

## 研究报告

## Research Report

# 喀斯特石生反叶扭口藓活性氧代谢对干旱胁迫的动态响应

张显强<sup>1,2,3</sup> 王世杰<sup>1\*</sup> 孙敏<sup>3</sup>

1 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵阳, 550002; 2 安顺学院, 安顺, 561000; 3 西南大学生命科学学院 / 三峡库区生态环境与生物资源省部共建国家重点实验室, 重庆, 400715

\* 通讯作者, wangshijie@vip.skleg.cn

**摘要** 本文研究了喀斯特石面常见植物反叶扭口藓(*Barbula fallax* Hedw.)在干旱胁迫下活性氧代谢的变化。结果显示:早期干旱超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性以及类胡萝卜素(Car)活性逐渐升高,胁迫后期活性下降;超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)、丙二醛(MDA)和可溶性蛋白含量呈现出先升后降的趋势;质膜相对透性呈现出“抛物线”的变化。干旱胁迫早期由于 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 等活性氧的增加而启动活性氧清除系统进行清除,是抵御干旱的一种协同反应;后期反叶扭口藓依然保持较强的自由基清除能力,具有极强的耐旱能力。

**关键词** 喀斯特石漠化, 反叶扭口藓, 活性氧代谢, 干旱胁迫

## Dynamic Responses of Active Oxygen Metabolism of *Barbula fallax* in Rock Desertification of Karst Areas to Drought Stress

Zhang Xianqiang<sup>1,2,3</sup> Wang Shijie<sup>1\*</sup> Sun Min<sup>3</sup>

1 State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang, 550002; 2 Anshun University, Anshun, 561000; 3 School of Life Science, Southwest University/State Key Laboratory Breeding Base of Eco-environments and Bio-resources of the Three Gorges Reservoir Region, Chongqing, 400715

\* Corresponding author, wangshijie@vip.skleg.cn

DOI: 10.13417/j.gab.034.000160

**Abstract** In this research we studied the antioxidant protection mechanism of *B. fallax* in rock desertification of Karst areas under the conditions of drought stress simulated by PEG-6000. The result showed that the contents of *B. fallax* superoxide dismutase, catalase, peroxidase activity and carotenoids (Car) content increased in the early period of treatment, and declined late. When osmotic stress intensified, the *B. fallax* superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), malondialdehyde (MDA) and soluble protein content exhibited the trend from going up and then slow down. As for the relative permeability of membrane were shown a parabola trend of. Therefore, the increases of early O<sub>2</sub><sup>-</sup> and other reactive oxygen species (ROS) in drought stress might induce enzymatic scavenging system to start up clearance of ROS, which would be a synergistic reaction to resist drought. The *B. fallax* remained strong free radical scavenging capacity, leading to very strong resistant ability to drought.

**Keywords** Karst region rock desertification, *B. fallax* Hedw., Active oxygen metabolism, Drought stress

众所周知, 干旱胁迫对植物造成伤害的主要原因是活性氧(ROS)所引起的氧化作用会严重破坏细胞膜, 逆境胁迫将打破 ROS 的产生与清除两者之间的稳定状态, 植物清除能力的大小可间接反映植物耐旱能力的强弱。由此, 植物会主动或被动的调动自身的酶促和非酶促防御系统进行防御。

苔藓植物也存在抗氧化防御系统, 国外学者研究较为深入(张萍等, 2005)。表现在:(1)脱水时通过酶系统和产生抗氧化剂复合物清除自由基、减少自由基数目的机制;(2)产生谷胱甘肽还原酶系统、抗坏血酸过氧化物酶系统等抗氧化剂的作用机制(Oliver and Bewley, 1997)。对于水分胁迫下种子植物抗氧化

基金项目: 本研究由国家自然科学基金项目(41463006)和国家 973 计划项目(2013CB956700)共同资助

防御系统响应已有大量的研究,国内少有对耐旱藓类抗氧化防御系统的研究(杨武, 2008; 李朝阳等, 2009; 沙伟等, 2010; 魏先君, 2010), 对于岩溶石漠化地区石生苔藓抗氧化酶系统响应干旱胁迫的研究极少(张显强等, 2010; 张显强, 2012)。因此,对石生反叶扭口藓抗氧化防御系统对干旱胁迫的响应研究,对于揭示石生藓类的耐旱机理,进而提出治理石漠化生态环境措施具有重要的理论意义。

