

旱后复水对刺槐苗木叶片保护酶活性和膜质过氧化的影响

薛 设,王进鑫,吉增宝,李继文,张慕黎

(西北农林科技大学 资源环境学院,陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】研究刺槐苗木在较长时间处于水分胁迫以及解除胁迫之后的生理动态变化,对旱后复水激发刺槐的生理学补偿效应机制进行初步探讨。【方法】以 1 年生的刺槐苗木为材料,采用盆栽试验,以土壤相对含水率(SRW)为 100.00%的处理为对照,探讨不同水分胁迫强度(土壤相对含水率 87.84%,70.00%,52.16%,40.00%)胁迫 30 d 时以及复水 2,24,48 和 72 h 后,刺槐叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性及超氧阴离子自由基($\cdot O_2^-$)和丙二醛(MDA)含量的变化。【结果】水分胁迫 30 d 后,随着水分胁迫程度的加深,刺槐叶片中 $\cdot O_2^-$ 和丙二醛含量均明显高于对照,同时 SOD 和 POD 活性明显提高,仍能维持较强的活性氧清除能力,其中 SRW 为 40.00%的处理刺槐叶片 SOD 和 POD 活性较 SRW 为 52.16%的处理低,但均高于对照。旱后复水 2 h, SOD 和 POD 活性急剧上升, $\cdot O_2^-$ 和 MDA 含量下降幅度较大。旱后复水 72 h,经过水分胁迫后的刺槐叶片抗氧化酶体系清除超氧阴离子自由基能力较对照得到加强。【结论】适度水分胁迫使刺槐苗木的抗氧化能力得到加强。

【关键词】 旱后复水;刺槐;超氧阴离子自由基;丙二醛;抗氧化酶

【中图分类号】 S792.270.1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)07-0081-05

Effect of rewatering on activity of protect enzymes and membrane peroxidation in *Robinia pseudoacacia* seedling

XUE She, WANG Jin-xin, JI Zeng-bao, LI Ji-wen, ZHANG Mu-li

(College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 Physiological changes during water stress and rewatering in *Robinia pseudoacacia* seedling leaves were studied to investigate the compensation effect that was woken by water stress. 【Method】 A potted experiment was conducted in 30 days and with 5 different soil relative water content (SRW) levels, which were 100.00%, 87.84%, 70.00%, 52.16% and 40.00%. The activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD), the content of superoxide hydronium ($\cdot O_2^-$) and malondialdehyde (MDA) in leaves of one-year-old *R. pseudoacacia* were tested under different water stress levels and 2, 24, 48, 72 h later after rewatering. 【Result】 During the same period of water stress, the content of superoxide hydronium ($\cdot O_2^-$) and malondialdehyde (MDA) rose significantly compared with control treatment. Meanwhile the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) were boosting and could still maintain at a high level of active oxygen eliminating. The activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) were lower in SRW of 40.00% than that of 52.16%, but still higher than that of control treatment. The activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) soared,

* [收稿日期] 2008-10-27

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30771722)

[作者简介] 薛 设(1983-),女,浙江乐清人,在读硕士,主要从事生态环境工程研究。E-mail: xueshe1020@hotmail.com

[通信作者] 王进鑫(1962-),男,甘肃镇原人,教授,博士生导师,主要从事旱区人工林生态系统水分运移调控与生物节水理论研究。E-mail: jwang118@126.com

however the content of superoxide hydronium ($\cdot O_2^-$) and malondialdehyde (MDA) declined quickly 2 h after rewatering. The active oxygen eliminating ability of protect enzymes in leaves of *R. pseudoacacia* seedling was strengthened by water stress compared with control treatment. 【Conclusion】 The antioxidation ability could be strengthened by proper water stress in *R. pseudoacacia* seedling.

