



The Study of Physiological Reaction of GPDH in Maize Seedlings Under Abiotic Stress

Wang Feng¹, Zhao Ying¹, Li Zuo-tong^{1,2}, Yang Ke-jun^{1,2}, Xu Jing-yu^{1,2}, Zhao Chang-jiang^{1,2}, He Lin^{1,2}, Bian Jing¹

¹College of Agronomy, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, China

²Key Laboratory of Crop Germplasm Improvement and Cultivation in Cold Regions, Heilongjiang Province Education Department, Daqing, China

Email address:

huhuwf0218@163.com (Wang Feng), tianshi198937@qq.com (Zhao Ying)

To cite this article:

Wang Feng, Zhao Ying, Li Zuo-tong, Yang Ke-jun, Xu Jing-yu, Zhao Chang-jiang, He Lin, Bian Jing. The Study of Physiological Reaction of GPDH in Maize Seedlings Under Abiotic Stress. *Science Discovery*. Vol. 5, No. 4, 2017, pp. 293-300. doi: 10.11648/j.sd.20170504.19

Received: April 28, 2017; Accepted: June 6, 2017; Published: June 27, 2017

Abstract: The independent breeding maize variety He No. 344 seeds were used to study the physiological response of glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) on maize under abiotic stresses, including salinity treatment (200 mM NaCl), alkali treatment (150 mM NaHCO₃), dehydration treatment (20%-PEG) and low temperature (4°C). The results showed that the abiotic stress can significantly reduced the plant height, root length and dry weight of maize and the combined injury of saline alkali treatment was higher than that of drought and low temperature treatments; The abiotic stress also increased GPDH activity of maize leaf, and the activity of GPDH under saline alkali treatment was significantly higher than that of drought and low temperature treatments; The abiotic stress resulted in increased level of TBARS and H₂O₂ contents and increased NADH/NAD⁺ of maize leaf; Moreover, the abiotic stress also increased SOD, APX, GR and GPX activities and ASA/DHA, GSH/GSSG; In addition, the GPDH activity induced by abiotic stress was significantly correlated with NADH/NAD⁺, APX, GPX, GR, ASA/DHA, GSH/GSSG, TBARS and H₂O₂ level, and these results indicate that the increased resistance of maize in the process of abiotic stresses was closely related with the metabolic level of GPDH.

Keywords: Maize, Abiotic Stress, GPDH, Redox Homeostasis, Antioxidant Capacity

玉米GPDH在非生物胁迫中的生理响应的研究

王枫¹, 赵莹¹, 李佐同^{1,2}, 杨克军^{1,2}, 徐晶宇^{1,2}, 赵长江^{1,2}, 贺林^{1,2}, 边境¹

¹农学院, 黑龙江八一农垦大学, 大庆, 中国

²寒地作物种质改良与栽培重点实验室, 大庆, 中国

邮箱

huhuwf0218@163.com (王枫), tianshi198937@qq.com (赵莹)

摘要: 以玉米自交系合344号为材料, 在盐处理(200 mmol·L⁻¹ NaCl)、碱处理(150 mmol·L⁻¹ NaHCO₃)、干旱处理(20% PEG)及低温处理(4°C)下, 研究玉米3-磷酸甘油脱氢酶(Glycerol -3- phosphate Dehydrogenase, GPDH)对非生物胁迫的生理响应。结果表明: 非生物胁迫能够明显降低玉米株高、根长及干重, 其中盐碱处理对玉米合344的伤害程度要高于干旱及低温处理; 非生物胁迫能够诱导玉米GPDH活性上升, 且盐碱处理下的GPDH活性显著高于干旱及低温处理; 非生物胁迫可不同程度地提高玉米叶片硫代巴比妥酸反应物(TBARS)及过氧化氢(H₂O₂)的含量, 且增加还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸/氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH/NAD⁺); 非生物胁迫可显著提高超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、谷胱甘肽还原酶(GR)的活性, 并增加还原型抗坏血酸/氧化型抗坏血酸

(ASA/DHA)与还原型谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽(GSH/GSSG);此外,非生物胁迫中GPDH活性显著增加与NADH/NAD⁺、APX、GPX、GR、ASA/DHA、GSH/GSSG、TBARS和H₂O₂水平密切相关,表明非生物胁迫过程中玉米抗逆性的增强与体内GPDH的代谢水平密切相关。

