

干旱胁迫对红松幼苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响

阎秀峰, 李晶, 祖元刚

(东北林业大学森林植物生态学开放研究实验室, 哈尔滨 150040)

摘要:随着土壤的逐渐干旱, 红松(*Pinus koraiensis* Sieb. et. Zucc)幼苗叶中膜质过氧化产物丙二醛(MDA)含量和膜相对透性均在干旱处理后第3天迅速上升, 组织自动氧化速率先是增加, 在干旱处理第3天后恢复到处理前水平, 保护酶SOD、POD、CAT的活性明显提高, 只有ASP的活性下降。用PEG模拟干旱胁迫与土壤自然干旱胁迫结果略有不同, -1.0 MPa PEG溶液对红松幼苗具有较为明显的干旱胁迫效应, 而-0.4 MPa PEG不仅对红松幼苗无明显伤害, 在处理初期还使MDA含量明显减少, 表明低浓度PEG可能对红松幼苗具有一定的保护作用。

关键词:红松幼苗; 干旱胁迫; 保护酶; 丙二醛; 膜相对透性; 组织自动氧化速率

Effect of drought stress on activity of cell defense enzymes and lipid peroxidation in korean pine seedlings

YAN Xiu-Feng, LI Jing, ZU Yuan-Gang (Open Research Laboratory of Forest Plant Ecology, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: Under the soil drought stress, content of MDA, that is the product of lipid peroxidation, and electrolyte leakage in the needles of korean pine (*Pinus koraiensis* Sieb. et. Zucc) seedlings increased suddenly after 3 days of drought treatment. Autoxidation rate increased in the beginning and after 3 days stress it decreased to the level of that before the stress. Activity of cell defense enzymes SOD, POD and CAT all increased markedly and ASP activity decreased. The results of PEG drought stress are different from that of soil drought stress in some way. The treatment of -1.0 MPa PEG solution had obvious drought stress effect to the seedling. But the treatment of -0.4 MPa PEG solution did no harm to the seedling, even in the beginning it can make the content of MDA decreasing significantly. This indicates that PEG solution of low concentration perhaps has some protective function for korean pine seedlings.

Key words: drought stress; *Pinus koraiensis*; cell defense enzyme; MDA; electrolyte leakage; autoxidation rate

文章编号: 1000-0933(1999)06-0850-05

中图分类号: Q945.79

文献标识码: A

关于干旱胁迫引起膜脂过氧化及保护酶系统与抗旱性关系的研究目前已受到普遍重视^[1~3]。自由基伤害学说认为, 正常情况下植物细胞中存在着自由基及一些活性氧的产生和清除的两个过程。植物在逆境或衰老过程中, 细胞内自由基代谢的平衡被破坏而有利于自由基的产生, 过剩自由基的毒害之一是引发或加剧膜脂过氧化, 造成细胞膜系统的损伤^[4]。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(ASP)等能够有效地清除这些自由基, 是酶促防御系统(即保护酶系统)的重要组成部分。SOD能以O₂⁻为基质进行歧化反应, CAT可分解H₂O₂, POD也可清除细胞内有害自由基并能促化有毒物质, ASP目前被认为是叶绿体中清除H₂O₂的关键酶。人们已应用自由基理论对干旱胁迫下的许

基金项目: 黑龙江省杰出青年基金资助项目

收稿日期: 1999-02-04; 修订日期: 1999-08-04

多植物如小麦^[3,5]、花生^[6]、玉米^[7]、苏格兰松^[1]等的生理过程进行了研究。本研究采用土壤自然干旱和 PGE 模拟干旱的方法处理红松(*Pinus koraiensis* Sieb. et. Zucc.)幼苗,测定了幼苗针叶中 MDA 含量、膜相对透性及保护酶 SOD、POD、CAT、ASP 活性的变化,旨在探讨干旱胁迫对红松幼苗的伤害与膜脂过氧化的关系以及保护酶系统与抗旱性的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料及干旱处理

