

## 根际低氧对不同抗性猕猴桃幼苗抗氧化系统的影响

米银法<sup>1,2</sup>, 马锋旺<sup>1</sup>, 马小卫<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100; <sup>2</sup>河南科技大学林学院, 河南洛阳 471003)

**摘要:**【目的】研究低氧胁迫下, 猕猴桃苗期体内活性氧代谢及抗性抗氧化系统间的内在联系。【方法】用水培通氮气低氧胁迫法, 研究低氧胁迫对‘秦美’猕猴桃(抗低氧型)和‘红阳’猕猴桃(低氧敏感型)两种抗性不同的猕猴桃实生苗抗氧化系统的影响。【结果】随胁迫时间的延长, 两种猕猴桃叶、根内超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性增强, 超氧阴离子自由基( $O_2^-$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )、丙二醛(MDA)含量增加; 质膜透性(RPMP)增大, 耐低氧的‘秦美’猕猴桃活性氧增加速度明显低于‘红阳’猕猴桃, 抗氧化酶活性增加幅度明显高于‘红阳’猕猴桃; 相同胁迫下, 同种猕猴桃叶和根内抗氧化酶活性最大值出现的时间和增加幅度不同。【结论】抗低氧能力强的猕猴桃有较强的抗氧化保护系统; 叶和根对低氧胁迫的感受和适应机理不同。

**关键词:** 猕猴桃; 低氧胁迫; 抗氧化酶

## Effect of Root-Zone Hypoxia Stress on Anti-Oxidative System of Chinese Gooseberry Seedlings with Different Resistances

MI Yin-fa<sup>1,2</sup>, MA Feng-wang<sup>1</sup>, MA Xiao-wei<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling 712100, Shaanxi; <sup>2</sup>Forestry College of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, Henan)

**Abstract:** 【Objective】 The objectives of this research were to study the effect of hypoxia stress on anti-oxidative system and the mechanism of how free radicals to be scavenged, and to study the internal relationship between the resistant ability and anti-oxidative system of Chinese gooseberry seedlings under hypoxia stress. 【Method】 Strong, uniform Chinese gooseberry seedlings (*Actinidia deliciosa* and *A. chinensis*, the former is quite resistant, while the latter is much sensitive to hypoxia according to the preparatory experiments.) were selected and planted in hydroponics. Nutrient solutions were aerated with nitrogen to induce hypoxia stress conditions. The activities of reactive oxygen species (ROS)-scavenging enzymes, superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) were investigated as well as the contents of  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ , malondialdehyde (MDA), electrolyte leakage (RPMP) of leaves and roots. 【Result】 Under hypoxia stress, the activities of SOD, POD, CAT were all stimulated and increased greatly in leaves and roots. The growth rate and activity peaks of SOD, POD, CAT in leaves and roots of *A. deliciosa* were higher than those of *A. chinensis*. The contents of  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ , MDA, RPMP in leaves and roots under hypoxia stress increased significantly. However, the increase ratio and peak contents of  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ , MDA in leaves and roots of *A. deliciosa* were much lower than those of *A. chinensis*. There were also obvious differences between them in the tendency and peak time of SOD, POD, CAT,  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ , and MDA. 【Conclusion】 Highly resistant Chinese gooseberry species have advantageous anti-active oxygen systems, which can scavenge free radicals effectively to avoid injuring the membrane lipid. Under the conditions of hypoxic stress, leaves and roots have different responses and adjusting mechanisms.

**Key words:** Chinese gooseberry seedlings; Hypoxia stress; Antioxidan enzyme

收稿日期: 2007-10-25; 接受日期: 2008-04-08

基金项目: 农业部“948”项目(20062G28)和西北农林科技大学“拔尖人才支持计划”项目(200522)

作者简介: 米银法(1977—), 男, 山东东明人, 博士研究生, 研究方向为果树抗性生理与生物技术。通讯作者马锋旺(1964—), 男, 山东汶上人, 教授, 研究方向为果树抗性生理与生物技术改良。E-mail: fwm64@sina.com



