

DOI: 10.5846/stxb201306131701

周瑞莲, 杨淑琴, 黄清荣, 左进城, 陈娟丽, 李赞. 小叶锦鸡儿抗沙埋生长与抗氧化酶及同工酶变化的关系. 生态学报, 2015, 35(9): 3014-3022.
Zhou R L, Yang S Q, Huang Q R, Zuo J C, Chen J L, Li Z. The relationship between growth of *Caraganas stenophylla* and the activities and isoforms of protective enzymes under different depths of sand burial. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(9): 3014-3022.

小叶锦鸡儿抗沙埋生长与抗氧化酶及同工酶变化的关系

周瑞莲*, 杨淑琴, 黄清荣, 左进城, 陈娟丽, 李 赞

鲁东大学 生命科学学院, 烟台 264025

摘要:小叶锦鸡儿(*Caraganas tenophylla* L.)是广泛应用于流动沙丘治理的优良固沙植物。然而关于其抗沙埋生理机理目前尚不清楚。选择生长在科尔沁沙地的小叶锦儿为试验材料,依据株高对其进行不同程度沙埋(轻度、中度、重度沙埋),并通过测定沙埋过程中植株高度、不同部位叶片丙二醛(MDA)含量、抗氧化酶活力、抗氧化酶同工酶谱变化,以揭示其抗沙埋生理适应机理和基因调控机理。结果表明:沙埋 6d,植株各部位生长加快,尤其是顶部和基部生长更快。叶片 MDA 含量降低、整株植物叶片平均过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、过氧化物歧化酶(SOD)活力增加,但重度沙埋使抗氧化酶活力下降。沙埋 12d,植株各部位生长继续加大,沙下叶片凋落。与对照相比,沙上叶片 MDA 含量成倍增加,并与叶片 POD、SOD 和 CAT 活力的大幅度提高呈正相关,并与对照差异显著($P < 0.01$)。同时,不同厚度沙埋 6d,叶片 CAT 同工酶出现两新带 CAT III 和 CATII; POD 同工酶谱带(6 条酶带)随沙埋厚度增加,叶片 PODII 区带加宽、色加深,POD I 和 POD III 酶带消失。但是,不同厚度沙埋下,沙上和沙下叶片 CAT、SOD 和 POD 酶谱带数和活力均相同。这表明在沙埋应激适应反应期(6d),叶片抗氧化酶活力的增强与抗氧化酶基因表达增强和基因启动有关。受到沙埋重力胁迫的成熟叶可能将胁迫信号传递给沙上没有沙埋的叶子及生长点,导致整株叶片产生整体适应性反应,激活抗氧化酶系统,以致加速生长。因此,小叶锦鸡儿萌蘖生物学特性和抗氧化酶对沙埋胁迫快速响应在维护氧自由基代谢平衡和植株快速恢复生长中起重要保护作用。

关键词:小叶锦鸡儿(*Caraganas tenophylla*); 沙埋; 抗氧化酶; 同工酶

The relationship between growth of *Caraganas stenophylla* and the activities and isoforms of protective enzymes under different depths of sand burial

ZHOU Ruilian*, YANG Shuqin, HUANG Qingrong, ZUO Jincheng, CHEN Juanli, LI Zan

School of Life Sciences, Ludong University, Yantai 264025, China

Abstract: The shrub *Caraganas stenophylla* is widely distributed and used as a sand binding plant on moving sand dunes in China. The physiological mechanisms involved in *C. stenophylla* responds to coverage with sand are unknown. Therefore we investigated responses to three levels of sand burial based on plant height: light (1/4 plant height), modest (2/4 plant height), and severe (3/4 plant height) as compared with controls (no sand burial). To understand the physiological and molecular regulatory mechanisms for *C. stenophylla* in adaption to sand burial, changes in length of different parts of plant stems were observed 3 days (d), 6d, 9d, and 12d after sand burial treatment and contents of malondialdehyde (MDA) and activities of antioxidant enzymes peroxidase (POD), catalase (CAT), and superoxide dismutase (SOD) were measured 6d and 12d after treatment. CAT and POD isozymes were also analyzed in leaves 6d after sand burial treatment. Results showed that 6d after sand burial treatment, growth rates of different parts of the stem increased as burial deepened.

基金项目:国家重点基础研究发展计划(2009CB421303); 国家自然科学基金项目(30972422); 中国科学院方向性项目(KZCXZ-YW-431)

收稿日期:2013-06-13; **网络出版日期:**2014-08-01

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhoul726@163.com

At the same time, MDA content in the leaves decreased and activities of CAT, POD and SOD in different plant parts increased under light and modest sand burial treatments. Growth rate was higher 12d after treatment than at 6d after treatment but the leaves under sand died. Meanwhile, MDA content and SOD activity were markedly increased by 64% and 121% in leaves above sand under modest and severe sand burial. CAT activity in leaves above sand was also higher under light and modest sand burial. POD activity in the leaves under different depths of sand burial was higher by 308%—104%. SOD activity was higher by 32% and 233% in the leaves with modest and severe sand burial compared with controls. This suggests that the higher growth rate during 7—12d was positively correlated with higher activities in protective enzymes, and increases in antioxidant capacity after sand burial, which might have played an important role in the stem growth and the balance of oxygen free radical metabolism. Analysis of isomers of antioxidant enzymes by native-PAGE and activity staining revealed new isoforms, CAT III and CATII, in the leaves with modest and severe sand burial, and their concentrations were enhanced by sand burial. There are six isoforms of POD; POD II intensity increased with increasing depth of sand burial; a new band, POD IV, was observed while POD I and POD III disappeared. This suggests that during acclimation to sand burial, the activity of protective enzymes is highly related to differential gene expression. Isoforms of CAT, POD and SOD in the leaves over sand were similar to those under sand 6d after sand burial, which indicates that the signal of sand burial was transduced from leaves under sand to leaves over sand, resulting in the whole plant receiving the signal of sand stress to adapt to sand burial. Therefore, differential gene expression plays an important role in increasing protective enzyme activity to maintain the balance of oxygen free radical metabolism in *C. stenophylla*.

