

干旱与条锈病复合胁迫对小麦的生理影响

冯汉青¹, 吴强¹, 李红玉^{1,*}, 万东石¹, 贾秋珍², 李敏权³, 梁厚果¹

(1. 兰州大学生命科学院, 甘肃, 兰州 730000; 2. 甘肃省农科院植保所, 甘肃, 兰州 730070;

3. 甘肃农业大学植保系, 甘肃, 兰州 730070)

摘要:以抗旱性和抗病性不同的小麦为材料, 以正常生长为对照, 观察了病原菌和水分复合胁迫对小麦叶片相对含水量、活性氧代谢以及对抗氰呼吸的发生、运行的影响。讨论了在干旱与病原菌侵染复合胁迫下, 抗氰呼吸在植物抗逆机制中所扮演的角色。复合胁迫下, 抗病小麦显然具备更强的水分调控能力, 而感病品种不能有效控制病叶水分散失。水分胁迫能引起抗氰呼吸的下降, 但不能抵消因病原菌侵染引起的抗氰呼吸的增强, 条锈菌侵染对小麦抗氰呼吸的影响远远大于水分胁迫。病原菌侵染和水分复合胁迫下, 活性氧产生的速率表现出累加效应, 而抗氰呼吸表现出和基质抗氧化酶的活性互补。植物交替氧化酶在干旱与病原菌侵染复合胁迫中具有重要的抗氧化功能, 并可能调节着逆境下物质与能量需求间的矛盾。

关键词:小麦; 条锈病; 水分胁迫; 复合胁迫; 活性氧; 抗氰呼吸; 抗氧化酶

文章编号: 1000-0933(2006)06-1963-12 **中图分类号:** S314, S432.1 **文献标识码:** A

Combined effect of water stress and pathogen infection on wheat physiology

FENG Han-Qing¹, WU Qiang¹, LI Hong-Yu^{1,*}, WAN Dong-Shi¹, JIA Qiu-Zhen², LI Ming-Quan³, LIANG Hou-Guo¹

(1. School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China; 3. Dept of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(6): 1963 ~ 1974.

Abstract: Relative water content (RWC), operation and development of alternative pathway, the changes in active oxygen species (AOS) and activities of antioxidant enzymes, and the role of alternative pathway participating in the protection mechanism against environment stress were studied and discussed in wheat seedlings leaves under combined intimidation of water stress and pathogen infection. Experiments showed that the disease-resistant cultivars had more powerful ability to regulate moisture content than the disease-susceptible cultivars under combined intimidation of water stress and pathogen infection. The effects of stripe rust on cyanide-resistant respiration were very larger than that of water stress. The decrease in cyanide-resistant respiration caused by water stress couldn't counteract the increasing cyanide-resistant respiration aroused by stripe rust infecting. Combined intimidation resulted in AOS accumulation, and cyanide-resistant respiration and the activities of antioxidant enzymes presented upon the completion of lowering AOS production, to some extent. It was proposed that cyanide-resistant respiration participates in the anti-oxidation mechanisms and regulate the ambivalence and balance of requirement of the energy and substance for combined intimidation conditions.

Key words: wheat; pathogen infection; water stress; combined intimidation; active oxygen species; cyanide-resistant respiration; antioxidant enzymes

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (301702383 和 30471133)

收稿日期: 2005-01-18; **修订日期:** 2006-01-20

作者简介: 冯汉青 (1978 ~), 男, 甘肃兰州人, 硕士, 主要从事逆境与发育中植物生理与分子生物学研究. E-mail: fenghanq03@st.lzu.edu.cn

* 通讯作者 Corresponding author

Foundation item: The project was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 301702383&30471133)

Received date: 2005-01-18; **Accepted date:** 2006-01-20

Biography: FENG Han-Qing, Master, mainly engaged in plant physiology and molecular biology on environmental stress and plants development. E-mail: fenghanq03@st.lzu.edu.cn

病原侵染与干旱分别是植物在自然环境中最常遇到的生物与非生物性的外界胁迫。条锈病是我国小麦最主要的病害,在其发生时常常伴随有水分胁迫的危害^[1]。故在生物与非生物性因素复合胁迫下植物生理状况与抗逆机制的研究对于理论与实践生产都有重要的意义。

首先,在许多不良环境(如病原侵染、干旱、低温、损伤等)下,植物需要增加代谢底物(如碳骨架等)与 ATP 的供应以满足与逆境耐受相关的生物合成与能量的需求^[2]。同时,干旱与病原菌侵染均会诱导植物组织活性氧的积累^[3,4],而高浓度的活性氧会导致植物毒害^[5],并引发细胞程序性死亡(PCD)^[6]。所以,如何满足植物对于逆境耐受相关的物质与能量的需求,同时如何降低细胞氧化损伤是抗逆生理的重要研究内容。

植物线粒体呼吸链具有一条抗氰呼吸途径(cyanide-resistant pathway)或称为交替途径(alternative pathway, AP)^[7],它在高等植物、真菌、藻类、酵母和原生动物中均有存在^[8]。多种逆境都可以诱导抗氰呼吸各个水平上的变化:病原菌侵染可诱导植物交替途径运行水平上升^[9-11];小麦叶片的抗氰呼吸在水分胁迫初期增加,随着胁迫的延长又表现为下降^[12],干旱能引起水稻 AOX1a 和 AOX1b mRNA 的稳定增长^[13]。暗示,抗氰呼吸在逆境胁迫下可能扮演着一定的角色。

Zagdaaska 等^[14]认为,水分缺失会造成细胞蛋白质代谢与离子转运的增加,而此时需要呼吸为其提供能量;Mackenzie 和 McIntosh 认为^[15],交替途径的运行可以保证逆境胁迫下细胞对于碳骨架的需要。依照能量溢流理论,交替途径水平的降低有利于氧化磷酸化的能量供应,但从细胞对碳骨架等代谢底物的需求上讲,抗氰呼吸又应该保持在一定水平。所以,抗氰呼吸的运行可能从某种程度上代表了植物在逆境下对物质与能量的调节;从抗氧化上讲,抗氰呼吸的生理功能之一在于象抗氧化酶系(如 SOD, CAT 等)一样清除活性氧,维持植物体内活性氧产生和清除系统之间的动态平衡^[16-19],可见,抗氰呼吸在植物耐受不良环境中扮演着重要的生理角色。

大量研究表明活性氧与抗氰呼吸关系密切。活性氧作为逆境信号分子可诱导抗氧化及其它保护机制的激活使植物减轻逆境损伤^[20](如脱落酸作为水分胁迫的重要信号,其合成可被活性氧诱导^[21-23];病原侵染下,活性氧积累是植物抗病反应的早期特征之一^[24,25],一些工作证明了活性氧也参与了抗氰呼吸的诱导^[26]。所以在氧化压力下,交替途径的运行水平与活性氧的代谢水平紧密相连:一方面活性氧对抗氰呼吸有一定的调控作用,另一方面,抗氰呼吸可以降低活性氧的产生,两者之间存在着应答平衡。所以水分和病原侵染复合胁迫下的相关研究不仅有利于解释活性氧与抗氰呼吸的运行规律与调节机制,而且对了解逆境胁迫下抗氰呼吸在抗氧化中所扮演的角色以及它的生理学意义均具有一定的参考价值。

