

东北红豆杉对 SO₂ 胁迫的生理响应

李金玉, 周广柱, 张璐, 李昆朋

(沈阳农业大学 林学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘要: 采用简易静态熏气装置对3 a生盆栽东北红豆杉进行熏气处理, 研究不同浓度 SO₂ 对东北红豆杉叶片膜脂过氧化、游离脯氨酸含量、可溶性蛋白质含量、抗氧化酶活性、叶绿素含量的影响。结果表明: 随着 SO₂ 浓度的增加, 东北红豆杉叶片的叶片膜透性增大, 丙二醛、脯氨酸含量均显著增加, 可溶性蛋白质含量呈先升后降又上升趋势, 叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量均比对照显著降低, 且叶绿素 a/b 比值随处理浓度的增加呈现先上升后下降的趋势, 叶片抗氧化酶活性除 POD 在 21 mg/m³ 处理下增幅较小外, 总体呈上升趋势。不同 SO₂ 浓度处理对东北红豆杉造成了氧化胁迫, 但东北红豆杉能通过自身的调节能力, 提高对 SO₂ 的抗性, 是抗性较强的树种之一。

关键词: 东北红豆杉; SO₂ 胁迫; 生理响应

中图分类号: S 791.49

文献标识码: A

文章编号: 1001-0009(2011)09-0074-03

SO₂ 是大气中的主要污染物之一。SO₂ 及其形成的酸雨对建筑、土壤、植物等有很大的伤害作用^[1]。植物可以减轻大气污染, 维护城市生态环境, 在城市生态平衡中起着“除污吐新”作用, 因此选取吸收 SO₂ 能力较强的植物具有一定的现实意义^[2]。

东北红豆杉(*Taxus cuspidata*)为红豆杉科红豆杉属常绿针叶乔木, 为国家一级保护珍贵树种。树形优美, 针叶颜色随季节的不同而发生变化, 抗寒性极强, 是园林绿化的优良树种^[3]。前人的研究主要集中在繁殖技术^[4-5]、濒危原因^[6-7]、药用价值^[8]等, 有关东北红豆杉对 SO₂ 胁迫抗性的研究未见报道。现以东北红豆杉为试材, 研究不同浓度 SO₂ 处理植物叶片的生理指标变化情况, 以探讨东北红豆杉对 SO₂ 胁迫的生理响应机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在沈阳农业大学试验基地进行, 以3 a生东北红豆杉盆栽扦插苗为试材, 苗高基本一致、无病虫害且长势良好, 盆规格为 26 cm×21 cm, 盆土为 2/3 园土和 1/3 腐熟基质混合而生。

1.2 试验设计

自制简易静态熏气密闭装置进行熏气处理, 以钢筋

为骨架焊接而成, 长、宽、高分别为 1 m, 室壁为 3 mm 厚聚乙烯塑料薄膜, 熏气室上罩透光率为 65% 的遮阳网, 由小电扇控制室温为 25~32℃, 由水帘控制湿度为 75%±5%。根据 Na₂SO₃+H₂SO₄(浓)=Na₂SO₄+H₂O+SO₂↑原理制备 SO₂ 气体。试验设 4 个 SO₂ 熏气梯度, 分别为 5.25 (A₁)、10.5 (A₂)、15.75 (A₃)、21 (A₄) mg/m³, 每个熏气室为 1 个浓度处理, 将 SO₂ 定量注入熏气室, 入口处用小风扇搅匀。在每次熏气前 7 d, 将盆栽幼树移入熏气室中适应环境, 每天 9:00~15:00 熏气, 处理 7 d, 每组 4 株, 3 次重复, 以相同条件下不熏气的气室中植株作对照 (CK)。熏气结束后, 每盆取 10 片新梢中部生长期一致的叶片, 每组 40 片组成混合叶群, 进行指标测定。

1.3 生理指标测定

细胞膜透性的测定采用电导率法; 丙二醛 (MDA) 含量的测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 显色法; 可溶性蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法; 游离脯氨酸 (Pro) 含量的测定用茚三酮比色法; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定采用氮蓝四唑 (NBT) 还原法; 过氧化物酶 (POD) 活性的测定采用愈创木酚法; 过氧化氢酶 (CAT) 活性的测定采用分光光度法; 叶绿素含量的测定采用丙酮法^[9]。

1.4 数据处理

采用 Excel 与 DPS 软件进行平均数及方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 SO₂ 胁迫对叶片膜脂氧化的影响

