

谷胱甘肽及其类似物对小麦耐热性的影响

高伟, 张明才, 段留生

中国农业大学农学与生物技术学院; 植物生理学与生物化学国家重点实验室; 植物生长调节剂教育部工程研究中心, 北京 100193

摘要 利用冬小麦品种京都 40 和春小麦品种辽春 17, 以谷胱甘肽 (GSH), 寡肽 (GCG) 以及合成寡肽 GCG 所用的谷氨酸 (Glu)、半胱氨酸 (Cys) 和 γ -氨基丁酸 (GABA) 3 种物质组合作处理, 清水作对照, 研究高温胁迫条件下不同处理对小麦幼苗抗高温胁迫生理特性的影响, 明确寡肽 GCG 的生理活性。结果表明, 在高温胁迫条件下, 200 μ mol/L 的 GSH 和 GCG 处理可使小麦保持较高的相对含水量, 降低叶片质膜相对透性和丙二醛 (MDA) 的含量, 有利于维持细胞膜的完整性。同时, 在高温胁迫条件下, GCG 处理显著提高了幼苗对二苯基苦基苯肼 (DPPH) 活性氧自由基的清除能力, 且叶片中抗氧化酶活性也被诱导增强, 有利于缓解高温对小麦幼苗的伤害。与其他 2 种处理相比, GCG 的处理效果最为显著。综合来看, GCG 具有类似 GSH 的抗氧化活性, 可以增强小麦幼苗对高温胁迫的耐性, 因此 GCG 作为一种人工合成的寡肽, 有望作为农业生产调节剂来开发应用。

关键词 寡肽; 谷胱甘肽; 小麦; 高温胁迫

中图分类号 S512.1, S311

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2012.12.003

Effect of Glutathione and Analogue on High Temperature Tolerance of Wheat Seedlings

GAO Wei, ZHANG Mingcai, DUAN Liusheng

College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University; State Key Lab of Plant Physiology and Biochemistry; Engineering Research Center of Plant Growth Regulator, Ministry of Education, Beijing 100193, China

Abstract In this experiment, glutathione (GSH), oligopeptide (GCG), and three substances including glutamate (Glu), cysteine (Cys) and gamma aminobutyric acid (GABA) were used as treatments, water was used as control (CK), two wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings Jingdu 40 and Liaochun 17 were taken to study the effects of different treatments on physiological characteristics under high temperature resistance, and furthermore to determine the physiological activity of the oligopeptide GCG. The results show that under the condition of high temperature stress, the treatments with 200 μ mol/L GSH and GCG are able to maintain higher leaf relative water content of wheat seedlings, reduce the relative electrolyte leakage and malondialdehyde (MDA) content, and conduce to the integrity of cell membrane. In the meantime, GCG treatment could significantly enhance the 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity in wheat seedlings under high temperature stress, and the activities of antioxidative enzymes are also improved to reduce the damage caused by the high temperature. Comparing with the other two kinds of treatments, the effect of GCG treatment is most significant. On the whole, GCG could enhance the high temperature tolerance of wheat through modifying the activities of antioxidative enzymes similar to GSH. Therefore as a kind of synthetic oligopeptide, GCG is expected to develop the applications as an agricultural production regulator.

Keywords oligopeptide; glutathione; wheat; high temperature stress

收稿日期: 2012-03-19; 修回日期: 2012-04-02

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2011AA10A206)

作者简介: 高伟, 博士研究生, 研究方向为作物生理, 电子信箱: wei1227@126.com; 段留生 (通信作者, 中国科协所属全国学会个人会员登记号: A090000329S), 教授, 研究方向为植物激素生理与化学控制, 电子信箱: duanlsh@cau.edu.cn

