

切根对侧柏实生苗抗氧化酶和渗透调节物质的影响

杨果果,刘伟超,范贝贝,裴 丙,杨喜田*
(河南农业大学 林学院,河南 郑州 450002)

摘要: 为探究侧柏根系受到伤害后,其抗氧化酶系统、渗透调节物质等在短期内的应激变化,采用水培试验方法,以切根作为胁迫因子,设置 1/2 切根、1/3 切根、1/4 切根和不切根(对照)等 4 种处理,研究侧柏水培苗的抗氧化酶活性及丙二醛、可溶性糖、可溶性蛋白含量等生理生化指标对切根的响应。结果显示:在切根处理 4 h 时 SOD 活性均比对照组高,随着切根时间的延长,1/2 和 1/3 切根组 SOD 活性出现下降趋势,1/4 切根组 SOD 活性先升高后降低,1/2 切根组和 1/4 切根组的 POD、CAT 活性先升高后降低,而 1/3 切根组则持续升高。MDA 含量在 1/2 切根和 1/4 切根条件下随着切根处理时间的延长呈现先升高后降低趋势,而 1/3 切根组持续上升。切根组的可溶性蛋白含量高于对照组,可溶性糖含量正好相反。表明经 1/3 切根、1/4 切根处理后侧柏水培苗能够在短期内通过提高自身的保护酶活性、增加可溶性蛋白含量等来消除切根的伤害,从而表现出较强的抗逆性;而在 1/2 切根条件下,侧柏水培苗自我修复能力丧失,导致保护酶活性在后期均迅速下降。
关键词: 切根; 抗氧化酶; 渗透调节物质; 侧柏
中图分类号: S791.38 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2017)07-0092-05

Effects of Root-cutting on Antioxidant Enzyme System and Osmotic Adjustment Substances of *Platycladus orientalis*

YANG Guoguo,LIU Weichao,FAN Beibei,PEI Bing,YANG Xitian*
(College of Forestry,Henan Agricultural University,Zhengzhou 450002,China)

Abstract: In order to study the changes of antioxidant enzyme system and osmotic adjustment substances under short-term stress in the root of *Platycladus orientalis* after being injured,in this paper,the water culture method was used to measure the relations between the root-cutting[as a stressing factor,setting four treatments including 1/2,1/3,1/4 roots to be cut and uncut(CK)] and physiological and biochemical indexes such as antioxidase activities,malondialdehyde(MDA),soluble sugar and soluble protein contents.The experimental results showed that SOD activities of the root-cutting groups were higher than that of uncut group at 4 h. Along with the prolonging of treatment time,the SOD activities of 1/2 and 1/3 root-cutting groups decreased,the SOD activity of 1/4 root-cutting group first increased and then decreased,POD activities and CAT activities of 1/2 and 1/4 root-cutting groups increased first and then decreased,but the 1/3 root-cutting group increased continuously. Along with the prolonging of treatment time,MDA contents of 1/2 and 1/4 root-cutting groups increased firstly and then decreased,but the 1/3 root-cutting group increased continuously. The contents of soluble protein of the root-cutting groups were higher than that of uncutgroup,but soluble sugar content was opposite. The results showed that *Platycladus orientalis* of 1/3 and 1/4 root-cutting groups could enhance activities of protective enzymes and increase contents of

收稿日期:2017-01-19
基金项目:国家自然科学基金项目(31570613)
作者简介:杨果果(1989-),女,河南永城人,在读硕士研究生,研究方向:植被恢复。E-mail:yangggeco@163.com
* 通讯作者:杨喜田(1965-),男,河南长垣人,教授,博士,主要从事植被恢复研究。E-mail:xitianyang@aliyun.com

soluble protein to avoid the injury of cutting root to the seedlings in short term, and displayed stronger resistance to stress, but under the treatment of 1/2 root-cutting, *Platycladus orientalis* seedlings lost ability of self-repairing, which resulted in the rapid decrease of activities of protective enzymes.

