

盐胁迫下黄花补血草幼苗ROS代谢酶活性的变化

马婷, 滕玉瑾, 李翠祥, 杨颖丽*

西北师范大学生命科学院, 兰州730070

摘要: 用不同浓度NaCl (0、25、50、100和150 mmol·L⁻¹)处理盐生植物黄花补血草(*Limonium aureum*)幼苗, 探究幼苗叶片中抗氧化酶和多胺氧化酶活性等生理指标变化与其耐盐性的关系。研究表明: 黄花补血草幼苗叶片中羟自由基(·OH)含量仅在150 mmol·L⁻¹NaCl处理下明显增加, 而其他盐浓度均导致该指标降低; 不同的是, 高浓度NaCl (100和150 mmol·L⁻¹)处理下过氧化氢(H₂O₂)含量显著增加; 所有盐浓度均诱导幼苗叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、二胺氧化酶(DAO)和多胺氧化酶(PAO)活性增强; 盐胁迫使细胞壁结合态POD活性降低; 此外, 幼苗叶片中的过氧化氢酶(CAT)活性在低盐胁迫下增强, 高盐胁迫下受到抑制。以上结果说明黄花补血草幼苗可响应盐胁迫, 使幼苗叶片中抗氧化酶和多胺代谢酶活性增强, 且高盐诱导叶片中H₂O₂和·OH增加, 这可能与幼苗对盐环境的适应有关。

关键词: 黄花补血草; 盐胁迫; 活性氧; 抗氧化酶

土壤盐渍化是影响农业生产和生态环境的一个重要因素。有研究报导, 土壤中的有害盐类以中性盐NaCl为主(郭慧娟等2012)。活性氧(ROS)的积累是植物对盐胁迫的主要反应之一。过量的ROS会破坏生物大分子, 对细胞产生毒害效应(Halliwell等1987)。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶等构成了植物体内抵御和清除ROS的主要酶促清除系统。其中, SOD通过将超氧阴离子(O₂⁻)歧化为过氧化氢(H₂O₂)来保护植物免受氧化伤害(Zeng等2010); CAT可直接诱导H₂O₂分解为H₂O和O₂, 在ROS解毒过程中必不可少(刘零怡等2009); POD可以催化酚类物质和抗氧化物质的氧化来分解H₂O₂ (刘零怡等2009); APX作为植物体内清除H₂O₂的重要抗氧化酶之一, 利用抗坏血酸做为电子供体来清除H₂O₂ (马进等2015)。已有的研究表明, 提高植物体内抗氧化酶活性及增强抗氧化酶代谢水平是增强植物耐盐性的途径之一(李彦等2008)。除了抗氧化酶, 还有其他酶类也涉及植物体内ROS水平的调节, 例如, 细胞壁结合态POD以烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)为电子供体介导H₂O₂的产生(Lin和Kao 2002), 二胺氧化酶(DAO)和多胺氧化酶(PAO)被认为通过多胺代谢参与植物细胞间H₂O₂的产生过程(Cvikrová等2012; Talaat和Shawky 2012)。然而, 有关盐胁迫影响这3种酶活性进而参与植物体内ROS水平调控的研究报道很少。

我国西北六省(自治区)盐渍化土地占全国盐渍化土地面积的69.03% (田长彦等2000), 蕴涵着极

为丰富且种类繁多的盐生植物资源, 为研究植物的抗盐性提供了很好的材料。黄花补血草是白花丹科(Plumbaginaceae)补血草属多年生泌盐草本植物(中国科学院中国植物志编辑委员会1987), 广泛分布于我国西北地区、东北西部以及华北北部, 可以防风固沙、改善局部环境, 对改良盐碱土壤具有重要的生态作用。近年来, 有关黄花补血草的研究越来越受到重视。周幸文等(2013)在对黄花补血草化学成分进行研究的同时注重生物碱成分的提取。倪细炉等(2012)利用扫描电镜和石蜡切片法观察了黄花补血草叶片营养器官中盐腺的分布、密度、结构及发育过程。我们在近期的研究中发现, 黄花补血草幼苗对低浓度的盐具有一定的耐受性, 但高浓度盐对根、叶造成明显氧化损伤, 从而抑制幼苗的生长(尤佳等2013)。然而, 到目前为止, 有关黄花补血草对盐环境的适应机理和盐胁迫对该植物的毒害机理仍不清楚。本试验以室内培养的黄花补血草为材料, 主要开展不同浓度NaCl处理下幼苗叶片抗氧化酶活性胶染色及细胞壁POD、DAO和PAO活性检测, 以期从生理生化的角度研究揭示其耐盐机理。

材料与方 法

1 材料培养

荒漠植物黄花补血草 [*Limonium aureum* (L.)

收稿 2015-10-16 修定 2016-01-06

资助 国家自然科学基金(31360094、31470464和31160088)。

* 通讯作者(E-mail: yangyingli2006@sohu.com)。

Hill.]种子由甘肃省民勤县沙生植物园提供。籽粒饱满的种子用10%的次氯酸钠溶液浸泡10 min后, 无菌水连续冲洗3次, 75%的乙醇浸泡30 s, 再用无菌水冲洗5~7次。将种子接种于1/4 Hoagland固体培养基上萌发4 d后, 挑选生长状况一致的幼苗分别转入含0、25、50、100和150 mmol·L⁻¹ NaCl的1/4 Hoagland固体培养基, 置于恒温光照培养箱中, 昼夜温度(25±2)°C, 光暗周期12 h/12 h, 光照强度300 μmol·m⁻²·s⁻¹。处理3周后取叶片进行相应指标的检测。

2 测定方法

2.1 酶液提取

取0.5 g叶片加入0.8 mL预冷的含1%聚乙烯吡咯烷酮、1 mmol·L⁻¹乙二胺四乙酸二钠(EDTA)的50 mmol·L⁻¹磷酸缓冲液(PBS, pH 7.8)中, 冰浴研磨, 20 000×g离心20 min, 取上清液备用。以上操作均在4°C进行。

2.2 可溶性蛋白SDS-PAGE

蛋白含量的检测采用Bradford (1976)的方法, 用考马斯亮蓝G-250作显色剂, 在波长595 nm处用分光光度计测定OD值。

采用4%浓缩胶与10%分离胶制备凝胶板。取等量可溶性蛋白加入等体积的样品缓冲液[0.5 mol·L⁻¹ Tris-HCl, pH 6.8, 10%十二烷基硫酸钠(SDS), 20%甘油, 10% β-巯基乙醇和0.04%溴酚蓝], 沸水浴3 min, 瞬间离心, 冷却后上样20 μL。电泳开始时稳压80 V, 样品进入分离胶后稳压120 V。停止电泳后, 将胶板浸于考马斯亮蓝染色液中染色30 min, 倾去染色液, 加脱色液脱色至谱带清晰, 置于凝胶成像仪内照相分析。