## 0 引言

【研究意义】氧是高等植物正常生理代谢和生长发育的必要条件之一，土壤雨涝积水、质地紧实、地下水水位过高、土壤微生物或根系呼吸过剩，都会降低植物根际氧气浓度，造成低氧逆境，影响植物产量和品质<sup>[1]</sup>，严重时导致死亡。猕猴桃属多年生藤本果树，生长期既喜水又怕水，在中国由于雨水季节和地域性分布不均，栽培中往往会遇到土壤涝害、淹水等灾害，引起根际低氧，影响正常生理代谢及生长发育，造成减产、绝产，严重时导致树木死亡。因此深入研究低氧胁迫下，不同抗性猕猴桃的响应机理，揭示其适应机制，对合理选择和定向选育耐涝性砧木和品种，减轻水涝对生产的危害，都有重要的理论和现实意义。

【前人研究进展】目前对低氧胁迫的研究在水稻<sup>[2]</sup>、小麦、稗、簇子芥属植物、棉花、马铃薯、玉米、水芋<sup>[3]</sup>、黄瓜<sup>[4]</sup>、网纹瓜<sup>[5]</sup>、西瓜<sup>[6]</sup>、银杏<sup>[7]</sup>等植物上均有报道。研究表明，植物耐低氧胁迫能力和抗氧化酶活性及脂类过氧化反应有密切关系<sup>[8]</sup>。如晏斌等<sup>[9]</sup>研究了短期淹水下的玉米叶 SOD、GR 和 APX 抗氧化酶活性变化。结果表明，SOD、GR 和 APX 抗氧化酶活性增加。Garmczarska 等<sup>[10]</sup>利用水培通氮气低氧胁迫 24 h 后，又正常通气的方法，研究了羽扇豆根内  $H_2O_2$ 、 $O_2^-$ 、SOD、POD、CAT、POX (peroxidase) 活性的变化。结果表明，短期胁迫后根内活性氧和  $H_2O_2$  含量迅速增加，SOD、CAT 活性明显增加，POX 活性变化不大。高洪波等<sup>[5]</sup>研究了水培低氧下网纹甜瓜体内活性氧产生速率和抗氧化酶活性变化。结果表明，活性氧产生速率大大提高，抗氧化酶活性升高，随胁迫时间的延长，抗氧化酶活性降低。与耐性弱的‘西域 1 号’品种相比，耐性强的‘东方星光’品种  $O_2^-$ 、 $H_2O_2$  和 MDA 含量较低；保护酶 SOD、POD、CAT 活性较高<sup>[11]</sup>。胡晓辉等<sup>[4]</sup>研究了水培低氧下不同黄瓜品种苗内活性氧和 MDA 含量的变化。结果表明，不耐低氧的品种活性氧和 MDA 含量显著高于较耐低氧的品种。Keyhani 等<sup>[12]</sup>研究了低氧处理下番红花休眠球茎抗氧化酶活性的变化。结果表明，低氧胁迫 3 d 球茎内抗氧化酶活性增加，增加幅度由大到小依次是 CAT、POD、SOD。表明低氧胁迫下，清除体内活性氧的主要酶类是 CAT。王义强等<sup>[7]</sup>研究了淹水胁迫下银杏叶 MDA、SOD 含量的变化。结果表明，叶内第 10 天时 MDA 含量比对照增加 1 倍，SOD 第 5 天时活性最高，以后逐渐下降。【本研究切入点】目前对低氧胁迫下

猕猴桃的相关研究还未见报道。本研究选用两种抗性不同的猕猴桃，来探讨低氧胁迫下幼苗叶、根内活性氧代谢机制及猕猴桃抗低氧能力与内在抗氧化系统间的关系。【拟解决的关键问题】以期弄清猕猴桃低氧胁迫下活性氧的产生和清除机制及猕猴桃抗低氧能力品种间差异的内在原因。从而为选育耐涝砧木、品种及猕猴桃高产、稳产栽培提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

笔者前期用水培通氮气低氧胁迫的方法，对不同品种的猕猴桃耐低氧能力进行了筛选试验，分析了低氧处理对植株鲜（干）重、根系鲜（干）重、根长、根活力、叶生长量、叶绿素含量等生理指标的影响，综合评价了各猕猴桃的耐低氧能力。试验表明，‘秦美’猕猴桃 (*Actinidia deliciosa*，处理 16 d 出现重度萎蔫)耐低氧能力较强，而‘红阳’猕猴桃 (*A. chinensis*，处理 13 d 出现重度萎蔫)对低氧胁迫比较敏感。本试验以这两种猕猴桃实生苗作试材。种子采自陕西眉县猕猴桃生产基地。

