

干旱胁迫对不同种源香椿叶片 膜脂过氧化和保护酶系统的影响

彭方仁¹, 杨玉珍², 朱振贤¹

(1. 南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037; 2. 郑州师范高等专科学校生命科学系, 河南 郑州 450044)

摘要: 对来源于江苏、四川、湖南、湖北、河南和陕西的香椿 [*Toona sinensis* (A. Juss.) Roem.] 苗进行盆栽实验, 研究干旱胁迫对香椿叶片膜脂过氧化和保护酶系统的影响。结果表明, 随干旱胁迫程度的加强, 6 个种源香椿苗叶片中的丙二醛 (MDA) 含量增加, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性增强, 但各指标的变化幅度因种源不同而异。复水后, 除重度干旱胁迫造成的 SOD 活性变化难以恢复外, 其余指标基本能恢复至对照水平。综合 MDA 含量及 SOD 和 POD 活性的变化情况认为, 来源于河南、陕西和江苏的香椿具有较强的抗旱能力, 而来源于湖北、四川和湖南的香椿抗旱能力较弱。

关键词: 香椿; 种源; 干旱胁迫; 复水; 保护酶

中图分类号: Q945.78 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2007)02-0044-04

Effects of drought stress on lipid peroxidation and protective enzyme systems in leaf of *Toona sinensis* from different provenances PENG Fang-ren¹, YANG Yu-zhen², ZHU Zhen-xian¹ (1. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Department of Life Science, Zhengzhou Normal College, Zhengzhou 450044, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2007, 16(2): 44-47

Abstract: The effects of drought stress on lipid peroxidation and protective enzyme systems in leaf of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem. from Jiangsu, Sichuan, Hu'nan, Hubei, He'nan and Shaanxi provinces were studied. The results showed that MDA content and activities of SOD and POD raised with increasing of drought stress level, but the change degree of these indexes was varied as different provenances. After rewatering, MDA content and activities of SOD and POD could almost recovered to levels of CK except SOD activity change during serious drought stress. Through comprehensive analysis of MDA content, activities of SOD and POD, it is concluded that provenances of *T. sinensis* from He'nan, Shaanxi and Jiangsu show higher drought resistance, and weak resistance are shown in the others.

Key words: *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem.; provenance; drought stress; rewatering; protective enzyme

香椿 [*Toona sinensis* (A. Juss.) Roem.] 为分布范围广、适应性强的珍贵速生用材树种之一。由于长期适生于不同生境, 不同种源香椿在形态特征、生长速度和生理生态特性等方面存在显著差异^[1-3]。

干旱胁迫可导致植物体发生氧化胁迫, 直接或间接启动膜脂过氧化反应, 使细胞膜透性增大, 最终导致细胞膜系统变性^[4-8]。活性氧和 MDA 是目前已知的植物对水分胁迫伤害的主要生理响应特征之一, 植物细胞可通过自由基清除剂有效防范活性氧伤害, 其中 SOD 和 POD 等保护酶系统起着十分重要的作用, 它们可相互协同清除过剩的氧自由基, 防止植物细胞受到伤害^[7,8]。

有关不同种源香椿抗旱性差异及其对干旱胁迫生理反应等方面的研究尚未见系统报道。为研究不同种源香椿的抗旱性差异, 揭示香椿对干旱胁迫的生理反应机制, 作者以来自 6 个不同产地的香椿种源为研究对象, 对持续干旱胁迫期间叶片的 SOD 和 POD 活性及 MDA 含量的变化情况进行研究, 以期对香椿优良种源的选择提供理论依据。

收稿日期: 2006-10-12

基金项目: 江苏省科技攻关项目(农业)(BE2005368)和江苏省农业三项工程项目(SX(2004)083)

作者简介: 彭方仁(1963-), 男, 湖北阳新人, 博士, 教授, 主要从事经济林栽培教学与研究工作。

1 材料和方法

1.1 材料

选择江苏(南京)、四川、湖南、湖北、河南和陕西等6个产地的1年生香椿实生苗,2006年3月中旬盆栽,每盆装干土约8 kg,土壤最大持水量34.3%,每盆定植1株,置于南京林业大学树木园日光温室内培育。

