

盐和 PEG 胁迫对丝瓜幼苗抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响

李 妍^{1,2}

(1. 德州学院生物系, 山东 德州 253023; 2. 山东师范大学逆境植物研究所, 山东 济南 250014)

摘 要: 测试不同浓度 NaCl 和 PEG 胁迫条件下丝瓜幼苗体内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性及丙二醛(MDA)、可溶性糖(SS)、叶绿素含量的变化情况。结果表明,在两种胁迫处理条件下,三种抗氧化酶活性均高于对照;MDA 含量随 NaCl 处理浓度的增加先上升后下降,PEG 胁迫条件下 MDA 含量随处理浓度的增加而下降;可溶性糖(SS)含量随 NaCl 处理浓度的增加先上升后下降,随 PEG 处理浓度的增加明显上升;两种处理条件下叶绿素含量均随处理浓度增加而下降。

关键词: NaCl; PEG; 抗氧化酶; 丙二醛; 可溶性糖
中图分类号: S311 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2009)02-0159-04

盐和渗透胁迫是影响植物生长、发育和农作物产量的重要环境胁迫因子,植物在长期与环境胁迫的抗争中演化出一系列适应或者应对逆境的机制^[1],在正常生理条件下,植物体内活性氧处于不断产生和清除的动态平衡之中,而一旦遭受盐、渗透、低温等逆境胁迫,这种平衡就会被破坏,活性氧水平上升^[2,3]。

逆境条件下,植物体内活性氧清除系统或抗氧化能力的下降是引起活性氧和丙二醛大量积累的主要原因。活性氧清除系统主要包括酶系统和非酶系统两大类。组成酶系统的各种酶活性高低,可基本反映出植物体内活性氧清除能力或抗氧化能力的强弱。SOD、POD 和 CAT 是植物抵御活性氧伤害的 3 种重要酶类,在清除 O₂^{·-}、H₂O₂,阻止或减少羟基自由基方面起着重要作用。

丝瓜(*Luffa cylindrica* Roem.)具有重要的药用价值和营养价值,且有较强的抗盐碱和渗透能力。丝瓜所含各类营养在瓜类食物中较高,富含多种维生素和矿物质,所含皂甙类物质、丝瓜苦味质、黏液质、木胶、瓜氨酸、木聚糖和干扰素等物质具有特殊的保健作用。本实验以不同浓度的 NaCl 和 PEG 处理生长期的丝瓜幼苗,比较 MDA、可溶性糖和叶绿素含量以及抗氧化酶活性的变化,以期从抗氧化能力的角度分析丝瓜耐非生物胁迫的生理机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

丝瓜种子由德州市农科所提供。经 0.1% Hg-

Cl₂ 消毒 10 min,用自来水充分冲洗后,挑选籽粒饱满的种子播种于装有细砂的塑料盆中。3 d 后萌发,置于温室中,用 1/2 Hoagland 营养液浇灌,温室的昼夜温度为 30/20℃,每天光照 15 h,光强约 700~900 μmol/(m²·s),相对湿度为 70%~80%。20 d 后,苗长至 4~5 片真叶时,移栽入装有干净细砂的盆中,每盆四株,用 Hoagland 营养液浇灌。继续培养一个月后,选生长一致的幼苗进行处理。

1.2 材料处理

NaCl 处理浓度为 0(对照)、50、100、150 mmol/L,渗透处理 PEG6000 浓度分别为 0(对照)、10%、15%、20%的溶液,(用约含 2.00 mmol/L Na⁺ 的完全 Hoagland 营养液配置),为避免冲击效应,盐浓度每天递增 50 mmol/L,PEG 浓度每天递增 5%,达到终浓度后,每天定时、定量按预定浓度浇灌一次,浇灌量为细砂持水量的 2 倍,约 2/3 的溶液流出,以保持 NaCl 和 PEG 的浓度恒定。处理植株 2 周后,测定有关生理指标,每个处理至少 3 个重复。