关键词: 玉米, 非生物胁迫, GPDH, 氧化还原平衡, 抗氧化能力

1. 引言

非生物胁迫(高盐、干旱、UV-B、低温等)是限制农作物生长,制约其生物产量的主要因素。3-磷酸甘油脱氢酶(Glycerol-3-phosphate Dehydrogenase, GPDH)是细胞中一类重要的代谢酶,可催化3-磷酸甘油和磷酸二羟丙酮之间的可逆氧化还原反应,这类酶广泛存在于各种生物体中,且具有组织特异性和细胞定位特异性[1]。目前在模式植物拟南芥中已分离出了定位于三个亚细胞结构中的五个GPDH,其中四个是以NAD⁺为辅酶的NAD⁺-GPDH,两个定位于细胞质,两个定位于叶绿体;另外一个以FAD作为辅酶的FAD-GPDH定位于线粒体[2-5]。研究发现,ABA、盐、缺氧、干旱和洪涝等胁迫条件均能诱导拟南芥细胞质GPDH ϵ 1表达量的升高[4]。Chanda等[6]研究表明拟南芥叶绿体GPDH(GLY1)可通过调节脂类和脂肪酸的代谢影响植物的抗病性,诱导其获得系统性免疫功能(SAR)。将拟南芥GLY1在水稻中过表达可以增加水稻叶片质体脂类含量,并提高其光合能力[7]。从油菜中分离的叶绿体BnGPDH ϵ 1在拟南芥中的过表达可以增强植物对盐胁迫的抗性[8]。杜氏盐生藻是一种极其耐盐的单细胞真核藻类,它在高盐胁迫环境中可以将细胞叶绿体中储藏的淀粉迅速转化成大量甘油,这个过程与盐藻GPDH(DsGPD1)的高表达量及其独特的双结构域(GPD、GPP)密切相关[9]。植物细胞的氧化还原状态(Redox)以及活性氧水平(ROS)与植株对非生物胁迫的响应密切相关[10-11]。非生物胁迫会引起植物细胞内还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)/氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)比例的失衡,导致促氧化剂(NADH)传递额外的电子给分子氧O₂,进而产生大量的活性氧(ROS)。最近研究发现,非生物胁迫下拟南芥中细胞质GPDH与线粒体GPDH可共同组成3-磷酸穿梭途径(Glycerol-3-phosphate shuttle),将细胞质中NADH上的电子传递到线粒体呼吸链上,从而维持细胞质和线粒体内的氧化还原平衡(Redox homeostasis),这也是首次证明3-磷酸甘油穿梭途径在植物中存在[4-5]。目前除了模式植物拟南芥和一些藻类,GPDH家族在其他高等植物中研究报道的很少,对他们的功能尚缺乏全面深入的了解。因此,有必要对植物的GPDH特性及其与植物抗逆性的关系进行深入研究。本试验拟以玉米自交系合344作为材料,研究非生物胁迫下玉米GPDH的活性及NADH/NAD⁺、ROS、抗氧化系统等的动态变化,以分析玉米中GPDH的功能,并探讨玉米GPDH响应非生物胁迫的生理生化机制。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料与试验设计

挑选大小一致且无破损的玉米(*Zea Mays* L.)品种合344号(由黑龙江八一农垦大学玉米育种研究室提供),用10%的次氯酸钠进行表面消毒后置于培养箱25°C黑暗催芽,选取芽长一致的玉米幼苗用1/2 Hoagland营养液(pH5.5)于植物生长室内培养至两叶一心。培养条件为,昼夜温度为(25±2)°C/(20±2)°C,每天光照12 h,光强为1000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,湿度为60%-80%。然后,对玉米幼苗进行非生物胁迫处理4d-6d,包括盐处理(200 mmol·L⁻¹ NaCl)、碱处理(150 mmol·L⁻¹ NaHCO₃)、干旱处理(20%PEG)及低温处理(4°C),各处理液均以1/2 Hoagland营养液配制,以空白处理的玉米作为对照(CK)。每个处理3次重复,每次100粒种子。于处理第4 d取第2片全展叶进行各项生理生化指标测定,于处理第6 d进行株高、根长和干重测定。

2.2. 生理生化指标的测定

2.2.1. 生长指标及叶片相对含水量的测定

盐处理第6 d,每个处理取10株幼苗,测量其株高、根长。将幼苗根与根上部分离,置于105°C烘箱中杀青15 min,80°C烘干至恒重,然后称取干重,并分别计算每株幼苗地上部及地下部干重。取10株幼苗所有叶片,用蒸馏水清洗叶片,吸净叶表面水后称其鲜重,然后将叶片置于80°C烘箱中烘至恒重,称其干重。

2.2.2. 硫代巴比妥酸反应物(TBARS)及过氧化氢(H₂O₂)含量的测定

参照Hodges等[12]的方法测定TBARS,取0.5 g新鲜胚芽,加入5 ml 5%的三氯乙酸(TCA)研磨成匀浆,于12000 g离心15 min,取2 ml上清液加入2 ml含0.5%硫代巴比妥酸(TBA)的20% TCA溶液,沸水浴15 min,上清液分别于450 nm、532 nm、600 nm处比色。参照Velikova[13]的方法测定H₂O₂,取0.5 g叶片,加入5 ml 0.1%TCA冰浴研磨,12000 g于4°C离心15 min,取1 ml~2 ml上清液加入0.5 ml 10 mmol·L⁻¹磷酸钾缓冲液(pH 7.0)及1 ml 1 mol·L⁻¹ KI于390 nm处比色,用1 ml 0.1% TCA代替上清液作为对照。

2.2.3. 抗氧化酶活性的测定

参照Jiang[14]等的方法并改进,称取新鲜叶片0.5 g左右,放入预冷的研钵中,用10 ml预冷的提取缓冲液(K₂HPO₄-KH₂PO₄, pH 7.0, 1 mmol·L⁻¹ EDTA, 1% PVP, 1 mmol·L⁻¹ ASC)研磨匀浆,15000 g于4°C离心20 min,上清液即为酶粗提液。超氧化物歧化酶(SOD)参照

Giannopolitis和Ries[15]的方法;谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)参照Egley等[16]的方法并改进;抗坏血酸过氧化物酶(APX)参照Nakano和Asada[17]的方法,谷胱甘肽还原酶(GR)参照Schaedle和Bassham[18]方法并改进。可溶性蛋白含量参照Bradford[19]方法测定。抗氧化酶活性以每mg蛋白质所具有的酶活力单位数表示。

2.2.4. 抗坏血酸、谷胱甘肽含量的测定

参照 Fryerd[20] 等方法测定抗坏血酸, 参照 Nagalakshmi和Prasad[21]方法测定谷胱甘肽. 取0.5 g胚芽, 加入2.5 ml 5%磺基水杨酸研磨匀浆, 20000 g于4℃下离心 20 min, 上清液用于还原型抗坏血酸(ASA)、还原型谷胱甘肽(GSH)及氧化型抗坏血酸(DHA)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量的测定。

