

苑智华. 外源水杨酸对东方百合西伯利亚瓶插过程中抗氧化系统的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(12): 213–215.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.067

外源水杨酸对东方百合西伯利亚瓶插过程中抗氧化系统的影响

苑智华

(乌兰察布职业学院, 内蒙古集宁 012000)

摘要:采用 0.5、1.0、1.5 mmol/L 水杨酸(SA)对东方百合西伯利亚(*Lilium Siberia*)进行瓶插处理。结果表明:与清水对照相比,各个浓度水杨酸处理对西伯利亚叶片中抗氧化酶活性均产生明显影响,其中超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性明显升高,过氧化氢酶(CAT)活性降低,抗坏血酸氧化酶(APX)活性因水杨酸浓度不同而表现不同,1.0 mmol/L 水杨酸处理能提高 APX 活性;可溶性蛋白含量在瓶插过程中一直增加,且高于对照;丙二醛(MDA)含量在 1.0 mmol/L 处理下明显低于其他 2 个处理,但与对照无明显差异。可见水杨酸抑制了超氧阴离子的产生,并在瓶插 2 d 时促进过氧化氢的累积。

关键词:东方百合;西伯利亚;切花;水杨酸;抗氧化酶

中图分类号: S682.2+90.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)12-0213-03

水杨酸(salicylic acid, SA)是一种广泛存在于高等植物体内的酚类物质,也常作为一种小分子信号物质介导植物产生系统获得性抗性,以及在植物遭受逆境胁迫(高温、冷冻、干旱等)时,提高植株抗性^[1]。切花采后由于处于离体条件,植株开始衰老,体内积累大量活性氧(ROS)。当植物体内活性氧的产生与清除无法达到平衡时,ROS 攻击生物分子,造成膜系统破坏、蛋白质变性、DNA 严重损伤等,即发生氧化胁迫^[2]。本试验通过对百合切花瓶插液添加水杨酸的处理,研究其对百合植株内抗氧化系统的影响,探索水杨酸对百合切花瓶插寿命的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

2014 年 5 月,于莱泰花卉市场购买东方百合杂种系(oriental hybrids)西伯利亚(英文名 Siberia),选择花蕾初放、叶片鲜绿无损伤的鲜切花作为试验材料。

1.2 方法

水杨酸为分析纯,用沸水溶解后,再用 1 mol/L 的 NaOH 调节 pH 值为 6.8~7.0,配成 100 mmol/L 母液,使用时稀释成所需要的浓度。

取刚开放的东方百合西伯利亚 40 枝,分别用清水作对照,0.5、1.0、1.5 mmol/L 水杨酸作为瓶插液处理,每个处理 10 枝,重复 3 次。分别在瓶插 2、4 d 取百合叶片作为试验材料,液氮保存备用。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸氧化酶(APX)活性参照 Rao 等方法^[3]稍

作改动,即取 0.5 g 材料加入 2 mL 提取缓冲液(pH 值 7.8 50 mmol/L 磷酸缓冲液,1% PVP,1 mmol/L 维生素 C,2 mmol/L EDTA),液氮研磨,匀浆后于 12 000 r/min、4 ℃ 下离心 20 min,取上清液为酶提取液。超氧阴离子、过氧化氢含量测定参照汤章城方法^[4],蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法,丙二醛(MDA)含量测定采用 TBA 显色法^[4]。各项指标重复 3 次,所得数据均采用 Microsoft Excel 软件进行分析并作图。

2 结果与分析

2.1 水杨酸对百合瓶插过程中过氧化氢和超氧阴离子产生的影响

由图 1 可见,水杨酸处理的百合植株在瓶插 2 d 时,叶片中过氧化氢含量随着水杨酸浓度的升高而升高,1.5 mmol/L 水杨酸处理的百合叶片中,过氧化氢含量是对照的 1.2 倍;瓶插 4 d 后,低浓度水杨酸处理(0.5 mmol/L 水杨酸)仍然促进过氧化氢的累积,但较高浓度(1.0、1.5 mmol/L 水杨酸)处理却降低了过氧化氢的含量。总体上看,水杨酸抑制了超氧阴离子的产生,但 0.5 mmol/L 水杨酸处理的百合在瓶插 4 d 后,超氧阴离子含量有所上升;瓶插 2、4 d 百合在超氧阴离子的含量来看,后期植株中超氧阴离子含量较高,几乎为前期的 2 到 4 倍。