### 1.2 设计与处理

试验于 2007~2008 年在西北农林科技大学进行。种子发芽后，播于 10 cm×10 cm 的营养钵内育苗。正常管理并浇 1/2 Hoagland 营养液。6 片真叶时，选生长一致健壮幼苗，转入室内水培，定植于装有 1/2 Hoagland 营养液 (pH 5.5~6.5) 的水槽中。水培室内保持 14 h 光照，光照强度 8 000~9 000 lx，昼温 20~25℃，夜温 15~20℃。每种猕猴桃 100 株，预培养 3 d 后，各设置两个处理，每个处理设 3 次重复。处理用溶氧调节仪 (华东理工大学 FC680 型) 控制营养液溶氧浓度 (DO) 维持在 0.9~1.1 mg·L<sup>-1</sup> (低氧胁迫)<sup>[13]</sup>，对照用气泵正常通气 (30 min·h<sup>-1</sup>)，维持营养液 DO 值为 8.0~8.5 mg·L<sup>-1</sup> (通气对照)。每 3 d 换 1 次营养液。2008 年 7 月 16~26 日进行低氧处理，共处理 11 d。从处理第 1 天开始，每隔 1 d 取顶部叶及根备用。每项指标测定 5 次重复。

### 1.3 测定项目与方法

SOD 活性测定按照李合生<sup>[14]</sup>方法，以抑制氮蓝四唑 (NBT) 光还原 50% 为 1 个酶活性单位 (U)，酶活性以 U·g<sup>-1</sup> 蛋白表示；POD 活性参照曾韶西等<sup>[15]</sup>方法，以 OD<sub>470</sub> 每分钟增加 1 为 1 个酶活性单位 (U)，酶活性以 U·g<sup>-1</sup> 蛋白表示；CAT 活性按照 Dhindsa 等<sup>[16]</sup>方法测定，以使 OD<sub>240</sub> 每分钟减少 0.1 为 1 个酶活性

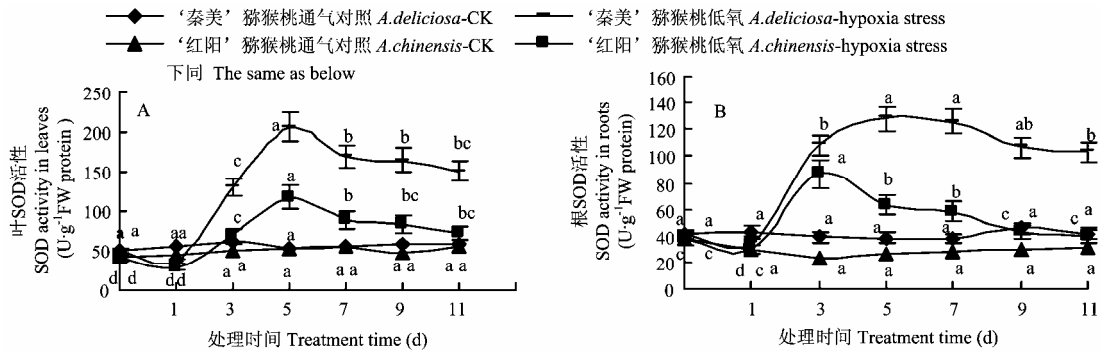
单位 (U)，酶活性以  $U \cdot g^{-1}FW$  蛋白表示。活性氧自由基  $O_2^-$  含量按王爱国等<sup>[17]</sup>方法测定。 $H_2O_2$  含量按照 Uchida 等<sup>[18]</sup>方法测定。膜脂过氧化产物丙二醛 MDA 含量按照赵世杰等<sup>[19]</sup>方法测定。质膜透性 (RPMP) 用电导法测定<sup>[20]</sup>。用 SAS 软件分析数据。

