

王鑫,朱悦,刘滨硕,等.盐碱胁迫下羊草抗氧化酶活性的变化[J].江苏农业科学,2015,43(5):209-211.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.070

# 盐碱胁迫下羊草抗氧化酶活性的变化

王鑫,朱悦,刘滨硕,包国章

(吉林大学环境与资源学院,吉林长春 130021)

**摘要:**对松嫩平原不同盐碱胁迫下羊草的叶片和根茎中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性进行测定。结果表明,随着盐碱胁迫程度的加重,春季(5月),羊草叶片和根茎SOD活性逐渐升高,CAT活性先降低后升高,POD活性逐渐降低;夏季(7月),叶片SOD、CAT、POD活性增大,根茎中的SOD、POD活性呈先升高后降低趋势,CAT活性则逐渐升高;秋季(9月),SOD、POD活性呈波动变化,CAT活性呈先降低后升高趋势。除根茎的SOD活性以外,其他酶活性在秋季出现最低值。根茎中的SOD、CAT、POD活性在3个时期均高于叶片。不同盐碱胁迫下,羊草SOD、POD、CAT活性在不同时期均变化显著( $P < 0.05$ )。

**关键词:**羊草;盐碱胁迫;抗氧化酶活性;季节;叶片;根茎

**中图分类号:** Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)05-0209-03

土地盐碱化是现今人类面临的生态危机之一。土壤的盐化与碱化往往相伴而生,其生态破坏力也较单独的盐化更大,盐碱胁迫是退化草地实际面临的主要问题之一<sup>[1]</sup>。羊草(*Leymus chinensis*)为多年生根茎型禾本科牧草,广泛分布于我国新疆、内蒙古和东北等地,是松嫩平原盐碱化草地上的优势物种,具有耐盐碱性强、无性繁殖能力强、生产力高、耐干旱等生物生态学特性<sup>[2-3]</sup>。在逆境胁迫条件或环境下,植物在自身新陈代谢过程中,体内会产生大量活性氧,这类物质在植物体内如不能及时清除,将会对植物的生长发育产生严重的毒害作用,如相关酶活性被抑制、细胞膜稳定性被破坏等<sup>[4]</sup>。植物为了维持正常的生长,通过抗氧化酶系统对活性氧进行清除<sup>[5]</sup>。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)是抗氧化酶系统中控制植物体内活性氧积累最主要的酶<sup>[6]</sup>。SOD是植物抗氧化的第一道防线,能清除细胞中多余的超氧阴离子,将其歧化为 $H_2O_2$ 和 $O_2$ ;在CAT和POD的催化下,可以使 $H_2O_2$ 转化成无毒害的 $H_2O$ 和 $O_2$ <sup>[7]</sup>。它们之间相互协调,清除氧自由基,进而保护酶系统不受破坏<sup>[8]</sup>,因此抗氧化酶系统的活性变化是反映植物抗逆性大小的最主要参数之一。本研究以松嫩平原不同盐碱化草地的羊草为研究对象,探讨不同生长期羊草叶片和根茎中抗氧化酶活性的动态变化,为进一步揭示羊草耐盐碱特性提供理论依据,同时对利用盐生牧草改良盐碱地具有实际意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料采集区域

收稿日期:2014-12-12

基金项目:国家自然科学基金(编号:30570269、31070286、31270367)。

作者简介:王鑫(1988—),男,吉林长春人,硕士研究生,主要从事草地生态学研究。E-mail:goatenzny@163.com。

通信作者:包国章,博士,教授,主要从事草地生态学研究。E-mail:baogz@jlu.edu.cn。

松嫩平原是东北平原的主体部分,地理位置为 $121^{\circ}30' \sim 127^{\circ}00' E$ , $43^{\circ}30' \sim 48^{\circ}40' N$ 。研究地点位于吉林省前郭县饲草储备站,地理位置为 $44^{\circ}56'48.9''N$ 、 $124^{\circ}26'22.1''E$ ,海拔144 m。该地区年平均气温 $4.5^{\circ}C$ ,最低气温 $-36.2^{\circ}C$ ,最高气温 $36.8^{\circ}C$ ;年平均降水量400~500 mm,蒸发量1500~2000 mm,无霜期136~163 d。土壤为碱化栗钙土,肥力中等<sup>[9]</sup>;土壤碱化度大,pH值多高于9。表层土壤含盐量一般为0.4%~1.0%,10~15 cm以下为碱化层,盐分有所增加,松嫩草地土壤内含有大量的氯化钠、硫酸钠、碳酸钠和碳酸氢钠<sup>[10]</sup>。此地植被以羊草为主,混生有少量其他植物。羊草每年4月上旬返青,10月初地上部分枯萎。

