

## 研究报告 Original Papers

NaHCO<sub>3</sub>胁迫下外源海藻糖对南蛇藤几种与抗逆性有关的生理生化指标变化的影响

刘强, 王庆成\*, 孙晶, 徐静

东北林业大学林木遗传育种与生物技术教育部重点实验室, 哈尔滨 150040

**摘要:** NaHCO<sub>3</sub>胁迫下叶面喷施海藻糖(trehalose, TR)的南蛇藤叶中活性氧(O<sub>2</sub><sup>-</sup>和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)产生速率、丙二醛(MDA)含量以及电解质外渗率显著下降( $P < 0.05$ ), 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(GR)活性以及抗坏血酸(AsA)和还原型谷胱甘肽(GSH)含量明显提高。显示外源海藻糖可在一定程度上提高NaHCO<sub>3</sub>胁迫下的南蛇藤叶细胞膜保护功能, 减少叶中活性氧的积累, 抑制脂质过氧化, 从而提高南蛇藤抗NaHCO<sub>3</sub>胁迫的能力。

**关键词:** 海藻糖; NaHCO<sub>3</sub>胁迫; 活性氧; 抗氧化系统; 南蛇藤

Effects of Exogenous Trehalose on Changes of Some Physiological and Biochemical Indexes Related to Stress Tolerance of *Celastrus orbiculatus* Thunb. under NaHCO<sub>3</sub> Stress

LIU Qiang, WANG Qing-Cheng\*, SUN Jing, XU Jing

Key Laboratory of Forest Tree Genetic Improvement and Biotechnology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**Abstract:** The production rate of reactive oxygen species (O<sub>2</sub><sup>-</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), MDA content and electrolyte leakage in leaves of *Celastrus orbiculatus* seedlings treated with exogenous trehalose under NaHCO<sub>3</sub> stress decreased significantly, while the activities of SOD, CAT, POD, APX, GR, and the contents of AsA and GSH increased dramatically. The results suggested that exogenous trehalose could, to some extent, improve the function of membrane protective system in leaf cells of *C. orbiculatus* under NaHCO<sub>3</sub> stress, reduce accumulation of O<sub>2</sub><sup>-</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, inhibit the lipid peroxidation, and consequently enhance the tolerance of *C. orbiculatus* to NaHCO<sub>3</sub> exposure.

**Key words:** trehalose; NaHCO<sub>3</sub> stress; reactive oxygen species; antioxidant system; *Celastrus orbiculatus*

有研究表明, 一些植物在逆境条件下可通过自身体内调节合成海藻糖来抵御外界不良环境的伤害(Garcia等1997; López等2006), 外源海藻糖也有这种保护作用(王三根1992; 丁顺华等2005; 张充等2006)。以往的研究多以微生物为试验材料, 而在植物中的报道很少(李莉等2003)。为此, 本文研究外源海藻糖对盐碱胁迫下南蛇藤叶细胞膜保护系统的影响, 探讨海藻糖在缓解植物碳酸盐胁迫伤害中的作用。

## 材料与amp;方法

实验于2007年5~9月在本校帽儿山实验林场尖砬沟森林培育实验站温室内进行。

选用大小一致、生长正常的1年生南蛇藤(*Celastrus orbiculatus* Thunb.)实生苗, 盆栽, 栽培容器为塑料桶(上口口径30 cm、下口径26 cm、高25 cm), 基质为细河沙[7.5 kg (风干沙)·桶<sup>-1</sup>]。每桶内均匀植苗3株。缓苗期间每天浇适量自来水, 3 d浇1次营养液, 每次每盆200 mL, 营养液参照Utriainen和Holopainen(2001)文中的方法配制。培养3个月, 进行如下实验, 以黑龙江省大庆地区

