

NaCl 胁迫下胡杨 (*Populus euphratica*) 和 群众杨 (*P. popularis*) 抗氧化能力及耐盐性

朱会娟¹, 王瑞刚¹, 陈少良^{1,2,*}, 张云霞¹, 李妮亚¹, 邵 杰¹

(1. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083; 2. 湖北省生物资源保护与利用重点实验室, 湖北民族学院, 恩施 445000)

摘要 在盐浓度逐渐提高的胁迫条件下, 对抗盐的胡杨 (*Populus euphratica*) 和盐敏感的群众杨 (*P. popularis* 35 ~ 44) 1 年实生苗木叶片中 Na^+ 、 Cl^- 水平、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率以及抗氧化酶 超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 的动态变化以及抗盐性进行了研究。结果表明, 在盐浓度不断提高的胁迫条件下, 群众杨叶片中 Na^+ 、 Cl^- 浓度持续增加, 盐胁迫 18d 时, 群众杨叶中 Na^+ 、 Cl^- 含量分别达到对照的 17.8 和 14.6 倍, 此时 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率也达到最高水平。而在盐胁迫期间, 群众杨叶片 SOD 活性没有明显提高, CAT 活性维持在对照水平以下, 只有 APX 和 GR 活性在盐胁迫 13 ~ 18d, 即盐害症状出现前才有所上升, 属于典型的盐害反应。胡杨与群众杨明显不同: 在盐胁迫初期, 胡杨叶片 Na^+ 、 Cl^- 含量虽然没有明显的变化, 但胡杨叶片中 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率在盐胁迫 7d 时明显提高, SOD、APX、CAT 活性也都先后相应上升, 表明胡杨能响应盐胁迫并上调 SOD、APX 和 CAT 等保护酶类, 降低盐诱导的膜脂过氧化, 从而减少了电解质外渗, 最终提高了树木的抗盐性。

关键词 胡杨, 群众杨, 盐胁迫, 活性氧, 抗氧化酶

文章编号: 1000-0933 (2007) 10-4113-09 中图分类号: Q142.9, Q948, S718 文献标识码: A

Genotypic differences between *Populus euphratica* and *P. popularis* in antioxidative ability and salt tolerance under NaCl stress

ZHU Hui-Juan¹, WANG Rui-Gang¹, CHEN Shao-Liang^{1,2,*}, ZHANG Yun-Xia¹, LI Ni-Ya¹, SHAO Jie¹

1 College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

2 Key Laboratory of Biological Resource Protection and Utilization in Hubei Province, Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (10) 4113 ~ 4121.

Abstract : In the present study, we investigated the effects of increasing soil NaCl on leaf Na^+ and Cl^- concentrations, $\text{O}_2^{\cdot-}$ production rate, activity of antioxidant enzymes, e. g. superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) and glutathione reductase (GR) and the relevance to salt tolerance in 1-year-old plants of *Populus euphratica* (salt-resistant) and *P. popularis* 35 — 44 (salt-sensitive). Na^+ and Cl^- concentrations in *P. popularis* leaves markedly increased upon increasing salinity and reached the highest level on day 18, which was 17.8- and 14.6-fold of that in controls, correspondingly, $\text{O}_2^{\cdot-}$ production rate in *P. popularis* leaves increased to the maximum. However, there was no

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目 (30430430), 国家 863 计划资助项目 (2006AA10Z131); 全国高校优秀博士学位论文作者专项基金资助项目 (200152); 高等学校优秀青年教师教学科研奖励计划资助项目 (2002-323)

收稿日期: 2006-08-25; 修订日期: 2007-03-28

作者简介: 朱会娟 (1980 ~) 女, 宁夏人, 硕士生, 主要从事树木抗性生理研究. E-mail: zhuhuijuan-1213@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: Lschen@bjfu.edu.cn

Foundation item : This work was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30430430), the HI-TECH Research and Development Program of China (863 Program) (No. 2006AA10Z131), the Foundation for the Author of National Excellent Doctoral Dissertation of PRC (No. 200152) and the Teaching and Research Award Program for Outstanding Young Teachers in Higher Education Institution of MOE, PRC (No. 2002-323)

Received date 2006-08-25; **Accepted date** 2007-03-28

Biography ZHU Hui-Juan, Master candidate, mainly engaged in tree stress physiology. E-mail: zhuhuijuan-1213@163.com

significant increase of SOD activity in stressed *P. popularis* plants and CAT activity remained lower than control levels during the period of salt stress. APX and GR activity began to increase after 13 – 18 days of salt treatment when stressed *P. popularis* plants exhibited leaf injury symptoms. This was the typical response of salt-induced oxidative stress in *P. popularis*. In contrast to *P. popularis*, Na^+ and Cl^- concentration in *P. euphratica* leaves did not increase after salt stress was initiated, but $\text{O}_2^{\cdot-}$ production rate began to increase after 7 days of salinity. Activity of SOD, APX and CAT was elevated corresponding to the increased $\text{O}_2^{\cdot-}$ production, suggesting that *P. euphratica* plants were able to sense salt stress and up-regulated the antioxidant enzymes to reduce salt-induced lipid peroxidation and membrane permeability, which contributing to membrane integrity maintenance and salt tolerance in *P. euphratica*.

