

外来入侵种飞机草在不同环境胁迫下 抗氧化酶系统的变化

鲁 萍^{1,2}, 桑卫国^{1,*}, 马克平¹

(1. 中国科学院植物研究所植被数量生态学重点实验室, 北京 100093; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:飞机草 (*Eupatorium odoratum*) 原产于中南美洲, 在我国最早发现于 1934 年, 目前已经分布到云南、海南、台湾、广东等省区, 是一种典型的外来入侵种。研究其在逆境条件下的生理适应机制对于有效治理该入侵种具有十分重要的意义。研究了其在不同环境胁迫条件(高温、低温和干旱)下抗氧化酶系统的变化。结果表明:超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)在 3 种环境胁迫下酶活性都升高;过氧化氢酶(CAT)在高温胁迫下升高,而在低温和干旱胁迫下酶活性降低;过氧化物酶(POD)和单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR)在高温和干旱胁迫下酶活性升高,而在低温胁迫下酶活性降低;谷胱甘肽还原酶(GR)在高温和干旱胁迫下酶活性升高,而在低温胁迫下保持不变。这些研究结果可能有助于寻找一条控制飞机草的新途径。

关键词:飞机草; 抗氧化酶; 入侵植物; 环境胁迫

文章编号:1000-0933(2006)11-3578-08 中图分类号:Q948 文献标识码:A

Activity of antioxidant enzymes in the invasive plant *Eupatorium odoratum* under various environmental stresses

LU Ping^{1,2}, SANG Wei-Guo^{1,*}, MA Ke-Ping¹ (1. Laboratory of Quantitative Vegetation Ecology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China). Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(11): 3578~3585.

Abstract: *Eupatorium odoratum*, native to the neotropics from the eastern USA to northern Argentina, has become a major invasive plant of crops, plantations, savannas and natural forests in many parts of the world. In China, *E. odoratum* was first recorded in the southern part of Yunnan Province in 1934. Since then, it has spread extremely rapidly, now it can be found in Yunnan, Guangdong, Guangxi, Hainan, Guizhou, Taiwan provinces, Macao and Hongkong cities, posing threat to local diversity and economics. It is extremely difficult to control or eradicate *E. odoratum*. Considerable effort is being put forward to find new and innovative methods for integrative management of this plant. Knowledge of the physiological response such as changes of activity of enzyme systems in stressful environments is very useful in determining the invasive mechanism of this plant, and consequently could be exploited in as yet unknown ways to devise comprehensive approaches to manage it. In this paper, the

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30470337);中国科学院知识创新工程重大资助项目(KSCX1-SW-13-03)

收稿日期:2006-07-26; **修订日期:**2006-09-10

作者简介:鲁萍(1977~),女,内蒙古呼伦贝尔市人,博士生,主要从事外来入侵种生理生态学研究。E-mail: lping1977@hotmail.com

致谢:中国科学院西双版纳热带植物园昆明分部的冯玉龙研究员、王俊峰硕士以及中国林业科学院林萍硕士在野外和室内实验中给与了的帮助,中国科学院植物研究所的魏伟副研究员、张守仁研究员以及中国科学院武汉植物园的丁建清研究员、任明迅助理研究员对论文的修改提出建议,谨此致谢。

*通讯作者 Corresponding author. E-mail: swg@ibcas.ac.cn

Foundation item: The project was financially supported by Knowledge Innovation Project of Chinese Academy of Sciences (No. KSCX1-SW-13-03), National Natural Science Foundation of China (No. 30470337)

Received date: 2006-07-26; **Accepted date:** 2006-09-10

Biography: LU Ping, Ph. D. candidate, mainly engaged in eco-physiology of invasive plant. E-mail: lping1977@hotmail.com

activities of antioxidant enzymes, which are crucial in plant's defense against stresses, were studied in *E. odoratum* under various environmental stresses. This information can improve our understanding of the physiological mechanisms of this plant's success as an invader, and may assist in the development of an effective management strategy of this plant. Stresses imposed on *E. odoratum* were heat, cold, drought. For the heat treatments, temperature was increased stepwise from 25 °C to 30, 35, 38 and finally to 42 °C. For the cold treatments, temperature was decreased stepwise from 25 °C to 20, 15, 10 and finally 5 °C. Plants were kept in the growth chambers for 24 h at each temperature step. For the drought treatments, the plants were deprived of water for 4 days. The three stresses induced oxidative damage as evidenced by an increase in lipid peroxidation. In *E. odoratum*, the lesser degree of membrane damage (as indicated by low MDA content) and the coordinated increase of the oxygen-detoxifying enzymes were observed in heat-treated plants. However, the activities of catalase (CAT), guaiacol peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) and monodehydroascorbate reductase (MDAR) were not accompanied with increased SOD during cold stress. This indicated that the plant has a higher capacity for scavenging oxygen radicals in heat stress than in cold stress. The activity of superoxide dismutase (SOD), APX and dehydroascorbate reductase (DHAR) increased in response to all stresses. CAT decreased in response to cold and drought but increased when exposed to heat. POD and MDAR activities increased in response to heat and drought but decreased in response to cold. GR activity increased in response to heat and drought, but was not significantly different from the controls in response to the cold stress. These results might help to devise innovative approaches to control the spread of this invasive plant.