Key words: rewatering; *Robinia pseudoacacia*; superoxide hydronium; malondialdehyde; antioxidation enzyme

土壤水分亏缺引起的干旱胁迫, 不仅成为制约旱区植物物质生产、人工植被建设的主要障碍, 而且已危及到全球生态安全和社会、经济的可持续发展。林木在幼苗阶段对水分胁迫特别敏感, 使得在干旱、半干旱地区以及有严重的季节性干旱的地区, 由于水分不足而严重影响苗木成活, 从而给造林工作带来了巨大困难。因此, 对于干旱胁迫下苗木抗旱机理的研究具有实践性意义。

干旱胁迫下, 植物膜脂过氧化作用及保护酶系统活性的变化已经广泛用于植物对逆境的反应机理研究。干旱胁迫下林木的抗旱能力和受到的伤害程度与这些保护酶的活性变化密切相关^[1-3]。在细胞水平上, 干旱会使植物的细胞结构和功能受到破坏, 膜系统常常是最先受到伤害的部位, 而膜伤害是导致植物组织伤害和衰老的重要诱导因素, 但是植物受到水分胁迫时, 诱导酶和非酶的防御保护系统保护细胞膜免遭氧化伤害^[4-5]。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等保护酶类, 是植物活性氧清除系统中重要的酶, 能维持活性氧自由基产生与清除系统的平衡^[6]。

目前, 有关植物抗氧化机制的研究主要集中在农作物干旱过程中抗氧化体系的变化方面^[7-9], 而关于林木干旱过程以及旱后复水条件下抗氧化酶体系的动态变化方面的报道较少, 对旱后复水的补偿效应方面的报道也少。本研究以 1 年生刺槐苗木为材料, 采用盆栽试验, 研究了不同水分胁迫复水后刺槐苗木的抗氧化酶体系, 超氧阴离子自由基含量和丙二醛(MDA)含量的动态变化, 以期研究刺槐旱后复水的补偿效应机理提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物 试验在陕西杨凌西北农林科技大学南校区人工旱棚内进行。供试材料为刺槐(*Robinia pseudoacacia*) 1 年生苗木, 取自杨陵地区附近苗圃。2008-03 初起苗, 去除基质, 清洗并称量苗木鲜质量后, 栽植于容器中正常管理, 使其成活。

1.1.2 供试土壤 供试土壤为黄绵土, 通透性良好, 质地轻壤, 田间持水量为 18.75%。

1.2 试验方法

挑选生物量和长势基本一致的刺槐苗木进行控水处理。苗木水分胁迫强度以土壤相对含水率(土壤水分占田间持水量的百分比, Soil Relative Water content, SRW)表示, 设置 5 个水平, 即 100.00% (CK), 87.84%, 70.00%, 52.16% 和 40.00%, 胁迫历时 30 d, 每处理重复 3 次。栽培容器为塑料桶(高 30 cm, 口径 27 cm), 保持各容器干土质量相同(14 kg)。试验期间栽培基质保持自然肥力, 不施肥。为保持各处理土壤水分相对稳定, 土壤表面用蛭石覆盖。

采用人工称质量的方法补充消耗的水分, 使每处理的土壤相对含水率基本保持在试验设定范围内。在控水处理的第 30 天采样, 测定刺槐叶片的相关生理生化指标, 随后对其进行复水, 使每处理的土壤水分达到田间持水量的 100%, 即达到对照水平。在复水后 2, 24, 48, 72 h 进行采样, 测定刺槐叶片的相关生理生化指标。采样时, 在苗木各个方位选取成熟叶片, 液氮速冻后带回实验室进行分析。

1.3 测定项目及方法

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)比色法, SOD 酶活性以每 g 鲜叶抑制 50% 0.75 mmol/L NBT 光化还原为 1 个酶活性单位; 过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚显色法; 丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法^[10]; 超氧阴离子自由基($\cdot O_2^-$)含量测定采用羟胺氧化法^[11]。

1.4 数据处理

试验数据处理采用 Excel 和 SPSS 数据统计分析软件。

2 结果与分析

2.1 复水前后刺槐叶片抗氧化酶活性的变化

2.1.1 SOD 活性 从图 1 可以看出, 在经历 30 d 的水分胁迫后, 复水前不同水分胁迫处理的刺槐叶

片 SOD 活性均高于对照,其中 SRW 为 40.00% 处理的刺槐叶片 SOD 活性较 SRW 为 52.16% 处理低,这与徐莲珍等^[12]的研究结果一致。与复水前相比,复水后 2 h,各水分胁迫处理下 SOD 活性均逐渐上升;复水后 2~24 h,各水分胁迫处理的 SOD 活性均逐渐降低;复水后 24~72 h,各水分胁迫处理的 SOD 活性均又逐渐增加;至复水后 72 h,各水分胁迫处理刺槐叶片 SOD 活性均达到了与复水后 2 h 相近的水平,且均高于对照。说明各水分胁迫处理的刺槐适应了复水后的环境,且保持了较高的 SOD 活性,其清除超氧阴离子自由基的能力增强,有效地减轻了干旱胁迫所导致的膜质过氧化对刺槐苗木的伤害。

