

热激处理对棉花耐逆性的影响

方丽平, 汪瑞清, 杨国正*

(华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070)

摘要:从不同生育期热激处理对棉花抗氧化酶活性和细胞膜伤害的影响及萌动期热激处理对棉花自然高温期的抗氧化酶活性和细胞膜伤害的影响这两个方面研究热激处理与棉花耐逆性的关系。结果表明:热激处理后棉花体内的SOD、POD、CAT的酶活性都增高,在自然高温期MDA的含量下降,蕾铃脱落率下降,热激处理能在一定程度上诱导棉花耐逆性的获得。

关键词:棉花;热激处理;抗氧化酶(SOD、POD、CAT);耐逆性

中图分类号:S562.03 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2009)01-0046-05

Effects of Heat Shock Treatment on the Stress Tolerance in Cotton

FANG Li-ping, WANG Rui-qing, YANG Guo-zheng*

(College of Plant Science and technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Effects of heat shock at different growth phases and germinating on stress tolerance in cotton were studied. Results indicated that heat shock treatment increased the activity of antioxidant enzyme, especially the activity of SOD, POD, CAT, and decreased cellular injury caused by reactive oxygen species, and decreased the content of MDA in cotton, thus protected cotton from injury in high temperature. So heat shock treatment can increase cotton's stress tolerance and the boll retention in high temperature.

Key words: cotton; heat shock treatment; antioxidant enzyme (SOD, POD, CAT); stress tolerance

随着全球环境的日益恶劣,各种环境胁迫也日益严重。作物逆境生理学已成为各国科学家和政府关注的焦点。近年来,我国一些地区不断遭受热浪袭击,屡创有史以来最高温度,直接威胁着这些地区农业生产的发展。20世纪60年代后,作物耐热性的研究越来越受到人们的重视,加强植物抗性生理的研究,探明植物在不良环境下的生命活动规律并加以人为调控,对于夺取农业高产稳产具有重要意义。高温胁迫打破棉花体内的正常生理代谢,导致活性氧的积累,引起膜脂过氧化伤害,导致棉花幼铃的脱落,严重影响棉花的产量。已有研究表明,活性氧的积累及其引起的膜脂过氧化伤害可能是导致棉花幼铃脱落的重要原因之一^[1]。本实验从不同生育期热激处理对棉花抗氧化酶活性和细胞膜伤害的影响及萌动期热

激处理对棉花自然高温期抗氧化酶活性和细胞膜伤害的影响两个方面来研究热激处理与棉花耐逆性获得的关系。

1 材料和方法

1.1 材料培养

1.1.1 室内材料的培养方法。杨国正等认为棉花热激处理的最佳组合是42℃、2 h^[2],所以本实验中热激处理条件采用42℃、2 h。将DP99B(简称DP)、绿色棉LV、棕色棉ZH3个品种的种子分3批浸种,播种于塑料杯中,在25~28℃条件下育苗。当3批种子分别处于萌动期、子叶期、1叶期时进行热激处理,即把材料直接放入42℃恒温箱中热激处理2 h。热激处理后立即取样,萌动期取去外壳后的种胚,子叶期、1叶期取子叶,

分别准确称取 0.5 g。测定热激处理后 SOD、POD、CAT、MDA 等生理生化指标,以不处理为对照,重复 3 次。

1.1.2 大田材料的培养方法。 DP、LV、ZH 3 个品种的棉花种子在室温条件下。浸泡 24 h,立即放入 42℃ 的恒温箱中进行热激处理,2 h 后取出播于大田中,以不处理种子作对照。整个生育期田间管理措施与大田生产水平相同。在自然高温期取倒数第 3~4 叶片,测定 SOD、POD、CAT、MDA 等生理生化指标,重复 3 次。

1.2 实验测定方法和田间调查

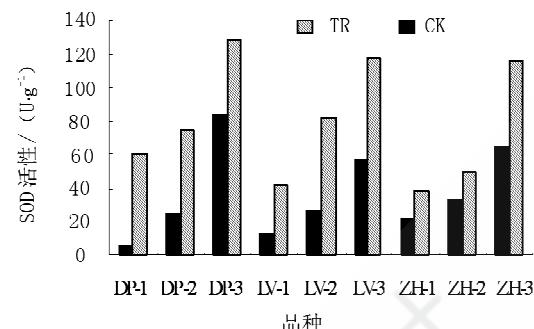
丙二醛(MDA)含量的测定采用 TBA 法测定^[3],SOD 的测定采用 NBT 测定法^[3],CAT 活性测定采用紫外分光光度法测定^[4],POD 活性测定采用愈创木酚法测定^[3]。分别于 8 月 15 日、8 月 31 日、9 月 15 日定点调查棉花的蕾铃脱落数。