1.2 方法

1.2.1 处理方法 萌芽长至约20 cm时进行平茬处理,留1条长势较好的嫩枝,待2006年6月苗木长势较旺时进行干旱胁迫处理。每个种源选长势一致的植株18盆,分为对照(CK)、轻度干旱胁迫(1S)和重度干旱胁迫(2S)3个处理组,含水量分别为田间持水量的70%~75%、50%~55%和25%~30%。分别于6月20日、7月20日和8月19日及复水3 d后取相同部位的叶片用于各项生理指标的测定,每次测定每处理均设3个重复。

1.2.2 测定方法

1.2.2.1 酶液的提取 取混合鲜样0.5 g,置于预冷研钵中,加2 mL预冷的 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(含质量分数1%的PVP, pH 7.8),冰浴研磨至匀浆,加上述缓冲液至终体积5 mL,10 000 g冷冻离心20 min,上清液即为酶提取液。

1.2.2.2 丙二醛含量及酶活性的测定 MDA含量及SOD和POD活性测定参照王晶英等的方法^[9],略有改动。丙二醛含量测定:取上清液1 mL,加2 mL质量分数0.67%的硫代巴比妥酸(用质量分数10%的三氯乙酸定容),沸水浴煮沸15 min,离心,分别于532、600和450 nm处测定上清液吸光度,计算每克鲜叶中MDA的微摩尔数。

SOD活性测定:以抑制50% NBT发生光化学还原为1个酶活性单位,计算公式为: $\text{SOD活性} = [(A_{CK} - A_E) \cdot V \cdot f] / (0.5A_{CK} \cdot W \cdot V_i)$, 式中: A_{CK} 为对照管OD值; A_E 为样品管OD值; V 为样品总体积; f 为稀释倍数; V_i 为使用的样品体积; W 为样品鲜质量。

POD活性测定:每隔30 s记录1次吸光度,以每分钟吸光度变化0.01为1个酶活性单位,计算公式为: $\text{POD活性} = (\Delta\text{OD}_{470} \cdot V) / (W \cdot 0.01V_i \cdot t)$, 式中: ΔOD_{470} 为对照与样品的OD值之差; V 为上清

液体积; W 为样品鲜质量; V_i 为使用的样品体积; t 为光照时间。

2 结果和分析

2.1 干旱胁迫对SOD活性的影响

干旱胁迫对不同种源香椿叶片SOD活性的影响见表1。除河南种源香椿叶片的SOD活性在轻度干旱胁迫时升高、重度干旱胁迫时与对照无明显差异外,随干旱胁迫程度的增加,其他5个种源的SOD活性均呈增加趋势,但增加的幅度各异。轻度干旱胁迫可导致河南种源香椿叶片SOD活性产生一定的适应性变化,其活性增加幅度在6个种源中最高。由于抗旱品种一般均具有较高的SOD活性^[10],推断河南种源抗轻度干旱胁迫的能力最强。在轻度干旱胁迫下,其他5个种源的SOD活性增加幅度较小,由大到小依次为江苏种源、陕西种源、四川种源、湖北种源、湖南种源;在重度干旱胁迫下,SOD活性迅速增加,增加幅度由大到小依次为江苏种源、陕西种源、四川种源、湖南种源、湖北种源。

复水后,香椿叶片的SOD活性均有一定程度的下降。经轻度干旱胁迫并复水后,除陕西种源的SOD活性略高于对照外,其他5个种源的SOD活性均恢复至对照水平;经重度干旱胁迫并复水后,除河南种源外,其他5个种源的SOD活性很难恢复至对照水平。方差分析结果表明,不同种源香椿叶片的SOD活性变化差异极显著($P < 0.01$)。

2.2 干旱胁迫对POD活性的影响

干旱胁迫下,6个种源香椿叶片POD活性的变化情况见表2。由表2可见,随干旱胁迫程度的加强,各种源香椿叶片的POD活性均呈上升趋势,但增加的幅度各异。在轻度干旱胁迫下,江苏种源香椿叶片的POD活性明显高于重度干旱胁迫下的POD活性,其余种源香椿叶片的POD活性均呈现在重度干旱胁迫下高于轻度干旱胁迫的趋势。

