

低磷对小麦代换系幼苗根系保护酶活性和丙二醛含量的影响及染色体效应

米少艳¹ 靖姣姣¹ 白志英¹ 李存东²

(1. 河北农业大学 生命科学学院, 河北 保定 071000; 2. 河北农业大学 农学院, 河北 保定 071000)

摘要: 以中国春-Synthetic 6x 染色体代换系及其亲本为材料, 通过测定不同磷处理条件下根系抗氧化酶 SOD、POD 活性和丙二醛(MDA) 含量, 研究低磷胁迫对小麦代换系酶活性的影响, 并对耐低磷胁迫特性的基因进行染色体定位。结果表明, 低磷胁迫下, 小麦代换系苗期根系 SOD 和 POD 活性显著升高, 丙二醛含量降低。Synthetic 6x 的 3A、4A、5A 和 7A 染色体上可能存在诱导根系 SOD 活性增强的基因, 5A、1D 和 2D 染色体上可能存在诱导根系 POD 活性增强的基因, 1A、2A、4B、6B 和 7D 染色体上可能存在抑制根系 MDA 含量增高的基因。

关键词: 小麦代换系; 根系; 低磷; 保护酶; 染色体效应

中图分类号: Q945.78; S512.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2013)02-0091-05

Effects of Phosphorus Deficiency Stress on Protective Enzyme Activities, MDA Content and Chromosome of Wheat Substitution Lines Seedling Roots

MI Shao-yan¹ JING Jiao-jiao¹ BAI Zhi-ying¹ LI Cun-dong²

(1. College of Life Science, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China;

2. College of Agronomy, Hebei Agricultural University, Baoding 071000, China)

Abstract: The effects of phosphorus deficiency stress on enzyme activity in wheat was studied by determining antioxidant enzymes SOD, POD activities and MDA content and locating the gene controlling antioxidant enzymes SOD, POD activities and MDA content at the roots of the seedling stage using wheat substitution lines between Chinese Spring (CS) and Synthetic 6x. The results showed that SOD and POD activities increased, MDA content reduced under phosphorus deficiency stress. This explains that the increased of antioxidant enzyme activity might reduce MDA content and lower membrane lipid peroxidation level, to improve their resistance. The genes promoting SOD activity might be located on 3A, 4A, 5A and 7A chromosome of Synthetic 6x; and the genes promoting POD activity might be located on 5A, 1D and 2D chromosome, while the genes inhibiting content might be located on 5A, 2D, 5D and 7D chromosome of Synthetic 6x.

Key words: Substitution lines; Roots; P-deficiency; Protective enzymes; Chromosome effect

磷是植物生长发育不可缺少的营养元素之一, 不仅是植物体内许多重要化合物的组成成分, 而且还以多种途径参与植物代谢。植物所需磷素主要来源于根系自土壤的吸收^[1]。磷在土壤中易被固定, 移动性差, 植物对土壤磷素的吸收主要依靠根系吸收其周围所接触到的有效磷^[2]。在自然土壤中磷的有效性很少能够满足植物最佳生长的需要。据统计, 全世界有 13.19×10^8 hm² 耕地, 其中约有 43% 耕

地缺磷^[3]。我国 1.07 亿 hm² 农田中大约有 60% 缺磷, 磷肥的当季利用率一般只有 5% ~ 10%, 即使加上作物的后效, 一般也不超过 25%, 其余的磷都被土壤固定而成为难溶态磷^[4]。传统上通过施用磷肥, 改良耕地土壤等措施来解决耕地中有效磷含量低的问题, 但是磷肥施入农田后, 极易被土壤固定, 而难以被植物吸收利用, 当季利用率很低, 同时也带来如农业生产成本增高、资源过度消耗、环境破坏等

收稿日期: 2012-01-15

基金项目: 河北省自然科学基金项目(C2011204016)