2.2 水杨酸对百合抗氧化酶活性的影响

水杨酸处理对百合抗氧化酶 SOD、POD、CAT、APX 的活性产生影响,在瓶插过程中这些酶的活性随着水杨酸处理浓度的不同存在一些差异。

由图 2-a、图 2-b 可知,水杨酸能明显提高百合瓶插过程中 SOD、POD 活性。其中,瓶插 2 d 后 1.0 mmol/L 水杨酸处理的百合叶片中 SOD、POD 活性分别是对照的 3.36、9.89 倍;瓶插 4 d 后 SOD、POD 活性分别是对照的 1.85、5.22 倍。

水杨酸能明显抑制百合瓶插过程中 CAT 活性,特别是在

收稿日期:2015-05-12

基金项目:国家自然科学基金(编号:30471221)。

作者简介:苑智华(1982—),女,内蒙古乌兰察布人,硕士,讲师,从事植物生理、病理研究。E-mail: yzh379379@sohu.com。

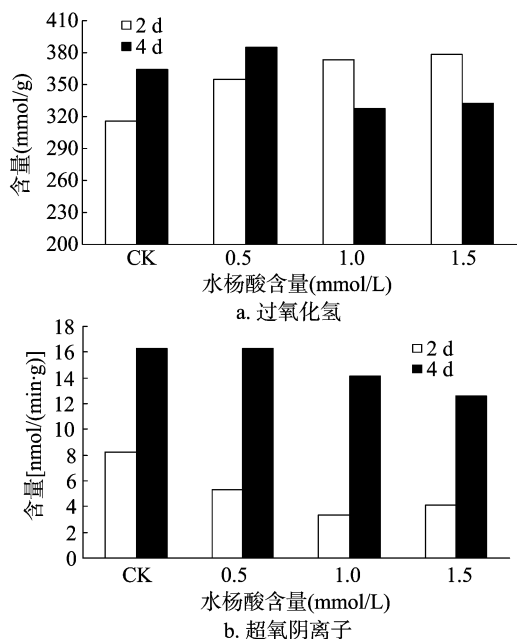


图1 水杨酸对瓶插过程中百合植株过氧化氢和超氧阴离子含量的影响

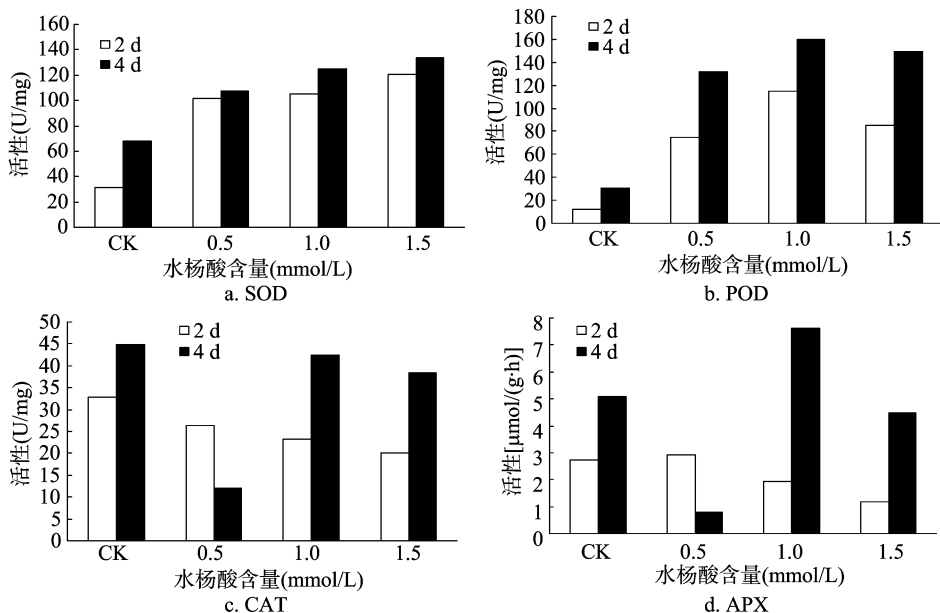


图2 水杨酸对瓶插过程中百合植株 SOD、POD、CAT、APX 活性的影响

3 讨论

3.1 水杨酸对过氧化氢和超氧阴离子产生的影响

百合在正常生长条件下通常以较低的速率产生活性氧,但采切以后活性氧产生速率加快,体内抗氧化系统来不及清除过量的活性氧,从而导致胞质蛋白、DNA 的损伤和脂类过氧化,使瓶插寿命降低。

活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 泛指那些代谢中产生还原氧原子、但其化学性质比氧原子更活泼的氧的衍生物。活性氧主要包括 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 、 H_2O_2 、 1O_2 , 它们的产生几乎涉及需氧生物生化反应的主要领域,尤其是在植物细胞的叶绿体、线粒体中 ROS 更易产生^[5]。超氧阴离子是活性氧的一

