

干旱胁迫对梨属 4 个重要种幼苗膜脂过氧化 和抗氧化酶活性的影响

李迎春¹, 樊卫国², 陈双林¹

(1. 中国林业科学研究院 亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400; 2. 贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 以梨属 *Pyrus* 的杜梨 *P. betulaefolia*, 砂梨 *P. pyrifolia*, 川梨 *P. pashia* 和滇梨 *P. pseudopashia* 等 4 个种 1 年生实生苗为材料, 进行人工干旱处理, 研究土壤干旱胁迫对梨属 4 个重要种幼苗膜脂过氧化和抗氧化酶活性的影响。结果表明: 随着水分胁迫的加重, 4 个种幼苗叶片中的丙二醛质量摩尔浓度呈现先降低后升高的趋势; 膜伤害度以砂梨最大, 重度胁迫时为 35.91%, 滇梨和川梨分别为 10.72% 和 10.34%, 杜梨为 8.00%; 叶片中超氧化物歧化酶(SOD)活性, 砂梨呈降低趋势, 而其他 3 个种均先升高后降低。4 个种的过氧化物酶(POD)活性和过氧化氢酶(CAT)活性一直降低。轻度干旱胁迫期, 保护酶活性具有明显的适应性反应; 随着干旱胁迫程度的加剧, 梨属 4 个种叶片中 SOD, POD 和 CAT 活性变化幅度不同, 说明 4 个种在清除活性氧以避免自由基对机体的伤害能力不同, 其中杜梨最强, 滇梨、川梨次之, 砂梨最弱。图 3 表 1 参 19

关键词: 植物生理学; 干旱胁迫; 梨属植物; 膜脂过氧化; 抗氧化酶

中图分类号: Q945.17; S661.2 文献标志码: A 文章编号: 1000-5692(2008)04-0437-05

Soil drought stress on membrane-lipid peroxidation and antioxidant enzymes in pear rootstock

LI Ying-chun¹, FAN Wei-guo², CHEN Shuang-lin¹

(1. Research Institute of Subtropical of Forestry, The Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, Zhejiang, China; 2. Agricultural College, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China)

Abstract: In order to breed drought-tolerant cultivars of pear, the effect of drought stress on membrane permeability and antioxidant enzyme systems the four one-year-old *Pyrus* (pear) species of (*P. betulaefolia*, *P. pyrifolia*, *P. pashia*, and *P. pseudopashia*) grown in pot, were studied in the Karst Fruit Tree Research Institute of Guizhou University, from 2003 to 2005. Four treatments were set, including the control: the soil relative water content(SRWC) is (65.0 ±5.0)%, light stress: the SRWC is (50.0 ±5.0)%, moderate stress: the SRWC is (40.0 ±5.0)%, severe stress: the SRWC is (32.5 ±5.0)%, with three replication. Results showed that malondialdehyde(MDA) content significantly decreased ($P < 0.01$) with light stress for *P. pyrifolia*, but significantly increased ($P < 0.01$) with moderate and severe stress for all species. With severe drought stress, damage to the membrane structure of *P. pyrifolia* was greater than the other three species. Damage for *P. pyrifolia* was 35.91%, while *P. pseudopashia* was 10.72%, *P. pashia* was 10.34% and *P. betulaefolia* was 8.00%. Superoxide dismutase(SOD) activities of *P. pyrifolia* decreased, while the other three species first increased with light stress and then decreased with moderate and severe stress. Peroxidase (POD) and catalase(CAT) activities decreased for the four species. With drought stress and elimination of oxygen free radicals, the four *Pyrus* species avoided injury in the following order: *P. pyrifolia* > *P. pseudopashia* > *P. pashia* > *P. betulaefolia*. [Ch, 3 fig. 1 tab. 19 ref.]

收稿日期: 2007-07-18; 修回日期: 2007-10-23

基金项目: 贵州省教育厅自然科学基金资助项目(95099D-37)

作者简介: 李迎春, 助理研究员, 硕士, 从事植物生理生态研究。E-mail: yingchunli001@126.com

Key words: plant physiology; drought stress; *Pyrus* spp. (pear); membrane-lipid peroxidation; antioxidant enzymes