## 1 结果与分析

### 1.1 干旱胁迫对反叶扭口藓抗氧化酶活性的影响

SOD、POD 和 CAT 是保护酶系统中最重要 3 个抗氧化酶(Smirnoff, 1993)。反叶扭口藓 SOD 的活性随着胁迫的增加表现出先减少后增加再减少的趋势: 在胁迫 24 h 内逐渐减少, 24 h 达到最低值  $519.41 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ , 降低 19.41%; 24~48 h 迅速增加, 达到最高值  $758.89 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ , 上升 17.8%; 之后下降到  $573.67 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ , 低于初始  $644.65 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$  的水平, 降幅达 11.0% (图 1A)。POD 活性呈现出先增加后降低的趋势(图 1B), 反叶扭口藓在 24 h 上升至最大值, 为  $8.26 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$ , 之后迅速下降到  $4.57 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$ , 降幅达 44.7%; CAT 随胁迫的加剧呈现先增加后降低的趋势, 在 48 h 达到最大值的  $11.35 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$ , 比初始  $6.33 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$  增加了 1.85 倍, 随后 CAT 活性下降(图 1C)。因此,反叶扭口藓利用 CAT 和 POD 活性的提高来清除 SOD 在清除  $\text{O}_2^-$  过程中产生的多余  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。

### 1.2 干旱胁迫对反叶扭口藓活性氧代谢的影响

正常情况下细胞内活性氧和自由基浓度很低, 不会造成细胞的损伤; 逆境胁迫时其含量大幅增加而造成膜脂过氧化, 最后导致植物伤害或死亡(王爱国等, 1988)。反叶扭口藓的超氧阴离子在 0~24 h 含量大幅增加, 24 h 达到最高的  $26.94 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ , 比初始  $1.52 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$  增加了 17.72 倍, 之后大幅下降到  $12.60 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$  水平, 72 h 略有回升(图 2A)。膜相对透性呈现出“抛物线”的变化趋势(图 2B), 随胁迫时间的延长膜透性逐步增大, 在 24 h 达到最大值, 为 3945%, 为初始的 2.03 倍。逆境胁迫造成膜脂过氧化而大量形成 MDA 物质, 其作用可极大的破坏膜的结构(刘建新, 2005)。随着胁迫时间的延长, 反叶扭口藓 MDA 的含量表现出先上升后下降的趋势(图 2C); 在 12 h 达到最大值  $21.12 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ , 比初始  $8.74 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$  增长 2.12 倍, 之后逐步下降。

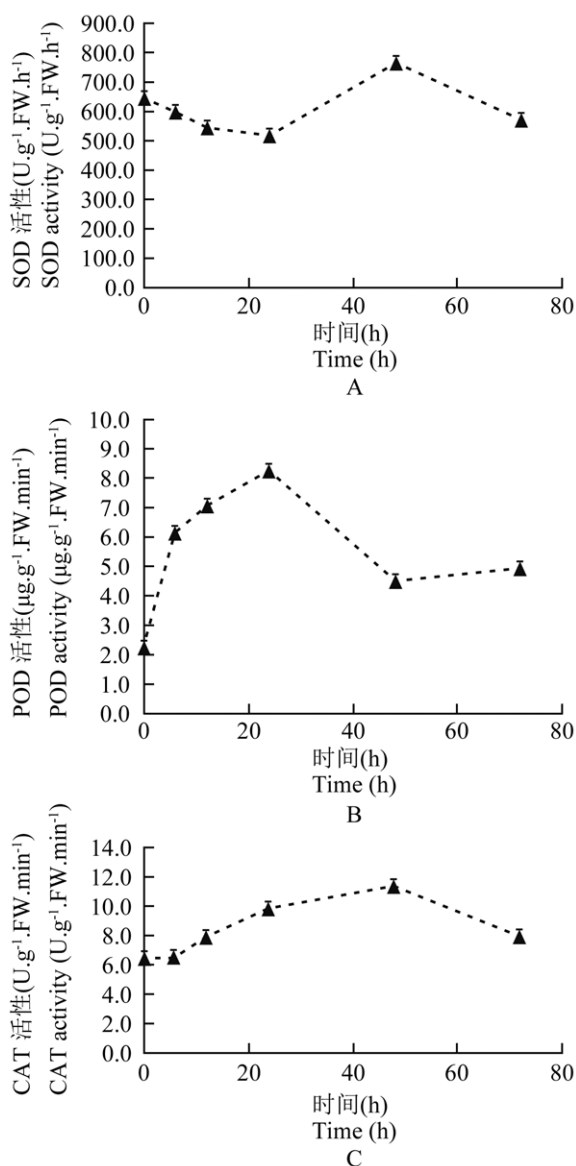


图 1 反叶扭口藓 SOD, POD 和 CAT 活性对干旱胁迫的响应  
Figure 1 Response of SOD, POD and CAT activity in *B. reflexa* to drought stress