2.3 二氨基联苯胺(DAB)染色检测H₂O₂的产生

依据Thordal-Christensen等(1997)的方法, 利用DAB染色法检测黄花补血草幼苗叶片H₂O₂含量变化。将叶片浸入DAB染色液, 黑暗抽真空3次, 每次5 min, 使染色液渗透18 h, 然后转移至70°C预热的90%乙醇溶液中直至叶片叶绿素完全被破坏, 而后静止2~4 h, 移至70%甘油溶液中保存或拍照。

2.4 羟自由基(·OH)含量测定

·OH的测定参照Halliwell等(1987)的方法, 0.5 g叶片加入5 mL含2 mmol·L⁻¹ 2-脱氧-D-核糖的10 mmol·L⁻¹ PBS (pH 7.4)中冰浴研磨, 12 000×g离心

15 min, 吸取200 μL上清液加入3 mL含0.5%硫代巴比妥酸的2.5 mmol·L⁻¹ NaOH溶液和1 mL冰乙酸, 分别经100°C水浴30 min和4°C冰浴10 min后, 于532 nm处测定吸光值, 单位为nmol·g⁻¹ (FW)。

2.5 活性胶电泳及染色

活性胶制备参照Laemmli (1970)的方法, 采用4%浓缩胶, SOD和APX采用10%分离胶, CAT和POD采用7.5%分离胶, 电泳均在4°C进行, 电泳条件同上。

SOD活性染色根据Beauchamp和Friclorich (1971)的方法, 先将胶浸在含0.24 mmol·L⁻¹氯化硝基四氮唑蓝(NBT)和28 μmol·L⁻¹核黄素的50 mmol·L⁻¹ PBS (pH 7.8)中, 黑暗中放置20 min后, 在含有28 mmol·L⁻¹四甲基乙二胺(TEMED)的50 mmol·L⁻¹ PBS (pH 7.8)中, 强光下显色。

POD活性染色采用醋酸联苯胺染色法(何忠效和张树政1999)。用蒸馏水漂洗后, 将凝胶移入染液(A液: 0.4 g联苯胺中加入3 mL冰醋酸, 80°C溶解后加入17 mL蒸馏水; B液: 4% NH₃Cl; C液: 5% EDTA; D液: 3% H₂O₂; A、B、C、D和蒸馏水以体积比1:1:1:1:9混匀)中, 37°C恒温水浴5~10 min, 待酶带清晰后用蒸馏水冲洗30 min。

CAT活性染色参照Chandlee和Scandalios等(1984)的方法, 先将胶浸在含有0.01% (V/V) H₂O₂的重蒸水中10 min, 然后蒸馏水中漂洗2次, 移入含有1%的三氯化铁和1%的铁氰化钾溶液中显色, 待酶带呈无色透明后立即停止反应。

APX活性染色依据Lee和Lee (2000)的方法, 将凝胶浸入含2 mmol·L⁻¹抗坏血酸的50 mmol·L⁻¹ PBS (pH 7.0)中30 min (每10 min更换一次溶液), 随后将凝胶浸于含4 mmol·L⁻¹抗坏血酸和2 mmol·L⁻¹ H₂O₂的50 mmol·L⁻¹ PBS (pH 7.0)中20 min, 最后将凝胶置于含28 mmol·L⁻¹ TEMED和2.4 mmol·L⁻¹ NBT的50 mmol·L⁻¹ PBS (pH 7.8)中显色, 待酶带清晰后, 用蒸馏水漂洗终止反应。

2.6 细胞壁结合态POD活性测定

细胞壁的提取参照Lee和Lin (1995)的方法, 取0.5 g黄花补血草幼苗叶片, 加入2 mL 50 mmol·L⁻¹ PBS (pH 5.8)提取液冰浴研磨, 1 000×g离心10 min, 用提取液洗涤沉淀2~3次, 倾去上清, 加入2 mL 1 mol·L⁻¹ NaCl溶液后30°C摇床孵育2 h, 1 000×g离心

10 min后, 取上清并依照Dos Santos (2008)的方法测定细胞壁结合态POD的活性, 100 μL 上清液加入2.9 mL含7.2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 愈创木酚的50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 5.8), 以11.8 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ H_2O_2 启动反应, 470 nm处扫描2 min。

2.7 DAO和PAO活性测定

DAO活性测定参照Naik等(1981)的方法。1 g叶片用含20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 愈创木酚的50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 7.0)提取, 16 000 $\times g$ 离心20 min。取酶液加入含10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 腐胺和0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸吡哆醛的50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 7.8), 30 $^\circ\text{C}$ 孵育1 h, 以1 mL 20%三氯乙酸启动反应, 30 min后, 5 000 $\times g$ 离心15 min。吸取上清液加入1 mL茚三酮复合物(250 mg茚三酮溶于6 mL乙酸和4 mL磷酸), 100 $^\circ\text{C}$ 水浴30 min后加入1 mL冰乙酸, 测定510 nm处吸光值。

参照Asthir等(2002)的方法检测PAO的活性。1 g叶片中加入2 mL含5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 二硫苏糖醇的100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 7.0)冰浴研磨, 16 000 $\times g$ 离心20 min。倾去上清液, 以含1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl的100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS (pH 7.0)洗涤沉淀后, 16 000 $\times g$ 离心20 min, 取450 μL 酶液中加入反应液(50 U CAT和0.1% 2-氨基苯甲醛), 以250 μL 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 亚精氨酸启动反应, 30 $^\circ\text{C}$ 孵育3 h后, 加入1 mL 10%高氯酸终止反应, 6 500 $\times g$ 离心10 min, 取上清于430 nm处测定吸光值。

以上所有的酶活性均以 $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ (蛋白)为单位。

3 数据分析

各组处理和对照均设置3个重复, 每样均重复测定3次, 取平均值, 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用SPSS 17.0进行统计分析, 并用Duncan检验法对差异显著性($P<0.05$)进行多重比较。Origin 7.5软件作图, Adobe Photoshop CS4软件对图片进行处理。