2.2.5. 3-磷酸甘油脱氢酶 (GPDH)活性的测定

参照Gee等[22]方法并改进, 取0.5 g叶片用液N₂研磨至粉末状, 加入10 ml预冷的酶提取液(0.05 mol·L⁻¹ Tris-HCl,pH 7.6, 0.42 mol·L⁻¹ 甘露醇, 5 mmol·L⁻¹ EDTA·Na₂, 1 mmol·L⁻¹ DTT), 用4层纱布将匀浆过滤, 滤液在4℃下12000 r离心20 min, 上清液即为酶粗提液。酶活反应混合液包括100 mmol·L⁻¹ HEPES, (pH 6.9), 0.2 mmol·L⁻¹ NADH, 4 mmol·L⁻¹ DHAP, 100 ul酶粗提液, 总体积为1ml。反应以加入酶粗提液开始, 反应温度为25℃, 以预冷的酶提取缓冲液代替酶粗提液作为对照, 用分光光度计在340 nm处比色, 5 min后测定OD的变化。GPDH酶活力以每mg酶蛋白在单位时间内还原1umol DHAP所需的酶量。可溶性蛋白含量参照Bradford[19]的方法测定。

2.2.6. NAD⁺及NADH含量的测定

氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)及还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)的测定参照苏州科铭生物技术有限公司的试剂盒测定方法进行。NAD⁺及NADH含量以nmol·g⁻¹ FW表示。

2.3. 数据处理

用Excel 2003对数据进行整理, SPSS 21.0软件进行单因素方差分析及相关性分析, 采用Duncan检验法进行多重比较及差异显著性分析, 其中图表数据均为3次或3次以上重复的平均值。

3. 结果与分析

3.1. 非生物胁迫对玉米幼苗生长的影响

如表1所示, 非生物胁迫能够明显降低玉米株高、根长及干重。不同处理间玉米株高存在明显差异, 其中NaHCO₃、NaCl处理较CK株高差异显著, 分别降低20.90%和20.47%, 而PEG、4℃处理较CK分别降低了10.41%和3.52%, 但与CK差异不显著; NaHCO₃、NaCl、PEG、4℃处理的根长较CK分别降低了28.47%、17.34%、0.51%和3.44%, 其中NaHCO₃、NaCl处理与CK差异显著; 本试验中4中非生物胁迫处理均能显著降低玉米地上部及地下部干重, 其中NaHCO₃、NaCl、PEG、4℃处理6d后地上部干重较CK分别降低了33.57%、27.86%、16.43%和15.71%, 而各胁迫处理地下部干重与CK相比分别降低了40.29%、38.06%、35.07%和35.82%。说明非生物胁迫对于植株生长具有明显的抑制作用, 且本试验中盐碱处理对玉米合344的伤害程度要高于干旱及低温处理。

3.2. 非生物胁迫下GPDH活性的变化

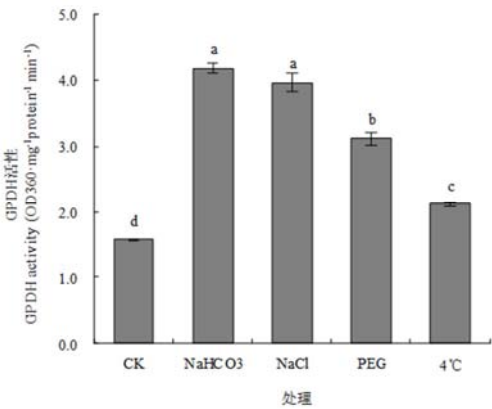


图1 非生物胁迫对玉米幼苗GPDH活性的影响。

各处理如表1所示, 根据Duncan检验不同字母表示在0.05水平上差异显著。图2-6同此。

由图1所示, 非生物胁迫条件下玉米叶片内的GPDH活性显著上升, 与CK相比差异显著, 其中NaHCO₃、NaCl、PEG、4℃处理的GPDH活性分别为CK的2.67倍、2.53倍、1.99倍及1.35倍, 且NaHCO₃处理及NaCl处理之间无显著差异。说明盐碱、干旱及低温处理能不同程度地诱导玉米体内GPDH活性的上升, 表明GPDH可能是玉米应对非生物胁迫的一个活跃因子。

表1 非生物胁迫对玉米株高、根长、地上干重及地下干重的影响。

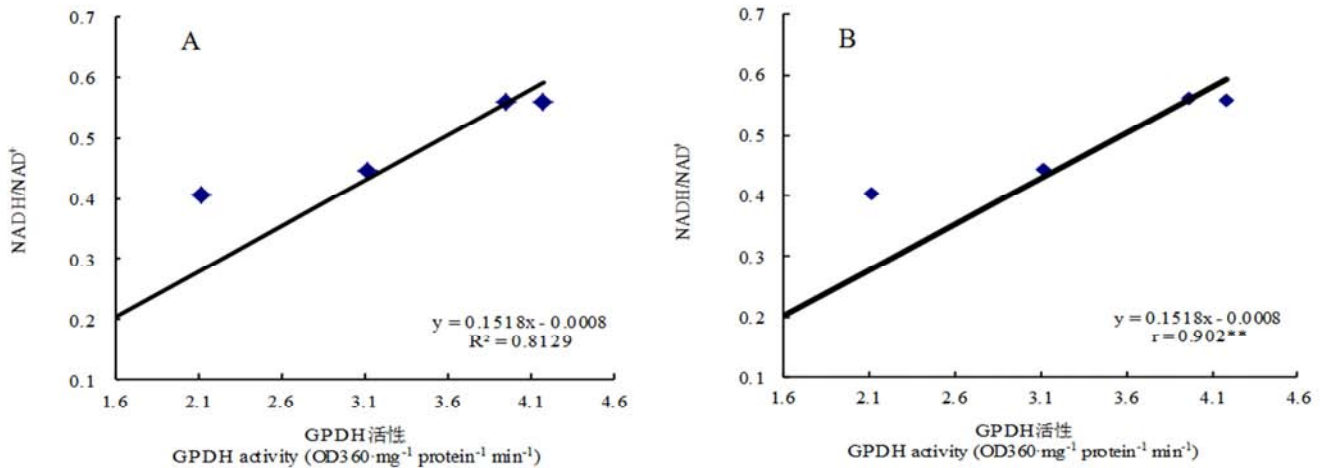
处理 Treatment	株高Plant height (cm/plant)	根长Root length (cm/plant)	地上干重Shoot dry weight(mg/plant)	地下干重Root dry weight (mg/plant)
CK	28.42±1.00a	17.42±1.20a	1.40±0.09a	1.34±0.07a
NaHCO ₃	22.48±0.57b	12.46±1.14b	0.93±0.06c	0.80±0.09b
NaCl	22.60±0.69b	14.40±1.14ab	1.01±0.03c	0.83±0.03b
PEG	25.46±0.95ab	17.32±1.18a	1.17±0.02b	0.87±0.09b
4℃	27.42±0.92a	16.82±0.92a	1.18±0.09b	0.86±0.12b

