

盐胁迫对马蔺叶片保护性酶活性和蛋白质表达的影响

许玉凤¹, 王文元², 王雷¹, 范海延¹, 韩晓日¹

(1. 沈阳农业大学 辽宁 沈阳 110866; 2. 沈阳市植物园 辽宁 沈阳 110163)

摘要:以1 a生马蔺幼苗为试材,研究了盐胁迫对马蔺叶片中保护性酶活性和可溶性蛋白表达的影响。结果表明:叶片SOD、POD和CAT酶活性对NaCl胁迫的响应随着时间的延长和胁迫浓度的增加表现为先升高后降低的趋势。SDS-聚丙烯凝胶电泳对可溶性蛋白表达结果表明,盐胁迫抑制了一些蛋白质的表达,但也诱导产生了一些新的谱带,这可能与马蔺的抗盐性有关。

关键词:马蔺;盐胁迫;保护性酶活性;可溶性蛋白表达

中图分类号:S 682.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2011)12—0103—03

马蔺(*Iris lacteavar. chinensis*)为鸢尾属植物中常见的宿根花卉植物。从自然分布上看,马蔺是盐化草甸的建群种,尤以过度放牧的盐碱化草场上生长较多。马蔺是耐重盐碱植物,可应用于盐碱地的改良和盐碱化的城市绿化^[1]。有关马蔺的盐胁迫适应机制近几年才有相关的报道。王桂琴等人对马蔺在盐碱胁迫的形态适应特征进行了研究^[2],孙广玉等人对盐碱地马蔺光合生理特性进行了研究^[3];白文波等人研究了NaCl和NaHCO₃胁迫下马蔺生长与光合特性的反应^[4],许玉凤等对盐胁迫下马蔺叶片中渗透调节物质、膜的透性等进行了研究^[5]。现从盐胁迫下马蔺叶片中保护性酶活性和蛋白质表达等方面探讨了对盐胁迫的适应机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试马蔺(*Iris lactea var. chinensis*)均为1 a生幼苗,取自沈阳农业大学植物园。选取生长势比较一致的马蔺幼苗,栽植到3 L塑料桶培养钵中进行溶液培养,营养液采用三盐营养液。在钵的盖子上钻有4个孔,3株/孔,12株/盆。缓苗3 d后,转移到含有NaCl质量分数分别为0%、0.3%、0.6%、0.9%和1.2%的营养液中(每隔1 d更换溶液1次)进行盐胁迫处理,3

次重复,在自然光照下培养,早晚各通气30 min。分别在处理1、2、4 d时,进行各项指标的测定。

1.2 各项指标的测定

酶液的提取,CAT、POD活性测定均按李合生方法,SOD活性测定按邹琦方法^[6]。盐胁迫对可溶性蛋白表达的影响采用SDS-聚丙烯凝胶电泳方法^[7]。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对马蔺叶片SOD活性的影响

由图1可知,SOD活性随着盐胁迫浓度的增加和处理时间的延长表现出先升高后降低的变化规律。当NaCl浓度低于0.9%时,随着盐胁迫浓度的增加和时间的延长,马蔺叶片中SOD活性逐渐增加。当NaCl胁迫浓度为0.9%时,在胁迫处理1 d后,SOD活性增加不明显,在胁迫处理2 d时,SOD活性增幅度最高,达到118 U·g⁻¹·min⁻¹,在胁迫处理4 d时,SOD活性开始下降。当NaCl浓度增加到1.2%时,随着胁迫时间的延长,SOD活性逐渐下降。当胁迫处理1 d时,随着盐胁迫浓度的增加,SOD活性增加不明显;当胁迫处理2 d后,随着盐胁迫浓度的增加,SOD活性逐渐增加,在浓度为0.9%时达到最高,1.2%时开始下降;当