## 2 结果与分析

### 2.1 低氧胁迫下猕猴桃幼苗叶、根 SOD 活性变化

图 1 表明，与对照相比，低氧胁迫第 1 天猕猴桃幼叶和根 SOD 活性下降，1 d 后又开始回升，并逐渐

高于对照。‘秦美’猕猴桃和‘红阳’猕猴桃叶内 SOD 活性第 5 天达最大值时，分别比对照增加 285%和 121%。5 d 后两种猕猴桃叶内 SOD 活性都呈下降趋势，但仍分别比对照增加 164%和 30%。根内 SOD 活性变化和叶类似，不同的是‘秦美’猕猴桃根 SOD 活性最高值出现在第 5 天，比对照增加 232%，第 11 天仍比对照增加 147%；而‘红阳’猕猴桃根 SOD 活性最高值出现在第 3 天，比对照增加 267%，3 d 后迅速回落，第 11 天仅比对照增加 6%。由此看出低氧胁迫下两种猕猴桃叶和根内 SOD 活性变化清除活性氧的机制明



不同字母表示  $P < 0.01$  水平上差异显著。下同  
Different letter indicates significant difference between treatments ( $P < 0.01$ ). The same as below

图 1 低氧胁迫对猕猴桃幼苗叶 (A) 和根 (B) SOD 活性变化的影响

Fig. 1 Effects of hypoxia stress on activities of SOD in leaves (A) and roots (B) of Chinese gooseberry seedlings

显不同。

### 2.2 低氧胁迫下猕猴桃幼苗叶、根 POD 活性变化

从图 2 可以看出，低氧胁迫下猕猴桃叶、根内 POD 活性整体增强。‘秦美’猕猴桃叶内 POD 活性最高值出现在第 7 天，比对照增加 88.2%，以后缓慢回落，但第 11 天时仍比对照增加 32.2%。‘红阳’猕猴桃叶

内 POD 活性最高值出现在第 5 天，比对照增加 52.7%，且在整个处理过程中 POD 活性变化趋势平缓，第 11 天时仅比对照增加 5.3%。就根而言，‘秦美’猕猴桃根 POD 活性在胁迫第 3 天就迅速达到最高值，比对照增加 170%。‘红阳’猕猴桃根 POD 活性第 5 天达到最高值时，比对照增加 115%。可见低氧胁迫时，抗

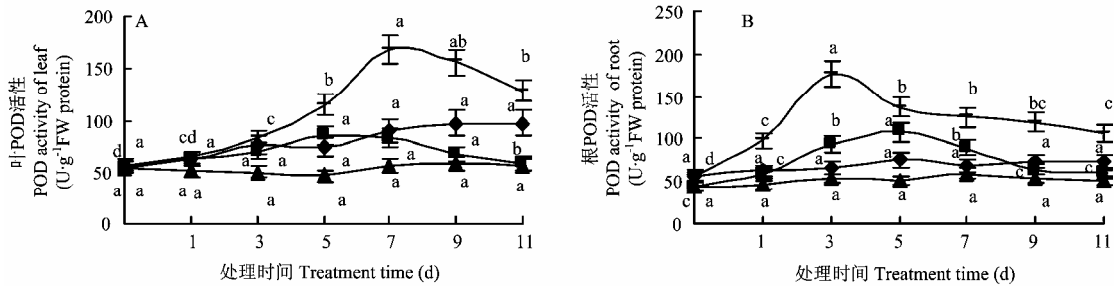


图 2 低氧胁迫对猕猴桃幼苗叶 (A) 和根 (B) POD 活性变化的影响

Fig. 2 Effects of hypoxia stress on activities of POD in leaves (A) and roots (B) of Chinese gooseberry seedlings

低氧能力不同的猕猴桃叶和根内 POD 活性的变化和调节机制也明显不同。

### 2.3 低氧胁迫下猕猴桃幼苗叶、根 CAT 活性变化

图 3 表明，随着低氧胁迫时间的延长，猕猴桃叶和根内 CAT 活性呈先升后降的趋势。前 5 d 内，低氧处理的猕猴桃叶和根内 CAT 活性迅速升高，均在第 5

天时达到最高，之后迅速下降。最高值时‘秦美’猕猴桃叶、根和‘红阳’猕猴桃叶、根 CAT 活性分别比对照增加 69.7%、35.7%；60.0%、32.8%。‘红阳’猕猴桃叶、根 CAT 活性分别在第 9 天、7 天时开始低于对照，而‘秦美’猕猴桃叶、根第 11 天时 CAT 活性仍接近对照值。

