

# 盐胁迫下红海榄脯氨酸与活性氧代谢特征研究

陈英华, 严重玲\*, 李裕红, 胡俊, 梁洁, 薛博

(厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361005)

**摘要:**系统地研究了盐胁迫下红海榄脯氨酸和活性氧的代谢特征. 结果表明:1)脯氨酸含量随着盐度的增加出现先降后升的趋势,当盐度达到 10 时,其含量达最低. 在无盐和高盐环境下脯氨酸的大量积累是植物细胞的适应性反应,其含量的高低不宜作为红海榄的抗盐性指标. 2)超量脯氨酸积累会影响 CO<sub>2</sub> 的固定,降低叶片细胞内有机物的合成量,导致高盐胁迫下叶片的肉质化程度降低. 3)红海榄 SOD 活性随盐度呈先降低后升高的趋势,其超氧负离子释放速率与 SOD 活性呈负相关. 在中高盐度下,其 POD、CAT 活性迅速增加,可有效地清除由 SOD 与 O<sub>2</sub> 产生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,避免了由于盐胁迫导致活性氧增加而对质膜造成的伤害.

**关键词:**脯氨酸;超氧阴离子;红海榄;盐胁迫

**中图分类号:** Q 946.5

**文献标识码:** A

红海榄 (*Rhizophora stylosa*) 是一种嗜热广布性红树植物<sup>[1]</sup>,盐度对其幼苗生长的影响存在低盐促进生长和高盐抑制生长的现象<sup>[2]</sup>. 关于盐度对红树植物幼苗生长的影响已有较多的论述,但对于盐胁迫下,红树植物尤其是红海榄叶片中活性氧代谢及脯氨酸积累的特征研究,至今未有详细报道. 鉴于上述原因,本文以红树植物红海榄为材料,研究其脯氨酸及活性氧代谢与盐胁迫的关系,以期更好地了解红树植物耐盐机理.

目前,关于脯氨酸积累与各种胁迫的关系已有很多报道<sup>[3~5]</sup>. 脯氨酸通常可以作为一种渗透调节剂,或细胞质酶的保护性物质,保持细胞中生物聚合物的结构及膜的完整性. 亦可能作为 N 源和 C 源的储藏物质,促使植物体产生一系列的保护性反应. 但脯氨酸的积累是盐胁迫的结果,还是植物耐盐的原因仍是一个有争议的问题,值得进一步研究.

## 1 试验材料和方法

### 1.1 试验材料

红海榄:2002 年 7 月采自海南清澜港

收稿日期:2003-07-15

基金项目:国家自然科学基金(30170190)资助

作者简介:陈英华(1980-),女,硕士研究生.

\* Corresponding author

### 1.2 试验方法

1) 培养方法:选取生长一致的红海榄成熟胚轴,消毒后用自来水清洗,种子套有尼龙网的沙基中,在温室用 2L 浓度为 1 mol/L 的标准 Hoagland 溶液进行培养,1 周后进行 0,10,20,30,40 的 NaCl 盐度梯度处理,每盆 3 个重复. 每两周更换培养液. 4 个月后,取完全展开的第 3 对真叶进行超氧阴离子释放速率以及抗氧化酶系统的测定,取第 3 对叶片测定脯氨酸含量,各重复 3 次.

2) 实验方法:多汁度以叶片饱和水分含量(g)/表面积(dm<sup>2</sup>)表示<sup>[6]</sup>.

脯氨酸、蛋白质、过氧化物酶(POD)、过氧化物酶(CAT)活性的测定参见文献[7].

超氧化物歧化酶(SOD)、超氧负离子释放速率的测定参见文献[8].

## 2 结果与讨论

### 2.1 脯氨酸积累与盐胁迫的关系

红海榄叶片中脯氨酸含量变化趋势(图 1(a))表明:脯氨酸的积累与盐度并非线性正相关. 在 10 处,红海榄幼苗的株高(图 1(b))达最大值,其脯氨酸含量达最低水平,为 0.308 mg · (gFW)<sup>-1</sup>,且随着盐度的增加脯氨酸含量继续增大. 这表明植物在低盐分下脯氨酸的合成与降解可维持在平衡状态;盐度高于 10 后,脯氨酸迅速积累. 从脯氨酸合成的角