Key Words: *Populus euphratica*; *P. popularis* 35 – 44; salt stress; reactive oxygen species (ROS); antioxidant enzymes

盐胁迫对植物造成的损伤主要包括渗透胁迫和离子毒害,而这两种原初反应的结果,即产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),高浓度 ROS 对植物细胞生物膜、蛋白质、DNA 造成不同程度的损伤^[1~3],低浓度 ROS 则能诱导某些抗氧化酶基因的表达,提高酶活性^[4~6]。正常情况下,植物体内活性氧 ROS 的产生和清除处于一个动态平衡,不会对植物体造成伤害,但是在盐胁迫条件下,这种平衡被破坏,造成 ROS 的积累,引起抗氧化酶系统和抗氧化剂活性增加^[7~10]。其中抗氧化酶主要有超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR),抗氧化剂主要有抗坏血酸(Ascorbate, ASA)、还原性谷胱甘肽(Reduced glutathione, GSH)等。它们主要存在于叶绿体和胞浆中,形成高效的抗坏血酸-谷胱甘肽循环(又称 Foyer-Halliwell-Asada 循环)^[11]抵御 ROS 对植物造成的损伤。

胡杨(*Populus euphratica*)是分布在荒漠平原、盐碱地区少有的乔木树种,是众所周知的抗盐树种,对维持当地脆弱的生态平衡起着重要的作用。在胡杨抗盐机制方面已有大量的研究积累^[12~18],而对胡杨抗氧化酶和活性氧响应盐胁迫的研究比较少,仅马焕成^[8]和万东石^[9]对胡杨在胁迫条件下抗氧化酶(CAT、SOD)和活性氧($\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2)变化情况作了初步的研究,而对胡杨其它抗氧化酶 APX、GR 的活性变化及从抗氧化方面来探讨盐胁迫引起膜伤害机制未见报道。本文主要是从盐胁迫条件下活性氧调控的角度,利用抗盐的胡杨与盐敏感的群众杨,比较胁迫条件下两种杨树抗氧化酶对活性氧水平的调控,进一步阐明胡杨的抗盐机制。

1 材料与方 法

1.1 植物材料的培养

实验材料选用群众杨(*Popularis* 35 ~ 44)1 年生插条苗和取自新疆的胡杨(*P. euphratica*)的 1 年生实生苗。2005 年 4 月 6 日将苗木定植于 10 L 塑料桶中。苗木的培养基质为沙土(土和沙的比例为 2:1)。苗木在北京林业大学生物科学与技术学院温室中培养,培养期间定期浇水以保持土壤湿度,并每两周浇一次 Hoagland 完全营养液(每桶 1L)。7 月初将苗木移入温室中,开始实验。

1.2 盐处理和采样

对两种杨树进行为期 18d 的盐处理,用 Hoagland 完全营养液为溶剂配成的 100、150、200、250 mmol/L NaCl 溶液分别在实验的第 1、5、10、15 d 处理苗木,每次每桶 1 L,以只浇 Hoagland 完全营养液的苗木为对照。在盐处理后的第 2、7、13、18 天采样,采样时每种杨树每个处理为 3 个重复(3 株苗木)。苗木的叶片采摘后,立即用液氮冷冻于 -70°C 冰箱中,一部分用于测定酶活性,一部分用于测定超氧阴离子自由基,剩余样品烘干用来测定离子含量。

1.3 叶片组织中 Na^+ 、 Cl^- 量的测定

Na^+ 和 Cl^- 提取及测定参照 Chen^[20]方法。精确称取 0.2 ~ 0.3 g 样品干粉于 50 ml 的硬质试管中,加 25 ml 1 mol/L HNO_3 , $95 \sim 100^\circ\text{C}$ 水浴 12 h,冷却后研磨,浸提过液,抽滤收集滤液,残渣再用去离子水重复提取 3

次,合并滤液,并定容至 50 mL 的容量瓶中,用于 Na^+ 和 Cl^- 测定。

Cl^- 取 20 ml 提取液于 150 ml 三角瓶中,加入过量的 0.025 mol/L AgNO_3 (1 ~ 10ml) 沉淀 Cl^- ,再加入 1:1 HNO_3 10 ml,电极板上加热(温度不易过高),滴加饱和的 KMnO_4 并不断的摇动,直至瓶中颜色褪尽,冷却后加入 1 ml 铁铵矾指示剂,用 0.01 mol/L NH_4CNS 滴定至微红色为止(1 ~ 2 min 不褪色)。

Na^+ 用 PE-2280 (Perkin-Elmer) 火焰光度计在 589.0 nm 测定 Na^+ 的浓度。

1.4 酶提取液

取 0.5g 叶片于预冷的研钵中,加入 3ml 预冷的酶蛋白提取液:50mmol/L PBS-K (pH = 7.0)、1mmol/L EDTA、1% PVP、1mmol/L ASA,并在冰浴上研磨成浆,在 4℃,10000r/min 下,离心 20min,分离上清液 4℃ 下保存备用,该上清液即为酶提取液。

1.5 SOD 活性测定

SOD 活性测定采用氮蓝四唑 (Nitro Blue Tetrazolium chloride, NBT) 比色法^[21]。反应体系:1.8 ml 0.05 mol/L 磷酸缓冲液,0.3 ml 130 mmol/L 甲硫铵酸,0.3 ml 750 $\mu\text{mol/L}$ 的氮蓝四唑,0.3 ml 100 $\mu\text{mol/L}$ EDTA- Na_2 ,0.3 ml 20 $\mu\text{mol/L}$ 的核黄素,测定管加 1.4 中酶提取液 0.01ml,对照管加 0.01ml 的磷酸缓冲液。对照管和测定管各取两只(各管的透光尽量一致),混合均匀后,把一支对照管放在暗处,其它 3 支置于 4000 lx (30 $\mu\text{mol}/(\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$) 日光灯下反应 6min (此时为对照照光管的吸光度达到最大值),然后在 560nm 比色,记下吸光值。