收稿 2008-04-30 修订 2008-08-04

资助 黑龙江省重点科技计划(GB05B101-02)和黑龙江省大庆市高新区创新基金(DQGX06YF003)。

\* 通讯作者(E-mail: wqcnefu@163.com; Tel: 0451-82190070)。

土壤中的轻、中和重度  $\text{NaHCO}_3$  含量和 pH 作为参照(潘保原等 2006),  $\text{NaHCO}_3$  胁迫处理设有不施  $\text{NaHCO}_3$  (对照, pH=7.0) 以及每 kg 土中含  $\text{NaHCO}_3$  1 g (弱度胁迫, pH=7.5)、2 g (中度胁迫, pH=8.0) 和 4 g (强度胁迫, pH=9.0) 共 4 种处理。  $\text{NaHCO}_3$  配成  $7.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  溶液, 实验开始时各个处理均加入 1 L 配制好的  $\text{NaHCO}_3$  溶液, 至基质中含盐量达到  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  为止, 以后的含盐量每 12 h 递增  $1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 直至达到最高预定含盐量为止, 对照浇自来水, 每种处理 20 桶。处理 5 d 后, 从上述每个处理中, 随机选取 10 桶, 以  $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  海藻糖溶液喷施于叶片上, 以叶片上溶液开始滴落为度; 每 2 d 于傍晚喷施 1 次, 共处理 10 次(20 d)。对照喷施蒸馏水。实验结束后, 取叶片测定各种生理指标。

$\text{O}_2^-$  产生速率采用陈建勋和王晓峰(2002)书中方法测定;  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量参照林植芳等(1988)文中方法测定; MDA 含量采用硫代巴比妥酸法测定(李合生 2001); 电解质渗透率按李合生(2001)书中方法测定; AsA 和 GSH 含量采用陈建勋和王晓峰(2002)书中方法测定; SOD 活性采用氯化硝基四氮唑蓝法进行测定(李合生 2001); POD 活性测定采用愈创木酚法(陈建勋和王晓峰 2002); CAT 活性用采用紫外吸收法测定(陈建勋和王晓峰 2002); APX 活性按 Nakano 和 Asadas (1981)文中方法测定; GR 活性采用陈建勋和王晓峰(2002)书中方法测定。每个指标测定重复 3 次。

数据用 SPSS14.0 分析在  $\alpha=0.05$  水平上的差异显著性。用 SigmaPlot 10.0 作图。

## 结果与讨论

### 1 外源 TR 对南蛇藤叶片中活性氧产生速率的影响

不喷施海藻糖的南蛇藤叶中  $\text{O}_2^-$  产生速率随着含盐量的增加而增加, 中度、强度盐处理与未受到胁迫的差异显著 ( $P<0.05$ ); 喷施 TR 的  $\text{O}_2^-$  产生速率下降(图 1-a)。叶中  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量也随着盐胁迫强度的增加而逐渐增加; 喷施 TR 的叶中  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量也均低于未喷施 TR 的(图 1-b)。

### 2 外源 TR 对南蛇藤叶细胞膜的影响

从图 1 可见, (1)弱盐胁迫下, 叶中 MDA 含量略有增加, 中、强度盐下增加显著 ( $P<0.05$ ); 各盐度下喷施 TR 的叶中 MDA 含量显著低于未喷施 TR 的 ( $P<0.05$ ) (图 1-c)。(2) 无论是否喷施外源 TR, 叶

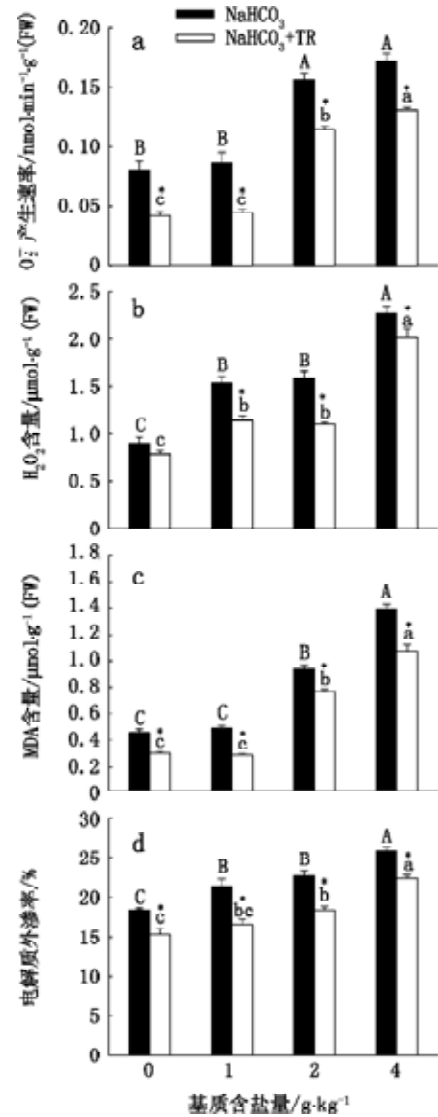


图 1 外源海藻糖对  $\text{NaHCO}_3$  胁迫下南蛇藤叶中  $\text{O}_2^-$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  和 MDA 产生和电解质外渗率的影响