实验材料为东北林业大学帽儿山实验林场的 3 年生红松幼苗。8 月份移回实验室,盆栽后于人工气候箱中预培养 1 周,昼/夜温度为 25℃/20℃,照光强度约为 120 $\mu\text{mol photons/m}^2 \cdot \text{s}$,照光时间为每日 14h,相对湿度 55%,盆中土壤水分控制在 20% 左右。

土壤干旱处理:停止供水,使土壤含水量逐渐下降;PEG 溶液模拟干旱处理:用 PEG-6000 配成水势分别为 -0.4MPa 和 -1.0MPa 的两种溶液,将预培养的红松幼苗根系洗净,分别浸入上述 PEG 溶液中进行干旱处理。处理后红松幼苗针叶相对含水量(水分占干重的百分比)的变化情况见表 1。

表 1 干旱胁迫过程中红松幼苗针叶相对含水量(%)的变化

Table 1 Change of relative water content in needle of Korean pine seedling under drought stress

干旱处理 Drought stress	干旱时间 Drought stress time (d)				
	0	1	2	3	4
土壤自然干旱 Soil drought stress	80.99±1.18	78.16±2.01	74.21±1.29	70.91±2.54	67.32±2.38
-0.4(MPa PEG)	80.75±0.73	80.63±1.54	78.02±1.66	77.51±2.08	76.78±1.74
-1.0(MPa PEG)	81.34±1.01	82.94±2.89	79.44±2.21	77.11±1.89	75.34±1.49

分别在处理后 0d、1d、2d、3d、4d 取红松幼苗针叶测定各项指标,每项测定选择 3 盆,测定时重复 3 次。

1.2 酶活性等指标的测定方法

SOD 活性按 Giannopolitis 和 Ries 的方法^[8]测定,以每单位时间内抑制光化还原 50% 的氮蓝四唑(NBT)为一个酶活性单位(U);POD 活性采用愈创木酚显色法^[9]测定;CAT 活性按 X. H. 波钦诺克的硫代硫酸钠滴定法^[10]测定;ASP 活性按沈文彪、徐朗莱的方法^[11]测定;膜相对透性按李锦树等的方法^[12]测定,以样品煮前电导率占煮后电导率的百分比表示;MDA 及组织自动氧化速率按李伯林、梅慧生的方法^[13]测定。

2 结果与分析

2.1 土壤干旱胁迫对各项指标的影响

从图 1 可以看出,随着干旱天数的增加,MDA 含量呈上升趋势。但在干旱后的前 2 天变化幅度较小,与干旱处理前(0d)没有显著差异,而在第 3 天出现了急剧的增加。膜透性的变化与 MDA 含量变化极其相似(图 2),二者呈显著正相关关系($r=0.93$)。在土壤逐渐干旱的过程中,组织的自动氧化速率呈现出与 MDA 含量相反的变化趋势(图 1),二者呈负相关关系($r=-0.94$)。

随着土壤含水量的逐渐减少,保护酶系统也发生了明显的变化(图 3)。SOD 和 CAT 在 4d 的干旱胁迫进程中,酶活性持续升高,POD 活性前 2 天提高,随后下降。只有 ASP 活性随着土壤水分的减少而持续下降。

2.2 PEG 模拟的干旱胁迫对各项指标的影响

图 4、图 5 表明 -1.0MPa PEG 溶液处理后,MDA 含量和膜透性总体上都呈增加趋势(MDA 含量在第 1 天有所下降)。而 -0.4MPa PEG 处理后 MDA 含量与处理前(0d)相比显著下降(图 4),虽然在后 2 天有所回升,但含量仍低于处理前。膜透性在前 2 天稍有下降,后 2 天开始上升并高于处理前,但上升幅度远小于 -1.0MPa 的处理。

在 PEG 模拟的干旱胁迫下,保护酶活性的变化(图 6)与土壤干旱胁迫的情况略有不同。在 -0.4MPa

和 -1.0MPa PEG 处理后, CAT 活性逐步升高, 这与土壤干旱胁迫相似。SOD 活性先升高后下降。ASP 和 POD 在 PEG 处理后, 酶活性呈波动性下降。将 -1.0MPa 和 -0.4MPa 两组处理比较可知, -0.4MPa PEG 处理后, 各酶活性随时间变化的曲线平缓且波动性小, 而 -1.0MPa PEG 处理后, 酶活性具有较大范围的波动。