1.6 APX 活性测定

APX 活性测定参照 Mishra^[22]和沈文飏^[23]的方法:3ml 反应液中含双蒸水 2.920ml,0.02ml 15mmol/L 抗坏血酸 (ASA),1.4 中酶提取液 0.03ml,最后加入 0.03ml 30mmol/L H_2O_2 启动反应,以不加酶提取液为对照,然后在 290nm 处测定其活性。以每分钟氧化 1 μmol ASA 的酶量为一个酶活单位。

1.7 GR 活性测定

GR 活性测定参照蒋明义^[24]的方法:3ml 反应液中含 2.05ml 50mmol/L PBS-K (pH7.8),0.3ml 2mmol/L Na_2EDTA ,0.3ml 0.15mmol/L NADPH,0.3ml 0.5mmol/L GSSG,加入 1.4 中酶提取液 0.05ml,以不加 NADPH 为对照,在 340nm 处测定其活性。

1.8 CAT 活性测定

CAT 活性测定采用蒋明义^[24]的方法:3ml 反应液中含 2.95ml 双蒸水,0.02ml 2% H_2O_2 ,加入 1.4 中酶提取液 0.03ml,以不加酶液为对照,在 240nm 处测定其活性。

1.9 O_2^- 产生速率测定

O_2^- 产生速率测定采用王爱国,罗广华^[25]的方法:取 1.4 中获取的酶提取液 1ml 加入 1ml 65mmol/L PBS- Na (pH7.8) 和 1ml 10mmol/L 羟氨氯化物混匀后,25℃ 水浴 1h,取 1ml 混合液加入 17mmol/L 的对氨基苯磺酸 1ml,7mmol/L 的 α -萘氨 1ml,25℃ 水浴 20min,加入和 3ml 乙醚,混匀离心 (7000g,3min) 取下层液相在 530nm 比色测吸光值。

1.10 蛋白质含量测定

蛋白质含量测定采用李合生^[26]考马斯亮蓝 G-250 染色法。取 0.1ml 1.4 中酶提取液加入到 0.9ml 双蒸水中,再加入 5ml 考马斯亮蓝混匀 5min 后在 590nm 比色测吸光值。

2 结果与分析

2.1 叶中盐离子含量

如图 1 所示,随着盐胁迫时间的延长,两种杨树叶中 Na^+ 、 Cl^- 含量也随着升高,其中胡杨叶中 Na^+ 、 Cl^- 含量变化不如群众杨明显,只在盐胁迫第 18 天时显著上升,其含量分别是对照的 4.3、2.3 倍,而群众杨则不同,盐胁迫第 7 天时叶中 Na^+ 、 Cl^- 含量就显著上升,此时其叶中 Na^+ 、 Cl^- 含量就已经是对照的 3.5、2.6 倍,盐胁迫 18d 时,群众杨叶中 Na^+ 、 Cl^- 含量显著高于对照,其含量分别是对照的 17.8、14.6 倍。因此,胡杨的拒盐

性明显强于群众杨,这对于抵御盐胁迫引起的活性氧伤害非常重要。

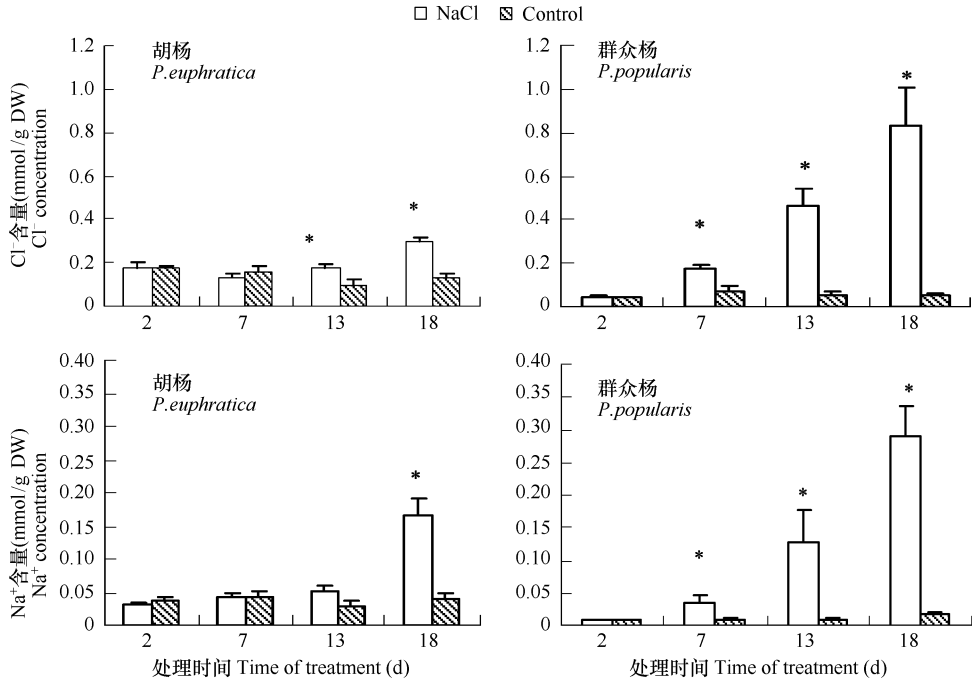


图1 盐胁迫过程中胡杨和群众杨叶片 Na⁺ 和 Cl⁻ 含量的变化

Fig. 1 Changes of Na⁺ and Cl⁻ concentrations in leaves of *P. euphratica* and *P. popularis* during the period of salt stress