玉米幼苗进行不同的非生物胁迫处理6d。CK: 对照; NaHCO₃: 碱处理; NaCl: 盐处理; PEG: 干旱处理; 4℃: 低温处理。根据Duncan检验, 同一列数据后的不同字母表示在0.05水平上差异显著, 表中数值为3次重复均值±SE。

3.3. 非生物胁迫下NADH/NAD⁺的变化及与GPDH的相关性分析

NADH及NAD⁺是植物细胞中主要的氧化还原当量，参与细胞多种代谢反应，细胞的氧化还原状态，特别是NADH/NAD⁺水平决定细胞的生物状态及功能[23]。由图2(A)所示，非生物胁迫下玉米叶片NADH/NAD⁺显著上升，不同胁迫处理的NADH/NAD⁺上升幅度各不相同，其中

NaHCO₃、NaCl、PEG、4℃处理分别为CK的4.53倍、4.61倍、3.69倍及3.38倍，各处理与CK处理差异显著。说明非生物胁迫处理能够引起玉米体内NADH/NAD⁺失衡，进而导致细胞内氧化还原平衡的紊乱。此外，相关性分析发现表明，GPDH活性与NADH/NAD⁺成极显著正相关性($r=0.902^{**}$)(图2B)。



*代表显著相关 $P<0.05$ ，**代表极显著相关 $P<0.01$ 。图3-6同此。

图2 非生物胁迫中玉米NADH/NAD⁺(A)的变化及与GPDH的相关性分析(B)。

3.4. 非生物胁迫下H₂O₂含量的变化及与GPDH的相关性分析

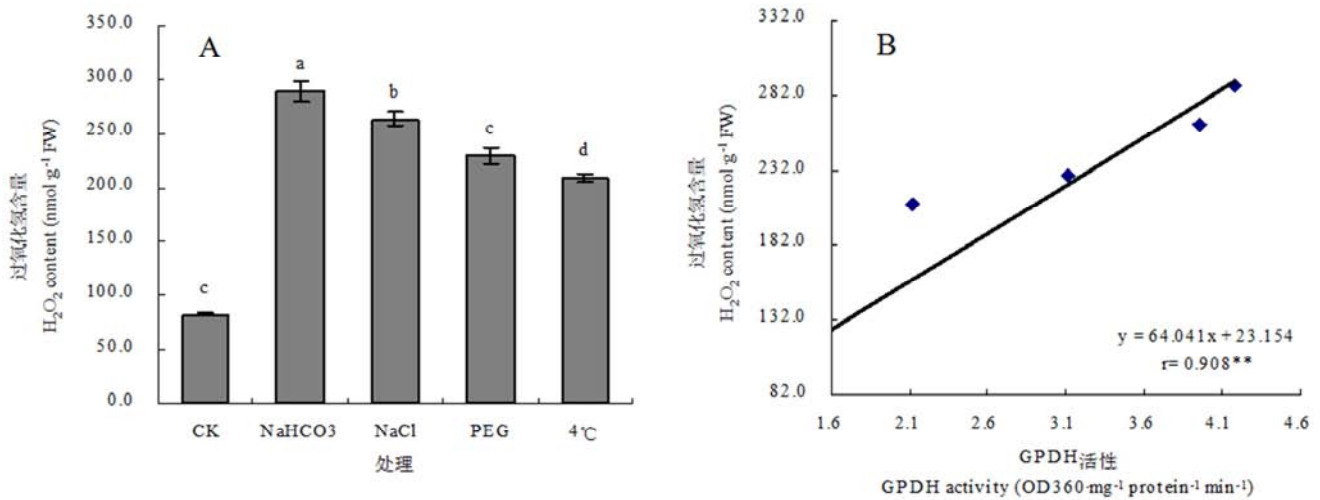


图3 非生物胁迫中玉米H₂O₂(A)含量的变化及与GPDH的相关性分析(B)。

植物体内的活性氧(ROS)是氧化还原反应的副产物，可破坏细胞膜的稳定性，对细胞具有极大的伤害性，其中H₂O₂是植物体内一类重要的活性氧，近年研究发现H₂O₂还可作为信号分子参与植物细胞的多种生理反应[24]。如图3(A)所示，各胁迫处理可不同程度地提高玉米叶片H₂O₂含量，其中NaHCO₃处理下的H₂O₂含量最高，较CK提高2.51倍，而NaCl、PEG、4℃处理较CK分别提高2.20倍、1.79倍、1.54倍，且各处理间差异显著。此外，相关性分