作者简介: 米少艳(1987-), 女, 河北临城人, 在读硕士, 主要从事植物资源利用与开发研究。

通讯作者: 白志英(1967-), 女, 河北正定人, 教授, 博士生导师, 主要从事植物资源利用与开发研究。

李存东(1964-), 男, 河北清河人, 教授, 博士生导师, 主要从事作物生理生态研究。

诸多问题。因此,筛选和利用对磷素吸收或利用效率较高的磷高效基因型品种,成为作物对磷素资源利用的一条有效途径。

小麦是磷敏感性作物,缺磷会抑制其生长、造成减产,根据不同基因型小麦吸收利用土壤养分效率方面存在的显著差异,挖掘小麦自身潜力和土壤潜在磷源是解决供磷与磷流失矛盾和防止磷污染的有效途径^[5]。在生产实践中,已筛选出具有耐低磷胁迫的小麦品种,表现出了良好的经济和社会效益^[3-6]。

大量研究表明,植物在衰老过程中以及多种逆境条件下,细胞内活性氧产生与清除之间的平衡遭到破坏,积累起来的活性氧会对细胞产生伤害^[7]。植物细胞中存在着能清除活性氧自由基的保护酶系,如超氧化物歧化酶(SOD)在植物产生大量活性氧的情况下,能够及时有效地清除自由基,保护细胞免受活性氧的伤害^[8];过氧化物酶(POD)是植物细胞抵御活性氧伤害的重要保护酶,对清除超氧自由基和 H_2O_2 阻止或减少羟基自由基形成,保护膜系统免受损伤起重要作用^[9]。丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的主要产物之一,对膜和细胞中的许多生物功能分子如蛋白质、核酸和酶等均具有较强的破坏作用,同时还能破坏生物膜的结构与功能。MDA含量高低是反映细胞膜脂过氧化作用强弱和质膜破坏程度的重要指标^[10]。近年来,对植物在磷胁迫下保护酶系统与其抗逆性关系的研究结果表明,不同植物种类甚至同种植物不同品种的变化方向和幅度不同;植物抗逆性的大小与植物保护酶系统的活性变化有一定的关系^[11-14]。

小麦染色体代换系是一个物种或品种的个别染色体代换另一个物种或品种相应染色体所产生的品系。中国春(CS)-Synthetic 6x代换系有21个成员,每个成员与受体品种中国春之间仅有一条染色体差异,是研究个别染色体遗传调控效应的好材料。利用小麦代换系作为材料研究低磷胁迫下小麦的生理生化等方面的研究已有报道^[15]。但有关小麦染色体代换系幼苗根系细胞保护酶活性的研究还很少报道。因此,本试验以中国春-Synthetic 6x代换系为材料,通过营养液水培法,设置不同磷处理,研究低磷胁迫对代换系幼苗根系细胞保护酶活性的影响,确定调控相关性状的染色体,为磷高效基因型的选育和遗传改良提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

以中国春(CS)-Synthetic 6x小麦染色体代换系

(21个基因型)及其亲本中国春、Synthetic 6x(由John Innes Centre, Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UH, UK提供)为材料。母本中国春(CS)为磷低效品种,父本Synthetic 6x为磷高效品种^[16]。

1.2 试验设计

试验于2011-2012年在河北农业大学试验站进行。采用营养液水培法。试验时设置磷浓度为2 mmol/L(正常磷,对照)和20 μ mol/L(低磷)2个处理,3次重复,选取饱满、均匀的小麦种子30粒,经0.11%升汞消毒10 min,去离子水冲洗并浸泡24 h后,均匀摆放在铺有滤纸的培养皿中,置于光照培养箱中(20 ± 2) °C下培养,每天用去离子水浇灌,培养幼苗7 d后,去掉胚乳,以防种子磷的影响,选择生长势一致的健壮幼苗,后移入pH值6.0左右的营养液中进行水培,定时通气,每周更换一次营养液。

1.3 试验方法

取0.5 g干净新鲜小麦根系置于冰浴研钵中,先加入1 mL pH值7.8磷酸缓冲液,充分研磨至匀浆,再加入4 mL pH值7.8磷酸缓冲液,搅拌均匀,转入10 mL离心管,4 °C 10 000 r/min冷冻离心20 min,取上清液即为SOD、POD和MDA的粗提液。SOD活性采用NBT光化学还原法^[17];POD活性采用愈创木酚法^[18];MDA活性参照赵世杰等^[19]改进的方法;相对值=低磷处理值/对照值。