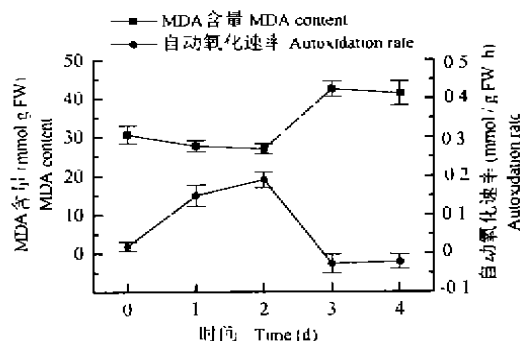


图1 土壤干旱胁迫对MDA含量及自动氧化速率的影响

Fig. 1 Effect of soil drought stress on MDA content and Autoxidation rate

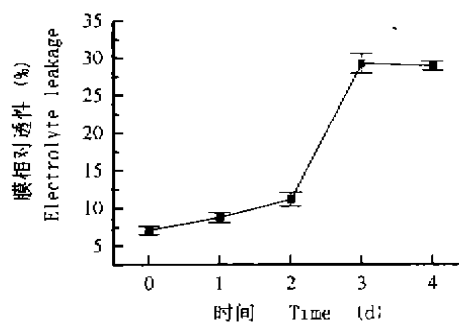


图2 土壤干旱胁迫对膜相对透性的影响

Fig. 2 Effect of soil drought stress on electrolyte leakage

3 讨论

3.1 土壤干旱胁迫对红松幼苗的影响

随着土壤水分的逐渐减少, 红松幼苗针叶中MDA含量增多, 膜相对透性增大, 且二者呈显著正相关关系。这表明红松幼苗的膜系统受到了损伤, 并且这种损伤与膜脂的过氧化作用密切相关。同时也可证明本实验的干旱胁迫处理是有效的。停止浇水以后, 土壤的干旱是一个持续加剧的过程, 胁迫进程中的前2天MDA含量及膜相对透性比较平稳, 这意味着干旱胁迫尚未引起膜的损伤, 而在第3天由于胁迫程度超过了一定的阈值, 引起脂质过氧化作用加强, 从而导致膜的突然损伤。

膜脂过氧化作用涉及到多种活性氧及酶促和非酶促保护系统的复杂平衡关系, 为了表示机体总的清除自由基的能力, 李伯林、梅慧生^[11]在燕麦叶片衰老的研究中采用了叶片组织自动氧化速率(autoxidation rate)的概念, 即提取液于 25C 暴露于空气中震荡一定时间, 然后测定MDA的积累速率。一般认为自动氧化速率越小, 组织的潜在保护能力越强, 反之越弱。张木清、余松烈^[14]在水分胁迫下蔗叶的研究中发现, 随着土壤含水量的降低, MDA含量和组织自动氧化速率均呈指数增加。但在本实验中随着土壤的逐渐干旱, 组织自动氧化速率先增加, 而后当MDA含量迅速增加时则恢复到干旱处理前的水平。这说明红松幼苗在干旱胁迫下当膜脂过氧化作用加剧及膜的损伤加重时, 细胞本身潜在的修复能力并没有丧失。

几种保护酶的活性变化在干旱胁迫的前期和后期有所不同。在逐渐干旱的前2天中, SOD、POD、CAT活性均明显提高, 只有ASP活性下降。总体来讲, 保护酶清除自由基的能力在干旱胁迫的初期迅速提高, 这可能是MDA含量和膜透性在干旱胁迫的前2天保持平稳的原因。在干旱胁迫进行至第3天时, CAT和SOD活性虽然继续上升, 但上升的速率在下降, 而POD活性则迅速降低, ASP活性以更快的速度下降。总体上看, 保护酶系统防御功能不断增强的趋势已不存在, 从而导致MDA含量和膜透性的突然增加。由此看