Key Words: *Caragana tenophylla*; sand burial; antioxidant enzyme; enzyme isoform

在气候干旱地区,强烈的风沙流活动引起的沙埋,不仅影响着沙生植物分布、沙地植物群落建成^[1]、植被的演替^[2],还影响当地居民的生活和国家的生态安全。选择耐沙埋植物建设阻沙林、固沙林和农田草场防护林可以在抑制风沙活动、维护当地工农业生产持续发展、维护群落结构稳定发挥其重要作用^[3]。小叶锦鸡儿广泛分布与我国“三北”地区,在科尔沁沙地流动沙丘治理过程中,小叶锦鸡儿作为一种优良固沙植物被广泛应用^[4]。其抗沙埋生长的基因是未来作物、果树和牧草抗风沙育种的靶基因,在农业和畜牧业上具有重要应用潜力。揭示其抗沙埋生理生化和分子基因调控机理,对小叶锦鸡儿抗沙埋基因的开发利用具有重要应用价值。

关于沙埋与植物生长的研究发现,适度沙埋可促进白刺种群性状发育,获得高生长和生物量^[5]。*Ammophila breviligulata* 的分蘖芽数、根茎数、水平根茎节间长度、垂直根茎数及地上地下生物量均随着沙埋深度增加而增加^[6]。生长在流动沙地的物种耐沙埋能力最强,能够从埋深为其自身高度 35 倍的覆沙下萌出^[7]。刺叶墙藓在 2 mm 沙埋厚度下生长良好,大于 2 mm 的沙埋厚度则不利于植株碎片的生长,甚至导致其死亡^[8]。对小叶锦鸡儿研究也发现,轻度沙埋可促进小叶锦鸡儿幼苗地上茎叶和地下根系的生长和生物产量的提高,中度沙埋仅可促进其根系生长和生物产量的提高,只有重度沙埋和严重沙埋才可对其生长造成严重威胁,甚至导致死亡^[9-10]。可见,适度沙埋不仅有利于植物的生长和繁殖^[9,11],而且还可改变植物体内物质和能量的分配^[12]。但目前尚不清楚沙埋胁迫下,沙生植物维持快速生长、摆脱沙埋的生理适应机理和基因调控机理。

对沙生植物抗逆机理研究发现,在人工土壤反复干旱复水处理中,两种差巴嘎蒿叶片抗氧化酶活力随土壤干旱加剧而增高,随灌水而降低^[13]。在自然条件下,3 种岩黄芩和油蒿在干旱时抗氧化酶活力增高^[14],沙拐枣 (*Calligonum mongolicum*)、梭梭 (*Haloxylon ammodendron*) 和沙枣 (*Elaeagnus angustifolia*) 叶内抗氧化酶活性与活性氧含量成负相关^[15],而且沙生植物种群优势度的增加和种群抗氧化能力增强呈正相关^[15]。此外,高温干旱区生长的狭叶锦鸡儿 (*Caragana tenophylla*) 日常叶片 SOD 和 POD 活力明显高于生长在半湿润半干旱区的小叶锦鸡儿 (*Caragana microphylla*)^[16]。研究表明,沙漠环境生长的植物抵御恶劣环境的能力与其

细胞具有较强的抗氧化能力密切相关^[17]。研究还发现,生物体处于逆境环境时,体内的抗氧化酶同工酶表达会发生显著的变化,并与植物抗逆性密切相关^[18-19]。尽管目前有少量研究已表明抗氧化酶在适应沙埋、维护氧自由基代谢平衡、促使植物快速摆脱沙埋具有重要作用^[20-22]。然而目前尚不清楚,沙埋胁迫下沙生植物快速生长模式是否与抗氧化酶维护氧自由基代谢平衡有关,以及抗氧化同工酶变化与沙埋响应模式间关系和在沙埋适应中基因调控作用。

本研究以生长在科尔沁沙地的小叶锦鸡儿为试验材料,通过不同厚度沙埋处理下,不同节位茎生长速率、叶片 MDA 含量、抗氧化酶活力以及抗氧化同工酶分析,揭示沙埋胁迫处理下茎快速生长与抗氧化酶保护的关系、解剖沙埋程度与抗氧化同工酶的基因表达趋势及调控机制,为我国半干旱沙区植物引种、培育和防风固沙树种选择提供科学依据,丰富沙漠科学理论。

1 材料与方法

1.1 研究区自然状况

研究区设在内蒙古奈曼旗中科院奈曼野外试验站。该地位于东经 120°19′—21°35′,北纬 42°14′—43°32′。该地区属于半干旱大陆性气候,年平均降水量为 351.6mm,年平均气温 6.9℃,无霜期 140—151 d。土壤为沙质栗钙土,由于受沙漠化的影响,大部分已经演变为风沙土。主要植物有差巴嘎蒿 (*Artemisia halodendron*)、胡枝子 (*Lespedeza bicolor* Turcz.)、猪毛菜 (*Salsola collina* Pall.)、小叶锦鸡儿 (*Caragana microphylla* Lam) 等。

1.2 沙埋试验地选择和试验材料的标记

在奈曼野外试验站选择开阔、平坦、小叶锦鸡儿 (*Caragana microphylla*) 生长密集的地块为样地,并除去杂草,将样地插牌作标记。沙埋之前,首先在标记的试验地块中选择株高 40cm 左右、长势一致、植株上叶片分布均匀的植株若干,并编号挂牌标记。然后用记号笔在标记的植株茎近地表处、1/4 处、2/4 处、3/4 处做标记,以便测定生长速率。

