

盐分和干旱胁迫对紫荆幼苗膜稳定性的影响

魏 丽

(山东英才学院, 山东 济南 250104)

摘要: 为了探讨紫荆在盐胁迫及干旱胁迫下发生伤害的可能机制, 以 1 年生紫荆幼苗为试材, 分别用 100 mmol/L NaCl 和 15 mmol/L 聚乙二醇(PEG)处理, 分析其叶片的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性及丙二醛(MDA)、可溶性蛋白含量的动态变化, 研究盐分和干旱胁迫对紫荆幼苗膜稳定性的影响。结果表明, 在 NaCl 和 PEG 处理下, 紫荆幼苗 SOD 和 POD 活性先升高后降低, 幼苗对 PEG 的反应比对 NaCl 的反应强烈; MDA 含量显著增加, 与 SOD 和 POD 活性变化呈负相关; 蛋白含量降低, PEG 胁迫对可溶性蛋白含量的影响大于 NaCl 胁迫。分析认为, 紫荆幼苗在干旱和盐胁迫下发生伤害的主要原因是 NaCl 及 PEG 处理降低了膜保护酶 SOD 和 POD 活性, 从而减弱了其清除细胞内自由基的能力, 加强了膜脂过氧化作用, 最终导致膜脂过氧化作用产物 MDA 含量的增加和幼苗伤害程度的加深。

关键词: 紫荆; NaCl; 聚乙二醇; 胁迫; 膜稳定性

中图分类号: S722.3⁺6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)09-0108-04

Effects of Salt Stress and Drought Stress on the Membrane Stability of *Cercis chinensis* Seedlings

WEI Li

(Shandong Yingcai University, Jinan 250104, China)

Abstract: The aim was to study the injury mechanism of *Cercis chinensis* seedlings under salt stress and drought stress, and it benefited for actual production of this plant. The changes in the activities of superoxide dismutase(SOD) and peroxidase(POD), the contents of malondialdehyde(MDA) and soluble protein in leaves of *Cercis chinensis* seedlings treated with 100 mmol/L NaCl or 15 mmol/L PEG, respectively, were studied. The results showed that SOD and POD activities increased firstly and then decreased in both the treatments. The effect of PEG was more significant than that of NaCl. The contents of MDA increased in both the treatments. There was a negative correlation between SOD/POD activities and MDA content. The content of protein decreased significantly in PEG treatment than in NaCl treatment. The decrease of SOD and POD activities resulted in the injury of *Cercis chinensis* seedlings under drought and salt stress, which strengthened the membrane lipid peroxidation and then increased MDA contents.

Key words: *Cercis chinensis*; NaCl; PEG; stress; membrane stability

紫荆(*Cercis chinensis*)是苏木科紫荆属落叶乔木或灌木, 又名满条红。紫荆木材结构较细, 可供建筑、家具等使用; 树皮、木材、根可药用, 具有消肿、活血、解毒等功效; 其花冠假蝶型, 紫红色, 多在庭院、

公园栽培, 是著名观赏树种^[1]。紫荆又是防污绿化的重要树种, 具有很强的抗逆性^[2]。

了解紫荆自身抗逆性以及发生伤害的可能机制是选育抗逆性较强的紫荆新品种的前提条件。植物

收稿日期: 2013-05-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31200226); 山东英才学院校级科研课题(11YCZD06)

作者简介: 魏 丽(1980-), 女, 山东菏泽人, 讲师, 硕士, 主要从事苗木抗性生理研究。E-mail: 05300532@163.com

的抗盐机制包括耐盐和避盐^[3]。耐盐方式主要有区隔化、代谢调节、维持膜系统的完整性、渗透调节等。研究表明,膜系统的完整性对植物代谢十分重要。受到盐胁迫时,膜系统在盐离子胁迫下产生胁迫,导致质膜受伤,质膜透性增大。孙方行等^[4]研究表明,随着盐分浓度和干旱胁迫的增加,君迁子幼苗丙二醛(MDA)含量升高、质膜透性增大。于振群等^[5]研究表明,在干旱和盐分交叉胁迫下,皂角幼苗的膜透性增加,认为膜脂过氧化作用是造成细胞膜结构和功能损伤的主要因子。盐分胁迫下,植物膜系统的变化包括盐分对膜质的破坏和植物对膜系统的修复2个阶段。膜系统的修复与超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性升高密切相关^[6]。