植物遭受干旱等逆境时, 体内活性氧产生与清除的代谢系统失调, 导致活性氧过量积累从而对植物造成伤害。在逆境条件下的膜脂过氧化反应和保护酶系统保护超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸氧化酶(APX)等活性的变化, 已广泛用于植物对逆境反应机制的研究^[1]。许多研究表明^[2-5], 干旱诱导的膜脂过氧化是造成植物细胞膜受到损伤的关键因素, 而膜伤害是导致植物组织伤害和衰老的重要诱导因子, 但植物在干旱胁迫时可以动员保护酶系统来有效地防御和清除自由基, 保护细胞免遭氧化伤害, 龙眼 *Dimocarpus longana*^[5], 苹果 *Malus* spp.^[6], 沙棘 *Hippophae rhamnoides*^[7]等方面的工作均证明保护酶活性与植物的耐旱性有一定的关系, 但有关梨属 *Pyrus* 植物耐旱性与抗氧化能力间关系的研究报道甚少。本试验研究了土壤干旱胁迫对梨属 4 个重要种幼苗叶片内丙二醛(MDA)质量摩尔浓度、脂膜透性和保护酶(SOD, POD, CAT)活性的影响, 旨在探讨干旱胁迫下梨属植物的保护酶体系反应, 可以从深层次把握其适应干旱的部分机制和策略, 从而为梨属植物抗旱育种和抗旱栽培提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验于 2003 - 2005 年在贵州大学喀斯特山地果树资源研究所进行。试验材料为我国特有的梨属 4 个种: 川梨 *Pyrus pashia*, 滇梨 *P. pseudopashia*, 砂梨 *P. pyrifolia* 和 杜梨 *P. betulaefolia* 的 1 年生幼苗。川梨、滇梨和砂梨种源来自于贵州省黔西南海拔 1 200 m 的喀斯特山地野生树, 杜梨种源来自于中国农业科学院郑州果树研究所。分别于 2003 和 2004 年春育苗, 幼苗移植入盆中正常灌水, 生长 60 d 后, 选取生长正常、大小一致的幼苗, 进行干旱胁迫处理。试验所用土壤为黄壤。

1.2 方 法

1.2.1 干旱胁迫采用盆栽人工控水方法^[8] 用 30 L 的黑色塑料桶盆栽, 每桶装土 18 kg, 每桶栽植 6 株。盆栽前测定盆栽土壤饱和和持水量为 46.7%。分别于 2004 年和 2005 年 7 月将上述盆栽好的试验材料移至通风遮雨的塑料棚内, 充分浇透后停止供水, 进行干旱处理。试验设轻度、中度、重度干旱胁迫和对照共 4 个处理: 轻度干旱胁迫土壤相对含水量(SRWC)为(50.0 ± 5.0)%; 中度干旱胁迫为 SRWC(40.0 ± 5.0)%; 重度干旱胁迫 SRWC 为(32.5 ± 5.0)%; 对照 SRWC 为(65.0 ± 5.0)%。当停止供水的试材盆栽土壤分别达到重度、中度和轻度干旱胁迫的相对含水量范围值时, 采集不同处理的盆栽苗基部以上第 6 片叶, 测定有关的生理生化指标。每处理 3 桶, 重复 3 次。试验期间的空气相对湿度为 81% ~ 89%, 气温为 22 ~ 31 ℃。土壤相对含水量(SRWC)以土壤含水量占最大持水量的百分数表示。

1.2.2 土壤含水量的测定 用烘干法测定^[9]。

1.2.3 叶片细胞质膜相对透性的测定 用电导法测定^[10], 用 DDS-11C 型电导仪测电导值。细胞质膜相对透性(%) = (S_i/S₂) × 100, 其中 S_i 为处理电导率, S₂ 为煮沸电导率。膜伤害度(%) = (S - S_k)/(1 - S_k) × 100, 其中, S_i 为干旱处理植株叶片的细胞质膜相对透性; S_k 为对照的细胞质膜相对透性。

1.2.4 SOD 活性测定 用氮蓝四唑(NBT)法^[11]测定。SOD 活性(kat·g⁻¹) = [(A_{ck} - A_E) × V]/(A_{ck} × 1/2 × W × V_t × 6 × 10⁷)。其中, A_{ck} 为光照对照管的光吸收值, A_E 为样品管的光吸收值, V 为样品酶液总体积(mL), W 为样品干质量(g), V_t 为测定时样品酶液用量(mL)。

1.2.5 POD 和 CAT 活性测定 参照文献[11]的方法测定。POD 活性(kat·g⁻¹) = (A₄₇₀ × V)/(W × V_t × t × 6 × 10⁷); CAT 活性(kat·g⁻¹) = (A₂₄₀ × V)/(W × V_t × t × 6 × 10⁷)。其中, A₄₇₀ 和 A₂₄₀ 分别是样品酶液在 470 nm 和 240 nm 波长下吸光度变化值, t 为测定的总的时间。