鉴于抗氰呼吸与活性氧之间应答理论的研究基本属于空白,抗氰呼吸与基质抗氧化酶系在抗氧化作用上的关系也缺少必要的探讨;相信对植物处于生物与非生物性复合胁迫下的上述研究将使得抗氰呼吸与活性氧之间的代谢调控以及抗氰呼吸对植物的保护作用更加明了。同时,人们对多种胁迫之间,尤其是生物与非生物因素之间会彼此如何相互影响知之甚少^[27],然而,植物生长环境中往往是多种胁迫同时存在,以往对单一胁迫的抗性生理研究常常不能为生产提供充分与准确的理论依据。因此,该项研究对农业生产同样具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 植物材料培养方法与处理

供试小麦(*Triticum aestivum* L.)品种为定西 24,铭贤 169,98SN146 和会宁 18。定西 24 和铭贤 169 为小麦条锈菌(*Puccinia striiformis* West)高感品种(3-4 型);会宁 18 和 98SN146 为小麦条锈菌(*Puccinia striiformis* West)抗病品种(1-2 型)。其中,98SN146 与铭贤 169 为水地品种;定西 24 与会宁 18 为抗旱品种。小麦条锈菌(*Puccinia striiformis* West)菌种为条中 31 号生理小种(CY-31)。以上材料均为甘肃省农业科学研究院提供。

小麦种子经 1% 次氯酸钠消毒,自来水冲洗,室温吸涨 12h 后,于 26℃ 恒温培养箱中萌发 24h,选露白一致的种子种入消毒的石英砂盘中,于(26±1)℃ 恒温培养箱培养,每天光照 12h,光强 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,待幼苗长到 7d 龄时,进行胁迫处理。

用条锈菌夏孢子分批涂抹接种 7 天龄的小麦叶片,分别将接种后生长 0、4、8、12、16d 的小麦幼苗从石英砂盘中小心拔出,洗净根部,吸干表面水分,移入 -0.5M Pa PEG6000 蒸馏水溶液中^[28] 分别保持 0h, 12h, 24h, 以未接种的蒸馏水培幼苗为对照。对照与胁迫处理的材料均在上述温度和光照条件下生长。

1.2 组织相对含水量(RWC)的测定

叶片的相对含水量(RWC)的变化按何军贤等人^[29]的方法进行测定。RWC(材料鲜重-干重/水饱和材料鲜重-干重)

1.3 组织呼吸参数的测定

小麦叶片切成 3mm 长的片段,用 Clark 型氧电极测定其呼吸耗氧速率。反应介质为 20mmol/L (pH 6.8) 的磷酸钾缓冲液,呼吸参数的测定和计算按 Bingham 与 Farrar^[30]的方法。无任何呼吸抑制剂时测得总呼吸活性(V_t),同时加入 KCN 和 SHAM 测得剩余呼吸(V_{res}),仅加入 KCN 时的呼吸活性减去 V_{res} 得交替途径容量(V_{alt}), V_t 减去仅加入 SHAM 时得呼吸活性的交替途径实际活性(ρV_{alt})。所得呼吸速率均以 $\text{O}_2 \text{ nmol}/(\text{gFW} \cdot \text{h})$ 为单位表示。结果为 6 次以上测定平均值。

1.4 超氧阴离子和过氧化氢的测定

叶片超氧阴离子自由基的测定采用王爱国,罗广华^[31]的方法。过氧化氢的抽提和含量的计算依 Mukherhuri 和 Choudhuri^[32]的方法。结果为 6 次以上测定平均值。

1.5 抗氧化酶活性的测定

超氧化歧化酶(SOD)活性的测定:按 Dhindsa^[33]的方法。过氧化氢酶(CAT)活性的测定:按曾韶西^[34]的方法。过氧化物酶(POX)的测定:按 Bergmeyer^[35]的方法。蛋白含量测定按照 Bradford 的考马斯亮蓝 G250 法^[36]。结果为 6 次以上测定平均值。

2 结果

2.1 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片相对含水量(RWC)的影响

总体上,植物在遭受胁迫后表现出了相对含水量的下降。在抗旱品种中,无论是单独的水分胁迫与病原侵染,还是对接种后的植物进行水分胁迫,抗病品种的相对含水量下降较慢,感病品种相对含水量下降较快;同样地,在不抗旱品种中,在上述的胁迫条件下,仍然是抗病品种更能控制水分散失。比较同为感病品种或同为抗病品种的小麦,在单独的水分胁迫与病原侵染下,以及对接种后的植物进行水分胁迫下,在感病性相同的品种中,不抗旱品种的相对含水量较之抗旱品种下降更快。说明维持植物含水量在植物逆境耐受中扮演着重要角色,而控制水分散失的能力可能是抗病与抗旱机制中的共同部分。

2.2 水分胁迫和条锈病侵染对小麦幼苗叶片总呼吸速率的影响

如图 2,感病品种的呼吸速率均在接种 8d 后剧烈上升,复合水分胁迫明显抑制了该上升趋势;抗病品种的呼吸速率随病程深入较慢地上升,除接种 16d 后抗病品种的呼吸速率随水分胁迫而降低,在其余时间里,水分胁迫均导致了接种后抗病品种呼吸速率的上升。

同为感病品种,接种后,抗旱品种呼吸速率的上升幅度小于不抗旱品种,水分复合胁迫对不抗旱品种呼吸速率的降低作用比抗旱品种明显;在同为抗病品种但抗旱性不同的小麦中,整体上,水分胁迫对接种后抗旱的会宁 18 呼吸速率的升高作用也较接种后不抗旱的 98SN146 明显。

2.3 水分胁迫和条锈病侵染对小麦幼苗叶片交替途径容量的影响

接种后,感病品种定西 24 和铭贤 169 的 V_{alt} 在侵染初期上升缓慢,8d 后迅速上升,16d 时分别为对照的 41.7 倍与 31.2 倍;抗病小麦的 V_{alt} 在侵染下平稳增长,到 16d 时 98SN146 与会宁 18 的 V_{alt} 分别为对照的 13.9 倍与 11.2 倍。复合水分胁迫降低了接种 12d 后的感病品种的 V_{alt} ;病程中抗病品种 V_{alt} 值在复合水分胁迫下的降低较稳定(图 3)。

同为感病品种,接种后不抗旱的铭贤 169 的 V_{alt} 值大于同期抗旱的定西 24;抗病品种中,除接种的第 16 天不抗旱的 98SN146 的 V_{alt} 值高于同期的抗旱的会宁 18,其余时间内,抗旱品种的 V_{alt} 值高于同期不抗旱品