目前,对许多树种如白蜡^[7]、国槐^[8-9]、枸杞^[10-11]、刺槐^[12]等在抗盐、抗旱方面已进行了比较深入的研究,而对于紫荆在盐分及干旱胁迫下的反应却少有报道。为此,本研究以现有的紫荆新品种为试材,通过对盐胁迫和干旱胁迫下与紫荆膜稳定性相关的理化指标 SOD、POD 活性和 MDA 含量等动态变化进行测定与分析,探讨紫荆在盐胁迫及干旱胁迫下发生伤害的可能机制,以期对紫荆的抗盐、抗旱遗传改良提供科学的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试材取自济南郊区苗圃,为生长健壮的1年生紫荆盆栽苗。试验于2011年4月在玻璃温室中进行,温度控制在20~30℃,空气相对湿度为60%。

1.2 材料处理

选取生长一致的盆栽苗60株,去土后先放在清水中培养6h,然后将其分为3组,其中1组用清水培养作为对照,另外2组分别用较高浓度相同渗透势的NaCl 100 mmol/L和聚乙二醇(PEG) 15 mmol/L溶液处理。处理0、1、5、10、15、20、25、30 h时,分别取样测定各项指标,重复3次。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 相对电导率 相对电导率的测定参照张君圻^[13]的方法进行。分别将15 mL去离子水、直径1 cm的小叶圆片(尽量避开叶脉)加入试管中。振荡0.5 min后测定第1次电导率(L_1),将试管煮沸20 min,冷却至室温,测定第2次电导率(L_2),计算相对电导率(L)。相对电导率(L)= $\frac{L_1}{L_2} \times 100\%$ 。

1.3.2 MDA 含量 MDA 含量测定参考张志良^[14]的方法。称取剪碎的叶片1 g,加入2 mL 10%的三氯乙酸和少量石英砂,研磨至匀浆,再加入8 mL 三氯乙酸进一步研磨,4 000 r/min离心10 min,上清液为样品提取液。取2 mL上清液,加入2 mL 0.6%硫代巴比妥酸溶液,沸水浴15 min,9 000 r/min离心10 min。取上清液测定450、532、600 nm波长下的吸光度。MDA 含量(C_2)= $6.54 \times (OD_{532} - OD_{600}) - 0.56 \times OD_{450}$ 。

1.3.3 蛋白质含量 称取约1 g剪碎的叶片,放入研钵中,加入5 mL蒸馏水在冰浴中研成匀浆,离心(4 000 r/min,10 min),将上清液倒入10 mL容量瓶,再向残渣中加入2 mL蒸馏水,悬浮后再离心10 min,合并上清液,定容至刻度。吸取蛋白样品40 μ L,再加入3 mL蛋白测定试剂[0.01%(m/v)考马斯亮蓝G-250、4.7%乙醇、8.5%(m/v)磷酸]摇匀后在595 nm下测定OD值。用牛血清白蛋白同步制作标准曲线。根据所测得的OD值,查标准曲线来计算蛋白含量。

1.3.4 抗氧化酶活性 称取植物叶片0.3 g置于研钵中,加入6 mL 0.1 mol/L的磷酸缓冲液(pH值7.8),冰浴下匀浆,在15 000 r/min,4℃下离心10 min,取上清液为酶提取液。SOD活性的测定参照Giannopolitis等^[15]的方法。反应体系包括:2.9 mL 50 mmol/L PBS,13 mmol/L甲硫氨酸,75 mmol/L氮蓝四唑,0.1 mmol/L EDTA,2 mmol/L核黄素和100 μ L提取液。在光下反应30 min。将对照置于暗处。测定560 nm的吸光值,以抑制氮蓝四唑光化还原50%作为1个酶活性单位(U),计算SOD活性。POD活性测定:取100 μ L酶液加3 mL反应混合液混匀,加入20 μ L H_2O_2 ,于470 nm波长处做时间扫描,以每分钟 OD_{470} 增加0.01为1个酶活性单位(U)。