数据分析利用浙江大学唐启义DPS v7.05软件对数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 低磷对小麦代换系幼苗根系SOD的影响

由表1看出,低磷胁迫下,多数代换系的SOD活性(以鲜质量计)明显高于对照,表明小麦通过增强自身SOD活性来抵御低磷胁迫对其所造成的自由基伤害,以延缓衰老,从而增强耐低磷特性。

低磷胁迫下,不同代换系之间存在显著差异,供体Synthetic 6x的SOD活性极显著高于受体中国春。在低磷胁迫下,1A、3A、4A、5A、6A、7A和7B代换系SOD活性极显著高于母本中国春,3A、4A、5A、7A和5B代换系的相对SOD活性显著或极显著高于母本中国春;由此表明,Synthetic 6x的3A、4A、5A和7A染色体上可能存在低磷胁迫下诱导根系SOD活性增强的基因。

2.2 低磷对小麦代换系幼苗根系POD的影响

由表2看出,多数代换系的POD活性(以鲜质量计)高于对照,表明低磷胁迫下小麦根系通过增

强 POD 活性来抵御低磷逆境对其所造成的自由基伤害。

低磷胁迫处理下,不同代换系间存在显著差异,供体 Synthetic 6x 的 POD 活性和相对 POD 活性都极显著高于受体中国春。在低磷胁迫处理下 2A、5A、7A、1D、2D、3D 和 7D 代换系的 POD 活性显著或极显著高于中国春,4A、5A、3B、5B、1D、2D 和 4D 代换系的相对 POD 活性显著或极显著高于中国春。由此表明 Synthetic 6x 的 5A、1D 和 2D 染色体上可能存在低磷胁迫下诱导根系 POD 活性增强的基因。

表 1 低磷胁迫和对照条件下中国春-Synthetic 6x 代换系及其亲本根系 SOD 活性变化

Tab. 1 The change of SOD activity in roots of CS-Synthetic 6x substitution lines and their parents under low-phosphorus stress and control treatments U/g

基因型 Genotypes	对照 Control	低磷 P-deficiency	相对值 Ratio
1A	24.911 ⁺	55.792 ⁺⁺	2.244
2A	31.889 ⁺⁺	45.926	1.440
3A	25.934 ⁺⁺	64.978 ⁺⁺	2.516 ⁺⁺
4A	26.555 ⁺⁺	66.222 ⁺⁺	2.495 ⁺
5A	26.511 ⁺⁺	65.511 ⁺⁺	2.472 ⁺
6A	25.178 ⁺	56.504 ⁺⁺	2.273
7A	21.822	60.830 ⁺⁺	2.791 ⁺⁺
1B	29.267 ⁺⁺	45.185	1.545
2B	20.889	38.815	1.858
3B	19.178	42.637	2.225
4B	18.156 ⁻	36.770	1.989
5B	17.400 ⁻	43.644	2.556 ⁺⁺
6B	29.711 ⁺⁺	17.926 ⁻	0.603 ⁻
7B	28.556 ⁺⁺	61.689 ⁺⁺	2.159
1D	27.378 ⁺⁺	46.756	1.706
2D	23.578	47.259	2.005
3D	28.822 ⁺⁺	44.030	1.539
4D	31.422 ⁺⁺	43.615	1.390 ⁻
5D	30.622 ⁺⁺	45.185	1.476
6D	27.378 ⁺⁺	46.103	1.705
7D	27.422 ⁺⁺	45.719	1.667
CS	21.778	41.037	1.884
Synthetic 6X	47.467 ⁺⁺	77.778 ⁺⁺	1.638

注: + 和 ++ 分别表示 0.05 和 0.01 水平上显著高于中国春; - 和 -- 分别表示 0.05 和 0.01 水平上显著低于中国春。表 2、3 同。

Note: + and ++ mean significantly higher than Chinese Spring at 0.05 and 0.01 level respectively; - and -- mean significantly lower than Chinese Spring at 0.05 and 0.01 level respectively. The same as Tab. 2、3.

