

高温胁迫对两个仙客来品种抗氧化系统的影响^{*}

高 天, 马锋旺, 梁 东

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 以昼 22 /夜 17 处理为对照, 昼 35 /夜 27 的温度对 2 个仙客来品种(1011 和 1051)进行高温胁迫处理, 测定了高温胁迫对仙客来叶片中抗氧化系统的影响。结果表明, 高温处理后, 2 个仙客来品种的超氧化物歧化酶(SOD)活性均减弱, 1011 品种减幅小于 1051 品种; 1011 品种的过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性均增强, 1051 品种除 POD 活性有所增强外, CAT 和 APX 活性均减弱; 1011 品种抗坏血酸(A SA)含量升高, 而 1051 品种下降。上述结果说明, 1011 品种较 1051 品种具有较高的酶性和非酶性活性氧清除能力。

[关键词] 仙客来; 高温胁迫; 抗氧化系统; 耐热性

[中图分类号] S682.2⁺62.01

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)06-0082-03

温度是影响植物生理过程的重要生态因子之一。植物体在生长发育过程中, 经常会遭受到高温的胁迫, 造成植物萎蔫甚至死亡, 这与高温引起植物生理代谢紊乱和细胞结构破坏有关^[1]。随着全球环境的恶化, 植物对高温的反应日益受到人们的关注。植物在高温条件下, 细胞内会产生过量的自由基, 从而引发膜脂过氧化作用, 造成对膜系统的伤害。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(APX)等, 是防御膜脂过氧化的主要保护酶系统, 抗坏血酸(A SA)是植物体内有效的抗氧化剂, 它们各自通过不同的作用方式清除植物体内产生的活性氧, 从而减弱氧化伤害。有关这些保护酶在水分胁迫和低温胁迫时活性的变化已有较多研究^[2], 但这些酶在高温胁迫时的变化, 以及其与耐热性的关系研究较少, 且大多集中在对农作物的研究中^[3], 在花卉领域研究少, 更未见以仙客来为材料的研究报道。仙客来属半耐寒性植物, 是冬季的重要盆栽花卉, 高温可以造成其植株生长停止、叶片失绿脱落, 并进入强迫性的夏季休眠^[4]状态, 因此直接影响着植株的生长发育和产品质量。本试验以 2 个不同品种的仙客来为试验材料, 比较二者在高温胁迫下两类清除系统活性和含量的变化, 以从活性氧代谢方面探讨仙客来的耐热性机理。

1 材料与方法

1.1 材 料

供试仙客来(*Cyclamen persicum* Mill)品种为 1011 和 1051。

1.2 方 法

将 2 个品种的仙客来种子脱毒、浸种后, 选取大小均匀一致的饱满种子播种于 13 cm × 10 cm 的营养钵内, 每钵 2~3 粒。在温度 22~25℃、光照强度 9 000~12 000 lx 条件下培养。当幼苗长至四叶期时, 2 个品种均在人工气候箱内进行 3 种不同温度处理: (1)昼 22 /夜 17 培养 2 d; (2)昼 35 /夜 27 培养 2 d; (3)昼 35 /夜 27 培养 2 d 后重新回到昼 22 /夜 17 培养 1 d(昼 14 h; 夜 10 h)。光照强度均为 6 000 lx。处理结束后, 迅速将每株叶片剪碎、混匀并测定以下指标, 重复 3 次。

1.2.1 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性的测定^[5-6] 称样 0.5 g, 加入磷酸缓冲液(pH 7.8), 在冰浴上研磨成匀浆后定容至 9 mL, 12 000 g (4℃)离心 30 min, 取上清液用于酶活性测定。SOD 活性按文献^[5]的方法测定, 以抑制 NBT 光化学还原 50% 所需酶量为其活性单位(U/(g·h))。CAT 活性按文献^[5-6]中紫外吸收法测定, 酶活性单位为 U/(g·min)。

* [收稿日期] 2005-09-05

[基金项目] 教育部留学回国人员科研基金项目(2003-14); 西北农林科技大学“拔尖人才支持计划”项目

[作者简介] 高 天(1982-), 男, 陕西西安人, 在读硕士, 主要从事园林植物生理生态研究。

[通讯作者] 马锋旺(1964-), 男, 山东汶上人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事园艺植物抗性生理与生物技术改良研究。E-mail: fwm64@sina.com