Key words: *Eupatorium odoratum*; antioxidant enzymes; invasive plant; stress

飞机草 (*Eupatorium odoratum*) 原产于中南美洲,原产地从美国一直蔓延到南美洲的阿根廷^[1],是一种在世界范围内广泛分布的有害杂草。1934 年,飞机草在我国最早发现于云南南部^[2]和海南感恩县尖峰山^[3]。70 多年后的今天,飞机草除在云南和海南危害严重外,已经扩散到台湾、广东、香港、澳门、广西和贵州。飞机草侵犯各种牧草场以及橡胶林,危害多种作物^[2],给入侵地造成巨大的经济损失;飞机草可以分泌化感物质,抑制黄瓜、菠菜等农作物种子的萌发和生长^[4]。2003 年,飞机草被列入国家环保局和中国科学院公布的首批入侵种名单,位列第 7^[5]。

作为一种入侵性很强的外来物种,关于飞机草的研究无论在国外^[6~8],还是在国内^[9~11],都已经开展了很多,但到目前为止,对飞机草所采取的控制手段,包括人工、机械、化学、引进天敌、生物控制,效果都不理想。

许多学者正在致力于寻找一种全新的控制方法来实现对飞机草的成功管理。已经有许多研究表明,抗氧化酶系统是植物应对各种环境胁迫的一个重要抗逆机制,在植物适应逆境的过程中扮演重要角色^[12,13]。有研究表明植物体中清除活性氧的一些抗氧化酶活性随着胁迫程度的加剧而增强^[14]。而且,有报道指出臭氧、二氧化硫、紫外线(UV-B) 对于 *Nicotiana plumbaginifolia* 体内抗氧化基因 mRNA 水平具有相似的效应^[15]。值得注意的是,在分析 mRNA 的同时,酶活性的测定也同样重要,因为酶直接作用于生理过程^[16]。Kubo 等^[17]测定了拟南芥叶片在臭氧、二氧化硫胁迫环境下 7 种抗氧化酶活性的变化发现:抗坏血酸过氧化物酶 (Ascorbate peroxidase, APX) 和过氧化物酶 (Guaiacol peroxidase, POD) 的活性在这两种逆境中都呈上升趋势,说明 APX 和 POD 对拟南芥抵抗不良环境(在臭氧、二氧化硫的胁迫环境下)的影响具有重要作用。因此,如果飞机草在不同逆境条件下有一种或几种抗氧化酶活性的变化趋势相同,就有可能通过干扰其体内的抗氧化酶表达来削弱其对环境变化的抵抗能力,从而降低其竞争力。或许可以找到一种匹配的酶阻断剂来破坏飞机草的防御系统,从而达到有效控制飞机草的目的。本研究试图通过测定飞机草在高温、低温和干旱胁迫环境下 7 种抗氧化酶活性的测定来了解飞机草抗氧化酶系统在不同环境胁迫下的变化,是否存在相同的趋势。

1 材料和方法

1.1 材料培养和处理

1.1.1 材料培养 飞机草幼苗采自中国科学院西双版纳热带植物园,移栽于装有混合土(黄土:沙子:草炭土 = 1:1:1)的塑料花盆内(直径为 19 cm,高度为 16 cm),每盆 1 株。飞机草幼苗在实验温室中培养,白天和夜晚

的温度分别为:30 °C和 20 °C,温室内最大光照强度约为 $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 。每天浇水定期施肥,以保证植物在适宜的水分和养分条件下生长。经过 4 周,当幼苗长到 30~40 cm (四对叶)时,生长状况稳定,进行胁迫处理。

1.1.2 高温和低温处理 飞机草幼苗先放到培养箱(温度为 25 °C,相对湿度为 70 %,白天/黑夜交替时间为 12/12 h,白天的光照强度为 $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 中适应 1 周。一部分幼苗进行高温处理,将培养箱的温度从 25 °C 逐渐上升到 30, 35, 38, 42 °C,每一个温度处理时间为 24 h。与此同时,另一部分幼苗进行低温处理,将培养箱的温度从 25 °C 逐渐降低到 20, 15, 10, 5 °C,每一个温度处理时间为 24 h。温度升高或降低的变化速度为 1 °C/h。每一个处理都在 3 个独立的培养箱中重复 3 次。整个实验过程花盆中的土壤都保持在田间持水量的水平,以防出现干旱。将处于 25 °C 温度梯度下的幼苗作为对照。当处理结束立即取植物叶片,置于液氮中迅速冷冻,放于 - 70 °C 的低温冰箱中冷藏,以备分析之用。

1.1.3 干旱处理 干旱处理是在温室内进行,采取自然干旱的方式,水分胁迫处理持续 4d,当处理结束时,飞机草幼苗叶片卷曲、植株下部的叶片失水严重。在处理期间,每天 9:00 采集植物叶片立即放入液氮中,带回实验室置于 - 70 °C 的低温冰箱中冷藏,以备分析之用。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 酶液的提取 取植物材料 1g,用液氮在研钵中研成细细的粉末,随后在研钵中放少量石英砂,在冰上用少量酶提取液匀浆,提取可溶性蛋白。8 ml 提取液内含有 50 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.0);1 mmol/L EDTA 和 2g/ml 聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)。匀浆液在低温离心机(4 °C)中经 $13000 \times g$ 离心 40 min。上清液用于酶和蛋白含量的测定。蛋白含量的测定参考 Bradford^[18]的方法。