* 表示 $P < 0.05$ 水平上对照和盐处理之间的显著性 Asterisk represents significant difference at $P < 0.05$ between control and NaCl treatment

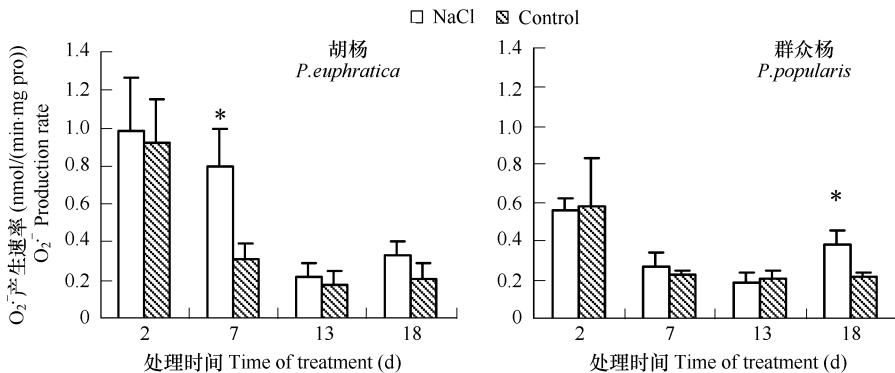


图2 盐胁迫过程中胡杨和群众杨叶片 O₂⁻ 产生速率的变化

Fig. 2 Changes of O₂⁻ production rate in leaves of *P. euphratica* and *P. popularis* during the period of salt stress

* 表示 $P < 0.05$ 水平上对照和盐处理之间的显著性 Asterisk represents significant difference at $P < 0.05$ between control and NaCl treatment

2.2 O₂⁻ 产生速率

超氧阴离子是生物体受到氧胁迫后首先生成的氧自由基,可以经过一系列反应生成其它类型的活性氧。从图2中可以看到,在盐胁迫初期两种杨树中 O₂⁻ 产生速率和对照没有明显差别,但在盐胁迫7d时,胡杨 O₂⁻ 产生速率与对照相比差异显著,是对照的2.6倍,随后又逐渐下降。到盐胁迫第18天时胡杨中 O₂⁻ 产生速率又有所上升,是对照的1.6倍,而群众杨则没有这样的变化过程,只有在盐胁迫18d时,其 O₂⁻ 产生速率显著上升,达到对照的1.8倍。结果说明胡杨体内对 O₂⁻ 的清除能力大于群众杨。

2.3 SOD 活性

超氧化物歧化酶(SOD)主要功能是清除 O₂⁻,是防护氧自由基对细胞膜系统伤害的一种很重要的保护

酶。随着盐胁迫时间的延长,两种杨树体内 SOD 活性呈下降趋势,除胡杨 SOD 活性在盐胁迫第 7 天时略有提高外,对照和盐处理苗木叶片 SOD 活性差别不大(图 3)。

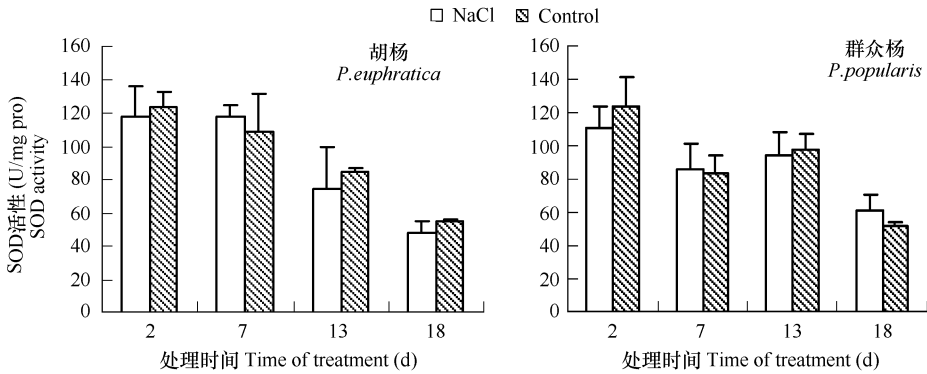


图 3 盐胁迫过程中胡杨和群众杨叶片 SOD 活性的变化

Fig. 3 Changes of SOD activity in leaves of *P. euphratica* and *P. popularis* during the period of salt stress

2.4 APX 活性

抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 通过 Halliwell-Asada 途径移去叶绿体中 H_2O_2 , 是植物叶绿体中专一清除 H_2O_2 的关键酶^[27, 28]。如图 4 所示,在盐胁迫第 7 天时胡杨叶中 APX 活性显著高于对照,是对照的 3.5 倍,随后逐渐下降,但其活性仍比对照高。在盐胁迫两周内,群众杨 APX 变化不是很明显,只有当盐胁迫持续到 18d 时其活性明显上升,达到对照的 2.5 倍。结果表明群众杨启动 APX 活性较胡杨慢,在叶片即将出现盐伤害症状时,群众杨 APX 活性才有所提高。

