

高温对豇豆叶片细胞膜脂过氧化和蛋白质表达的影响^①

崔 萌, 魏娟娟, 苏晓星, 邓子贤,
潘 宇, 李金华, 苏承刚, 张兴国

西南大学 园艺园林学院/南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆 400715

摘要: 分析了高温胁迫条件下豇豆 [*Vigna unguiculata* (L.) Walpers] 幼苗叶片细胞膜透性和保护酶活性等理化指标的变化及品种间的差异, 分析了高温胁迫对豇豆叶片蛋白质表达的影响. 结果显示, 在高温胁迫下, 8 个豇豆品种的热害指数差异有统计学意义, 直观表现为之豇 28-2 和白籽豇豆耐热性强, 而高产四号、宁豇 3 号和红豇豆的耐热性差; 所有豇豆品种的细胞膜透性和丙二醛(MDA)质量摩尔浓度均有不同程度的增大, 但耐热性强的品种增幅较小; 超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性呈现出先上升后下降的变化趋势, 而耐热性强的品种增幅较大; 耐热豇豆品种的可溶性糖浓度及高温胁迫后的增值均低于耐热性较差的品种; 双向电泳结果表明, 高温胁迫特异性诱导了 15 种和抑制了 6 种蛋白质表达, 另鉴别到 8 种上调和 10 种下调表达蛋白. 表明高温胁迫引起一系列生理生化和基因表达的变化. 该研究为今后解析豇豆的耐热机理、选育耐热品种和发掘重要抗热基因等奠定了基础.

关键词: 豇豆; 高温胁迫; 膜脂过氧化; 防御酶; 蛋白质表达

中图分类号: S330

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2016)04-0021-07

温室气体的大量排放, 导致全球气候变暖和厄尔尼诺事件频繁发生. 温室效应势必极大地恶化农作物的生长环境, 所带来的高温胁迫将造成作物体内的活性氧积累, 使细胞膜脂、DNA 和蛋白质等发生氧化性损伤, 进而妨碍作物的生长发育、降低产量和品质、给许多蔬菜和大田作物越夏栽培带来严重障碍. 因此, 高温将成为影响农业生产的重要灾害因素之一^[1-2]. 研究植物耐热机制, 提高作物的耐热性, 已成为植物分子生物学和作物育种的研究热点.

许多热带起源的植物对高温具有一定的适应能力, 不仅具有较强的活性氧清除系统, 以维持活性氧代谢平衡, 而且能通过诱导热激蛋白^[3]、水孔蛋白^[4-5]和 Δ^1 -吡咯啉-5-羧酸合成酶(P5CS)^[6]等特异蛋白的合成, 以及阻止正常蛋白失活等方式抵抗热害. 豇豆起源于非洲, 属耐热性蔬菜, 是我国夏季栽培的主要蔬菜作物之一, 但品种间的耐热性差异有统计学意义, 选育耐热的豇豆品种是避免夏季豇豆栽培中发生热害的最佳途径^[7-11]; 因此, 很有必要弄清豇豆应答高温的理化反应过程, 确定豇豆品种的耐热指标, 筛选出高度耐热的豇豆育种材料. 本文拟在前期分析豇豆品种之豇 28-2 响应高温的理化反应基础上^[12], 比较西南地区栽培的 8 个豇豆品种的耐热性和相关理化指标的差异, 分析热激处理后豇豆叶片蛋白质表达的特点, 以期今后解析豇豆的耐热机理、选育耐热品种和发掘重要抗热基因等奠定基础.

① 收稿日期: 2015-09-24

基金项目: 重庆市重大攻关项目(CSTC2010AA1019).

作者简介: 崔 萌(1991-), 女, 河南驻马店人, 硕士研究生, 主要从事蔬菜分子生物学与遗传育种的研究.

通信作者: 张兴国, 博士研究生导师.