1.3 沙埋处理

对小叶锦鸡儿沙埋预试验表明,全埋 3—6d 植株叶片脱落而死亡,无法取到叶片。故本实验设立四个沙埋梯度:0(对照)、轻度沙埋(1/4 株高)、中度沙埋(2/4 株高)、重度沙埋(3/4 沙埋)。每个处理至少包含 20 株。沙埋处理,即将纸盒子按沙埋梯度剪成面积约为 1—2 m² 的方框。按沙埋厚度选取方框将所选植株框起,然后收集地表干沙往框内外覆沙至框高,同时一边覆沙,一边尽量将叶片捋直。沙埋后将方框去除,沙埋区域周围再补充少量沙与地面成斜坡状与自然沙地成一体。最后将沙埋处理区域标记。

1.4 试验方法

1.4.1 生长势的测定和试验取材

在沙埋的 0 天、第 3 天、第 6 天、第 9 天、第 12 天,从每一沙埋处理中随机选取邻近的 5 株。小心用手将沙子剥去,用钢卷尺分别测量各部位长度,即用钢卷尺从茎底部标记处开始测量至 1/4 处、至 2/4 处、至 3/4 处,以及到顶部的高度。然后用剪刀将各部位叶片剪下,迅速包裹用液氮固定,用于叶片丙二醛含量、抗氧化酶活力、以及抗氧化酶同工酶谱分析。

1.4.2 酶液制备

酶的提取是在 4℃ 条件下进行的。从液氮固定的材料中随机称取一定量的样叶于预冷钵中,加入酶提取液(磷酸缓冲液,pH 值=7.8),冰浴上研磨成匀浆,在 15000 r/min 4℃ 条件下离心 15 min,上清液用于 MDA、抗氧化酶活力和抗氧化酶同工酶测定。每个处理的酶液提取重复 2 次。

1.4.3 生理指标测定

采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化还原法测定 SOD 活性^[23];采用过氧化氢碘量法测定 CAT 活性^[24];采用张志良等^[25]愈创木酚法测定 POD 活性、硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定丙二醛(MDA)含量,每个指标重

复 5 次。

1.4.4 同工酶分析

采用聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳技术分析抗氧化酶同工酶。凝胶制备和电泳条件按胡能书^[26]法分离、染色 SOD、POD 和 CAT 同工酶。

1.5 数据处理

实验数据采用 3 个以上重复的平均值±标准差 (mean±SD), 用 SPSS 11.5 软件进行数据分析。整个实验重复两次, 结果相同, 这里仅报告一次的结果。

2 结果与分析

2.1 不同厚度沙埋下小叶锦鸡儿植株生长势比较

为了能了解小叶锦鸡儿茎生长特点, 试验将标记的植株茎分为 4 段(顶部、第二节、第三节和基部), 并测定了 12 d 内不同节位长度。结果表明, 植株顶部和基部生长速率相近, 第二和第三节位生长速率相近, 且前者较后者略高 51% (图 1)。不同厚度沙埋对植株生长影响不同。轻度沙埋对植株生长的影响不明显。但中度和重度沙埋明显提高了植株生长速率。中度和重度沙埋 12 d, 株高净增幅度较对照分别高 24% 和 22%。同时沙埋 12 d 中, 植株生长速度略不同。其中沙埋后 6 d (7—12 d) 植株生长速率高于前 6 d (0—6 d)。在轻度、中度和重度沙埋下, 后 6 d 株高净增长较前 6 d 分别高 45%、133% 和 145%。