由表 1 可知, 随 SO₂ 胁迫浓度的增加, 东北红豆杉叶片膜透性呈缓慢增加趋势。在各处理条件下, 细胞膜透性分别比对照提高了 21.20%、28.93%、34.56% 和

第一作者简介: 李金玉(1986-), 男, 在读硕士, 现主要从事园林植物生理生态与栽培研究工作。E-mail: lijinyu75618281@163.com。

责任作者: 周广柱(1964-), 男, 博士, 教授, 现主要从事园林植物生理生态栽培研究工作。E-mail: zhouguangzhu@sina.com。

基金项目: 国家林业科技支撑计划资助项目(2008BADB0B0401)。

收稿日期: 2011-03-11

53.44%；方差分析表明，A₁、A₂ 与对照无显著差异，A₃ 与对照达显著差异($P<0.05$)，A₄ 与对照达极显著差异($P<0.01$)。叶片 MDA 含量分别比对照增加了 16.50%、18.60%、28.82%和 41.26%；方差分析表明，A₁、A₂ 与对照无显著差异，A₃ 与对照达显著差异($P<0.05$)，A₄ 与对照达极显著差异($P<0.01$)。表明随着胁迫浓度的增加，东北红豆杉受害程度加剧，叶片细胞膜相对透性增大，MDA 含量也随之增加。

表 1 不同浓度 SO₂ 处理东北红豆杉叶片细胞膜透性和 MDA 含量

处理	细胞膜透性/%	MDA 含量/nmol · g ⁻¹ · FW
CK	27.17±2.05 aA	8.12±0.20 bB
A ₁	32.93±2.09 abAB	9.46±0.18 abAB
A ₂	35.03±1.83 abcAB	9.63±0.24 abAB
A ₃	36.56±3.46 bcAB	10.46±0.86 aAB
A ₄	41.69±2.73 cB	11.47±1.13 aA

注：表中各数据为平均值±标准误差。小写字母表示在 0.05 水平的差异显著，大写字母表示在 0.01 水平的差异显著。下同。

2.2 不同浓度 SO₂ 胁迫对叶片抗氧化酶活性的影响

由表 2 可知，SO₂ 熏气处理后，随 SO₂ 胁迫浓度的增加，东北红豆杉叶片抗氧化酶活性总体呈上升趋势。其中 A₄ 浓度处理中 SOD、POD 和 CAT 活性分别比对照增加了 44.92%、46.26%和 74.38%，但 POD 活性 A₁、A₂、A₃ 处理增长较快，A₄ 处理下增幅较小。方差分析表明，SOD 活性 A₁、A₂ 与对照无显著差异，A₃ 与对照达显著差异($P<0.05$)，A₄ 与对照达极显著差异($P<0.01$)；POD 活性 A₁ 与对照无显著差异，A₂ 与对照达显著差异($P<0.05$)，A₃、A₄ 与对照达极显著差异($P<0.01$)；CAT 活性 A₁ 与对照无显著差异，A₂ 与对照达显著差异($P<0.05$)，A₃、A₄ 与对照达极显著差异($P<0.01$)。抗氧化酶能有效清除胁迫条件下植物体内的自由基，使植物在一定程度上能忍耐、减缓或抵抗逆境胁迫，提高了东北红豆杉对 SO₂ 的抗性^[10]。

表 2 不同浓度 SO₂ 处理东北红豆杉叶片 SOD、POD 和 CAT 活性 U · min⁻¹ · g⁻¹ · FW

处理	超氧化物歧化酶活性	过氧化物酶活性	过氧化氢酶活性
CK	13.98±0.85 cB	2.27±0.16 dB	30.29±1.35 dC
A ₁	14.46±0.61 cB	2.75±0.15 bcAB	31.85±0.55 dC
A ₂	15.66±0.50 bcB	2.99±0.24 abAB	37.60±0.64 bC
A ₃	16.25±0.35 bB	3.31±0.14 aA	40.55±0.69 bB
A ₄	20.26±0.34 aA	3.32±0.12 aA	52.82±0.53 aA

表 4 不同浓度 SO₂ 处理东北红豆杉叶片叶绿素含量

处理	叶绿素 a	叶绿素 b	总叶绿素	叶绿素 a/b
CK	0.971±0.061 aA	0.462±0.032 aA	1.434±0.091 aA	2.106±0.036 abA
A ₁	0.911±0.036 aAB	0.425±0.027 abAB	1.336±0.060 abAB	2.151±0.077 abA
A ₂	0.791±0.004 bBC	0.391±0.009 bcABC	1.182±0.010 bcBC	2.024±0.017 bA
A ₃	0.723±0.017 bcC	0.352±0.008 cdBC	1.075±0.023 cdC	2.055±0.042 bA
A ₄	0.685±0.009 cC	0.311±0.008 dC	0.996±0.017 dC	2.204±0.037 aA