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料选用之豇 28-2、高产四号、宁豇三号、龙翔一号、紫秋豇、白籽豇豆(云南地方品种)、攀豇一号(攀枝花地方品种)和红豇豆(攀枝花地方品种)等 8 个豇豆[*Vigna unguiculata* (L.) Walpers]品种。

1.2 热激处理方法

参照田婷婷等^[12]的方法。

1.3 理化指标测定

参照李锡香等^[13]的方法,将热害症状分为 5 级,即 0 级:植株生长正常,无受害症状;1 级:1~2 片叶片变黄,叶缘开始皱缩;2 级:全部叶片变黄;3 级:叶片萎蔫或半干枯,部分叶片完全干枯;4 级:所有叶片均严重失水萎蔫或干枯,常温下不能恢复。

$$\text{热害指数} = \sum (X \times X_i) / (A \times N) \times 100$$

其中, X 代表热害级数; X_i 代表 X 热害级数下植株数; A 代表最高级数; N 代表总株数。

采用氮蓝四唑光化还原法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,愈创木酚比色法测定过氧化物酶(POD)活性,硫代巴比妥酸显色法测定丙二醛(MDA)质量摩尔浓度^[14],MPC227 型电导仪测定相对电导率^[15],苯酚法测定可溶性糖的浓度^[16]。所有检测重复 3 次,统计幼苗的热害症状。

采用 Excel 和 DPS(Data Processing System)程序分析试验数据。

1.4 叶片可溶性蛋白的提取

采用改进的三氯乙酸-丙酮法提取叶片蛋白^[17]。Bradford 法测定蛋白质质量分数^[18]。

1.5 可溶蛋白的双向凝胶电泳

第一向 固相 pH 梯度等电聚焦电泳(IPG-IEF)参照 Bio-Rad 公司的 IPG 干胶条使用手册进行。用水化液(8 mol/L 尿素,1 mol/L 硫脲,4% CHAPS,0.2% IPG-buffer,65 mmol/L DTT,少量溴酚蓝)对蛋白样品进行稀释,离心后取上清液上样到等电聚焦盘中。每根 17 cm, pH 值为 3~10,线性 IPG 预制胶条的考染蛋白质,上样量为 1 mg,总上样体积为 400 μ L。每根胶条的极限电流为 50 μ A/根,聚焦时的温度为 20 $^{\circ}$ C。

第二向 SDS-PAGE 电泳是将等电聚焦电泳后的 IPG 胶条置于 5 mL 胶条平衡缓冲液 I(6 mol/L 尿素,0.375 mol/L Tris-HCl pH8.8,2% SDS,20%甘油,0.02 g/mL DTT)中,摇床上缓慢摇动 15 min。取出后吸取多余的平衡液,再置于 5 mL 胶条平衡缓冲液 II(6 mol/L 尿素,0.375 mol/L Tris-HCl pH8.8,2% SDS,20%甘油,25 g/mL 碘乙酰胺)中,缓慢摇动 15 min 后取出,吸取多余的平衡液后立即小心转移到垂直凝胶板上进行第二向的 SDS-PAGE 电泳。分离胶浓度为 12.5%的 SDS-PAGE。电泳结束后用考马斯亮蓝染色。对凝胶扫描后,用 PDQuest 8.0 分析软件系统对蛋白质凝胶图像进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 不同豇豆品种对高温的耐受性差异

热害指数可以直观地反映植物的热害程度。8 个豇豆品种的幼苗经 5 d 45 $^{\circ}$ C 持续高温处理后,均有不同程度的伤害表现(表 1)。之豇 28-2 和白籽豇豆的热害指数小于 20,耐热性强;龙翔一号、攀豇一号和紫秋豇的热害指数在 20~50 之间,耐热性中等;高产四号、宁豇三号和红豇豆的热害指数超过 50,受害严重,耐热性差。

表 1 豇豆幼苗的热害指数

材 料	热害指数	材 料	热害指数
之豇 28-2	10.71	高产四号	51.39
白籽豇豆	14.29	紫秋豇	42.86
龙翔一号	30.56	攀豇一号	36.11
红豇豆	63.54	宁豇三号	57.41

2.2 高温胁迫下豇豆品种间叶片质膜透性和 MDA 质量摩尔浓度的差异

在 45 ℃ 高温条件下, 豇豆叶片的相对电导率随处理时间的增加而逐渐上升, 5 d 时达到最大值(图 1), 且以红豇豆和宁豇三号的相对电导率较高, 分别为 48.39% 和 48.15%, 比处理前增加了 148.15% 和 246.65%, 而之豇 28-2 的相对电导率最低. 恢复生长 3 d 后, 豇豆的相对电导率均有不同程度的下降. 说明在高温条件下, 豇豆叶片的细胞膜受到损害, 细胞内含物渗出量也随之增加, 但恢复正常生长温度后, 受损细胞可得到修复.