析表明，GPDH活性与H₂O₂含量成极显著正相关性($r=0.908^{**}$)(图3B)。

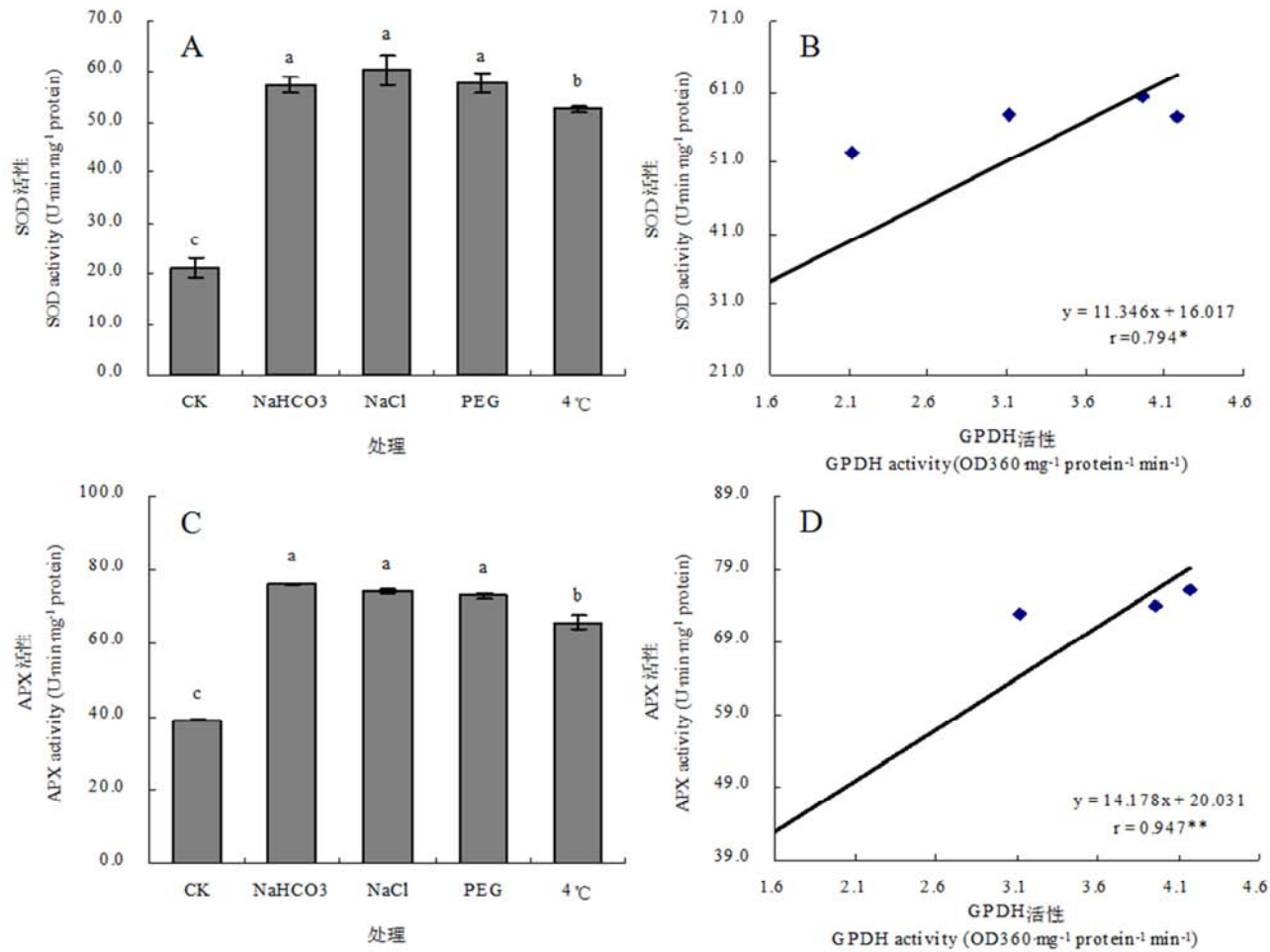
3.5. 非生物胁迫下抗氧化酶活性的变化及与GPDH的相关性分析

SOD是植物体内一类重要的抗氧化酶，能够催化O₂⁻，反应生成O₂和H₂O₂[25]。APX、GPX、GR是植物中

ASA-GSH氧化还原途径中的关键酶，能够有效的清除植物体内的H₂O₂[26]。由图4A、4C、4E及4G所示，与对照相比，非生物胁迫能够显著提高玉米叶片抗氧化酶活性，其中NaHCO₃、NaCl、PEG、4℃处理的SOD活性分别较CK处理提高1.69倍、1.83倍、1.71倍、1.46倍，其APX活性分别较CK处理提高0.95倍、0.90倍、0.87倍、0.68倍，其GR活性别较CK处理提高1.57倍、1.45倍、0.99倍、1.01倍，且均与CK处理差异达显著水平；与CK相比，NaHCO₃、NaCl、PEG、4℃处理的GPX活性分别提高0.43倍、0.45倍、0.44倍、0.32倍。此外，如图4B、4D、4F及4H所示，GPDH活性与SOD活性成显著正相关关系($r=0.794^*$)，而GPDH活性与APX、GR、GPX活性成极显著正相关性，分别是 $r=0.947^{**}$ 、 $r=0.898^{**}$ 、 $r=0.835^{**}$ 。

3.6. 非生物胁迫下抗氧化物质含量的变化及与GPDH的相关性分析

ASA、GSH是植物体内普遍存在的抗氧化物，参与机体内多种氧化还原反应，可直接与ROS反应，也可参与ASA-GSH循环清除H₂O₂，其中ASA/DHA与GSH/GSSG是反应植物体内氧化还原状态的重要指标[27]。如图5A、5C所示，非生物胁迫条件下玉米叶片内的ASA/DHA与GSH/GSSG可保持较高水平，与CK相比差异显著；其中NaHCO₃、NaCl、PEG、4℃处理ASA/DHA分别较CK处理提高1.07倍、1.03倍、0.87倍、0.42倍，而GSH/GSSG较CK分别提高0.58倍、0.53倍、0.48倍、0.37倍。此外，相关性分析表明，GPDH活性与ASA/DHA、GSH/GSSG成极显著正相关性，分别是($r=0.972^{**}$)(图5B)，($r=0.901^{**}$)(图5D)。



