

干旱胁迫对冷蒿保护酶活性及膜脂过氧化作用的影响

吴建华^{1,2}, 张汝民¹, 高岩^{1,2}

(1. 浙江林学院 林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300; 2. 内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古 呼和浩特 010019)

摘要: 为了探讨冷蒿 *Artemisia frigida* 对干旱胁迫的适应机制, 以盆栽天然草场冷蒿为材料, 采用自然干旱胁迫处理测定了冷蒿叶片和土壤相对含水量, 叶片膜透性和丙二醛(MDA)质量摩尔浓度以及保护酶活性。结果表明: 在干旱胁迫初期(0~8 d, 土壤含水量大于6.5%), 冷蒿叶片失水较少, 超氧化物歧化酶(SOD)活性表现出先升高后降低的变化趋势, 过氧化氢酶(CAT)活性表现出先降低后升高的变化趋势, 丙二醛保持在稳定水平, 膜系统受到的伤害较小; 随着干旱胁迫时间和程度的加强, 超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶(POD)酶活性都有不同程度的降低, 丙二醛开始大量积累, 膜系统受到严重伤害; 至第12天, 土壤含水量下降至2.7%, 冷蒿叶片全部永久性萎蔫。在干旱胁迫下超氧化物歧化酶和过氧化氢酶在活性氧清除过程中起着重要作用。图5参13

关键词: 植物生理学; 冷蒿; 干旱胁迫; 保护酶活性; 膜脂过氧化

中图分类号: Q945.78; S718.3

文献标志码: A

文章编号: 1000-5692(2010)03-0329-05

Membrane lipid peroxidation and protective enzyme systems with drought stressed *Artemisia frigida* leaves

WU Jian-hua^{1,2}, ZHANG Ru-min¹, GAO Yan^{1,2}

(1. School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, Inner Mongolia, China)

Abstract: In order to explore adaptive mechanisms of *Artemisia frigida* in an arid grassland, water content, cell membrane permeability, malondialdehyde(MDA) content, and protective enzyme activities for a pot culture were studied using natural arid processing with soil relative water content being determined. Results showed that the leaves of *A. frigida* had low water loss, superoxide dismutase (SOD) activity first increased and then decreased, catalase (CAT) activity first decreased and later increased, MDA content was steady, and in the early stage of drought stress (0–8 d after not watering, with soil water content > 6.5%) membrane system damage was slight. With increasing time and drought stress, SOD, CAT, and peroxidase (POD) activity decreased, MDA increased, and membrane systems were seriously hurt. To the twelfth day with soil water content being 2.7%, all leaves permanently wilted. Thus, with drought stress, SOD and CAT played an important role in cleansing reactive oxygen. [Ch, 5 fig. 13 ref.]

Key words: plant physiology; *Artemisia frigida*; drought stress; protective enzyme activity; membrane lipid peroxidation

随着气候干旱加剧, 环境干旱胁迫的影响越来越突出^[1], 现已成为影响植被恢复和农牧业可持续发展的关键问题。干旱胁迫条件下植物细胞内自由基产生和消除的平衡被打破, 从而出现自由基积累, 并由此引发或加剧细胞膜脂过氧化, 直接影响植物正常生长, 严重时导致植物死亡^[1]。在长期进

收稿日期: 2009-05-06; 修回日期: 2009-10-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30760193); 内蒙古农业大学博士基金资助项目(BJ05-09)

作者简介: 吴建华, 从事植物逆境生理研究。E-mail: wujianhua00007@163.com。通信作者: 高岩, 教授, 博士, 从事植物逆境生理研究。E-mail: gaoyan1960@sohu.com

化过程中,植物为保护自身免受干旱胁迫伤害形成了相应的抗氧化保护酶系统,主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等^[2]。冷蒿 *Artemisia frigida* 是菊科 Asteraceae 蒿属 *Artemisia* 多年生草本植物,广布于草原带或荒漠草原带,多生长在沙质或沙砾质土壤上,是退化草原群落的主要建群种之一,也是其他草原群落的伴生植物或亚优势植物。它适应干旱气候和土壤的能力极强,在草原植被恢复和为牲畜提供优质牧草方面均占有重要地位。迄今为止,干旱胁迫下冷蒿体内保护酶活性与其抗旱性关系的研究还未见报道。为此,本研究采用盆栽方法,通过自然干旱胁迫处理,测定冷蒿叶片丙二醛(MDA)质量摩尔浓度、质膜透性和保护酶活性,揭示干旱胁迫对冷蒿叶片膜脂过氧化作用的影响以及冷蒿保护酶系统与抗旱性的关系,为冷蒿抗旱机制研究提供理论依据。