### 1.3 干旱胁迫对反叶扭口藓类胡萝卜素和可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白质增加可降低植物细胞的渗透势, 有效避免植物细胞脱水带来的伤害。反叶扭口藓可溶性蛋白随胁迫的增大呈现出先升后降, 再上升后下降的变化(图 3A)。在 0~12 h 含量上升, 12~24 h 含量下降, 48 h 上升达到最高峰的  $32.68 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ , 比初始的  $8.51 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$  增加 3.84 倍, 随后又迅速下降。Car 作为植物体内一种重要的抗氧化物质, 可有效清除植物体内多余的自由基等有害物质(Rodríguez and Santa, 1995)。反叶扭口藓 0~24 h 逐渐增加, 从初始  $0.147 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$  上升至 24 h  $0.180 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ , 变化幅度较小, 24 h 之

后快速上升,48 h 达到最大值 0.302 mg·g<sup>-1</sup>FW,是初始的 2.38 倍,之后趋于稳定(图 3B);反叶扭口藓 Car 上升大,积累较多,下降较小,说明干旱胁迫引起的活

性氧自由基的清除中的作用明显。

## 2 讨论

由于干旱产生过量的 ROS,能够导致蛋白质、DNA 及脂类的氧化伤害,进而使细胞膜结构改变和损害,严重时引起细胞的死亡。酶系统中 SOD 能催化 O<sub>2</sub><sup>-</sup>歧化反应产生 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,POD 和 CAT 可分解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 生成 H<sub>2</sub>O 和 O<sub>2</sub>。同时,Car 是植物体中最重要的 O<sub>2</sub><sup>-</sup>猝灭剂,能有效阻止不饱和脂肪酸的过氧化作用,进而达到保护膜系统的作用。本实验结果证实,反叶扭口藓抗氧化酶的活性与抗氧化物质 Car 的变化呈现出一定的规律性;其次反叶扭口藓 24 h 内 MDA 含量增长了 2.12 倍,之后逐步下降,说明反叶扭口藓通过自身的调节减少细胞的受损,避免 MDA 对生物膜的结构和功能的剧烈破坏(Jiang and Zhang, 2001)。细胞膜相对透性呈现出“抛物线”的变化趋势,在 24 h 达到最大值,之后略有下降(但均比初始程度高),这与李朝阳等研究结果相似(李朝阳等,2009)。反叶扭口藓 Car 含量随胁迫增加而不断积累,由于 Car 可通过光解或氧化分解,转变为黄质醛,最终形成 ABA,减少光抑制,植物在逆境中不断积累 Car 来保护膜系统(Rodríguez and Santa, 1995)。可溶性蛋白呈现出先升后降,再上升后下降的波动变化趋势,这与胁迫的强度和存在密切的关系。早期由于胁迫反叶扭口藓通过自身酶促和非酶促系统清除体内多余的活性氧自由基,后期由于胁迫压力的增加,植物清除能力小于活性氧自由基的产生能力,反叶扭口藓遭受一定的干旱伤害。

在喀斯特地区独特的地上地下水文二元结构,常常出现降雨量大于蒸发量的季节性干旱现象,特别是大量裸露的岩石表面上大量的苔藓植物凭借特殊的生理生态机制适应喀斯特地区的临时性干旱。早期胁迫植物通过酶促和非酶促系统清除体内产生