Key words: root-cutting; antioxidant enzymes; osmotic adjustment substances; *Platycladus orientalis*

在植被恢复过程中,以植苗造林为主的人工恢复在我国得到了广泛的应用和研究。据统计,我国人工林保存面积为 6 168.84 万 hm^2 ,居世界首位。在植苗造林过程中,移栽苗在移栽过程中根系最容易受到伤害,这将严重影响苗木根系质量和造林效果。因此,在移栽过程中须考虑切根或断根这一因素,才能正确推断未来立地条件下植物的生理生态过程。近年来,很多研究者通过不同切根比例模拟根系受伤害程度,发现通过适当切根手段可以促进侧根发育,降低苗木的高生长,增加根系整体活力和苗木成活率,最终提高造林效果^[1-2],但是苗木切根后的抗氧化酶系统、渗透调节物质等生理指标变化探究较为少见。

抗氧化酶主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等,是植物活性氧清除系统中的重要酶,能够维持活性氧自由基产生与清除系统的平衡^[3]。目前,国内外学者对植物在养分、温度、水分、氧、培养条件等环境胁迫下的抗性生理和抗逆能力等已经开展了大量研究,在以上胁迫条件下均能通过抗氧化酶活性和渗透调节物质来消除逆境胁迫对苗木的伤害^[3-8]。但是关于切根这一胁迫因子与林木的抗氧化酶系统、渗透调节物质等变化的关系研究较少见,李絮花^[9]在返青期对冬小麦断根处理研究发现,断根处理的冬小麦根系和旗叶中的 SOD、POD、CAT 活性与对照组相比均有所升高,丙二醛(MDA)含量则相反。李永卫等^[10]研究发现,适当断根也可以增加百子莲中可溶性糖和可溶性蛋白的含量,却未对抗氧化酶系统、渗透调节物质等在短期内对切根的应激变化进行研究。

侧柏(*Platycladus orientalis*)是常绿乔木,在我国分布广泛,其适应性强、耐干旱瘠薄、成活率高,是我国常用的造林和荒山绿化树种^[11],在发展地方经济、保护生态平衡等方面发挥着巨大的作用,所以研究其抗氧化酶系统、渗透调节物质等抗逆性相关生理指标尤其重要。鉴于此,以侧柏水培苗为研究对象,以切根为胁迫因子,人工模拟根系移栽受到的伤害,研究侧柏的生理生化指标对不同切根比例的响应,探索切根对苗木成活的影响机制,为今后营造林理论体系研究提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验设计

供试树种为北方常用造林树种侧柏种子,将侧柏种子(种子来源于河南省济源市林业局,发芽率为 85%,千粒质量为 24 g)放于 23 ℃ 的黑暗条件下的培养箱中进行催芽,待种子露白后放于含有水的自制植物根系发育培养装置中,继续在 23 ℃ 的黑暗条件下的培养箱里培养,待种子长出 2 片真叶,在植物根系发育培养装置中加入营养液(配方如表 1),放在 23 ℃ 的培养箱(光照时间 10 h、光照强度 12 000 lx)中,培养一段时间后,选择健壮且长势一致的幼苗,分别按照 1/2、1/3 和 1/4 的比例进行主根切断处理,将全根组作为对照(CK),每组设置 3 个重复。切根处理 4、12、24、36 h 时,分别对不同切根处理幼苗的整株进行取样,每一次取样均为破坏性处理。取过的样品用锡箔纸包好,放入液氮罐中 10~15 min,然后放入 -60 ℃ 的低温冰箱中保存待测。切根处理后 4、12、24、36 h 测定整株的 SOD、POD、CAT 活性和 MDA 含量,处理后 36 h 测定可溶性糖和可溶性蛋白含量。

表 1 培养营养液组成

试剂	用量/ (mg/L)	试剂	用量/ (mg/L)
Ca(NO ₃) ₂	450	H ₃ BO ₃	1.5
KNO ₃	405	MnSO ₄ ·4H ₂ O	1
MgSO ₄	250	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.11
NH ₄ H ₂ PO ₄	77.5	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025
EDTA 铁钠盐 (C ₁₀ H ₁₂ FeN ₂ NaO ₃ ·3H ₂ O)	10	(NH ₄) ₅ MO ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0.01
FeSO ₄	7.5		

1.2 测定指标和方法

SOD 活性采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化还原法测定,POD 活性采用愈创木酚显色法测定,CAT 活性采用紫外吸收法测定^[12],MDA 含量采用硫代巴比妥酸比色法测定,可溶性糖含量采用苯酚法测定^[13],可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定^[14]。