度来看,催化脯氨酸的谷氨酸合成途径的关键酶对 NaCl 具有一定的抗性<sup>[9]</sup>,高盐度下,脯氨酸的鸟氨酸合成途径的激活对脯氨酸的积累起到更为重要的作用<sup>[10]</sup>;从分解角度来看,脯氨酸氧化酶、脯氨酸降解酶对 NaCl 十分敏感,且盐胁迫将导致线粒体膜透性发生变化,使细胞质中的脯氨酸不能通过线粒体膜而进入线粒体内,造成脯氨酸的降解受阻<sup>[3,5]</sup>,而此时脯氨酸的前体仍能穿出线粒体进入细胞质,引起胞质内脯氨酸的积累。

但是,在无盐的情况下,红海榄脯氨酸含量达  $0.592 \text{ mg} \cdot (\text{gFW})^{-1}$ ,比 10 盐度下脯氨酸含量高出 92%,表明无盐环境下红海榄正常的氮代谢平衡可能受到破坏,适宜的盐分对红树植物的生长较无盐的生境更有利。总之,脯氨酸的大量积累是其在无盐和高盐环境下的产物,是红海榄在不利生境下的适应性表现。因此,脯氨酸含量的高低仅可作为衡量红海榄是否适应其生境的一项指标。而脯氨酸在 0 盐度下的大量积累进一步说明脯氨酸积累不是红海榄耐盐性的筛选指标。

## 2.2 脯氨酸与叶片多汁度的关系

叶片肉质化程度是反映植物对盐渍生境适应状况的一项指标,它的变化与细胞的渗透势有关<sup>[6]</sup>。关于肉质化的机理目前尚无定论。由于脯氨酸具有高溶解性及对细胞质酶活性不具有抑制性,在一定盐度范围内,它可与其它渗透调节物一起扩大细胞的溶解容积,从而降低细胞汁液中的盐浓度,减轻盐的胁迫作用<sup>[3]</sup>。图 1(c)表明,从 0 到 20,红海榄叶片的肉质化程度增加;但当盐度超过 20 时,脯氨酸积累迅速增加,叶片肉质化程度却突然下降,这可能是叶绿体中过量的脯氨酸会抑制 Rubisco 酶的活性<sup>[11]</sup>,从而影响了  $\text{CO}_2$  的固定,导致细胞内有机物合成量的减少,最终导致叶片的肉质化程度的降低。因此,脯氨酸及其它小分子物质在低盐胁迫下可作为渗透调节物质,通过增加叶片的肉质化程度而提高植物对盐胁迫的适应能力,而过量的脯氨酸积累可能会导致红海榄叶片肉质化程度降低。红海榄多汁度随盐度梯度均呈先增后减的趋势正说明了这一点。

## 2.3 盐胁迫下,超氧负离子释放速率与 SOD 等抗氧化酶之间的相互作用

McCord & Fridovich (1968) 发现清除  $\text{O}_2^-$  或  $\text{OH}^-$  的超氧化物歧化酶 (SOD) 以来, SOD 一直被认为是生物体内最重要的抗氧化酶之一。它可以歧化  $\text{O}_2^-$  为  $\text{O}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,从而有效地降低了活性氧自