种。 V_{at}/V_t 与 V_{at} 值变化趋势基本相似(图 4)。

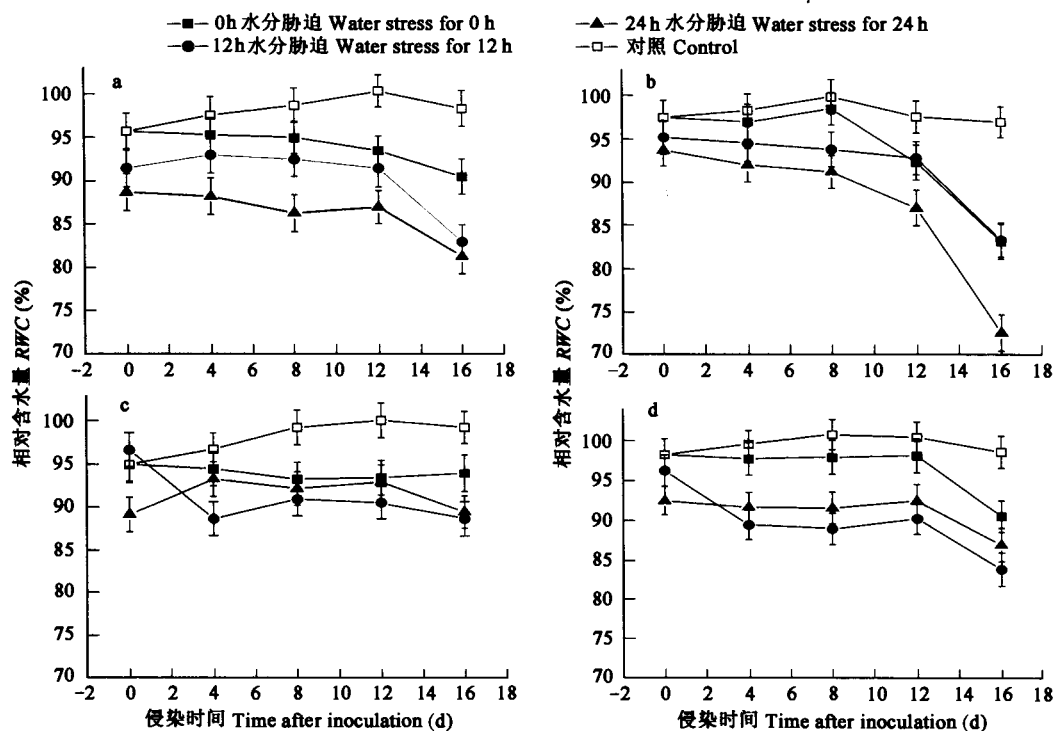


图 1 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片相对含水量(RWC)的影响

Fig. 1 Effects of water stress on relative water content (RWC) of wheat seedling leaves infected with stripe rust

(a)定西 24 dingxi 24, (b)铭贤 169 mingxian 169, (c)会宁 18 huining 18, (d)98SN146

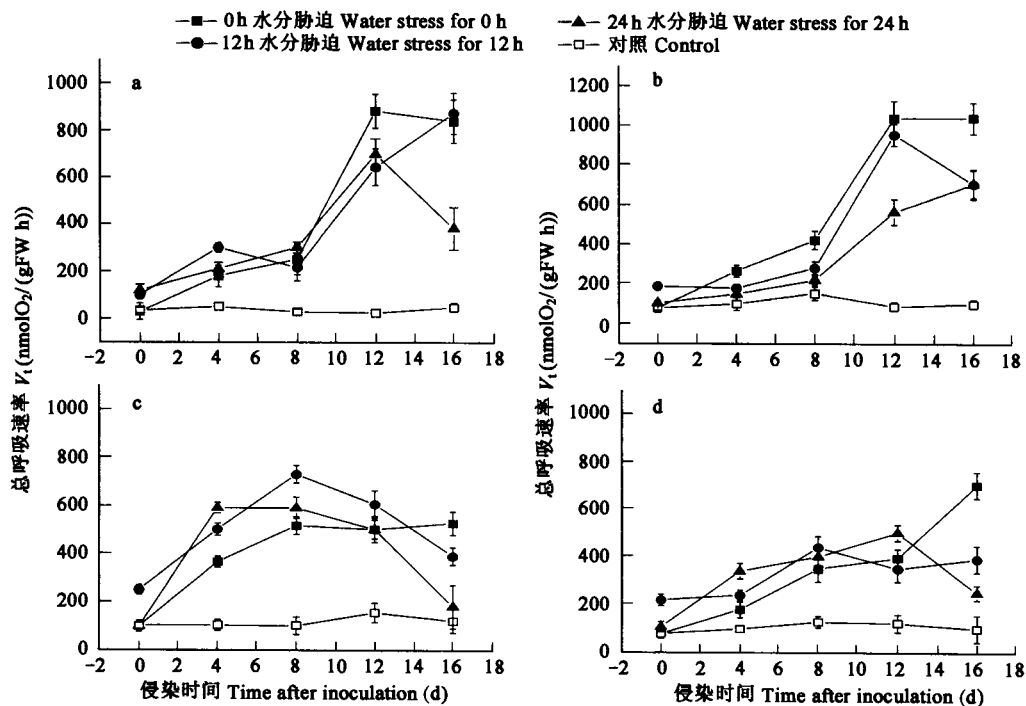


图 2 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片总呼吸速率的影响

Fig. 2 Effects of water stress on total respiration rate of wheat seedling leaves infected with stripe rust

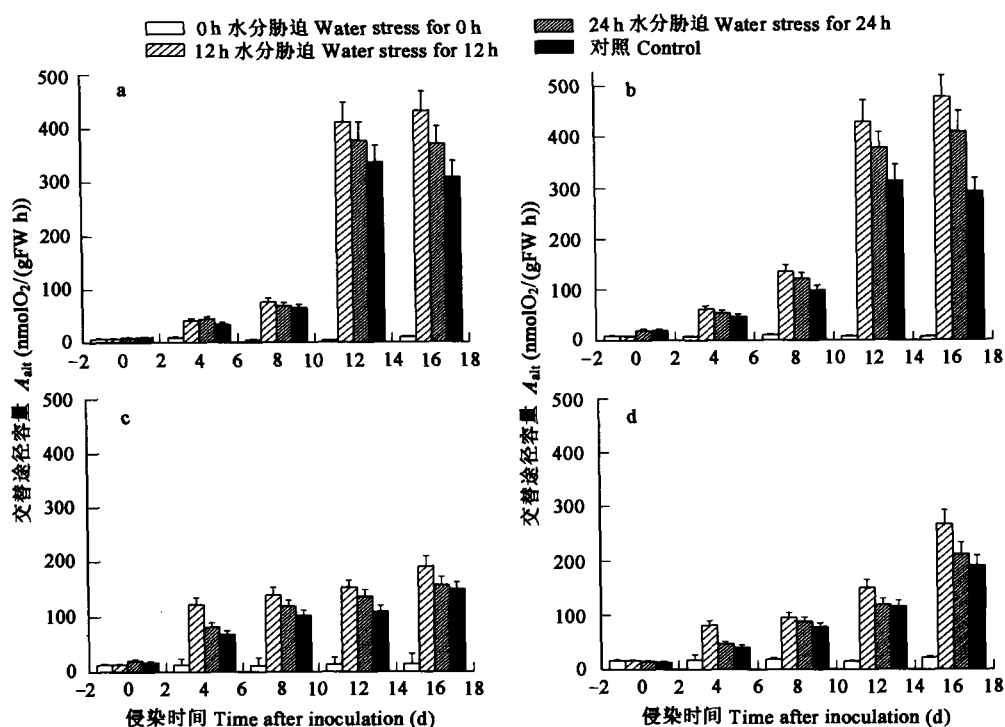
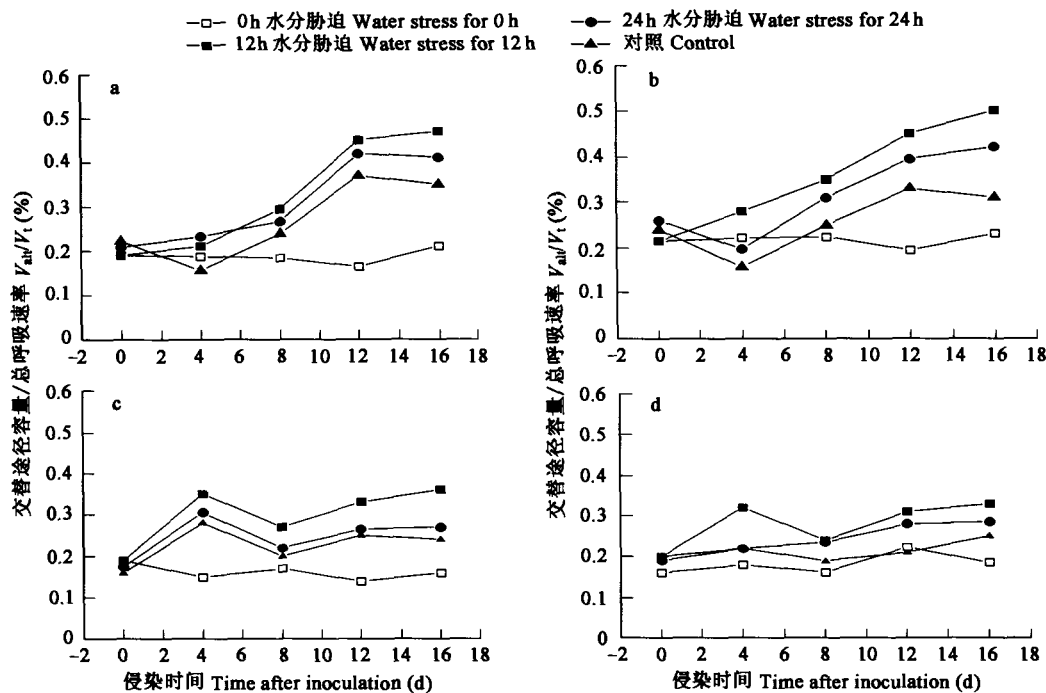