1.3 测定方法

称取丝瓜生长旺盛叶片鲜重 0.5 g 加入 5 ml 酶提取液(50 mmol/L 的磷酸缓冲液,pH7.8,含 4%的 PVP、0.3% Triton-100、0.1 mmol EDTA),冰浴研磨,14000g 冷冻离心 20 min,上清液备用。MDA 含量测定参考张志良等方法^[4,5]。SOD 活性按照李合生的方法^[6],以抑制 NBT 光化学还原的 50%为一个酶活力单位;CAT 活性参照李合生的方法^[7],酶活性大小以每克鲜重每分钟分解 H₂O₂ 的量表示;

POD 活性参照张志良的方法,以每分钟 OD 值降低 0.01 定义为一个酶活力单位^[8]。MDA 可溶性糖含量测定参考张志良等方法^[4,5];可溶性糖含量测定用蒽酮比色法^[9];叶绿素含量的测定用乙醇比色法^[9]。

2 结果与分析

2.1 保护酶活性变化

NaCl 和 PEG 处理均增加了丝瓜幼苗的 SOD 活性水平,SOD 活性随 NaCl 和 PEG 处理浓度的增加先上升后下降,处理条件下 SOD 活性水平平均高于对照植株。在 50、100、150 mmol/L NaCl 处理时,SOD 活性水平分别比对照上升了 113. 29%、59.49%和 13.92%。PEG 处理为 10%、15%、20%时,SOD 活性水平分别比对照上升了 56.96%、24.68%和3.8%。

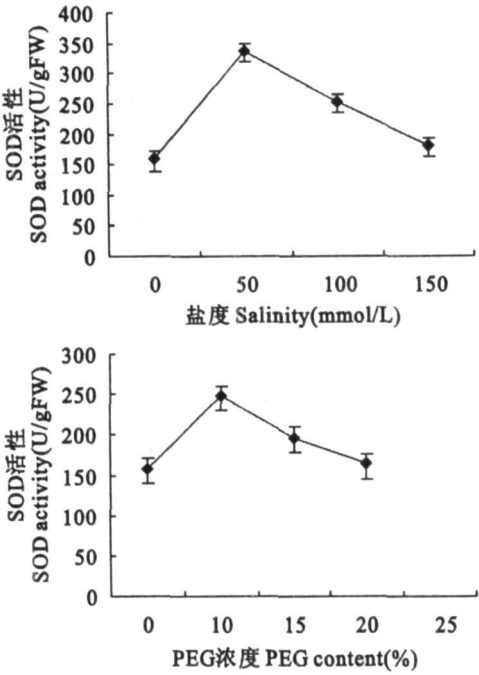


图 1 盐和渗透胁迫对丝瓜幼苗 SOD 活性的影响

Fig.1 Effects of salt and arid on SOD activity of *L. cylindrical* seedling

NaCl 和 PEG 处理均增加了丝瓜幼苗的 CAT 活性水平。CAT 活性随 NaCl 处理浓度的增加而上升,在 50、100、150 mmol/L NaCl 处理时,CAT 活性水平分别比对照上升了 165. 22%、216. 52%和 239.13%。CAT 活性随 PEG 处理浓度的增加先上升后下降,但处理条件下 CAT 活性水平平均高于对照植株,PEG 处理为 10%、15%、20%时,CAT 活性水平分别比对照上升了 91. 30%、60%和 13.04%。

