

低温胁迫下弓葵幼苗膜脂过氧化及保护酶活性的变化

杨盛昌¹ 谢潮添¹ 张平¹ 陈德海¹ 丁印龙² 廖启^{1,2}

(¹ 厦门大学生命科学学院, 厦门 361005; ² 厦门园林植物园, 厦门 361003)

摘要: 低温胁迫下弓葵 (*Butia capitata* Becc) 幼苗叶片的 MDA 含量逐渐增加, 膜脂过氧化作用增强。-8℃ 条件下的膜脂过氧化作用明显强于 2℃。细胞膜透性在 2℃ 条件下变化不大, -8℃ 时则随低温胁迫时间延长而急剧上升, 细胞膜受到伤害。-8℃ 胁迫下细胞保护酶 SOD、POD 和 CAT 活性短期 (6 h) 内升高, 然后下降, 24 h 以后 3 种保护酶受到低温胁迫的严重抑制。在 2℃ 胁迫下, SOD 活性在 6 h 内变化不大, 随后下降; CAT 活性变化趋势与 -8℃ 时相似, 但变化幅度较小; POD 虽也呈现先升后降的趋势, 但降幅明显小于升幅, 至 48 h 时 POD 活性仍维持较高水平。2℃ 低温胁迫不是抑制而是促进 POD 活性的提高。

关键词: 弓葵; 低温胁迫; 膜脂过氧化; 保护酶

中图分类号: S 68 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2003) 01-0104-03

1 目的、材料与方方法

弓葵 (*Butia capitata* Becc) 又称为布迪椰子, 属棕榈科 (*Palmae*) 弓葵属 (*Butia*), 原产于热带地区, 具有较高的观赏价值。目前有关弓葵等棕榈植物抗寒生理学研究的报道还很少。本试验研究了低温胁迫下弓葵幼苗叶片膜脂过氧化作用及超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 等保护酶系统的变化, 为阐明弓葵等棕榈植物抗寒机制及北移引种栽培提供依据。

供试材料为厦门市园林植物园的半年龄盆栽弓葵幼苗, 每盆 3~4 株, 平均株高 32.5 cm, 生长良好。培养基质为蛭石土并添加少量腐殖质。2001 年 4 月 28 日取 20 盆弓葵幼苗分成两组, 分别置 2℃ 冰箱和 -8℃ 冰柜中进行 3、6、12、24 和 48 h 低温胁迫处理 (厦门地区极端低温约为 2℃, 引种地的极端低温约为 -8℃)。处理期间未加光周期处理 (自然状态)。定期移出两盆幼苗, 立即取 2 g 叶片, 剪碎, 加入 10 mL 62.5 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.8) 冰浴研磨, 15 000 g 4℃ 离心 20 min, 转移上清液用于丙二醛 (MDA) 含量^[1], SOD^[2]、POD^[1]和 CAT^[3]酶活性, 可溶性蛋白质^[4]含量和相对电导率^[5]的测定。3 d 后观察幼苗生长状况。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下 MDA 含量的变化

MDA 是膜脂过氧化作用的终产物, 也是反映细胞膜系统受害的重要指标。不同低温胁迫下, 弓葵幼苗叶片 MDA 含量随胁迫时间延长而上升, 其中 -8℃ 胁迫下 MDA 含量的变化幅度高于 2℃ 胁迫处理 (t 检验, 差异极显著), 表明细胞膜脂过氧化作用增强, 膜系统受害加重 (图 1)。

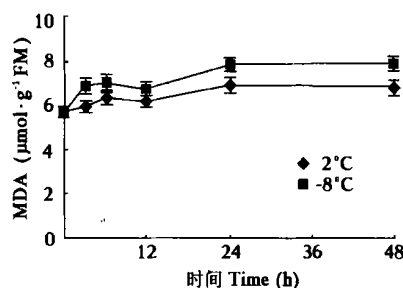


图 1 低温胁迫下弓葵幼苗叶片 MDA 含量的变化
Fig. 1 Changes of malondialdehyde (MDA) content in leaves of *Butia capitata* seedling under low temperature stress