1.3 数据统计分析

采用 Excel 2013 进行数据整理和图表绘制;采用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA)和多重分析,检验不同时期不同切根处理的生理生

化指标的差异显著性。

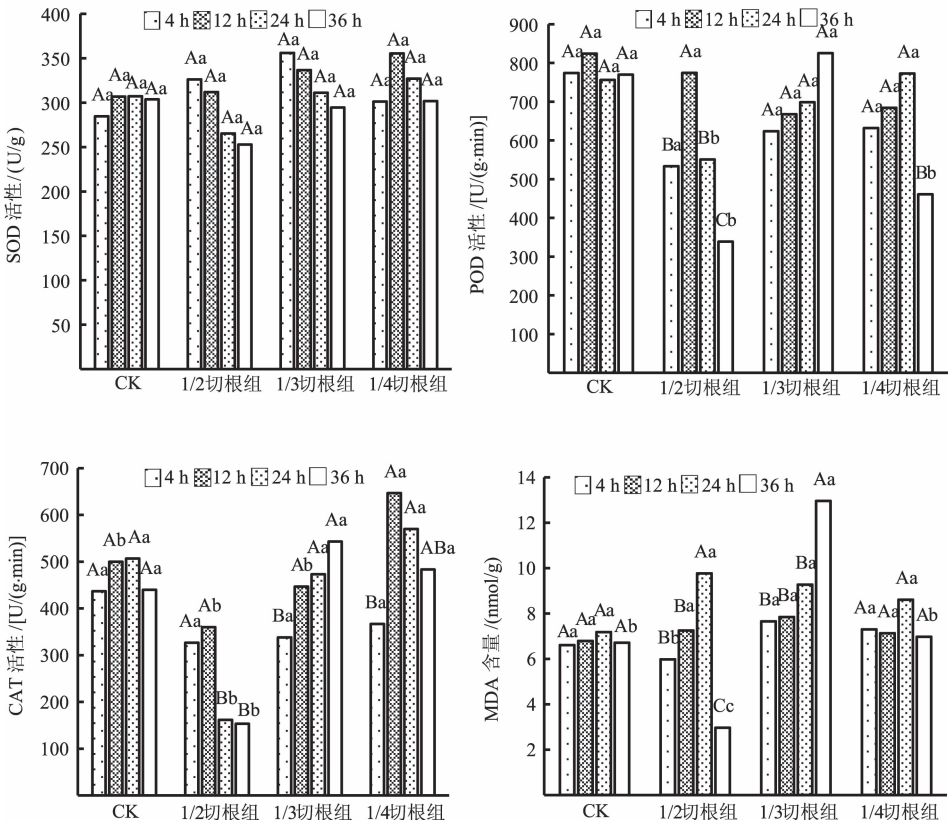
2 结果与分析

2.1 切根对侧柏实生苗抗氧化酶活性的影响

从图 1 可以看出,4 种处理侧柏 SOD 活性在整体上差异性不显著,切根处理 4 h 时切根组 SOD 活

性均略微高于对照组,随着切根处理时间的延长,1/2、1/3 切根组的 SOD 活性呈现下降趋势,且 1/2 切根组的下降速率比 1/3 切根组快,1/4 切根组和对

照组 SOD 活性先升高后降低,且 1/4 切根组在切根处理 12 h 时达到最大值,对照组的变化基本上不明显。



不同大、小写字母分别表示相同处理组不同取样时间、相同取样时间不同处理组测定数据之间差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 不同切根处理的侧柏实生苗抗氧化酶活性和 MDA 含量变化

与对照组相比,切根组的 POD 活性发生了一定变化,在切根处理 4、12 h 时切根组的 POD 活性均比对照组低,其中在切根处理 4 h 时 POD 活性表现为 1/4 切根组 > 1/3 切根组 > 1/2 切根组,在切根处理 12 h 时以 1/2 切根组最高;在切根处理 24 h 时 POD 活性表现为 1/4 切根组 > 对照组 > 1/3 切根组 > 1/2 切根组;在切根处理 36 h 时对照组和 1/3 切根组的 POD 活性高于 1/2、1/4 切根组。1/2 切根组 POD 活性随着切根处理时间的延长显著升高 ($P < 0.05$),在 12 h 达到最大值,然后显著下降 ($P < 0.05$);1/3 切根组 POD 活性整体上呈现上升趋势,其上升较为平稳且变幅较小;1/4 切根组 POD 活性先升高,至切根处理 24 h 时 POD 活性最高,在 36 h 时显著下降 ($P < 0.05$)。