复水后,经轻度干旱胁迫的四川种源香椿叶片的POD活性未恢复至对照水平;而经重度干旱胁迫的四川、湖南和湖北3个种源香椿叶片的POD活性也未能恢复至对照水平。方差分析结果表明,不同种源香椿叶片的POD活性差异极显著($P < 0.01$)。

2.3 干旱胁迫对丙二醛(MDA)含量的影响

干旱胁迫及复水后,不同种源香椿叶片MDA

含量的变化见表 3。由表 3 可见,在重度干旱胁迫下,各种源香椿叶片的 MDA 含量均明显高于轻度干旱胁迫下的 MDA 含量,表现出随干旱胁迫程度加强而增加的趋势,说明随着干旱胁迫程度的加强,叶片细胞膜的膜脂过氧化作用也随之加剧。复水后,除湖南种源香椿叶片的 MDA 含量略高于对照

外,其余种源均恢复至对照水平。

各种源香椿叶片的 MDA 含量随干旱胁迫程度的加强而增加,但不同种源增加的幅度各异。在轻度干旱胁迫下,MDA 含量增加幅度由大到小依次为四川种源、湖南种源、江苏种源、陕西种源、湖北种源、河南种源;在重度干旱胁迫下,其增加幅度由大

表 1 干旱胁迫及复水后不同种源香椿叶片中 SOD 活性的变化¹⁾

Table 1 Change of SOD activity in leaf of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem. from different provenances during drought stress and after rewatering¹⁾

种源 Provenance	干旱胁迫下的 SOD 活性/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ SOD activity under drought stress			复水后的 SOD 活性/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ SOD activity after rewatering	
	CK	LS	SS	LS	SS
江苏 Jiangsu	127.67 ± 17.67	183.74 ± 29.51	236.26 ± 11.35	117.41 ± 36.53	152.47 ± 18.14
四川 Sichuan	149.33 ± 31.23	163.80 ± 34.91	205.40 ± 33.07	136.89 ± 25.04	195.71 ± 28.52
湖南 Hu'nan	137.12 ± 28.28	143.25 ± 25.83	171.17 ± 12.27	123.68 ± 28.34	162.19 ± 29.87
湖北 Hubei	154.79 ± 27.61	161.04 ± 34.60	183.37 ± 34.92	134.99 ± 19.88	186.82 ± 30.89
河南 He'nan	174.23 ± 11.66	250.31 ± 32.88	174.54 ± 15.03	152.38 ± 21.66	171.18 ± 28.28
陕西 Shaanxi	184.66 ± 19.02	207.67 ± 32.45	275.83 ± 35.84	189.70 ± 33.02	207.20 ± 25.50
F	22.815 **	37.831 **	20.572 **	18.563 **	24.631 **

¹⁾ CK: 对照 Control; LS: 轻度干旱胁迫 Light drought stress; SS: 重度干旱胁迫 Serious drought stress; ** : $P < 0.01$.

表 2 干旱胁迫及复水后不同种源香椿叶片中 POD 活性的变化¹⁾

Table 2 Change of POD activity in leaf of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem. from different provenances during drought stress and after rewatering¹⁾

种源 Provenance	干旱胁迫下的 POD 活性/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ POD activity under drought stress			复水后的 POD 活性/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ POD activity after rewatering	
	CK	LS	SS	LS	SS
江苏 Jiangsu	300.83 ± 49.88	712.27 ± 68.62	574.15 ± 46.38	257.95 ± 29.19	242.11 ± 50.22
四川 Sichuan	325.10 ± 44.68	412.84 ± 55.91	530.73 ± 25.63	402.74 ± 45.70	468.90 ± 38.97
湖南 Hu'nan	247.80 ± 19.62	288.28 ± 53.61	362.18 ± 36.42	227.61 ± 17.12	273.06 ± 27.81
湖北 Hubei	397.93 ± 52.14	441.90 ± 35.57	539.83 ± 69.56	304.11 ± 44.30	419.95 ± 13.52
河南 He'nan	397.65 ± 74.59	424.53 ± 28.16	529.00 ± 51.25	319.75 ± 47.17	251.12 ± 47.85
陕西 Shaanxi	431.33 ± 36.52	623.85 ± 45.34	728.77 ± 79.60	320.89 ± 31.67	413.15 ± 27.44
F	16.275 **	70.935 **	60.367 **	14.652 **	17.682 **