2.1.2 POD 活性 从图 2 可以看出,经过 30 d 的干旱胁迫后,复水前各水分胁迫处理的 POD 活性均

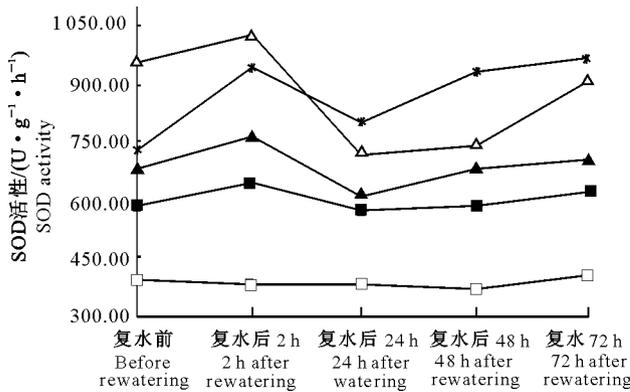


图 1 复水前后不同土壤水分胁迫处理下刺槐叶片 SOD 活性的变化

—□—CK; —■—SRW=87.84%; —▲—SRW=70.00%;
—△—SRW=52.16%; —*—SRW=40.00%

Fig. 1 Variety of SOD activity in leaves of *R. pseudoacacia* before and after rewatering at different soil relative water content levels

2.2 复水前后刺槐叶片 $\cdot O_2^-$ 含量的变化

植物细胞在其生命活动过程中,由于叶绿体、线粒体和质膜上随时都发生着电子传递过程中电子的泄露,因而不可避免地会产生大量的活性氧,如过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子自由基($\cdot O_2^-$)、羟自由基($\cdot OH$)等^[14]。在正常水分状况下,植物体内自由基的产生和消除之间处于动态平衡状态。植物缺水时,细胞中电子传递系统受阻,自由基生成增加或清除自由基的能力减弱,打破了自由基产生与清除之间的平衡^[15]。图 3 显示,经过 30 d 的水分胁迫后,复水前各水分胁迫处理刺槐叶片中超氧阴离子自由基积累, $\cdot O_2^-$ 含量明显高于对照。复水后 2

高于对照,其中 SRW 为 52.16% 的处理刺槐叶片 POD 活性最高,SRW 为 70.00% 的处理次之,而 SRW 为 40.00% 的处理最低,这与李成忠等^[13]对黄连木根系抗氧化酶体系对干旱胁迫响应的研究结果相一致。POD 活性增加, H_2O_2 分解增强,减轻了干旱对植物的危害。与复水前相比,复水后 2 h,各水分胁迫处理刺槐叶片的 POD 活性均有所上升,且明显高于对照,SRW 为 52.16% 的处理 POD 活性较对照增加了 1.38 倍;复水后 2~48 h,各水分胁迫处理的 POD 活性均下降;复水后 48~72 h,各水分胁迫处理的 POD 活性均又呈上升趋势,基本上达到复水后 2 h 的水平。说明干旱胁迫使得植物的 POD 活性能维持在一个较高水平,增强了植物的抗氧化能力。

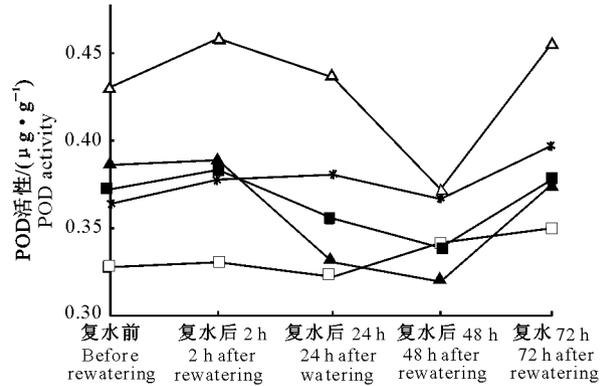


图 2 复水前后不同土壤水分胁迫处理下刺槐叶片 POD 活性的变化

—□—CK; —■—SRW=87.84%; —▲—SRW=70.00%;
—△—SRW=52.16%; —*—SRW=40.00%

Fig. 2 Variety of POD activity in leaves of *R. pseudoacacia* before and after rewatering at different soil relative water content levels

h,各水分胁迫处理刺槐叶片中 $\cdot O_2^-$ 含量均明显下降,但均高于对照;复水后 24 h,除 SRW 为 52.16% 的处理 $\cdot O_2^-$ 含量略有上升外,其他水分胁迫处理的 $\cdot O_2^-$ 含量均下降;复水后 48 h 和 72 h,各水分胁迫处理 $\cdot O_2^-$ 含量均升高,与对照相差较小。