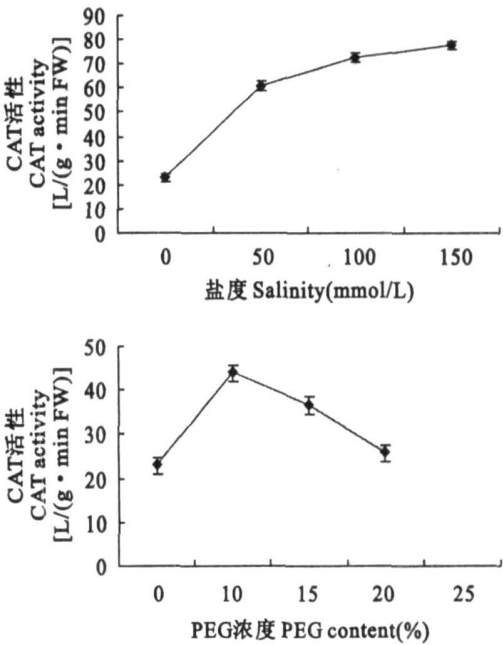


图 2 盐和渗透胁迫对丝瓜幼苗 CAT 活性的影响

Fig.2 Effects of salt and arid on CAT activity of *L. cylindrical* seedling

NaCl 和 PEG 处理均增加了丝瓜幼苗的 POD 活性水平,POD 活性随 NaCl 处理浓度的增加而上升,在 50、100、150 mmol/L NaCl 处理时,POD 活性水平分别比对照上升了 15. 32%、41. 94%和 75.16%。POD 活性随 PEG 处理浓度的增加先上升后下降,但处理条件下 POD 活性水平平均高于对照植株,PEG 处理为 10%、15%、20%时,POD 活性水平分别比对照上升了 23.39%、13.71%和 6.77%。

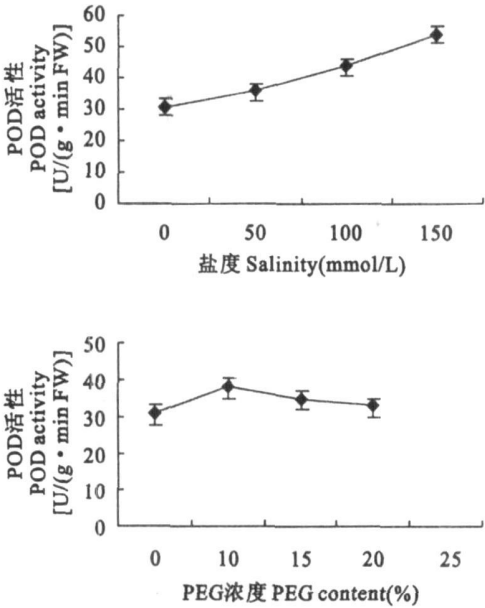


图 3 盐和渗透胁迫对丝瓜幼苗 POD 活性的影响

Fig.3 Effects of salt and arid on POD activity of *L. cylindrical* seedling

2.2 MDA 与可溶性糖含量变化

MDA 含量随 NaCl 处理浓度的增加先上升后下降,但处理条件下 MDA 含量均高于对照植株。在 50、100、150 mmol/L NaCl 处理时,MDA 含量分别比对照上升了 21.81%、19.12%和 13%。MDA 含量随 PEG 处理浓度的增加而下降,PEG 处理为 10%、15%、20%时,MDA 含量分别比对照下降了 20.1%、29.41%和 45.34%。