2 结果与分析

2.1 热激处理对棉花抗氧化酶活性的影响

2.1.1 不同时期热激处理对棉花抗氧化酶活性(SOD、POD、CAT)的影响。 从图 1 可知:随着棉花的生长发育,SOD 酶活性也逐渐增高,经热激处理后,各品种的 SOD 酶活性均高于对照,且不同生育期 SOD 酶活性增长幅度存在差异。热激处理后 DP 的 SOD 酶活性在萌动期增高 1.75 倍,在子叶期和 1 叶期分别增高 0.38 和 0.26 倍。LV 酶活性在萌动期和子叶期分别增高 1.17 和 1.00 倍,在 1 叶期增高 0.33 倍。ZH 酶活性在萌动期增高 1.02 倍,在子叶期和 1 叶期分别增高 0.23 和 0.81 倍。由此可见,热激处理诱导了 SOD 酶活性的增强。

随着棉花的生长发育,POD 酶活性也逐渐增高(图 2),经热激处理后,各品种的 POD 酶活性均高于对照,不同生育期 POD 酶活性增长幅度也存在差异。热激处理后 DP 的 POD 酶活性在萌动期和子叶期分别增高 0.07 和 0.04 倍,在 1 叶期增高 0.30 倍。LV 该酶活性在萌动期增高 2.63 倍,在子叶期和 1 叶期分别增高 1.07 和 1.02 倍。ZH 酶活性在萌动期增高 0.68 倍,在子叶期和 1 叶期分别增高 0.94 和 1.42 倍。结果表明,热激处理诱导了 POD 酶活性的增强,但在不同品种和不同生育期对该酶活性的增强效果不同。



DP-1 为萌动期 DP,DP-2 为子叶期 DP,DP-3 为 1 叶期 DP;LV-1 为萌动期 LV,LV-2 为子叶期 LV,LV-3 为 1 叶期 LV;ZH-1 为萌动期 ZH,ZH-2 为子叶期 ZH,ZH-3 为 1 叶期 ZH;TR 表示热激处理;下同。

图 1 热激处理对棉花 SOD 酶活性的影响

Fig. 1 Effect of heat shock on SOD activity in cotton

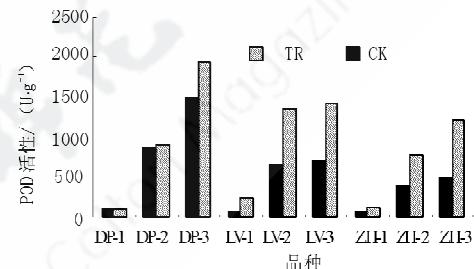


图 2 热激处理对棉花 POD 酶活性的影响

Fig. 2 Effect of heat shock on POD activity in cotton

经热激处理后,各品种的 CAT 酶活性高于对照(图 3),但子叶期的 CAT 酶活性比萌动期和 1 叶期都高。热激处理后 DP 的 CAT 酶活性在萌动期增高 1.75 倍,在子叶期和 1 叶期分别增高 0.38 和 0.26 倍。LV 该酶活性在萌动期和子叶期分别增高 1.17 和 1.00 倍,在 1 叶期增高 0.33 倍。ZH 酶活性在萌动期增高 1.02 倍,在子叶期和 1 叶期分别增高 0.23 和 0.81 倍。结果表明,热激处理诱导了 CAT 酶活性的增强,但对不同品种在不同生育期该酶活性的增强效果不同。