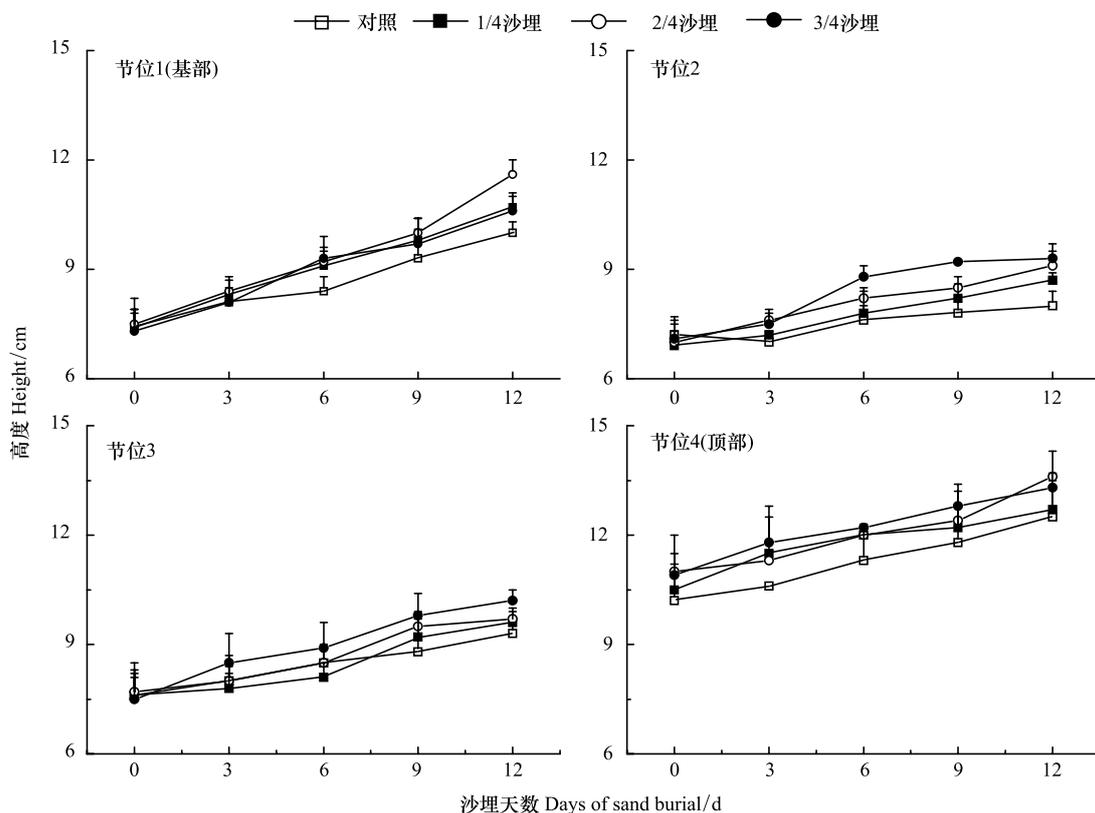


图 1 不同厚度沙埋过程中, 小叶锦鸡儿不同部位茎生长速率对比

Fig.1 Comparison of growth rate of different sections in the stem of *Caragana microphylla* under different depth of sand burial

2.2 不同厚度沙埋下小叶锦鸡儿叶片 MDA 含量和抗氧化酶活力的变化

不同厚度沙埋 6 d 均使小叶锦鸡儿叶片膜脂过氧化产物 (MDA) 降低 ($P < 0.05$) (图 2)。轻度、中度和重度沙埋使叶 MDA 含量分别降低 67%、43% 和 73%。但不同厚度沙埋间和同株不同节位上叶片 MDA 含量差异不明显, 而且叶片 MDA 含量均随着沙埋时间的延长而显著升高 ($P < 0.05$)。沙埋 12 d, 沙下叶片脱落, 沙上

叶片 MDA 含量明显增高。与对照相比,中度和重度沙埋使沙上叶片 MDA 含量分别提高 64% 和 121%。同时,沙埋后 6 d,轻度、中度和重度沙埋沙上叶片 MDA 含量分别较前 6 d 沙上叶片 MDA 含量分别增加了 1、1.8、8 倍。

与对照相比,沙埋 6 d 并未使整株植物叶片平均 CAT 活力增加,但沙埋却提高了植株顶部叶片 CAT 活力。中度和重度沙埋下,顶部叶片 CAT 活力较对照增加了 69% 和 34% (图 2)。同时,沙埋也使同株不同部位叶片 CAT 活力出现不同变化。沙上叶片 CAT 活力增加,沙下叶片 CAT 活力下降。以至于在轻度、中度和重度沙埋下,沙上叶片 CAT 活力较沙下分别高 103%、17% 和 73%。沙埋 12 d 后,沙下叶片脱落。轻度和中度沙埋使沙上叶片 CAT 活力增高,重度沙埋引起叶片 CAT 活力下降(169%) (图 2)。