### 1.2 研究方法

1.2.1 样本采集 取样时间为2014年5月22日、7月26日、9月29日,各取样1次。以碱斑与草丛交界处为基准,由碱斑边缘向草丛内部依次选取5个不同盐碱梯度的样地,编号依次为A5至A1,即盐碱梯度逐渐降低,每个梯度取5个平行样本。在每个盐碱梯度内,挖取长、宽、深分别为0.625、0.100、0.200 m的样方,取出羊草植株,装入塑料袋中,标记后装入低温储存箱中保存,运回实验室后对样本进行处理,将叶片和根茎分别装入自封袋后用液氮冷冻,并放入 $-70^{\circ}C$ 的超低温冰箱保存备用。土壤样本取自各梯度距地面5~15 cm处的土层,各平行样本取相同质量土壤混合,装入自封袋中标记后运回实验室,将土壤样本放置在实验室内自然风干25 d。

### 1.2.2 酶活性测定

1.2.2.1 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 酶液提取:称取处理过的羊草样本0.5 g于预冷的研钵中,加1 mL 0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH值7.0~7.4),在冰水浴下研磨成浆,加缓冲液至5 mL,于3500~4000 r/min下离心10 min,上清液即为酶的粗提液。酶活性测定:采用南京建成生物工程研究所生产的超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒进行测定,测定结果为SOD的总比活力,单位为U/mg。

1.2.2.2 过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性测定

酶液提取:准确称取样本 0.5 g,按质量:体积=1 g:9 mL 的比例加入 4.5 mL 生理盐水,冰水浴下研磨,制成组织匀浆,2 500 r/min 下离心 10 min,上清液即为酶的粗提液。酶活性测定:采用南京建成生物工程研究所生产的过氧化氢酶 (CAT) 试剂盒、过氧化物酶 (POD) 试剂盒进行活性测定,测定结果为酶的总比活力,单位为 U/mg。

表 1 不同样地的土壤 pH 值和电导率

月份	pH 值					电导率(μS/cm)				
	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5
5	8.38±0.04	8.70±0.04	9.61±0.05	10.21±0.03	10.85±0.04	345±3	647±11	1 068±13	1 490±9	1 850±10
7	8.01±0.09	8.61±0.04	9.29±0.05	9.71±0.04	10.21±0.03	243±8	287±7	351±4	415±6	535±7
9	8.95±0.03	9.16±0.04	9.37±0.05	9.82±0.01	10.68±0.03	132±8	183±4	305±7	412±3	527±5

1.2.2.4 数据分析 使用 Microsoft Excel 和 SPSS 软件进行图表的绘制和数据分析。

2 结果与分析

2.1 超氧化物歧化酶(SOD)活性

5 月和 7 月盐碱胁迫下,随着盐碱化程度加重,羊草叶片中的总 SOD 活性呈现逐渐增大趋势(图 1)。5 月,A2、A3 梯度和其他各梯度羊草叶片 SOD 活性差异显著( $P<0.05$ )。7 月叶片中的 SOD 活性总体上表现为逐渐增长的趋势,A4、A5 组叶片中的 SOD 活性差异不明显,但明显高于其他 3 组( $P<0.05$ )。不同盐碱梯度下的羊草叶片中的 SOD 活性随着生长时间的延长均呈现逐渐降低的趋势,9 月份各梯度下羊草叶片的 SOD 活性均为 3 个取样时期中的最低值。