POD 活性按文献[5-6]中的方法测定, 酶活性单位为(U /g)。

1.2.2 抗坏血酸过氧化物酶(A PX)活性的测定^[7]

称样 0.5 g, 加入磷酸缓冲液 (pH 7.0, 含 1 mmol/L A SA, 1 mmol/L EDTA), 在冰浴上研磨成匀浆状后定容至 9 mL, 12 000 g (4℃) 下离心 30 min, 取上清液用于酶活性测定。A PX 活性按文献[7]中的方法测定, 以 1 min 内 OD₂₉₀ 变化 0.01 定义为一个酶活力单位(U / (g · min))。

1.2.3 抗坏血酸(A SA)含量的测定^[5] 称样 0.5 g, 加入草酸-EDTA 溶液, 在冰浴上研磨成匀浆状后定容至 9 mL, 6 000 g (4℃) 下离心 30 min, 取上清液用于 A SA 含量的测定。测定方法为文献[5]中的钼蓝比色法 (g/kg)。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对 2 个仙客来品种 SOD 活性的影响

逆境胁迫会导致植物体内活性氧的积累, 从而对植物产生氧化伤害。SOD 的作用主要是清除 O₂^{·-}。由表 1 可知, 在相同条件的高温胁迫下, SOD 活性变化依仙客来品种不同而异。在昼 22℃/夜 17℃条件下, 1011 品种的 SOD 活性为 402.49 U/(g · h), 1051 品种的为 531.45 U/(g · h), 经昼 35℃/夜 27℃胁迫 2 d 后, 两品种的 SOD 活性均有所下降, 1011 品种减幅为 5.91%, 而 1051 品种减幅为 38.62%; 解除胁迫后, 1011 品种 SOD 活性基本不变, 维持在胁迫后水平, 而 1051 品种继续下降, 由胁迫后的 326.22 U/(g · h) 降至 315.17 U/(g · h)。表明 1011 品种叶片中 SOD 对高温的适应性较 1051 强。

表 1 高温胁迫对 2 个仙客来品种 SOD 活性的影响

Table 1 Effects of high temperature on SOD activity in 2 cyclamen cultivars

处理 Treatment	U / (g · h)	
	1011	1051
22℃ / 17℃	402.49 a	531.45 A
35℃ / 27℃	378.71 a	326.22 B
35℃~ 22℃	372.01 a	315.17 B

注: 同列数据后标不同小写字母者表示差异显著(P < 0.05); 标不同大写字母者表示差异极显著(P < 0.01)。下同。

Note: Different little letters in same row was significant difference (P < 0.05); Different big letter was significant difference obviously (P < 0.01), the same as follows

2.2 高温胁迫对 2 个仙客来品种 CAT, POD 和 A PX 活性的影响

CAT 和 POD 可以清除 H₂O₂ 使之转化为 H₂O, 另外还具有减少氧化力更强的 ·OH 生成的作用, 因而在抗氧化胁迫中具有重要作用。由表 2 可知, 在昼 22℃/夜 17℃条件下, 1011 品种 CAT 活性低于 1051, POD 活性稍高于 1051。经昼 35℃/夜 27℃胁迫 2 d 后, 1011 品种的 CAT 活性增加了 114.22%, 1051 品种的 CAT 活性反而下降了 36.01%; 经高温胁迫后两品种的 POD 活性均有所增强, 其中 1011 品种增幅较大, 增加了 14.85%, 而 1051 品种仅增加了 5.87%。解除胁迫后, 1051 品种的 CAT 活性有所恢复, 但仍低于胁迫前水平, 而 1011 品种仍保持在较高水平; 两品种 POD 活性依然增强, 1011 品种增幅高于 1051 品种, 其增幅分别为 24.05% 和 13.39%。上述结果表明, 1011 品种较 1051 具有更好的通过 CAT 和 POD 清除 H₂O₂ 的能力。

表 2 高温胁迫对 2 个仙客来品种 CAT, POD 和 A PX 活性的影响

Table 2 Effects of high temperature on CAT, POD, and A PX activity in 2 cyclamen cultivars