丙二醛(MDA)是膜脂氧化的终端产物, 可反映细胞膜的受害程度. 45 ℃ 高温处理 5 d 后, 豇豆 MDA 质量摩尔浓度都达到最大值; 其中, 之豇 28-2 为 19.72 $\mu\text{mol/g}$, 白籽豇豆为 20.17 $\mu\text{mol/g}$, 龙翔一号为 22.02 $\mu\text{mol/g}$, 红豇豆为 29.82 $\mu\text{mol/g}$, 高产四号为 23.67 $\mu\text{mol/g}$, 紫秋豇为 23.39 $\mu\text{mol/g}$, 攀豇一号为 22.37 $\mu\text{mol/g}$, 宁豇三号为 25.93 $\mu\text{mol/g}$. 恢复生长 3 d 后, 各供试品种的 MDA 质量摩尔浓度下降水平不一, 其中红豇豆和宁豇三号仍处于较高水平, 比处理前高 75.40% 和 80.50%(图 2). 这与热害指数和相对电导率的结果一致, 红豇豆和宁豇三号耐热性较差.

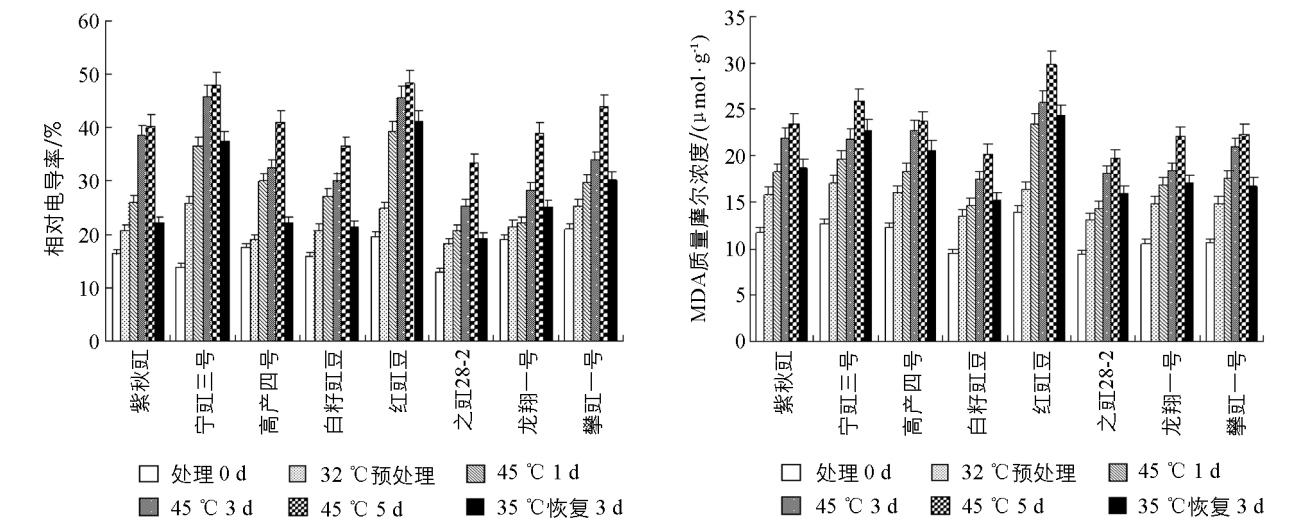


图 1 高温胁迫下豇豆叶片的相对电导率

图 2 高温胁迫下豇豆叶片的 MDA 质量摩尔浓度

2.3 高温胁迫下豇豆叶片 SOD, POD 和 CAT 酶活性的变化

高温胁迫下, 不同品种间豇豆叶片的 SOD, POD 和 CAT 酶活性存在较大差异(图 3). 豇豆叶片的 SOD, POD 和 CAT 酶活性随高温胁迫的时间延长都呈现先上升后下降的趋势. SOD 酶活性的最大值出现在胁迫处理 1 d 后. 白籽豇豆、龙翔一号、攀豇一号、紫秋豇、红豇豆、之豇 28-2、高产四号和宁豇三号的 SOD 酶活性比处理前分别提高了 61.91%, 57.74%, 70.25%, 54.84%, 114.84%, 65.37%, 50.00% 和 92.08%. 