¹⁾ CK: 对照 Control; LS: 轻度干旱胁迫 Light drought stress; SS: 重度干旱胁迫 Serious drought stress; ** : $P < 0.01$.

表 3 干旱胁迫及复水后不同种源香椿叶片中丙二醛含量的变化¹⁾

Table 3 Change of MDA content in leaf of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem. from different provenances during drought stress and after rewatering¹⁾

种源 Provenance	干旱胁迫下的 MDA 含量/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ MDA content under drought stress			复水后的 MDA 含量/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ MDA content after rewatering		
	CK	LS	SS	CK	LS	SS
江苏 Jiangsu	5.78 ± 0.32	6.55 ± 0.26	6.85 ± 0.29	5.03 ± 0.35	4.53 ± 0.21	5.01 ± 0.16
四川 Sichuan	5.15 ± 0.36	6.10 ± 0.17	7.51 ± 0.28	5.06 ± 0.46	4.81 ± 0.18	4.97 ± 0.38
湖南 Hu'nan	5.66 ± 0.19	6.51 ± 0.19	7.66 ± 0.44	5.45 ± 0.29	5.49 ± 0.29	5.55 ± 0.34
湖北 Hubei	5.29 ± 0.19	5.67 ± 0.11	6.46 ± 0.19	4.87 ± 0.39	4.39 ± 0.41	4.13 ± 0.19
河南 He'nan	5.37 ± 0.19	5.66 ± 0.46	6.08 ± 0.25	4.69 ± 0.24	4.10 ± 0.22	4.54 ± 0.35
陕西 Shaanxi	5.44 ± 0.19	5.94 ± 0.31	6.27 ± 0.32	5.21 ± 0.36	4.26 ± 0.16	5.14 ± 0.29
F	1.003	3.261 *	24.485 **	1.116	2.832 *	3.428 *

¹⁾ CK: 对照 Control; LS: 轻度干旱胁迫 Light drought stress; SS: 重度干旱胁迫 Serious drought stress; * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$.

到小依次为四川种源、湖南种源、湖北种源、江苏种源、陕西种源、河南种源。经轻度干旱胁迫的香椿苗在复水后叶片 MDA 含量有所下降, 下降幅度由大到小依次为陕西种源、河南种源、江苏种源、湖北种源、四川种源、湖南种源; 经重度干旱胁迫并复水后, 香椿叶片 MDA 含量下降幅度由大到小依次为湖北种源、河南种源、四川种源、陕西种源、江苏种源、湖南种源; 复水后, 湖南种源香椿叶片的 MDA 含量有所下降, 但未恢复至对照水平。方差分析结果表明, 干旱胁迫前各香椿种源间叶片的 MDA 含量差异不显著, 轻度干旱胁迫下差异显著 ($P < 0.05$), 重度干旱胁迫下差异极显著 ($P < 0.01$)。结合干旱胁迫期间 MDA 含量的增加幅度和复水后的下降幅度认为, 河南和陕西种源的抗膜脂过氧化能力优于四川和湖南种源, 表现出较强的耐旱能力。

3 讨论和结论

当植物处于逆境条件(高光强、高温、干旱、盐渍、冷冻及营养元素缺乏)下或衰老等状态时, 体内都会发生氧化胁迫, 并由此引发或加剧细胞的膜脂过氧化, 导致 MDA 等成分的含量升高^[8,11,12]。与此同时, 植物体内清除活性氧的酶类和非酶类系统也积极参与反应, 以清除或减轻活性氧对细胞的损害, 其中对 SOD、POD 和 CAT 3 种酶系统的研究较多^[7,8,11,13]。