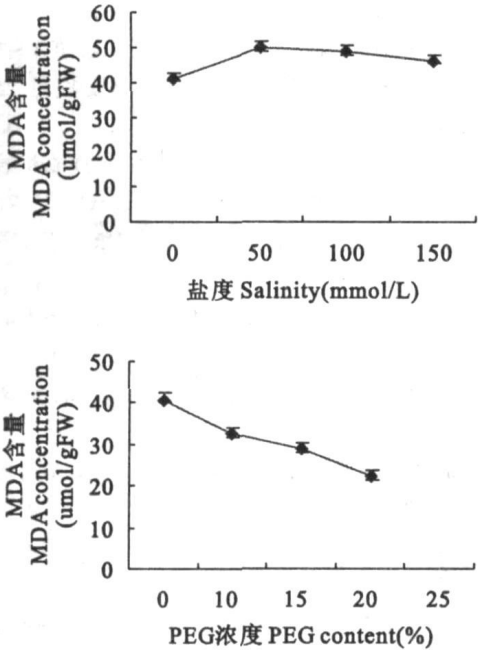


图 4 盐和渗透胁迫对丝瓜幼苗 MDA 含量的影响

Fig.4 Effects of salt and arid on MDA concentration of *L. cylindrical* seedling

SS 含量随 NaCl 处理浓度的增加先上升后下降,在 50、100 mmol/L NaCl 处理时 SS 含量分别比对照上升了 327.08%和 85.94%,在 150 mmol/L NaCl 处理时 SS 含量比对照下降了 23.96%。SS 含量随 PEG 处理浓度的增加而上升,PEG 处理为 10%、15%、20%时,SS 含量分别比对照上升了 272.92%、508.33%和 847.92%。

2.3 叶绿素含量变化

叶绿素的含量随 NaCl 处理浓度的增加先下降后上升,但处理条件下叶绿素含量均低于对照植株。在 50、100、150 mmol/L NaCl 处理时,叶绿素的含量分别比对照下降了 30.86%、25.10 %和 15.23%。叶绿素的含量随 PEG 处理浓度的增加而下降,PEG 处理为 10%、15%、20%时,叶绿素的含量分别比对照下降了 0.82%、25.51%和 65.43%。

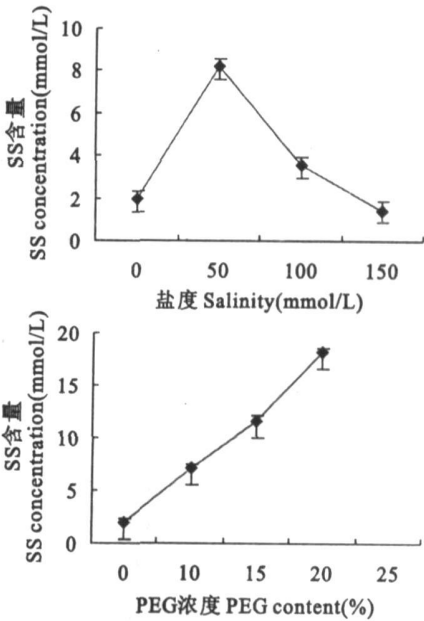


图 5 盐和渗透胁迫对丝瓜幼苗 SS 含量的影响

Fig.5 Effects of salt and arid on SS concentration of *L. cylindrical* seedling

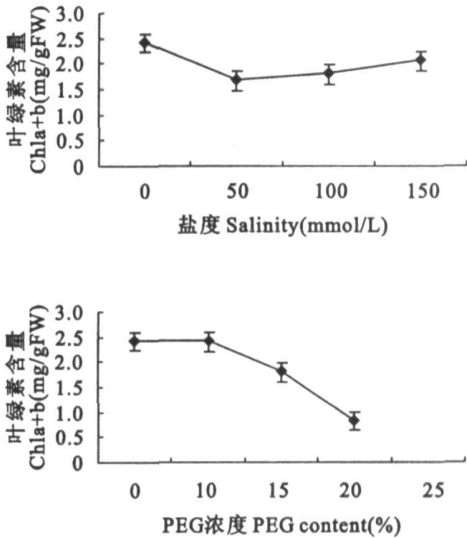


图 6 盐和渗透胁迫对丝瓜幼苗叶绿素含量的影响

Fig.6 Effects of salt and arid on chlorophyll content of *L. cylindrical* seedling

3 讨 论

SOD 能够歧化 $O_2\cdot^-$ 为 O_2 和 H_2O_2 ($2O_2\cdot^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)。组织中高浓度 H_2O_2 主要通过 CAT 清除,从而使 H_2O_2 控制在较低水平;而低浓度的 H_2O_2 主要靠 POD 在氧化相应基质时被消化。只有