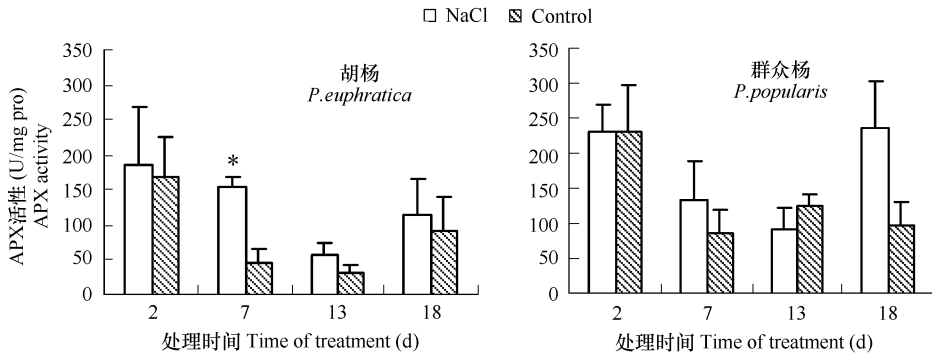


图 4 盐胁迫过程中胡杨和群众杨叶片 APX 活性的变化

Fig. 4 Changes of APX activity in leaves of *P. euphratica* and *P. popularis* during the period of salt stress

* 表示 $P < 0.05$ 水平上对照和盐处理之间的显著性 Asterisk represents significant difference at $P < 0.05$ between control and NaCl treatment

2.5 CAT 活性

过氧化氢酶 (CAT) 主要位于过氧化酶体, CAT 能消除植物体内由光呼吸形成的过多的 H_2O_2 , 以维持植物体内的 H_2O_2 处在一个低浓度水平。CAT 和 SOD 结合起来可以把有害的 $O_2^{\cdot -}$ 和 H_2O_2 转化成 H_2O 和 O_2 , 由此防御对细胞的伤害, 保护膜的结构^[29], 以及防止氧化胁迫对植物的损伤。图 5 所示, 胡杨体内 CAT 在盐胁迫初期活性高于对照, 之后逐渐回落, 在盐处理 13d 时, 其活性又急剧上升, 是对照的 1.6 倍。而群众杨在盐处理期间 CAT 活性一直低于对照水平。

2.6 GR 活性

谷胱甘肽还原酶 (GR) 是一种黄素蛋白氧化还原酶, 对植物来说, GR 在氧化胁迫反应中对清除活性氧起到了很重要的作用^[30]。如图 6 所示, 胡杨体内 GR 活性, 在整个盐胁迫过程中与对照相近, 而群众杨 GR 活性

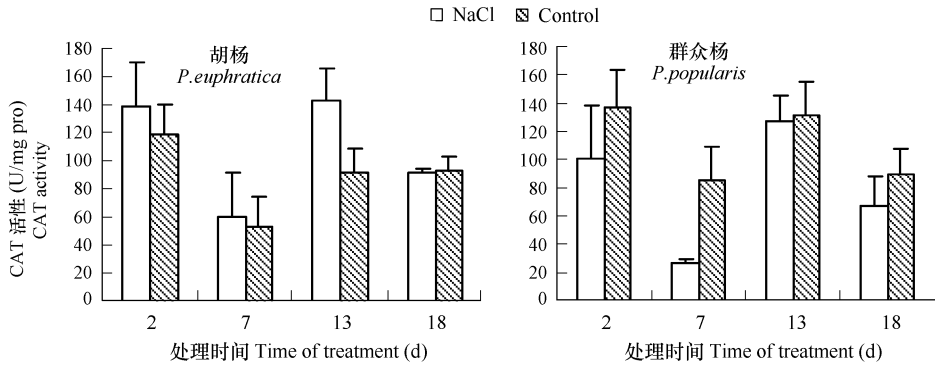


图5 盐胁迫过程中胡杨和群众杨叶片 CAT 活性的变化

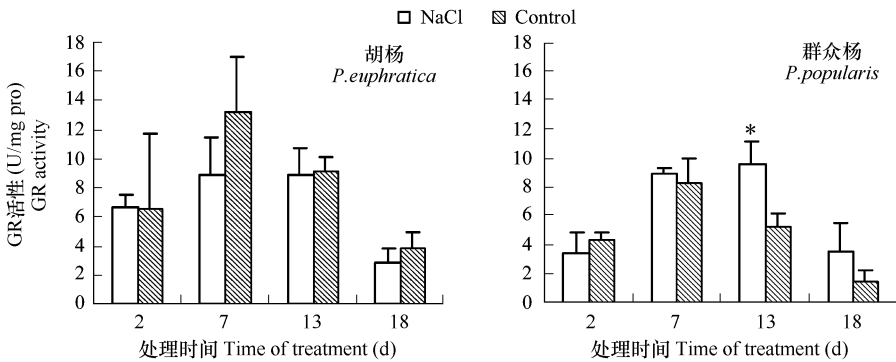
Fig. 5 Changes of CAT activity in leaves of *P. euphratica* and *P. popularis* during the period of salt stress

图6 盐胁迫过程中胡杨和群众杨叶片 GR 活性的变化

Fig. 6 Changes of GR activity in leaves of *P. euphratica* and *P. popularis* during the period of salt stress

* $P < 0.05$ 水平上对照和盐处理之间的显著性 Asterisk represents significant difference at $P < 0.05$ between control and NaCl treatment