收稿日期: 2002 - 04 - 03; 修回日期: 2002 - 06 - 05

基金项目: 国家建设部和厦门市建委资助项目

2.2 低温胁迫下相对电导率的变化

如图 2 所示, 2 低温胁迫处理 3 h, 相对电导率略有增高, 但随后无显著变化。而在 -8 低温胁迫下, 相对电导率随着胁迫时间延长而剧烈增大, 至 48 h 达到 62.80%。相对电导率的大幅度增加, 是细胞膜透性发生不可逆变化的结果, 说明细胞膜受到伤害^[6]。对不同胁迫下盆栽弓葵幼苗复温后第 3 天的形态观察也表明, 2 低温胁迫下弓葵幼苗生长状况无明显改变; 而 -8 低温胁迫处理 12 h, 弓葵幼苗顶芽已冷冻坏死, 部分成熟叶片明显干枯。胁迫处理 24 h 后均枯死。

2.3 低温胁迫下细胞保护酶系统的变化

2 低温胁迫处理 6 h 时, 弓葵幼苗叶片 SOD 活性变化不大, 随后呈现明显下降趋势。而 -8 低温胁迫处理 6 h 时, SOD 活性剧增至最大, 12 h 后, SOD 活性开始迅速下降 (图 3), 说明低温胁迫明显抑制 SOD 活性。

在两种低温胁迫下, POD 活性均呈现先升后降的变化趋势, 即低温胁迫处理 6 h 时, POD 活性迅速增至最高, 然后开始下降; 12 h 后下降趋势变缓。其中 2 低温胁迫下 POD 活性比处理前高, 而 -8 胁迫下已降至处理前之下, 因此 2 低温胁迫在 48 h 以内对 POD 活性起到促进作用 (图 3)。

在低温胁迫下, CAT 活性也呈现出先升后降的变化趋势 (图 3)。低温处理 6 h, CAT 活性升至最高; 然后, 随低温处理时间延长, CAT 活性逐渐降低, 在 -8 条件下的变化幅度比在 2 条件下大。

在细胞保护酶系统中, SOD 的作用是清除超氧自由基 $O_2^{\cdot-}$, 同时产生歧化产物 H_2O_2 , 避免超氧自由基对膜的伤害。低温胁迫初期, SOD 活性的上升可能是弓葵幼苗对低温胁迫因子的一种保护性应激反应, 与 SOD 作用底物活性氧基增加有关。低温胁迫时间延长, SOD 活性下降, 表明低温胁迫对 SOD 酶产生伤害。

POD 和 CAT 主要是起到酶促降解 H_2O_2 的作用, 避免因 H_2O_2 的过量积累导致毒性更大的 OH 含量增加而对细胞膜产生伤害。在 2 轻度胁迫强度下, POD 活性经过初期升高后而下降, 但仍维持在较高水平, 这应是弓葵幼苗对 2 低温胁迫的主动适应方式之一; 而在 -8 高度胁迫强度下, POD 活性在 24 h 后已降至低温处理前以下, 可能与叶片中的 POD 自身遭受破坏有关。在低温胁迫条件下, CAT 活性也是初期增高然后下降, 不过在 -8 时的变化幅度要大于 2 时。

综上所述, 弓葵幼苗能够在持续 48 h 的 2 低温胁迫下存活, 而在 -8 低温胁迫条件下, 持续

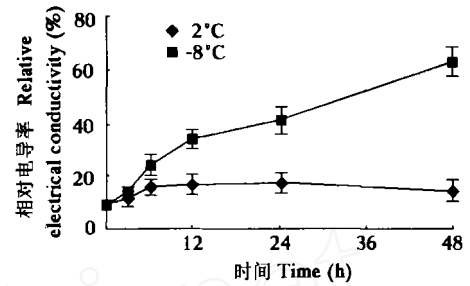


图 2 低温胁迫下弓葵幼苗叶片相对电导率的变化
Fig. 2 Changes of relative electrical conductivity in leaves of *Butia capitata* seedling under low temperature stress