1 实验材料与方法

1.1 材料

冷蒿于2006年9月采自内蒙古呼和浩特市武川县南段,将采集的野生冷蒿移栽于内蒙古农业大学试验田中进行恢复培养,2007年4月选取株型一致的冷蒿移植于盛有砂质土壤的花盆中(直径35 cm),在室外自然光下培养。待盆栽苗长势恢复后用于实验。

1.2 方法

干旱胁迫处理:选择长势良好(株高为20~30 cm,营养枝15条以上)的冷蒿20盆转移到室内光照充足良好处,其中10盆停止浇水进行自然干旱处理,另外10盆正常浇水为对照。停止浇水后,每隔2 d进行1次取样测定,直至冷蒿干枯死亡。各次取样在9:00-9:30进行,选取冷蒿营养枝茎尖向下的第5~10片叶,各个处理各项指标测定时分别在3个盆中取样,重复测定3次。

土壤含水量的测定采用烘干称量法;质膜透性采用DDS-11A电导仪测定;丙二醛质量摩尔浓度(硫化巴比妥酸TBA法)、超氧化物歧化酶活性(氮蓝四唑NBT光还原法)、过氧化物酶活性(愈创木酚法)和过氧化氢酶活性(紫外吸收法)测定参照张治安等^[3]的方法。

1.3 数据处理

采用SAS软件对实验数据进行单因素方差分析,采用Excel进行绘图。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下土壤含水量的变化

图1表明,随着干旱胁迫时间的延长,盆栽冷蒿土壤含水量逐步降低,胁迫前土壤含水量为12.3%,胁迫第12天土壤含水量降低到2.7%,平均下降 $0.8\% \cdot d^{-1}$ 。

2.2 干旱胁迫下冷蒿叶片相对含水量变化

在干旱胁迫前8 d,冷蒿叶片相对含水量(relative water content, RWC)下降趋势缓慢,与对照相比,处理组叶片相对含水量仅降低了9.6%(图2),继续胁迫冷蒿叶片相对含水量呈现出迅速下降趋势,干旱胁迫到第12天时,冷蒿叶片相对含水量降低到29.7%,是对照冷蒿叶片相对含水量的

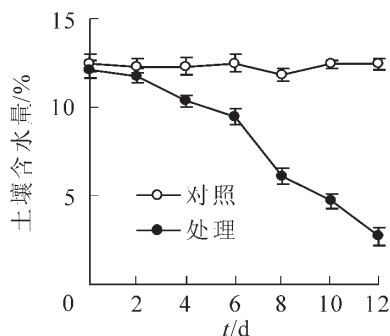


图1 盆栽冷蒿土壤含水量变化

Figure 1 Changes of soil moisture content

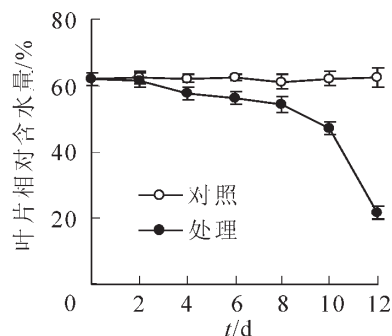


图2 冷蒿叶片相对含水量的变化

Figure 2 Changes of RWC of leaf for *A. frigida* during drought stress

58.6%，这时冷蒿叶片出现永久萎焉。

2.3 干旱胁迫对冷蒿膜透性的影响

随着干旱胁迫天数的增加，冷蒿叶片相对电导率呈递增趋势(图 3)，胁迫前 8 d 冷蒿叶片相对电导率增幅较小，与对照相比无显著差异($P>0.05$)。干旱胁迫处理 8 d 以后，冷蒿叶片相对电导率增幅明显，与对照相比差异极显著($P<0.01$)。干旱胁迫第 12 天时，处理组相对电导率为 36.0%，较对照增加了 1.6 倍。

2.4 干旱胁迫对冷蒿叶片丙二醛质量摩尔浓度的影响

图 4 表明，随着干旱胁迫天数的增加，冷蒿叶片丙二醛质量摩尔浓度呈现递增趋势。在干旱胁迫 0~8 d，冷蒿叶片丙二醛增幅较小，在胁迫 8~12 d，丙二醛明显增加。干旱胁迫 8 d 时，冷蒿叶片丙二醛质量摩尔浓度为 $14.4 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ，较对照相比增加了 35.0%。干旱胁迫 12 d 时，冷蒿叶片丙二醛质量摩尔浓度为 $27.5 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ，与对照相比增加了 164.0%。方差分析表明，在干旱胁迫到 12 d 时，冷蒿叶片丙二醛质量摩尔浓度与对照相比差异极显著($P<0.01$)。

