、CAT 和 POD 等植物保护酶系统在逆境中对植物均起着重要的保护作用。CO₂ 激光预处理 0、1、3、5 min 对干旱胁迫小麦幼苗 SOD、CAT 和 POD 活性

的影响如图 2。干旱胁迫的小麦幼苗其 SOD 和 POD 酶活与对照(CK)相比差异显著($P<0.05$),而 CAT 酶活与对照(CK)相比无显著差异。从图 2 可以看出,CO₂ 激光预处理 3 min 其 SOD 活性与 0 min 相比差异显著($P<0.05$),但对 POD 和 CAT 活性没有显著影响。而 CO₂ 激光预处理 5 min 可显著提高 POD 活性。这就使得其幼苗清除多余氧自由基能力加强,增强幼苗的适应能力。

2.3 CO₂ 激光预处理对干旱胁迫小麦叶片抗氧化物质含量的影响

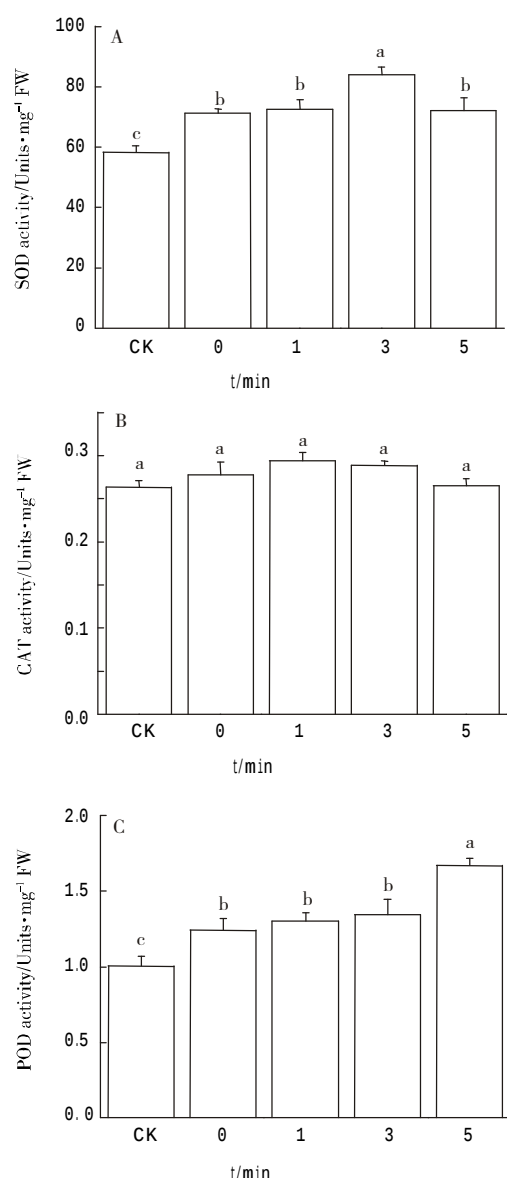


图 2 CO₂ 激光预处理对干旱胁迫小麦幼苗 SOD(A)、CAT(B)和 POD(C)活性的影响

Figure 2 Effect of CO₂ laser pretreatment on SOD (A), CAT (B) and POD (C) activity in wheat seedlings under drought stress

GSH和 AsA 是植物体内两种重要的非酶类抗氧化物质,它们参与的 AsA-GSH 循环是植物体内重要的清除活性氧自由基系统。干旱胁迫(0 min)的小麦幼苗其 GSH 和 AsA 含量与对照相比(CK)均呈下降趋势(图 3)。从图 3 可以看出,CO₂ 激光预处理 1、3 min 可显著提高其幼苗 AsA 和 GSH 含量,与 0 min 相比差异显著($P<0.05$)。CO₂ 激光预处理 5 min 可使其幼苗 GSH 含量显著升高($P<0.05$),而使 AsA 含量显著下降($P<0.05$)。

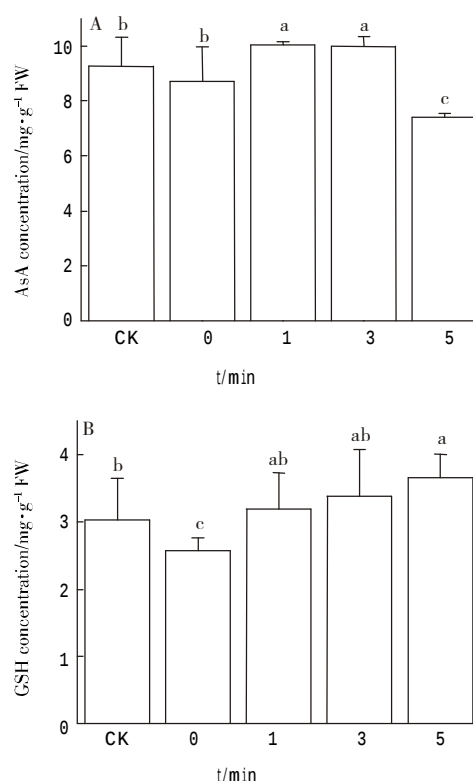


图 3 CO₂ 激光预处理对干旱胁迫小麦幼苗 AsA (A)和 GSH (B) 含量的影响

Figure 3 Effect of CO₂ laser pretreatment on AsA (A) and GSH (B) concentration in wheat seedlings under drought stress