图3 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片交替途径容量的影响

Fig.3 Effects of water stress on V_{alt} of wheat seedling leaves infected with stripe rust图4 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片 V_{alt}/V_t 的影响Fig.4 Effects of water stress on V_{alt}/V_t of wheat seedling leaves infected with stripe rust

2.4 水分胁迫和条锈病侵染对小麦幼苗叶片交替途径实际运行量和运行系数的影响

交替途径容量的存在并不意味着将全部运行,同时测定了交替途径的实际运行量和运行系数。如图5,在4种小麦中,病原侵染,水分胁迫,以及复合胁迫所导致的交替途径实际运行量的变化与前文交替途径容量

的变化基本一致。

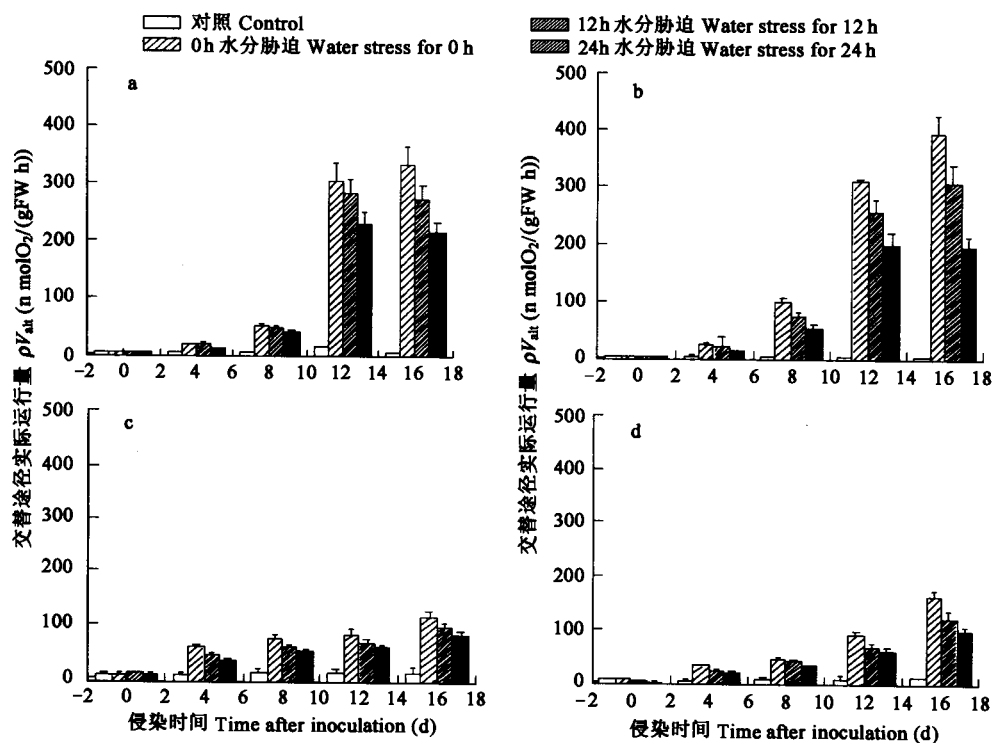


图5 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片交替途径实际运行量的影响

Fig.5 Effects of water stress on ρV_{alt} of wheat seedling leaves infected with stripe rust

接种后,感病品种的交替途径运行系数在侵染初期上升较快,在8d后上升有所减缓。抗病小麦交替途径运行系数上升慢于感病品种,而且上升较为稳定。水分复合胁迫降低了4种小麦的交替途径运行系数(图6)。

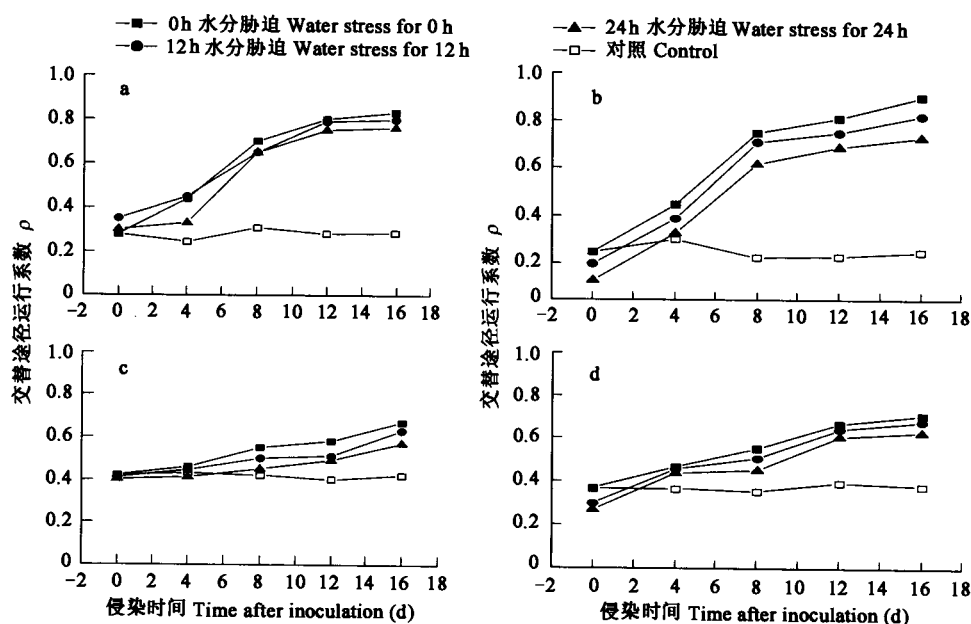


图6 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片交替途径运行系数的影响

Fig.6 Effects of water stress on ρ of wheat seedling leaves infected with stripe rust

2.5 水分胁迫和条锈病侵染下小麦幼苗叶片 O₂⁻ 和 H₂O₂ 产生的动力学

图 7 显示:接种后,感病小麦 O_2^- 含量在病程中基本维持在同一水平;抗病小麦接种后 O_2^- 含量有所上升,会宁 18 号于 12d 左右达到高峰,随后有所下降;98SN146 呈现波动变化。对接种后的小麦进行水分复合胁迫, O_2^- 含量均表现为上升。总体上,接种后干旱敏感的小麦叶片随水分胁迫 O_2^- 含量增加较多,抗旱的小麦 O_2^- 含量增加相对较少。