1.4 统计分析方法

采用Excel及SPSS对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同胁迫处理对紫荆幼苗叶片SOD活性的影响

SOD催化活性氧发生歧化反应产生 O_2 和 H_2O_2 ,防止自由基伤害,是膜脂过氧化防御系统的主要保护酶之一^[16]。本研究表明,在相同渗透势的PEG和NaCl胁迫下,SOD活性的总体变化趋势都

是在较短时间内有所上升,然后下降(图 1)。紫荆幼苗中 SOD 活性在刚开始受胁迫时快速升高,可能是紫荆幼苗的应激反应。处理 10 h 时,SOD 活性急剧降低,可能是因为细胞膜已表现严重伤害,而后升高是细胞对环境的适应调节。但细胞自身的调节能力是有限的,随着胁迫时间延长,SOD 活性再次下降。同时,还可以看出,相同渗透势的 PEG 和 NaCl 胁迫之间 SOD 活性变化的差异不大,但是紫荆幼苗对 PEG 产生应激反应明显比对 NaCl 早 4 h,说明紫荆幼苗对 PEG 的反应要比对 NaCl 的反应敏感。

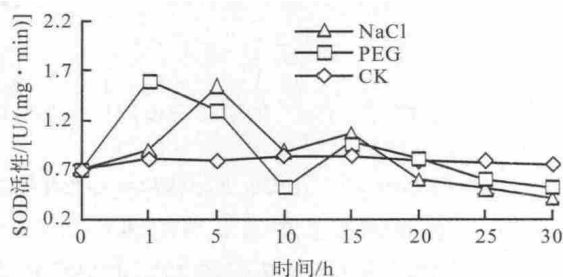


图 1 NaCl 和 PEG 胁迫对紫荆幼苗叶片 SOD 活性的影响

2.2 不同胁迫处理对紫荆幼苗叶片 POD 活性的影响

从图 2 可以看出,紫荆幼苗 POD 活性变化与 SOD 活性变化趋势相似,在胁迫过程中,POD 活性总体表现为先升高再降低,说明紫荆幼苗先产生了应激反应。而 PEG 处理条件下,最后 POD 的活性反而高于对照,可能原因是细胞膜已经被完全破坏,导致细胞内部的酶外溢,使测得的活性较高。PEG 处理 20 h 的紫荆幼苗 POD 活性开始升高,说明这个时候细胞膜已经被破坏,而 NaCl 处理的 POD 活性仍是下降趋势,说明了此时细胞膜还未完全被破坏。从二者对比可以看出,相同渗透势的 PEG 和 NaCl 相比,PEG 对幼苗的伤害要比 NaCl 严重。