2.3 复水前后刺槐叶片丙二醛(MDA)含量的变化

干旱胁迫下产生的自由基和活性氧会氧化膜细胞中不饱和脂肪酸的双键,使之断裂、分解而破坏,而由 $\cdot O_2^-$ 引发的膜脂过氧化产生的最终产物是丙二醛(MDA)。MDA 是具有细胞毒性的物质,能与膜结构上的蛋白质和酶结合、交联,使之失去活性,从而破坏膜结构。陈少裕^[16]认为,MDA 含量的变

化是质膜损伤程度的重要标志之一。从图 4 可以看出,经历 30 d 的水分胁迫后,各水分胁迫处理刺槐叶片 MDA 含量均明显高于对照,且随着胁迫程度的加剧,MDA 含量均呈上升趋势,即膜脂过氧化作用表现明显,这与曹慧等^[17]和徐莲珍等^[12]对刺槐、侧柏和元宝枫的研究结果一致。复水后 2 h,各水分胁迫处理的 MDA 含量均迅速下降;在复水后 2~72

h,MDA 含量均缓慢下降;至复水后 72 h 时,除 SRW 为 87.84% 的处理外,其他水分胁迫处理刺槐叶片的 MDA 含量已接近正常水平(对照)。说明在 SRW 为 40.00%~70.00% 的适度干旱胁迫下,能够增加刺槐苗木抗膜质过氧化能力,从而减轻膜质过氧化对植物造成的伤害。

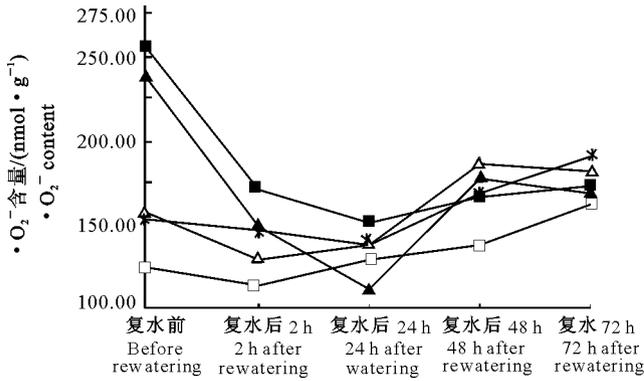


图 3 复水前后不同水分胁迫下刺槐叶片中 $\cdot\text{O}_2^-$ 含量的变化

—□—CK;—■—SRW=87.84%;—▲—SRW=70.00%;
—△—SRW=52.16%;—*—SRW=40.00%

Fig. 3 Variety of $\cdot\text{O}_2^-$ content in leaves of *R. pseudoacacia* before and after rewatering at different soil relative water content levels

3 讨论

在各种逆境胁迫中,水分胁迫是最普遍和最经常发生的。干旱胁迫下树木原有的生长代谢规律被打破,但并不一定破坏,因为生物有生长冗长和超补偿效应^[16-19]。本研究发现,持续水分胁迫使刺槐叶片中的 SOD 和 POD 等保护酶类活性升高,但并未使刺槐叶片中的 $\cdot\text{O}_2^-$ 含量降低,且 MDA 含量也随胁迫程度的加剧而增加,主要原因是持续的水分胁迫破坏了抗氧化酶系统的协调性,使活性氧防御系统失衡,因而导致植物发生膜脂过氧化作用,对植物造成了伤害。但是水分胁迫解除后较长一段时间内,刺槐叶片保持了较高的抗氧化酶活性,且 $\cdot\text{O}_2^-$ 和 MDA 含量维持在较低水平。说明经过持续的水分胁迫后植物的抗氧化能力增强。植物体内存在着能清除活性氧自由基的保护酶系,它们的协调作用能有效清除 $\cdot\text{O}_2^-$ 和 H_2O_2 等自由基,防御膜质过氧化,从而使细胞膜免受伤害。本研究中也发现,在复水后 2 h 内,刺槐苗木的各个生理生化指标发生了明显变化,表现为 SOD 和 POD 活性协同升高,保持了一致性,能够有效的清除 $\cdot\text{O}_2^-$, $\cdot\text{O}_2^-$ 和