在盐处理 1 周后开始上升,到盐胁迫第 13 天时其活性显著高于对照,此趋势维持到实验结束。

3 讨论

在土壤低盐浓度胁迫条件下,胡杨叶中 Na^+ 、 Cl^- 含量几乎与对照相同,直到盐胁迫浓度增加到 200mmol/L 时,叶中盐分含量才开始缓慢增长,而群众杨叶中 Na^+ 、 Cl^- 含量则在盐浓度增加到 150mmol/L 后显著增高(图 1)。表明在盐胁迫下胡杨能够运用自身的拒盐性适应盐胁迫环境,这与我们前面的研究结果一致^[31-33]。胡杨的拒盐性是来自于根细胞的离子区隔化作用。盐胁迫条件下,胡杨将有害盐分积累在根系皮层细胞的液泡中,因而限制了盐离子的根冠运输^[31,34]。而群众杨根细胞的离子区隔化能力弱,致使盐离子在叶片细胞中过度积累^[31],有害盐分在细胞中大量积累,导致渗透胁迫、离子毒害以及氧化胁迫。特别是活性氧浓度过高,膜脂过氧化作用增强,破坏膜系统的完整性,进而引起电解质外渗,严重时导致苗木死亡^[32]。

在正常情况下,植物细胞内自由基的产生与清除处于动态平衡,而当植物一旦处于盐胁迫下,ROS 含量增加,当 ROS 积累超过抗氧化系统的清除能力时,ROS 就会大量积累,造成了抗氧化酶活性的降低和膜透性的增加^[35-38]。SOD、CAT、GR 和 APX 等保护酶类在植物体内协同作用清除过量的活性氧,维持活性氧的代谢平衡、保护膜结构,从而使植物在一定程度上忍耐、减缓或抵御逆境胁迫伤害^[39]。SOD 通过歧化反应使 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 转变为 H_2O_2 ,在清除 ROS 的酶中起着很重要的作用。在盐胁迫下,胡杨在盐处理第 7 天时其叶中 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产生速率是对照的 2.6 倍(图 2),较多的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 同时诱导了 SOD 酶活性的增加(图 3),高活性的 SOD 酶清除了胡杨体内过量的 $\text{O}_2^{\cdot-}$,减轻了 NaCl 胁迫对胡杨细胞的伤害。在 SOD 活性增加的同时,胡杨叶中 CAT、APX 这两种主要的清除 H_2O_2 的酶活性明显提高(图 4,图 5),这主要是因为 SOD 歧化 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的产物 H_2O_2 , H_2O_2 同时也是抗氧

化系统中的信号物质,诱导了 APX、CAT 抗氧化酶活性增加^[40],只是 APX 活性在盐处理 7d 时达到最大 (150 mmol/L NaCl),而在盐浓度增加到 200mmol/L 时,CAT 活性达到最高水平。因此,低盐浓度下胡杨叶中 APX 酶在清除 H₂O₂ 方面起主要作用,而在高盐浓度下,CAT 酶起主要作用。这与 Mittal 等^[41]研究结果相似。由上可见,胡杨在 SOD、APX、CAT 协同作用下,共同清除盐诱导的 ROS。另外,胡杨维持盐胁迫下较高的 CAT、APX 活性,可以及时清除 H₂O₂,进而避免由于 H₂O₂ 和 O₂⁻ 相互作用产生 ·OH,直接启动膜脂过氧化,对系统造成更大的伤害。而群众杨在叶片即将出现盐伤害症状时,叶中 APX 活性才明显增加,而其 CAT 活性在盐处理期间一直低于对照,SOD 活性也没有明显增加,致使 O₂⁻ 产生速率显著增加 (图 2),从而引起膜脂过氧化。总之,在长期盐处理条件下,胡杨能通过抗氧化酶系统及时清除活性氧,保持细胞内活性氧的平衡,避免对质膜的过氧化损伤。

GR 是一种黄素蛋白氧化还原酶,在抗氧化胁迫中的作用体现在通过抗坏血酸-谷胱甘肽循环使植物细胞重要的两种非酶抗氧化剂——抗坏血酸、谷胱甘肽得以再生^[11]。抗坏血酸能与活性氧反应,减少活性氧伤害^[42]。谷胱甘肽是有效的过氧化物清除剂之一^[43]。在盐胁迫整个阶段胡杨叶中 GR 活性一直低于对照 (图 6),群众杨则在盐处理一周后保持着较高的活性。可以推测,群众杨抵御氧化胁迫可能主要依赖非酶类抗氧化剂,如抗坏血酸、谷胱甘肽,而胡杨抵御盐胁迫引起的氧化胁迫主要依靠抗氧化酶系统起作用,但具体的机制还有待于进一步研究进行澄清。

总之,在长期不断提高的盐胁迫条件下,群众杨叶片中 O₂⁻ 产生速率后期显著上升,主要是因为盐离子在叶片中大量积累引起氧胁迫,伤害植物细胞。而胡杨则在盐胁迫初期 O₂⁻ 产生速率显著高于对照,诱导 SOD、APX 活性迅速上升,阻止叶片中活性氧的积累,避免其对膜的伤害。这是典型的植物抗逆的预警机制。在长期的盐胁迫条件下,由于胡杨具有较高的排盐性,控制了盐离子的上运,也就有效降低了盐诱导的膜脂的过氧化,最终减少了电解质外渗率,从而提高了抗盐性。

References :