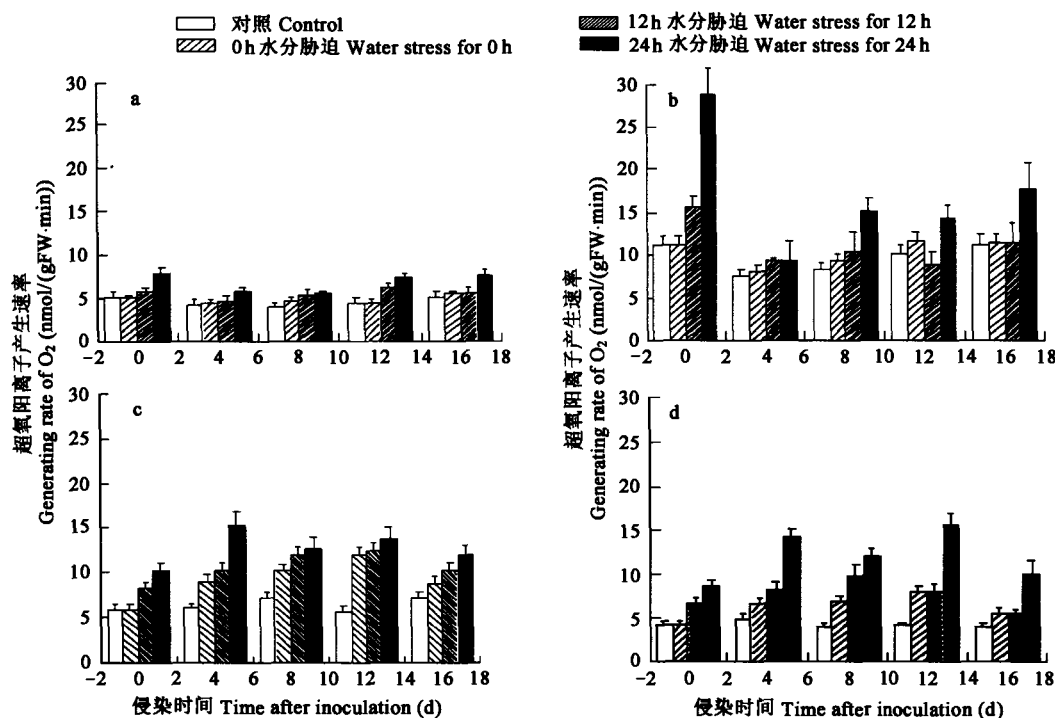


图 7 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片 O_2^- 含量的影响

Fig.7 Effect of water stress on O_2^- content of wheat seedling leaves infected with stripe rust

图 8,接种后,随着病程的发展,感病小麦 H_2O_2 含量持续升高:到接种 16d 后,定西 24 和铭贤 169 分别为对照的 1.8 倍与 2.7 倍。抗病小麦的 H_2O_2 含量随着病程的发展没有明显的变化。未接种小麦处于轻度水分胁迫时, H_2O_2 含量均有一明显上升,接种后的小麦在水分胁迫下 H_2O_2 含量有不同程度的上升。但在侵染 16d 时,抗旱品种在 24h 的水分胁迫下,较之 12h 的水分胁迫, H_2O_2 含量又开始下降。

2.6 水分胁迫和条锈病侵染下小麦幼苗叶片抗氧化保护酶活性的变化

如图 9,接种后感病小麦 SOD 活性大于抗病品种,水分复合胁迫整体上引起了接种后小麦 SOD 活性上升。接种后不抗旱小麦 SOD 活性大于抗旱品种。对接种后的小麦进行水分复合胁迫,不抗旱的小麦品种中 SOD 活性有不同程度的上升;接种前后 8d 抗旱品种的 SOD 活性在水分复合胁迫下略有上升,但接种 12d 后的 SOD 活性在水分胁迫下保持不变或呈现下降趋势。

感病小麦接种后第 4 天 CAT 活性达到峰值,此后逐渐下降,但大于同期接种后的抗病品种(图 10)。水分复合胁迫使得随病程深入的感病不抗旱的铭贤 169 的 CAT 活性上升,而在其他接种后的小麦中,水分复合胁迫下 CAT 活性有时也表现出下降趋势。

抗病小麦 POX 活性变化与感病小麦类似,在接种后第 8 天时达到峰值,在以后的病程中逐渐下降,但感病小麦 POX 活性始终大于抗病品种(图 11)。水分复合胁迫在大部分时间上导致了接种后小麦 POX 活性的下降。

3 讨论

实验表明,病原侵染和水分胁迫都导致了植物组织水分散失;水分胁迫所导致的小麦叶片水分散失明显

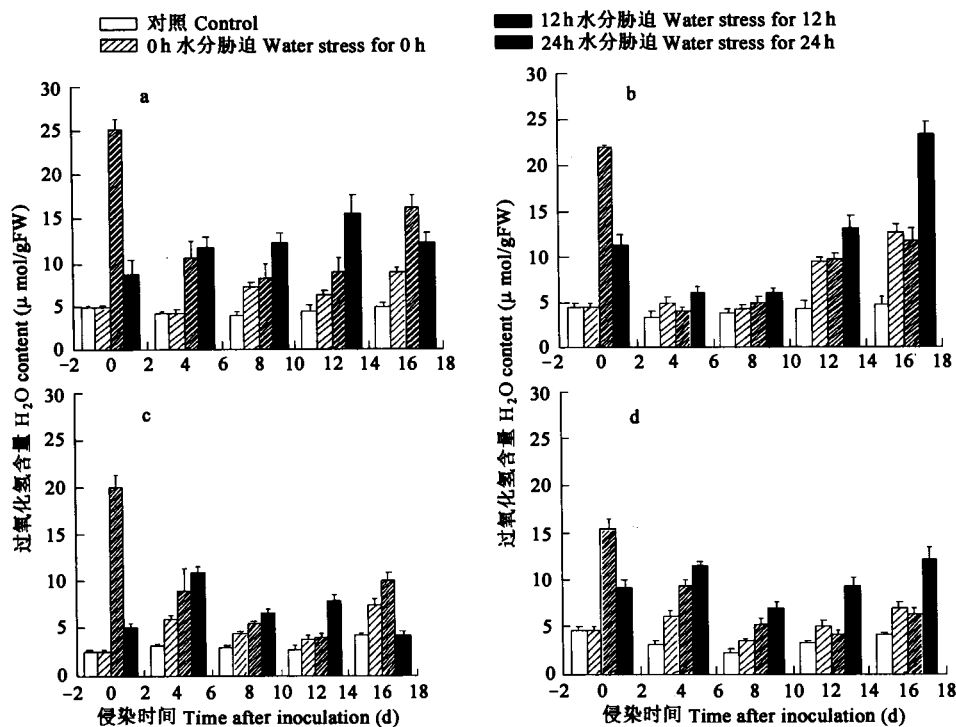
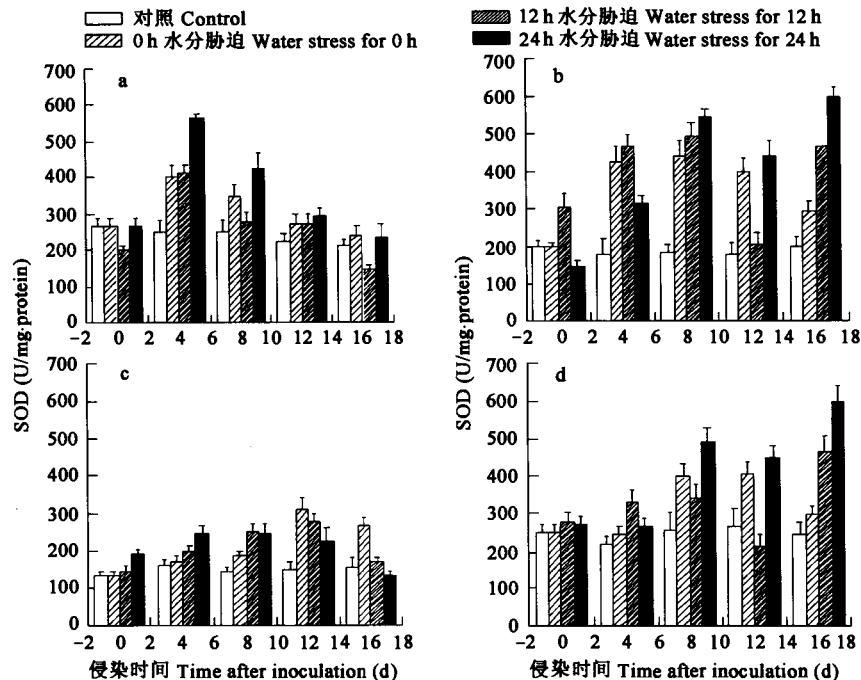
图 8 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片 H_2O_2 含量的影响Fig. 8 Effects of water stress on H_2O_2 content of wheat seedling leaves infected with stripe rust