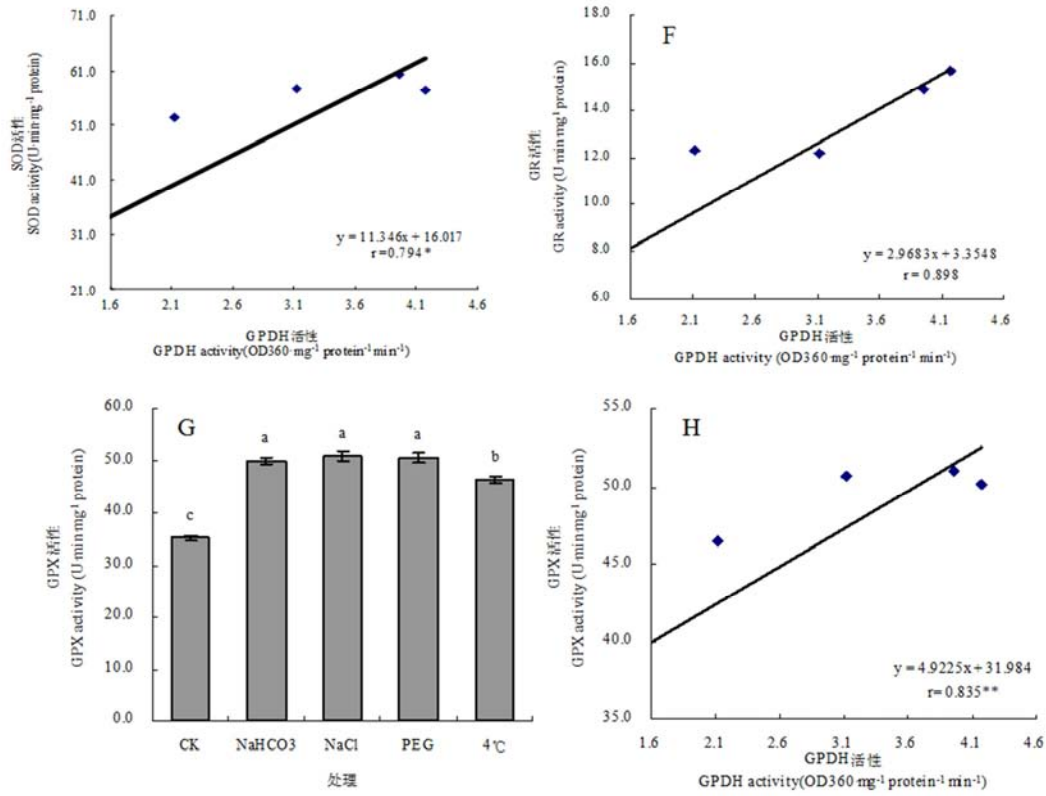


图4 非生物胁迫中玉米SOD(A), APX(C), GR(E), GPX(G)的变化及与GPDH的相关性分析(B), (D), (F), (H)。

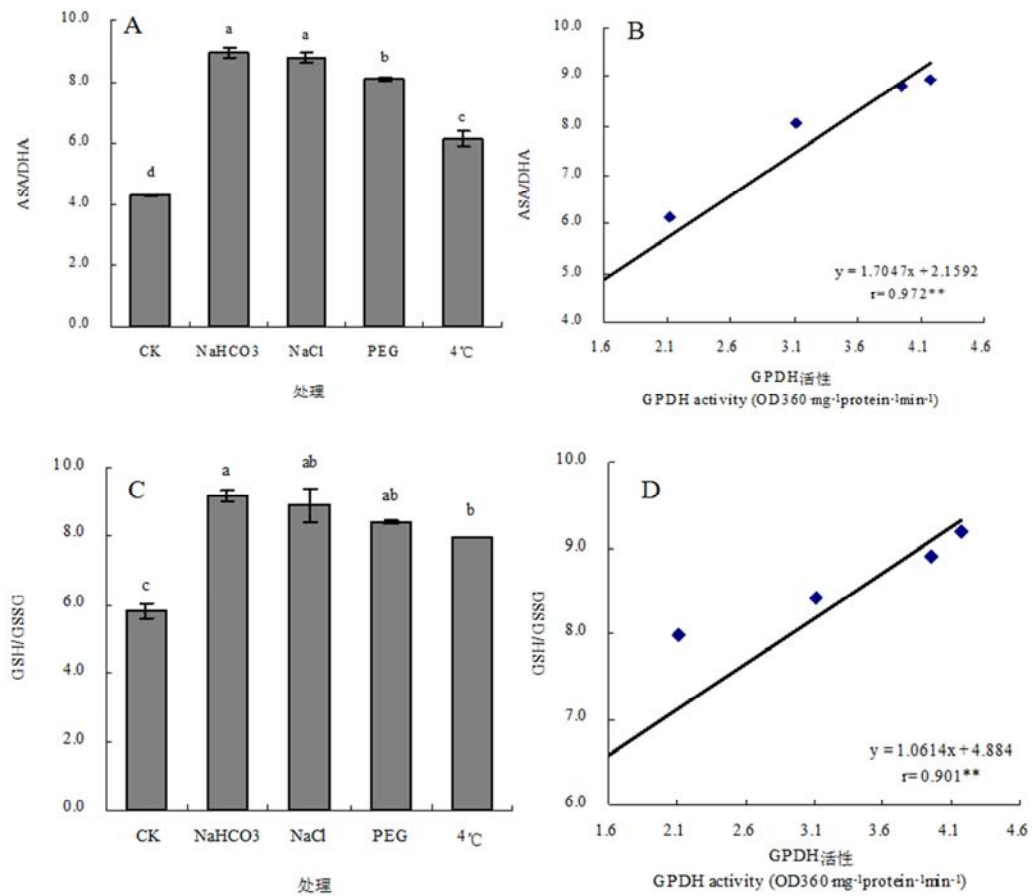


图5 非生物胁迫中玉米ASA/DHA(A)和GSH/GSSG(C)的变化及与GPDH的相关性分析(B), (D)。

3.7. 非生物胁迫下TBARS含量的变化及与GPDH的相关性分析

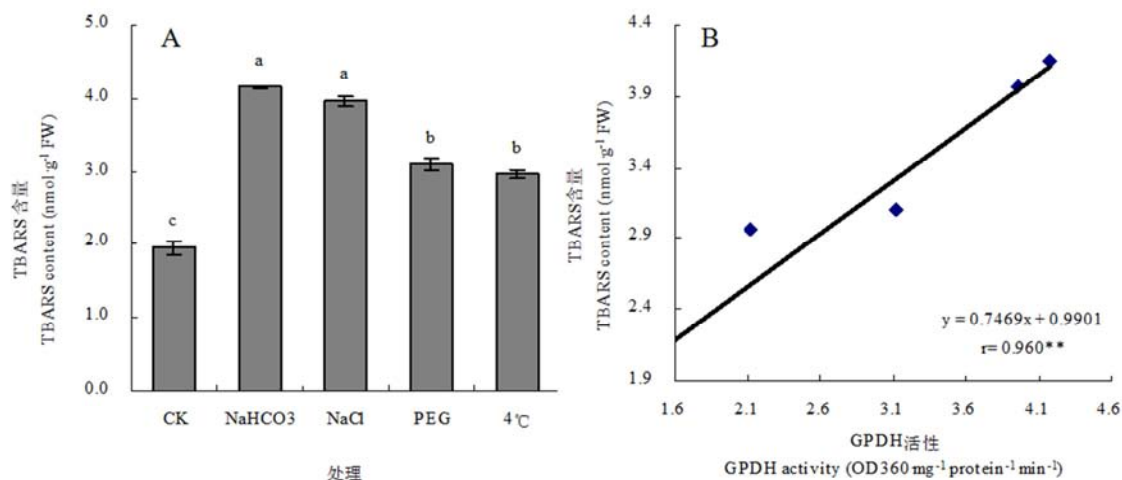


图6 非生物胁迫中玉米TBARS含量的变化(A)及与GPDH的相关性分析(B)。

TBARS是反应细胞膜损伤程度的重要指标。如图6A所示,各胁迫处理可显著提高玉米叶片TBARS含量,其中NaHCO₃、NaCl处理的TBARS含量显著高于其他处理,较CK分别提高1.13倍、1.04倍;而PEG、4°C处理的TBARS含量较CK处理分别提高0.59倍、0.52倍,且与CK差异显著。此外,由图6B可知,GPDH活性与TBARS含量成极显著正相关性是($r=0.960^{**}$)。

4. 讨论

3-磷酸甘油作为甘油脂类(包括三酰甘油,甘油磷脂和甘油糖脂)的前体以及糖类和脂类代谢的共同中间产物,不仅是联结糖酵解和甘油脂类合成的一个重要的组分,近年来也被证明在多种生理生化过程中发挥着重要作用[2]。GPDH催化3-磷酸甘油和磷酸二羟丙酮之间的可逆氧化还原反应,是3-磷酸甘油代谢途径关键酶。本研究中,非生物胁迫可诱导玉米叶片GPDH活性的增加,且盐碱胁迫下的GPDH活性高于低温及干旱处理,说明GPDH可作为植物应对非理想环境的一个活跃因子。这与前人在拟南芥[4, 5]、油菜[28]和杜氏盐藻[9]中的报道结果一致。