2.3 低磷对小麦代换系幼苗根系 MDA 的影响

由表 3 看出,低磷处理下,多数代换系之间的 MDA 含量(以鲜质量计)明显低于对照,丙二醛是膜脂过氧化的产物,表明小麦苗期根系在低磷胁迫下,膜脂过氧化程度和膜系统的伤害程度还不是很大。

低磷胁迫处理下,1A、2A、4B、6B 和 7D 代换系的 MDA 含量显著低于中国春,1A、2A、3A、5A、6A、2B、3B、4B、5B、6B、7B、2D、5D 和 7D 代换系的相对 MDA 含量显著或极显著低于中国春。由此表明,在小麦苗期 Synthetic 6x 的 1A、2A、4B、6B 和 7D 染色体上可能存在低磷胁迫下抑制根系 MDA 含量增高的基因。

表 2 低磷胁迫和对照条件下中国春-Synthetic 6x 代换系及其亲本根系 POD 活性变化

Tab. 2 The change of POD activity in roots of CS-Synthetic 6x substitution lines and their parents under low-phosphorus stress and control treatments OD/g

基因型 Genotypes	对照 Control	低磷 P-deficiency	相对值 Ratio
1A	499.778	538.889	1.080
2A	484.000	570.445 ⁺⁺	1.179
3A	467.555	523.778	1.121
4A	334.000 ⁻	534.222	1.609 ⁺⁺
5A	459.333	556.445 ⁺	1.221 ⁺
6A	495.778	528.666	1.067
7A	465.111	563.111 ⁺	1.211
1B	500.667	545.556	1.097
2B	509.333	521.333	1.023
3B	428.222	549.778	1.286 ⁺
4B	467.111	547.777	1.194
5B	353.333 ⁻	544.445	1.560 ⁺⁺
6B	540.000 ⁺	538.667	0.999
7B	513.111	510.889	0.998
1D	400.667 ⁻	561.333 ⁺	1.436 ⁺⁺
2D	448.444	555.667 ⁺	1.256 ⁺
3D	475.333	560.000 ⁺	1.180
4D	432.889	540.889	1.253 ⁺
5D	524.444	532.222	1.021
6D	480.445	546.445	1.140
7D	491.111	554.444 ⁺	1.129
CS	507.333	508.444	1.002
Synthetic 6X	796.667 ⁺⁺	1 429.333 ⁺⁺	1.797 ⁺⁺

3 讨论

SOD、POD 和 CAT 等酶类是细胞抵御活性氧伤害的重要保护酶系统,它们在清除超氧自由基、过氧化氢和过氧化物以及阻止或减少羟基自由基形成等方面起着重要作用^[20]。万美亮^[14]以甘蔗为试材,研究了植物在逆境条件下的膜脂过氧化反应和保护酶系统 SOD、POD、CAT 活性的变化,探讨了植物的耐低磷能力与保护酶系统的关系,认为缺磷胁迫引起保护酶系统活性升高,是植物耐低磷的生理机制之一。郑金凤等^[15]以中国春-Synthetic 6x 代换系为材料,研究了不同磷处理对代换系及亲本在孕穗期、

开花期、灌浆期 SOD、POD 活性的影响,结果表明, SOD、POD 活性基本呈现先升高再降低的趋势,在低磷处理条件下,各代换系及其亲本的 SOD、POD 活性多数高于对照。本试验结果表明,小麦苗期根系在低磷胁迫下 SOD 活性和 POD 活性都显著升高,与郑金凤的研究结果是一致的。