1.2.2 抗氧化酶活性的测定 SOD(超氧化物歧化酶)活性的测定参照 Beauchamp 和 Fridovich^[19]的方法,依据 SOD 抑制氮蓝四唑(NBT)在光下的还原作用来测定,以抑制 NBT 光化还原 50 %为一个酶活单位;CAT(过氧化氢酶)活性的测定参照 20 Knörraer 等^[20]的方法,在 25 °C 下直接测定波长 240 nm 处由于 H_2O_2 分解而引起吸光值的下降速率,以每毫克蛋白每分钟分解 $1 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 为一个酶活单位;POD(过氧化物酶)活性的测定参照 Chance 和 Maehly^[21]的方法,在 25 °C 下直接测定波长 470 nm 处由于愈创木酚氧化而引起吸光值的上升速率,以每毫克蛋白每分钟氧化 $1 \mu\text{mol}$ 愈创木酚为一个酶活单位;APX(抗坏血酸过氧化物酶)活性的测定参照 Nakano 和 Asada^[22]的方法,在 25 °C 下直接测定波长 290 nm 处由于 AsA 氧化而引起吸光值的下降速率,以每毫克蛋白每分钟氧化 $1 \mu\text{mol}$ 抗坏血酸为一个酶活单位;GR(谷胱甘肽还原酶)活性的测定参照 Halliwell 和 Foyer^[23]的方法,在 25 °C 下直接测定波长 340 nm 处由于 NADPH 氧化而引起吸光值的下降速率,以每毫克蛋白每分钟氧化 $1 \mu\text{mol}$ NADPH 为一个酶活单位;MDAR(单脱氢抗坏血酸还原酶)活性的测定参照 Hossain 等^[24]的方法,在 25 °C 下直接测定波长 340 nm 处由于 NADH 氧化而引起吸光值的下降速率,以每毫克蛋白每分钟氧化 $1 \mu\text{mol}$ NADP 为一个酶活单位;DHAR(脱氢抗坏血酸还原酶)活性的测定参照 Hossain 和 Asada^[25]的方法,在 25 °C 下直接测定波长 265 nm 处由于抗坏血酸的生成而引起吸光值的上升,以每毫克蛋白每分钟生成 $1 \mu\text{mol}$ 抗坏血酸为一个酶活单位。

1.2.3 膜脂过氧化程度的测定 飞机草叶片的膜脂过氧化程度用丙二醛(MDA)的含量来表示。参照 Madhava Rao 和 Sresty^[26]的方法测定 1g 鲜重的植物叶片中 MDA 的含量。

1.3 统计分析

实验采取完全随机设计,每个处理设置 3 个重复。分析处理与对照之间的差异采用 SPSS 软件 Dunnett's 检验进行统计分析。

2 结果与讨论

飞机草叶片的 7 种抗氧化酶活性在 3 种环境胁迫下的变化,见图 1~图 3。为了便于比较和观察趋势,所有酶活性都转换成相对值(即与对照条件下酶活性的比值),因为各种酶的实际值相差较大。

飞机草在高温胁迫下叶片的 SOD 活性增加,在 30、35、38 °C 和 42 °C 处理后, SOD 活性分别比对照上升了 97 %、127 %、137 % 和 216 % (图 1)。在低温胁迫下的 SOD 活性也增加,在 20、15、10 °C 和 5 °C 处理后, SOD 活

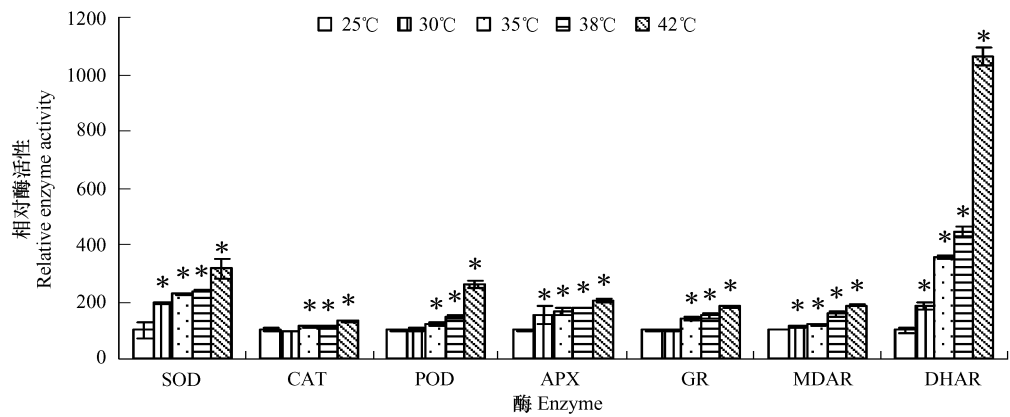


图1 高温处理下飞机草叶片的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)的相对酶活性(即与对照条件下酶活性的比值)的变化

Fig.1 Relative enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR), monodehydroascorbate reductase (MDAR) and dehydroascorbate reductase (DHAR) extracted from *Eupatorium odoratum* in the leaves of plants exposed to heat stress

图中数据为3次测定的平均值±标准差;柱上标有*表示在 $p \leq 0.05$ 水平与对照(25 °C)差异显著;SOD、CAT、POD、APX、GR、MDAR、DHAR在25 °C时的酶活性分别为(5.67 ±1.61)、(22.58 ±1.30)、(382.44 ±9.99)、(0.23 ±0.01)、(19.34 ±0.56)、(36.59 ±0.53)、(59.85 ±6.53) U。Values are the means of three replicates; Vertical bars indicate ±SE; * indicates significant different from 25 °C ($p \leq 0.05$). Specific activities of SOD, CAT, POD, APX, GR, MDAR, DHAR in the control plants were (5.67 ±1.61), (22.58 ±1.30), (382.44 ±9.99), (0.23 ±0.01), (19.34 ±0.56), (36.59 ±0.53), (59.85 ±6.53) U, respectively