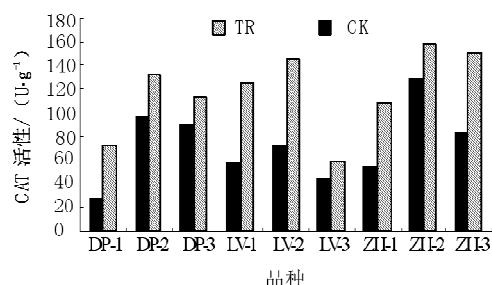


图 3 热激处理对棉花 CAT 酶活性的影响

Fig. 3 Effect of heat shock on CAT activity in cotton

2.1.2 萌动期热激处理对自然高温期棉花叶片抗氧化酶活性的影响。 经过热激处理,各品种的SOD酶活性都比对照高,LV平均增高53.5%,DP增高幅度较小,只有9%,ZH平均增高14%。DP、LV、ZH之间的SOD酶活性差异也较大,对照ZH的SOD酶活性比LV高16%,同时LV的SOD酶活性比DP高28%。热激处理后,ZH的SOD酶活性比LV高14%,而LV的SOD酶活性仅比DP高2%。

经过热激处理,各品种的POD酶活性都比对照高,LV平均增高20%,DP增高23%,ZH增高46%。品种之间的POD酶活性差异也较大,对照ZH的POD酶活性比LV高55%,同时LV的POD酶活性比DP高28%。热激处理后,ZH的POD酶活性比LV高45%,而LV的POD酶活性比DP高15%。

经过热激处理,各品种的CAT酶活性都比对照高,LV平均增高74%,DP增高46%,ZH增高20%。品种之间的CAT酶活性差异也较大,对照ZH的CAT酶活性比LV高8%,同时LV的CAT酶活性比DP高27%。热激处理后,ZH的CAT酶活性比LV高50%,而LV的CAT酶活性仅比DP高43%。

2.2 热激处理对MDA含量的影响

2.2.1 不同时期热激处理对MDA含量的影响。 从表1可以看出:热激处理后,各品种体内的MDA含量都比对照(常温下)增高了,DP平均增高39.84%,LV平均增高47.33%,ZH平均增高50.21%。MDA是膜脂过氧化的主要产物之一,是有细胞毒性的物质,能够引起细胞膜功能紊乱,且对许多功能分子有破坏作用。因此,MDA含量增加是植物细胞损伤的直接原因。MDA含量的增加表明热激处理也即热胁迫对棉花产生了一定程度的伤害。

2.2.2 萌动期热激处理对自然高温期棉花叶片MDA含量的影响。 经热激处理后各品种体内的MDA含量都比对照有所降低(表2)。DP下降16%,LV下降35%,ZH下降26%。MDA是膜脂过氧化的主要产物之一,是有细胞毒性的物质,能够引起细胞膜功能紊乱,且对许多功能分子有破坏作用,增大膜透性。因此,MDA含量增加是植物细胞损伤的直接原因。热激处理后MDA含

量降低,减弱细胞膜的伤害,减小膜透性。随着棉花的生长发育,在8月底热激处理的MDA含量竟比对照高。可能棉花体内活性氧的积累已超过了抗氧化酶的清除能力,导致MDA含量增高。但还是可以看出,热激处理在一定程度上降低了自然高温对棉花的伤害,早期轻度伤害可以预防后期重度伤害,这就是热激处理的作用原理。

表1 热激处理对棉花MDA含量的影响

Table 1 Effect of heat shock on MDA content

品种	项目	in cotton leaf			mol·g ⁻¹
		萌动期	子叶期	1叶期	
DP	CK	5.95	4.24	4.83	5.00
	TR	9.36*	4.56	7.17*	7.13*
	+/-	3.41	0.32	2.64	2.12
	%	57.31	7.55	54.66	39.84
LV	CK	5.06	3.82	3.85	4.24
	TR	9.89**	4.09	5.37*	6.45*
	+/-	4.83	0.27	1.52	2.20
	%	95.45	7.07	39.48	47.33
ZH	CK	3.99	4.56	4.04	4.20
	TR	7.55**	5.02	5.75*	6.11*
	+/-	3.56	0.46	1.71	1.91
	%	98.22	10.09	42.33	50.21