SOD、POD、CAT 三者协调一致,才能使植物体内活性氧自由基维持在较低的水平,使植物进行正常的生长和代谢^[2]。

SOD 是自然界唯一的以氧自由基为底物的酶,可以把 ROS 歧化为 H_2O_2 ,在活性氧代谢中处于重要地位,是生物体内最重要的清除活性氧自由基的酶类,植物在胁迫条件下 SOD 活性会上升^[10,11]。在两种胁迫条件下 SOD 活性水平均比对照有所增加,在高处理浓度条件下 SOD 活性水平增加幅度较小,说明胁迫程度的加深使丝瓜幼苗中 SOD 基因表达或酶活性受到了影响。CAT 和 POD 在植物体内把 H_2O_2 直接降解为水和氧气,NaCl 和 PEG 处理均增加了丝瓜幼苗的 CAT 和 POD 活性水平。在 NaCl 处理条件下,CAT 和 POD 活性水平均随处理浓度的增加而增加,在 150 mmol/L NaCl 处理时其活性达到最高水平,说明这两种酶对丝瓜幼苗在 NaCl 胁迫条件下的生长起到了重要的保护作用。在渗透胁迫条件下 CAT 和 POD 活性在较低 PEG 处理(10%)条件下达到最大值,随后又略有下降,但处理条件下的活性均比对照高,说明这两种酶对于丝瓜幼苗在渗透胁迫条件下的生长具有保护作用,但较强的渗透胁迫仍然会对其活性有所影响。渗透胁迫条件下 CAT 和 POD 活性的变化与 Agarwal 等(2003)^[12]和 Da 等(2005)^[13]的结果一致。

NaCl 处理条件下,MDA 含量随盐处理浓度的增加先上升后下降,但均比对照植株要高。这说明盐胁迫对丝瓜幼苗造成了一定的伤害,这种伤害主要是由活性氧引起的。随着盐处理浓度的增加,抗氧化酶活性呈上升趋势,且均比对照植株要高,从而对丝瓜细胞内由于胁迫而产生的活性氧起到了清除作用,这可能是造成 MDA 含量随盐处理浓度的增加先升后降的原因。在水分胁迫条件下,MDA 含量随 PEG 处理浓度的增加而下降,三种抗氧化酶的活性均随水分胁迫程度的增加先上升后下降但均比对照植株高,可能在渗透胁迫条件下,三种抗氧化酶能够更好的清除活性氧,从而减少了其对膜的伤害,可溶性糖含量随 PEG 处理浓度的增加而上升,起到了有效的渗透调节作用,可能是减少活性氧产生的原

因之一。叶绿素含量在胁迫条件下均比对照植株略低,可能是由于叶绿素酶活性的增加引起的^[14]。

总之,盐、渗透等环境胁迫会诱发抗氧化酶活性的提高以保护植物避免来自于活性氧的伤害,同时可溶性糖作为一种重要的渗透调节物质也起到了非常重要的作用。该实验获得的结果对于揭示非生物胁迫条件下丝瓜耐性机制具有重要意义。

参 考 文 献:

- [1] Tanji K K. Nature and extent of agricultural salinity[M]. New York: American Society of Civil Engineers, 1990: 1—7.
- [2] 杨淑慎,高俊凤.活性氧、自由基与植物的衰老[J].西北植物学报,2001,21(2):215—220.
- [3] 王建华,刘鸿先,徐 同.超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理作用[J].植物生理学通讯,1989,25(1):1—7.
- [4] 张志良.植物生理学实验指导[M].第三版.北京:高等教育出版社,2004:274—277.
- [5] 赵世杰,许长成,邹 琦,等.植物组织中丙二醛测定方法的改进[J].植物生理学通报,1994,30(3):207—210.
- [6] 李合生.植物生理生化试验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000:167—169.
- [7] 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,2000:165—167.
- [8] 张志良.植物生理学实验指导[M].第三版.北京:高等教育出版社,2004:154—155.
- [9] 邹 琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000:89—92.
- [10] Agarwal S, Pandey V. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia* [J]. Biol Plant, 2004, 48: 555—560.
- [11] Singh D K, Rao L S, Singh K P. Photosynthetic characteristics and activity of antioxidant enzyme in salinity tolerant and sensitive rice cultivars[J]. Indian J. Plant Physiol, 2004, 9: 407—412.
- [12] Agarwal S, Pandey V. Stimulation of stress-related antioxidant enzymes in combating oxidative stress in *Cassia* seedlings[J]. Indian J Plant Physiol, 2003, 8: 264—269.
- [13] 葛体达,隋方功,白莉萍.水分胁迫下夏玉米根叶保护酶活性变化及其对膜脂过氧化作用的影响[J].中国农业科学,2005,38(5):922—928.
- [14] Sudhakar C, Ramanjulu S, Reddy P S. Response of some Calvin cycle enzymes subjected to salinity shock in vitro[J]. Indian J Exp Bot, 1997, 35: 665—667.