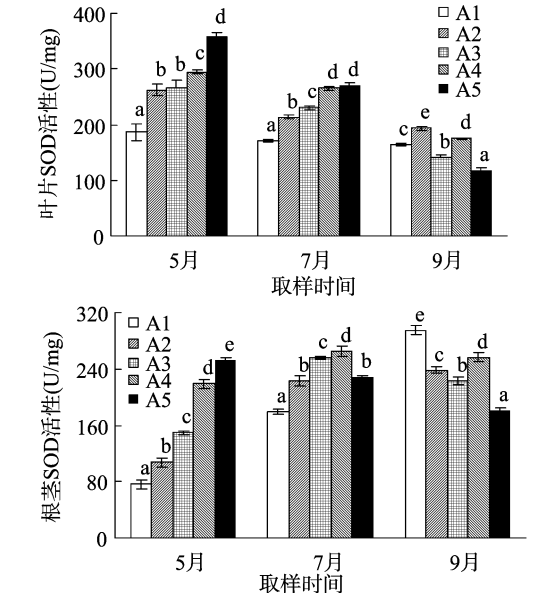


图 1 不同盐碱胁迫下羊草 SOD 活性的动态变化

羊草在返青期间根茎中的 SOD 活性随着盐碱化程度的增加逐渐增大(图 1),组间差异显著( $P<0.05$ )。7 月根茎中的 SOD 活性随着盐碱胁迫增强,表现为先增加后降低,A4 组 SOD 活性最大;9 月根茎中的 SOD 活性呈现波动趋势,除 A4 外,总体表现为逐渐降低。

2.2 过氧化氢酶 (CAT) 活性

3 个取样时期的羊草叶片中过氧化氢酶 (CAT) 活性随着

1.2.2.3 土壤 pH 值和电导率的测定 参照《土壤农化分析》(中国农业出版社出版),按 1 g:5 mL 的比例,称取土壤样品 8 g,加入双蒸水 40 mL,搅拌均匀后静置 30 min。pH 值使用梅特勒托利多 EL2 型便携式 pH 计测定。电导率的测定使用 DDS-11A 型电导率仪。不同样地的土壤 pH 值和电导率见表 1。

盐碱胁迫的增加逐渐增大(图 2)。5 月和 9 月叶片 CAT 活性均为先降低再升高,A2 组 CAT 活性最低。9 月羊草叶片中 CAT 活性明显低于 5 月和 7 月,为 3 个取样时期中最低,A1~A3 组间差异不显著,但显著低于其他 2 组。在 3 个取样时期中,A4 和 A5 的 CAT 活性高于其他 3 组。随着生长时间的延长,A1 和 A3 组羊草叶片 CAT 活性逐渐降低,A2、A4、A5 组则是先升高后降低。

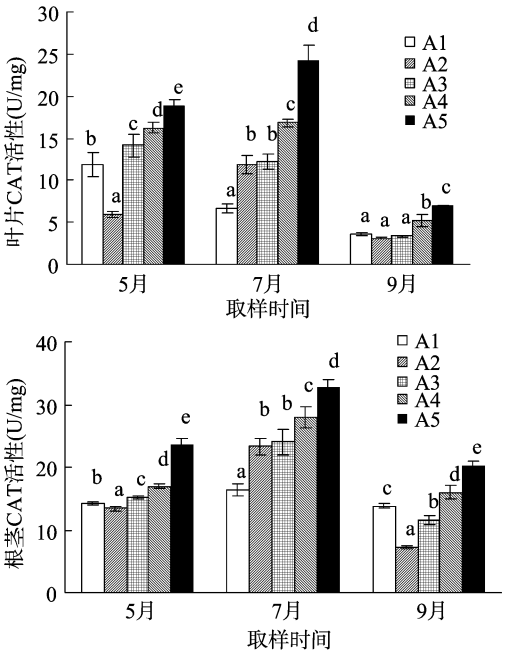


图 2 不同盐碱胁迫下羊草 CAT 活性的动态变化

5 月随着盐碱胁迫的加重,羊草根茎中 CAT 活性表现为先降低再升高( $P<0.05$ ),A2 组最小。7 月是羊草的生长旺季,根茎中的 CAT 活性随盐碱化加重而逐渐增大,并高于其他取样时期的 CAT 活性。9 月根茎 CAT 活性变化趋势与 5 月相同,A2 组 CAT 活性最小;但由于羊草生长进入衰退期,各梯度根茎 CAT 活性在 9 月出现最低值(图 2)。