处理 Treatment	CAT/(U · g ⁻¹ · min ⁻¹)		POD/(U · g ⁻¹)		A PX/(U · g ⁻¹ · min ⁻¹)	
	1011	1051	1011	1051	1011	1051
22℃ / 17℃	60.62 b	115.80 A	12.93 a	12.77 a	450.00 B	462.11 a
35℃ / 27℃	129.86 a	74.10 B	14.85 a	13.52 a	782.00 A	452.01 a
35℃~ 22℃	98.96 a b	86.34 B	16.04 a	14.48 a	667.21 A	459.89 a

A PX 具有间接清除叶绿体中产生的 H₂O₂ 和 O₂^{·-} 的作用, 因而其活性同样影响到抗氧化胁迫。从表 2 可以看出, 1011 品种在高温胁迫下 A PX 活性增强, 解除胁迫后仍保持在较高水平; 而 1051 品种经高温胁迫后 A PX 活性略有降低, 解除胁迫后活性有所恢复, 接近于胁迫前水平。1011 品种 A PX 活

性的变化表明其对适应高温更有利。

2.3 高温胁迫对 2 个仙客来品种 A SA 含量的影响

抗坏血酸(A SA)是植物体内有效的抗氧化剂, 其不但可以通过抗坏血酸-谷胱甘肽循环清除 H₂O₂, 也可以清除其他活性氧, 并将其转化为无毒物质。因此, A SA 的含量水平也影响植物的抗氧化

胁迫能力。由表 3 可知,在昼 22 /夜 17 条件下,1011 和 1051 2 个品种的 A SA 含量相当,分别为 1.28 和 1.29 g/kg。经高温胁迫后,1011 品种 A SA 含量有所升高,增至 1.48 g/kg,而 1051 品种下降至 1.15 g/kg;解除胁迫后,1011 品种仍保持较高的含量,为 1.44 g/kg,而 1051 品种 A SA 含量回升至 1.23 g/kg,接近于胁迫前的含量。抗氧化剂 A SA 的含量变化显示,1011 较 1051 更能适应温度的变化,但由于变化幅度较小,二者差异不显著。

表 3 高温胁迫对 2 个仙客来品种 A SA 含量的影响

Table 3 Effects of high temperature on A SA

content in 2 cyclamen cultivars g/kg

处理 Treatment	1011	1051
22 /17	1.28 a	1.29 a
35 /27	1.48 a	1.15 a
35~22	1.44 a	1.23 a

3 讨 论

在通常情况下,生长的植物体内会产生 $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 等活性氧,同时这些活性氧又不断被消除,使植物体内活性氧的产生和猝灭处于动态平衡状态^[8]。这种平衡由植物体内的两大类物质控制,一类为保护酶系统(SOD, CAT, POD 及 APX 等),另一类为一些小分子抗氧化物质(如: A SA, GSH, VE 和 M SH 等)。逆境胁迫往往会导致活性氧代谢平衡被破坏,清除活性氧的酶性和非酶性防御系统被削弱,使叶片内的 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 等活性氧浓度上升,从而加剧脂质过氧化程度,使膜结构与功能遭到破坏^[8]。本研究针对影响仙客来夏季休眠的实际

温度情况,模拟自然条件,以 35 为高温标准,研究了温度对仙客来的影响。

在植物体内的活性氧中, $O_2^{\cdot-}$ 通过 SOD 歧化可生成 H_2O_2 , 而 H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 经 Haber-Weiss 反应可产生氧化力更强的 $\cdot OH$, 从而真正启动了膜脂过氧化反应^[9]。在植物细胞内活性氧的酶性清除系统中, SOD 清除 $O_2^{\cdot-}$, 将 $O_2^{\cdot-}$ 转化为 H_2O_2 和 O_2 ; CAT 和 POD 清除 H_2O_2 , 使之转化为 H_2O ; APX 也可通过 Halliwell-A sada 途径清除 H_2O_2 。在上述酶的协同作用下,于清除 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 的同时也减少了 $\cdot OH$ 的生成,因而上酶活性与植物的抗逆性关系非常密切。植物细胞非酶性活性氧清除剂中, A SA 具有还原 $O_2^{\cdot-}$ 、清除 H_2O_2 的功效,因而其含量变化也影响到活性氧水平,与植物抗逆性有关。