2.4 CO₂ 激光预处理对干旱胁迫小麦幼苗根长及根系活力的影响

根系是小麦吸收水分的主要器官,尤其在干旱胁迫条件下,发达的根系能更有效地吸收水分,增强作物的抗旱性。从图 4 可以看出,CO₂ 激光预处理 1、3 min 与 0 min 相比,可显著提高其幼苗根长和根系活力($P<0.05$)。而激光预处理 5 min 对其幼苗根长没有影响,但可显著提高其幼苗根系活力($P<0.05$)。由此表明,激光预处理可提高小麦幼苗根系活力,从而提高根系吸收水分的能力,增强植株的抗旱性。

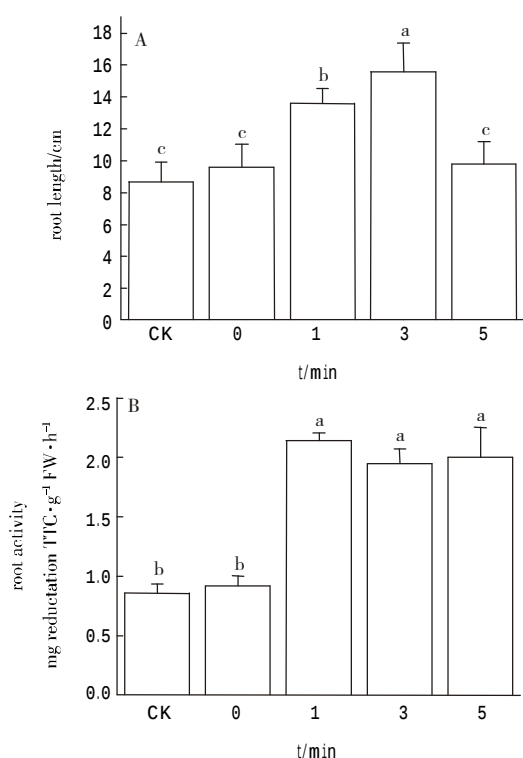


图 4 CO₂ 激光预处理对干旱胁迫小麦幼苗根长(A)及根系活力(B)的影响

Figure 4 Effect of CO₂ laser pretreatment on root length (A) and root activity (B) of wheat seedlings under drought stress

3 讨论

激光预处理种子 1、3 min 显著降低 ($P<0.05$) 其幼苗 MDA 含量,减轻对细胞膜损伤。其原因一方面可能来自活性氧产生的减少,另一方面有可能来自清除活性氧的酶活性的升高和抗氧化物质含量的增加。大量研究工作证明,保护酶活性与植物抗旱性有一定的关系。抗旱性不同的品种,SOD、CAT、POD、APX、GR 活性存在着明显的差异,抗旱性较强的品种,其保护酶活性也较高^[11, 16-19]。蔡素雯等用 He-Ne 激光辐照玉米幼苗,发现激光可以提高其幼苗 CAT、POD 活性和 GSH 含量,从而提高玉米幼苗抗氧化能力^[4, 20]。齐智等^[3, 7]报道激光对蚕豆幼苗紫外线 B 辐射损伤具有防护作用,可提高 SOD、POD、CAT 酶活性和 AsA 含量,增强蚕豆幼苗抗氧化能力。另外小麦^[21]、花生^[22]等方面的研究工作均证明保护酶活性与植物的抗旱性有一定的关系。由于 POD、APX、CAT 等酶活性与作物抗逆性相关^[23],因此几种保护酶活性增高有利于增强植物体清除活性氧的能力,从而提高植物的抗逆性。

本实验结果表明,4 种不同处理的 O₂⁻产生速率与 CAT、SOD 活性和 AsA 含量呈显著负相关,相关系数分别为 $r = -0.97$ 、 $r = -0.82$ 、 $r = -0.99$ 。即 CAT、SOD 活性和 AsA 含量在激光处理后显著增加 ($P<0.05$) 的同时,O₂⁻产生速率显著下降 ($P<0.05$)。表明适当剂量的 CO₂ 激光辐照可以提高干旱胁迫植物体内抗氧化酶活性和抗氧化物质的含量,增强植物体清除活性氧的能力,有助于减轻叶片膜脂质过氧化损伤,从而提高植物的抗旱性。激光促进植物抗氧化酶活性的增高与激光的刺激作用有关。当用激光照射时,生物分子吸收能量,分子内发生能级跃迁,达到一定振动后,使机体当代产生光照活化效应。从而使 DNA-RNA-蛋白质系统活性提高以及核糖体上蛋白质合成作用的活化,导致生物合成水平的提高^[24]。而当激光辐照剂量增强时已对植物产生损伤,所以在实际生产中应选择合适的激光剂量。