- [1] Imlay J, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*, 1998, 240 :1302 - 1309.
- [2] Byrd S, Reins D, Doetsch P W. Effects of oxidative DNA damage on transcription by RNA polymerases. *Free Radic Biol Med*, 1990, 9 (1) :47 - 57.
- [3] Chen S Y. Membrane lipid peroxidation damage in plant cell. *Plant Physiology Communications*, 1991, 27 (2) :84 - 90.
- [4] Jiang M Y, Zhang J H. Effect of abscisic acid on oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42 (11) :1265 - 1273.
- [5] Zhao L Y, Deng X P, Shan L. The response mechanism of active oxygen species removing system to drought stress. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 2005, 25 (2) :413 - 418.
- [6] Zhang L Y. The role of reactive oxygen species in plant signal transduction. *Pioneering with Science & Technology Monthly*, 2005, 6 :144 - 145.
- [7] Guo L H, Chen S N, Gong M. The effect of NaCl stress on glutathione reductase activity and soluble protein content in maize seedlings. *J. Kunming Teachers College*, 2002, 24 (4) :27 - 30.
- [8] Chen W L, Xu L L, Shen W B *et al.* Changes of hydrogen peroxide accumulation and hydrogen peroxide-scavenging enzyme activity in the leaves of two barley species under salt stress. *J Nanjing Agricultural University*, 1998, 22 (2) :97 - 100.
- [9] Karim-ali, Yu A L, Qiman-yunus, Yang W Y. Effects of salt tolerance on activity of SOD, CAT, POD of Pistachio. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2004, 41 (3) :129 - 134.
- [10] Wei T, Ronald J. Newton Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regulation*, 2005, (46) :31 - 43.
- [11] Qin X Q, Jia S R. Genetic engineering of plants tolerant to oxidative stress. *J Agricultural Biol Technology*, 1997, 5 (1) :14 - 24.
- [12] Chen S L, Bi W F, Li J K, Wang S S. Quantitative determination of glycinebetaine in plant tissues by reverse phase ion-pair HPLC. *Acta Botanica Sinica*, 2000, 42 (10) :1014 - 1018.
- [13] Foryer C H, Descourvières P, Kunert K J. Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environ*, 1994, 17 :507 - 523.
- [14] Ma T J, Li Z, Zhang X J *et al.* Studies on purification of tonoplast H⁺-ATPase from *Populus euphratica* and its salt tolerance. *Acta Bot Boreal - Occident Sin*, 2004, 24 (7) :1246 - 1249.

- [15] Shin W ,Katsumi K. Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* *in vitro*. Plant Cell ,Tissue and Organ Culture 2000 63 :199 —206.
- [16] Ma H C ,Chen S L ,Wang S S. Salt resistance in relation to ABA in *Populus euphratica*. J Southwest Forestry College ,1998 3 ,18 (3) 8 —14.
- [17] Chen S L ,Li J K ,Yin W L ,*et al.* Tissue and cellular K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} of poplar under saline salt stress conditions. J Beijing Forestry University 2002 24 (5) :84 —88.
- [18] Ma H C ,Wang S S ,Jiang X N. Photosynthetic and growth response to salt stress in *Populus euphratica*. J Southwest Forestry College ,1998 ,18 (1) :33 —41.
- [19] Wan D S ,Li H Y ,Zhou G K ,*et al.* Effect of insect pest on activated oxygen metabolism in lanceolate leaves of *Populus euphratica* under different water condition. Chinese J Applied Ecology 2004 5 ,15 (5) 849 —852.
- [20] Chen S ,Li J ,Wang S ,Hüttermann A *et al.* Salt nutrient uptake and transport and ABA of *Populus euphratica* a hybrid in response to increasing soil NaCl. Trees 2001 ,15 (3) :186 —194.
- [21] Giannopolits C N ,Ries S K. Superoxide dismutases :Occurrence in higher plants. Plant Physiol ,1977 59 309 —314.
- [22] Mishra N P ,Mishra P 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. Plant Physiol ,1993 ,102 :903 —910.
- [23] Shen W B ,Xu L L ,Xu M B ,*et al.* Study on determination of ASP activity. Plant Physiology Communications ,1996 32 (3) 203 —205.
- [24] Jiang M Y ,Zhang J H. Effect of abscisic acid on active oxygen species ,antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seeding. Plant Cell Physiol 2001 42 (11) :1265 —1273.
- [25] Wang A G ,Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. Plant Physiology Communications ,1990 ,(6) 55 —57.
- [26] Li H S. Coomassie brilliant blue staining. In :Li H S ed. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment. Beijing :Higher Education Press 2002. 184 —185.
- [27] Chen G X ,Asada K. Inactivation of ascorbate peroxidase by thiols requires hydrogen peroxide. Plant Cell Physiol ,1992 33 :117 —123.
- [28] Kraus T E ,Fletcher R A. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury is detoxification of active oxygen involved. Plant Cell Physiol ,1994 35 :45 —52.
- [29] Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutases. Plant Physiol ,1993 ,101 :7 —12.
- [30] Mullineaux P M ,Creissen G P. Glutathione reductase :Regulation and role in oxidative stress. In :Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses. United Kingdom :Cold spring Harbor Laboratory Press ,1997. 667 —712.
- [31] Chen S L ,Li J ,Fritz E *et al.* Sodium and chloride distribution in roots and transport in three poplar genotypes under increasing NaCl stress. For Ecol Manage 2002 ,168 (1 —3) 217 —230.
- [32] Wang R G ,Chen S L ,Liu L Y ,*et al.* Genotypic difference in anti-oxidative stress and the relevance to salt stress in three poplars under saline conditions. J. Beijing Forestry University 2005 5 27 (3) :46 —52.
- [33] Chen S L ,Fritz E ,Wang S S *et al.* Cellular distribution of ions in salt stressed cells of *Populus euphratica* and *P. tomentosa*. Forestry Studies in China 2000 2 (2) :8 —16.
- [34] Chen S L ,Li J ,Wang S *et al.* Effects of NaCl on shoot growth ,transpiration ,ion compartmentation and transport in regenerated plants of *Populus euphratica* and *Populus tomentosa*. Can J For Res 2003 33 :967 —975.
- [35] Fadzilla N M ,Finch R P ,Burdon R H. Salinity oxidative stress and antioxidant responses in shoot culture of rice. J Exp Bot ,1997 48 325 —331.
- [36] Hernandez J A ,Corpass F J ,Gome M *et al.* Salt-induced oxidative stress mediated by active oxygen species in pen leaf mitochondria. Physiol Plant ,1993 89 :103 —110.
- [37] Bandooglu E ,Eyidogan F ,Yucel M *et al.* Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. Plant Growth Regul 2004 42 69 —77.
- [38] Liu Y L ,Mao C L ,Wang L J. Advances in salt tolerance in plants. Commun Plant Physiol ,1987 23 1 —7.
- [39] Liang Y C ,Chen Q ,Liu Q *et al.* Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). J. Plant Physiology 2003 ,160 1 157 —1 164.
- [40] Jiang M Y ,Zhang J H. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. J Expt Bot ,2002 53 (379) :2401 —2410.
- [41] Mittal R ,Dubey R S. Influence of sodium chloride salinity on polyphenol oxidase ,indole 3-acetic acid oxidase and catalase activities in rice seedlings differing in salt tolerance. Tropical Science ,1995 35 (2) :141 —149.
- [42] Chen K R ,Gong H J ,Wang S M. Biosynthesis ,transport and function of ascorbate in plants. Acta Bot Boreali-Occident Sin 2004 24 (2) :329 —336.