3 讨论与结论

通过对东北红豆杉 SO₂ 胁迫生理响应研究表明，SO₂ 胁迫对叶片膜质过氧化、保护酶活性和物质代谢方

2.3 不同浓度 SO₂ 胁迫对叶片脯氨酸和可溶性蛋白质含量的影响

由表 3 可知，随 SO₂ 胁迫浓度的升高，东北红豆杉叶片脯氨酸含量迅速增加，除 A₁ 增加 60.63%外，其它各处理比对照分别增加了 136.98%、163.17%和 222.70%。各处理与对照均达到极显著差异水平($P<0.01$)，表明在 SO₂ 逆境胁迫下，东北红豆杉可通过积累脯氨酸调节细胞内膨压提高抗性。叶片中可溶性蛋白质含量增加呈先升后降又上升的趋势，表明在 A₃ 处理胁迫下，东北红豆杉自身的蛋白质受到严重破坏，但通过自身的调节适应了胁迫环境，产生了抗逆蛋白，提高了抗性。方差分析表明，A₁、A₂ 与对照无显著差异，A₃、A₄ 处理与对照达极显著差异($P<0.01$)。

表 3 不同浓度 SO₂ 处理东北红豆杉叶片脯氨酸和可溶性蛋白质含量 mg/g

处理	脯氨酸含量	可溶性蛋白质含量
CK	0.126±0.006 dD	3.778±0.072 bB
A ₁	0.202±0.008 cC	4.031±0.106 bB
A ₂	0.299±0.028 bB	5.221±0.221 bB
A ₃	0.332±0.016 bB	4.050±0.117 aA
A ₄	0.407±0.010 aA	5.259±0.072 aA

2.4 不同浓度 SO₂ 胁迫对叶片叶绿素含量的影响

由表 4 可知，随 SO₂ 胁迫浓度的升高，叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量均呈降低趋势，而叶绿素 a/b 比值随处理浓度的增加呈现先上升后下降的趋势，表明不同浓度 SO₂ 处理，叶绿素 a、叶绿素 b 分解速率有差异。方差分析表明，叶绿素 a 含量 A₁ 与对照无显著差异，A₂、A₃、A₄ 与对照达极显著差异($P<0.01$)，叶绿素 b 含量 A₁ 与对照无显著差异，A₂ 与对照达显著差异($P<0.05$)，A₃、A₄ 与对照达极显著差异($P<0.01$)，总叶绿素含量 A₁ 与对照无显著差异，A₂、A₃、A₄ 与对照达极显著差异($P<0.01$)，叶绿素 a/b 各处理与对照均无显著差异。

面都产生影响。随着 SO₂ 胁迫浓度的增加，东北红豆杉叶片的细胞膜透性和膜质过氧化主要产物 MDA 含量均显著增加，说明 SO₂ 胁迫条件下，可引起膜质过氧化加

剧, 细胞膜透性上升, 细胞内电解质外渗, 与李彦慧等^[1]对 4 种李属彩叶树木对 SO₂ 的抗性的研究结论一致。在 SO₂ 胁迫下, 东北红豆杉叶片抗氧化酶活性除 POD 活性在 A₄ 处理下增幅较小外, 总体呈上升趋势。抗氧化酶有利于维持植株体内活性氧的生成与猝灭的动态平衡, 酶活性的增长对清除植株体内过量的活性氧、阻止膜质过氧化进程有重要作用, 减轻 SO₂ 对细胞的伤害。该试验中 3 种抗氧化酶活性均没有出现下降趋势, 说明东北红豆杉是抗性较强的树种之一。东北红豆杉叶片脯氨酸含量随 SO₂ 胁迫浓度的升高而增加迅速, A₄ 处理比对照增加了 222.70%, 这与脯氨酸在一定程度上可调节和维持细胞原生质与外界环境之间的平衡, 提高植株对逆境的适应能力的研究结果是一致的^[2]。叶片中可溶性蛋白质含量增加呈先升后降又上升的趋势, 表明在 A₃ 处理胁迫下, SO₂ 可能改变东北红豆杉的基因表达, 诱导产生抗逆蛋白, 抑制原来正常蛋白质的合成, 同时诱导形成新的蛋白质^[3], 从而使东北红豆杉迅速适应胁迫环境, 提高生存能力。但该结论与刘清丽的研究结果相反, 可能是植物间差异所致^[12]。东北红豆杉叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量随浓度增加均比对照显著降低, 叶绿素 a/b 比值随处理浓度的增加呈现先上升后下降的趋势, 叶片光合起主要作用的叶绿素 a 含量减少, 起辅助与保护作用的叶绿素 b 含量增高, 加剧了对叶绿素 a 的破坏, 与刘荣坤^[14]的 SO₂ 对植物光合色素的伤害机理的研究结果是一致的。