图 9 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片 SOD 活性的影响

Fig. 9 Effects of water stress on SOD activities of wheat seedling leaves infected with stripe rust

强于病原侵染。可见,水分状况是病原侵染和水分胁迫进行程度的某种反映。抗旱与抗病小麦分别较之不抗旱和感病小麦无论是在水分胁迫、病原侵染,还是在复合胁迫下均能更为有效的控制水分散失,表现出了更强的水分调控能力。Rizhsky 等发现,干旱可以引起与抗病相关基因的表达^[37]。Xiong^[38]等认为,植物在不良环

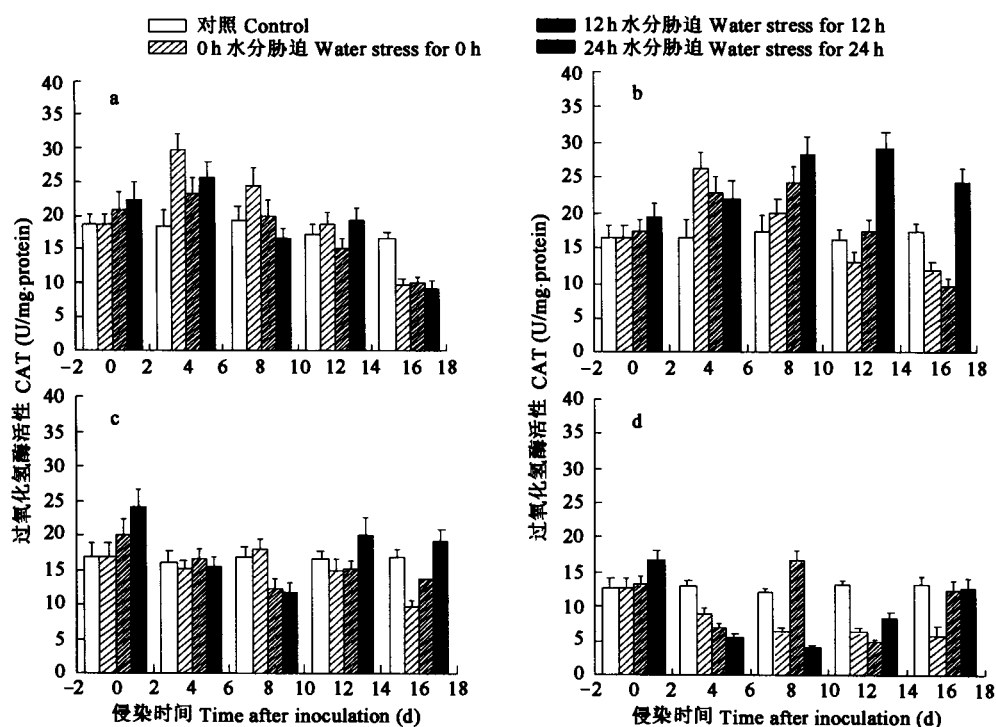


图 10 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片 CAT 活性的影响

Fig.10 Effects of water stress on CAT activities of wheat seedling leaves infected with stripe rust

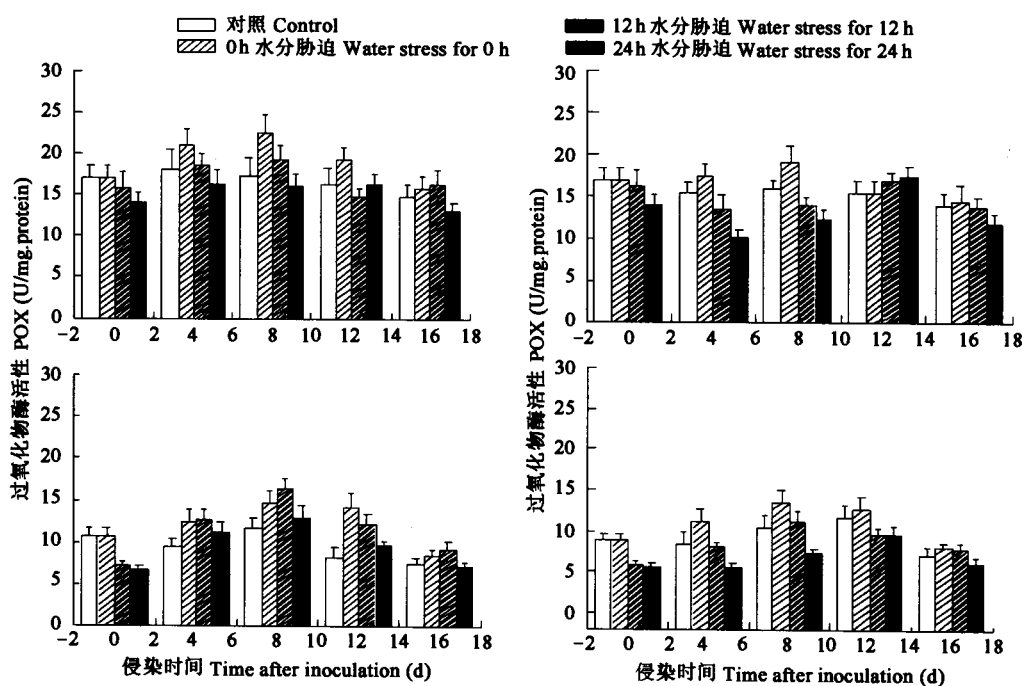


图 11 条锈病侵染和水分胁迫对小麦幼苗叶片 POX 活性的影响

Fig.11 Effects of water stress on POX activities of wheat seedling leaves infected with stripe rust

境下维持一定水分是保证正常的细胞活性所必须的,体内水分状况的变化会影响多种的代谢与细胞信号路径^[39]。可见,小麦的抗病与抗旱机制之间确实存在某些联系。结果显示,控制机体的水分散失可能是小麦的抗病与抗旱机制重要的共同部分。