植物遭受非生物胁迫时会导致体内氧化还原系统失衡,产生氧化胁迫,进而导致细胞脂质过氧化,因此维持体内氧化还原平衡对于植物抵抗逆境至关重要。NADH、NAD⁺是植物细胞中重要的氧化还原当量,参与细胞多种代谢反应,其中胞质GPDH可催化NADH与磷酸二羟丙酮还原成三磷酸甘油及NAD⁺。研究发现,ABA、盐、缺氧、干旱和洪涝等胁迫条件均能诱导拟南芥细胞质GPDHc1表达量升高,而突变体gpdhcl的NADH/NAD⁺比率和细胞内H₂O₂等活性氧水平比野生型要高[4, 5],表明在非生物胁迫条件下,GPDH可通过调节NADH/NAD⁺的比例来维持细胞内的氧化还原平衡。本实验中,非生物胁迫可诱导玉米体内NADH/NAD⁺比率的上升,导致细胞内氧化还原平衡发生紊乱。

非生物胁迫下,植物体内会积累过量的ROS,引起膜脂过氧化物产物(TBARS)增加,造成植物细胞伤害。本研究表明,非生物胁迫会导致玉米叶片中H₂O₂及TBARS含量迅速升高,植物体内的抗氧化系统是由抗氧化酶(SOD、POD、GR等)和小分子抗氧化物(AsA、GSH、类胡萝卜素等)组成。其中SOD能够特异性催化O₂⁻反应生成O₂和H₂O₂,而APX、GR、GPX是ASA-GSH循环中的关键酶,可有效地清除植物体内的H₂O₂[27]。本研究盐碱、干旱及低温处理可显著提高玉米叶片SOD、GPX、GR、APX的活力,说明玉米在感受逆境胁迫时,可通过提高抗氧化酶的活力适应不利的环境因子,增强细胞清除ROS的能力,从而缓解非生物胁迫对玉米的伤害。ASA、GSH是植物体内普遍存在的抗氧化物,参与机体内多种氧化还原反应。可以直接与ROS反应,也可参与AsA-GSH循环清除H₂O₂。非生物胁迫处理显著提高玉米叶片中ASA、GSH含量及ASA/DHA、GSH/GSSG,有效减缓ASA-GSH循环受到的损伤,提高细胞内的氧化还原势,进而增强细胞抗氧化能力,较好地维持细胞内的活性氧代谢平衡。