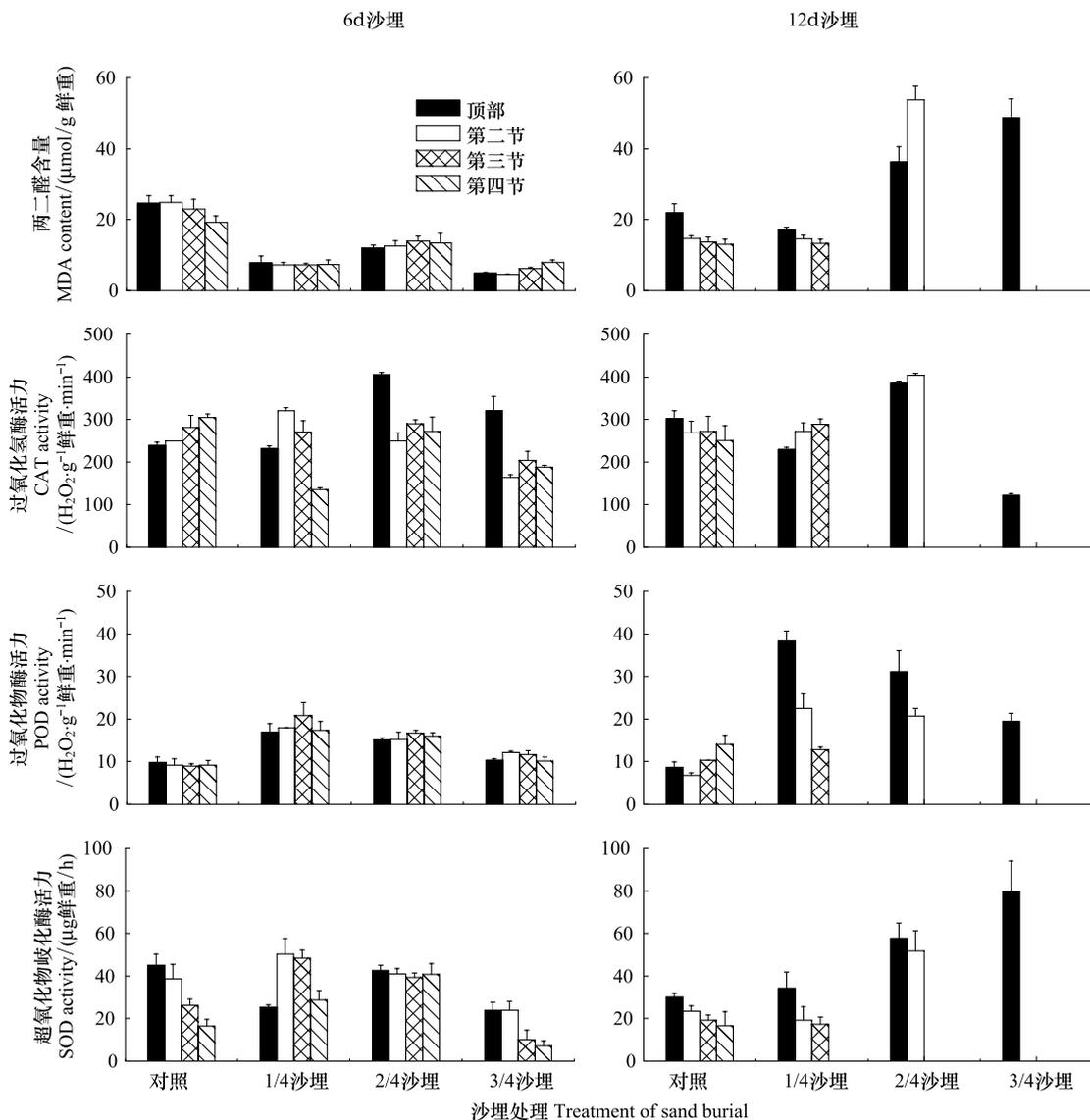


图 2 不同厚度沙埋 6d 和 12d 中,小叶锦鸡儿不同部位叶片丙二醛含量、过氧化氢酶、过氧化物酶和过氧化物歧化酶活力的变化

Fig.2 Changes of content of malondialdehyde (MDA), the activities of catalase (CAT), peroxidase (POD), and superoxide dismutase (SOD) in the leaves of different sections in the stem of *Caragana microphylla* under different depth of sand burial

不同厚度沙埋明显促使整株叶片 POD 活力的增加(图 2)。轻度、中度和重度沙埋使整株 POD 平均活力分别较对照高 95%、70% 和 19%, 并与对照差异显著($P < 0.05$)。随沙埋深度的增加,小叶锦鸡儿叶片 POD 活力增幅有所下降。然而,同株不同节位沙上和沙下叶片 POD 活力差异不显著。沙埋 12 d 后,沙上叶片 POD 持续增高,尤其是顶部叶片(图 2)。此时,在轻度、中度和重度沙埋下,顶部叶片 POD 活力分别较对照顶

部叶片高 308%、230%和 104%。但随沙埋厚度增加叶片 POD 活力增加幅度减小。而且沙埋后 6 d,沙上叶片 POD 活力持续增高,导致轻度、中度和重度沙埋下,沙上叶片 POD 活力较前 6 d 分别增高 35%、73%和 90%。

不同厚度沙埋 6 d,不同节位叶片 SOD 活力呈现不同变化。轻度和中度沙埋使整株叶片平均 SOD 活力小幅增高(20%),重度沙埋使 SOD 活力降低(图 2)。各处理与对照之间的 SOD 活力差异均不显著。同一植株沙上叶片 SOD 活力略高于沙下。沙埋 12 d 后沙下叶片脱落,沙上叶片 SOD 活力持续增高。其活力不仅明显高于同部位的对照,如轻度、中度和重度沙埋植株顶部叶片 SOD 活力分别较对照顶部高 13%、90% 和 163% (图 2),而且,沙上叶片 SOD 活力也明显高于沙埋前 6 d。中度和重度沙埋 12 d,沙上植株叶片 SOD 活力分别较对照同部位叶片高 32%、233%。同时,中度和重度沙埋 12 d,沙上植株 SOD 活力分别较 6 d 沙埋高 23% 和 230%。

2.3 不同厚度沙埋下小叶锦鸡儿叶片抗氧化酶同工酶谱变化

为了能了解小叶锦鸡儿耐沙埋的基因调控机理,本试验取不同厚度沙埋 6 d 的叶片分析了抗氧化酶同工酶。结果表明,不同厚度沙埋 6 d,叶片 CAT 同工酶谱表现不同。对照可检测出两条弱酶谱带(CATI、CATIV)(图 3)。不同厚度沙埋下 CATI 谱带几乎消失、CATIV 表现稳定。但不同厚度沙埋下出现新带 CAT III。在中度和重度沙埋下出现一条新带 CATII,酶带很亮活力很强。同株不同部位叶片 CAT 酶谱,沙上和沙下叶片 CAT 酶谱相同。

POD 同工酶谱总共检测到 6 条酶带,但在沙埋过程中,叶片 POD 同工酶谱带发生不同变化(图 4)。随沙埋厚度增加,叶片 PODII 区带加宽、色加深,活力增加非常显著,在中度和重度沙埋下新带 PODIV 出现。相反,POD I 和 POD III 酶带在沙埋处理过程中消失。PODV 和 PODVI 酶带在沙埋过程中稳定。但是,同株不同部位,沙上和沙下叶片 POD 酶谱带数和活力均相同。



图 3 不同沙埋处理下小叶锦鸡儿叶片 CAT 同工酶谱带变化

Fig.3 CAT isoenzymic zymogram in the leaves of *Caragana microphylla* under different depth sand burial

①顶部;②第二节位;③第三节位;④底部

从小叶锦鸡儿叶片中可检测到 3 条 SOD 同工酶谱带(图 5)。不同厚度沙埋处理中 3 条 SOD 同工酶谱带稳定,没有新带产生和消失。但不同沙埋 6dSODI 和 SODII 酶带宽度和亮度增高,酶活力增大。

3 讨论与结论

研究发现,小叶锦鸡儿幼苗在轻度沙埋时地上茎叶和地下根系的生长加速和生物产量增加,中度沙埋时根系生长加快和生物产量提高,仅重度沙埋和严重沙埋才可对其生长造成严重威胁,甚至导致死亡^[9-10]。结果也表明,正常情况下小叶锦鸡儿植株各部位生长速率相

