

不同胁迫对美花兰幼苗活性氧代谢相关酶活性的影响

刘 蕾¹, 何 聪 芬¹, 董 银 卯¹, 李 潞 滨², 彭 镇 华²

(1. 北京工商大学 化学与环境工程学院, 植物资源研究开发北京市重点实验室, 北京 100037;

2. 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育试验室, 北京 100091)

摘 要:以美花兰幼苗为试验材料, 研究了不同溶液胁迫对美花兰幼苗中过氧化物歧化酶(SOD), 过氧化物酶(POD)的影响。结果表明, 使用静置 12 h 的自来水处理幼苗 8 h 后的 SOD 酶, POD 酶活性与用 Hogland 营养液培养相同时间的 2 种酶的活性相接近; 与用 Hogland 营养液相比, 直接用自来水处理 8 h 后 SOD 酶, POD 酶的活性分别降低了 67.40% 和 66.19%。盐(1.8% NaCl), 干旱(25% PEG-8000), 低温(4℃)各处理 8 h 后 SOD 酶活力分别降低了 8.84%, 34.7%, 22.41%; POD 酶的活力分别降低了 63.35%, 30.80%, 28.29%。结果表明, 使用静置 12 h 后的水浇灌幼苗的效果较直接使用自来水效果好; 美花兰对盐、低温均敏感且不耐旱。

关键词:美花兰; SOD; POD; 盐胁迫; 干旱胁迫; 冷胁迫

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)09-0154-03

不良环境(如低温、干旱、盐渍等)作用于植物, 将会引起植物体内发生一系列的生理代谢反应, 表现为代谢和生长的可逆性抑制, 严重时甚至引起不可逆伤害, 导致整个植株死亡^[1-4]。植物在高盐、低温、干旱等胁迫条件下, 体内会产生过量的活性氧, 直接伤害植物的细胞等。活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)泛指那些含有氧原子的但较氧具有更活泼的化学反应性的氧的某些代谢产物及其衍生物。主要有超氧化物自由基 O_2^- , 羟自由基 OH^- , 单线态氧, 脂类过氧化物和 H_2O_2 等类型。它们在生物体内不断的产生, 但也不断的被清除。正常条件下, 这些自由基在生物体内的浓度极低且处于平衡状态。当处于逆境条件(胁迫)下, 其产生与清除便失去平衡。自由基在体内积累, 导致膜质过氧化和膜透性丧失, 从而引起一系列生理生化变化, 代谢紊乱, 致使植物体受到伤害^[5-9]。超氧化物歧化酶(SOD)在细胞保护酶系统中的作用是 O_2^- , 同时产生歧化性产物 H_2O_2 , 过氧化物酶(POD)的主要是起到清除体内 H_2O_2 的作用, 一般情况下, 细胞内的活性氧与防御系统之间保持平衡^[7]。超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD), 过氧化氢酶(CAT)等是酶促防御系统的保护酶, 它们协

同作用, 防御活性氧或其它过氧化自由基对细胞膜系统的伤害, 抑制脂膜过氧化, 以减轻胁迫对植物的伤害^[8]。

试验通过测定经过盐、低温、干旱等胁迫条件处理并使用自来水及放置的自来水, 分别对美花兰幼苗进行培养, 测定美花兰幼苗中 SOD 和 POD 活性的变化, 以期观察美花兰的对盐、寒冷、干旱的耐性, 以及浇灌美花兰的水的质量对其生长状况的影响。

1 材料和方法

1.1 供试材料

试验采用大小、长势一致的美花兰幼苗作为试验材料。

1.2 试验方法

挑选培养基中长势一致的美花兰幼苗, 用镊子轻轻取出, 将根浸泡在如下方法配置的不同溶液中进行试验。

Hogland 营养液: 对照; 自来水: 直接接取; 静置 12 h 的自来水: 将直接接取的自来水静止 12 h; 低温胁迫组: Hogland 溶液培养, 4℃; 盐胁迫组: 1.8% 的 NaCl, 相当于 0.3 mol/L。干旱胁迫组: 25%(w/v)的聚乙二醇-8000(PEG-8000)溶液。取上述配置好的溶液各 2 mL, 置于 4 mL 的离心管中, 将幼苗的根浸泡在溶液中, 处理 8 h。