供试品种的 POD 活性和 CAT 活性的最大值出现在胁迫的不同阶段. 红豇豆的 POD 活性于胁迫 3 d 后达到最大值, 为 168.86 U/(min · g); 宁豇三号的 CAT 活性于胁迫 1 d 后达到最大值, 随后急剧下降.

2.4 高温胁迫对豇豆叶片可溶性糖浓度的影响

耐热豇豆品种可溶性糖的浓度在处理前后均明显低于耐热性较差的品种(表 2). 25 ℃ 条件下, 红豇豆可溶性糖浓度为 12.69 mmol/L, 是之豇 28-2 的 2 倍; 经过 5 d 45 ℃ 温度处理后, 红豇豆可溶性糖浓度的明显提高, 达到 25.92 mmol/L, 是之豇 28-2 的 3 倍. 其他 6 个品种可溶性糖浓度的增值在两者之间.

2.5 高温胁迫下豇豆叶片蛋白质的表达差异

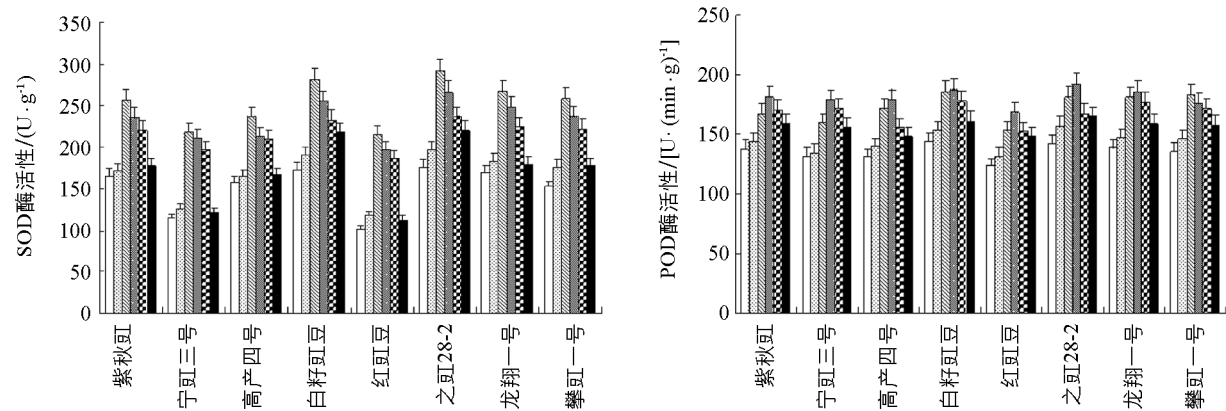
采用固相 pH 梯度 IEF/SDS-PAGE 双向凝胶电泳对总蛋白进行分离, 通过考马斯亮蓝染色, 获得了分辨率和重复性较好的双向电泳图谱(图 4). 用 PDQuest8.0 分析软件对双向电泳图谱进行分析, 在等电点(pI)3.0~10.0, 分子量 9.0~98.0 kD 之间均可识别的蛋白质斑点数约 500 种, 主要集中在(等电点)4.0~7.0. 蛋白质点在 2D 胶上的重复性为 A 沿等电聚焦(IEF)方向偏差为 $(2.53 \pm 0.21)\text{mm}$, $n=3$, 沿

SDS-PAGE 凝胶电泳方向偏差为 $(3.05 \pm 0.19) \text{ mm}$, $n=3$; B 沿等电聚焦(IEF)方向偏差为 $(2.80 \pm 0.12) \text{ mm}$, $n=3$, 沿 SDS-PAGE 凝胶电泳方向偏差为 $(3.17 \pm 0.38) \text{ mm}$, $n=3$.

