

文章编号: 1000-5471(2007)05-0095-04

小麦黄化苗转绿过程中生理生化指标的动态变化^①

梁丽娇^{1,2}, 马红群¹, 周忆堂¹, 吴能表¹

1. 西南大学 生命科学学院, 重庆 400715; 2. 重庆三峡学院 化学与环境工程系, 重庆 404000

摘要: 研究小麦 (*Triticum aestivum* L.) 黄化苗转绿过程中叶片内脯氨酸、可溶性糖、蛋白质、叶绿素、丙二醛含量的变化和 SOD、POD、CAT 活性的动态变化。结果表明: 在见光初期, 黄化苗的所有生理生化指标均低于对照, 可溶性糖和叶绿素含量在见光后明显上升, 脯氨酸、丙二醛含量和 CAT 活性等指标先升高后降低, 再表现出不同的变化趋势, 蛋白质含量以及 POD、SOD 活性等指标则先降低后升高, 再表现出不同的变化趋势。

关键词: 小麦; 黄化苗; 转绿; 生理生化指标

中图分类号: S121.1

文献标识码: A

由于植物是一种固定生长的生物, 因此周围多变的环境(如光、温度、水分等)对其生长发育起着非常重要的作用。其中, 光对植物的作用最重要^[1], 光敏色素在光调节植物种子萌发、幼苗生长、茎的伸长、子叶伸展直至开花控制等都起着关键性的作用^[2]。黑暗中生长的幼苗茎、叶为黄白色, 因而被称为黄化苗, 黑暗中生长产生黄化苗的现象被称为黄化现象^[3]。黄化状态的幼苗通过转绿变为正常进行光合作用的叶片是一个较为长期的过程, 这包括了叶绿素的合成、光合机构的形成以及真叶的形成等过程, 所以绿化过程涉及到分化、发育和物质的运输等多种生理学现象。本实验以小麦(*Triticum aestivum* L.)为材料, 研究了黄化苗转绿过程中, 叶片内脯氨酸、可溶性糖、蛋白质、叶绿素、丙二醛含量的变化以及 SOD、POD、CAT 活性的变化, 可以为光照对小麦生长发育的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取质量较好的冬小麦先用 40 °C 温水浸泡 12 h 左右, 再将两盘种子于 30 °C 下在培养箱中进行萌发。其中一盘在正常条件下 4 000 lx 光照下培养, 另一盘进行黑暗处理, 并同时浇灌 Hoagland 完全营养液。待小麦苗长到 10 cm 左右时, 将作黑暗处理的小麦取出置于 4 000 lx 光照条件下生长, 并开始每隔 24 h 对两盘小麦的叶片分别进行采样, 采样 6 次, 于 -70 °C 保存, 用于试验。

1.2 方法

脯氨酸含量的测定采用磺基水杨酸法^[4]测定, 丙二醛(MDA)含量及可溶性糖含量采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定^[5]。抗氧化保护酶 SOD、POD、CAT 的提取和活性测定以及可溶性蛋白质的提取参照李忠光等^[6]的方法进行, 对小麦叶子中几种抗氧化酶的提取系统作了一定的调整, 得到下列单一提取系统: 50 mmol/L pH 为 7.0 的 PBS 缓冲液(磷酸缓冲液), 1 mmol/L DTT(二硫苏糖醇), 1 mmol/L ASA(抗坏血酸), 4%的 PVP 和 1 mmol/L EDTA。准确称取经上述处理的小麦叶片约 0.5 g, 加入预冷的提取液 3 mL 和少许石英砂, 充分冰浴研磨后, 转入离心管中, 再用 2 mL 提取液洗研钵, 合并提取液并于 4 °C 下以 20000×g 离心 20 min, 将上清液分装, 冷冻后于 -70 °C 保存或直接进行酶活性测定。叶片中叶绿素含

① 收稿日期: 2007-04-15

作者简介: 梁丽娇(1982-), 女, 四川雅安人, 硕士研究生, 主要从事生物化学方面的研究。

量采用参考文献^[7]的方法测定,可溶性蛋白质含量采用 Bradford 方法^[8]测定。

数据处理和作图采用 Excell 软件。

2 试验结果

2.1 小麦黄化苗转绿过程中脯氨酸和可溶性糖含量的动态变化

黄化苗转绿过程中脯氨酸含量变化规律与正常光照下对照的脯氨酸含量变化规律较为相似。黄化苗的脯氨酸含量表现为先升高后降低,最后含量较为稳定的变化趋势,在见光后 2 d 内脯氨酸含量上升较为缓慢,在 2~3 d 内迅速上升达到峰值,第 3 天达到对照的 5 倍之多,在 3~4 d 内脯氨酸含量又有所下降,第 4 天趋于稳定并高于对照;对照的脯氨酸含量则在第 1 天达到峰值,在 2~5 d 内上升较为缓慢(图 1)。