注: * 和 ** 分别表示 5%, 1% 的显著差异; TR 表示热激处理,+/- 表示处理与对照之差,% 表示两者相差百分数; 下同。

2.3 萌动期热激处理对棉花蕾铃脱落率的影响

从表3可知:在8月15日热激处理后棉花蕾铃脱落率都有所下降,DP下降1.18%,LV下降8.89%,ZH下降0.78%。在8月31日热激处理的DP脱落率下降4.60%,LV下降14.31%,ZH下降0.63%。在9月15日热激处理的各品种脱落率都下降,DP下降6.88%,LV下降1.79%,ZH下降3.27%。由此可见,萌动期的热激处理在一定程度上降低了棉花在自然高温期蕾铃的脱落,这就是早期热激预处理可以提高生物体耐逆能力的具体表现。

棉花萌动期的热激处理有效地降低了棉铃的脱落。自从进入自然高温期,也就是说在伏桃、早秋桃、秋桃期间,各品种的脱落率都显著下降了,而此时是保证棉花产量的关键时期,可以说萌动期热激处理在一定程度上保证了棉花的产量。

表2 萌动期热激处理对自然高温期棉花叶片MDA含量的影响

Table 2 Effect of heat shock at germinating on MDA content in cotton leaves during high temperature period mol·g⁻¹

品种	项目	日期								平均	
		08-02	08-03	08-04	08-11	08-12	08-13	08-26	08-27		
DP	CK	17.9	12.73	9.37	18.66	16.2	9.48	14.65	17.29	12.00	14.25
	TR	13.27*	10.6*	10.2	11.53**	8.6**	9.55	14.58	12.91*	16.14*	11.93*
	+/-	-4.63	-2.13	0.85	-7.13	-7.59	0.07	-0.07	-4.38	4.14	-2.32
	%	-25.87	-16.73	9.07	-38.21	-46.85	0.74	-0.48	-25.33	34.5	-16.28
LV	CK	13.57	36.59	11.1	16.87	11.3	18.1	23.65	16.46	12.78	17.83
	TR	10.65*	13.09**	11.8	13.25*	7.2*	12.77*	18.68*	14.33	2.43**	11.58*
	+/-	-2.92	-23.5	0.66	-3.62	-4.11	-5.33	-4.97	-2.13	-10.4	-6.26
	%	-21.52	-64.23	5.95	-21.46	-36.37	-29.45	-21.01	-12.94	-81.38	-35.11
ZH	CK	15.97	15.3	9.8	23.82	7.48	11.44	23.89	24.97	27.40	17.79
	TR	9.24**	12.49*	12.1*	15.5*	11.7**	14.31*	12.82**	13.59**	15.76*	13.05*
	+/-	-6.73	-2.81	2.27	-8.32	4.17	2.87	-11.1	-11.4	-11.6	-4.74
	%	-42.14	-18.37	23.16	-34.93	55.75	25.09	-46.46	-45.65	-42.34	-26.64

表3 热激处理对棉花蕾铃脱落率(%)影响

Table 3 Effect of heat shock at germinating on shedding rate of cotton buds and bolls

品种	处理	08-15	08-31	09-15
DP	CK	36.58	41.08	56.7
	TR	36.15	39.19	52.8*
	+/-	-0.43	-1.89	-3.9
	%	-1.18	-4.60	-6.88
LV	CK	39.04	51.65	50.2
	TR	35.57*	44.26*	49.3
	+/-	-3.47	-7.39	-0.9
	%	-8.89	-14.31	-1.79
ZH	CK	37.14	44.29	61.2
	TR	36.85	44.01	59.2
	+/-	-0.29	-0.28	-2
	%	-0.78	-0.63	-3.27

3 结论与讨论

马金虎等^[5]高温高湿处理棉花种子后,其萌发生长的幼苗SOD、POD活性升高,并随时间呈双峰曲线,而MDA的含量与SOD活性呈负相关。本研究结果类似。经热激处理后,各品种的抗氧化酶活性都高于对照,SOD、POD酶活性随着棉花的生长发育逐渐增高,而CAT酶活性却在子叶期较高。热激处理后LV的抗氧化酶活性增高幅度最大,其次是ZH,最后是DP。DP的三种抗氧化酶活性均高于其它两个彩色棉品种。三种抗氧化酶活性增高幅度最大的是POD,其次是SOD,最后是CAT。三种抗氧化酶协同作用,共