前人的研究表明,植物在病原侵染下抗氰呼吸上升^[40],而在持续的干旱下抗氰呼吸下降^[12]。本文实验表明,病原侵染导致抗氰呼吸上升,而对病原侵染的小麦进行水分胁迫导致了抗氰呼吸下降。但是总体上,复合胁迫下小麦的抗氰呼吸仍表现为升高;水分胁迫改变了病原侵染引起的交替呼吸途径的反应,但水分胁迫不能抵消因病原菌侵染引起的抗氰呼吸的增强。Mackenzie 和 McIntosh 认为^[15],替代途径的运行可以保证病原侵染等胁迫下细胞对于碳骨架的需要。Zagdaaska 认为^[14],水分缺失会加强细胞蛋白质代谢与离子转运,而此时需要呼吸为其提供能量。依据这些结论推测,病原侵染下,植物更需要增加与抗病机制相关的生物合成所需的碳骨架,而在复合胁迫下要适度降低抗氰呼吸以增加氧化磷酸化供能来适应附加的水分胁迫。交替途径的运行水平可能调节着逆境下物质与能量需求间的矛盾。然而,水分胁迫也导致了接种后抗病品种呼吸速率一定程度的上升(图 2)。所以,在总呼吸速率上升(及能为呼吸链提供更多电子供体)的前提下,交替途径运行水平适当程度的下降可以同时满足物质与能量的需求,呼吸与抗氰呼吸如何共同调节着物质与能量的供应还需要更为细致的研究。

同样,病原菌侵染和水分胁迫都能引起活性氧的产生。活性氧水平也是病原侵染和水分胁迫进行程度的反映之一。将病原菌侵染后的小麦处于水分胁迫时,活性氧表现出进一步的积累。但是,抗病性小麦较之感病品种在水分胁迫下没有表现出更强的对 O_2^- 含量的控制;小麦抗旱性的差异也没有影响到病原侵染对 O_2^- 含量的影响,暗示干旱与病原侵染在活性氧积累上相互影响较小。研究表明,被侵染的植物可以通过主动增强被侵染部位活性氧的释放来控制病原的蔓延,而在干旱下植物体内活性氧的积累主要是细胞器功能受损所导致的电子渗漏造成的^[5]。可见,病原菌侵染和水分胁迫产生活性氧的机制可能是相对独立的。本文实验也验证了这一点。

随病程发展,交替途径的运行呈现持续上升,而无论是 O_2^- 还是 H_2O_2 ,在接种后呈波动变化;干旱复合胁迫导致交替途径运行下降,却导致了活性氧的升高。抗氰呼吸的水平与活性氧的变化没有始终保持一致性。可见,逆境下植物体内活性氧增加并非一定会诱导交替途径的上升,因此推测:(1)逆境下交替途径运行的上升不仅限于活性氧诱导这单一途径;(2)对交替途径的诱导应当控制在较低的活性氧水平,随着胁迫的深入,AOX 直接面临较高水平活性氧的攻击而活性降低,这将打破活性氧对抗氰呼吸的诱导与抗氰呼吸清除活性氧之间的平衡。

SOD、CAT 和 POX 是体内活性氧的重要清除剂^[41,42],交替氧化酶同样可以清除活性氧,但它们之间的关系并不清楚。以前在玉米中观察到氧化压力下 SOD 酶活性变化迟钝的现象^[43]。用 NO 处理拟南芥悬浮细胞可以强烈诱导 AOX1a 的转录,但 CAT 与 SOD 基因的表达并不显著^[44]。在实验中,病原侵染下,抗氰呼吸显著增加,伴随的是 SOD、CAT 和 POX 活性的下降。而当水分复合胁迫降低了小麦抗氰呼吸的同时,却观察到 SOD 与 CAT 活性在许多时间点上不同程度的上升,或保持在未水分胁迫时的水平,表现出交替氧化酶和基质抗氧化酶的活性互补。线粒体是氧化压力下植物活性氧释放的主要部位之一^[45],交替氧化酶主导的抗氰呼吸直接位于呼吸链上,可以直接与经济地降低线粒体活性氧的生成,使细胞不必调动过多的基质抗氧化酶的活性;而在交替氧化酶受到过多自由基损伤而活性下降时,基质抗氧化酶的激活可以继续维持抗氧化能力。最近,在叶绿体上也发现了与交替氧化酶有很高同源性的末端氧化酶^[46],相信细胞器膜的抗氧化酶在抗氧化中的功能将得到更广泛的注意。

同时,在实验中观察到,对比在 0~16d 内仅进行病原侵染的对照小麦,仅用 PEG 渗透胁迫的对照小麦很难在 0~16d 内维持相对正常的生长,常常在中早期就萎蔫坏死。这导致无法采用仅用 PEG 渗透胁迫的对照来进行更多的分析。但上述的实验结果表明,呼吸状态和路径的改变在植物适应复合胁迫所导致的氧化压力和其它生理变化的过程中扮演着重要的角色。为此,今后的大田实验中有待为复合胁迫对小麦的生理影响进行更多的研究。

References:

- [1] Li Y R, Shang H S. The responses of wheat plants infected with stripe rust to water stress. *Acta phytophysiologica Sinica*, 2000, 26(5): 417~421.