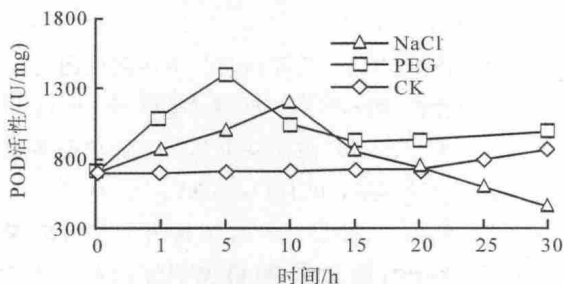


图 2 NaCl 和 PEG 胁迫对紫荆幼苗叶片 POD 活性的影响

2.3 不同胁迫处理对紫荆幼苗叶片质膜透性和膜脂过氧化作用的影响

MDA 是膜脂氧化的终产物,是衡量膜系统伤害程度的重要指标之一^[17]。MDA 含量越高,表

明组织的保护能力越弱^[18]。另外,MDA 本身的积累也会对机体细胞产生毒害作用,MDA 能够与蛋白质分子结合,使蛋白质分子内和分子间发生交联,引起膜结构和功能受损,进而导致植物的伤害或死亡。从图 3 可以看出,在胁迫逆境下,紫荆幼苗 MDA 含量呈先下降后上升趋势。说明在胁迫环境下幼苗先产生了应激反应,随着胁迫的继续,MDA 不断积累。在处理一段时间后,MDA 含量不再增加,这说明紫荆幼苗膜可能已经受到严重伤害,MDA 的生成能力也相应下降。同 MDA 变化趋势相似,处理时间越长质膜的相对透性越大(图 4)。

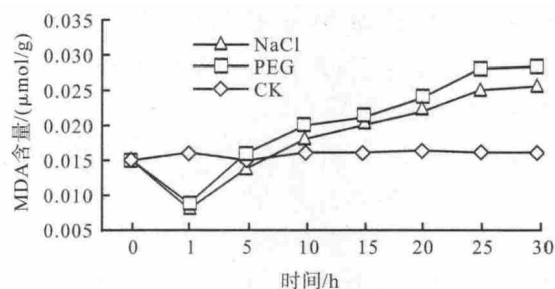


图 3 NaCl 和 PEG 胁迫对紫荆幼苗叶片 MDA 含量的影响

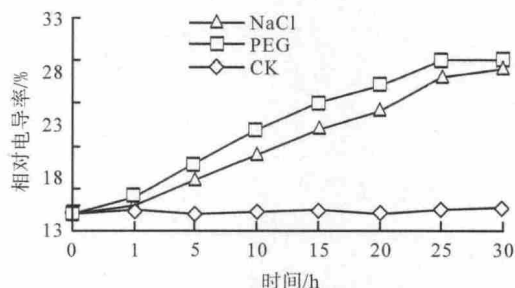


图 4 NaCl 和 PEG 胁迫对紫荆幼苗叶片相对电导率的影响

2.4 不同胁迫处理对紫荆幼苗叶片蛋白质含量的影响

可溶性蛋白参与植物细胞的渗透调节,帮助维持植物细胞较低的渗透势,抵抗逆境胁迫。光合作用的 RuBP 羧化/加氧酶、呼吸作用的多种酶类都以可溶性蛋白形态存在于叶片细胞中,通常情况下保持一定的稳定性,各种生化反应才能有序进行。在受到逆境胁迫时,某些蛋白酶被激活,使可溶性蛋白降解,含量降低。由图 5 可以看出,紫荆幼苗在遭受逆境胁迫时,其

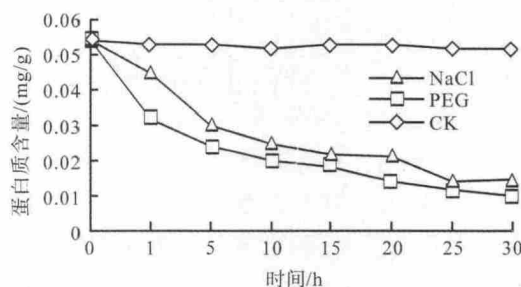


图 5 NaCl 和 PEG 胁迫对紫荆幼苗叶片蛋白质含量的影响

可溶性蛋白含量逐渐下降,说明细胞内的蛋白质开始降解。PEG 处理的蛋白质含量低于 NaCl 处理,说明干旱胁迫对紫荆叶片蛋白质含量的影响大于盐胁迫。

3 结论与讨论

植物细胞在正常情况下其体内自由基的产生与消除处于动态平衡,而当植物处于衰老或逆境下,由于产生的活性氧不能及时清除,致使细胞内不饱和脂肪酸过氧化,引起质膜透性增加、离子外渗^[19-20]。干旱、盐碱等逆境都能提高植物细胞内活性氧水平,破坏膜系统。同时,逆境条件下 SOD 和 POD 等膜保护酶活性下降,无法及时清除植物细胞内的活性氧。本试验结果也证实了这一点,在相同渗透势的 NaCl 及 PEG 处理下,紫荆幼苗体内 SOD 和 POD 活性均明显降低,这意味着紫荆幼苗在干旱和盐碱胁迫后体内清除自由基能力下降。