本试验表明,经高温胁迫后,1011 品种的 CAT 和 APX 活性及 A SA 含量均提高,而 1051 品种反而下降;两品种的 SOD 活性虽均有所下降,但 1051 品种的降幅大于 1011; POD 活性虽均有所增强,但 1011 品种的增幅大于 1051。上述结果均说明,1011 品种较 1051 具有更好地抑制膜脂过氧化程度的能力,因而 1011 品种的耐热性高于 1051。1011 品种应属于耐热品种。

本试验结果说明,仙客来不同品种耐热性不同,表现在叶片生化指标上也不相同,耐热性差异与其在高温胁迫下酶性和非酶性活性氧清除系统活力变化有关,耐热品种的活力变化有利于减少活性氧积累,从而减轻氧化胁迫,使植物具有相对较高的耐热性。这可以作为抗性育种早期筛选的指标之一。

[参考文献]

- [1] 张宗申, 利容千, 王建波. 外源 Ca^{2+} 预处理对高温胁迫下辣椒叶片细胞膜透性和 GSH、A SA 含量及 Ca^{2+} 分布的影响[J]. 植物生态学报, 2001, 25(2): 230-234
- [2] 刘祖祺, 张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994
- [3] 周人纲, 樊志和, 李晓芝, 等. 热锻炼对小麦叶片细胞膜及有关酶活性的影响[J]. 作物学报, 1995, 21(5): 568-572
- [4] 徐 欣. 中国花经[M]. 上海: 上海文化出版社, 1990: 473
- [5] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000
- [6] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000
- [7] 陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002
- [8] 叶陈亮, 柯玉琴, 陈 伟. 大白菜耐热性的生理研究[J]. 福建农业大学学报, 1997, 26(4): 498-501
- [9] 张 键, 刘美艳, 肖 炜. Ca^{2+} 提高黄瓜幼苗耐热性的研究[J]. 中国蔬菜, 2002(5): 12-14

(下转第 90 页)

Temperature variation in semi-aerobic landfilling of municipal solid waste

LI Fan^{1,2}, ZHANG Zeng-qiang¹, HUANG Qi-fei², WANG Qi², TIAN Yan-jin²

(1 College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China)

Abstract: Large-scale landfilling installation was built according to semi-aerobic landfilling theories. The temperature and concentrations of CH₄ and O₂ were detected regularly. The results showed that the spatial variation of temperature declined with the sequence of up level, middle level and under level. The average temperature of each level was 73, 69.7 and 55.4 respectively. The temperature rose with the increase of the concentration of oxygen. It was anaerobic condition in the underlayer and the temperature area was 54.8-58.6, the concentration of methane was about 25%. Leachate recirculation can enhance the temperature of semi-aerobic landfill distinctly, about 5.4-11.7 higher than that of the water recirculation landfill.

Key words: semi-aerobic landfill; solid waste treatment; environment engineering; landfilling technique

(上接第 84 页)

Abstract ID: 1671-9387(2006)06-0082-EA

Effects of high temperature stress on antioxidant system in two cyclamen cultivars

GAO Tian, MA Feng-wang, LIANG Dong

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Seedlings of two cyclamen (1011 and 1051) cultivars were stressed with high temperature (day 35 /night 27), the temperature for comparison was day 22 /night 17, and the antioxidant system of cyclamen leaves were determined. The results showed that under high temperature stress, the activities of superoxide dismutase (SOD) decreased in both cultivars, but the decrease in 1011 was less than that in 1051; the activities of catalase (CAT), peroxidase (POD) and ascorbic acid peroxidase (APX) increased in 1011, while the activities of CAT and APX decreased in 1051, though POD activity slightly increased. The content of Ascorbic acid (ASA) increased in 1011, but decreased in 1051. These results indicated that the ability to scavenge the active oxygen of enzyme and nonenzyme system in 1011 was better than that in 1051 under high temperature stress.

Key words: cyclamen; high temperature stress; antioxidant system; heat-tolerance