对照组侧柏 CAT 活性在切根处理 4 h 时均高于切根组,在切根处理 12、24 h 时以 1/4 切根组的

CAT 活性最高;在切根处理 36 h 时以 1/3 切根组最高;1/2 切根组 CAT 活性总体上低于其他处理组,CAT 活性随着切根处理时间的延长先平稳上升,在切根处理 24 h 之后显著下降 ($P < 0.05$),在切根处理 36 h 变化幅度又变小;1/3 切根组 CAT 活性随着切根处理时间的延长整体上呈现较为平稳的上升趋势;1/4 切根组的 CAT 活性在切根处理 12 h 迅速升高,之后逐渐下降。

2.2 切根对侧柏实生苗 MDA 含量的影响

由图 1 可知,与对照组相比,切根组的 MDA 含量总体上出现了升高趋势,1/2 切根组 MDA 含量随着切根处理时间的延长先快速升高到 9.765 nmol/g,在切根处理 36 h 时显著降低到 2.97 nmol/g ($P < 0.05$),1/3 切根组在切根处理 4~24 h MDA 含量呈现较为平稳的上升趋势,在切根处理 36 h 时 MDA 含量显著上升到 12.95 nmol/g ($P < 0.05$);1/4 切

根组在切根处理 4 ~ 12 h MDA 含量降低,之后升高,在切根处理 36 h 时又出现降低。在整个切根胁迫期间,1/3 切根组的 MDA 含量均高于相同时间其他处理组,1/2 切根组在切根处理 4、36 h 时显著低于其他处理组 ($P < 0.05$)。

2.3 切根对侧柏实生苗渗透调节物质含量的影响

可溶性糖是比较理想的渗透调节物质,可以缓解逆境对膜系统的伤害。由图 2 可知,与对照组相比,切根组的可溶性糖含量均显著性降低 ($P <$

0.05),1/2 切根组、1/3 切根组、1/4 切根组的可溶性糖含量分别比对照组降低 35.90%、23.17%、45.07%。可溶性蛋白是指可以溶于水或其他溶剂的小分子状态蛋白质,吸水性很强,有助于提高细胞内的束缚水含量。1/2 切根组、1/3 切根组、1/4 切根组的可溶性蛋白含量比对照组分别升高了 0.98%、18.21%、2.94%,其中以 1/3 切根组的升高程度最为显著 ($P < 0.05$)。