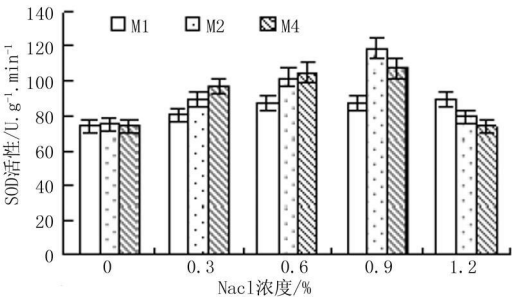


图1 盐胁迫对马蔺叶片SOD活性的影响

第一作者简介:许玉凤(1970-),女,博士,现主要从事植物抗逆性研究工作。E-mail:xyfwwy@yahoo.com.cn。
责任作者:韩晓日(1960-),男,蒙古族,辽宁盖州人,博士,教授,现主要从事植物营养与施肥技术,新型肥料研制工作。E-mail:hanxiaori@163.com。
收稿日期:2011-04-01

胁迫处理 4 d 后, SOD 活性逐渐增加, 在 0.9‰ 时达最高, 然后下降。

2.2 盐胁迫对马蔺叶片 POD 的影响

由图 2 可知, POD 的活性随着盐胁迫和处理时间的增加也是表现出先升高后降低的变化规律。当 NaCl 浓度为 0.3‰ 时, 随着胁迫处理时间的延长 POD 的活性稍有增加; 当 NaCl 浓度增加到 0.9‰ 时, 在胁迫处理 1 d 后, POD 的活性略有增加, 处理 2 d 后, POD 活性增幅最高, 达到 $4.5 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 4 d 后活性开始下降; 当 NaCl 浓度为 1.2‰ 时, 只有在处理 1 和 2 d 时, 活性略有增加, 4 d 后活性下降。盐胁迫处理 1 d 时, 随着胁迫浓度的增加, POD 的活性逐渐增加; 当胁迫处理 2 d 时, 随着胁迫浓度的增加, POD 的活性逐渐增加, 在胁迫浓度为 0.9‰ 时达到最大值, 胁迫浓度为 1.2‰ 时下降; 当胁迫处理 4 d 时, 随着胁迫浓度的增加, POD 的活性逐渐增加, 在胁迫浓度为 0.9‰ 时达到最大值。

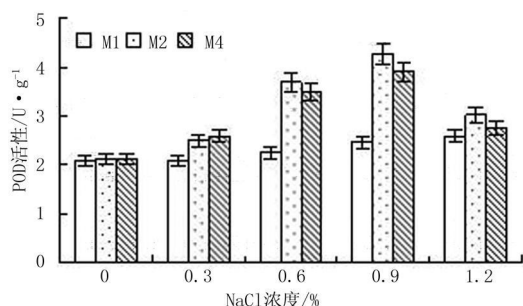


图 2 盐胁迫对马蔺叶片 POD 活性的影响

2.3 盐胁迫对马蔺叶片 CAT 的影响

由图 3 可知, 马蔺叶片中 CAT 活性随着盐胁迫和处理时间的增加同样表现出先升高后降低的变化规律。在盐胁迫浓度低于 0.6‰ 时, 随着胁迫浓度的增加和时间的延长, CAT 活性逐渐升高, 0.6‰ 处理 4 d 时达到最高, 为 36 U/g , 当胁迫浓度增加到 0.9‰ 时, 随着时间的延长, 活性有增加的趋势; 当胁迫浓度增加到

1.2‰ 时, 活力开始下降。当胁迫处理 1 d 时, 随着盐胁迫浓度的增加, CAT 的活性逐渐增加; 当胁迫处理 2 d 后, 随着盐胁迫浓度的增加, CAT 的活性逐渐增加, 在 0.9‰ 时达最高, 1.2‰ 时开始下降; 当胁迫处理 4 d 后, 随着盐胁迫浓度的增加, CAT 的活性也逐渐增加, 在 0.6‰ 时达到最高, 胁迫浓度达 0.9‰ 以上时, CAT 活性开始下降。