种,产生后主要由 SOD 将其歧化为过氧化氢和水。本试验中,水杨酸处理后百合超氧阴离子含量比对照低,可能是由于水杨酸诱导 SOD 活性升高的原因。过氧化氢产生后能在细胞中存在较长时间,且可以跨膜扩散^[6-7]。郁松林认为,过氧化氢含量的升高是对高温逆境的一种防御反应,过氧化氢的积累可以诱导抗氧化系统活性的增强^[8],本试验中水杨酸处理在瓶插前期显著促进了过氧化氢的累积,产生的过氧化氢可能也起到了激活植株体内抗氧化系统的作用。

2.3 水杨酸对百合可溶性蛋白及丙二醛含量的影响

经水杨酸处理后的百合植株在瓶插过程中可溶性蛋白含量总体呈上升趋势,瓶插 4 d 后蛋白含量在 2 d 的基础上仍有升高,其中 1.0 mmol/L 水杨酸处理的植株蛋白含量升高最明显,是对照的 1.7 倍 (图 3-a)。不同浓度水杨酸处理对丙二醛含量变化呈现较大差异,其中 1.0 mmol/L 水杨酸处理的植株丙二醛含量一直处于较低水平,而且瓶插 4 d 后丙二醛含量仅为对照的 64%;但 0.5、1.5 mmol/L 水杨酸处理明显促进了丙二醛的累积,特别是瓶插 2 d 时,1.5 mmol/L 水杨酸处理的植株中丙二醛含量是对照的 3.12 倍 (图 3-b)。

种,产生后主要由 SOD 将其歧化为过氧化氢和水。本试验中,水杨酸处理后百合超氧阴离子含量比对照低,可能是由于水杨酸诱导 SOD 活性升高的原因。过氧化氢产生后能在细胞中存在较长时间,且可以跨膜扩散^[6-7]。郁松林认为,过氧化氢含量的升高是对高温逆境的一种防御反应,过氧化氢的积累可以诱导抗氧化系统活性的增强^[8],本试验中水杨酸处理在瓶插前期显著促进了过氧化氢的累积,产生的过氧化氢可能也起到了激活植株体内抗氧化系统的作用。

3.2 水杨酸对抗氧化酶活性影响

SOD 可催化超氧阴离子生成过氧化氢和水,再由 POD、CAT、APX 等联合清除多余的过氧化氢。在本试验中发现,与对照相比,不同浓度的外源水杨酸均能显著提高百合叶片中

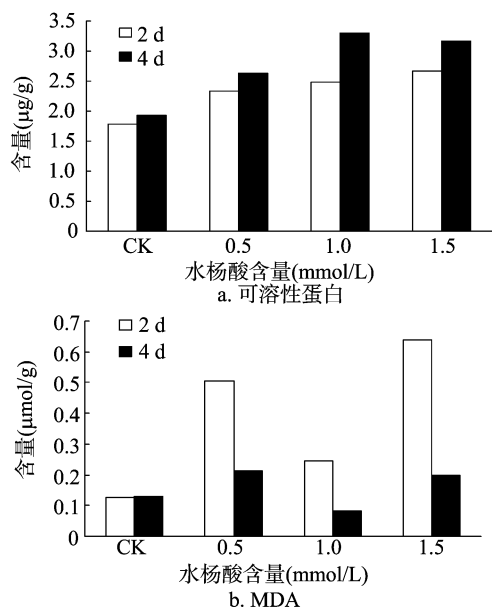


图3 水杨酸对瓶插过程中百合植株可溶性蛋白和 MDA 的含量的影响

SOD、POD 的活性,但 1.0 mmol/L 的水杨酸处理比 0.5、1.5 mmol/L 的水杨酸处理 SOD、POD 活性都要高。由于 SOD 在植物抗氧化酶中居于核心地位^[9],所以水杨酸对 SOD 的促进作用能显著提高百合的抗氧化能力。本试验中,POD 在水杨酸处理后活性显著升高,可能对清除活性氧、保护细胞起到重要作用。CAT 是一类含有血红素辅基的四聚体酶,它通过催化过氧化氢转变为水和氧气,从而使需氧生物体免受过氧化氢的毒害。本试验中,外源水杨酸对 CAT 活性有明显的抑制作用,而且少量的水杨酸就能抑制 CAT 的活性,所以各个浓度的水杨酸处理后,CAT 活性均比对照低。水杨酸对 CAT 的这种抑制作用可能直接导致了过氧化氢的累积,从而诱导植物对氧化胁迫作出响应。从图 1 和图 3 中可以看出,瓶插 2 d 时用不同浓度水杨酸处理后,植株过氧化氢含量随浓度的增加而升高,而 CAT 活性则随浓度的增加而降低,二者呈负相关,说明 CAT 对清除植株体内的过氧化氢有重要作用。在抗氧化系统中,APX 对过氧化氢的亲合力比 CAT 对过氧化氢的亲合力大得多^[10]。王利军等在葡萄上的研究表明,水杨酸能提高 APX 活性^[1],在不同植物上的关于水杨酸对 APX 活性的影响有不同报道^[11-12]。本研究发现,APX 活性与水杨酸浓度有一定关系,适宜浓度的水杨酸处理能提高其活性,而较高、较低的水杨酸处理均抑制其活性。这种抑制作用可能是因为 APX 是一种金属酶,水杨酸能与 APX 中的铁离子络合从而改变 APX 的空间构型,造成酶活性降低^[13]。