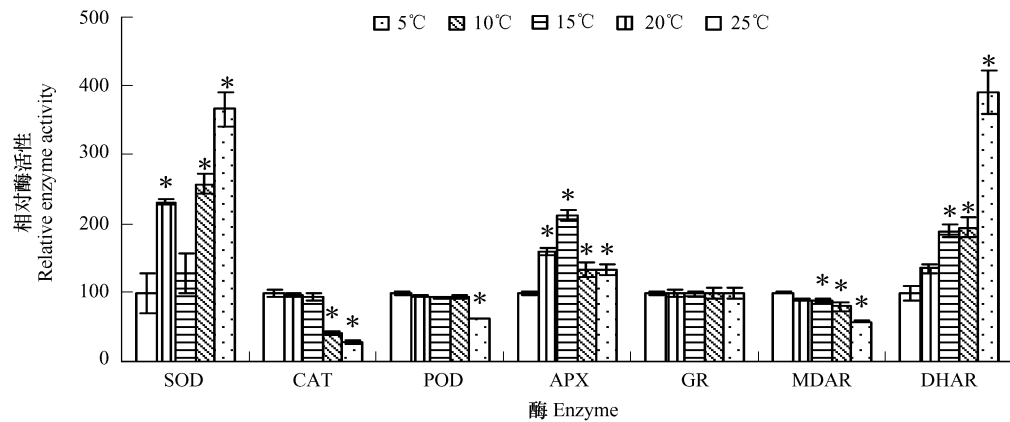


图2 低温处理下飞机草叶片的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)的相对酶活性(即与对照条件下酶活性的比值)的变化

Fig.2 Relative enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR), monodehydroascorbate reductase (MDAR) and dehydroascorbate reductase (DHAR) extracted from *Eupatorium odoratum* in the leaves of plants exposed to cold stress

图中数据为3次测定的平均值±标准差;柱上标有*表示在 $p \leq 0.05$ 水平与对照(25 °C)差异显著;SOD、CAT、POD、APX、GR、MDAR、DHAR在25 °C时的酶活性分别为(5.67 ±1.61)、(22.58 ±1.30)、(382.44 ±9.99)、(0.23 ±0.01)、(19.34 ±0.56)、(36.59 ±0.53)、(59.85 ±6.53) U。Values are the mean for three replicates. Vertical bars indicate ±SE; * indicates significant different from 25 °C ($p \leq 0.05$). Specific activities of SOD, CAT, POD, APX, GR, MDAR, DHAR in the controls were (5.67 ±1.61), (22.58 ±1.30), (382.44 ±9.99), (0.23 ±0.01), (19.34 ±0.56), (36.59 ±0.53), (59.85 ±6.53) U, respectively

性分别比对照上升了131%、29%、157%和266%,但是在15 °C处理后SOD活性与对照则没有显著差别($p \leq$

0.05) (图 2)。在干旱胁迫下,在第 1 天、第 2 天、第 3 天和第 4 天时, SOD 活性分别比对照上升了 153 %、148 %、246 % 和 243 % (图 3)。SOD 活性增加很可能增强飞机草在这 3 种胁迫环境下的抵抗能力。已有研究证明植物在高温^[27]、低温^[28]、干旱^[29]胁迫下 SOD 活性增加。

飞机草在高温胁迫下叶片的 CAT 活性在 30 °C 时与对照无显著差别,在 35、38 °C 和 42 °C 处理后, CAT 活性分别比对照上升了 12 %、12 % 和 32 % (图 1)。飞机草在低温胁迫下叶片的 CAT 活性下降,在 10 °C 和 5 °C 处理后, CAT 活性分别比对照下降了 58 % 和 71 % (图 2)。在干旱胁迫下, CAT 活性随自然干旱时间的延长而逐渐降低,到第 4 天达到最低值(图 3)。CAT 对不同胁迫做出不同的响应已经在拟南芥中报道过^[16]。Orendi 等^[30]研究表明, CAT 几种不同的同工酶对于不同的胁迫环境采取不同的应答方式。并且,在拟南芥中已经找到了控制 CAT 的一个小基因家族^[31,32]。

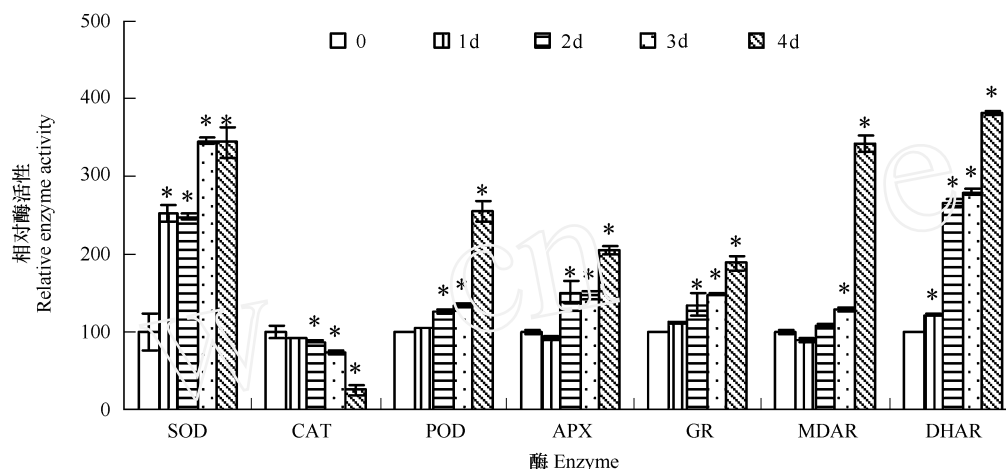


图 3 干旱处理下飞机草叶片的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)的相对酶活性(即与对照条件下酶活性的比值)的变化

Fig.3 Relative enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR), monodehydroascorbate reductase (MDAR) and dehydroascorbate reductase (DHAR) extracted from *Eupatorium odoratum* in the leaves of plants exposed to drought stress