本研究表明,相同渗透势的 NaCl 及 PEG 处理后紫荆幼苗的 MDA 含量明显上升。说明幼苗经盐和干旱胁迫后,膜脂过氧化作用加强,这意味着膜结构与稳定性在一定程度上受到破坏。通过比较分析发现,当幼苗具有较低的 SOD 和 POD 活性时,MDA 含量却相对较高,而且它们的变化与幼苗伤害程度密切相关。这说明不同浓度的 NaCl 及 PEG 处理降低了膜保护酶 SOD 和 POD 的活性,从而减弱了清除细胞内自由基的能力,加强了膜脂过氧化作用,最终导致膜脂过氧化作用产物 MDA 含量的增加和幼苗伤害程度的提高。这正是紫荆幼苗在干旱和盐胁迫下发生伤害而死亡的主要原因之一。

参考文献:

- [1] 刘杰,陈文新.我国中东部地区紫穗槐、紫荆、紫藤根瘤菌的数值类及 SrDNAPCR-RELP 研究[J]. 中国农业科学,2003,36(1):17-25.
- [2] 郑万钧.中国树木志(第2卷)[M]. 北京:中国林业出版社,1985.
- [3] 赵可夫.植物抗盐生理[M]. 北京:中国科学技术出版社,1993.
- [4] 孙方行,周勃,孙明高. 君迁子苗期对盐分和水分交互胁迫的生理生化反应[J]. 山东林业科技,2009(5):1-4.
- [5] 于振群,孙明高,魏海霞,等. 干旱和盐分交叉胁迫对皂角幼苗膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. 西北林学院学报,2007,22(3):47-50.
- [6] BoIwer C, Montagu M C. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. Plant Physiol, 1992, 98(1): 83-116.
- [7] 尹建道,杨勇,阮建岭,等. 滨海盐碱地区公路绿化技术试验研究[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2000,31(3):286-290.
- [8] 张川红,尹伟伦,沈漫. 盐胁迫对国槐和中林 46 杨幼苗膜类脂的影响[J]. 北京林业大学学报,2002,24(5/6):89-95.
- [9] 张川红,尹伟伦,沈应柏. 盐胁迫对国槐与核桃气孔的影响[J]. 北京林业大学学报,2002,24(2):1-7.
- [10] 郑国琦,许兴,邓西平. 盐分和水分胁迫对枸杞幼苗渗透调节效应的研究[J]. 干旱地区农业研究,2002,20(2):56-59.
- [11] 惠红霞,许兴,李守明. 盐胁迫抑制枸杞光合作用的可能机理[J]. 生物学杂志,2004,23(1):5-9.
- [12] 张术忠,李悦,姜国斌. 刺槐家系耐盐性状的变异、相关分析及选择[J]. 北京林业大学学报,2002,24(2):12-17.
- [13] 张君圻. 组织水和电导在日美系脐橙抗寒力评判中的应用[J]. 植物生理学通讯,1998,34(2):120-121.
- [14] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2003:352.
- [15] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings[J]. Plant Physiol, 1977,59(2):315-318.
- [16] 高岩,张汝民,姚云峰,等. 盐胁迫对梭梭幼苗体内保护酶系统活性的影响[J]. 内蒙古大学学报:自然科学版,1997,28(2):253-256.
- [17] 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膜脂过氧化作用的影响[J]. 林业科学,2003,39(1):165-167.
- [18] 李伯林,梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系[J]. 植物生理学报,1989,15(1):6-12.
- [19] 孙国荣,阎秀峰. 盐胁迫对星星草幼苗保护酶系统的影响[J]. 草业学报,2001(1):34-38.
- [20] 王善广,张华云,孙秀兰,等. 生物膜与果树抗寒性[J]. 天津农业科学,2000,6(1):37-40.