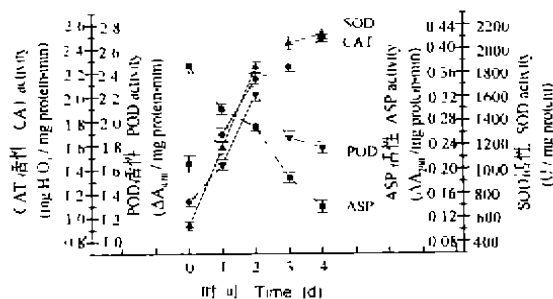


图3 土壤干旱胁迫对保护酶活性的影响

Fig. 3 Effect of soil drought stress on activity of cell defense enzymes

来,在土壤干旱的初期,红松幼苗的保护酶系统具有积极的防御性反应,清除自由基及活性氧的能力增强,但当干旱胁迫达到一定程度时,保护酶系统的保护能力下降,导致活性氧代谢失调,膜脂过氧化作用加剧,同时膜的损伤也进一步加强。

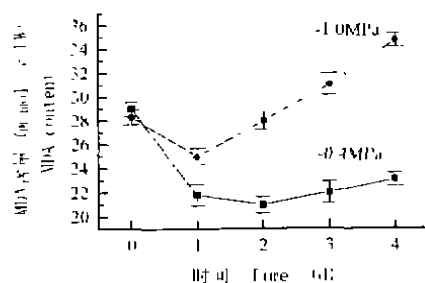


图4 PEG 干旱胁迫对MDA含量的影响

Fig. 4 Effect of PEG drought stress on MDA content

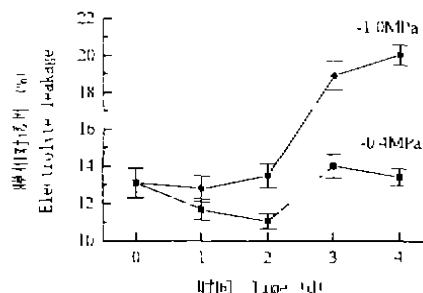


图5 PEG 干旱胁迫对膜相对透性的影响

Fig. 5 Effect of PEG drought stress on electrolyte leakage

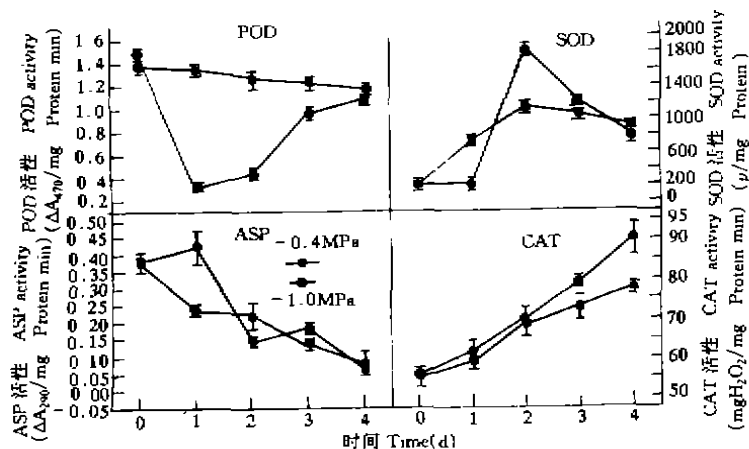


图6 PEG 干旱胁迫对保护酶活性的影响

Fig. 6 Effect of PEG drought stress on cell defense enzymes activity

3.2 PEG 模拟的干旱胁迫对红松幼苗的影响

实验表明,用PEG溶液模拟的干旱胁迫与土壤的自然干旱胁迫结果有不同之处。在-1.0MPa PEG的处理下,根系从环境中吸水困难,膜脂过氧化作用加强,MDA含量提高,膜的相对透性也随之增加,可以认为是膜的过氧化作用引起了膜的损伤。而在-0.4MPa PEG的处理下,MDA含量不但没有增加,反而减少,而且在4d的胁迫进程中一直低于胁迫前的水平。同时,膜的相对透性先是略微降低而后又恢复到胁迫前的水平。经-0.4MPa PEG处理后MDA含量和膜相对透性的变化,说明低浓度的PEG可能减弱膜脂的过氧化作用,对膜脂过氧化起到一定的防御作用。另一方面,MDA含量与膜透性变化的不一致也暗示了膜的损伤不完全由膜脂的过氧化作用引起,还有其它的过程参与了膜的损伤。