图中数据为 3 次测定的平均值 $\pm$ 标准差;柱上标有 * 表示在 $p \leq 0.05$ 水平与对照(0 天)差异显著;SOD、CAT、POD、APX、GR、MDAR、DHAR 在 0 Day 时的酶活性分别为 (6.26 ± 1.40) 、 (23.32 ± 1.85) 、 (304.80 ± 0.99) 、 (0.35 ± 0.01) 、 (15.93 ± 0.12) 、 (29.17 ± 0.71) 、 (177.63 ± 1.04) U。Values are the means of three replicates. Vertical bars indicate $\pm$ SE. * indicates significant different from day 0 ($p \leq 0.05$). Specific activities of SOD, CAT and POD in the controls were (6.26 ± 1.40) , (23.32 ± 1.85) , (304.80 ± 0.99) , (0.35 ± 0.01) , (15.93 ± 0.12) , (29.17 ± 0.71) , (177.63 ± 1.04) U, respectively

飞机草叶片的 POD 活性在高温和干旱胁迫下的变化趋势基本一致(图 1 和图 3)。在高温胁迫下,飞机草叶片的 POD 活性随着温度的上升而逐渐升高,到 42 °C 时升到最高。在干旱胁迫下,飞机草叶片的 POD 活性在第 4 天时升到最高,比对照增加 155 %。在低温胁迫下,当温度达到 5 °C 时,POD 活性显著下降,降至对照的 62 % (图 2)。与本文的结果相似, Rivero 等^[33]研究发现在高温胁迫下,黄瓜叶片的 POD 活性上升,但是在低温胁迫下,其 POD 活性则下降。就干旱胁迫来说,不同植物具有不同的响应,有可能上升^[34]、下降^[35]、或者保持不变^[36]。

在高温胁迫时,飞机草叶片的 APX 活性随着温度的升高而逐渐升高,在 42 °C 时达到最大值(图 1)。在低温胁迫下,飞机草叶片的 APX 活性先升高,在 15 °C 时达到最大,然后下降,但是在 5 °C 时仍大于对照,比对照升高了 34 % (图 2)。在干旱胁迫的第 1 天飞机草叶片的 APX 活性与对照无显著差别,当自然干旱到第 2 天、第 3 天和第 4 天时, APX 活性分别比对照增加了 50 %、48 % 和 106 % (图 3)。与本研究的结果相同, Davis 和 Swanson^[28]研究表明乳浆大戟 (*Euphorbia esula* L.) 叶片的 APX 活性在不同环境胁迫下所作出的响应也不相

同。并且,有研究表明 APX 几种不同的同工酶对于不同的胁迫环境有不同的反应方式^[37,38]。

飞机草在高温胁迫下叶片的 GR 活性在 30 °C 时与对照无显著差别,在 35、38 °C 和 42 °C 处理后,GR 活性分别比对照上升了 40 %、51 % 和 81 % (图 1)。在低温胁迫时,飞机草叶片的 GR 活性一直保持不变,与对照无显著差别 (图 2)。在干旱胁迫时,GR 活性随自然干旱时间的延长而逐渐升高,到第 4 天达到最高值 (图 3)。已有的研究表明 GR 活性的变化会随着植物的不同以及胁迫类型而不同。在低温和干旱胁迫下,乳浆大戟 (*Euphorbia esula* L.) 叶片的 GR 活性上升,而在高温胁迫下 GR 酶活性则基本没有变化^[28]。拟南芥的情况则不同,在高温和干旱胁迫下,GR 活性基本没有变化,而在低温胁迫下,GR 活性则升高^[16]。

飞机草叶片的 MDAR 活性在高温胁迫下显著上升,随着温度的升高 MDAR 活性逐渐升高 (图 1)。但是,在低温胁迫时,MDAR 活性则随着温度的降低而逐渐下降,在 5 °C 达到最低值 (图 2)。在干旱胁迫的第 1 天和第 2 天飞机草叶片的 APX 活性与对照无显著差别,当自然干旱到第 3 天和第 4 天时,MDAR 活性分别比对照增加了 28 % 和 241 % (图 3)。在拟南芥中,无论是在高温、低温还是干旱胁迫下,拟南芥叶片的 MDAR 活性则基本没有变化^[16]。

飞机草叶片的 DHAR 活性在 3 种胁迫下都显著上升。当温度升高到 42 °C 时,DHAR 活性增加了 963 % (图 1)。当低温处理时,DHAR 活性增加的幅度没有在高温胁迫下增加的大,在温度降到 5 °C 时,DHAR 活性比对照上升了 290 % (图 2)。在干旱胁迫时,飞机草叶片的 DHAR 活性随着自然干旱时间的延长而增加,在第 4 天达到最大值 (图 3)。在 3 种胁迫条件下,飞机草叶片的 DHAR 活性都升高,说明 DHAR 在飞机草的防御系统中具有重要作用。许多研究对胁迫环境下 DHAR 活性的研究发现,许多种胁迫都可以引起 DHAR 活性的增加,例如,高温^[39],高光^[40,41],干旱^[35]。

活性氧对许多生物功能分子有破坏作用,例如,氨基酸,蛋白质,糖类,最终引起膜的过氧化作用,导致膜脂过氧化产物——丙二醛的含量增加^[42]。因此,丙二醛含量的增加经常被看作衡量活性氧对植物体防御系统破坏程度一个准确的衡量指标。当飞机草受到高温、低温、干旱的胁迫时,叶片丙二醛含量都显著增加 (表 1)。飞机草在高温、低温、干旱胁迫下叶片 MDA 含量比对照分别上升了 148 %, 363 %, 97 %, 说明这 3 种胁迫都引起了植物体内的膜脂过氧化。