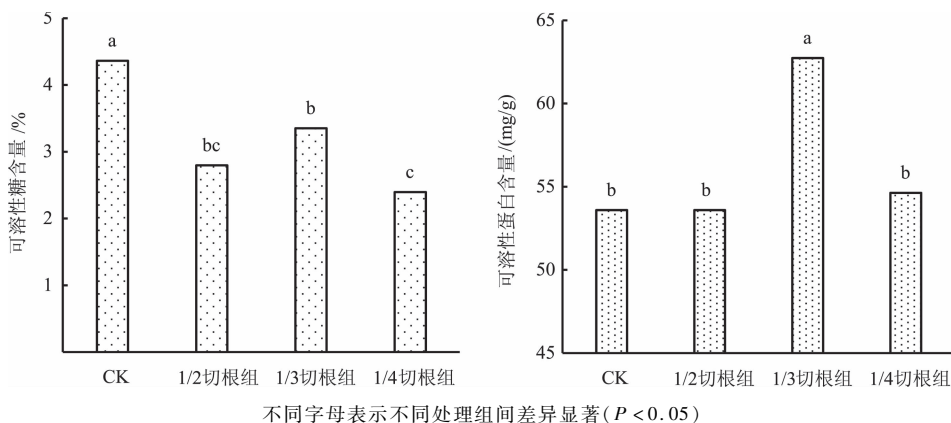


图 2 不同切根处理的侧柏实生苗可溶性糖和可溶性蛋白含量变化

3 结论与讨论

植物在受到胁迫伤害后,体内会产生大量活性氧,而这类物质会严重影响植物的生长发育,植物同时存在清除活性氧的抗氧化酶,来控制植物体内活性氧的水平^[12],这是由于植物细胞内产生的超氧自由基在 SOD 的催化下,歧化为 H_2O_2 和 O_2 , H_2O_2 在 CAT 和 POD 的催化下,歧化为 O_2 和 H_2O ^[13]。本试验选取切根后 4、12、24、36 h 的侧柏苗研究其短期的应激过程,发现 1/2 和 1/4 切根组 POD、CAT 活性先升高后降低,而 1/3 切根组整体上呈上升趋势;SOD 活性在 4 h 时均比对照组高,之后 1/2 和 1/3 切根组呈下降趋势,1/4 切根组先升高后降低,可能是侧柏苗在受到切根伤害后,体内迅速产生了大量活性氧,通过增加抗氧化酶活性,以消除侧柏苗体内过多的活性氧,表明抗氧化酶在侧柏苗应答切根胁迫的生理过程中扮演着重要角色,在植物受到切根伤害后,能够及时启动应急的抗氧化系统,清除多余的活性氧^[14],降低植物细胞的膜脂氧化的程度,从而增强植物抗逆性。而 1/2 切根组的抗氧化酶在 24 h 后迅速下降,且均低于其他组,这可能是切根过多破坏了侧柏苗的抗氧化酶系统,自我修复能力丧失。

MDA 含量代表膜脂氧化的程度,可以间接反

映植物细胞损伤程度^[15]。植物在逆境胁迫下,MDA 含量均有一定程度的增加^[16-18]。本研究发现,当侧柏苗受到切根伤害后,和对照组相比,切根组前期 MDA 含量有所增加,说明侧柏苗受到切根胁迫因子的伤害后,细胞膜发生了过氧化作用而受到损伤,不同切根处理的膜脂损伤程度也不相同。但随着切根处理时间的延长,后期 1/4 和 1/2 切根组 MDA 含量表现降低的趋势,而 1/3 切根组持续升高。周广等^[19]研究发现,活性氧的增加加重了膜脂过氧化作用,致使 MDA 含量升高。说明侧柏苗通过提高自身抗氧化酶活性清除活性氧,减少植物细胞 MDA 的产生,增强对切根的适应能力。

可溶性糖可为其他有机物的合成提供碳架和能量,维持细胞膜和原生质体的稳定性^[20]。李永卫等^[10]研究表明,适度断根有利于百子莲体内可溶性糖的合成与积累,本研究结果与其相反。本研究发现,切根后侧柏苗内的可溶性糖含量降低,表明其对切根胁迫下的侧柏苗的渗透调节作用贡献不大,这可能是由于切根胁迫使体内细胞呼吸作用增强和光合作用衰竭所致^[21]。研究发现,切根后侧柏苗内的可溶性蛋白含量增加,这可能是由于侧柏苗切根处理后,短期内主根减少,吸水量减少,侧柏苗通过增加体内可溶性蛋白含量来提高细胞内的束缚水含量,调节细胞液浓度,从而维持细胞膨压,防止原生

质过度脱水,为植物正常生命活动创造条件^[22]。韩志平等^[7]研究也发现,西瓜在受到盐胁迫时通过增加可溶性蛋白含量来维持植物体内水分平衡。但是当切根过多时,破坏了植物的正常生理活动,导致 1/2 切根组可溶性蛋白含量低于 1/3 和 1/4 切根组。

本试验主要研究了不同时期、不同切根处理侧柏水培苗的抗氧化酶活性以及相关指标的变化,以探究植物在接受到切根这种伤害胁迫信号后,在短期内如何通过抗氧化酶系统来调节植物的生长发育。结果表明,与对照组相比,1/3 和 1/4 切根组能通过提高抗氧化酶活性来保护自身免受伤害,同时切根通过增加侧柏苗中可溶性蛋白含量来调节植物细胞的代谢,其中在切根组中以 1/3 切根组表现出的修复能力和抗逆性最好;而在 1/2 切根条件下,侧柏水培苗自我修复能力丧失,体内代谢紊乱,导致 SOD、POD、CAT 活性在后期均迅速下降。此外,在切根胁迫条件下,各种抗氧化酶活性以及相关生理生化指标的消长与平衡之间的复杂关系,还需进一步的探讨和研究。

参考文献:

[1] 杨喜田,王广磊,赵宁,等.不同切根处理对林木幼苗根系侧根生长的影响[J].河南农业大学学报,2010,44(2):155-159.