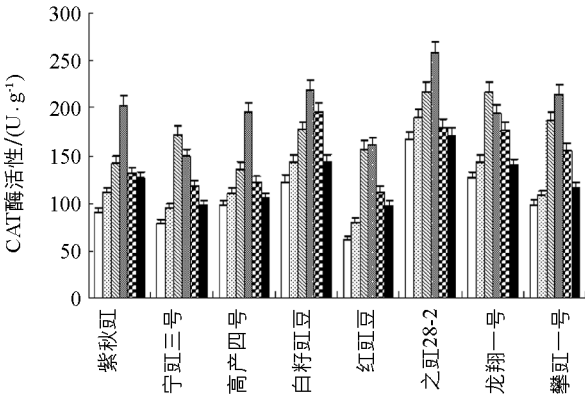
表 2 高温胁迫对豇豆幼苗叶片可溶性糖浓度的影响

材 料	可溶性糖/(mmol · L ⁻¹)		增 值
	25 ℃	45 ℃	
之豇 28-2	6.60fE	8.24gG	1.63
白籽豇豆	8.25eD	10.56fF	2.30
龙翔一号	9.01dCD	10.83fF	1.81
红豇豆	12.69aA	25.92aA	13.23
高产四号	9.82bcBC	14.45cC	4.62
紫秋豇	9.67bcdBC	13.23dD	3.55
攀豇一号	9.47cdBC	11.75eE	2.28
宁豇三号	10.51bB	16.80bB	6.28

注：小写字母表示差异有统计学意义($p<0.05$), 大写字母表示差异有统计学意义($p<0.01$).



(a) 高温胁迫下豇豆叶片的SOD酶活性 (b) 高温胁迫下豇豆叶片的POD酶活性

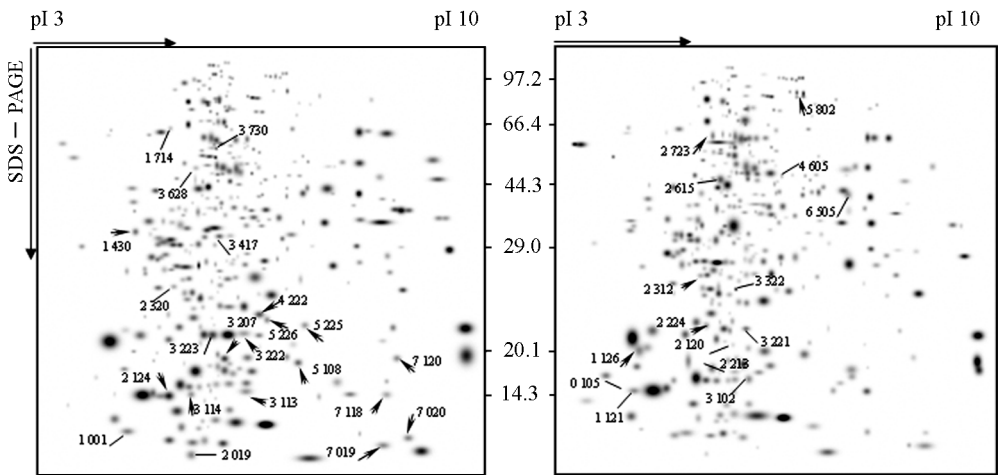


(c) 高温胁迫下豇豆叶片的CAT酶活性

□ 处理 0 d □ 32 ℃ 预处理 ■ 45 ℃ 1 d
■ 45 ℃ 3 d ▨ 45 ℃ 5 d ■ 35 ℃ 恢复 3 d

图 3 高温胁迫下豇豆叶片 SOD,POD 和 CAT 酶活性

根据 2 DE marker,SDS-PAGE marker 及蛋白质点的密度和灰度分别计算出差异蛋白质点的分子量、pI 值、表达量及高温处理后每个蛋白质点的表达丰度相对于常温下蛋白质点的比值. 结果显示,在豇豆叶片总蛋白质的考染双向凝胶电泳图谱中,以对照的蛋白质 2-DE 图谱为参考胶,45 ℃ 处理 5 h 产生的差异蛋白质点共达 39 种,其中高温胁迫时特异性诱导表达的蛋白斑点数为 15 种,抑制表达的 6 种,其它 18 种(8 种上调和 10 种下调,幅度在 2 倍以上)蛋白斑点表现为量的差异(表 3),表明高温胁迫引起大量基因表达的变化.