本文中通过对GPDH活性及其它各生理指标的相关性分析表明,非生物胁迫中GPDH活性显著增加与NADH/NAD⁺、APX、GPX、GR、ASA/DHA、GSH/GSSG、TBARS和H₂O₂水平密切相关,表明玉米对非生物胁迫的调节与体内GPDH的代谢水平密切相关。一方面,GPDH通过催化NADH生成三磷酸甘油,进而维持非生物胁迫下的氧化还原平衡;另一方面,GPDH可能参与了APX、GPX、GR的激活,从而促发了其他许多重要的酶反应,进一步提高玉米膜的稳定性和耐逆性。

5. 结论

非生物胁迫可显著抑制玉米幼苗生长;非生物胁迫下玉米可通过提高抗氧化酶活力、抗氧化物质含量及胞内氧化还原势,提高其叶片抗氧化能力,减轻活性氧自由基对细胞的伤害,进而提高玉米对非生物胁迫的适应性,且这一过程与玉米体内GPDH的代谢水平密切相关。

参考文献

- [1] 吴春蝶, 陈辉, 毛穗芳, 巫光宏, 王玉琪. 培养液NaCl浓度对杜氏盐藻3-磷酸甘油脱氢酶同工酶的影响[J]. 生物技术, 2010, 20(4):50-52。
- [2] Mandal M, Chanda B, Xia Y, Yu K, Sekine K, Gao Q. Glycerol-3-phosphate and systemic immunity[J]. *Plant Signal. Behav*, 2011, 6: 1871-1874.
- [3] Wei Y, Periappuram C, Datla R, Selvaraj G, and Zou J. Molecular and biochemical characterizations of a plastidic glycerol-3-phosphate dehydrogenase from *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol. Biochem*, 2001, 39, 841-848.
- [4] Shen W, Wei Y, Dauk M, Zheng Z, Zou J. Identification of a mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana*: evidence for a mitochondrial glycerol-3-phosphate shuttle in plants [J]. *FEBS Lett*, 2003, 536:92-6.
- [5] Shen W, Wei Y, Dauk M, Tan Y, Taylor DC, Selvaraj G, Zou J. Involvement of a glycerol-3-phosphate dehydrogenase in modulating the NADH/NAD ratio provides evidence of a mitochondrial glycerol-3-phosphate shuttle in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2006, 18:422-41.
- [6] Chanda B, Xia Y, Mandal M, Yu K, Sekine K, Gao Q. Glycerol-3-phosphate, a critical mobile inducer of systemic immunity in plants. *Nat Genet*. 2011, 43: 421-7.
- [7] Vijayata S, Praveen KS, Adnan S, Subaran S, Zeeshan ZB, Ashis KN. Over - expression of *Arabidopsis thaliana* SFD1/GLY1, the gene encoding plastid localized glycerol-3-phosphate dehydrogenase, increases plastidic lipid content in transgenic rice plants [J]. *Plant Res*, 2016, 129: 285-293.
- [8] 胡军. 三磷酸甘油脱氢酶基因和甘油代谢对拟南芥种子含油量与根系发育的影响[D]. 华中农业大学, 2003。
- [9] 周丽, 孟祥红, 刘成圣, 等. 渗透胁迫对杜氏盐藻胞内甘油含量及相关酶活性影响 [J]. *植物学报*, 2006, 23(2):145-151。
- [10] Suzuki N, Koussevitzky S, Mittler R, Miller G. ROS and redox signaling in the response of plants to abiotic stress [J]. *Plant, Cell and Environment*, 2011, 10:1-12.
- [11] Foyer CH and Noctor G. Redox signaling in plants [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18 (16): 2087-2090.
- [12] Hodges DM, Delong JM, Forney CF, et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substance assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 1999, 207: 604-611.
- [13] Velikova V, Yordanov I, Edreva A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 2000, 151: 59-66.
- [14] Jiang MY, Zhang JH. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 379: 2401-2410.
- [15] Giannopolitis CN, Ries SK. Superoxide dismutase. I. occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 1977, 59: 309-314
- [16] Egle GH, Paul RN, Vaughn KC, et al. Role of peroxidase in the development of water impermeable seed coats in *Sida spinosa* L., *Planta*, 1983, 157: 224-232.
- [17] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 22: 867-880.
- [18] Schaedle M, Bassham JA. Chloroplast glutathione reductase. *Plant Physiology*, 1977, 59: 1011-1012.
- [19] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248-254.
- [20] Fryer MJ, Andrews JR, Oxborough K, et al. Relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport, and active O₂ metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature. *Plant Physiology*, 1998, 116: 571-580.
- [21] Nagalakshmi N, Prasad MNV. Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus bijugatus*. *Plant Science*, 2001, 160: 291-299.
- [22] Gee R, Ooyal A, Byerrum RU, Tolbert NE. Two chloroplastic isoform of dihydroxyacetonephosphate reductase from *Dunaliella*. *PlantPhysiol*, 1993, 103: 243-249.
- [23] Millar H, Considine MJ, Day AA, Whelan J. Unraveling the role of mitochondria during oxidative stress in plants. *IUBMB Life*, 2001, 51, 201-205.
- [24] Carl N, Ayah D. Snapshot: reactive oxygen intermediates. *Cell*, 2010, 140: 952-952.
- [25] Gong M, Chen BO, Guo L. Heat-shock induced cross adaption to heat, chilling, drought and salt stress in maize seedlings and involvement of H₂O₂. *Plant Physiology*, 2001, 158(9): 1125-1130.
- [26] Tausz M, Sircelj H, Grill D. The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology is a stress-response concept valid. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55: 1955-1962.
- [27] Smirnoff N, Pallanca JE. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 1996, 24: 472-478.