根系是植物生命活动中的重要器官,与植物的生长和产量的形成有密切的关系。根系活力泛指根系的吸收能力、合成能力、氧化能力和还原能力等,是一种较客观地反映根系生命活动的生理指标。徐孟亮^[25]等报道,在干旱胁迫下,水稻抗旱性品种根系氧化活力和还原能力明显增加。从本实验结果可以看出,CO₂ 激光预处理可显著提高干旱胁迫小麦幼苗的根系活力 ($P<0.05$),使小麦幼苗保持较高的吸收、运输等功能,从而增强幼苗的抗旱性。

参考文献:

- [1] Glombitza C, Dubuis P H, Thulke O, et al. Crosstalk and differential response to abiotic and biotic stressors reflected at the transcriptional level of effector genes from secondary metabolism[J]. *Plant Mol Biol*, 2004, 51: 1-19.
- [2] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 373-399.
- [3] Qi Zhi, Yue Ming, Han Rong. The damage repair role of He-Ne laser in plant exposed to different intensities of ultraviolet-B irradiation[J]. *Photochem and Photobiol*, 2002, 75 (6): 680-687.
- [4] 蔡素雯, 齐智, 马小来. He-Ne 激光对玉米幼苗可溶性蛋白合成的影响[J]. *中国激光*, 2000, A27 (3): 284-288.
- [5] 韩榕, 王勋陵, 岳明. He-Ne 激光对小麦 DNA UV-B 损伤修复的影响[J]. *中国激光*, 2002, 29 (9): 859-863.
- [6] 韩榕, 王勋陵, 岳明, 等. He-Ne 激光对小麦幼苗增强 UV-B 辐射损伤修复的影响[J]. *光子学报*, 2001, 30 (10): 1182-1187.
- [7] 齐智, 岳明, 王勋陵. 激光对蚕豆幼苗紫外线 B 辐射损伤的防护作用[J]. *中国激光*, 2002, A29 (1): 91-94.
- [8] Predieri S, Norman M A, Krizek D T, et al. Influence of UV-B radiation on membrane lipid composition and ethylene of evolution in 'Doyenné'

- Hiver' pear shoots grown in vitro under different photosynthetic photo fluxes[J]. *Environment Experiment Botany*, 1995, 35: 152-160.
- [9] 王爱国, 罗广华. 植物超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. *植物生理学通讯*, 1990, 6: 55-57.
- [10] Giannoplitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase I : Purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedlings [J]. *Plant Physiology*, 1997, 59: 315-318.
- [11] Zhang J X, Kirham M B. Drought stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in wheat species [J]. *Plant Cell Physiology*, 1994, 35 (5): 785-791.
- [12] Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity on enhance activities of superoxide dismutase, peroxidase and glatation reductase in bean leaves[J]. *Plant Physiology*, 1992, 98: 1222-1227.
- [13] Ellman G L. Tissue sulfhydryl groups[J]. *Archives of Biochem and Biophys*, 1959, 82 (1): 70-77.
- [14] Arakawa N, Tsutsumi K, Sanceda N G, et al. A rapid and sensitive method for the determination of ascorbic acid using 4,7 -diphenyl -1, 10-phenanthroline[J]. *Agric Biol Chem*, 1981, 45: 1289-1290.
- [15] 李合生. 植物根系活力的测定 (TTC). *植物生理生化实验原理和技术*[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. 119-120.
- [16] Capell T, Bassie L, Christou P. Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress[J]. *PNAS*, 2002, 101 (26): 9897-9902.
- [17] Chen Z, Gallie D R. The Ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement[J]. *Plant Cell*, 2004, 16: 1143-1162.
- [18] Dhanda S S, Sethi G S, Behl R K. Indices of drought tolerance in wheat genotypes at early stage of plant growth[J]. *J Agron Crop Sci*, 2004, 190 (1): 6-12.
- [19] 唐连顺, 李广敏. 干旱对玉米杂交种及其亲本自交系幼苗膜脂过氧化及其保护酶活性的影响[J]. *作物学报*, 1995, 21(4): 509-512.
- [20] 蔡素雯, 苑春慧, 崔小慧. He-Ne 激光对玉米幼苗 POD 和 CAT 酶活性的影响[J]. *应用激光*, 1993, 13: 181-183.
- [21] 王宝山, 赵思齐. 渗透胁迫对小麦幼苗膜脂过氧化和保护酶作用的影响[J]. *山东师范大学学报*, 1987, 2: 29-39.
- [22] 陈由强, 叶冰莹, 朱锦懋. 渗透胁迫对花生幼叶活性氧伤害和膜脂过氧化作用的影响[J]. *中国油料作物学报*, 2000, 22 (1): 53-56.
- [23] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide in scavenged by ascorbate - specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant and Cell Physiol*, 1981, 22 (5): 867-880.
- [24] 曹恩华. 激光对 DNA 的作用[J]. *激光生物学*, 1993, 2: 290-295.
- [25] 徐孟亮, 姜孝成, 周广治. 干旱对水稻根系活力与结实性状的影响[J]. *湖南师范大学自然科学学报*, 1998, 21 (3): 64-68.