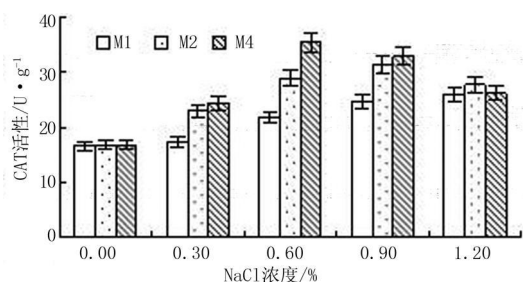


图 3 盐胁迫对马蔺叶片 CAT 活性的影响

2.4 盐胁迫对马蔺叶片中蛋白质表达的影响

由图 4 可看出, 胁迫处理 1 d 后, 在 NaCl 浓度为 0.3‰ 时, 与对照 A1 比, 只有在分子量为 44.3 kb 左右有一明显加粗谱带, 说明蛋白质表达较多; 其它谱带与对照比, 没有明显差异。当 NaCl 浓度增加时, 低分子量的蛋白质谱带颜色都变浅, 说明蛋白质表达较少, 而且分子量为 64 ~ 116 kb 之间的谱带消失, 说明分子量在该范围内的蛋白质表达明显受到抑制, 另外, 当盐胁迫浓度为 0.9‰ 和 1.2‰ 时, 在分子量 97.2 ~ 116 kb 之间出现一条特异谱带, 该谱带有可能与马蔺的抗盐特性密切相关。盐胁迫 2 d 后, 出现的特异谱带也消失了, 而先前被抑制表达的蛋白质重新表达, 说明盐胁迫 2 d 后, 马蔺已经适应了这一逆境。在胁迫处理 4 d 后, 在 0.9‰ (A4) 和 1.2‰ 盐胁迫 (A5) 条件下分子量为 80 kb 左右有 1 条蛋白谱带消失, 在 1.2‰ 盐胁迫 (A5) 条件分子量 50 kb 左右有 1 条蛋白谱带消失, 说明随着时间的延长, 高盐胁迫下可溶性蛋白表达受到抑制。

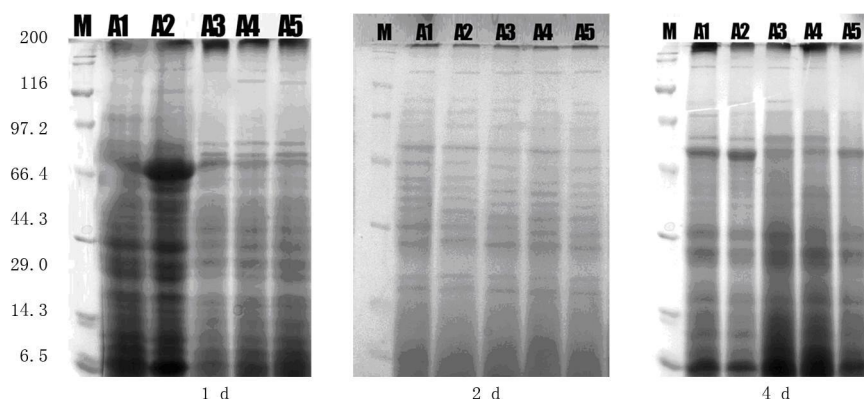


图 4 盐胁迫处理对马蔺叶片中蛋白质表达的影响

3 结论与讨论

干旱、盐渍等渗透胁迫对植物的伤害与细胞水平上的氧化胁迫有密切关系,抗氧化胁迫也是植物耐盐的一种方式。氧自由基是在植物代谢过程中产生的,细胞内氧自由基过多会引起膜脂过氧化而产生氧化伤害。抗氧化酶系统作为生物体内消除活性氧的主要保护机制,其特征之一就在于生物体内活性氧生成量增加时,抗氧化酶的生物合成能力升高。因此,抗氧化酶活性的改变可以间接反应环境中有毒有害物质的存在,是分子水平上预报逆境胁迫对生态系统危害的敏感生物标记物之一^[8]。

SOD 是生物体内最重要的抗氧化酶之一,该酶能将超氧阴离子自由基快速歧化为 H₂O₂和 H₂O,可以有效地降低超氧阴离子自由基对膜系统的伤害。CAT 和 POD 是清除 H₂O₂的主要酶类,它们可以将 H₂O₂分解为 H₂O 以防止对细胞的损伤^[8]。马蔺叶片 SOD、POD 和 CAT 酶活性对 NaCl 胁迫的响应具有浓度和时间依赖性。在短期、低盐浓度下,SOD、POD 和 CAT 酶活性上升,能有效地清除氧自由基,从而阻止或减轻对膜的过氧化和被破坏,这可能是马蔺对盐胁迫的一种适应性表现。但在高浓度或长时间胁迫下 SOD、POD 和 CAT 活性下降,认为是逆境胁迫对植物的毒害作用已超过其自身的调节能力,不能有效地清除氧自由基,膜脂过氧化作用或膜脂脱脂作用启动,导致膜的结构破坏。