2.5 干旱胁迫对冷蒿叶片保护酶活性的影响

图 5 表明，在干旱胁迫 0~6 d 期间，冷蒿叶片过氧化氢酶活性变化呈下降趋势。第 6 天时，冷蒿叶片过氧化氢酶活性较对照降低了 40.0%，与对照相比差异极显著($P<0.01$)；在胁迫 6~8 d 期间，冷蒿叶片过氧化氢酶活性变化呈上升趋势，干旱胁迫第 8 天时，过氧化氢酶活性升高并且接近对照水平；随后冷蒿叶片过氧化氢酶活性变化呈迅速下降趋势，干旱胁迫到第 12 天时，较对照下降了 91.0%。在干旱初期，冷蒿叶片超氧化物歧化酶活性逐渐增加，胁迫第 4 天，超氧化物歧化酶活性达到峰值，较对照增加了 88.0%($P<0.01$)；随后，冷蒿叶片超氧化物歧化酶活性变化呈下降趋势，干旱胁迫到 12 d 时，超氧化物歧化酶活性与对照相比下降 79.0%($P<0.01$)。在干旱胁迫过程中，过

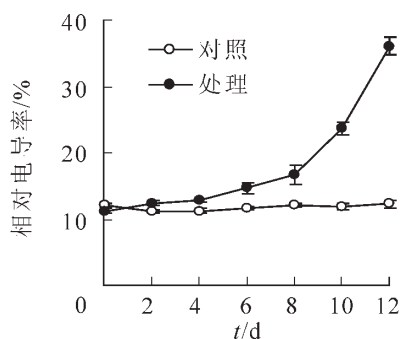


图 3 冷蒿叶片质膜透性的变化

Figure 3 Effects of drought stress on relative conductivity rate of leaves for *Artemisia frigida*

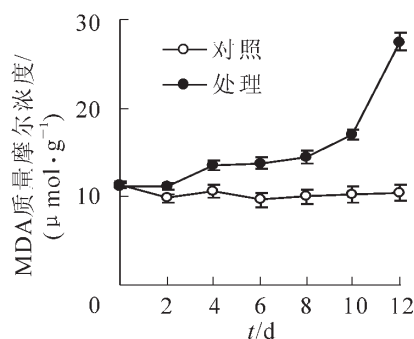


图 4 干旱胁迫对冷蒿叶片丙二醛质量摩尔浓度的影响

Figure 4 Effects of drought stress on content of MDA of leaves for *A. frigida*

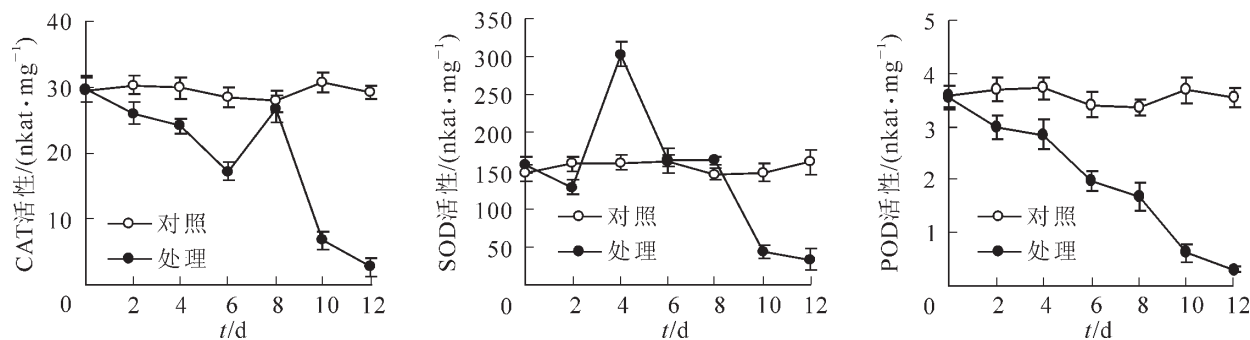


图 5 干旱胁迫对冷蒿叶片过氧化氢酶、超氧化物歧化酶和过氧化物酶活性的影响

Figure 5 Effect of drought stress on CAT, SOD and POD activity of leaves for *A. frigida*