关于飞机草的研究,目前面临的一个关键挑战就是寻找到一个行之有效的控制方法。或许可以找到一种匹配的酶阻断剂来破坏飞机草的防御系统,从而达到有效控制飞机草的目的。Davis 和 Swanson^[28]对一种多年生杂草——乳浆大戟 (*Euphorbia esula* L.) 做过类似的研究,测定了其在高温、低温、干旱和天敌采食条件下,五种抗氧化酶活性 (SOD、APX、CAT、GR 和 GST (谷胱甘肽转化酶)) 的变化,结果发现只有 CAT 的活性在四种胁迫条件下都降低。郭水良和芳芳^[43]测定了加拿大一枝黄花 (*Solidago Canadensis*) 在不同环境胁迫条件下 POD 活性的变化,结果发现 POD 活性在其处于高温、高盐分、碱性土壤条件时下降,而在酸性土壤和低温条件时上升。在本研究中所测定的 7 种酶中,SOD、APX、DHAR 的活性在三种胁迫环境下都升高。

飞机草对低温较敏感,目前仅能分布在无霜或微霜地区^[6],0 °C 叶片和个别枝条冻伤,-2 °C 时地上部分冻死^[44]。因此,它向北扩散的入侵潜力较小。但是就高温的忍耐力来讲,飞机草则可以分布于干热河谷,能

表 1 飞机草叶片在不同环境胁迫条件下 MDA 含量的变化

Table 1 MDA content in leaves of stressed *Eupatorium odoratum* plants

胁迫类型 Stress	处理水平 Treatment	MDA 含量 (nmol g ⁻¹ fw)	相对值 Relative value
高温 Heat	对照 (25 °C)	6.85 ± 0.06	100.00 ± 0.84
	30 °C	7.91 ± 0.07 *	115.48 ± 1.07
	35 °C	8.15 ± 0.14 *	118.91 ± 2.08
	38 °C	14.01 ± 0.03 *	204.44 ± 0.42
	42 °C	17.04 ± 0.08 *	248.70 ± 1.13
低温 Cold	对照 (25 °C)	6.85 ± 0.06	100.00 ± 0.84
	20 °C	8.69 ± 0.16 *	126.77 ± 2.37
	15 °C	14.68 ± 0.11 *	214.23 ± 1.55
	10 °C	17.92 ± 0.06 *	261.48 ± 0.85
	5 °C	31.76 ± 0.27 *	463.50 ± 3.97
干旱 Drought	对照 (0 day)	7.86 ± 0.02	100.00 ± 0.26
	1 day	7.89 ± 0.05	100.33 ± 0.63
	2 days	8.85 ± 0.66 *	112.54 ± 8.43
	3 days	13.66 ± 0.21 *	172.75 ± 2.72
	4 days	15.55 ± 0.36 *	197.66 ± 4.56

表中数据为 3 次测定的平均值 ± 标准差 Data are the means ± SE of three replicates.

标有 * 表示在 $p \leq 0.05$ 水平与对照差异显著 indicates significantly different from the control ($p \leq 0.05$) based on Dunnett's test

够忍受较高的温度^[9]。研究发现,在低温时飞机草叶片的 MDA 含量要大于其在高温胁迫时升高的程度,在 5 °C 低温处理后的 MDA 含量要高于 42 °C 高温处理后,说明在低温胁迫下飞机草叶片细胞膜的过氧化程度较强。在 SOD 活性增加的情况下,植物体内增加的 H₂O₂ 必须及时清除以便减缓 H₂O₂ 对细胞所造成的毒性^[45]。在低温胁迫下,飞机草叶片细胞膜的过氧化程度较强,抗氧化酶的协调上升出现在飞机草遭受高温胁迫时,而当其处于低温胁迫时,7 种抗氧化酶活性间的变化趋势则出现了很大分歧,这说明飞机草在高温胁迫时较低温胁迫时能够较好地保护自身免遭活性氧自由基的伤害,这很可能是造成其对于低温和高温忍耐能力不同的原因。许多研究也得到了相似的结论,例如,Saruyama 和 Tanida^[46]通过研究发现 CAT 和 APX 的协调合作行使功能对水稻 (*Oryza sativa* L.) 抵御低温伤害具有重要作用。另外,Massacci 等^[47]通过研究也发现,玉米叶片中的 SOD 与 APX 活性的共同上升对于减少玉米叶片在低温条件下活性氧自由基的累积是非常必要的。

已有的研究证明,许多种环境胁迫可以诱导抗氧化酶 mRNA 的表达^[48,49]。而在胁迫中控制基因表达很重要的一点就是控制 mRNA 的稳定性,而且,在一些植物中,胁迫环境会影响翻译过程^[50]。有研究报道酶活性与 mRNA 的水平存在很大差异^[51,52],说明控制植物中抗氧化抵御机制是一个十分复杂的过程。因此,下一步的研究工作是阐明飞机草叶片在胁迫环境下 SOD、APX、DHAR 活性诱导的分子机理。由于飞机草的遗传多样性水平较低^[10],所以我们可以推测一旦找到了一个行之有效的酶抑制剂,那么在中国境内的飞机草的不同种群都可以达到控制的目的,其应用前景是十分广阔的,尽管要实现这个目标还有很长的路要走。

References:

- [1] King R M, Robinson H. Studies in the *Eupatorieae* (Compositae). XXIX. The genus *Chromolaena*. *Phytologia*, 1970, 20: 196~209.
- [2] Li Z Y. *Eupatorium odoratum* L. (*Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & H. Rob.). In: Li Z Y, Xie Y, eds. *Invasive alien species in China*. Beijing: Forestry Publishing House, 2002, 165.
- [3] Cao H L, Ge X J, Ye W H. The distribution and damage of *Eupatorium odoratum* in Guangdong. *Guangdong Forestry Science and Technology*, 2004, 20 (2): 57~59.
- [4] Sahid I B, Sugau J B. Allelopathic effects of lantana (*Lantana camara*) and Siam weed (*Chromolaena odorata*) on selected crops. *Weed Sci.*, 1993, 41: 303~308.
- [5] State Environmental Protection Administration of China, Chinese Academy of Sciences. *Communique of State Department*, 2003, 23: 42~43.
- [6] Goodall J M, Erasmus D J. Review of the status and integrated control of the invasion alien weed, *Chromolaena odorata*, in South Africa. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 1996, 56: 151~164.
- [7] McFadyen R E, Skarratt B. Potential distribution of *Chromolaena odorata* (Siam weed) in Australia, Africa and Oceania. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 1996, 59: 89~96.
- [8] Kriticos D J, Yonow T, McFadyen R E. The potential distribution of *Chromolaena odorata* (Siam weed) in relation to climate. *Weed Res.*, 2005, 45: 246~254.
- [9] Wu B X. A pilot study on population of *Eupatorium odoratum*, in southern Yunnan Province of China. *Acta Botanica Yunnanica*, 1982, 4(2): 177~184.
- [10] Ye W H, Mu H P, Cao H L, Ge X J. Genetic structure of the invasive *Chromolaena odorata* in China. *Weed Res.*, 2004, 44: 129~135.
- [11] Wang M L, Feng Y L. The effects of soil nitrogen levels on morphology, mass allocation and growth in *Ageratina adenophora* and *Chromolaena odorata*. *Journal of Plant Ecology*, 2005, 29(5): 697~705.
- [12] Tottempudi K P. Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings. *Plant Physiol.*, 1997, 114: 1369~1376.
- [13] Hernández J A, Ferrer M A, Jiménez A, et al. Antioxidant systems and O₂⁻/H₂O₂ production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. *Plant Physiol.*, 2001, 127: 817~831.
- [14] Tanaka K. Tolerance to herbicides and air pollutants. In: Foyer C H, Mullineaux P M, eds. *Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants*. CRC Press: Boca Raton, 1994, 365~378.
- [15] Willekens H, Van Camp W, Van Montagu M, et al. Ozone, sulfur dioxide, and ultraviolet B have similar effects on mRNA accumulation of antioxidant genes in *Nicotiana plumbaginifolia* L. *Plant Sci.*, 1994, 106: 1007~1014.
- [16] Kubo A, Aono M, Nakajima N, et al. Differential responses in activity of antioxidant enzymes to different environmental stresses in *Arabidopsis thaliana*. *J. Plant Res.*, 1999, 112: 279~290.
- [17] Kubo A, Saji H, Tanaka K, et al. Expression of *Arabidopsis* cytosolic ascorbate peroxidase gene in response to ozone or sulfur dioxide. *Plant Mol. Biol.*, 1995, 29: 479~489.
- [18] Bradford M M. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248~254.
- [19] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 1971, 44: 276~287.
- [20] Knörraer O C, Durner J, Böger P. Alterations in the antioxidative system of suspension-cultured soybean cells (*Glycine max*) induced by oxidative stress. *Physiol. Plantarum*, 1996, 97: 388~396.
- [21] Chance B, Maehly A C. Assay of catalases and peroxidases. In: Colowick S P, Kaplan N O, eds. *Meth. Enzymol.* (Vol. 2). New York: Academic Press, 1955, 764~775.
- [22] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*, 1981, 22: 867~880.
- [23] Halliwell B, Foyer C H. Properties and physiological function of a glutathione reductase purified from spinach leaves by affinity chromatography. *Planta*, 1978, 139: 9~17.