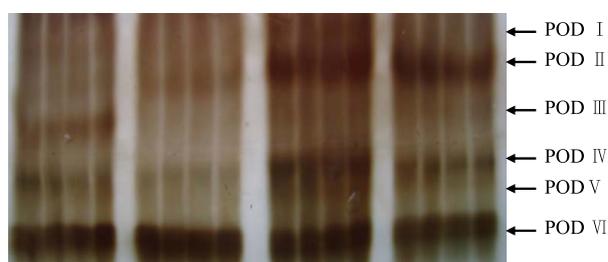


图 4 不同沙埋处理下小叶锦鸡儿叶片 POD 同工酶谱带变化

Fig.4 POD isoenzymic zymogram in the leaves of *Caragana microphylla* under different depth sand burial

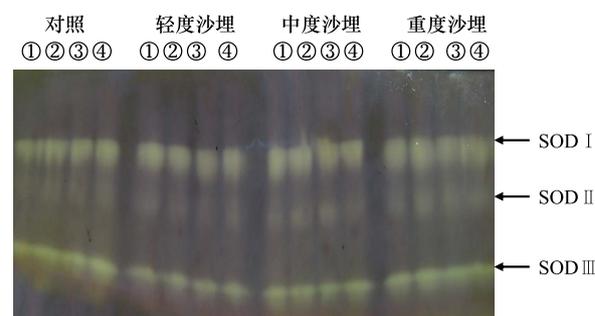


图 5 不同沙埋处理下小叶锦鸡儿叶片 SOD 同工酶谱带变化

Fig.5 SOD isoenzymic zymogram in the leaves of *Caragana microphylla* under different depth sand burial

近,但沙埋(中度和重度沙埋)明显提高植株生长率,尤其是顶部和基部。该生长特性不同于海岸沙地砂引草和单叶蔓荆。砂引草和单叶蔓荆在沙埋时植株主要通过茎顶部和匍匐茎顶部快速生长以摆脱沙埋的影响^[21-22]。而小叶锦鸡儿沙埋下生长特性与其特殊的生物学特性有关,即小叶锦鸡儿枝条具有很强的萌蘖能力。这种特性使得在植株处于沙埋胁迫时,受沙埋的沙下叶片无法行光合作用,会激活细胞的补偿功能,启动茎各部位生长,以快速摆脱沙埋影响。而这种刺激可能会随着沙埋程度加大而增强,而导致植株生长势也随着沙埋厚度增大而增高。同时在沙埋时,沙下损失的叶常为成熟叶或老叶,而沙埋后茎上长出的为新叶。沙埋引起植株新老叶片更替加速,在提高植株光合能力、维持植株持续生长有重要作用。加之,自然状况下,小叶锦鸡儿植株较高,一次经历全埋的可能性较小。所以小叶锦鸡儿特殊的生长特性可能是其不惧沙埋,沙子越埋,分枝越多,生长越旺的根本原因^[4]。

许多研究发现,极端温度^[27]、干旱^[28]、盐^[29]、高辐射^[30]等胁迫会引起植物体内活性氧形成,导致膜脂过氧化产物(MDA)增加。在正常和胁迫条件下抗逆性强的野生甜菜均较栽培甜菜具有较低的MDA^[31]。由于抗氧化酶活力变化在种间和基因型间存在明显差异^[32]。因此,测定MDA含量已成为筛选植物抗逆品种的一个工具^[32]。同时,植物抗逆性与植物抑制膜脂过氧化的抗氧化酶活力的维持和增高相关^[32,33]。

结果表明,沙埋12d中,后6d植株生长速率大于沙埋前6d。其中,在轻度、中度和重度沙埋后6d中,植株净增高度较前6d分别大45%、133%、和145%(图1)。而且,沙埋还明显提高了沙上叶片膜脂过氧化程度和抗氧化酶活力。在沙埋12d中,沙上叶片MDA含量、POD活力、CAT活力和SOD活力均随着沙埋时间的延长而显著升高($P<0.05$),导致沙埋后6d,沙上叶片MDA含量、POD活力、CAT活力和SOD活力不仅明显高于对照($P<0.05$),而且明显高于沙埋前6d($P<0.05$)。例如,与前6d相比,沙埋后6d在轻度、中度和重度沙埋下,沙上叶片MDA含量分别增加了1、1.8、8倍(图2)、POD活力分别提高了35%、73%、90%(图2);沙上植株叶片SOD活力分别提高32%、233%(中度和重度沙埋)(图2)。研究表明,沙埋引起沙上叶片膜脂过氧化加剧,并与抗氧化酶活力成正相关,沙埋后沙上叶片快速恢复生长与叶片抗氧化能力密切相关。由于植物体内活性氧自由基是光合生物氧化还原反应的必然副产物^[34]。短时间(6d)沙埋后沙下叶片由于黑暗、潮湿、光合作用受抑,氧自由基积累较少导致膜脂过氧化程度减低,MDA含量和抗氧化酶活力较低。但长时间沙埋(12d),造成其体内的抗氧化酶失去作用,引起氧自由基积累,膜脂过氧化程度加重,以及沙下叶片能量代谢失衡而死亡。但是短时间沙埋,沙上叶片在遭遇生存微环境的突然改变时,叶片的应激反应会使叶片光合代谢受抑、氧自由基积累较少、膜脂过氧化程度较低。由于抗氧化酶是诱导酶,短期沙埋使细胞中积累的氧自由基激活抗氧化酶系统,而导致抗氧化酶活力增高,同时又抑制了膜脂过氧化使MDA含量较低。随着沙埋时间的延长(12d),沙上叶片对沙埋的适应,生长加速,一方面光合作用速率增加使叶内氧自由基增多、膜脂过氧化加大、MDA含量增高。但另一方面,积累的氧自由基也激活抗氧化酶保护系统使抗氧化酶活力持续增高,以维护叶片氧自由基代谢平衡。这表明,植物抗沙埋与其植物抗氧化酶活力的维持和增高相关^[32-34]。在沙埋过程中抗氧化酶通过维护氧自由基代谢平衡、抑制膜脂过氧化,而在应激适应期(6d)和快速生长(12d)中起重要作用。