(a) 45℃处理5 h后豇豆叶片蛋白质的双向电泳分析 (b) 高温处理前25℃时豇豆叶片蛋白质的双向电泳分析

图 4 高温胁迫前后豇豆叶片差异表达蛋白的双向电泳分析

表 3 高温胁迫前后叶片中表达量发生显著变化的蛋白质

编 号		等电点 (pI)	分子量/ kD	质量分数/%		质量差异比 (HS/CK)
				CK	高温处理	
下调表达	0105	18.90	3.50	2 990.9	352.5	0.117 8
	0113	16.91	3.19	1 674.5	224.8	0.134 2
	2120	19.27	5.48	356.7	64.2	0.179 9
	2213	22.68	5.39	2 986.3	516.4	0.172 9
	2615	54.10	5.50	4 870.2	459.7	0.094 3
	3102	19.24	5.71	1 262.3	108.9	0.086 2
	3221	24.99	5.67	913.0	172.2	0.188 6
	3322	29.76	5.74	1 073.2	129.9	0.121 0
	4605	55.98	6.31	4 951.9	709.5	0.143 3
	6505	49.70	7.70	2 549.2	393.4	0.154 3
上调表达	1001	14.90	4.10	332.6	3 380.7	10.164 5
	1714	73.70	5.00	60.2	510.0	8.471 8
	2019	13.29	5.27	464.9	3 103.8	6.676 3
	2320	30.91	5.04	149.2	989.0	6.628 7
	3207	23.96	5.88	2 390.4	12 596.7	5.269 7
	3417	40.24	5.82	92.5	2 247.3	24.295 1
	3628	59.10	5.58	205.1	1 127.2	5.495 9
	3730	69.03	5.64	510.3	3 694.3	7.239 5

3 讨 论

细胞膜的相对透性和 MDA 质量摩尔浓度广泛被用于评价植物在逆境胁迫下的受伤害程度^[19]. 膜透性和 MDA 质量摩尔浓度的增加是由于细胞内活性氧代谢的失调, 而 SOD, POD, CAT 等是植物体内重要的活性氧清除酶, 能有效地清除活性氧自由基^[20]. 因此, SOD, POD 和 CAT 酶活性的高低, 也能衡量植物抵御逆境能力的强弱^[19-20]. 这在本研究也得到证实, 即热敏豇豆品种(红豇豆、宁豇三号)的细胞膜稳定性较差, 相对电导率和 MDA 质量摩尔浓度明显高于耐热品种(图 1, 2), 而且它们的 SOD, POD 和 CAT 酶活性始终明显低于耐热品种(图 3). 但有研究显示, 高温胁迫下 SOD 和 POD 活性会升高, 但 CAT 活性一直持续下降^[21]; 也有研究指出, 高温胁迫后耐热品种和不耐热品种的 SOD, POD 活性均下降^[22]; 还有研究报道, 高温使 POD 活性降低, CAT 活性升高, 而 SOD 活性变化不明显^[23]. 因此, SOD, POD 和 CAT 与植物耐热性的关系可能与实验材料、高温处理的程度和时间有关, 用于评价植物耐热性时要慎重.