- [2] Plaxton, W C. Metabolic Flexibility Helps Plants to Survive Stress. In: Plant Physiology Online. Sinauer Associates. Sunderland, MA. U. S. A., 2002.
- [3] Hasegawa P M, Bressan R A, Zhu J K, Bohnert H J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annu. Rev. Plant Mol. Plant Physiol., 2000, 51:463 ~ 499.
- [4] Ge X C, Song M F, Zheng Z. Active oxygen production in rice seedlings infected by magnaporthe grisea is involved in the blast resistance. Acta Phytophysiologica Sinica, 2000, 26(3): 227 ~ 231.
- [5] Dat J, Vandenabeele S, Vranova E, Van Montagu M, Inze D, Van Breusegem F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. CMLS, 2000, 57:779 ~ 795.
- [6] Fleury G, Migotte B, Vayssiene J L. Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling. Biochimie., 2002, 84 (2-3): 131 ~ 41.
- [7] Vanlerberghe G C, McIntosh L. Alternative oxidase: from gene to function. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol., 1997, 48:703 ~ 734.
- [8] Millenarr F F, Lambers H. The Alternative oxidase; in vivo regulation and function. Plant boil., 2003, 5: 2 ~ 15.
- [9] Simons B H, Millenaar F F, Mulder L, Van Loon L C, Lambers H. Enhanced expression and activation of the alternative oxidase during infection of *Arabidopsis* with *Pseudomonas syringae* pv tomato. Plant Physiol., 1999, 120: 529 ~ 38.
- [10] Maxwell D, Nickels R, McIntosh L. Evidence of mitochondrial involvement in the transduction of signals required for the induction of genes associated with pathogen attack and senescence. Plant J., 2002, 29 :269 ~ 79.
- [11] Ordog S H, Higgins V J, Vanlerberghe G C. Mitochondrial alternative oxidase is not a critical component of plant viral resistance but may play a role in the hypersensitive response. Plant Physiol., 2002, 129: 1858 ~ 65.
- [12] Zhang N H, Wei N H, He G X, *et al.* Responses of the cyanide-resistant respiration to mild water stress in wheat leaves. Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin., 2001, 21(1): 21 ~ 25.
- [13] Ohtsu K, Ito Y, Saika H, Nakazono M, Tsutsumi N, Hirai A. ABA-independent expression of rice alternative oxidase genes under environmental stresses. Plant Biotechnol., 2002, 19: 187 ~ 190.
- [14] Zagdanska B. Respiratory energy demand for protein turnover and ion transport in wheat leaves upon water deficit. Plant Cell., 1999, 11:571 ~ 586.
- [15] Mackenzie S, McIntosh L. Higher Plant Mitochondria. Plant Cell, 1999, 11: 571-586.
- [16] Purvis A C, Shewfelt R L. Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues? Physiol Plant, 1993, 88: 712 ~ 718.
- [17] Wanger A M. A role for active oxygen species as second messengers in the induction of alternative oxidase gene expression in petunia hybrida cells. FEBS Lett., 1995, 368:339 ~ 342.
- [18] Popov V N, Simonian R A, Skulachev V P, Starcov A A. Inhibition of the AOX stimulation H_2O_2 production in plant mitochondria. FEBS Lett., 1997, 415 (1):87 ~ 90.
- [19] Maxwell D P, Wang Y, McIntosh L. The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cell. PNAS J., 1999, 96: 8271 ~ 8276.
- [20] Prasad T K, Anderson M D, Martin B A, Steward C R. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. Plant Cell, 1994, 6:65 ~ 74.
- [21] Guan L M, Zhao J, Scandalios J G. Cis-elements and trans-factors that regulate expression of the maize Cat1 antioxidant gene in response to ABA and osmotic stress: H_2O_2 is the likely intermediary signaling molecule for the response. Plant J., 2000, 22:87 ~ 95.
- [22] Pei Z M, Murata Y, Benning G, Thomine S, Klusener B, Allen G J, Grill E, Schroeder J I. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cells. Nature, 2000, 406:731 ~ 734.
- [23] Zhang X, Zhang L, Dong F, Gao J, Galbraith D W, Song C P. Hydrogen peroxide is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. Plant Physiol., 2001, 126:1438 ~ 1448.
- [24] Ochsendorf F R. Infection and reactive oxygen species. Andrologia, 1998, 30 (1):81 ~ 6.
- [25] Barna B, Fodor J, Pogany M, Kiraly Z. Role of reactive oxygen species and antioxidants in plant disease resistance. Pest Manag Sci., 2003, 59(4):459-64.
- [26] Minagawa N, Minagawa N, Koga S, Nakano M, Sakajo S, Yoshimoto A. Possible involvement of superoxide anion in the induction of cyanide-resistant respiration in *Hansenula anomala*. FEBS Lett., 1992, 302:217 ~ 219.
- [27] Zeng S X, Wang Y R. Comparison of the changes of membrane protective system in rice seedlings during the enhancement of chilling resistance by different stress pretreatment. Acta Botanica Sinica, 1997, 39(4):308 ~ 314.
- [28] Money N P. Osmotic pressure of aqueous polyethylene glycols. Relationship between molecular weight and vapor pressure deficit. Plant Physiol., 1989, 91: 766 ~ 769.
- [29] He J X, Wei Z Q, Lin H H, *et al.* Effects of water stress on the cyanide-resistant respiration and expression of the alternative oxidase gene in wheat seedlings. Acta Botanica Sinica, 1999, 41 (3): 340 ~ 342.

- [30] Bingham I J, Farrar J F. Activity and capacity of respiration pathways in barley roots deprived of inorganic nutrients. *Plant Physiol Biochem.*, 1989, 27 (6): 847 ~ 854.
- [31] Wang A G, Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plant. *Plant Physiology Communication*, 1990, (6): 55 ~ 57.
- [32] Mukherhuri S P, Choudhuri M A. Implication of water stress-induced changes in the levels of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in *Vigna* seedlings. *Physiologia Plantarum.*, 1983, 58: 166 ~ 170.
- [33] Dhindsa R S, Dhindsa P P, Thorpe T A. Leaf senescence: correlation with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and increased levels of superoxide dismutase and catalase. *J Exp Bot.*, 1981, 32: 93 ~ 101.
- [34] Wang A G, Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plant. *Plant Physiology Communication*, 1990, (6): 55-57.
- [35] Kochba J, Lavee S, Spigel-Roy P. Differences in peroxidase activity and isoenzyme in embryogenic and nonembryogenic 'Shamuti' orange ovular callus lines. *Plant and Cell Physiol.*, 1977, 18: 463 ~ 466.
- [36] Brandford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248-25.
- [37] Rizhsky L, Liang H, Mittler R. The Combined Effect of Drought Stress and Heat Shock on Gene Expression in Tobacco. *Plant Physiol.*, 2002 130(3): 1143-1151.
- [38] Xiong L, Zhu JK. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress. *Plant, Cell and Environment*, 2002, 25: 131-139.
- [39] Bray E A. Molecular responses to water deficit. *Plant Physiol.*, 1993, 103: 1035-1040.
- [40] Simon B H, Millenaar F F, Mulder L, Van Loon L C, Lambers H. Enhanced expression and activation of the alternative oxidase during infection of *Arabidopsis* with *Pseudomonas syringae* pv tomato. *Plant Physiol.*, 1999 120, 529-538.
- [41] McCord J M, Fridovich L. Superoxide dismutase: an enzyme function for erythrocyte (Hemocytin). *J. Bio.*, 1969, 244: 6049 ~ 6055.
- [42] Ren H X, Chen X, Wang Y F. Changes of antioxidative enzyme and polyamines in wheat seedlings with different drought resistance under drought and salt stress. *Acta Phytocologica Sinica*, 2001, 25(6): 709 ~ 715.
- [43] Wang J, Li D Q, Gu L S. The response of water stress of the antioxidant system in maize seedling roots with different drought resistance. *Acta Bot Boreal-Occident Sin.*, 2002, 22(2): 285 ~ 290.
- [44] Huang X, Von-Rad U, Durner J. Nitric oxide induces transcriptional activation of the nitric oxide-tolerant alternative oxidase in *Arabidopsis* suspension cell. *Planta.*, 2002, 215: 914 ~ 923.
- [45] Carlos G B, Facundo G, Dana E M, Juan J G. Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Exp. Bot.*, 2004, 55: 1663 ~ 1669.
- [46] Cournac L, Latouche G, Cerovic Z, Redding K, Ravenel J, Peltier G. In Vivo Interactions between Photosynthesis, Mitochondrial Respiration, and Chlororespiration in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiology Preview.*, 2002, 129: 1921 ~ 1928.

参考文献:

- [1] 李玥仁, 商鸿生. 小麦条锈病罹病植株对水分胁迫的响应. *植物生理学报*, 2000, 26(5): 417 ~ 421.
- [4] 葛秀春, 宋鸣凤, 郑重. 稻瘟病侵染水稻活性氧的产生与抗病性的关系. *植物生理学报*, 2000, 26(3): 227 ~ 231.
- [12] 张年辉, 韦振泉, 何军贤等. 小麦幼苗叶片抗氰呼吸对轻度水分胁迫的响应. *西北植物学报*, 2001, 21(1): 21 ~ 25.
- [27] 曾韶西, 王以柔. 不同胁迫预处理提高水稻幼苗抗寒性期间膜保护系统的变化比较. *植物学报*, 1997, 39(4): 308 ~ 314.
- [29] 何军贤, 韦振泉, 林宏辉, 梁厚果. 水分胁迫对小麦幼苗抗氰呼吸和交替氧化酶基因表达的影响. *植物学报*, 1999, 41(3): 340 ~ 342.
- [31] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺的定量关系. *植物生理学通讯*. 1990, (6): 55 ~ 57.
- [42] 任红旭, 陈雄, 王亚薇. 抗旱性不同的小麦幼苗在水分和盐胁迫下抗氧化酶和多胺的变化. *植物生态学报*, 2001, 25(6): 709 ~ 715.
- [43] 王娟, 李德全, 谷令坤. 不同抗旱性玉米幼苗根系抗氧化系统对水分胁迫的反应. *西北植物学报*, 2002, 22(2): 285 ~ 290.