Fig. 1 Effects of exogenous trehalose on  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , MDA production and electrolyte leakage in the leaves of *C. orbiculatus* seedlings under  $\text{NaHCO}_3$  stress

图中不同大写字母表示各盐处理在  $\alpha=0.05$  水平上差异显著; 不同小写字母表示各盐 + TR 处理在  $\alpha=0.05$  水平上差异显著; \* 表示外源海藻糖处理与未作处理的盐处理植株在  $\alpha=0.05$  水平上差异显著。相同字母或没有 \* 的代表不显著。图 2、3 同此。

中电解质外渗率均随着  $\text{NaHCO}_3$  胁迫水平的增加而升高; 喷施 TR 后, 不同浓度  $\text{NaHCO}_3$  胁迫的叶片电解质外渗率均显著低于不喷施 TR 的 ( $P<0.05$ ), 不作  $\text{NaHCO}_3$  处理的叶片电解质外渗率也显著降低(图 1-d)。这些显示, 叶面喷施 TR 对胁迫导致的氧化伤害似乎有一定的缓解作用, 与李莉等(2003)认为海

藻糖作为生物膜的稳定剂,可对细胞膜的结构和功能起保护作用的观点是一致的。

### 3 外源 TR 对南蛇藤叶片中抗氧化酶活性的影响

图 2 显示, (1)低、中度盐胁迫下 SOD 和 CAT

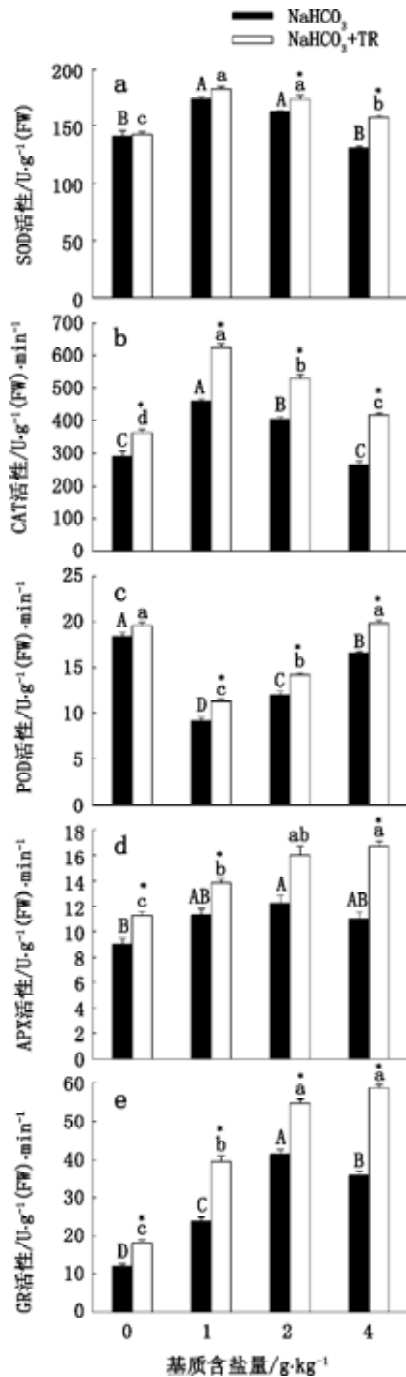


图2 外源海藻糖对 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下南蛇藤叶中 SOD、CAT、POD、APX 和 GR 活性的影响

Fig.2 Effects of exogenous trehalose on the activities of SOD, CAT, POD, APX and GR in the leaves of *C. orbiculatus* seedlings under NaHCO<sub>3</sub> stress

活性增加, 而重度盐胁迫下的活性则下降; 喷施 TR 后, 不同浓度盐处理的 SOD 和 CAT 活性均高于未喷施 TR 的。不作盐胁迫处理的 TR 对 CAT 活性有显著促进作用 ( $P < 0.05$ ), 而对 SOD 的作用很小 ( $P > 0.05$ ) (图 2-a、b)。POD 活性也受盐胁迫的影响, 不同浓度盐胁迫下 POD 活性均低于不作盐胁迫处理的, 但随着盐胁迫强度的增加, POD 活性逐渐上升; TR 对 POD 保护作用显著 ( $P < 0.05$ ) (图 2-c)。(2)盐胁迫下 APX 和 GR 活性增加; 喷施 TR 后 3 种浓度 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下 APX 和 GR 活性进一步增加 (图 2-d、e)。