1.3 酶液的提取

酶液的提取依照周希琴等^[8]的方法。挑选长势一样的幼苗, 电子天平上进行称量, 放入研钵中, 加入液氮进行研磨至粉末状, 加入 5 mL 的磷酸缓冲液(pH 7.8, 0.1 mol/L), 在水浴上研磨至匀浆, 转移至 2 mL 的离心管中, 离心, 4℃, 12 000 rpm, 5 min 后取上清液, 则为粗提酶液。

1.4 SOD 酶的测定

第一作者简介:刘蕾(1984-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 植物分子生物学。

通讯作者:李潞滨(1962-), 博士, 副研究员, 主要研究方向: 园林植物遗传育种。E-mail: lilubin@126.com。

基金项目:国家林业局引进国际先进农业科学技术(948)资助项目(2004-4-26 及 2005-4-37)。

收稿日期:2007-04-20

SOD 酶的测定采用 NBT 法^[9]。根据 SOD 抑制 NBT 的光化学还原的原理。以抑制 NBT 光化还原的 50% 为一个酶活性单位来表示 SOD 活性单位。

1.5 POD 酶的测定

酶活的测定采用愈创木酚法^[10]，酶活性以每分钟 OD₄₇₀ 增加 0.01 为一个酶活力单位 (U)。

2 结果与分析

2.1 不同溶液对美花兰幼苗 SOD 酶的影响

SOD 酶广泛存在于各类生物体中，能催化生物体内超氧自由基 (O₂⁻) 发生歧化反应，是机体内 O₂⁻ 的天然消除剂，对机体细胞起保护作用。不同溶液处理美花兰后，幼苗 SOD 酶的变化见图 1。

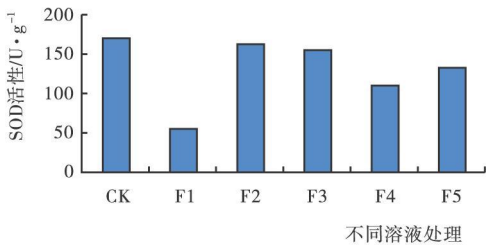


图 1 不同溶液处理后美花兰幼苗的 SOD 酶的活力

注 CK: Hogland 营养液; F1: 自来水; F2: 静置 12 h 的自来水; F3: 盐胁迫组; F4: 干旱胁迫组; F5: 低温胁迫组。以下同。

由图 1 可以看出，使用 Hogland 溶液培养的美花兰幼苗 (CK) SOD 酶的活力最高，用静置 12 h 的自来水与用 Hogland 溶液各培养 8 h 的 SOD 酶活性相接近，用自来水培养美花兰 8 h 后幼苗中 SOD 酶的活性只有 CK 的 32.60%。SOD 酶是一切需氧有机体中普遍存在的一种起保护作用的酶，自来水中含有氯气，而氯气会给生物体造成影响，使兰花幼苗体内的超氧自由基 (O₂⁻) 的升高，超氧自由基 (O₂⁻) 能与 SOD 酶反应，引起酶活降低。因此，SOD 酶活性的降低可能是美花兰幼苗对于氯气的胁迫的一种防御反应。静置 12 h 的自来水培养后的美花兰幼苗的 SOD 酶活性较直接使用自来水进行培养的美花兰幼苗的酶活高，表明静置一夜后的自来水对美花兰幼苗的影响较小。表明静置一夜后的自来水对幼苗的伤害已减小。因此，在日常生活中，最好是使用静置后的水进行浇灌，而不是直接使用自来水。

图 1 可以看出，美花兰幼苗受到干旱胁迫，盐胁迫以及低温胁迫后，SOD 酶的活性降低。干旱，盐，低温胁迫使美花兰幼苗中超氧自由基 (O₂⁻) 含量升高，清除超氧自由基 (O₂⁻) 需要消耗植物体内过多的 SOD，使 SOD 活性降低。盐 (1.8% NaCl)，干旱 (25% PEG-8000)，低温 (4℃) 各处理 8 h 后 SOD 酶活力与分别降低了 8.84%，