采用BIO-RAD Mini-PROTEAN Tetra Cell伯乐小型垂直电泳槽164-8001进行凝胶电泳, BIO-RAD GelDoc 2000凝胶成像系统和BIO-RAD Quantity One软件进行凝胶图像采集、分析和处理。

实验结果

1 盐胁迫对黄花补血草幼苗叶片可溶性蛋白的影响

如图1所示, 将黄花补血草幼苗叶片可溶性蛋

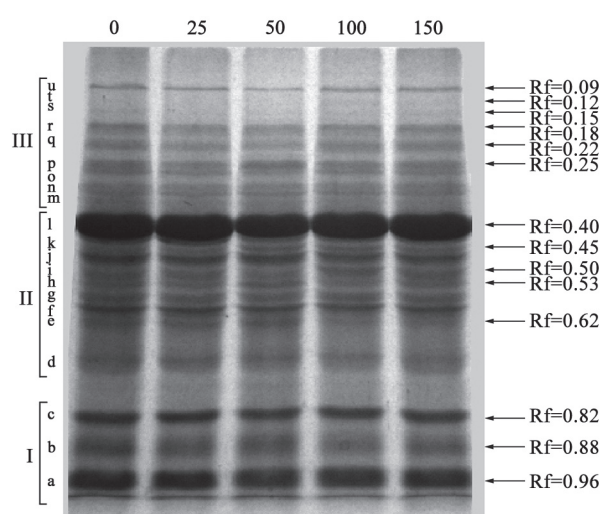


图1 黄花补血草幼苗叶片可溶性蛋白的SDS-PAGE图
Fig.1 SDS-PAGE map of soluble proteins of *L. aureum* seedling leaves

图中0、25、50、100和150均为NaCl处理浓度($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), Rf为相对迁移率。

白进行SDS-PAGE, 可分辨出21~22条区带, 根据其相对迁移率(Rf)可划分为3个区。I区包括3条蛋白带(a、b和c): a谱带宽且染色深, 在NaCl处理下没有发生明显的变化; b带宽但染色相对较浅, 在100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时, 谱带弱于其他处理组; c带染色较深, 其中50和100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫下谱带弱于0、25和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理组。II区包括9条带, 其中d、e、f、g、h、i、j和k均为比较窄、染色较浅的蛋白带, 而f和j带染色稍深于其余6条带; h带在100、150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫下和i带在150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫下, 染色均比对照组和低浓度处理组深; k谱带在对照组中没有观察到, 但在25、50、100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时, k带出现, 并可清楚识别; 另外, l谱带为所有条带中最宽且染色最深的蛋白带, 此带中50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时的条带明显窄于其他处理组。III区包括9条带(m、n、o、p、q、r、s、t和u), 均为条带窄且染色较浅的蛋白带; p谱带在25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时染色深于其他4组; q、r和u带在25和50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理下染色均浅于对照组、100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理组; 另外, s和t带在对照组出现, 25和50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理下消失, 在100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时又可观察到微弱的条带。

2 盐胁迫对黄花补血草幼苗叶片 H_2O_2 和 $\cdot\text{OH}$ 含量的影响

由于细胞颗粒中的过氧化酶能将 H_2O_2 中的氧释放出来,进而氧化DAB形成金黄色沉淀并定位于过氧化酶活性的部位。因此,可通过DAB染色

沉淀颜色的深浅和数量反映 H_2O_2 的多少(王东平2007)。如图2所示,25和50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理下幼苗叶片 H_2O_2 含量相比于对照组略有增加,而100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时,叶片中的 H_2O_2 含量显著增加。

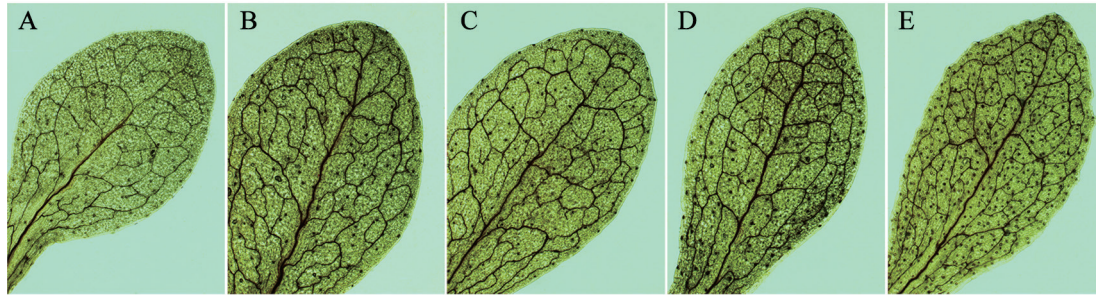


图2 DAB染色检测不同浓度NaCl诱导的黄花补血草幼苗叶片 H_2O_2 的产生

Fig.2 H_2O_2 production estimated by DAB staining in leaves of *L. aureum* seedlings exposed to different NaCl concentrations
A、B、C、D和E分别为经0、25、50、100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理的叶片。

$\cdot\text{OH}$ 是一种活性最强的活性氧,对植物细胞的生命活动极为有害,可直接引发脂质过氧化,严重时导致植物细胞死亡(杨淑慎和高俊凤2001)。与对照组相比,25、50和100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理的幼苗,叶片中 $\cdot\text{OH}$ 含量分别降低约39%、58%和64%,而150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理诱导叶片 $\cdot\text{OH}$ 含量显著升高,且高于对照组约19%(图3)。这些结果表明,低浓度的NaCl胁迫下黄花补血草幼苗叶片 $\cdot\text{OH}$ 含量减少,而高浓度NaCl胁迫下 $\cdot\text{OH}$ 的含量增加。

3 盐胁迫对黄花补血草幼苗叶片抗氧化酶的影响

由图4-A可以看出,黄花补血草幼苗叶片SOD同工酶有2条主酶带SOD1和SOD2。与对照组比较,25、50、100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫下SOD1和SOD2同工酶酶带颜色逐渐变亮,酶带变宽,增强的幅度随着NaCl浓度的增加而增大,其中100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理下的酶带显色最深。说明黄花补血草幼苗叶片的SOD活性随着NaCl浓度的增大而逐渐增强。

黄花补血草幼苗叶片POD有2条主酶带(图4-B),不同浓度盐胁迫使POD酶带呈现先增强后减弱的变化趋势。与对照相比,25和50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫下,POD1和POD2酶带变宽,染色加深,2条POD酶带在100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理组相比较于25和50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理组酶带明显减弱,