综上所述, 不同 SO₂ 浓度处理对东北红豆杉造成了氧化胁迫, 但东北红豆杉能通过自身的调节能力, 提高对 SO₂ 的抗性, 是抗性较强的树种之一。树木的抗性机理很复杂, 测定生理指标只能为树种对 SO₂ 抗性大小的

判断提供参考, 还要结合形态指标和抗性基因等进行全面深入的研究。这对弄清东北红豆杉的抗性机理, 提高植物的抗性具有重要的现实意义。

参考文献

- [1] 王际振, 刘亚琼, 杨兵, 等. 紫薇对 SO₂ 胁迫的生理反应[J]. 河南农业大学学报, 2009, 43(6): 615-619.
- [2] 鲁敏, 王仁卿. 绿化植物受大气 SO₂、铅复合污染伤害特征及抗性表现[J]. 山东大学学报: 理学版, 2004, 39(5): 116-121.
- [3] 曹振岭, 李森, 任玉娜, 等. 园林绿化的优良树种东北红豆杉的特征特性与繁殖技术[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(30): 9585-9586.
- [4] 程广有, 唐晓杰, 高红兵. 东北红豆杉种子休眠机理与解除技术探讨[J]. 北京林业大学学报, 2004, 26(1): 5-10.
- [5] 刘铁燕, 刘昀, 赵彩凤等. 东北红豆杉愈伤组织诱导及组织培养[J]. 东北师大学报自然科学版, 2002, 34(2): 67-71.
- [6] 周志强, 刘彤, 李云灵. 立地条件差异对天然东北红豆杉(*Taxus cuspidata*)种间竞争的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2223-2229.
- [7] 刘彤, 李云灵, 周志强, 等. 天然东北红豆杉(*Taxus cuspidata*)种内和种间竞争[J]. 生态学报, 2007, 27(3): 924-929.
- [8] 程广有, 高峰, 葛春华, 等. 中国境内东北红豆杉天然群体紫杉醇含量变异规律[J]. 北京林业大学学报, 2005, 27(4): 7-11.
- [9] 李合生, 孙群, 赵世杰. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [10] 康敏明, 陈红跃. 几种鉴定植物大气污染能力指标的介绍[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(2): 349-353.
- [11] 李彦慧, 李向应, 白瑞琴, 等. 4 种李属彩叶树木对 SO₂ 的抗性[J]. 林业科学, 2008, 44(2): 28-33.
- [12] 刘清丽. 植物对 SO₂ 的伤害反应及生化抗性研究[D]. 太谷: 山西农业大学, 2003.
- [13] 钱永常, 徐叔文. 大豆适应 SO₂ 过程出现的 15KD 蛋白[J]. 植物生理学报, 1991, 17(4): 365-372.
- [14] 刘荣坤. 二氧化硫对植物光合色素的伤害机理[J]. 生态学进展, 1989, 6(2): 102-109.

Physiological Responses of *Taxus cuspidate* to Sulfur Dioxide Stress

LI Jin-yu, ZHOU Guang-zhu, ZHANG Lu, LI Kun-peng

(College of Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866)

Abstract: Three-year-old potted samples of *Taxus cuspidate* were treated with different concentrations of sulfur dioxide in a closed fumigation equipment, the changes in activities of SOD, POD and CAT, membrane permeability and contents of MDA, proline, soluble proteins and chlorophyll were measured. The results showed that membrane permeability, the contents of MDA and proline increased, while soluble protein content increased and then decreased and increased again and the contents of chlorophyll-a, chlorophyll-b and total chlorophyll decreased with the increment of sulfur dioxide concentration compared with the control level and the ratio chlorophyll-a/b first increased and then decreased. The SOD, POD and CAT activity of the samples all showed an upward trend, but the activity of POD hardly increased at the concentration of 21 mg/m³. Oxidative stress on *Taxus cuspidata* was caused by different sulfur dioxide concentrations after being treated. However, through its regulation of *Taxus cuspidata*, it could increase the resistance to sulfur dioxide and it was one of tree species of the strongest resistance to sulfur dioxide.

Key words: *Taxus cuspidate*; sulfur dioxide stress; physiological responses