试验结果显示,黄化苗的可溶性糖含量在见光后的 5 d 之内,一直保持缓慢上升的趋势,在第 5 天达到最高值,为见光之前含量的 45 倍之多;对照的可溶性糖含量表现为升—降—升—降的变化规律,在 0~1 d 以内测定的值表现出可溶性糖的含量在增加,且在第 1 天达到第 1 个峰值,在 1~2 d 内可溶性糖含量有所下降,2~4 d 内测定值再次上升,达到第 2 个峰值。对照的可溶性糖含量一直都高于黄化苗(图 2)。

2.2 小麦黄化苗转绿过程中蛋白质含量的动态变化

在见光后 5 d 内,小麦黄化苗蛋白质含量先表现为降低,随即又升高,最后再呈现降低趋势,且黄化苗体内蛋白质含量总体上一直低于对照,在第 1 天内达到第 1 个低谷,1~2 d 内迅速上升,并达到峰值,之后又有所下降,在 3~4 d 内测定值基本不变,第 2 个低谷出现在第 5 天;对照的蛋白质含量表现为先升高后降低的趋势,峰值出现在第 1 天,蛋白质含量约为黄化苗的 18.94 倍,随后下降,分别在 2~3 d 和 4~5 内趋于平稳(图 3)。

2.3 小麦黄化苗转绿过程中叶绿素含量的动态变化

随着照光时间的延长,黄化幼苗叶片逐渐转绿,叶片中部的叶绿素含量逐渐增加,由图 4 可见:在见光之前,小麦黄化苗叶片中叶绿素的含量明显低于对照;见光初期表现为上升趋势,但增加速度较慢:在 1~4 d 内升高较少,随着见光时间的延长,在 4~5 d 内有一急速的增加时期,最后与对照较为接近;对照叶绿素含量呈现为缓慢上升趋势。

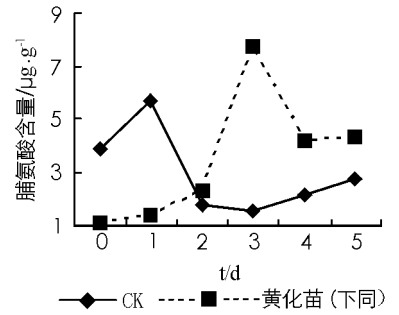


图 1 小麦黄化苗转绿过程中脯氨酸含量的动态变化

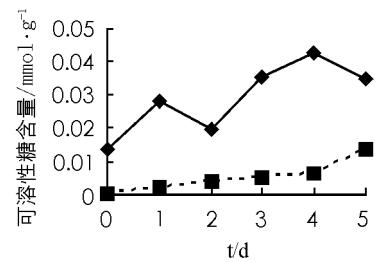


图 2 小麦黄化苗转绿过程中可溶性糖的动态变化

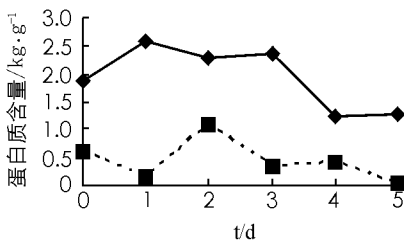


图 3 小麦黄化苗转绿过程中蛋白质含量的动态变化

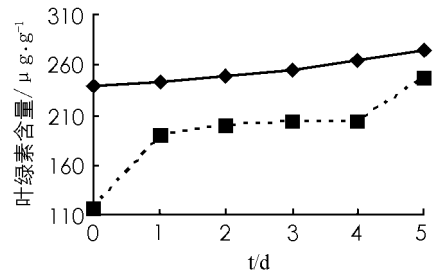


图 4 小麦黄化苗转绿过程中叶绿素含量的动态变化

2.4 小麦黄化苗转绿过程中几种抗氧化保护酶活性的动态变化

黄化苗 POD 活性表现为先降低后升高,于第 1 天达到低谷,在 1~2 d 内迅速上升,2~4 d 内保持稳定,在 4~5 d 又升高并超过对照;对照 POD 活性表现为先升后降,在第 3 天达到峰值(图 5)。