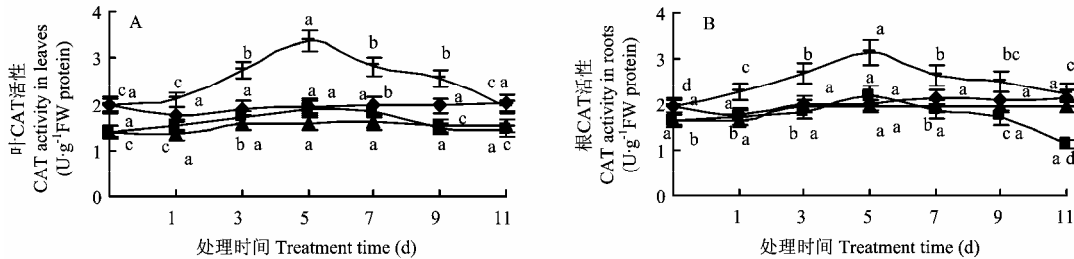


图 3 低氧胁迫对猕猴桃幼苗叶 (A) 和根 (B) CAT 活性变化的影响

Fig. 3 Effects of hypoxia stress on activities of CAT in leaves (A) and roots (B) of Chinese gooseberry seedlings

### 2.4 低氧胁迫下猕猴桃幼苗叶、根 $O_2^-$ 和 $H_2O_2$ 含量变化影响

图 4 和图 5 结果表明，两种猕猴桃低氧处理时叶、根内  $O_2^-$  产生速率和  $H_2O_2$  含量均比对照显著增加。这与低氧胁迫下的小麦根系  $H_2O_2$  含量增加<sup>[21]</sup>，黄瓜幼根  $O_2^-$ 、 $H_2O_2$  和 MDA 含量升高的结果一致<sup>[13]</sup>。在相同的胁迫条件下，‘红阳’猕猴桃比‘秦美’猕猴桃  $O_2^-$  产生的速率和  $H_2O_2$  含量的增加更显著。低氧处理前 7 d，‘秦美’猕猴桃叶和根内  $H_2O_2$  含量的上升趋势较‘红阳’猕猴桃平缓，7 d 后两种猕猴桃叶和根内  $H_2O_2$  含量均迅速上升。这表明低氧胁迫前期抗性强的‘秦美’猕猴桃对产生的  $H_2O_2$  具有较好的清除能力，可能与‘秦美’猕猴桃胁迫前期 CAT、POD 的高活性有

关。

### 2.5 低氧胁迫下猕猴桃幼苗叶、根 MDA 含量及质膜透性 (RPMP) 变化

图 6 结果表明，与对照相比，低氧处理时两种猕猴桃叶和根内 MDA 含量上升都比较迅速，‘秦美’猕猴桃和‘红阳’猕猴桃叶、根分别增加 0.79、1.65、1.56、2.24 倍。说明叶和根都受到了明显的伤害。尤其是‘红阳’猕猴桃根 MDA 含量比对照增加 2.24 倍，增加更显著。表明‘红阳’猕猴桃根受低氧胁迫造成的膜脂过氧化伤害更严重。就同一种猕猴桃来讲，同一取材时间内根比叶 MDA 的增加量高，可见低氧胁迫下猕猴桃根比叶膜脂遭受活性氧的伤害更严重、直接，这与网纹甜瓜上的研究结论一致<sup>[5]</sup>。MDA 含量在

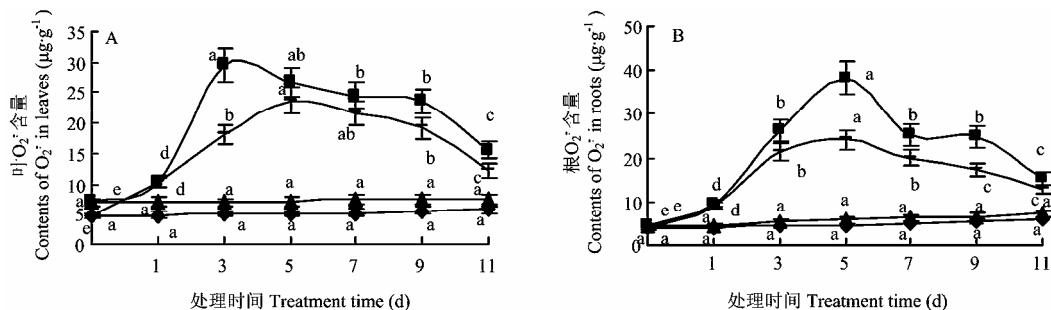


图 4 低氧胁迫对猕猴桃幼苗叶 (A) 和根 (B)  $O_2^-$  变化的影响

Fig. 4 Effects of hypoxia stress on contents of  $O_2^-$  in leaves (A) and roots (B) of Chinese gooseberry seedlings