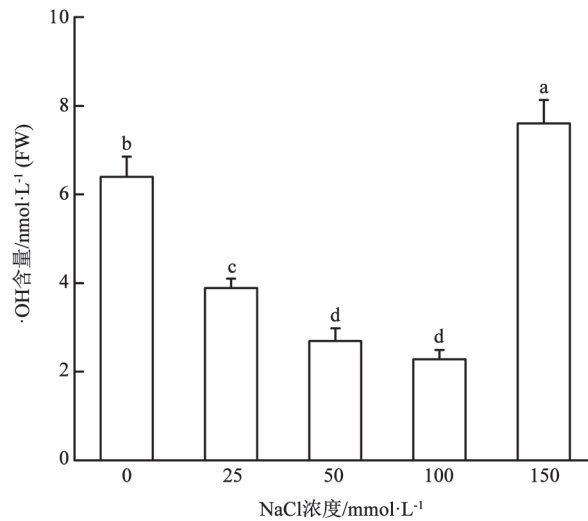


图3 不同浓度NaCl诱导黄花补血草幼苗叶片 $\cdot\text{OH}$ 含量的变化
Fig.3 Changes of $\cdot\text{OH}$ content induced by different NaCl concentrations in the leaves of *L. aureum* seedlings
各柱形上用不同小写字母标识表示数据间差异显著($P < 0.05$)。

但POD1酶带仍强于对照组。说明NaCl作用诱导黄花补血草幼苗叶片POD的活性增强,且低浓度NaCl的诱导效应更强。

从图4-C可以看出,黄花补血草幼苗叶片CAT仅1条酶带,且NaCl胁迫诱导酶带亮度呈现出先增强后减弱的趋势。与对照相比较,25和50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时,CAT酶带亮度增强,酶带变宽,而在

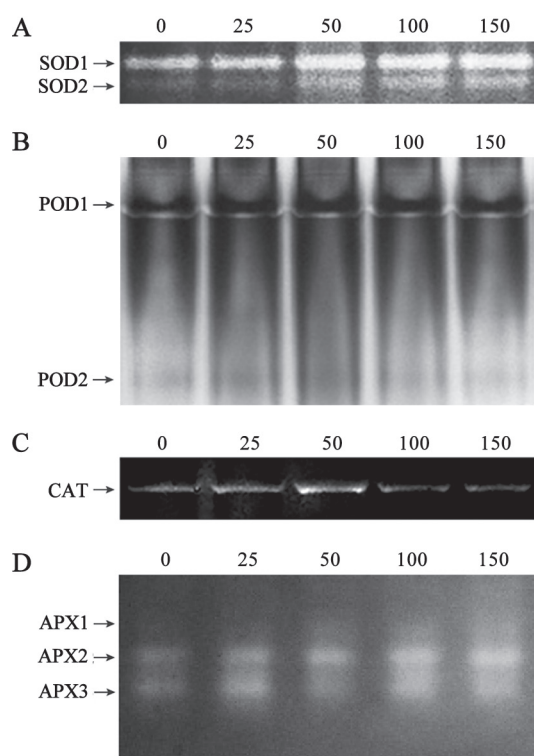


图4 黄花补血草幼苗叶片抗氧化酶活性电泳图
Fig.4 Electrophoretic maps of antioxidant enzyme activities of *L. aureum* seedling leaves

A、B、C和D分别为SOD、POD、CAT和APX电泳检测; 0、25、50、100和150均为NaCl处理浓度($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫下, 酶带亮度减弱, 且在150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时酶带亮度低于对照组。说明低浓度的NaCl增强了CAT的活性, 高浓度的NaCl对CAT活性产生抑制作用。

黄花补血草幼苗叶片的APX共有3条酶带APX1、APX2和APX3 (图4-D)。25和50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫下APX1酶带亮度与对照组比无明显变化, 而100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时酶带亮度增

强并强于对照组。APX2酶带呈现出随处理NaCl浓度的升高而逐渐增强的变化趋势。此外, 与对照组比较, NaCl处理下的APX3酶带均有不同程度增强, 在25和100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时染色较浅, 而在50和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理时酶带显著变亮。这些结果说明随着盐浓度的升高, 黄花补血草幼苗叶片APX的活性总体呈现增强的趋势。

4 盐胁迫对黄花补血草幼苗叶片细胞壁结合态POD、DAO和PAO活性的影响

从表1可以看出, 随着NaCl浓度的升高, 黄花补血草幼苗叶片细胞壁结合态POD活性与对照组相比呈现降低的变化趋势, 且差异显著。25和50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理的幼苗叶片中, 细胞壁结合态POD活性相比于对照组分别降低约40%和37%, 但二者之间差异不显著; 而100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫诱导细胞壁结合态POD活性显著降低, 分别低于对照约77%和82%, 且降低的幅度明显大于25和50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理组。

黄花补血草幼苗叶片DAO活性随盐浓度增加呈缓慢上升趋势(表1)。与对照组相比, 25、50、100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl处理的幼苗叶片DAO活性分别增加约18%、43%、83%和114%, 差异均达到显著水平。PAO的活性在盐胁迫下不断增强, 其中25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫对幼苗叶片PAO的活性没有明显影响, 而50、100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl胁迫下PAO活性显著高于对照组, 分别增加为对照的2.27、3.64和7.25倍(表1)。

讨 论

在盐或干旱胁迫条件下, 可溶性蛋白作为植物中的有机渗透保护物质之一, 有助于适当保持植物的渗透势, 同时可以稳定和生物大分子

表1 不同浓度NaCl对黄花补血草幼苗叶片细胞壁结合态POD、DAO和PAO活性的影响

Table 1 Effects of different NaCl concentrations on cell wall-bound POD, DAO and PAO activities in *L. aureum* seedling leaves

NaCl浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞壁结合态POD活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ (蛋白)	DAO活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ (蛋白)	PAO活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ (蛋白)
0	41.74±1.32 ^a	1.27±0.05 ^e	0.77±0.05 ^d
25	25.24±1.50 ^b	1.50±0.03 ^d	0.52±0.42 ^d
50	26.18±1.83 ^b	1.82±0.30 ^c	1.75±0.14 ^c
100	9.51±0.17 ^c	2.33±0.06 ^b	2.80±0.05 ^b
150	7.58±0.40 ^c	2.72±0.20 ^a	5.58±0.31 ^a