黄化苗的 CAT 活性的变化总体表现为升—降—升的趋势,在见光后 0~1 d 内缓慢上升,1~2 d 内上

升幅度较大, 于第 3 天达到峰值, 随后的 3~4 d 内出现大幅度下降, 后又有所升高; 对照的 CAT 活性基本表现为缓慢上升趋势, 黄化苗的 CAT 活性在第 1 天时超过对照, 在随后的几天内除了第 4 天内略微低于对照外, 其余均高于对照(图 6).

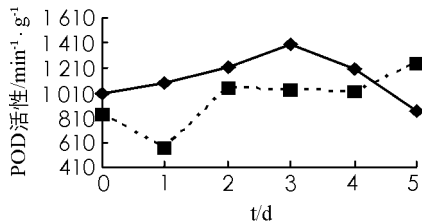


图 5 小麦黄化苗转绿过程中
POD 活性的动态变化

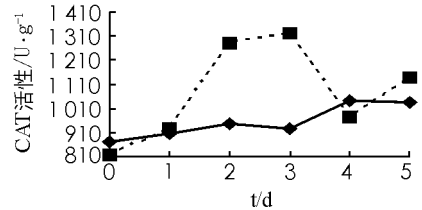


图 6 小麦黄化苗转绿过程中
CAT 活性的动态变化

黄化苗的 SOD 活性始终低于对照, 表现为降—升—降—升的趋势, 在第 2 天达到第 1 个低谷, 在 2~3 d 内有所上升, 随即又降低, 第 2 个低谷出现在第 4 d, 在第 5 天达到峰值; 对照的 SOD 活性在 0~1 d 内基本保持稳定, 与黄化苗一样在第 2 天出现低谷, 之后的 2~3 d 内迅速上升, 在 3~5 d 内 SOD 活性基本保持不变(图 7).

2.5 小麦黄化苗转绿过程中丙二醛(MDA)含量的动态变化

在见光之后, 小麦黄化苗 MDA 含量表现为升—降—升的趋势, 在 0~3 d 内上升较为缓慢, 在第 4 天出现最低值, 后有较大幅度上升, 并与对照 MDA 含量接近, 且黄化苗第 5 天的 MDA 最终含量低于见光初期; 对照的 MDA 含量则表现为升—降—升—降趋势, 分别在第 1 天和第 4 天达到峰值, 在第 4 天时, 其 MDA 含量达到黄化苗的 3.35 倍之多(图 8).

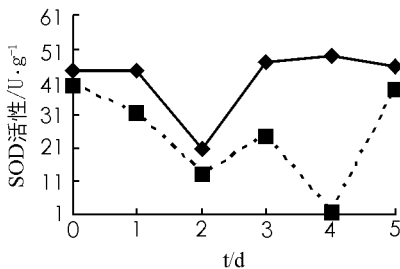


图 7 小麦黄化苗转绿过程中
SOD 活性的动态变化

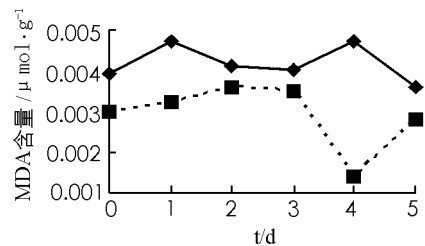


图 8 小麦黄化苗转绿过程中
MDA 含量的动态变化

3 讨论

游离脯氨酸是植物细胞内重要的渗透调节物质, 它与植物体内活性氧自由基的清除以及膜质过氧化作用的减轻有密切的关系, 脯氨酸具有调节细胞渗透平衡、增强细胞结构稳定性和阻止氧自由基产生的作用^[9]. 糖是调节渗透胁迫的小分子物质, 脯氨酸的积累需要碳水化合物, 碳水化合物通过氧化磷酸化作用为脯氨酸的合成提供必需的氧化还原能力, 它是植物代谢的基础物质^[10]. 从上面的研究可以看出, 小麦黄化苗见光后, 可溶性糖的含量逐渐上升, 脯氨酸的含量也有明显提高; 随着见光时间的进一步延长, 脯氨酸的含量又有所下降, 这可能与黄化苗对光照逐渐适应以及酶保护系统的启动, 自由基减少有关, 还有待进一步研究.