[2] Liu J J,Bloomberg M,Li G L,*et al.* Effects of copper root pruning and radicle pruning on first-season field growth and nutrient status of Chinese cork oak seedlings[J]. *New Forests*,2016,47:715-729.

[3] 裴斌,张光灿,张淑勇,等.土壤干旱胁迫对沙棘叶片光合作用和抗氧化酶活性的影响[J].生态学报,2013,33(5):1386-1396.

[4] Bashri G,Parihar P,Singh R,*et al.* Physiological and biochemical characterization of two *Amaranthus* species under Cr(VI) stress differing in Cr(VI) tolerance[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*,2016,108:12-23.

[5] 吴敏,张文辉,周建云,等.干旱胁迫对栓皮栎幼苗细根的生长与生理生化指标的影响[J].生态学报,2014,34(15):4223-4233.

[6] 列淦文,叶龙华,薛立.臭氧胁迫对植物主要生理功能的影响[J].生态学报,2014,34(2):294-306.

[7] 韩志平,郭世荣,尤秀娜,等.盐胁迫对西瓜幼苗活性氧代谢和渗透调节物质含量的影响[J].西北植物学报,2010,30(11):2210-2218.

[8] 吴永波,叶波.高温干旱复合胁迫对构树幼苗抗氧化

酶活性和活性氧代谢的影响[J].生态学报,2016,36(2):403-410.

[9] 李絮花.冬小麦断根调控机理和断根与施肥的互作效应研究[D].泰安:山东农业大学,2002.

[10] 李永卫,卓丽环.断根处理对百子莲(*Agapanthus praecox ssp. orientalis*)开花的影响[J].上海农业学报,2010,26(4):60-63.

[11] 曲绪奎.国内侧柏种源苗期研究综述[J].山东林业科技,1987(3):50-53.

[12] Foyer C H,Descourvoeres P,Kunert K J. Protection against oxygen radicals:An important defense mechanism studied in transgenic plants[J]. *Plant Cell Environ*,1994,17:507.

[13] 李璇,岳红,王升,等.影响植物抗氧化酶活性的因素及其研究热点和现状[J].中国中药杂志,2013,38(7):973-978.

[14] 吴芹,张光灿,裴斌,等.3个树种对不同程度土壤干旱的生理生化响应[J].生态学报,2013,33(12):3648-3656.

[15] Redondo F J,Pena T C D L,Morcillo C N,*et al.* Overexpression of flavodoxin in bacteroids induces changes in antioxidant metabolism leading to delayed senescence and starch accumulation in alfalfa root nodules[J]. *Plant Physiology*,2009,149(2):1166-1178.

[16] 欧祖兰,曹福亮,郑军.高温胁迫下银杏形态及生理生化指标的变化[J].南京林业大学学报(自然科学版),2008,32(3):31-34.

[17] Alquraan N A,Alomari H A. GABA accumulation and oxidative damage responses to salt, osmotic and H₂O₂ treatments in two lentil (*Lens culinaris* Medik) accessions[J]. *Plant Biosystems*,2017,151(1):148-157.

[18] 丁菲,杨帆,杜天真.干旱胁迫对构树幼苗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.

[19] 周广,孙宝腾,张乐华,等.井冈山杜鹃叶片抗氧化系统对高温胁迫的响应[J].西北植物学报,2010,30(6):1149-1156.

[20] 邵红雨,孔广超,齐军仓,等.植物耐盐生理生化特性的研究进展[J].安徽农学通报,2006,12(9):51-53.

[21] 陈洁,林栖凤.植物耐盐生理及耐盐机理研究进展[J].海南大学学报(自然科学版),2003,21(2):177-182.

[22] Silva E N,Ferreira-Silva S L,Viégas R A,*et al.* The role of organic and inorganic solutes in the osmotic adjustment of drought-stressed *Jatropha curcas* plants[J]. *Environmental and Experimental Botany*,2010,69(3):279-285.