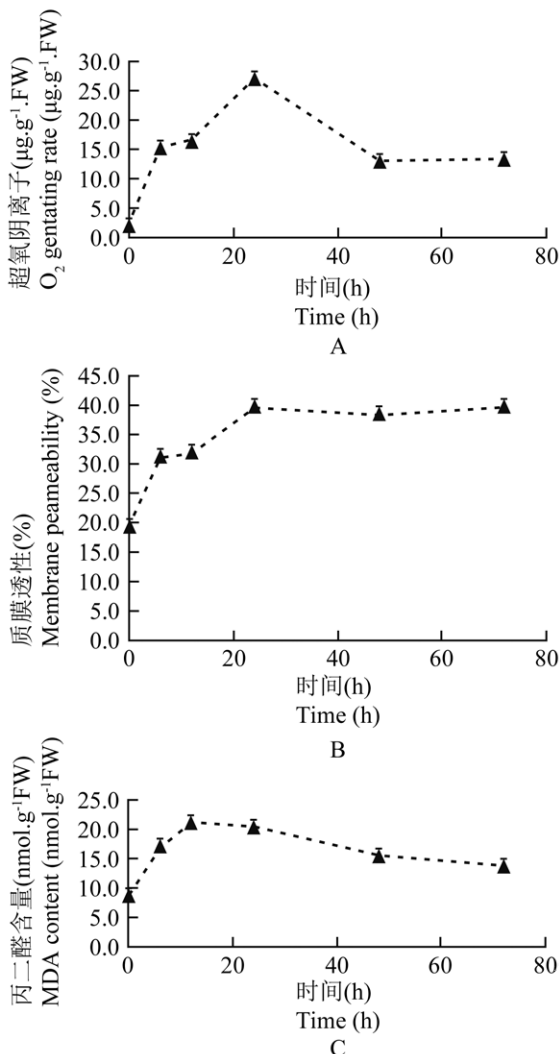


图 2 反叶扭口藓超氧阴离子,质膜透性和丙二醛含量对干旱胁迫的响应

Figure 2 Response of O<sub>2</sub><sup>-</sup> generating rate, membrane permeability and MDA content in *B. reflexa* to drought stress

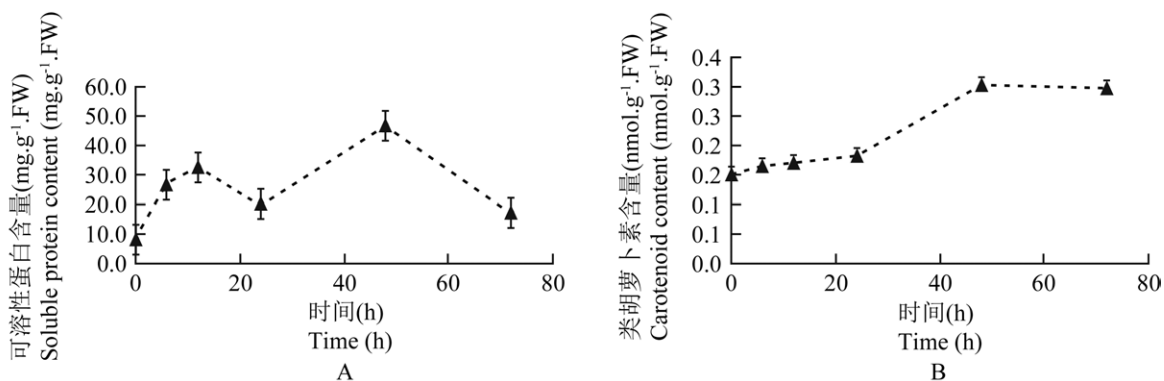


图 3 反叶扭口藓可溶性蛋白和类胡萝卜素含量对干旱胁迫的响应

Figure 3 Response of soluble protein and carotenoid content in *B. reflexa* to drought stress

的 ROS, 后期则可通过生理休眠逃避极强度的干旱; 这与山墙藓(*Tortula ruralis*)通过建成型的保护机制和再水化诱导的恢复系统来耐受干旱胁迫, 在水化阶段、脱水前期、再水化时诱导产生的保护机制相一致(Oliver and Bewley, 1997; Osmond et al., 1997)。因此, 苔藓植物通过形态的变化来降低水分的散失, 通过生理的调整来应付逆境(张显强等, 2010)。因此, 本研究对揭示石生反叶扭口藓的抗旱机制和石漠化生态环境的恢复重建具有重要意义。

### 3 材料与方法

#### 3.1 研究材料

供试苔藓为丛藓科的反叶扭口藓(*Barbula fallax* Hedw.), 呈丛集型生长在岩石的表面, 是喀斯特石漠化常见的优势藓类。采集地点选择在贵阳市花溪区附近严重石漠化区域, 采集时天气晴朗, 平均气温(25±1)°C。