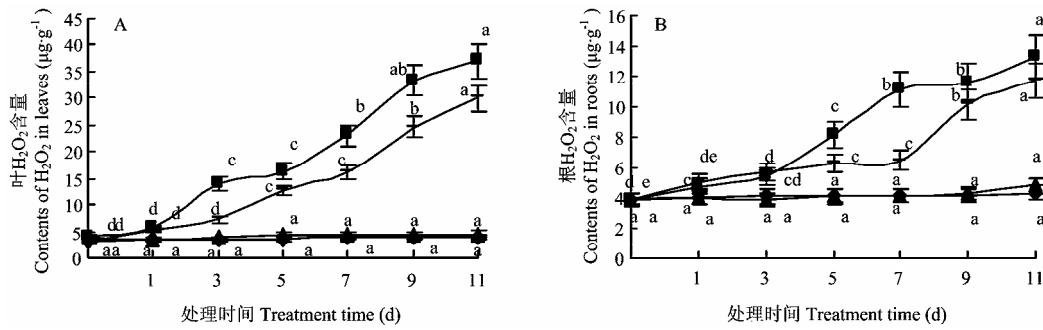


图 5 低氧胁迫对猕猴桃幼苗叶 (A) 和根 (B) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 变化的影响

Fig. 5 Effects of hypoxia stress on contents of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in leaves (A) and roots (B) of Chinese gooseberry seedlings

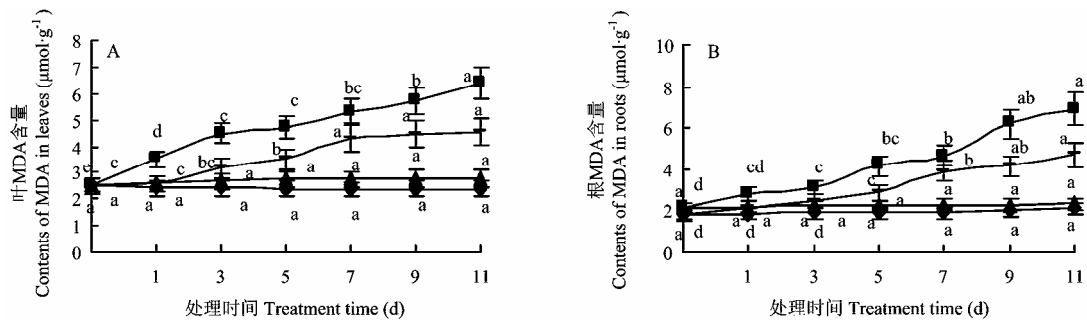


图 6 低氧胁迫对猕猴桃幼苗叶 (A) 和根 (B) MDA 含量变化的影响

Fig. 6 Effects of hypoxia stress on contents of MDA in leaves (A) and roots (B) of Chinese gooseberry seedlings

胁迫前 7 d 上升缓慢, 以后增加幅度加大。表明前 7 d 内保护酶活性的升高, 有效地清除了活性氧自由基, 降低了膜脂过氧化程度。随着胁迫时间的延长, 各种保护酶协同清除活性氧的综合能力降低, 猕猴桃叶和根细胞膜脂过氧化程度加重, 质膜透性增加。

2.6 低氧胁迫下猕猴桃幼苗内 SOD、POD、CAT、O<sub>2</sub><sup>-</sup>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、MDA、RPMP 间的相关分析

经相关分析 (表) 表明, 低氧胁迫下猕猴桃体内 CAT、SOD 与 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量呈显著负相关; POD 与之呈显著正相关。可见, 有效清除低氧胁迫生成 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的主要是 CAT、SOD。与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量呈显著负相关的是 CAT; 呈显著正相关的是 SOD、MDA、RPMP。与 MDA 含量呈显著负相关的是 POD、CAT; 呈显著正相关的是 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。与 RPMP 含量呈显著正相关的是 MDA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 呈显著负相关的是 POD、CAT。