### 4 外源 TR 对南蛇藤叶片中 AsA 和 GSH 含量的影响

从图 3 可见, (1) NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下叶中 AsA 含量显著增加 ( $P < 0.05$ ), 弱度 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下的增幅最大 (48.0%); 喷施 TR 的 AsA 含量增加更大 (图 3-a)。(2)不同浓度 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下的叶中 GSH 含量显著降低 ( $P < 0.05$ ), 中度 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫的下降幅度最大 (50.6%); 喷施 TR 可缓解 GSH 含量的下降, 中、强度 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下的作用更显著 ( $P < 0.05$ ), 但不喷施 TR 和弱度 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下受到的影响不大 (图 3-b)。

综上所述, 外源海藻糖能够通过提高抗氧化剂

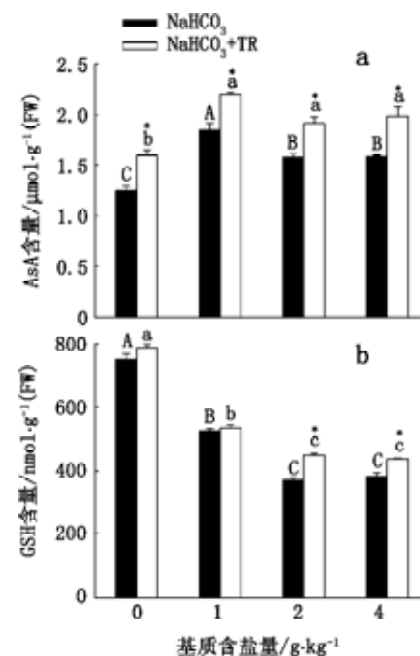


图3 外源海藻糖对 NaHCO<sub>3</sub> 胁迫下南蛇藤叶中 AsA 和 GSH 含量的影响

Fig.3 Effects of exogenous trehalose on AsA and GSH contents in the leaves of *C. orbiculatus* seedlings under NaHCO<sub>3</sub> stress

GSH和AsA的水平和一些抗氧化酶的活性,抑制活性氧的产生,降低MDA的形成和电解质渗漏,从而改善NaHCO<sub>3</sub>胁迫下南蛇藤叶片的膜保护功能,抑制脂质过氧化和膜透性的增大,最终缓解碳酸盐对南蛇藤的伤害,提高南蛇藤抗NaHCO<sub>3</sub>胁迫的能力。

### 参考文献

- 陈建勋, 王晓峰(2002). 植物生理学实验指导. 广州: 华南理工大学出版社
- 丁顺华, 李艳艳, 王宝山(2005). 外源海藻糖对小麦幼苗耐盐性的影响. 西北植物学报, 25 (3): 513~518
- 李合生(2001). 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社
- 李莉, 黄群策, 秦广雍(2003). 海藻糖在提高植物抗逆性方面的研究进展. 生物学通报, 38 (6): 6~7
- 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 郭俊彦(1988). 衰老叶片和叶绿体中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的累积与膜脂过氧化的关系. 植物生理学报, 14 (1):

16~22

- 潘保原, 宫伟光, 张子峰, 刘畅(2006). 大庆苏打盐渍土壤的分类与评价. 东北林业大学学报, 34 (2): 57~59
- 王三根(1992). 海藻糖提高绵羊红15号小麦幼苗耐盐能力的研究. 西南农业大学学报, 14 (2): 182~185
- 张充, 蒋继志, 贾永亮, 王伟华(2006). 海藻糖对银杏叶过氧化物酶活性的影响. 河北大学学报(自然科学版), 26 (3): 296~300
- Garcia AB, Engler JA, Iyer S, Gerats T, van Montagu M, Caplan AB (1997). Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice. *Plant Physiol*, 115: 159~169
- López M, Herrera-Cervera JA, Lluch C, Tejera NA (2006). Trehalose metabolism in root nodules of the model legume *Lotus japonicus* in response to salt stress. *Physiol Plant*, 128: 701~709
- Nakano Y, Asadas K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 22: 867~880
- Utriainen J, Holopainen T (2001). Influence of nitrogen and phosphorus availability and ozone stress on Norway spruce seedlings. *Tree Physiol*, 21: 447~456