0 引言

高温胁迫是指由于高温引起植株生理变化而导致品质变劣和产量降低,分为热激或热休克和慢性热胁迫两种,前者指相对短时间的极端高温胁迫,后者指较长时间的相对高温胁迫^[1]。小麦是重要的粮食作物,喜凉,但高温胁迫已成为许多国家小麦生产面临的主要问题之一,在小麦苗期,高温胁迫会导致体内积累大量的活性氧,若不能及时清除,会引起植物叶片光合作用的光抑制及光氧化伤害,进一步引起膜损伤和脂质过氧化,破坏细胞膜的稳定性,从而影响小麦正常生长发育。到了生育后期,高温导致叶源、库活性的降低,破坏淀粉的积累,致使粒重下降,品质降低,这方面的研究在国内外已有大量报道^[2-3]。随着“温室效应”的加剧,全球气温上升,澳大利亚、美国、南非等小麦主产区都有发生,美国和澳大利亚每年因此而减产 10%—15%,如何缓解高温胁迫对农业生产造成的损失已成为人们密切关注的重大课题。

作物化学控制技术为传统的作物栽培技术注入了新的活力,通过外施某些化学物质(如冠菌素、 γ -氨基丁酸(GABA))和某些无机盐等来提高作物抗热性已有不少报道。冠菌素能够诱导高温胁迫条件下小麦幼苗叶片中热激蛋白的大量表达,降低叶片质膜透性,维持细胞膜的完整性,有效缓解高温对小麦幼苗的伤害^[4];在冬小麦开花期喷施一定浓度的 GABA,有利于增强其灌浆期的耐热性,并能提高小麦的产量和品质^[5]。刘富林等^[6]研究证明,播种 CaCl_2 处理过的小麦种子,在高温胁迫下叶片的光合速率下降较少,根冠淀粉水解速度也较慢,植株表现出较强抗性。可见,适当的调节剂处理能显著改变高温胁迫条件下小麦体内相关生理指标的变化,延缓叶片衰老,对保持叶源、库器官的生理活性具有显著作用。

植物体内自身存在一种非常重要的生物活性物质——谷胱甘肽(Glutathione, GSH),它在生物体内抵抗各种胁迫(冷害、干旱、重金属、真菌等)的过程中起着重要作用,同时也可能是生物体内起调节作用的信号分子之一^[7]。已有研究证明,逆境胁迫下外源 GSH 能够降低植物叶片的电导率,减少胁迫产生的丙二醛(Malondialdehyde, MDA)的量^[8-11],减轻逆境对植物生长的影响。但由于 GSH 易分解,且成本较高,很难在农业生产中进行大面积应用。

在化学控制技术中,很重要的一方面是对新型生理活性物质的开发应用。本研究以冬小麦品种京都 40 和春小麦品种辽春 17 为试验材料,分析比较高温条件下,外源施加 GSH、寡肽 GCG 以及合成寡肽所用 3 种物质组合对小麦幼苗伤害程度以及抗氧化酶活性的影响,以期对寡肽在农业生产中诱导小麦耐热性提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为冬小麦品种京都 40 和春小麦品种辽春 17,分别由中国农业科学院作物科学研究所和辽宁省农业科学

院提供。选取颗粒饱满,大小一致的小麦种子,用 10% H_2O_2 消毒 15min,在蒸馏水中浸泡 24h 后,选取露白一致的种子播种在盛有营养土(添加蛭石,比例为 1:1)的塑料盆中,每盆留苗 15 株,25℃/14h 光照,20℃/10h 黑暗,定期浇水,最后在小麦长到 2 叶 1 心时进行处理试验。寡肽 GCG 由北京优博基因科技有限公司合成,纯度经质谱(Mass Spectrometry, MS)和高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)分析达到 99.36%,达到生物学实验要求。

1.2 试验处理

试验设置常温(Normal, N)和高温(Heat, H)两种温度环境,每种温度环境下做 4 种不同处理:对照(Control, CK)、GSH、GCG 以及合成 GCG 所用的谷氨酸(Glutamate, Glu)、半胱氨酸(Cysteine, Cys)和 γ -氨基丁酸(Gamma Aminobutyric Acid, GABA)3 种物质组合(本试验中以“Mix”表示),待小麦长到 2 叶 1 心时,分别用浓度为 200 $\mu\text{mol/L}$ 的 GSH、GCG 以及 Mix 涂抹小麦叶片,对照用清水处理,连续涂抹 2d,每天 1 次,每次 10mL,24h 后分别放置于常温和高温环境(先进行 30℃高温锻炼 12h,然后将温度调至 40℃,处理 48h)。