同工酶是植物体内最活跃的酶之一,其合成和活性始终受到遗传基因的控制和调节。不良环境常引起基因变异而使酶结构及其活性的改变,而导致同工酶酶谱变化^[35]。因为短期沙埋是植物体内细胞代谢变化较大的应激反应适应期,为此,本研究分析了短期沙埋(沙埋6d)下,小叶锦鸡儿叶片抗氧化酶同工酶酶谱。结果发现,在应激反应适应期,随着沙埋厚度增加小叶锦鸡儿叶片CAT同工酶谱带增加,出现两条新酶带(CATII, CATIII),并且新带在中度沙埋中的亮度大于重度沙埋(图3)。同样,在中度和重度沙埋处理下,叶片不仅PODII酶带加宽、色加深非常显著,而且还出现一条新带(PODIV)。其中该两个酶带宽度和色深度在中度沙埋处理明显大于重度沙埋(图4)。不同厚度沙埋处理中3条SOD同工酶谱带稳定,但不同程度沙埋均使酶带亮度加大(图5)。上述结果中CAT酶带增多、POD酶带加宽和色加深、SOD酶带亮度加大均与沙上叶片CAT、POD和SOD活力测定结果一致。该研究表明,在沙埋应激适应反应期,叶片抗氧化酶活力的增强与抗

氧化酶基因表达增强和基因启动有关。这同样预示着小叶锦鸡儿抗沙埋受基因调控,而沙埋重力胁迫是抗沙埋基因启动和增强的生态诱发因子。

另外,该结果还显示,不同厚度沙埋处理下,同株沙埋部位和没有沙埋部位叶片 POD、SOD、CAT 同工酶谱带数,色度和亮度相同。Karpinski^[36]曾将叶兰芥一部分叶片置强光下,另一部分叶片遮光。他发现遮光的叶片同样获得了光保护能力。Yono, S^[37]也发现,当生长点遮光,成熟叶置强光下,结果顶端产生的新叶能适应强光照。研究指出^[36-37],成熟叶所处环境决定了叶片发育分化,对光反应的信息可以从成熟叶传递给幼叶,同时植物展示了一种能力,即当一个植物的两个部分处于不同环境时,这两部分具有相互交流的能力,使植物具有系统获得适应“systemic acquired acclimation”的能力。因此,在沙埋处理中,沙埋部位均为成熟叶片,感受沙埋重力胁迫的成熟叶可能将胁迫信号传递给沙上没有沙埋的叶子及生长点,导致整个植株均获得胁迫信息,而引起整株叶片产生适应性反应,激活抗氧化酶系统,导致同株沙上和沙下抗氧化酶基因表达相同。同时,沙埋厚度越高、植株受到的重力胁迫强度越高,抗氧化酶基因启动或表达强度增大、叶片抗氧化酶系统反应越强烈,导致抗氧化酶活力增高。因此,沙埋胁迫诱发抗氧化酶基因表达使小叶锦鸡儿抗氧化能力增强可能是其适应沙埋的重要基因调控策略。

综上所述,沙埋可引起植物遭受重力胁迫,这种胁迫信号可通过受沙埋叶片传递给沙上叶片,使整株植物获得“系统反应”,引起整个植物对沙埋的适应反应。由于抗氧化酶同工酶能很快感知沙埋,它能快速提高抗氧化酶的基因表达量和活力、抑制膜脂过氧化、维护氧自由基代谢平衡。叶片经历沙埋应激适应期(6 d)后,沙上叶片 SOD、POD、CAT 活力增高,抗氧化能力和维护氧自由基代谢平衡的能力增高(12 d),从而在沙埋恢复期后期,沙上叶片植株生长势加大。小叶锦鸡儿抗沙埋生长与细胞抗氧化酶能力增强和维护氧自由基代谢平衡能力增大密切相关。因此,小叶锦鸡儿抗沙埋即取决于其特殊的萌蘖生物学特性,使沙埋重力胁迫成为植株下部生长和新枝条再生的动力。同时,抗氧化酶同工酶对沙埋敏感响应,通过提高 CAT、POD 同工酶表达量和活力和维护氧自由基代谢平衡能力,可能是其抗沙埋生长的重要基因调控机制。

参考文献(References):