34.7%，22.41%。在这 3 种胁迫中，对美花兰幼苗中 SOD 酶活性影响最大的是干旱胁迫，影响最小的是盐胁迫。因此，可以说，美花兰幼苗对低温敏感，喜水不耐旱。

2.2 不同溶液对美花兰幼苗 POD 酶的影响

过氧化物酶在保护酶系统中主要是起到酶促降解 H₂O₂ 的作用。从而使植物抵抗在逆境胁迫下代谢过程产生的有害物质对细胞的伤害，表现出一定的抗逆性^[11]。不同溶液处理美花兰后，幼苗 POD 酶的变化见图 2。

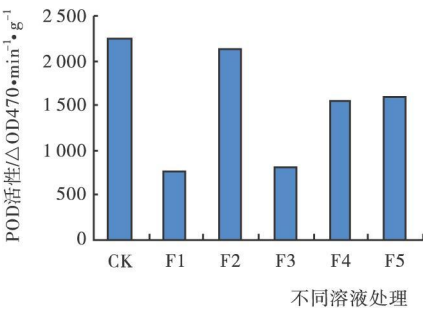


图 2 不同溶液处理后美花兰幼苗的 POD 酶的活力

由图 2 可以看出，使用 Hogland 溶液培养的美花兰幼苗中 POD 酶的活力最高，用静置 12 h 的自来水与用 Hogland 溶液各培养 8 h，POD 酶活性相接近，用自来水培养美花兰 8 h 后幼苗中 POD 酶的活性只有 CK 的 33.81%。试验结果表明，在日常生活中，最好是使用静置后的水进行浇灌，而不是直接使用自来水。

由图 2 可以看出，Hogland 营养液处理后的幼苗的 POD 活性最高，盐胁迫后美花兰幼苗中的 POD 降低的幅度最大，降低了 63.35%；低温和干旱处理后 POD 活力分别降低 28.29% 和 30.80%。美花兰对盐、低温均敏感并且喜水不耐旱。

2.3 结论

试验结果表明，使用静置后的自来水浇灌比直接使用自来水浇灌对美花兰的伤害要小，美花兰幼苗对低温，盐胁迫敏感，并且不耐旱。

3 讨论

不同胁迫对于美花兰幼苗中保护酶的影响是不同的。植物体内保护酶系统主要有 SOD，POD，过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POX)、脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR)、单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDAR)、谷胱甘肽还原酶 (GR)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GP)、谷胱甘肽-S 转移酶 (Gst) 等^[9]。不同的酶有各自的功能，但不同的酶之间却又有相互协作的关系。研究发现，1.8% 盐处理美花兰幼苗后，SOD 活性变化与 POD 活性变化出现不一致，SOD 活性变化较小，而 POD 活性变化较大，推测其中原因是由于 SOD 在细胞保护酶系统中的作用是清除

超氧自由基 O_2^- , 同时产生歧化性产物 H_2O_2 , 而 POD 的主要是起到清除体内 H_2O_2 的作用。1. 8% 盐处理美花兰幼苗后, 产生少量的超氧自由基 O_2^- , SOD 活性降低的较慢; 但 H_2O_2 产生的量较大, 而清除 H_2O_2 需要消耗植物体内过多的 POD, 使 POD 活性降低。Lee 等^[12] 认为 SOD 活性的增加会引起 H_2O_2 (过氧化氢) 的积累, 清除过氧化氢主要依靠 POD 酶, 因此过氧化氢的积累抑制了 POD 酶的活性。

参考文献

- [1] 郭洪海, 孔令安, 董晓霞. 盐胁迫下外源 Se 对杂交酸模耐盐性的影响[J]. 草业学报, 2001, 10(1): 20-25.
- [2] 邵宏波, 梁宗锁, 邵明安. 高等植物对环境胁迫的适应与其胁迫信号的转导[J]. 生态学报, 2005, 25(7): 1772-1781.
- [3] 余玲, 王彦荣, 孙建华. 环境胁迫对布顿大麦种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 草业学报, 2002, 11(2): 79-84.
- [4] 夏丽华, 郭继勋. 磁处理种子对羊草生长及抗盐碱性的影响[J]. 草业学报, 2001, 10(1): 58-63.