2.3 过氧化物酶(POD)活性

在返青期,羊草叶片中的 POD 活性随着盐碱胁迫的加重而逐渐降低,且各梯度间的活性差异显著( $P<0.05$ );到了生长旺盛的 7 月,POD 活性随着盐碱化程度的加重逐渐增大;9 月末羊草进入衰退期,叶片中的 POD 活性呈波动变化,A5 组活性最大,各梯度 POD 活性为 3 个取样时期中的最低。A1~

A3 组随着生长时间的延长,羊草叶片中的 POD 活性逐渐降低,A4、A5 组 POD 活性在 7 月最高(图 3)。

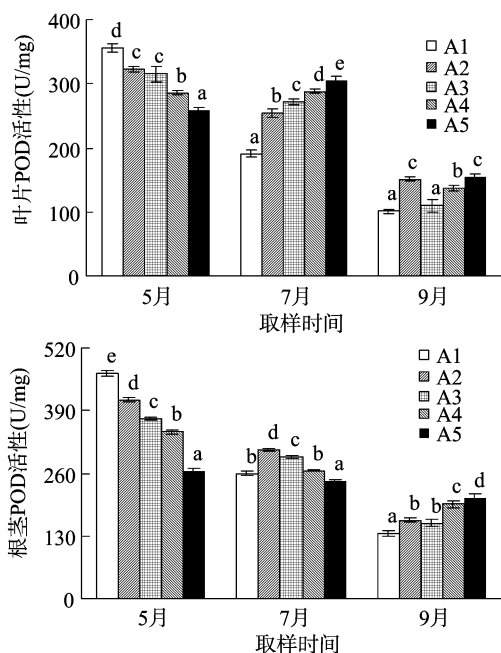


图3 不同盐碱胁迫下羊草 POD 活性的动态变化

羊草根茎中的 POD 活性变化与叶片中的相似,5 月 A1 至 A5 组活性逐渐降低,羊草根茎受环境影响较大,盐碱梯度的变化导致酶活性的差异较为显著 ( $P < 0.05$ )。7 月根茎 POD 活性随盐碱胁迫的加剧先上升后降低,A2 组最大。随着羊草生长时间的延长,各梯度的 POD 活性均呈下降趋势,9 月酶活性最低(图 3)。

### 3 讨论与结论

在盐碱胁迫下,羊草脂质发生过氧化作用,破坏了内膜系统的完整性,使其通透性变大,细胞器功能遭到破坏,生长受到抑制,抑制程度主要由盐碱胁迫的程度、植物的抗盐碱能力以及盐碱胁迫的时间决定<sup>[11-12]</sup>。在盐碱胁迫条件下,羊草为了维持正常生长,抗氧化酶系统被激活。研究结果表明,5 月随着盐碱胁迫的加重,羊草叶片和根茎 SOD 活性逐渐升高,CAT 活性先降低后升高,POD 活性逐渐降低。这主要是因为盐碱胁迫越大羊草生长越缓慢,导致 POD 的合成较少,大部分用来合成 SOD 以除去超氧离子为主,SOD 活性增加,将  $O_2^-$  歧化为  $H_2O_2$ ,增加的  $H_2O_2$  必须及时清除以减缓其对细胞的毒害<sup>[13-14]</sup>,此时 CAT 和 POD 作为重要的过氧化物清除剂在羊草体内发生作用,将  $H_2O_2$  转化为  $O_2$  和  $H_2O$ ,因此 POD 活性降低,这与克热木·伊力对阿月浑子的研究结果<sup>[15]</sup>相似。7 月降水量增加,相较 5 月盐碱胁迫有所减小,羊草进入生长旺盛期,随着盐碱胁迫的加重(A1 至 A5),叶片 SOD、CAT、POD 活性均逐渐增大,与崔喜艳等<sup>[16]</sup>、石连旋<sup>[10]</sup>的研究结果一致。同时,降雨使盐碱胁迫较之前减弱,根茎中 SOD 和 POD 活性先升高后降低,CAT 活性逐渐升高,表明 CAT 为主要抗氧化防御系统和过氧化氢清除剂,用以清除羊草内产生的过量  $H_2O_2$ 。9 月羊草进入衰退期,A1 至 A5 羊草 SOD 和 POD 活性呈波动变化,CAT 活性先降低再升高,除根