3 讨论

SOD 是 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 主要的清除剂, 能将 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 歧化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在 CAT 作用下被分解成 H<sub>2</sub>O 和 O<sub>2</sub>, 从而抑

表 低氧胁迫下猕猴桃幼苗叶和根 SOD、POD、CAT、O<sub>2</sub><sup>-</sup>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、MDA、RPMP 间的相关系数

Table The correlation coefficient of SOD, POD, CAT, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MDA, RPMP in leaves and roots of Chinese gooseberry seedlings under hypoxia stress

	SOD	POD	CAT	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	MDA
叶 Leaf						
POD	-0.626					
CAT	0.541	-0.161				
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	-0.738	0.328	-0.817			
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.586	-0.399	-0.732	-0.176		
MDA	0.332	-0.877	-0.604	-0.234	0.873	
RPMP	0.432	-0.754	-0.646	-0.222	0.928	0.980
根 Root						
POD	-0.506					
CAT	0.611	-0.215				
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	-0.808	0.599	-0.893			
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.621	-0.218	-0.820	-0.257		
MDA	0.398	-0.638	-0.522	-0.179	0.849	
RPMP	0.451	-0.671	-0.535	-0.210	0.895	0.946

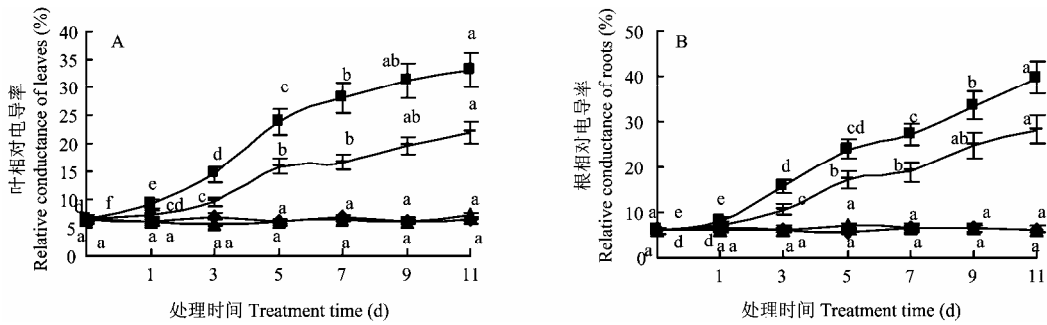


图 7 低氧胁迫对猕猴桃幼苗叶 (A) 和根 (B) 质膜透性变化的影响

Fig. 7 Effects of hypoxia stress on relative conductance in leaves (A) and roots (B) of Chinese gooseberry seedlings

制膜脂氧化, 减少膜系统的伤害。表说明, 低氧胁迫下猕猴桃体内 CAT、SOD 与  $O_2^-$  含量呈显著负相关; CAT 与  $H_2O_2$  含量呈显著负相关; POD、CAT 与 MDA 含量呈显著负相关。可见低氧胁迫时, 清除猕猴桃体内  $O_2^-$  的主要酶类是 CAT、SOD; 清除  $H_2O_2$  的主要酶类是 CAT; 降低 MDA 含量的主要酶类是 POD、CAT。因此在猕猴桃中, CAT 对清除活性氧的贡献率最大, 是清除自由基的关键酶。

本试验结果表明, 短时间的低氧胁迫显著提高了猕猴桃体内 SOD、POD、CAT 的活性, 这对其增强抗低氧能力具有积极作用。但不同品种的猕猴桃之间抗氧化系统的调节机制存在明显差异。与对低氧敏感的‘红阳’猕猴桃相比, 抗性较强的‘秦美’猕猴桃叶、根内 SOD、POD、CAT 的活性较高, 最大值出现的时间早且维持的时间较长。此外在处理的 11 d 内, 胁迫的时间越长这两种猕猴桃间的差异越显著。可见在应对低氧胁迫方面, ‘秦美’猕猴桃比‘红阳’猕猴桃抗氧化系统自动调节适应机制启动得迅速, 而且这种清除活性氧的平衡机制持续的时间也较长。猕猴桃这种差异性可能与它们长期适应环境进化形成的不同基因型有关。这也为从大量猕猴桃资源中选育抗低氧能力强的砧木及品种提供了理论依据。