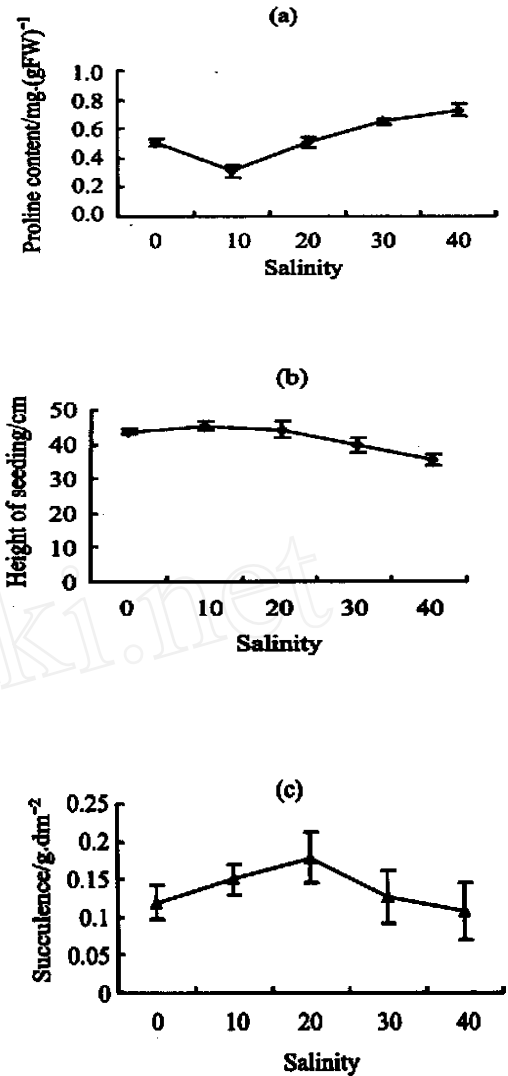


图 1 盐度对红海榄脯氨酸含量(a)、株高(b)、多汁度(c)的影响

Fig. 1 The influence of salinity on proline content (a), succulence (b) and height (c) of seedlings of *Rhizophora stylosa*

由基对膜系统的伤害<sup>[12]</sup>。研究结果(图 2)表明:红海榄叶片  $\text{O}_2^-$  产生速率随盐度的增加先升后降;其 SOD 活性随盐度呈先降后升的趋势。相关分析表明,超氧负离子的释放速率与 SOD 活性的变化趋势呈负相关 ( $r = -0.920$ ), 相关方程为  $y = -4.7927x + 19.829$ 。这进一步说明抗氧化系统中的 SOD 酶在清除生物氧毒害的过程中的重要性。

然而, SOD 在清除氧自由基时也会产生对植物体不利  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 而 POD、CAT 等酶能将过量的  $\text{H}_2\text{O}_2$  及时清除。红海榄的 POD、CAT 的含量在 0 到 20 盐度范围内呈下降趋势,之后随盐度升高而上升。说明

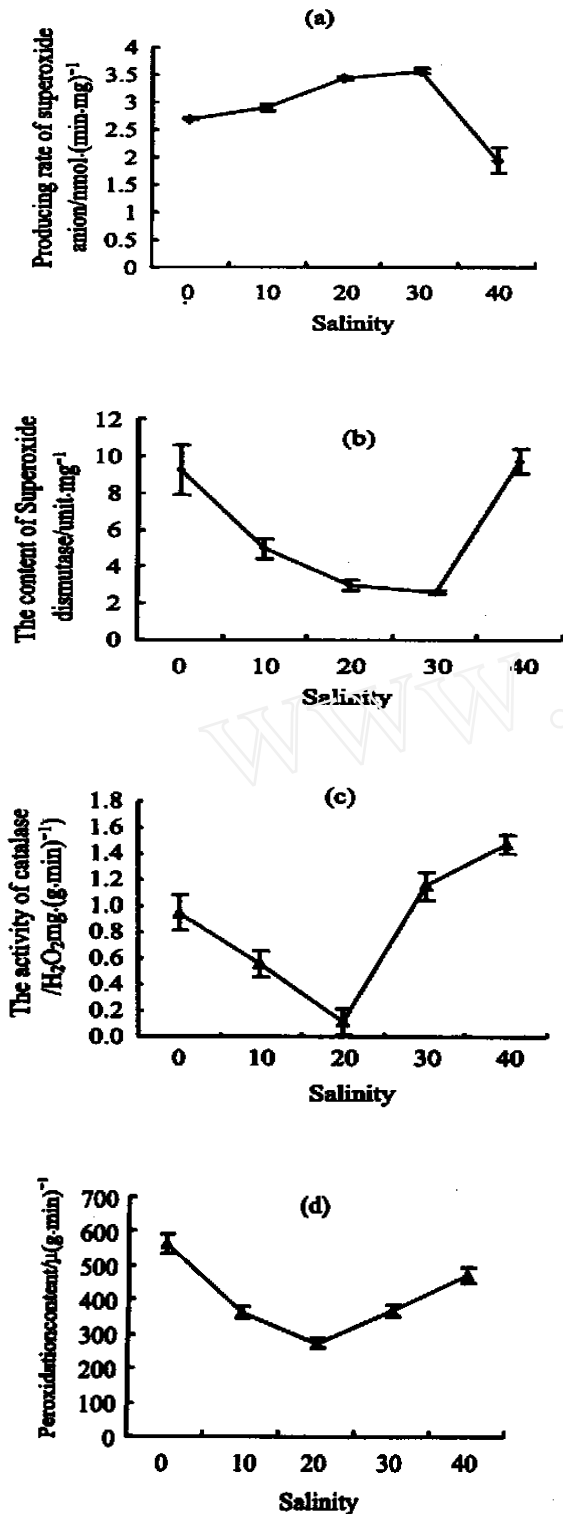


图2 盐度对红海榄 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 释放速率 (a)、SOD (b)、POD (c)、CAT (d) 活性的影响