- [5] 曾永三, 王振中. 活性氧和超氧化物歧化酶在植物抗病反应中的应用[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1999, 12(4): 55-63.
- [6] 李富生, 何丽莲. 植物对非生物胁迫的生理响应及甘蔗抗旱抗寒性研究进展[J]. 甘蔗, 2004, 11(1): 31-37.
- [7] Prasad T K. Mechanism of chilling induced oxidative stress injury and tolerances: changes in antioxidant system, oxidation of protein and lipids and protease activities[J]. Plant J, 1996, 10: 1017-1026.
- [8] 周希琴, 吉前华. 盐胁迫下木麻黄幼苗抗氧化酶活性的变化及 Ca^{2+} 对它的调控[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(2): 184-186.
- [9] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 20-45.
- [10] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1992: 136-156, 205-206, 207-215.
- [11] Cao X Q. The effect of membrane-lipid peroxidation on cell and body[J]. Prog Biochem Biophys, 1986, 2: 17-23.
- [12] Lee D H, Lee C B. Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber in gelatinase activity assay[J]. Plant Science, 2000, 159(1): 75-85.

Effects of Protective Enzyme of *C. insignine* Rolfe Seedling under Different Stresses

LIU Lei¹, HE Cong-fen¹, DONG Yin-mao¹, LI Lu-bin², PENG Zhen-hua²

(1. Beijing Key Lab of Plant Resources Research and Development, College of Chemistry and Environmental Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100037, China; 2. Key Lab of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: In this paper, the seedling of *C. insignine* Rolfe was used to study the SOD, POD activities after different treatment. The results showed that the activities of SOD and POD under treatment by tap water which was placed 12 h was close to that watered by the Hogland; Compared with that watered by Hogland (named as CK), the activities of SOD and POD watered by tap-water immediately were decreased about 67.40% and 66.19% respectively. In other experiments, the seedling of *C. insignine* Rolfe were treated 8 hours under the salt (1.8% NaCl), drought (25% PEG-8000), 4°C in the icebox respectively, compared to the CK, the activities of SOD were decreased about 8.84%, 34.7%, 22.41% and the activities of POD were decreased nearly 63.35%, 30.80%, 28.29% respectively. The results give the reason why the tap-water which was placed for more than 12 hours was suitable for water the *C. insignine* Rolfe seedling, and also indicated that the *C. insignine* Rolfe was sensitive to the salt and low temperature, and can not endure drought stress.

Key words: *C. insignine* Rolfe; SOD; POD; Salt stress; Drought stress; Cold stress

欢迎订阅 2008 年

《大豆科学》

《大豆科学》是由黑龙江省农科院主办的学术性期刊。《大豆科学》是中国自然科学核心期刊, 中国科学引文数据库来源期刊及国内外多家权威数据库收入期刊源。主要刊登有关大豆的遗传育种, 品种资源, 生理生态, 耕作栽培、病、虫、杂草防治, 营养施肥, 生物技术、食品加工、药理研究和工业用途等方面的科研报告, 学术论文, 国内、外研究进展评述, 研究简报, 学术活动简讯、新品种介绍等。

《大豆科学》主要面向从事大豆科学研究的科技工作者, 大专院校师生、各级农业技术推广部门的技术人员及科技种田的农民。

国内外公开发行, 双月刊, 16 开本, 每期 200 页。国内每期订价: 10.00 元, 全年 60.00 元, 邮发代号: 14-95。国外每期订价: 10.00 美元 (包括邮资), 全年 60 美元。国外由中国国际图书贸易总公司发行, 北京 399 信箱。国外代号: Q5587。

本刊热忱欢迎广大科研及有关企事业单位刊登广告, 广告经营许可证号: 2301004010071。

地址: 哈尔滨市南岗区学府路 368 号《大豆科学》编辑部
邮编: 150086 电话: 0451-86668735
E-mail: dadoukx@sina.com ddkexue@126.com