1.2.6 MDA 质量摩尔浓度测定 用硫代巴比妥酸法^[11]测定。MDA 质量摩尔浓度(μmol·g⁻¹) = [6.45 (D_{光密度 532} - D_{光密度 600}) - 0.56D_{光密度 450}] × V/W。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 统计分析软件进行处理

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下叶片膜脂过氧化作用

由表 1 可知, 轻度胁迫下, 砂梨叶片细胞质膜相对透性极显著增加, 杜梨、川梨和滇梨增加未达显著水平。随着干旱程度的加剧, 4 个种叶片质膜相对透性均极显著增加, 但 4 个种增加幅度不同。重度胁迫下, 4 个种的叶片质膜相对透性增幅较大, 其中砂梨最大(198.95%), 滇梨(50.51%)和川梨(49.11%)次之, 杜梨(46.56%)最小。轻度胁迫条件下, 砂梨叶片的质膜伤害度最大(1.71%), 比最低的杜梨(0.48%)高 3.56 倍, 比滇梨(0.64%)和川梨(0.64%)高 2.7 倍。随着干旱胁迫程度的加剧, 4 个种的叶片质膜伤害度均极显著增加, 增加的幅度为砂梨 > 川梨、滇梨 > 杜梨。

叶片中丙二醛质量摩尔浓度是表征细胞膜的脂质过氧化水平的重要指标, 丙二醛增加说明细胞膜脂过氧化作用增强。轻度干旱胁迫下, 4 个种叶片丙二醛质量摩尔浓度均有所下降, 变化幅度为杜梨(3.22%) > 滇梨(2.23%)、川梨(2.21%) > 砂梨(1.40%); 中度和重度干旱胁迫下, 丙二醛质量摩尔浓度急剧增加, 增加的幅度为砂梨 > 滇梨、川梨 > 杜梨(表 1)。

2.2 干旱胁迫下梨属 4 个种叶片抗氧化保护酶活性变化

由图 1 可知, 随着干旱胁迫程度的增加, 川梨、滇梨和杜梨叶片中 SOD 活性变化趋势一致, 均为先升高后降低, 但变化的幅度不同, 轻度胁迫下, 叶片中 SOD 活性较对照升高的幅度大小为: 杜梨(19.64%) > 滇梨(8.73%) > 川梨(8.24%), 砂梨随着胁迫程度的加剧叶片中 SOD 活性逐渐降低。随着胁迫程度的加剧, 叶片中 SOD 活性下降的幅度增大。重度胁迫下, 4 个种的下降幅度依次为: 杜梨(55.73%) < 川梨(71.72%) < 滇梨(73.41%) < 砂梨(82.75%)。从上述分析可知, 杜梨在整个胁迫过程中保护酶活性变化幅度最小, 砂梨的最大, 滇梨和川梨居中。

不同程度干旱胁迫处理下, 4 个种叶片中的 POD 和 CAT 活性明显下降(图 2, 图 3)。轻度干旱下, 除杜梨叶片的 POD 活性与对照相比差异不显著, 川梨、滇梨和砂梨分别较对照显著降低。中度和重度干旱胁迫下, 4 个种叶片中 POD 和 CAT 活性均急剧下降, 下降幅度总体上为: 砂梨 > 川梨、滇梨 > 杜梨。

3 讨论

研究表明^[12, 13], 当植物处于逆境条件(如高光强、干旱、盐渍、高温和冷冻等), 质膜受到不同程

表 1 不同程度干旱胁迫下梨属 4 个种叶片丙二醛质量摩尔浓度和质膜相对透性的变化

Table 1 Changes of MDA content, relative membrane permeability and harm extent in leaves of four *Pyrus* species under drought stress

植物	干旱处理	质膜相对透性/%	伤害度/%	丙二醛/($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)
杜梨	轻度	15.08 cC	0.48 cC	4.81 cC
	中度	18.92 bB	4.98 bB	5.79 bB
	重度	21.50 aA	8.00 aA	6.43 aA
	对照	14.67 cC		4.97 cC
川梨	轻度	17.91 cC	0.63 cC	6.13 dD
	中度	23.42 bB	7.30 bB	7.61 bB
	重度	25.93 aA	10.34 aA	8.50 aA
	对照	17.39 cC		6.35 cC
滇梨	轻度	18.03 cC	0.64 cC	6.21 dD
	中度	23.58 bB	7.37 bB	7.79 bB
	重度	26.34 aA	10.72 aA	8.71 aA
	对照	17.50 cC		6.35 cC
砂梨	轻度	16.74 cC	1.71 cC	7.04 dD
	中度	32.33 bB	20.12 bB	9.32 bB
	重度	45.71 aA	35.91 aA	9.92 aA
	对照	15.29 dD		7.14 cC