表中数据分别为3次重复的 $\bar{x}\pm s$, 同列数据间用不同小写字母标识表示差异显著($P<0.05$)。

的结构和功能(田晓艳等2008)。高浓度的可溶性蛋白可以使细胞维持较低的渗透势,帮助植物抵抗胁迫环境带来的伤害(中国科学院上海植物生理研究所和上海市植物生理学会1999)。有研究者认为,植物在逆境条件下体内某些正常蛋白合成往往受到抑制,同时诱导出一一些新的蛋白或使原有蛋白含量明显增加(杜长霞2007)。毛桂莲和许兴(2005)的研究表明,NaCl胁迫下枸杞(*Lycium barbarum* L.)愈伤组织可溶性蛋白含量增加,且诱导产生了新蛋白。我们在实验中发现,25和50 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫下Rf为0.22、0.18、0.15、0.12和0.09的可溶性蛋白含量减少,而100和150 mmol·L⁻¹ NaCl胁迫诱导Rf为0.82、0.53、0.50、0.40、0.22、0.18、0.15、0.12和0.09的可溶性蛋白含量明显增加;此外,所有浓度的盐胁迫均诱导产生了Rf为0.45的新蛋白。这些结果表明,盐胁迫下黄花补血草幼苗叶片通过增加某些可溶性蛋白含量来维持渗透平衡,这也可能是幼苗能够在盐环境中生存的原因之一。

在正常生长环境条件下,植物细胞内活性氧的产生与清除总是处于动态平衡状态。但当植物受到逆境胁迫时,这种动态平衡遭到破坏,活性氧大量积累,对植物造成伤害(王群等2004)。活性氧H₂O₂和·OH可直接启动膜脂过氧化反应,使细胞质膜的结构、功能紊乱,严重时甚至导致细胞死亡。Rejeb等(2015)的研究表明,短期的NaCl处理诱导拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)叶片中H₂O₂浓度瞬时升高。我们在以前的研究中也发现,NaCl处理诱导黄花补血草(*Limonium aureum*)幼苗叶片O₂⁻产生速率增大(尤佳等2013)。过量的H₂O₂和O₂⁻不仅本身对植物有毒害作用,更重要的是它们可通过Fenton和Haber-Weiss反应转化为破坏性极强的·OH,启动膜脂过氧化(王凤德等2011)。本实验中,低浓度盐胁迫诱导黄花补血草叶片·OH含量下降,而高浓度NaCl诱导幼苗叶片H₂O₂和·OH含量显著增加。因此,高浓度盐处理的幼苗叶片中过量的H₂O₂和·OH产生会加剧膜脂过氧化反应。这可能是高盐对黄花补血草幼苗叶片产生氧化胁迫,进而抑制幼苗生长的原因之一(尤佳等2012)。

植物体内酶促清除系统SOD、POD、CAT和APX等在活性氧的清除方面起着尤为重要的作

用。各种抗氧化酶的协同作用在维持活性氧代谢的平衡、保护膜结构、抵御和修复逆境对细胞的伤害方面发挥着重要作用,但它们的活性变化可能因胁迫程度和物种的不同而存在差异(王群等2004)。此外,不同植物中抗氧化酶同工酶的数量是有差别的,它们既相互依赖,又各自独立共同维持植物体内ROS代谢的平衡。例如,构树(*Broussonetia papyrifera*)叶片中SOD同工酶显示4条酶带,且各酶带在盐胁迫下并未出现明显的变化;POD有3种同工酶带,POD1和POD3酶带在低浓度NaCl处理下消失,在高浓度NaCl处理下出现且活性显著增强(Zhang等2013)。不同的是,石头花属植物(*Gypsophila oblongeolata* Bark.)的叶片SOD被区分出8种同工酶,金盏菊(*Calendula officinalis*)叶片POD同工酶谱有6条带,且这2种植物中SOD和POD的活性均随NaCl浓度的升高呈先增强后减弱的变化趋势(刘爱荣等2011; Sekmen等2012)。在我们的研究中,黄花补血草幼苗叶片SOD只有2条同工酶带,同工酶随NaCl浓度的升高而显著增强,其中SOD1同工酶的变化更加显著;POD有2条酶带,酶活性在低浓度NaCl处理时升高,高浓度NaCl处理时活性降低,但总高于对照。增强的SOD活性赋予了黄花补血草幼苗较强的O₂⁻清除能力,POD活性的增强有利于及时清除SOD在歧化反应中产生的H₂O₂,维持活性氧代谢的平衡,由此减缓NaCl胁迫对植物细胞的伤害。庞彩虹(2004)利用电泳鉴定发现,盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)叶片CAT同工酶有3条酶带,NaCl处理下同工酶数量没有发生改变,但CAT1同工酶活性随NaCl浓度的增加而增强,导致了盐地碱蓬叶片总体CAT活性的增强。Ferreira-Silva等(2011)的研究中,腰果(*Anacardium occidentale*)叶片CAT仅有1条酶带,NaCl胁迫诱导CAT活性显著增强,相比较200 mmol·L⁻¹ NaCl处理诱导CAT活性降低但仍高于对照。与Ferreira-Silva等人的研究结果相似,黄花补血草幼苗叶片CAT酶也只有1条酶带(图4-C),其活性在低浓度盐胁迫下增强,高浓度盐胁迫下受到抑制。在逆境条件下,由于APX作为参与抗坏血酸-谷胱甘肽循环清除H₂O₂的关键酶,其活性也标志着H₂O₂清除能力,对于保护叶绿体和其他细胞组分免受H₂O₂及其所产生的·OH的破坏是必不可少的(段明2012; 赵宝龙等

2015)。在Puyang等(2015)的研究中, 2种早熟禾(*Poa pratensis* L.)的APX均有2条同工酶带, 盐胁迫诱导了2种同工酶活性的增强。在黄花补血草幼苗叶片中, APX经电泳和活性胶染色后显示出3条同工酶带, APX1同工酶的活性在100和150 mmol·L⁻¹ NaCl处理时增强, 而APX2和APX3同工酶的活性均随着盐处理浓度的升高而增强。这些导致了黄花补血草幼苗叶片中APX的活性总体增强, 可能是由于该植物在应答盐胁迫时做出应激反应, 启动了自身保护机制, 提高了幼苗对H₂O₂的清除能力。总之, 一定浓度的盐胁迫诱导黄花补血草幼苗叶片中抗氧化酶活性增强, 提高了ROS的清除力, 从而缓解了盐胁迫对植物造成的氧化损伤。