- [1] Maun M A. Adaptations enhancing survival and establishment of seedlings on coastal dune systems. *Plant Ecology*, 1994, 111(1): 59-70.
- [2] Olf H, Huisman J, Van Tooren B F. Species dynamics and nutrient accumulation during early primary succession in coastal sand dunes. *Journal of Ecology*, 1993, 81(4): 693-706.
- [3] 赵哈林. 沙漠生态学. 北京: 科学出版社, 2012.
- [4] 曹成有, 蒋德明, 阿拉木萨, 骆永明, 寇震武, 刘世岩. 小叶锦鸡儿人工固沙区植被恢复生态过程的研究. *应用生态学报*, 2000, 11(3): 349-354.
- [5] 贾晓红, 李新荣, 李元寿, 周玉燕. 腾格里沙漠东南缘白刺种群性状对沙埋的响应. *生态学杂志*, 2011, 30(9): 1851-1857.
- [6] Disraeli D J. The effect of sand deposits on the growth and morphology of *Ammophila Breviligulata*. *Journal of Ecology*, 1984, 72(1): 145-154.
- [7] Luisa Martínez M, Maun M A. Responses of dune mosses to experimental burial by sand under natural and greenhouse conditions. *Plant Ecology*, 1999, 145(2): 209-219.
- [8] 聂华丽, 吴楠, 梁少民, 王红玲, 张元明. 不同沙埋深度对刺叶墙藓植株碎片生长的影响. *干旱区研究*, 2006, 23(1): 66-70.
- [9] 刘海江, 郭柯. 沙埋对中间锦鸡儿幼苗生长发育的影响. *生态学报*, 2005, 25(10): 2550-2556.
- [10] 何玉惠, 赵哈林, 赵学勇, 刘新平. 沙埋对小叶锦鸡儿幼苗生长和生物量分配的影响. *干旱区地理*, 2008, 31(5): 701-706.
- [11] Shi L, Zhang Z J, Zhang C Y. Effects of sand burial on survival, growth, gas exchange and biomass allocation of *Ulmus pumila* seedlings in the Hunshandak Sandland. China. *Annals of Botany*, 2004, 94(4): 553-560.
- [12] Harris D, Davy A J. Carbon and nutrient allocation in *Elymus farctus* seedlings after burial with sand. *Annals of Botany*, 1988, 61(2): 147-157.
- [13] Luo Y Y, Zhao X Y, Zhou R L, Zuo X A, Zhang J H, Li Y Q. Physiological acclimation of two psammophytes to repeated soil drought and rewetting. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2011, 33(1): 79-91.
- [14] 高天明, 闫志坚, 高丽. 四种沙漠植物的抗旱研究. *中国农业科技导报*, 2008, 10(2): 105-109.
- [15] 龚吉蕊, 赵爱芬, 张立新, 张新时. 干旱胁迫下几种荒漠植物抗氧化能力的比较研究. *西北植物学报*, 2004, 24(9): 1570-1577.
- [16] 马成仓, 高玉葆, 王金龙, 郭宏宇, 聂莉莉, 赵娟. 小叶锦鸡儿和狭叶锦鸡儿的光合特性及保护酶系统比较. *生态学报*, 2004, 24(8): 1594-1601.

- [17] 朱志梅, 杨持. 沙漠化过程中四个共有种的生长和抗氧化系统酶类变化. 应用生态学报, 2004, 15(12): 2261-2266.
- [18] 李丽霞, 赵妍, 周斌, 董开升, 唐学玺. UV-B 辐射对大型海藻鼠尾藻抗氧化酶活性及同工酶谱的影响. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2009, 39(6): 1246-1250.
- [19] 刘素纯, 萧浪涛, 廖柏寒, 鲁旭东, 匡逢春, 赵文魁, 童建华. 铅胁迫对黄瓜幼苗抗氧化酶活性及同工酶的影响. 应用生态学报, 2006, 17(2): 300-304.
- [20] Qu H, Zhao H L, Zhou R L, Zuo X A, Luo Y Y, Wang J, Barron J O. Effects of sand burial on the survival and physiology of three psammophytes of Northern China. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(20): 4518-4529.
- [21] 王进, 周瑞莲, 赵哈林, 赵彦宏, 侯玉萍. 海滨沙地砂引草对沙埋的生长和生理适应对策. 生态学报, 2012, 32(14): 4291-4299.
- [22] 周瑞莲, 王进, 杨淑琴, 杨树德. 海滨沙滩单叶蔓荆对沙埋的生理响应特征. 生态学报, 2013, 33(6): 1973-1981.
- [23] Sundar D, Perianayaguy B, Reddy A R. Localization of antioxidant enzymes in the cellular compartments of sorghum leaves. Plant Growth Regulation, 2004, 44(2): 157-163.
- [24] Drażkiewicz M, Skórzyńska-Polit E, Krupa Z. Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in *Arabidopsis thaliana*. BioMetals, 2004, 17(4): 379-387.
- [25] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [26] 胡能书. 同工酶技术及其应用. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985.
- [27] Radyuk M S, Domanskaya I N, Shcherbakov R A, Shalygo N V. Effect of low above-zero temperature on the content of low-molecular antioxidants and activities of antioxidant enzymes in green barley leaves. Russian Journal of Plant Physiology, 2009, 56(2): 175-180.
- [28] Faize M, Burgos L, Faize L, Piqueras A, Nicolas E, Barba-Espin G, Clemente-Moreno M J, Alcobendas R, Artlip T, Hernandez J A. Involvement of cytosolic ascorbate peroxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase for improved tolerance against drought stress. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(8): 2599-2613.
- [29] Chen Q, Zhang M D, Shen S H. Effect of salt on malondialdehyde and antioxidant enzymes in seedling roots of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). Acta Physiologiae Plantarum, 2010, 33(2): 273-278.
- [30] Han C, Liu Q, Yang Y. Short-term effects of experimental warming and enhanced ultraviolet-B radiation on photosynthesis and antioxidant defense of *Picea asperata* seedlings. Plant Growth Regulation, 2009, 58(2): 153-162.
- [31] Bor M, Özdemir F, Türkan I. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. Plant Science, 2003, 164(1): 77-84.
- [32] Cavalcanti F R, Oliveira J T A, Martins-Miranda A S, Viegas R A, Silveir J A G. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. New Phytologist, 2004, 163(3): 563-571.
- [33] Blokhina Virolainen E, Fagerstedt K V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress; a review. Annals of Botany, 2003, 91(2): 179-194.
- [34] 宋莉璐, 张荃. 植物中参与活性氧调控的基因网络. 生命科学, 2007, 19(3): 346-352.
- [35] Toyomasu T, Zennyoxi A. On the application of isoenzyme electrophoresis to identification of strains in *Leurinus edodes*. Mushroom Science, 1981, 11: 675-684.
- [36] Karpinski S, Reynolds H, Karpinska B, Wingsle G, Creissen G, Mullineaux P. Systemic signaling and acclimation in response to excess excitation energy in *Arabidopsis*. Science, 1999, 284(5414): 654-657.
- [37] Yono S, Terashima I. Separate localization of light signal perception for sun or shade type chloroplast and palisade tissue differentiation in *Chenopodium album*. Plant and Cell Physiology, 2001, 42(12): 1303-1309.