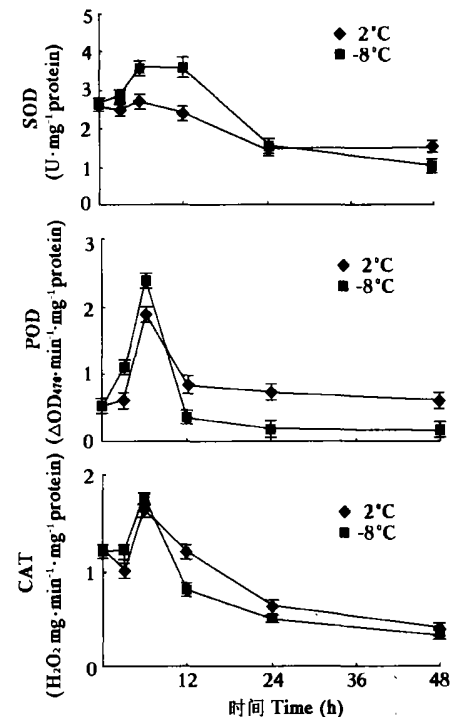


图 3 低温胁迫下弓葵幼苗叶片 SOD、POD 和 CAT 活性的变化
Fig. 3 Changes of SOD, POD and CAT activity in leaves of *Butia capitata* seedling under low temperature stress

时间超过 24 h 时, 弓葵幼苗受到严重伤害而死亡, 即弓葵幼苗的低温致死临界值为 - 8 ℃ 24 h。因此, 在北移引种过程中, 必须通过改变小环境或通过抗寒锻炼提高抗寒力等措施以避免低温胁迫的致死影响, 提高成活率。

参考文献:

- 1 刘祖祺, 张石诚. 植物抗性生物学. 北京: 中国农业出版社, 1990. 370 ~ 372
- 2 Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dimutase . Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. *Plant Physiol.* , 1977, 59: 315 ~ 318
- 3 山东农学院, 西北农学院. 植物植物生理学实验指导. 济南: 山东科技出版社, 1980. 109 ~ 114
- 4 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* , 1976, 72: 248 ~ 254
- 5 杨盛昌, 林 鹏. 海岸红树林抗低温适应的生态学研究. *植物生态学报*, 1998, 22: 60 ~ 67
- 6 潘瑞炽, 董愚得. 植物生理学. 第 3 版. 北京: 高等教育出版社, 1995. 374

Changes in Membrane Lipid Peroxidation and Activities of Cell Defense Enzyme in Leaves of *Butia capitata* Becc Seedling under Low Temperature Stress

Yang Shengchang¹, Xie Chaotian¹, Zhang Ping¹, Chen Dehai¹, Ding Yinlong², and Liao Qiliao²

(¹Life Science College, Xiamen University, Xiamen 361005, China; ²Xiamen Botanical Garden, Xiamen 361003, China)

Abstract: Under low temperature stress, as a product of membrane lipid peroxidation, malondialdehyde (MDA) content in leaves of *Butia capitata* seedling gradually increased with elongation of stress time and stress intensity. Membrane lipid peroxidation raised more quickly under - 8 ℃ than that under 2 ℃. As for membrane permeability, there was only a little change under 2 ℃, but it showed a sharp increase under - 8 ℃, indicating that cell membrane suffered severe damage after 24 h of - 8 ℃. Cell defense enzymes SOD, POD and CAT activity raised immediately in 6 h and then decreased under - 8 ℃. They were severely inhibited by low temperature stress. Under 2 ℃, SOD activity had little change in 6 h, and then decreased. CAT activity had a similar trend with that under - 8 ℃, but it changed by a lower range. Though POD activity also took a trend of increasing firstly and then decreasing, POD activity maintained a high level until 48 h, it gave us a hint that 2 ℃ low temperature stress probably could not inhibit, but promote POD activity in 48 h for leaves of *Butia capitata* seedling.

Key words: *Butia capitata* Becc seedling; Low temperature stress; Membrane lipid peroxidation; Cell defense enzyme

新书推荐

基因工程原理 (第二版) 上、下册 吴乃虎著译

本书由科学出版社出版。全书共十二章, 分上下两册, 书末附有基因工程名词术语解释及索引。

上册: 一至六章 (基因与基因工程、基因操作的主要技术原理、基因克隆的酶学基础、基因克隆的质粒载体、噬菌体载体和柯斯载体、基因的分离与鉴定)。定价 58 元 (含邮费)。

下册: 七至十二章 (基因的表达与调节、真核基因在大肠杆菌中的表达、植物基因工程、哺乳动物基因工程、重组 DNA 与现代生物技术、重组 DNA 与医学研究)。定价 78 元 (含邮费)。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。