除了抗氧化酶系统, 细胞壁结合态POD、DAO和PAO也参与植物体内活性氧水平的调节。文献报道, 细胞壁结合态POD通过NADH的氧化来产生H₂O₂ (Lin和Kao 2002)。Wen等(2012)在研究中发现, 不同浓度的盐胁迫诱导植物H₂O₂含量的增加与细胞壁结合态POD活性的增强相关联。与这些研究结果不同, 黄花补血草幼苗叶片细胞壁结合态POD的活性在盐胁迫下显著降低, 此效应在高浓度NaCl (100和150 mmol·L⁻¹)胁迫下表现得更强。这表明黄花补血草幼苗叶片中细胞壁结合态POD可能不参与盐诱导的H₂O₂的积累。多胺类物质对稳定细胞膜、核酸及蛋白质等大分子物质的构象有重要的作用, 在植物抵抗生物与非生物逆境中必不可少(Drolet等1986)。文献报道, 植物体内DAO在多胺代谢中能氧化腐胺产生H₂O₂, PAO通过催化亚精胺和精胺转变为H₂O₂ (Fan等2013)。它们通过调节细胞内多胺的水平和生成物的浓度来参与植物对多种逆境胁迫的反应和生长发育过程(Santa-Cruz等1997)。徐呈祥等(2013)报道, 盐胁迫刺激枣树(*Ziziphus jujuba* Mill.)叶片内DAO和PAO活性显著增强。Dai等(2014)也发现, 盐胁迫诱导植物DAO活性的增强。与这些研究结果相似, 盐胁迫诱导黄花补血草幼苗叶片DAO和PAO的活性增强, 且增强幅度随胁迫程度加重而增大。更为重要的是, 植物应对非生物胁迫的H₂O₂产生与DAO活性增强有关(Tisi等2008), 在非生物胁迫下转基因烟草中PAO的过量表达也诱导产生了高浓度的H₂O₂ (Moschou等2008)。因此, 盐胁迫

诱导黄花补血草幼苗叶片中DAO和PAO活性的增强可能与盐诱导的H₂O₂产生的增加相关。这些结果也表明, 盐处理下黄花补血草幼苗体内多胺代谢可能是活跃的。然而, 黄花补血草是否通过多胺的调节作用来缓解胁迫造成的伤害, 有待于进一步研究。

综上所述, 盐胁迫诱导黄花补血草幼苗叶片中H₂O₂和·OH等积累, 启动了活性氧清除机制, 增强了SOD、POD、CAT和APX的活性以清除过量产生的活性氧, 防止氧化胁迫对幼苗造成的过度损害。此外, NaCl胁迫诱导DAO和PAO活性的增强可能与黄花补血草幼苗叶片内H₂O₂的积累有关。

参考文献

- Asthir B, Duffus CM, Smith RC, Spoor W (2002). Diamine oxidase is involved in H₂O₂ production in the chalazal cells during barley grain filling. *J Exp Bot*, 53 (369): 677–682
- Beauchamp C, Friclorich I (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem*, 44: 276–287
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72: 248–254
- CAS Flora of China Editorial Board (1987). *Flora of China*. Vol 60 (bk 1). Beijing: Science Press (in Chinese) [中国科学院中国植物志编辑委员会(1987). 中国植物志. 第60卷(第1分册). 北京: 科学出版社]
- Chandlee JM, Scandalios JG (1984). Regulation of *Cat1* gene expression in the scutellum of maize during early sporophytic development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81: 4903–4907
- Cvikrová M, Gemperlová L, Dobrá J, Martincová O, Prásil IT, Gubis J, Vanková R (2012). Effect of heat stress on polyamine metabolism in proline-over-producing tobacco plants. *Plant Sci*, 182: 49–58
- Dai Z, Sun Y, Xu H, Yang Z, Ma J (2014). Effects of polyamines on plants under salt stress. *Agr Sci Tech*, 15 (3): 344–351
- dos Santos WD, Ferrarese MLL, Nakamura CV, Mourão KSM, Mangolin CA, Ferrarese-Filho O (2008). Soybean (*Glycine max*) root lignification induced by ferulic acid. The possible mode of action. *J Chem Ecol*, 34: 1230–1241
- Drolet G, Dumbroff EB, Legge RL, Thompson JE (1986). Radical scavenging properties of polyamines. *Phytochemistry*, 25 (2): 367–371
- Du CX, Li J, Guo SR, Fan HF (2007). Effects of exogenous spermidine on the growth and soluble protein expression in cucumber seedlings under NaCl stress. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 27 (6): 1179–1184 (in Chinese with English abstract) [杜长霞, 李娟, 郭世荣, 樊怀福(2007). 外源亚精胺对盐胁迫下黄瓜幼苗生长和可溶性蛋白表达的影响. 西北植物学报, 27 (6): 1179–1184]
- Duan M (2012). Expression and functional analysis of the *LetAPX* in tomato under chilling stress (PhD thesis). Taian: Shandong