叶绿体影响各种有机物质的生物合成能力是转绿过程中的重要问题. 而光是影响叶绿素合成的主要条件, 因为光照能使原脱叶绿醇叶绿素还原为脱叶绿醇叶绿素, 一般在黑暗中生长的植物都不能合成叶绿素, 叶子发黄. 本研究表明, 黄化苗见光后叶绿素含量呈稳定上升趋势, 并在第 5 天与对照较为接近.

在有光照的植物体中, 当 NADPH/NADP⁺ 值高时, 电子从叶绿素分子或 PS1 组成物上传递到 O₂ 时, 通常会有自由基的产生^[11]. 当植物细胞内代谢平衡破坏时, 有利于自由基的产生, 过剩的自由基的毒害之

一是引发或加剧膜质氧化作用. 膜质过氧化的次生产物丙二醛(MDA)是长期以来用于检测膜质过氧化程度的一个公认指标^[12]. 为了保证需氧生物正常的代谢, 必须及时的清除由正常代谢及各种外界环境胁迫所产生的自由基, 抗氧化作用的保护酶能够转移、消灭自由基及氧化中间产物. 抗氧化保护酶 CAT 和 POD 则能有效的移走 H₂O₂ 自由基^[13], SOD 能清除 O₂⁻ 自由基. 在黄化苗见光初期, 其体内丙二醛含量以及几种抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性均低于对照, 随着见光时间的延长, POD 和 CAT 活性超过对照, SOD 活性和 MDA 含量也接近对照. 这表明, 当植物体黄化苗见光后, 体内的抗氧化酶系统能力会有所提高, 这有助于自由基的清除, 从而降低膜脂过氧化程度, 其产物 MDA 的最终含量也会有所下降.

参考文献:

- [1] Whitelam G C, Devlin P F. Light signalling in Aroidopsis plant [J]. *Physiol Biochem*, 1998, 36(1-2): 125.
- [1] 马建华, 郑海雷, 赵中秋, 等. 植物的光敏色素 [J]. *生物学杂志*, 2002, 19(3): 1-4.
- [3] 李合生. 现代植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 92.
- [4] 张殿忠, 汪沛洪, 赵会贤. 测定小麦叶片游离脯氨酸的方法 [J]. *植物生理学通讯*, 1990, 26(4): 62-65.
- [5] 赵世杰, 许长成, 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): 207-210.
- [6] 李忠光, 李江鸿, 杜朝昆, 等. 在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶 [J]. *云南师范大学学报*. 2002, 22(11): 44-48.
- [7] 汤章城. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 95.
- [8] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248-254.
- [9] 彭志红, 彭克勤, 胡家金. 渗透胁迫下植物脯氨酸积累的研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2002, 18(4): 80-83.
- [10] Foy C D, White M C. The physiology of metal toxicology in plants [J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 1978, 29: 511-566.
- [11] 唐萍. 自由基及植物的抗氧化酶系统 [J]. *连云港教育学院学报*, 2000, 50(2): 96-97.
- [12] 陈贵, 胡文玉, 谢捕绶, 等. 提取植物体内 MDA 溶剂及 MDA 作为衰老指标的探讨 [J]. *植物生理学通讯*, 1991, 27(1): 44-46.
- [13] Scandalies J G. Oxygen stress and superoxide dismutase [J]. *Plant Physiol*, 1993, 101: 7-12.

The Dynamic Changes of Physiological and Biochemical Indexes During the Greening of Wheat Etiolate Seedlings

LIANG Li-jiao^{1,2}, MA Hong-qun¹, ZHOU Yi-tang¹, WU Neng-biao¹

1. School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Department of Chemical and Environmental Engineering, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404000, China

Abstract: The dynamic changes of different contents of proline, dissoluble sugar, protein, chlorophyll, MDA and different activities of SOD, POD, CAT during the greening of wheat etiolated seedlings were studied. It showed that in the early stages of exposing to light, all of the wheat etiolated seedlings' physiological and biochemical indexes are lower than comparison. The different contents of dissoluble sugar and chlorophyll rose obviously when exposing to light. The different contents of proline, MDA and activity of CAT rose first, then went down, at last, had different change tendencies. The content of protein and different activities of POD, SOD went down first, then rose, at last, had different change tendencies.

Key words: wheat; etiolated seedlings; turning green; physiological and biochemical indexes