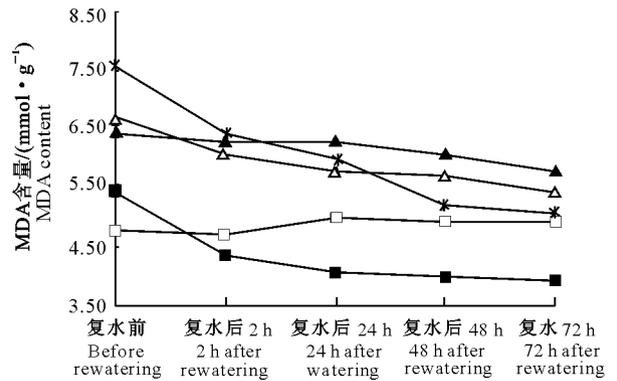


图 4 复水前后不同水分胁迫下刺槐叶片 MDA 含量的变化
—□—CK;—■—SRW=87.84%;—▲—SRW=70.00%;
—△—SRW=52.16%;—*—SRW=40.00%

Fig. 4 Variety of MDA content in leaves of *R. pseudoacacia* before and after rewatering at different soil relative water content levels

MDA 含量有较大幅度的降低正验证了这一点。

水分胁迫解除后较长一段时间后 SOD 和 POD 活性略有下降,而 $\cdot\text{O}_2^-$ 和 MDA 含量的减少幅度也有所降低。这是因为水分对抗氧化酶体系的影响是复杂的,需要进一步深入研究。酶活性对水分变化比较敏感,且与外界的环境变化也有关系。本试验只是对春季刺槐苗木生长初期旱后复水的抗氧化酶活性变化和膜质过氧化作用进行了初步探讨,其复杂的反应机理有待深入研究。

[参考文献]

- [1] 李忠喜,朱延林,张江涛,等. 在干旱胁迫下饲料型刺槐无性系保护酶活性的差异[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(10): 2868-2869.
Li Z X, Zhu Y L, Zhang J T, et al. Difference of protective enzyme activity of feeding *Robinia pseudoacacia* clones under drought stress [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(10): 2868-2869. (in Chinese)
- [2] 师晨娟,刘勇,张林玉,等. 苗木抗旱生理及抗旱调控技术[J]. 世界林业研究, 2006, 19(3): 33-37.
Shi C J, Liu Y, Zhang L Y, et al. Drought-resistance physiology and regulation technology of seedlings [J]. Journal of World Forestry Research, 2006, 19(3): 33-37. (in Chinese)