- [43] Chen K R ,Gong H J ,Wang S M. Glutathione metabolism and environmental stresses in plants. *Acta Bot Boreal-Occident* 2004 24 (6) :1119-1130.

参考文献：

- [3] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害. *植物生理学通讯* ,1991 27 (2) :84~90.
- [5] 赵丽英, 邓西平, 山仑. 活性氧清除系统对干旱胁迫的响应机制. *西北植物学报* 2005 25 (2) :413~418.
- [6] 张玲艳. 活性氧在植物信号转导中的作用. *科技创业月刊* 2005 6 :144~145.
- [7] 郭丽红, 陈善娜, 龚明. NaCl 胁迫对玉米幼苗中谷胱甘肽还原酶活性及可溶性蛋白质含量的影响. *昆明师范高等专科学校学报* 2002 24 (4) :27~30.
- [8] 陈文利, 徐朗莱, 沈文飏, 等. 盐胁迫下两品种大麦叶片 H_2O_2 累积及其清除酶活性的变化. *南京农业大学学报* ,1998 22 (2) :97~100.
- [9] 克热木·伊力, 袁琳. 盐胁迫对阿月浑子 SOD、CAT、POD 活性的影响. *新疆农业科学* 2004 41 (3) :129~134.
- [11] 秦小琼, 贾士荣. 植物抗氧化逆境的基因工程. *农业生物技术学报* ,1997 4 (3) :14~24.
- [14] 马挺军, 李卓, 张旭家, 等. 胡杨液泡膜 H^+ -ATPase 的部分纯化及其耐盐性研究. *西北植物学报* 2004 24 (7) :1246~1249.
- [16] 马焕成, 陈少良, 王沙生. 脱落酸与胡杨抗盐性的关系. *西南林学院学报* ,1998 18 (3) :8~14.
- [17] 陈少良, 李金克, 尹伟伦, 等. 盐胁迫条件下杨树组织及细胞中钾、钙、镁的变化. *北京林业大学学报* 2002 24 (56) :84~88.
- [18] 马焕成, 王沙生, 蒋湘宁. 盐胁迫下胡杨的光合和生长响应. *西南林学院学报* ,1998 18 (1) :33~41.
- [19] 万东石, 李红玉, 周攻克, 等. 虫害对不同水分条件胡杨披针形叶活性氧代谢的影响. *应用生态学报* ,2004 15 (5) :849~852.
- [23] 沈文飏, 徐朗莱, 徐茂炳, 等. 抗坏血酸过氧化物酶活性测定的探讨. *植物生理讯* ,1996 32 (3) :203~205.
- [25] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系. *植物生理学通讯* ,1990, (6) :55~57.
- [26] 李合生. 考马斯亮蓝 G-250 染色法. 见: 李合生主编. *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社, 2002, :184~185.
- [32] 王瑞刚, 陈少良, 刘力源, 等. 盐胁迫下三种杨树的抗氧化能力与耐盐性研究. *北京林业大学学报* 2005 5 27 (3) :46~52.
- [42] 陈坤明, 宫海军, 王锁民. 植物抗坏血酸的生物合成、转运及其生物学功能. *西北植物学报* 2004 24 (2) :329~336.
- [43] 陈坤明, 宫海军, 王锁民. 植物谷胱甘肽代谢与环境胁迫. *西北植物学报* 2004 24 (6) :1119~1130.