Fig. 2 The influence of salinity on the rate of Oxygen free radical production (a), superoxide dismutase activity (b), peroxidase activity (c) and catalase activity (d) of *Rhizophora stylosa*

盐度超过生理范围,POD、CAT 含量增加,使植物体内过量的过氧化氢得到一定程度的清除.从而阻止 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的 Haber-Weiss 反应,抑制了毒性更强的 ·OH 的产生.防止了盐胁迫对膜的伤害.

### 3 结 论

1) 红树植物红海榄叶片中脯氨酸的积累是其在无盐和高盐环境下的产物,它可反映红树植物所受胁迫的程度,但不能作为反映红树植物耐盐性的一项指标;

2) 大量脯氨酸积累会引起高盐胁迫下叶片肉质化程度降低;

3) 红海榄在中高盐环境下,SOD、POD、CAT 等酶活性的升高,对活性氧自由基的减少和清除起到非常重要的作用,它们通过降低 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 释放速率,从而降低盐胁迫对质膜的伤害.

### 参考文献:

- [1] 林鹏,著.中国红树林生态系[M].北京:科学出版社,1997.1-294.
- [2] Clough B F. Growth and salt balance of the mangrove *Avicennia marina*(Forsk.) Vierh. and *Rhizophora stylosa* Griff. In relation to salinity[J]. Australian Journal of Plant Physiology,1984,11:419-430.
- [3] Ting I P, Drake M. 沙漠植物的生理生态[M].野濑昭博,译.日本:日本九州大学出版会,1993.30-31.
- [4] 赵可夫,编著.植物抗性生理[M].北京:中国科学技术出版社,1993.132-231.
- [5] Martinez C A, Maestri M, Lani E G. In vitro salt tolerance and proline accumulation in Andean potato (*Solanum* spp.) differing in frost resistance [J]. Plant Science, 1996, (116):177-184.
- [6] Madan S S, Nainawatee H S, Jain R K, et al. Proline and proline metabolising enzymes in in-vitro selected NaCl-tolerant *Brassica juncea* L under salt stress[J]. Annals of Botany, 1995, (76):51-57.
- [7] 李合生,主编.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.164-261.
- [8] 汤章城.当代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,1999.95-315.
- [9] 赵福庚,刘友良,张文华.大麦幼苗叶片脯氨酸代谢及其与耐盐性的关系[J].南京农业大学学报,2002,25(2):7-10.
- [10] 赵福庚,刘友良.盐胁迫激活大麦幼苗脯氨酸合成的鸟氨酸途径(英文)[J].植物生理学报,2001,43(1):

36 - 40.

- [11] Sivakumar P, Sharmila P, Saradhi P P. Proline suppresses rubisco activity in higher plants[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1998, (252):

428 - 432.

- [12] 方允中, 郑荣梁. 自由基生物学理论及应用[M]. 北京: 科学出版社, 2002. 178 - 179.

## Study on the Characteristic of Proline Accumulation and Active Oxygen Metabolism in *Rhizophora stylosa* under Salt Stress

CHEN Ying-hua, YAN Chong-ling\*, LI Yu-hong, HU Jun, LIANG Jie, XUE Bo  
(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** Effects of salinity on proline content and active oxygen metabolism of *Rhizophora stylosa* were investigated. The results are as following: 1) As salinity increases, proline accumulation of *Rhizophora stylosa* firstly decreases then increases. At salinity of 10, proline accumulation reaches its lowest point, which shows proline content cannot act as an index to reflect the stress tolerance of *Rhizophora stylosa*. Proline accumulation under high salinity and 0 salinity results from the disorder of cell structure and function. 2) Excessive proline probably reduces the succulence of their leaves. 3) The activity of superoxide dismutase (SOD) in *Rhizophora stylosa* has a negative correlation with the releasing of superoxide anion. The activity of peroxidase (POD) and catalase (CAT) increases under high salinity, which can eliminate H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produced by SOD and avoid the damage to membrane.

**Key words:** proline; superoxide anion; *Rhizophora stylosa*; salt stress