1.3 试验方法

高温处理 48h 后,各处理随机选取表现一致的小麦幼苗倒 2 叶进行相关测定。参照张志良^[12]的方法测定叶片相对含水量, Lutts 等^[13]方法测定质膜相对透性;丙二醛(MDA)含量参考 Sairam 等^[14]方法测定;二苯基苦基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)活性氧清除率的测定参照 Kang 等^[15]方法;超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)和过氧化物酶(Peroxidase, POD)3 种抗氧化酶活性的测定分别参照 Dhindsa 等^[16]、Sairam 等^[14]和 Tatiana 等^[17]方法。

1.4 数据分析

实验结果用 SAS 8.0 软件统计分析差异显著性, $P \leq 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同处理对小麦幼苗叶片相对含水量的影响

由图 1 可以看出,无论是京都 40 还是辽春 17,高温胁迫处理使对照都出现了明显的萎蔫现象,经 GSH 和 GCG 处理,能有效地缓解这种状况,以京都 40 表现最为显著。叶片相对含水量是反映植株水分状况最常用的指标。与常温条件相比,高温致使小麦幼苗叶片相对含水量大幅度下降(图 2),不同处理对常温条件下叶片相对含水量的影响不大,但能缓解高温条件下相对含水量的下降幅度。与高温处理对照相比, GSH 使京都 40 和辽春 17 的叶片相对含水量分别提高 3.4% 和 2.3%, GCG 可使其分别提高 4.9% 和 2.7%,而 3 种物质组合 Mix 对京都 40 影响较大,可使其提高 4.4%,对辽春 17 的影响效果不显著。

由此可见,在常温条件下,各处理对小麦幼苗叶片的含水量无明显的影响,但是高温胁迫发生时, GSH 和 GCG 处理能维持幼苗叶片相对含水量在较高水平,以 GCG 的效果较好。

植物体的调节机制来实现,但是其所表现的效果要优于 GSH 以及合成所用 3 种物质组合,因而关于 GCG 的作用机制尚待进一步研究探讨。

4 结论

本试验研究认为,在高温胁迫条件下,寡肽 GCG 通过提高小麦幼苗叶片抗氧化酶活性以及对 DPPH 活性氧自由基的清除能力,减少质膜损伤程度,维持较高的叶片相对含水量,从而增强小麦幼苗的耐热性,作用效果与 GSH 类似,鉴于 GSH 不稳定且成本较高,GCG 作为人工合成的寡肽,有望作为农业生产调节剂来开发应用。

参考文献 (References)

- [1] 张平平, 何中虎, 夏先春, 等. 高温胁迫对小麦蛋白质和淀粉品质影响的研究进展[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(5): 129-132.
Zhang Pingping, He Zhonghu, Xia Xianchun, et al. *Journal of Triticeae Crops*, 2005, 25(5): 129-132.
- [2] 邹琦. 小麦的高温伤害与高温适应 [J]. 植物学报, 1988, 30 (4): 388-395.
Zou Qi. *Acta Botanica Sinica*, 1988, 30(4): 388-395.
- [3] 闫素辉, 尹燕桦, 李文阳, 等. 灌浆期高温对小麦籽粒电费的积累、粒度分布及相关酶活性的影响[J]. 作物学报, 2008, 34(6): 1092-1096.
Yan Suhui, Yin Yanping, Li Wenyang, et al. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(6): 1092-1096.
- [4] 周于毅, 沈雪峰, 张明才, 等. 冠菌素诱导小麦幼苗抗高温胁迫的生理机制[J]. 麦类作物学报, 2011, 31(1): 139-142.
Zhou Yuyi, Shen Xuefeng, Zhang Mingcai, et al. *Journal of Triticeae Crops*, 2011, 31(1): 139-142.
- [5] 王晓冬, 解备涛, 谭伟明, 等. γ -氨基丁酸对冬小麦籽粒灌浆期耐热性及产量和品质的影响[J]. 麦类作物学报, 2009, 29(4): 623-626.
Wang Xiaodong, Xie Beitao, Tan Weiming, et al. *Journal of Triticeae Crops*, 2009, 29(4): 623-626.
- [6] 刘富林, 韩润林, 张凤瑞, 等. Ca^{2+} 对小麦叶片保水力及膜功能的影响 [J]. 河北农业大学学报, 1991, 14(4): 28-32.
Liu Fulin, Han Runlin, Zhang Fengrui, et al. *Journal of Hebei Agricultural University*, 1991, 14(4): 28-32.
- [7] 杨培慧, 齐剑英, 冯德雄, 等. 谷胱甘肽的应用及其检测方法[J]. 中国生化药物杂志, 2002, 23(1): 52-54.
Yang Peihui, Qi Jianying, Feng Dexiong, et al. *Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics*, 2002, 23(1): 52-54.
- [8] 韩阳, 吴斌, 李珍珍. 谷胱甘肽对老化小麦种子影响的研究[J]. 辽宁大学学报: 自然科学版, 2002, 29(3): 275-278.
Han Yang, Wu Bin, Li Zhenzhen. *Journal of Liaoning University: Natural Sciences Edition*, 2002, 29(3): 275-278.