抗旱性强的香椿种源具有内在的抗性机制, 表现为水分饱和亏(WSD)增加幅度低、受胁迫后水势降低幅度大及细胞膜稳定性高等特点。随着干旱胁迫程度的加强, 河南、陕西和江苏等种源香椿叶片的 MDA 含量变化幅度小, SOD 和 POD 活性增加幅度大, 复水后恢复能力强, 表现出较强的抗膜脂过氧化和耐旱能力; 而湖北、四川及湖南等种源香椿叶片的 MDA 含量变化幅度大, SOD 和 POD 活性增加幅度小, 复水后 SOD 活性恢复慢, POD 活性则难以恢复至对照水平。由于 MDA 含量和 SOD 及 POD 活性变化均与活性氧及其物质代谢密切相关^[13], 因此, 它们通过影响细胞膜稳定性反映出香椿抗旱性的内在生化机制。除河南和江苏种源外, 其他种源香椿叶片的 SOD 和 POD 活性均表现出随干旱胁迫程度的加强而上升的趋势, 因此, 这些种源香椿叶片主要通过 SOD 和 POD 的协同作用清除活性氧。河南种源

香椿叶片的 SOD 活性和江苏种源香椿叶片的 POD 活性均表现出轻度干旱胁迫下增强、重度干旱胁迫下降低的特点, 而这 2 个种源的 MDA 含量的增加幅度较小, 表现出较强的抗膜脂过氧化能力, 说明这 2 个种源香椿叶片中 SOD 和 POD 酶系统对防止 MDA 的产生具有协同作用。

综上所述, 河南、陕西和江苏等香椿种源具有较强的抗旱能力和伤害修复及超补偿能力, 而湖北、四川和湖南等香椿种源抗旱能力相对较弱。

参考文献:

- [1] 梁有旺, 彭方仁, 陈德平. 香椿不同种源和优良单株的种子品质差异性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2006, 15(4): 42 - 47.
- [2] 李淑玲, 桑玉强, 王平, 等. 不同种源香椿性状遗传分析[J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(4): 363 - 366.
- [3] 孙鸿有, 王鹏飞. 香椿地理变异与种源选择[J]. 浙江林学院学报, 1992, 9(3): 23 - 26.
- [4] Dhindsa A S, Mutoué W. Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defense against lipid peroxidation[J]. J Exp Bot, 1981, 32: 79 - 91.
- [5] Pauk K P, Thompson J E. *In vitro* simulation of senescence-related membrane damage by ozone-induced lipid peroxidation [J]. Nature, 1980, 28(3): 504 - 506.
- [6] Tuner N. Concurrent comparison of stomatal behavior, water status, and evaporation of maize in soil at high or low water potential[J]. Plant Physiol, 1975, 55: 932 - 936.
- [7] 陈少瑜, 郎南军, 贾利强, 等. 干旱胁迫下坡柳等抗旱树种幼苗膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. 植物研究, 2006, 26(1): 88 - 92.
- [8] 孙国荣, 彭永臻, 阎秀峰, 等. 干旱胁迫对白桦实生苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 林业科学, 2003, 39(1): 165 - 167.
- [9] 王晶英, 敖红, 张杰, 等. 植物生理生化实验技术与原理[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003.
- [10] 韦小丽, 徐锡增, 朱守谦. 水分胁迫下榆科 3 种幼苗生理生化指标的变化[J]. 南京林业大学学报, 2005, 25(2): 47 - 50.
- [11] Mishra N P, Mishra R K, Singhal G S. Changes in the activities of antioxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors[J]. Plant Physiol, 1993, 102: 903 - 908.
- [12] 张木清, 陈如凯, 余松烈. 水分胁迫下蔗叶活性氧代谢的数学分析[J]. 作物学报, 1996, 22(6): 263 - 267.
- [13] 杨方云, 魏朝富, 刘英. 干旱胁迫下甜橙叶片保护酶体系的变化研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(1): 119 - 124.