PEG溶液处理后,保护酶中SOD和CAT活性上升,而POD和ASP活性下降,整个保护酶系统的防御能力的变化取决于这几种酶彼此协调的综合结果。-1.0MPa PEG处理4d后,各种保护酶的活性水平与-0.4MPa处理的相差并不显著,但胁迫过程中酶活性的变化幅度要比-0.4MPa处理的大得多(CAT除外)。可见,当由于较强的胁迫因素作用于植物引起体内水分平衡突然遭到破坏时,保护酶系统难以做出

迅速而适当的调节,从而导致酶活性忽高忽低,胁迫强度越大,波动就越大。在这种情况下,膜脂过氧化作用的加剧很可能是由于酶活性的不稳定造成的,而并非与酶活性的绝对降低直接相关。

因为 PEG 溶液处理是使植物在正常情况下突然遇到高渗溶液而导致吸水困难,这种突然的胁迫与土壤水分逐渐减少的干旱胁迫是不同的,因而 MDA 含量、膜相对透性及保护酶在这两种情况下发生的变化也不同或只在局部上有相似性。

参考文献

- [1] Hcque E, Dathe W, Tesche M, *et al.* Absciscic acid and its beta-D-lucopyranosyl ester in saplings of Scots Pine in relation to water stress. *Biochemieund-Physiologie-der-Pflanzen*, 1983, **178**(4), 287~295.
- [2] Quartacci MF and Navari Izzo F. Water stress and free radical mediated changes in sunflower seedling. *J Plant Physiol*, 1991, **139**(5), 621~625.
- [3] 吕庆, 郑荣梁. 干旱及活性氧引起小麦膜脂过氧化与脱脂化. 中国科学(C 辑), 1996, **26**(1): 26~30.
- [4] Mccord J M and Fridovich J. Superoxide dismutase, An enzymic function for erythrocytein (Hemocaprein). *J Biol Chem.*, 1969, **224**, 6049~6055.
- [5] 曾福礼, 张明凤, 李玉峰. 干旱胁迫下小麦叶片微粒体活性氧自由基的产生及其对膜的伤害. 植物学报, 1997, **39**(12): 1105~1109.
- [6] 潘瑞炽, 豆志杰, 叶庆生. 茉莉酸甲酯对水分胁迫下花生幼苗 SOD 活性和膜脂过氧化作用的影响. 植物生理学报, 1995, **21**(3), 221~228.
- [7] 沈秀瑛, 徐世昌, 戴俊英. 干旱对玉米叶 SOD、CAT 及酸性磷酸酯酶活性的影响. 植物生理学通讯, 1995, **31**(3), 183~186.
- [8] Griannoplitis C N and Ries S K. Superoxide diasmutase I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.*, 1977, **59**, 309.
- [9] 刘祖琪, 张石城. 植物抗性生理学. 北京: 中国农业出版社, 1994.
- [10] 波钦诺克 X H. 荆家海, 丁钟荣译. 植物生物化学分析方法. 北京: 科学出版社, 1981.
- [11] 沈文彪, 徐郎莱, 叶茂炳, 等. 抗坏血酸过氧化物酶活性测定的探讨. 植物生理学通讯, 1996, **32**(3): 203~205.
- [12] 李锦树, 王洪春, 王文英. 干旱对玉米叶片细胞膜透性及膜脂的影响. 植物生理学报, 1983, **9**(3): 223~229.
- [13] 李伯林, 梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系. 植物生理学报, 1989, **15**(1): 6~12.
- [14] 张木清, 余松烈. 水分胁迫下蔗叶活性氧代谢的数学分析. 作物学报, 1996, **22**(6): 729~735.