盐胁迫蛋白是指植物受盐胁迫时合成新的或合成增强的蛋白质。逆境蛋白的研究已被广泛地重视,营养亏缺、高渗、低温、高温、干旱、重金属毒害、切伤、盐害、紫

外辐射等环境胁迫都能诱导蛋白质合成发生改变。至今已发现烟草、苜蓿、豌豆、玉米、矮牵牛、曼陀罗、大麦、小麦、高粱和高冰草杂种、番茄、甜菜和冰叶日中花等植物中存在盐胁迫蛋白。随着盐胁迫浓度的增加和时间的延长,马蔺叶片内的可溶性蛋白含量有逐渐增加的趋势,只有在高浓度盐胁迫下略有下降。SDS-聚丙烯酰胺电泳对马蔺可溶性蛋白表达研究结果进一步表明,盐胁迫能抑制一些蛋白质的表达,也会诱导产生一些新的谱带,该谱带可能与马蔺抗盐有关^[9]。

参考文献

[1] 王桂芹. 不同生态环境马蔺植物体解剖结构比较 [J]. 内蒙古民族大学学报 2002 17(2): 127-129.

[2] 孙广玉, 蔡淑燕, 胡彦波, 等. 盐碱地马蔺光合生理特性的研究 [J]. 植物研究 2006 26(1): 74-78.

[3] 白文波, 李品芳, 李保国. NaCl 和 NaHCO₃ 胁迫下马蔺生长与光合特性的反应 [J]. 土壤学报, 2008, 45(2): 328-335.

[4] 许于凤, 王雷. 马蔺 (*Iris lactea* var. *chinensis*) 抗盐生理特性的研究 [J]. 植物研究, 2009 29(5): 549-552.

[5] 张玉鑫, 康恩祥, 马凌之, 等. NaCl 胁迫对甜瓜幼苗叶片膜脂过氧化和渗透调节物质的影响 [J]. 果树学报 2007 24(2): 194-198.

[6] 杨颖丽, 徐世健, 保颖, 等. 盐胁迫对两种小麦叶片蛋白质的影响 [J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2007, 43(1): 70-74.

[7] WANG X S, HAN J G. Changes of Proline Content, Activity, and Active Isoforms of Antioxidative Enzymes in Two Alfalfa Cultivars Under Salt Stress [J]. Agricultural Sciences in China 2009, 8 (4): 431-440.

[8] CHA-UM S, SUPAIBULWATTANA, KIRDMANEE C. Comparative Effects of Salt Stress and Extreme pH Stress Combined on Glycinebetaine Accumulation, Photosynthetic Abilities and Growth Characters of Two Rice Genotypes [J]. Rice Science 2009 16(4): 274-282.

Effects of Salt Stress on the Activities of Protect Enzymes and the Protein Expression in the Leaves of *Iris lactea* var. *Chinensis*

XU Yu-feng¹, WANG Wen-yuan², WANG Lei¹, FAN Hai-yan¹, HAN Xiao-ri¹

(1. Shenyang Agricultural University, Shenyang Liaoning 110866; 2 Shenyang Botany Garden, Shenyang, Liaoning 110163)

Abstract: *Iris lactea* var. *chinensis* 1 year old seedlings was used as test material, the effects of salt stress on protective enzyme activities and soluble protein expression in the leaves were studied. The results showed that the activities of SOD, POD and CAT increased first and then decreased with the increasing of NaCl concentration and prolonging of time. The protein expression was studied by using SDS-PAGE electrophoresis, the results showed that expression of some kinds of protein was restrained under salt stress and there were some specific bands formed, which may have relation with the salt-resistant ability of *Iris lactea* var. *chinensis*.

Key words: *Iris lactea* var. *chinensis*; salt stress; protective enzyme; soluble protein