- Agricultural University (in Chinese with English abstract) [段明 (2012). 低温胁迫下番茄类囊体膜抗坏血酸过氧化物酶基因的表达和功能研究(博士论文). 泰安: 山东农业大学]
- Fan HF, Du CX, Guo SR (2013). Nitric oxide enhances salt tolerance in cucumber seedlings by regulating free polyamine content. *Environ Exp Bot*, 86: 52–59
- Ferreira-Silva SL, Voigt EL, Silva EN, Maia JM, de Vasconcelos Fontenele A, Silveira JAG (2011). High temperature positively modulates oxidative protection in salt-stressed cashew plants. *Environ Exp Bot*, 74: 162–170
- Guo HJ, Hu T, Fu JM (2012). Effects of saline sodic stress on growth and physiological responses of *Lolium perenne*. *Acta Pratac Sin*, 21 (1): 118–125 (in Chinese with English abstract) [郭慧娟, 胡涛, 傅金民(2012). 苏打碱胁迫对多年生黑麦草的生理影响. 草业学报, 21 (1): 118–125]
- Halliwell B, Gutteridge JMC, Aruoma OI (1987). The deoxyribose method: a simple “test-tube” assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Anal Biochem*, 165: 215–219
- He Z, Zhang S (1999). Electrophoresis. Beijing: Science Press (in Chinese) [何忠效, 张树政(1999). 电泳. 北京: 科学出版社]
- Institute of Plant Physiology, CAS, Shanghai Society for Plant Physiology (1999). *Experimental Guide for Modern Plant Physiology*. Beijing: Science Press (in Chinese) [中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会(1999). 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社]
- Laemmli UK (1970). Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227 (5259): 680–685
- Lee DH, Lee CB (2000). Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays. *Plant Sci*, 159: 75–85
- Lee TM, Lin YH (1995). Changes in soluble and cell wall-bound peroxidase activities with growth in anoxia-treated rice (*Oryza sativa* L.) coleoptiles and roots. *Plant Sci*, 106: 1–7
- Li Y, Zhang Y, Sun M, Gao B (2008). Research advance in the effects of salt stress on plant and the mechanism of plant resistance. *Chin Agr Sci Bull*, 24 (1): 258–265 (in Chinese with English abstract) [李彦, 张英鹏, 孙明, 高弼模(2008). 盐胁迫对植物的影响及植物耐盐机理研究进展. 中国农学通报, 24 (1): 258–265]
- Lin CC, Kao CH (2002). Osmotic stress-induced changes in cell wall peroxidase activity and hydrogen peroxide level in roots of rice seedlings. *Plant Growth Regul*, 37: 177–184
- Liu AR, Zhang YB, Fang YY, Li W, Chen ZY (2011). Effects of salt stress on the growth, antioxidant ability and salt stress protein of *Calendula officinalis*. *Acta Pratac Sin*, 20 (6): 52–59 (in Chinese with English abstract) [刘爱荣, 张远兵, 方园园, 李伟, 陈志扬(2011). 盐胁迫对金盏菊生长、抗氧化能力和盐胁迫蛋白的影响. 草业学报, 20 (6): 52–59]
- Liu LY, Zhao DY, Zheng Y, Shen L, Sheng JP (2009). Hydrogen peroxide metabolism and signal transduction under cold stress in plants. *Hortic Plant J*, 36 (11): 1701–1708 (in Chinese with English abstract) [刘零怡, 赵丹莹, 郑杨, 申琳, 生吉萍(2009). 植物在低温胁迫下的过氧化氢代谢及信号转导. 园艺学报, 36 (11): 1701–1708]
- Ma J, Zheng G, Pei CM, Zhang ZY (2015). The function of ascorbate-glutathione cycle in salt tolerance of alfalfa mutant. *Plant Physiol J*, 51 (10): 1749–1756 (in Chinese with English abstract) [马进, 郑钢, 裴翠明, 张振亚(2015). 抗坏血酸-谷胱甘肽循环在紫花苜蓿突变体耐盐性中的作用. 植物生理学报, 51 (10): 1749–1756]
- Mao GL, Xu X (2005). Studies on *in vivo* selection of salt-tolerant mutant of *Lycium barbarum* L. and its physiological and biochemical characteristics. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 25 (2): 275–280 (in Chinese with English abstract) [毛桂莲, 许兴(2005). 枸杞耐盐突变体的筛选及生理生化分析. 西北植物学报, 25 (2): 275–280]
- Moschou PN, Delis ID, Paschalidis KA, Roubelakis-Angelakis KA (2008). Transgenic tobacco plants overexpressing polyamine oxidase are not able to cope with oxidative burst generated by abiotic factors. *Physiol Plantarum*, 133: 140–156
- Naik BI, Goswami RG, Srivastava SK (1981). A rapid and sensitive colorimetric assay of amine oxidase. *Anal Biochem*, 111 (1): 146–148
- Ni XL, Tan LL, Shen XD (2012). Developmental and anatomical studies of the salt gland in *Limonium aureum*. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 32 (8): 1587–1591 (in Chinese with English abstract) [倪细炉, 谭玲玲, 沈效东(2012). 黄花补血草叶片盐腺的发育解剖学研究. 西北植物学报, 32 (8): 1587–1591]
- Pang CH (2004). Effects of NaCl treatment on the CAT, GR and GST in the leaves of *Suaeda salsa* (master’s thesis). Shandong Jina: Shandong Normal University (in Chinese with English abstract) [庞彩虹(2004). 不同浓度NaCl处理对盐地碱蓬叶片中CAT、GR和GST的影响(硕士论文). 济南: 山东师范大学]
- Puyang X, An M, Han L, Zhang X (2015). Protective effect of spermidine on salt stress induced oxidative damage in two Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) cultivars. *Ecotox Environ Safe*, 117: 96–106
- Rejeb KB, Benzarti M, Debez A, Bailly C, Savaouré A, Abdelly C (2015). NADPH oxidase-dependent H₂O₂ production is required for salt-induced antioxidant defense in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Physiol*, 174: 5–15
- Santa-Cruz A, Acosta M, Pérez-Alfocea F, Bolarin MC (1997). Changes in free polyamine levels induced by salt stress in leaves of cultivated and wild tomato species. *Physiol Plantarum*, 101: 341–346
- Sekmen AH, Turkan I, Tanyolac ZO, Ozfidan C, Dinc A (2012). Different antioxidant defense responses to salt stress during germination and vegetative stages of endemic halophyte *Gypsophila oblongeolata* Bark. *Environ Exp Bot*, 77: 63–76
- Talaat NB, Shawky BT (2012). 24-Epibrassinolide ameliorates the saline stress and improves the productivity of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environ Exp Bot*, 82: 80–88
- Thordal-Christensen H, Zhang Z, Wei Y, Collinge DB (1997). Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *Plant J*, 11 (6): 1187–1194