表3 低磷胁迫和对照条件下中国春-Synthetic 6x 代换系及其亲本根系 MDA 含量变化

Tab.3 The change of MDA activity in roots of CS-Synthetic 6x substitution lines and their parents under low-phosphorus stress and control treatments $\mu\text{mol/g}$			
基因型 Genotypes	对照 Control	低磷 P-deficiency	相对值 Ratio
1A	9.441 ⁺⁺	3.307 ⁻	0.351 ⁻
2A	12.055 ⁺⁺	3.451 ⁻	0.289 ⁻
3A	11.944 ⁺⁺	3.812	0.320 ⁻
4A	5.685	4.952	0.872
5A	8.673 ⁺⁺	4.135	0.477 ⁻
6A	7.057	4.765	0.677 ⁻
7A	6.466	6.689 ⁺⁺	1.055
1B	4.256	3.668	0.862
2B	7.152 ⁺	4.406	0.688 ⁻
3B	11.254 ⁺⁺	4.847	0.432 ⁻
4B	12.638 ⁺⁺	3.472 ⁻	0.277 ⁻
5B	9.638 ⁺⁺	5.032	0.524 ⁻
6B	13.894 ⁺⁺	3.322 ⁻	0.241 ⁻
7B	9.967 ⁺⁺	4.166	0.457 ⁻
1D	5.174	3.987	0.771
2D	5.705	4.201	0.733 ⁻
3D	5.132	3.928	0.766
4D	5.698	6.087	1.051
5D	5.810	3.678	0.634 ⁻
6D	5.490	4.435	0.807
7D	5.673	3.636 ⁻	0.644 ⁻
CS	4.933	4.957	1.007
Synthetic 6X	8.055 ⁺⁺	6.843 ⁺⁺	0.850

张娟等^[21]以中国春-埃及红代换系为材料,将干旱胁迫下诱导 SOD、POD 活性增强的有利基因分别定位于 6D、2B 和 7D 染色体上。白志英等^[22]以中国春-Synthetic 6x 代换系为材料,认为干旱胁迫下 Synthetic 6x 的 2B 和 7D 染色体上有高 SOD 活性基因存在,1A、2A 和 2D 染色体上可能存在诱导 POD 活性增强的有利基因。郑金凤等^[15]认为,在低磷胁迫下, Synthetic 6x 的 2A、3B、2D、7D 染色体上可能存在诱导旗叶 SOD 活性增强的基因,2A、5A、6A、7B、7D 染色体上可能存在诱导旗叶 POD 活性增强的基因。本试验结果表明,在小麦幼苗时期, Synthetic 6x 的 3A、4A、5A 和 7A 染色体上可能存在低磷胁迫下诱导根系 SOD 活性增强的基因,5A、1D 和

2D 染色体上可能存在低磷胁迫下诱导根系 POD 活性增强的基因。

MDA 是脂质过氧化作用的主要产物之一,对细胞有毒害作用,其含量的多少是脂质过氧化作用强弱的一个重要指标。磷是核酸和生物膜能量代谢和生物合成的重要底物之一,参与和调节着线粒体的电子传递和氧化磷酸化、叶绿体的能量传递和光合磷酸化过程,在一系列酶的调节作用中起重要作用^[23-24]。研究表明,耐盐^[25]、抗旱^[26]品种在逆境条件下 MDA 含量的增加程度相对较小,因而被看作抗性基因型的指标之一。但李慧等^[27]以胡卢巴幼苗为试验材料,研究 NaCl 胁迫下胡卢巴幼苗叶和根中抗氧化酶 SOD、POD、CAT 活性及丙二醛 (MDA) 含量的变化,发现根中抗氧化酶的协同作用下,可使 MDA 含量减少并控制在较稳定的阶段。本试验表明,在小麦苗期根系中的 MDA 含量降低,说明代换系幼苗期根系中的抗氧化酶活性升高,可使 MDA 含量减少,降低膜脂过氧化水平,提高其抗性,这与李慧的研究结果较为一致。郑金凤等^[15]研究表明,低磷胁迫下 Synthetic 6x 的 5A、2D、5D、7D 染色体上可能存在抑制叶片 MDA 含量增高的基因。本研究发现, Synthetic 6x 的 1A、2A、4B、6B 和 7D 染色体上可能存在低磷胁迫下抑制根系 MDA 含量增高的基因,与郑金凤的结果部分一致。

致谢:感谢 John Innes Centre Norwich Research 提供试验材料。

参考文献:

- [1] 王庆仁,李继云,李振声.高效利用土壤磷素的植物营养学研究[J].生态学报,1999,19(3):417-421.
- [2] 严小龙,廖红,戈振扬,等.植物根构型特性与磷吸收效率[J].植物学通报,2000,17(6):511-519.
- [3] 刘建中,李振声,李继云.利用植物自身潜力提高土壤磷的生物有效性[J].生态农业研究,1994,2(1):16-23.
- [4] 王庆仁,李继云,李振声.植物高效利用土壤难溶态磷研究动态及展望[J].植物营养与肥料学报,1998,4(2):107-116.
- [5] Fageria N K, Baligar V C. Phosphorus-use efficiency in wheat genotypes[J]. Journal of Plant Nutrition, 1999, 22: 331-336.
- [6] 李继云,刘秀娣,周伟.有效利用土壤养分元素的作物育种新技术研究[J].中国科学(B辑),1995,21(1):41-48.
- [7] 杨淑慎,高俊凤.活性氧、自由基与植物的衰老[J].西北植物学报,2001,21(2):215-220.
- [8] 施晓明,李淑芹,许景钢,等.干旱胁迫下 DA-6 浸种对大豆苗期叶片保护酶活性的影响[J].东北农业大学

- 学报 2009 40(9):48-51.
- [9] 汪耀富, 韩锦峰, 林学梧. 烤烟生长前期对干旱胁迫的生理生化响应研究[J]. 作物学报, 1996 22(1):117-121.
- [10] 马原松, 王启明, 吴诗光, 等. 干旱胁迫下大豆苗期生理生化指标的研究[J]. 安徽农业科学, 2005 33(6):974-976.
- [11] Cao L M, Pan X H. Screening and identifying of rice genotypes on the tolerance to low phosphorus environment [J]. Acta Agric Univ Jiangxi, 2000 22(2):162-168.
- [12] Giannopolitis C N, Ries S, Wang A G, et al. Superoxide dismutase. II. Purification and quantitative relationship with soluble protein in seedling [J]. Plant Physiol, 1977 59:15-318.
- [13] 潘晓华, 刘水英, 李 锋, 等. 低磷胁迫对不同水稻品种叶片膜质过氧化及保护酶活性的影响[J]. 中国水稻科学, 2003 17(1):57-60.
- [14] 万美亮, 邝炎华, 陈建勋. 缺磷胁迫对甘蔗膜质过氧化及保护酶系统活性的影响[J]. 华南农业大学学报, 1999 20(2):1-6.
- [15] 郑金凤, 董少鸣, 李成璞, 等. 低磷胁迫对小麦代换系保护酶活性和丙二醛含量的影响及染色体效应[J]. 植物营养与肥料学报, 2010 16(6):1366-1372.
- [16] 郑金凤, 白志英, 李存东, 等. 低磷胁迫对小麦代换系产量性状的影响及染色体效应[J]. 植物遗传学报, 2010 11(2):233-238.
- [17] 李柏林, 梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系[J]. 植物生理学报, 1989 15(1):6-12.
- [18] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1992.
- [19] 赵世杰, 许长城, 邹 琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994 30(3):207-221.
- [20] 吴俊江, 刘丽君, 钟 鹏, 等. 低磷胁迫对不同基因型大豆保护酶活性的影响[J]. 大豆科学, 2008 2(3):437-441.
- [21] 张 娟, 张正斌, 谢惠民, 等. 小麦叶片水分利用效率及相关生理性状基因的染色体定位[J]. 西北植物学报, 2005 25(8):1521-1527.
- [22] 白志英, 李存东, 吴同燕, 等. 干旱胁迫条件下小麦旗叶酶活性和丙二醛含量的染色体定位[J]. 植物遗传资源学报, 2009 10(2):255-261.
- [23] 张 晓, 杨丽莉, 杨晓玲. 转 Leafy-ipt 基因高羊茅草生育后期 SOD, POD, MDA 的变化[J]. 山西农业科学, 2008 36(9):26-28.
- [24] 杜利霞, 董宽虎, 乔志宏, 等. NaHCO₃ 胁迫对赖草几种生理指标的影响[J]. 山西农业科学, 2012 40(11):1160-1163.
- [25] 席章营, 吴克宁, 王同朝, 等. 玉米抗旱性生理生化鉴定指标及利用价值分析[J]. 河南农业大学学报, 2000 34(1):7-12.
- [26] 潘廷国, 柯玉琴, 王元贞, 等. 盐逆境下甘蔗叶片膜脂过氧化与保护酶的活性[J]. 福建农业大学学报, 1995 24(2):129-132.
- [27] 李 慧, 王妙媛, 彭立新, 等. NaCl 胁迫对胡卢巴幼苗抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响[J]. 华北农学报, 2012 27(2):185-188.