同清除活性氧对作物细胞的侵害,使作物能够在逆境条件下继续生长发育。

萌动期热激处理使自然高温期棉花体内抗氧化酶系统中SOD、POD、CAT酶活性提高,同时,对细胞膜有伤害作用的MDA的含量下降,MDA对细胞膜的伤害程度减弱,与大多数逆境生理的研究结果相符。从调查结果看,萌动期热激处理有效地降低了棉花在伏桃、早秋桃、晚秋桃时期棉花蕾铃的脱落率,这一结果与我们早期的报道一致^[6]。

三种抗氧化酶协同作用,共同清除活性氧对作物细胞的侵害,使作物能够在逆境条件下继续生长发育。植物的抗性由其清除活性氧的能力来决定^[7-8],清除活性氧的能力提高,则植物的耐逆性提高。热激处理后或用脱落酸处理后^[9],棉花体内三种抗氧化酶SOD、POD、CAT酶活性增高,细胞清除活性氧的能力增强,自然高温期作为细胞氧化产物之一的MDA含量也下降,MDA对细胞膜的伤害程度减弱。与大多数逆境生理的研究结果相符。POD酶活性随着棉花的生长发育逐渐增高,POD是种多功能酶,与棉花蕾铃的脱落有一定关系,而到了棉花的生长后期,棉花蕾铃脱落增加,可能也与POD酶活性有关系。

参考文献:

- [1] 李伶俐,杨青华,李文.棉花幼铃脱落过程中IAA、MDA含量及SOD、POD活性的变化[J].植物生理学通讯,2001,27(3):215-218.

- LI Ling-li, Yang Qing-hua, Li Wen. Changes of IAA, ABA and MDA contents and activities of SOD and POD in the course of abscission of young cotton bolls [J]. *Acta Photophysiologica Sinica*, 2001, 27(3): 215-218.
- [2] 杨国正, 张秀如, 孙湘宁, 等. 棉花热激蛋白产生规律的初步研究[J]. 华中农业大学学报, 1997, 16(1): 18-25.
YANG Guo-zheng, Zhang Xiu-ru, Sun Xiang-ning, et al. A primary study on cotton heat shock protein (HSP) [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 1997, 16(1): 18-25.
- [3] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 7.
LI He-sheng. Principle and technique of plant physiology and biochemistry[M]. Beijing: High Education Press 2000: 7.
- [4] 黄卓烈, 詹福建, 巫光宏, 等. 3个桉树无性系对CAT活性及同工酶比较研究[J]. 亚热带植物科学, 2003, 32(1): 4-7.
HUANG Zhuo-lie, Zhan Fu-jian, Wu Guang-hong, et al. Comparative studies of catalase activities and isozymes in three clones of Eucalyptus[J]. *Subtropical Plant Science*, 2003, 32(1): 4-7.
- [5] 马金虎, 王宏富, 王玉国, 等. 高温老化对棉花种子发芽及生理特性影响的研究[J]. 棉花学报, 2005, 17 (1) : 42-46.
MA Jin-hu, Wang Hong-fu, Wang Yu-guo, et al. Effects of high temperature aging on germination and physiological characteristics of different cotton varieties[J]. *Cotton Science*, 2005, 17 (1) : 42-46.
- [6] 杨国正, 孙湘宁, 张秀如, 等. 棉花早期热激处理与高温期蕾铃脱落关系的初步研究[J]. 棉花学报, 1997, 9 (1): 36-40.
YANG Guo-zheng, Sun Xiang-ning, Zhang Xiu-ru, et al. Heat shock treatment on cotton in its early growing period in relation to boll abscission in high temperature season. [J]. *Acta Gossypii Sinica*, 1997, 9(1): 36-40.
- [7] SMIROFF N. Plant resistance to environmental stress [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 1998(2): 214-219.
- [8] FOYER C H. Protection against oxygen radicals, an important defence mechanism studied in transgenic plants[J]. *Plant Cell Environ*, 1994, 17: 507-523.
- [9] 姚满生, 杨小环, 郭平毅. 脱落酸与水分胁迫下棉花幼苗水分关系及保护酶活性的影响[J]. 棉花学报, 2005, 17 (3): 141-145.
YAO Man-sheng, Yang Xiao-huan, Guo Ping-yi. Effects of abscisic acid on water relationship and defensive enzymes activities in cotton seedling under water stress[J]. *Cotton Science*, 2005, 17 (3): 141-145.