- [3] 李燕,薛立,吴敏,等. 树木抗旱机理研究进展 [J]. 生态学杂志, 2007, 26(11): 1857-1866.
Li Y, Xue L, Wu M, et al. Research advances in mechanisms of tree species drought resistance [J]. Journal of Biology, 2007, 26(11): 1857-1866. (in Chinese)
- [4] 刘玉英,王三根,徐泽,等. 不同茶树品种干旱胁迫下抗氧化能力的比较 [J]. 中国农学通报, 2006, 22(4): 264-268.
Liu Y Y, Wang S G, Xu Z, et al. Comparison study on the antioxidation ability of different tea varieties in drought stress [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2006, 22(4): 264-268. (in Chinese)
- [5] 丁菲,杨帆,杜天真. 干旱胁迫对构树抗氧化酶活性变化的影响 [J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(4): 680-683.
Ding F, Yang F, Du T Z. Effects of drought stress on activities of antioxidant enzymes in *Broussonetia papyrifera* L. [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2008, 30(4): 680-683. (in Chinese)
- [6] 彭昌操,孙中海. 低温锻炼期间柑桔原生质体 SOD 和 CAT 酶活性的变化 [J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(4): 384-387.
Peng C C, Sun Z H. Changes of SOD and CAT activities of citrus during cold acclimation [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2000, 19(4): 384-387. (in Chinese)
- [7] 王军辉,查学强,罗建平,等. 干旱胁迫对玉米幼苗脂质过氧化作用及保护酶活性的影响 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(15): 3568-3569, 3571.
Wang J H, Cha X Q, Luo J P, et al. Effect of drought stress on lipid peroxidation and activity of cell defense enzyme in maize seedling [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2006, 34(15): 3568-3569, 3571. (in Chinese)
- [8] 李广敏,唐连顺,商振清,等. 渗透胁迫对玉米幼苗保护酶系统的影响及其与抗旱性的关系 [J]. 河北农业大学学报, 1994, 17(2): 1-5.
Li G M, Tang L S, Shang Z Q, et al. Effect of osmotic stress on protective enzyme systems in maize seedlings and their relationship to drought resistance [J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 1994, 17(2): 1-5. (in Chinese)
- [9] 池书敏,李广敏,史吉平,等. 玉米抗旱机理研究进展 [J]. 河北农业大学学报, 1997, 20(4): 11-15.
Chi S M, Li G M, Shi J P, et al. A study on the mechanisms of drought resistance in maize [J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 1997, 20(4): 11-15. (in Chinese)
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版社, 2000: 137-202.
Gao J H. Plant physiological experiment technology [M]. Xi'an: World Bibliogony Press, 2000: 137-202. (in Chinese)
- [11] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南 [M]. 上海: 科学出版社, 1999.
Shanghai Plant Physiology Institute of Chinese Academy of Science. Modern guide book in experiment of plant physiology [M]. Shanghai: Science Press, 1999. (in Chinese)
- [12] 徐莲珍,蔡靖,姜在民,等. 水分胁迫对3种苗木叶片渗透调节物质与保护酶活性的影响 [J]. 西北林学院学报, 2008, 23(2): 12-16.
Xu L Z, Cai J, Jiang Z M, et al. Effects of water stress on osmotic adjustment and activity of protect enzymes in the leaves of three sorts of seedlings [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2008, 23(2): 12-16. (in Chinese)
- [13] 李成忠,孙燕,杜庆平. 黄连木根系抗氧化酶系对干旱胁迫的响应 [J]. 林业科技开发, 2008, 22(2): 57-59.
Li C Z, Sun Y, Du Q P. Responses of anti-oxidative enzymes in *Pistacia chinensis* roots to drought stress [J]. China Forestry Science and Technology, 2008, 22(2): 57-59. (in Chinese)
- [14] 李忠光,龚明. 植物中超氧阴离子自由基测定方法的改进 [J]. 云南植物研究, 2005, 27(2): 211-216.
Li Z G, Gong M. Improvement of measurement method for superoxide anion radical in plant [J]. Acta Botanica Yunnanica, 2005, 27(2): 211-216. (in Chinese)
- [15] 刘友良. 植物水分逆境生理 [M]. 北京: 农业出版社, 1992.
Liu Y L. Plant physiology of water stress [M]. Beijing: Agriculture Press, 1992. (in Chinese)
- [16] 陈少裕. 膜脂过氧化与植物逆境胁迫 [J]. 植物学通报, 1989, 6(4): 211-217.
Chen S Y. Membrane lipid peroxidation and plant stress [J]. Chinese Bulletin of Botany, 1989, 6(4): 211-217. (in Chinese)
- [17] 曹慧,王孝威,曹琴,等. 水分胁迫下新红星苹果超氧化物自由基累积和膜脂过氧化作用 [J]. 果树学报, 2001, 18(4): 197-199.
Cao H, Wang X W, Cao Q, et al. Effects of water stress on accumulation of superoxide free radical and membrane lipid peroxidation of *Starkrimson* apple young leaves [J]. Journal of Fruit Science, 2001, 18(4): 197-199. (in Chinese)
- [18] 夏国军,阎耀礼,程水明,等. 旱地冬小麦水分亏缺补偿效应研究 [J]. 干旱地区农业研究, 2001, 19(1): 79-82.
Xia G J, Yan Y L, Cheng S M, et al. Research on compensatory effects to water deficits on dry land winter wheat [J]. Agricultural Research in Arid Areas, 2001, 19(1): 79-82. (in Chinese)
- [19] 慕自新,梁宗锁,张岁岐. 土壤干湿交替下作物补偿生长的生理基础及其在农业中的应用 [J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(5): 511-516.
Mu Z X, Liang Z S, Zhang S Q. Physiological basis of compensation growth of crops under soil alternate drying wetting and its application in agricultural produce [J]. Plant Physiology Communications, 2002, 38(5): 511-516. (in Chinese)