说明: 多重比较采用新复极差测验, 同一列后标记不同小写字母, 表示达到 0.05 水平显著差异; 标记不同大写字母, 表示达到 0.01 水平显著差异。

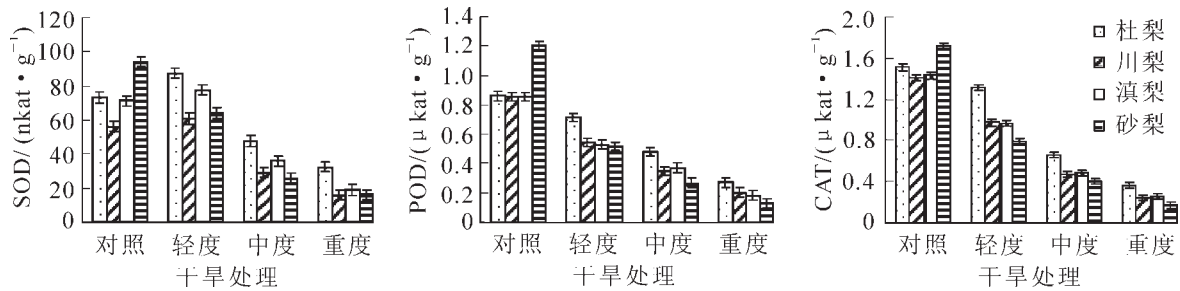


图1 干旱胁迫下梨属4个种叶片SOD活性的变化

Figure 1 Changes of SOD activity in leaves of four *Pyrus* species under drought stress

图2 干旱胁迫下梨属4个种叶片POD活性的变化

Figure 2 Changes of POD activity in leaves of four *Pyrus* species under drought stress

图3 干旱胁迫下4个种叶片CAT活性的变化

Figure 3 Changes of CAT activity in leaves of four *Pyrus* species under drought stress

度的破坏, 进而膜透性增大, 并会导致植物细胞内活性氧自由基产生和消除的平衡受到破坏而出现自由基积累, 由此引发或加剧了细胞的膜脂过氧化。丙二醛是膜脂过氧化作用的主要产物之一, 具有很强的细胞毒性, 因此, 丙二醛含量高低是反映细胞膜脂过氧化作用强弱和质膜破坏程度的重要指标。本实验轻度干旱胁迫下, 梨属4个种丙二醛质量摩尔浓度降低, 说明植株组织对这种损伤有一定的抵御能力。

在正常情况下, 植物体内活性氧产生与清除处于平衡状态, 不会导致细胞伤害, 氧自由基的清除剂可分为酶促和非酶促两大类, 其中酶促系统包括SOD, POD和CAT, 三者协同作用, 使植物自由基维持在低水平上, 从而防止自由基对植物的伤害^[14,15]。当植物受到胁迫时, 植物体内产生大量的氧自由基, 此时清除过剩自由基的保护酶系统的活性便会发生相应的变化。果树的抗旱性一般与酶促防御系统的各类酶的活性呈正相关, 特别是与SOD, POD和CAT的活性关系密切。在土壤干旱胁迫下, 抗旱性较强的果树品种细胞内这3种酶的活性下降的幅度低于抗旱性较差的果树品种, 抗氧化能力也强^[16-19]。因此, 抗氧化酶活性和丙二醛质量摩尔浓度可作为植物抗旱资源筛选和利用的依据。本研究中, 轻度干旱胁迫下, 杜梨、川梨和滇梨叶片SOD活性增强, 这可能是超氧自由基(O₂⁻)诱导, 使超氧化物歧化酶活性增强, 降低了植株体内超氧自由基的水平, 进而抑制细胞脂质过氧化。随着干旱程度的加剧, 植株体内保护酶的活力和平衡受到破坏, 使活性氧累积, 启动并加剧膜脂过氧化而造成整体膜的损伤。梨属4个种在避免自由基对机体的伤害, 清除活性氧能力上存在差异, 总体为: 杜梨 > 川梨、滇梨 > 砂梨。

参考文献:

- [1] BOWLER C, MONTAGU M V, INZE D. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. *Annu Rev Plant Mol Biol*, 1992, 43: 83 - 116.
- [2] 许成长. 膜脂与膜透性在干旱条件下的变化及其与抗旱性的关系[M]//赵可夫. 植物抗旱性生理研究. 济南: 山东科学技术出版社, 1991.
- [3] 刘世鹏, 刘济明, 陈宗礼, 等. 模拟干旱胁迫对枣树幼苗的抗氧化系统和渗透调节的影响[J]. *西北植物学报*, 2006, 26 (9): 1 781 - 1 787.
- [4] 张怡, 罗晓芳, 沈应柏. 土壤逐渐干旱过程中刺槐新品种苗木抗氧化系统的动态变化[J]. *浙江林学院学报*, 2005, 22 (2): 166 - 169.
- [5] 陈立松, 刘星辉. 水分胁迫下龙眼幼苗叶片膜脂过氧化及内源保护体系的影响[J]. *武汉植物学研究*, 1999, 17 (2): 105 - 109.
- [6] 曹慧, 韩振海, 许雪峰. 水分胁迫下苹果属植物叶片叶绿素降解的膜脂过氧化损伤作用[J]. *中国农业科学*, 2003, 36 (10): 1 191 - 1 195.
- [7] 韩蕊莲, 李丽霞, 梁宗锁. 干旱胁迫下沙棘叶片细胞膜透性与渗透调节物质研究[J]. *西北植物学报*, 2003, 23(1): 23 - 27.

- [8] 刘国琴, 何嵩涛, 樊卫国, 等. 土壤干旱胁迫对刺梨叶片矿质营养元素含量的影响[J]. 果树学报, 2003, 20 (2): 96 - 98.
- [9] 李酉开. 土壤农业化学常规分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1989: 56 - 297.
- [10] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2003: 25 - 44.
- [11] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002: 10 - 124.
- [12] 蒲光兰, 袁大刚, 胡学华, 等. 土壤干旱胁迫对 3 个杏树品种生理生化特性的影响[J]. 浙江林学院学报, 2005, 22 (4): 375 - 379.
- [13] 杨方云, 魏朝富, 刘英. 干旱胁迫下甜橙叶片保护酶体系的变化研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12 (1): 119 - 124.
- [14] MISHRA N P, MISHRA R K, SINGHAL G S. Changes in the activities of antioxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors[J]. Plant Physiol, 1993, 102: 903 - 908.
- [15] 孙国荣, 彭永臻, 阎秀峰, 等. 干旱胁迫对白桦实生苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 林业科学, 2003, 39 (1): 165 - 167.
- [16] 王中英. 果树抗旱生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 36 - 169.
- [17] 胡学华, 肖千文, 蒲光兰, 等. 经济树木抗旱研究进展[J]. 经济林研究, 2004, 22 (4): 82 - 86.
- [18] 谢寅峰, 沈惠娟. 水分胁迫下 3 种针叶树幼苗抗旱性与硝酸还原酶和超氧化物歧化酶活性的关系[J]. 浙江林学院学报, 2000, 17 (1): 24 - 27.
- [19] 彭立新, 束怀瑞, 李德全. 水分胁迫对苹果属植物抗氧化酶活性的影响研究[J]. 中国生态农业学报, 2004, 12 (3): 44 - 46.

大力推动木材加工产业科技创新

2008 年 5 月 27 日, 浙江省木材加工产业科技创新服务平台第 4 届理事会在浙江省林产品监测站召开。会议由浙江省林产品监测站站长江波主持。浙江林学院副校长、浙江省木材加工产业科技创新服务平台理事长鲍滨福, 浙江省科技厅条财处张建荣处长, 浙江省林业厅产业办朱云杰处长等参加了会议。参加会议的还有浙江林学院及浙江省林产品监测站的教授、专家及木竹企业的 40 多名代表。

张建荣和朱云杰肯定了平台成立一年来取得的成绩, 并指出: 目前木产业资源压缩, 市场竞争力增加, 要求平台要做到技术创新、管理创新, 引导木业加工企业发挥更大的作用, 为企业服务。浙江林学院工程学院院长刘志坤教授在会上围绕“发挥平台优势, 推动科技创新, 服务地方经济”作了主题发言, 马灵飞教授就平台开展的科研项目及取得的成绩向大会作了汇报, 温州分平台和江山分平台的领导也在会上就平台的工作作了汇报发言。

会议期间, 浙江省林业厅厅长楼国华看望了与会代表。

楼永生