茎的 SOD 活性以外,酶活性为 3 个取样时期的最低值。羊草进入衰退期,根茎在长期胁迫下,细胞受到不可逆损伤,酶的合成受到抑制,此结果与刘会超等对三色堇的研究结果<sup>[17]</sup>相似。在羊草的生长周期中,羊草根茎的酶活性高于叶片,酶活性变化与叶片有所不同。在盐碱胁迫下,根部最先受到毒害,因此根茎中的抗氧化酶活性变化较叶片迅速,同时活性也要强于叶片<sup>[7,18]</sup>,这在本研究的 SOD、CAT、POD 活性测定结果中均有所体现。

### 参考文献:

- [1] 郑慧莹,李建东. 松嫩平原盐生植物与盐碱化草地的恢复[M]. 北京:科学出版社,1999:179-180.
- [2] 杨允菲,刘庚长,张宝田. 羊草种群年龄结构及无性繁殖对策的分析[J]. 植物学报,1995,37(2):147-153.
- [3] 王 萍,殷立娟,李建东. 中性盐和碱性盐对羊草幼苗胁迫的研究[J]. 草业学报,1994,3(2):37-43.
- [4] 张永志,赵首萍,徐明飞,等. Pb 胁迫对番茄幼苗抗氧化酶系统的影响[J]. 浙江农业科学,2009(3):452-456.
- [5] 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(5): 507-523.
- [6] 褚 妍,任 菲,赵贵林,等. 渗透胁迫对植物抗氧化酶影响的研究进展[J]. 安徽农业科学,2011,39(3):1300-1302.
- [7] 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.
- [8] 刘慧芬,高玉葆,史铭均. 不同种群羊草幼苗保护酶系统对干旱的反应及其生理生态适应[J]. 农业环境科学学报,2003,22(6):641-646.
- [9] Bao G Z, Guan S C, An P P. The effect of alkali-saline stress on the growth of rhizome of *Aneurolepidium chinensis* [C]. 2011 Second International Conference on Mechanic Automation and Control Engineering, 2011:2703-2706.
- [10] 石连旋. 松嫩不同盐碱化羊草草甸草原羊草光合及逆境生理生态特性研究[D]. 长春:东北师范大学,2007.
- [11] 翁森红,李维炯,刘玉新,等. 关于植物的耐盐性和抗盐性的研究[J]. 内蒙古科技与经济,2005(10):15-17.
- [12] 郝建军,唐宗利. 植物生理学[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- [13] 鲁 萍,桑卫国,马克平. 外来入侵种飞机草在不同环境胁迫下抗氧化酶系统的变化[J]. 生态学报,2006,26(11):3578-3585.
- [14] Scot M D, Meshnick S R, Eaton J W. Superoxide dismutase-rich bacteria: Paradoxical increase in oxidant toxicity[J]. Biol Chem, 1987, 262:3640-3645.
- [15] 克热木·伊力,袁 琳,齐曼·尤努斯,等. 盐胁迫对阿月浑子 SOD、CAT、POD 活性的影响[J]. 新疆农业科学,2004,41(3):129-134.
- [16] 崔喜艳,刘中野,郭继勋,等. 不同盐碱草地羊草叶片渗透调节物质含量和抗氧化酶活性的比较[J]. 中国草地科学,2012,34(5):40-46.
- [17] 刘会超,贾文庆,朱婷婷. 盐胁迫对三色堇 CAT、POD 活性及细胞质膜透性的影响[J]. 河南农业科学,2010(4):98-100.
- [18] Jiang L, Yang H. Prometryne-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes in wheat [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2009, 72(6):1687-1693.