- [9] 陈沁, 刘友良. 谷胱甘肽对盐胁迫大麦叶片活性氧清除系统的保护作用[J]. 作物学报, 2000, 26(3): 365-371.
Chen Qin, Liu Youliang. *Acta Agronomica Sinica*, 2000, 26(3): 365-371.
- [10] 鲁丽丽, 刘耕, 李君, 等. 外源 GSH 对 NaCl 胁迫下二色补血草盐害缓冲机理的研究 [J]. 山东师范大学学报: 自然科学版, 2006, 21(2): 108-111.
Lu Lili, Liu Geng, Li Jun, et al. *Journal of Shandong Normal University: Natural Science Edition*, 2006, 21(2): 108-111.
- [11] 刘传平, 郑爱珍, 田娜, 等. 外源 GSH 对青菜和大白菜镉毒害的缓解作用[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(4): 26-30.
Liu Chuanping, Zheng Aizhen, Tian Na, et al. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2004, 27(4): 26-30.
- [12] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
Zhang Zhiliang. *Plant physiology experiment guidance* [M]. Beijing: Higher Education Press, 1990.
- [13] Lutt S, Kinet J M, Bouharmont J. NaCl induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance [J]. *Ann Bot*, 1996, 78(3): 389-398.
- [14] Sairam R K, Srivastava G C. Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.): Variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes[J]. *J Agron Crop Sci*, 2001, 186(1): 63-70.
- [15] Kang H M, Saltveit M E. Effect of chilling on antioxidant enzymes and DPPH-radical scavenging activity of high- and low-vigor cucumber seedling radicles[J]. *Plant Cell Environ*, 2002, 25(10): 1233-1238.
- [16] Dhindsa R S, Plump-Dhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability a lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase [J]. *J Exp Bot*, 1981, 32 (126): 93-101.
- [17] Tatiana Z, Yamashita K, Matsumoto H. Iron deficiency induced changes in ascorbate content and enzyme activities related to ascorbate metabolism in cucumber roots[J]. *Plant Cell Physiol*, 1999, 40(3): 273-280.
- [18] Richie JP Jr, Skowronski L, Abraham P, et al. Blood glutathione concentrations in a large-scale human study [J]. *Clin Chem*, 1996, 42(1): 64-70.
- [19] Collins G G, Nie X L, Saltveit M E. Heat shock proteins and chilling sensitivity of mung bean hypocotyls [J]. *J Exp Bot*, 1995, 46 (7): 795-802.
- [20] 商侃侃, 张德顺, 王铖. 高温胁迫下植物抗性生理研究进展 [J]. 园林科技, 2008, 1(1): 1-5.
Shang Kankan, Zhang Deshun, Wang Cheng. *Garden Technology*, 2008, 1(1): 1-5.
- [21] 谢亚军, 王兵, 梁新华, 等. 干旱胁迫对甘草幼苗活性氧代谢及保护酶活性的影响[J]. 农业科学研究, 2008, 29(4): 19-22.
Xie Yajun, Wang Bing, Liang Xinghua, et al. *Journal of Agricultural Sciences*, 2008, 29(4): 19-22.

(责任编辑 吴晓丽)