- [24] Hossain M A, Nakanoand Y, Asada K. Monodehydroascorbate reductase in spinach chloroplast and its participation in regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxide. *Plant Cell Physiol.* , 1984 , 25 : 388~395.
- [25] Hossain M A, Asada K. Purification of dehydroascorbate reductase from spinach and its characterization as a thiol enzyme. *Plant Cell Physiol.* , 1984 , 25 : 85~92.
- [26] Madhava Rao K V, Sresty T V S. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Sci.* , 2000 , 157 : 113~128.
- [27] Chaitanya K V, Sundar D, Masilamani S, *et al.* Variation in heat stress-induced antioxidant enzyme activities among three mulberry cultivars. *Plant Growth Regul.* , 2002 , 36 : 175~180.
- [28] Davis D G, Swanson H R. Activity of stress-related enzymes in the perennial weed leafy spurge (*Euphorbia esula* L.). *Environ. Exp. Bot.* , 2001 , 46 : 95~108.
- [29] Jagtap V, Bhargava S. Variation in the antioxidant metabolism of drought tolerant and drought susceptible varieties of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. exposed to high light, low water and high temperature stress. *J. Plant Physiol.* , 1995 , 145 : 195~197.
- [30] Orendi G, Zimmermann P, Baar C, *et al.* Loss of stress-induced expression of catalase3 during leaf senescence in *Arabidopsis thaliana* is restricted to oxidative stress. *Plant Sci.* , 2001 , 161 : 301~314.
- [31] Frugli J A, Zhong H H, Nuccio M L, *et al.* Catalase is encoded by a multigene family in *Arabidopsis thaliana* L. Heyhn. *Plant Physiol.* , 1996 , 112 : 327~336.
- [32] Frugli J A, McPeck M A, Thomas T L, *et al.* Intron loss and gain during evolution of the catalase gene family in Angiosperms. *Genetics* , 1998 , 149 : 355~365.
- [33] Rivero R M, Ruiz J M, García P C, *et al.* Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Sci.* 2001 , 157 : 315~321.
- [34] Zhang J, Cui S, Li J, *et al.* Protoplasmic factors, antioxidant responses, and chilling resistance in maize. *Plant Physiol. Bioch.* , 1995 , 33 : 567~575.
- [35] Zhang J, Kirkham M B. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytol.* , 1996 , 132 : 361~373.
- [36] Fangmeier A, Brunschon S, Jager H J. Time course of oxidant stress biomarkers in flag leaves of wheat exposed to ozone and drought stress. *New Phytol.* 1994 , 126 : 63~69.
- [37] Morita S, Kaminaka H, Masumura T, *et al.* Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress; the involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signaling. *Plant Cell Physiol.* , 1999 , 40 : 417~422.
- [38] Mullineaux P, Ball L, Escobar C, *et al.* Are diverse signalling pathways integrated in the regulation of *Arabidopsis* antioxidant defence gene expression in response to excess excitation energy? *Philosophical Transactions of the Royal Society B* , 2000 , 355 : 1531~1540.
- [39] Wang S Y, Faust M. Changes in the antioxidant system associated with budbreak in 'Anna' apple (*Malus domestica* Borkh.) buds. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* , 1994 , 119 : 735~741.
- [40] Gillham D J, Dodge A D. Chloroplast superoxide and hydrogen peroxide scavenging systems from pea leaves: seasonal variations. *Plant Sci.* , 1987 , 50 : 105~109.
- [41] Slooten L, Capiou K, Van Camp W, *et al.* Factors affecting the enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco overexpressing manganese superoxide dismutase in the chloroplasts. *Plant Physiol.* , 1995 , 107 : 737~750.
- [42] Alaiz M, Hidalgo F J, Zamora R. Effect of pH and temperature on comparative antioxidant activity of nonenzymatically browned proteins produced by reactions with oxidized lipids and carbohydrates. *J. Agr. Food Chem.* , 1999 , 47 : 748~752.
- [43] Guo S L, Fang F. Physiological adaptation of the invasive plant *Solidago Canadensis* to environments. *Journal of Plant Ecology* , 2003 , 27(1) : 47~52.
- [44] Wu R R, Zhang D Y, Lu X S. On the distribution, perniciousness and control of the two weeds, *Chromolaena coelestina* and *C. odorata* in Yunnan Province of China. *Grassl. China* , 1984 , 2 : 17~21.
- [45] Scot M D, Meshnick S R, Eaton J W. Superoxide dismutase-rich bacteria. Paradoxical increase in oxidant toxicity. *J. Biol. Chem.* , 1987 , 262 : 3640~3645.
- [46] Saruyama H, Tanida M. Effect of chilling on activated oxygen-scavenging enzymes in low temperature-sensitive and-tolerant cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Sci.* , 1995 , 109 : 105~113.
- [47] Massacci A, Iannelli M A, Pietrini F, *et al.* The effect of growth at low temperature on photosynthetic characteristics and mechanisms of photoprotection of maize leaves. *J. Exp. Bot.* , 1995 , 46 : 119~127.
- [48] Stevens R, Creissen G, Mullineaux P M. Cloning and characterization of a cytosolic glutathione reductase cDNA from pea (*Pisum sativum* L.) and its expression in response to stress. *Plant Mol. Biol.* , 1997 , 35 : 641~654.
- [49] Hernández J A, Jiménez A, Mullineaux P, *et al.* Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant Cell Environ.* , 2000 , 23 : 853~862.
- [50] Medhy M C, Brodl M R. The role of stress in regulation mRNA stability. In: Bailey-Serres J, Gallie R, eds. *A Look Beyond Transcription: Mechanisms Determining mRNA Stability and Translation in Plants*. Rockville, Maryland. American Society of Plant Physiologists, 1998 , 54~63.
- [51] Hernández J A, Corpas F J, Gómez M, *et al.* Salt-induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria. *Physiol. Plantarum* , 1993 , 89 : 103~110.
- [52] López F, Vansuyt G, Casse-Delbart F, *et al.* Ascorbate peroxidase activity, not mRNA level, is enhanced in salt-stressed *Raphanus sativus* plants. *Physiol. Plantarum* , 1996 , 97 : 13~20.

参考文献:

- [2] 李振宇. 飞机草. 见:中国外来入侵种. 北京:中国林业出版社, 2002. 165.
- [3] 曹洪麟, 葛学军, 叶万辉. 外来入侵种飞机草在广东的分布与危害. *广东林业科技* , 2004 , 20(2) , 57~59.
- [5] 国家环境保护总局, 中国科学院. 国务院公报, 2003 , 23 , 42~43.
- [9] 吴邦兴. 滇南飞机草群落的初步研究. *云南植物研究* , 1982 , 4(2) : 177~84.
- [11] 王满莲, 冯玉龙. 紫茎泽兰和飞机草的形态、生物量分配和光合特性对氮营养的响应. *植物生态学报* , 2005 , 29(5) : 697~705.
- [43] 郭水良, 方芳. 入侵植物加拿大一枝黄花对环境的生理适应性研究. *植物生态学报* , 2003 , 27(1) : 47~52.
- [44] 吴仁润, 张德银, 卢新石. 紫茎泽兰和飞机草在云南省的分布、危害与防治. *中国草原* , 1984 , 2 : 17~21.