氧化物酶活性变化呈逐渐下降趋势,胁迫到12 d时,过氧化物酶活性较对照下降91.0% ($P < 0.01$)。

3 讨论

自生物自由基伤害学说提出以来,普遍认为超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶作为保护酶系统,在防御活性氧自由基对细胞膜系统的伤害,植物抗旱能力形成中的作用越来越受到人们重视^[4-6]。作为保护酶,超氧化物歧化酶催化 O_2^- 生成过氧化氢和氧气;过氧化氢酶则具有分解过氧化氢的作用,与超氧化物歧化酶协同作用,可以最大限度地减少羟自由基($\cdot OH$)的形成;过氧化物酶在逆境胁迫下,可清除细胞内过氧化物。在玉米 *Zea mays*, 高粱 *Sorghum bicolor*, 向日葵 *Helianthus annuus* 等作物^[7-8]上的研究表明,干旱逆境胁迫诱导了超氧化物歧化酶活性的增强,在轻度和中度胁迫处理时,随着胁迫时间的延长,叶片超氧化物歧化酶活性迅速上升,而重度快速胁迫处理时,超氧化物歧化酶活性略有升高,然后又迅速下降;任迎虹^[9]对干旱胁迫下不同品种桑 *Morus alba* 研究表明,桑树保护酶活性随干旱胁迫加强而提高,抗旱性强的品种比抗旱性弱的品种酶活性增加幅度较大;王霞等^[10]比较8种怪柳 *Tamarix* spp. 在土壤水分胁迫条件下保护酶活性的变化,发现超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶活性在整个干旱处理过程中先上升而后下降。本研究表明,随干旱胁迫的加重,冷蒿叶片内超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性先后表现出不同的变化趋势。干旱胁迫到第4天,超氧化物歧化酶活性达到最高水平,随着干旱胁迫时间的延长,超氧化物歧化酶活性逐渐下降,到第8天,冷蒿叶片内过氧化氢酶活性反弹上升,这可能是由于超氧化物歧化酶在清除 O_2^- 的同时产生大量的过氧化氢,从而诱导过氧化氢酶活性升高。在干旱条件下能使保护酶活性维持在一个较高的水平,有利于清除自由基,降低膜脂过氧化水平,是冷蒿抗旱的生理基础之一。

在干旱胁迫下,细胞膜的结构、透性和功能发生改变,致使植物细胞受到伤害。Riesas等^[11]研究认为,丙二醛质量摩尔浓度高低和细胞膜透性变化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。干旱胁迫下植物体内活性氧增加,抗旱能力强的植物能够积极调整活性氧使其维持生理平衡,表现出一定的抗氧化能力,如果细胞没有能力清除超出的活性氧,将导致活性氧大量积累,从而引发膜脂过氧化,造成植物的氧化伤害^[12]。丙二醛具有强毒性,对膜和细胞中的许多生物功能分子(如蛋白质、核酸和酶等)均有很强的破坏作用,并参与破坏生物膜的结构与功能^[6]。时连辉等^[13]在研究桑树时认为,在水分胁迫下桑树叶片电导率增强,丙二醛增加,不同品种桑树细胞膜受到的伤害度有差异。从本研究结果可以表明,在干旱胁迫前期,土壤含水量在6.5%以上,冷蒿叶片膜系统基本未受到伤害;随着干旱胁迫的加强,膜系统开始受到伤害,干旱胁迫到第12天时,土壤含水量下降到2.7%,冷蒿叶片膜系统伤害较严重,全部产生永久萎蔫,表明此时的土壤含水量为冷蒿生存的临界值。

参考文献:

- [1] SCANDALIOS J G. Oxygen stress and superoxide dismutase [J]. *Plant Physiol*, 1993, **101**: 7 - 12.
- [2] BOWLER C, VAN M, INZC D. Superoxide dismutase and stress tolerance [J]. *Annu Rev Plant Mol Biol*, 1992, **43**: 83 - 116.
- [3] 张治安, 张美善, 蔚荣海. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 130 - 139.
- [4] 孙彩霞, 沈秀英, 刘志刚. 作物抗旱生理生化机制的研究现状和进展[J]. *杂粮作物*, 2002, **22** (5): 285 - 288.
SUN Caixia, SHEN Xiuying, LIU Zhigang. Status and advances in studies on the physiology and biochemistry mechanism of crop drought resistance [J]. *Rain Fed Crop*, 2002, **22** (5): 285 - 288.
- [5] FRIDOVICH I. Superoxide dismutase [J]. *Ann Rev Biochem*, 1995, **44**: 147 - 159.
- [6] 王爱国. 植物的氧代谢: 植物生理与分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 336 - 389.
- [7] 闫志利, 牛俊义, 席玲玲, 等. 水分条件对豌豆保护酶活性及膜脂过氧化的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2009, **17** (3): 554 - 559.
YAN Zhili, NIU Junyi, XI Lingling, et al. Effect of soil water on protective enzyme activity and membrane lipid peroxidation in pea [J]. *Chin J Eco-Agric*, 2009, **17** (3): 554 - 559.