可溶性糖能够调节细胞的渗透势,对维持细胞膜的完整性及提高植物的抗逆性有重要的生理意义^[24]。本研究结果显示,高温胁迫时,各豇豆品种的可溶性糖浓度均表现为增加,不耐热品种的增幅更大(表 2)。这与耐寒植物在低温下积累较多可溶性糖的现象相反。高温下豇豆叶片积累可溶性糖浓度,可能是由于淀粉合成受阻,而品种间存在的差异,能够反映耐热性不同。因此,可溶性糖浓度也可以作为评价豇豆的热害程度和耐热性的一个重要指标。

高温影响豇豆细胞的氨基酸代谢^[25],也影响热激蛋白的表达^[26],但相关报道较少^[11]。本研究以豇豆幼苗叶片为材料,初步建立了适用于豇豆蛋白质的双向电泳体系,并鉴别到相对分子量集中在 14~30 KD 之间的 39 个差异表达蛋白(图 4,表 3)。有研究表明,小分子热激蛋白(15~30 KD)是植物在热激条件下最主要的产物,是提高植物耐热能力的重要原因之一^[27-28]。而且有研究证实,豇豆的热激蛋白在维持其细胞热适应中发挥了重要作用^[26]。因此,进一步质谱分析确定豇豆小分子热激蛋白的序列,克隆出编码基因,并验证其耐热功能与机制,对于分子标记辅助育种和转基因改良豇豆具有重要价值。

总之,本研究通过比较高温对 8 个豇豆品种的叶片形态、电导率、膜脂过氧化程度和可溶性糖浓度等指标的影响,证实之豇 28-2 最为耐热,而红豇豆和宁豇三号最不耐热,并从之豇 28-2 叶片中鉴别到大量热应激蛋白。该研究为选育耐热豇豆品种和克隆耐热相关基因奠定了基础。

参考文献:

- [1] YOUNG J C, BARRAL J M, HARTL U F. More Than Folding: Localized Functions of Cytosolic Chaperones [J]. Trends Biochem. Sci, 2003, 28(10): 541—547.
- [2] SHENG X, JIAN-LONG L, XIN-QUAN Z, et al. Effects of Heat Acclimation Pretreatment on Changes of Membrane Lipid Peroxidation, Antioxidant Metabolites, and Ultrastructure of Chloroplasts in Two Cool Season Turfgrass Species under Heat Stress [J]. Environmental and Experimental Botany, 2006, 56(3): 274—285.
- [3] YOUNG T E, LIN G J, GEISLER-LEE C J, et al. Developmental and Thermal Regulation of the Maize Heat Shock Protein, HSP101 [J]. Plant Physiology, 2001, 127(3): 777—791.
- [4] 颜 华, 贾良辉, 王根轩. 植物水分胁迫诱导蛋白的研究进展 [J]. 生命的化学, 2002, 22(2): 165—168.
- [5] MELCHIONNA S, BRIGANTI G, LONDEI P, et al. Water Induced Effects on the Thermal Response of a Protein [J]. Physical Review Letters, 2004, 92(15): 158101—158105.
- [6] 张宏一, 朱志华. 植物干旱诱导蛋白研究进展 [J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(3): 268—270.
- [7] 高俊杰, 李衍素, 张冬梅, 等. 豇豆耐热性品种比较试验 [J]. 西北农业学报, 2007, 16(3): 157—161.
- [8] 李桂花, 曹 健, 陈汉才, 等. 豇豆苗期耐热性鉴定研究 [J]. 广东农业科学, 2007, 34(10): 21—23.
- [9] WARRAG M O A, HALL A E. Reproductive Responses of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) to Heat Stress: Genotypic Differences in Tolerance to Heat at Flowering [J]. Crop Science, 1983, 23(6): 1088—1092.
- [10] OMAE H, KASHIWABA K, SHONO M. Evaluation of Drought and High Temperature Resistances in Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walpers) for Sahel, Africa [J]. J. Agricultural Science and Technology, 2010, 5(1): 50—56.
- [11] POTTORFF M, ROBERTS PA, CLOSE TJ, et al. Identification of Candidate Genes and Molecular Markers for Heat-Induced Brown Discoloration of Seed Coats in Cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] [J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 328—339.
- [12] 田婷婷, 张兴国, 周小全, 等. 高温胁迫对之豇 28-2 幼苗叶片细胞膜透性和保护酶活性的影响 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2008, 33(3): 73—76.
- [13] 李锡香, 朱德蔚. 黄瓜种质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 78—79.
- [14] 李合生. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 67—70.
- [15] 高青海, 徐 坤, 高辉远. 不同茄子砧木幼苗抗冷性的筛选 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(5): 1005—1010.
- [16] 宗学风, 王三根. 植物生理研究技术 [M]. 重庆: 西南师范大学出版社, 2011: 68—73.
- [17] ISAACSON T, CYNTHIA M B, RAMU S S, et al. Sample Extraction Techniques for Enhanced Proteomic Analysis of Plant Tissues [J]. Nature Protocol, 2006, 1(2): 769—774.
- [18] BRADFORD M M. Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2): 248—254.
- [19] 陈培琴, 郁松林, 詹妍妮, 等. 植物在高温胁迫下的生理研究进展 [J]. 中国农学通报, 2006, 22(5): 223—227.