(英文摘要下转第 178 页)

Analysis of changes of pressure before the orifices in laterals under low pressure drip irrigation

WANG Hong¹, LI Yuan-nong¹, HONG Ming², JIANG Geng-min¹

(1. Collage of Hydraulic and Architectural Engineering, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Collage of Hydraulic and Civil Engineering, Xinjiang Agricultural University, Urumchi, Xinjiang 830052, China)

Abstract: In order to study the variation law of low pressure trickle irrigation laterals, under 0.5~2.0 m work head and different laterals with the length of 20, 40 and 60 m, orifice outlet drip irrigation laterals' linear pressure with a diameter of $\Phi 16$ are measured. The results show that there are great differences between calculation results calculated by formula according to the specifications and measured value. Linear head loss calculation formula in specifications can not meet the orifice outlet drip irrigation laterals' head losses calculation under low pressure condition. Head losses of measured values is bigger than that calculated by formula for more than 30 times under condition of 0.5 m work head and lateral with the length of 20 and 40 m, and the ratio of them has the tendency of reducing with the increasing of inlet work head. After fitting by excel, it shows that pressure distribution carried with laterals conforms to an exponent function relation which considers inlet pressure as a basic parameter, and gives the experimental value range of related parameters as: head losses correction coefficient $k=1.004\sim 1.0183$ and exponent correction coefficient $\theta=0.004\sim 0.021$.

Key words: low pressure trickle irrigation; lateral; lateral head loss

(上接第 162 页)

Effect of salt and PEG to antioxidant enzymes activity and MDA concentration of *Luffa cylindrical* Roem

LI Yan^{1,2}

(1. Biology Department of Dezhou University, Dezhou, Shandong 253023, China;

2. Laboratory of Plant Stress Research, Life Science College, Shandong Normal University, Jinan, Shandong 250014, China)

Abstract: The activity of anti-oxidant enzymes (Superoxide dismutase(SOD), Peroxidase(POD), Catalase(CAT)), parameters of oxidative stress malondialdehyde(MDA), soluble sugar(SS) and chlorophyll content of shoots were investigated in *L. cylindrical*. The seedlings of *L. cylindrical* were treated with varying NaCl(0, 50, 100, 150 mmol/L) and PEG (0, 10%, 15%, 20%) stress. The activities of SOD, POD and CAT showed different developing tendencies with the increase of the concentration of NaCl or PEG in shoots of *L. cylindrical*, but it was higher under stress conditions than control. MDA concentration of shoots increased than decreased under salt stress condition, but it was higher under stress conditions than control, MDA concentration of shoots decreased under PEG stress condition. SS concentration of shoots increased than decreased under salt stress condition, but it increased with PEG concentration increased obviously. Chlorophyll content of shoots decreased under stress conditions. The stress tolerance of *L. cylindrical* under salt and PEGr stress condition are probably due to its ability to exhibit high SOD, POD and CAT enzyme activities and osmotic adjust action of soluble sugar.

Key words: NaCl; PEG; antioxidant enzymes; MDA; SS