- [8] 高岩, 刘果厚, 王均喜, 等. 渗透胁迫对绵刺(*Potania mongolica* Maxim.)嫩枝保护酶活性的影响[J]. 干旱区资源与环境, 1999, **13** (3): 89 – 93.
- GAO Yan, LIU Guohou, WANG Junxi, *et al.* Effect of osmotic stress on activities of protective enzymes of *Potania mongolica* Maxim [J]. *J Arid Land Resour Environ*, 1999, **13** (3): 89 – 93.
- [9] 任迎虹. 干旱胁迫对不同桑品种保护酶和桑树生理的影响研究[J]. 西南大学学报, 2009, **31** (4): 94 – 99.
- REN Yinghong. A research of the effects of drought stress upon protective enzyme activities and physiology of different mulberry varieties [J]. *J Southwest Univ*, 2009, **31** (4): 94 – 99.
- [10] 王霞, 侯平, 尹林克, 等. 土壤水分胁迫对柽柳体内膜保护酶及膜脂过氧化的影响[J]. 干旱地区研究, 2002, **19** (3): 17 – 20.
- WANG Xia, HOU Ping, YIN Linke, *et al.* Effect of soil moisture stress on the membrane protective enzyme and the membrane liquid peroxidation of *Tamarix* [J]. *Arid Zone Res*, 2002, **19** (3): 17 – 20.
- [11] RIESAS K, GIANOPELITIS C N. Superoxide dismutase occurrence in higher plants [J]. *Plant Physiol*, 1997, **59** (6): 309 – 314.
- [12] 韩刚, 党青, 赵忠. 干旱胁迫下沙生灌木花棒的抗氧化保护响应研究[J]. 西北植物学报, 2008, **28** (5): 1007 – 1013.
- HAN Gang, DANG Qing, ZHAO Zhong. Response of ntioxidation protection system of *Hedysarum scoparium* to drought stress [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2008, **28** (5): 1007 – 1013.
- [13] 时连辉, 牟志美, 姚健. 不同桑树品种在土壤水分胁迫下膜伤害和保护性酶活性变化[J]. 蚕业科学, 2005, **31** (3): 13 – 17.
- SHI Lianhui, MU Zhimei, YAO Jian. Cell membrane damage and change of protective enzymes' activity in different mulberry varieties under soil water stress [J]. *Acta Sericol Sin*, 2005, **31** (3): 13 – 17.

亚热带森林培育国家重点实验室培育基地

依托浙江林学院建立的“亚热带森林培育重点实验室”正式被科学技术部批准为省部共建亚热带森林培育国家重点实验室培育基地(简称省部共建实验室)。这是 2010 年浙江省高校唯一被批准为省部共同建设实施的国家重点实验室,同时也实现了中国林业系统国家级重点实验室建设零的突破,标志着浙江省亚热带森林培育研究已经达到国内领先水平。

林业在生态建设和应对气候变化中具有特殊地位,然而中国在此之前一直没有林科类国家重点实验室,与林业快速发展对高层次科技创新平台的需求不相适应。与此同时,浙江林学院森林培育实验室经过 50 多年的建设,已经成为浙江省重点实验室,经过长期的积累和发展,在竹林、经济林、生态公益林培育与森林资源利用等方面的研究取得了较大突破,取得了一大批研究成果,研究水平国内领先,部分研究成果已经达到或接近国际先进水平,为亚热带林业产业发展、生态建设和经济社会发展作出了巨大贡献,也为浙江省林业科技成果转化率和林业科技进步贡献率达到 60%、连续 7 年位居全国第一位起到了积极的作用。

根据规划,省部共建实验室将结合浙江的优势与特点,围绕林业产业体系和生态体系建设,搭建以森林培育理论研究为核心的多学科交叉共享的科研平台,集聚人才和优势资源,开展亚热带地区特色与优势树(竹)种的林木遗传基础与种质创新、竹子发育与栽培生理、经济林木发育与栽培生理、森林生态功能与区域生态安全等 4 个研究方向的森林培育理论与技术研究工作。省部共建实验室将立足浙江,面向亚热带,辐射全国,引领支撑现代林业可持续发展,为浙江省林业科研水平提高和人才培养创造良好的环境和平台,为浙江乃至全国林业的现代化宏观决策提供科学依据,成为林业科技原始创新基地、高素质人才培养基地和林业应用基础研究的主要基地。

省部共建实验室首任主任由方伟教授担任,学术委员会主任由中国工程院院士王明庥教授担任。