3.3 水杨酸对可溶性蛋白及丙二醛的影响

可溶性蛋白质属于非酶促防御系统,瓶插过程中对照和水杨酸处理的百合在瓶插过程中叶片内可溶性蛋白含量都随着瓶插时间的增长而增加,水杨酸处理后叶片中蛋白含量高于对照。可溶性蛋白的积累可能是因为水杨酸延缓或减少了植株体内 RNA 的降解^[14]。可溶性蛋白含量是植物生理研究中的重要指标,它代表胞液的浓度及组织代谢的水平,反映组织生理活性的高低,水杨酸处理增强非酶促防御系统的能力

维持了百合组织正常生理活动,从而增加瓶插寿命。

丙二醛是膜脂过氧化的产物,是公认的氧化胁迫指标。水杨酸能影响到 SOD、POD、CAT、APX 等抗氧化酶的活性也必将影响 MDA 的含量。1.0 mmol/L 水杨酸处理能降低百合瓶插过程中 MDA 的含量,但 0.5、1.5 mmol/L 水杨酸处理显著促进了丙二醛的累积。可能是低浓度的水杨酸不足以提高抗氧化系统的活性,而高浓度的水杨酸本身就对细胞膜产生伤害。

由此可以推测,SOD、POD 在整个瓶插过程中发挥清除活性氧、保护植株、延缓植株衰老的主要作用,而 CAT、APX 在后期开始发挥作用。总体来看,1.0 mmol/L 水杨酸处理对延长百合切花瓶插寿命效果最佳。

参考文献:

- [1] 王利军,黄卫东,战吉成. 水杨酸和高温锻炼与葡萄抗热性及抗氧化的关系[J]. 园艺学报,2003,30(4):452-454.
- [2] Elstner E F. Mechanisms of oxygen activation in different compartments of plant cells[M]//Pelland E J,Steffen K L. Active oxygen/oxidative stress and plant metabolism. Rockville:American Society of Plant Physiologists,1991:13-25.
- [3] Rao M V,Watkins C B,Brown S K,et al. Active oxygen species metabolism in 'White Angel' × 'Rome Beauty' apple selections resistant and susceptible to superficial scald[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science,1998,123(2):299-304.
- [4] 汤章城. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京:科学出版社,2000:394-397.
- [5] 王子华. GSH 改善月季切花失水胁迫耐性及其对抗氧化酶活性的影响[D]. 北京:中国农业大学,2005.
- [6] Allan A C,Fluhr R. Two distinct sources of elicited reactive oxygen species in tobacco epidermal cells[J]. The Plant Cell,1997,9(9):1559-1572.
- [7] Alvarez M E,Pennell R I,Meijer P J,et al. Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity[J]. Cell,1998,92(6):773-784.
- [8] 郁松林. 水杨酸在葡萄高温胁迫过程中的信号作用及与蛋白质磷酸化关系的研究[D]. 北京:中国农业大学,2004.
- [9] Elstner E F. Mechanisms of oxygen activation in different compartments of plant cells[J]. American Society of Plant Physiologists,1991:13-25.
- [10] 沈文飏,徐朗莱,叶茂炳. 水杨酸诱导植物抗病性的新进展[J]. 生物化学与生物物理进展,1999,26(3):44-47.
- [11] 杜朝昆,李忠光,龚明. 水杨酸诱导的玉米幼苗适应高温和低温胁迫的能力与抗氧化酶系统的关系[J]. 植物生理学通讯,2005,41(1):19-22.
- [12] Ananieva E A,Christov K N,Popova L P. Exogenous treatment with salicylic acid leads to increased antioxidant capacity in leaves of barley plants exposed to paraquat[J]. Journal of Plant Physiology,2004,161(3):319-328.
- [13] 吴楚. 低温胁迫条件下外源水杨酸和植物凝集素对水曲柳幼苗生理的影响[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2001.
- [14] 徐勤松,施国新,杜开和. 镉胁迫对水车前叶片抗氧化酶系统和亚显微结构的影响[J]. 农村生态环境,2001,17(2):30-34.