- [20] SIDDQUI M H, AL-KHAISHANY M Y, AL-QUTAMI M A, et al. Morphological and Physiological Characterization of Different Genotypes of Faba Bean under Heat Stress [J]. Saudi J Biol Sci, 2015, 22(5): 656—663.
- [21] 马德华, 庞金安, 霍振荣, 等. 黄瓜对不同温度逆境的抗性研究 [J]. 中国农业科学, 1999, 32(5): 28—35.
- [22] 王利军, 黄卫东, 战吉成. 水杨酸和高温锻炼与葡萄抗热性及抗氧化的关系 [J]. 园艺学报, 2003, 30(4): 452—454.
- [23] 吴国胜, 曹婉虹, 王永健, 等. 细胞膜热稳定性及保护酶和大白菜耐热性的关系 [J]. 园艺学报, 1995, 22(4): 353—358.
- [24] WENG J, NGUYEN H T. Differences in the Heat-Shock Response Between Thermotolerant and Thermosusceptible Cultivars of Hexaploid Wheat [J]. Theor Appl Genet, 1992, 84(7/8): 941—946.
- [25] MAYER R R, CHERRY J H, RHODES D. Effects of Heat Shock on Amino Acid Metabolism of Cowpea Cells [J]. Plant Physiol, 1990, 94(2): 796—810.
- [26] HEUSS-LAROSA K1, MAYER RR, CHERRY JH. Synthesis of only Two Heat Shock Proteins is Required for Thermoadaptation in Cultured Cowpea Cells [J]. Plant Physiol, 1987, 85(1): 4—7.
- [27] PARK S Y, SHIVAJI R, KRANSJ V, et al. Heat Shock Response in Heat Tolerant and Nontolerant Variants of *Agrostis palustris* Huds [J]. Plant Physiol, 1996, 111(2): 515—524.
- [28] SUN W, VAN MONTAGU M, VERBRUGGEN N. Small Heat Shock Proteins and Stress Tolerance in Plants [J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1577(1): 1—9.

Effects of High Temperature on the Lipid Peroxidation and Protein Expression in Cowpea Leaves

CUI Meng, WEI Juan-juan, SU Xiao-xing, DENG Zi-xian,
PAN Yu, LI Jin-hua, SU Cheng-gang, ZHANG Xing-guo

College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions, Ministry of Education, Chongqing 400715, China

Abstract: The membrane permeability, protective enzyme activities and other physicochemical indexes in the leaves of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walpers] seedlings were studied, and their intervarietal discrepancies were investigated, while the influence of heat shock on protein synthesis was probed. The results showed that there were significant differentials in heat damage indexes among the eight cowpea varieties studied; specifically, Zhijiang 28-2 and White seed were thermotolerant while Gaochan No 4, Ningjiang No 3 and Red cowpea were thermosensitive. Membrane permeability and malondialdehyde (MDA) content increased, in different extents, in all varieties, but the range was narrow between the thermotolerant varieties. SOD, POD and CAT activities of the eight cowpea varieties increased at first and then decreased; the content and augment of the soluble sugar of thermosensitive varieties were higher than those of the thermotolerant ones. Employing PDQuest 8.0 software to analyze 2-DE gels, we detected that 15 novel protein spots appeared, 6 spots disappeared, 8 spots were up-regulated and 10 spots were down-regulated on the sample gel of 45 °C 5 h treatment. The results indicated that fundamental physiology and biochemistry and the gene expression were changed under high temperature stress.

Key words: cowpea; heat shock; lipid peroxidation; protective enzyme; protein expression