#### 3.2 材料培养及处理

参照张显强等(2014)方法进行。

#### 3.3 研究方法

SOD、CAT、POD 活性的测定按高俊凤(2006)的方法; 超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)测定按李忠光和龚明(2005)的方法; 细胞膜相对透性按吴楠(2009)的电导仪法测定; 丙二醛含量测定按张志良(2009)的方法; 蛋白含量按 Brandford (1976)考马斯亮蓝 G250 法; 类胡萝卜素测定采用包维楷等(2005)的方法。

#### 3.4 数据分析

各项指标的测定均重复 5 次(n=5), 利用 SPSS13.0 进行数据处理, Duncan's 法进行多重比较(p<0.05)。Microsoft excel 2003 作图。

### 作者贡献

张显强是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 王世杰和孙敏对实验设计进行指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。

### 致谢

本研究由国家自然科学基金项目(41463006)和国家 973 计划项目(2013CB956700)共同资助。

### 参考文献

Bao W.K., and Leng L., 2005, Determination methods for photo-

synthetic pigment content of bryophyte with special relation of extraction solvent s, Yingyong Yu Huanjing Shengwu Xuebao (Chinese Journal of Applied & Environmental Biology), 11(2): 235-237 (包维楷, 冷俐, 2005, 苔藓植物光合色素含量测定方法 - 以暖地大叶藓为例, 应用与环境生物学报, 11(2): 235-237)

Brandford M.M., 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

Gao J.F., ed., 2006, Guide experiment of plant physiology, Higher Education Press, Beijing, China, pp.208-231 (高俊凤, 编著, 2006, 植物生理学实验指导, 高等教育出版社, 北京, pp. 208-231)

Jiang M.Y., and Zhang J.H., 2001, Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings, Plant and Cell Physiology, 42(11): 1265-1273

Li Z.G., and Gong M., 2005, Improvement of measurement method for superoxide anion radical in plant, Yunnan Zhiwu Yanjiu (Acta Botanica Yunnanica), 27(2): 211-216 (李忠光, 龚明, 2005, 植物中超氧阴离子自由基测定方法的改进, 云南植物研究, 27(2): 211-216)

Li Z.Y., Tian X.R., Chen J., and Li J., 2009, Physiological response of *Plagiomnium acutum* during desiccation and rehydration process, Guangxi Zhiwu (Guihaia), 29(1): 139-142 (李朝阳, 田向荣, 陈军, 李菁, 2009, 脱水与复水过程中湿地匍灯藓的生理生化响应, 广西植物, 29(1): 139-142)

Liu J.X., 2005, Physiological and ecological responses of maize seedlings to cadmium stress, Shengtaixue Zazhi (Chinese Journal of Ecology), 24(3): 265-268 (刘建新, 2005, 镉胁迫下玉米幼苗生理生态的变化, 生态学杂志, 24(3): 265-268)

Oliver M.J., and Bewley J.D. 1997, Desiccation-tolerance of plant tissues: a mechanistic overview, Horticultural Reviews, 18: 171-214

Osmond C.B., and Somero G., eds., 1997, Water and life: a comparative analysis of water relationship at the organismic, cellular and molecular levels, Springer-Verlag, Berlin, German, pp.141-160

Rodriguez D., and Santa G.E., 1995, Effect of phosphorus and drought stress on dry matter and phosphorus allocation in wheat, J. Plant Nutrition, 18: 2501

Sha W., Wang H., and Shi S., 2010, Effects of rewatering on the physio-biochemical indexes of *Racomitrium japonicum* in long-time drought, Wuhan Zhiwuxue Yanjiu (Journal of Botanical Research), 28(2): 246-249 (沙伟, 王欢, 师帅, 2010, 旱后复水对东亚砂藓生理生化指标的影响, 武汉植物学研究, 28(2): 246-249)

Smirnov N., 1993, The role of active oxygen in the response of plants to water deficits and desiccation, New Phytol., 125:

- 27-58
- Wang A.G., Shao C.B., Luo G.H., Guo J.Y., and Liang H.G., 1988, Senescence and peroxidation of membrane lipid in mitochondria of soybean hypocotyl, *Zhiwu Shengli Xuebao (Acta Phytophysiologica Sinica)*, 14(3): 269-273 (王爱国, 邵从本, 罗广华, 郭俊彦, 梁厚果, 1988, 大豆下胚轴线粒体的衰老与膜脂的过氧化作用, *植物生理学报*, 14(3): 269-273)
- Wei X.J., 2010, Study on physiological characteristics of *Hypnum vaucheri* in biotic crusts of Huangfuchuan watershed primary vegetation, Thesis for M.S., Inner Mongolia Normal University, Supervisor: Wei Q.B.T.E., pp.12-36 (魏先君, 2010, 皇甫川流域原生植被区生物结皮层直叶灰藓生理特性的研究, 硕士学位论文, 内蒙古师范大学, 导师: 斯琴巴特尔, pp.12-36)
- Wu N., Wei M.L., and Zhang Y.M., 2009, Response of *Syntrichia caninervis* Mitt. during desiccation and rehydration process in soil microbiotic crust, *Ziranhexue Jinzhan (Progress in Natural Science)*, 19(9): 942-951 (吴楠, 魏美丽, 张元明, 2009, 生物土壤结皮中刺叶赤藓质膜透性对脱水, 复水过程的响应, *自然科学进展*, 19(9): 942-951)
- Yang W., 2008, Moss plants adapt to the environment of morphological structure and physiology mechanism, Thesis for M.S., Zhejiang Normal University, Supervisor: Guo S.L., pp.49-55 (杨武, 2008, 藓类植物适应环境的形态结构及生理学机制, 浙江师范大学, 导师: 郭水良, pp.49-55)
- Zhang P., Bai X.L., and Zhong X.L., 2005, Advances in the desiccation tolerance of mosses, *Zhiwu Tongbao (Chinese Bulletin of Botany)*, 22(1): 107-114 (张萍, 白学良, 钟秀丽, 2005, 苔藓植物耐旱机制研究进展, *植物通报*, 22(1): 107-114)
- Zhang X.Q., Zhang L., He Y.J., Feng X.Y., and Sun M., 2010, Water uptake mechanism and desiccation-tolerant adaptation of *Taxiphyllum aomoriense* crust in Karst rocky desertification, *Shengtai Xuebao (Acta Ecologica Sinica)*, 30(12): 3108-3116 (张显强, 张来, 何跃军, 冯晓英, 孙敏, 2010, 喀斯特石漠结皮细尖鳞叶藓的吸水机制及耐旱适应性研究, *生态学报*, 30(12): 3108-3116)
- Zhang X.Q., 2012, Study on ecological adaptation of saxicolous mosses to drought environment of the karst rock desertification in Guizhou, Thesis for Ph.D., Southwest University, Supervisor: Sun M., pp.57-71 (张显强, 2012, 贵州石生藓类对石漠化干旱环境的生态适应性研究, 博士学位论文, 西南大学, 导师: 孙敏, pp.57-71)
- Zhang X.Q., Wang S.J., and Sun M., 2014, The drought stress and rehydration influence on chlorophyll fluorescence characteristics of *Barbula fallax* Hedw. in areas of karst rocky desertification: case study near Huaxi district, Guiyang City, *Zhongguo Yanrong (Carologica Sinica)*, 33(1): 77-81 (张显强, 王世杰, 孙敏, 2014, 干旱和复水对喀斯特石生反叶扭口藓(*Barbula fallax* Hedw.)叶绿素荧光特性的影响 - 以贵阳市花溪区附近严重石漠化区域为例, *中国岩溶*, 33(1): 77-81)
- Zhang Z.L., ed., 2009, Guide experiment of plant physiology, 4ed editon, Higher Education Press, Beijing, pp.123-126 (张志良, 编著, 2009, 植物生理学实验手册第4版, 高等教育出版社, 北京, pp.123-126)

## International Journal of Horticulture (IJH)



International Journal of Horticulture (ISSN 1927-5803) is an open access, peer reviewed journal published online by BioPublisher. The journal publishes all the latest and outstanding research articles, letters and reviews in all aspects of horticultural and its relative science, containing horticultural products, protection; agronomic, entomology, plant pathology, plant nutrition, breeding, post harvest physiology, and biotechnology, are also welcomed; as well as including the tropical fruits, vegetables, ornamentals and industrial crops grown in the open and under protection.

International Journal of Horticulture (ISSN 1927-5803) is archived in LAC (Library and Archives Canada) and deposited in CrossRef. The Journal has been indexed by CABI and ProQuest as well.

Contact: [edit@ijh.biopublisher.ca](mailto:edit@ijh.biopublisher.ca)

Website: <http://ijh.biopublisher.ca>