- Tian CY, Zhou HF, Liu GQ (2001). The proposal on control of soil salinization and agricultural sustaining development in 21's century in Xinjiang. *Arid Land Geogr*, 23 (2): 178–181 (in Chinese with English abstract) [田长彦, 周宏飞, 刘国庆(2001). 21世纪新疆土壤盐渍化调控与农业持续发展研究建议. *干旱区地理*, 23 (2): 178–181]
- Tian XY, Liu YJ, Guo YC (2008). Effect of salt stress on Na^+ , K^+ , proline, soluble sugar and protein of NHC. *Acta Pratac Sin*, 25 (10): 34–38 (in Chinese with English abstract) [田晓艳, 刘延吉, 郭迎春(2008). 盐胁迫对NHC牧草 Na^+ 、 K^+ 、Pro、可溶性糖及可溶性蛋白的影响. *草业科学*, 25 (10): 34–38]
- Tisi A, Angelini R, Cona A (2008). Wound healing in plants: cooperation of copper amine oxidase and flavin-containing polyamine oxidase. *Plant Signal Behav*, 3 (3): 204–206
- Wang D (2007). Functional analysis of maize transcription factor ABP4 in transgenic arabidopsis in response to pathogen attack and during development (master's thesis). Beijing: Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese with English abstract) [王东平(2007). 玉米转录因子ABP4在转基因拟南芥抗病和发育中的功能分析(硕士论文). 北京: 中国农业科学院生物技术研究所]
- Wang F, Yi Y, Wang H, Wang X, Liu J (2011). Enhanced drought and photooxidation tolerance of transgenic tobacco plants overexpressing pea catalase in chloroplasts. *Acta Ecol Sin*, 31 (4): 1058–1063 (in Chinese with English abstract) [王凤德, 衣艳君, 王海庆, 王学臣, 刘家尧(2011). 豌豆过氧化氢酶在烟草叶绿体中的过量表达提高了植物的抗逆性. *生态学报*, 31 (4): 1058–1063]
- Wang Q, Yin F, Li CH (2004). Research advance on activated oxygen free radical metabolism in plant under water stress. *J Henan Agr Sci*, 10: 25–28 (in Chinese with English abstract) [王群, 尹飞, 李潮海(2004). 水分胁迫下植物体内活性氧自由基代谢研究进展. *河南农业科学*, 10: 25–28]
- Wen JF, Deng MH, Gong M (2012). Cd^{2+} stress induces two waves of H_2O_2 accumulation associated with ROS-generating system and ROS-scavenging system in cultured tobacco cells. *Aust J Crop Sci*, 6 (5): 846–853
- Xu CX, Ma YP, Xu ZX (2013). Polyamine contents and polyamine oxidase activities in roots and leaves of two jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) cultivars with contrary salt tolerance under salt stress. *J Trop Subtrop Bot*, 21 (4): 297–304 (in Chinese with English abstract) [徐呈祥, 马艳萍, 徐锡增(2013). 盐胁迫对不同耐盐性枣树品种根系和叶片中多胺含量及多胺氧化酶活性的影响. *热带亚热带植物学报*, 21 (4): 297–304]
- Yang SS, Gao JF (2001). Influence of active oxygen and free radicals on plant senescence. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 21 (2): 215–220 (in Chinese with English abstract) [杨淑慎, 高俊凤(2001). 活性氧、自由基与植物的衰老. *西北植物学报*, 21 (2): 215–220]
- You J, Wang W, Lu J, Jia P, Miao J, Yang Y (2012). Effects of salinity on seed germination and seedling growth in halophyte *Limonium aureum* (L.) Hill. *Acta Ecol Sin*, 32 (12): 3825–3833 (in Chinese with English abstract) [尤佳, 王文瑞, 卢金, 贾鹏翔, 缪建顺, 杨颖丽(2012). 盐胁迫对盐生植物黄花补血草种子萌发和幼苗生长的影响. *生态学报*, 32 (12): 3825–3833]
- You J, Zhang J, Wang WR, Lu J, Jia PX, Miao JS, Yang YL (2013). Changes of physiological properties in *Limonium aureum* (Linn.) Hill seedlings under salt stress. *Bull Bot Res*, 33 (1): 45–50 (in Chinese with English abstract) [尤佳, 张菁, 王文瑞, 卢金, 贾鹏翔, 缪建顺, 杨颖丽(2013). NaCl处理下黄花补血草幼苗生理特性的变化. *植物研究*, 33 (1): 45–50]
- Zeng K, Deng Y, Ming J, Deng L (2010). Induction of disease resistance and ROS metabolism in navel oranges by chitosan. *Sci Hortic*, 126 (2): 223–228
- Zhang M, Fang Y, Ji Y, Jiang Z, Wang L (2013). Effects of salt stress on ion content, antioxidant enzymes and protein profile in different tissues of *Broussonetia papyrifera*. *S Afr J Bot*, 85: 1–9
- Zhao BL, Liu P, Wang WJ, Sun JL, Ma HX (2015). Effects of 5-aminolevulinic acid on the AsA-GSH cycle in grape leaves under salt stress. *Plant Physiol J*, 51 (3): 385–390 (in Chinese with English abstract) [赵宝龙, 刘鹏, 王文静, 孙军利, 马海新(2015). 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对盐胁迫下葡萄叶片中AsA-GSH循环的影响. *植物生理学报*, 51 (3): 385–390]
- Zhou XW, Liu ZL, Kou L, Wu RZ, Liu YQ (2013). Chemical constituents of *Limonium aureum* (L.) Hill. *J Lanzhou Univ-Nat Sci*, 49 (4): 569–572 (in Chinese with English abstract) [周幸文, 刘珍伶, 寇亮, 吴瑞芝, 刘映前(2013). 黄花补血草的化学成分研究. *兰州大学学报(自然科学版)*, 49 (4): 569–572]

Changes of ROS metabolizing enzyme activities in *Limonium aureum* seedlings under salinity stress

MA Ting, TENG Yu-Jin, LI Cui-Xiang, YANG Ying-Li*

College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China

Abstract: Halophyte *Limonium aureum* seedlings treated with different NaCl concentrations (0, 25, 50, 100 and 150 mmol·L⁻¹) were used to investigate the relationship between the changes of physiological indexes, such as the activities of antioxidant enzymes and polyamine metabolizing enzymes, and salt tolerance. Except for increased hydroxy radical ($\cdot\text{OH}$) content due to 150 mmol·L⁻¹ NaCl, different salinity concentrations resulted in the reduction of this parameter in the leaves. Differently, hydrogen peroxide (H₂O₂) content significantly rose in response to 100 and 150 mmol·L⁻¹ NaCl. Further study showed that all salinity concentrations stimulated superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX), diamine oxidase (DAO) and polyamine oxidase (PAO) activities, but inhibited cell wall-bound POD activity in the leaves of *L. aureum* seedling. Additionally, catalase (CAT) activity rose due to low salinity concentrations but lowered to high NaCl concentrations in the leaves. Taken together, *L. aureum* seedlings could respond to salt stress and exhibited the increases of the activities of antioxidant enzymes and polyamine metabolizing enzymes, and high salinity stimulated H₂O₂ and $\cdot\text{OH}$ generation, which might be associated with the adaptation of the seedlings to salt environment.

Key words: *Limonium aureum*; salinity stress; reactive oxygen species; antioxidant enzymes

Received 2015-10-16 Accepted 2016-01-06

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 31360094, 31470464 and 31160088).

*Corresponding author (E-mail: yangyingli2006@sohu.com).