本研究发现, 猕猴桃遭受低氧胁迫初期, 叶、根内 SOD 活性短期内下降, POD 和 CAT 活性增加。可能是因为 SOD 作为一种诱导酶, 受底物活性氧浓度的诱导, 胁迫初期活性氧的积累量还不足以诱导 SOD 活性发生显著变化。猕猴桃这种胁迫初期维持较低 SOD 和较高 CAT、POD 活性的能力, 既可防止  $H_2O_2$  的积累, 同时又可避免  $H_2O_2$  和  $O_2^-$  发生反应生成毒性更强的羟基自由基, 起到了主动防御的作用。随胁迫时间的延长, 活性氧和自由基积累增多, 促使 SOD、CAT、

POD 活性迅速增加, 维持了活性氧代谢平衡, 保护了膜结构, 进一步减轻活性氧对植株的伤害, 这也是植物长期进化适应低氧逆境的一种应对机制<sup>[22]</sup>。

就低氧胁迫产生的活性氧对猕猴桃的伤害程度而言, 两种猕猴桃体内  $H_2O_2$  和  $O_2^-$ , MDA 含量均有不同程度积累, 但对低氧敏感的‘红阳’猕猴桃增加幅度较大, 维持高含量的时间较长, 表明相同处理条件下, ‘红阳’猕猴桃遭受低氧伤害的程度比‘秦美’猕猴桃重。

猕猴桃遭受根际低氧胁迫时, 活性氧的产生主要因根系供氧不足引起的。活性氧的产生机制, 目前被分为酶式和非酶式两种途径。正常条件下氧浓度高于  $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  非常充足, 末端氧化酶被氧完全饱和, 酶式  $O_2$  还原速率达到最大; 胁迫条件下非酶式单电子还原, 导致  $O_2^-$  产生, 活性氧积累。氧浓度低于  $5 \times 10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 末端氧化酶不能饱和, 呼吸速率受限, 无活性氧积累<sup>[23-24]</sup>; 氧浓度介于  $5 \times 10^{-7} \sim 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 末端氧化酶基本被饱和, 但由于反应速率过低,  $O_2^-$  仍会生成。氧浓度的降低, 使得呼吸链电子传递受阻, ATP 合成受抑, 电子发生泄漏, 体内氧化代谢紊乱,  $O_2^-$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、 $H_2O_2$  等活性氧大量累积, 造成膜脂氧化, 细胞膜的结构和功能受到破坏, 植株耐低氧性降低。本试验水培液溶氧浓度为  $0.9 \sim 1.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $2.813 \times 10^{-5} \sim 3.125 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 介于  $5 \times 10^{-7} \sim 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 所以猕猴桃体内  $O_2^-$  仍会积累, 但活性氧主要来源于呼吸链电子传递过程中的电子泄漏。另外, 低氧胁迫下细胞内能荷降低、还原力提高、细胞质酸化、有害的  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Cu}^{2+}$  等低价阳离子过剩等因素也都能促进活性氧的积累<sup>[11]</sup>。

本试验表明低氧胁迫下猕猴桃幼苗抗氧化机制不但存在品种间差别, 叶和根还存在不同的感受和适应

机理。以‘红阳’猕猴桃为例,低氧处理时叶内 SOD (图 1)、POD (图 2)、CAT (图 3) 活性最大值分别出现在第 5、5 和 5 天;比对照分别增加 121%、52.7%、60.0%。而根内 SOD、POD 和 CAT 活性最大值分别出现在第 3、5 和 5 天;比对照分别增加 267%、88.2%和 32.8%。同时 Ellis 等<sup>[25]</sup>研究发现,外施 ABA 可提高拟南芥根系的抗低氧能力,而对叶却不起作用。可见猕猴桃叶和根对低氧胁迫的敏感程度、内部抗氧化系统的调节和自由基的清除效率都有差异,这种差异可能和叶、根之间的信号传导或激素调控密切相关。原因尚需进一步研究。

## 4 结 论

4.1 低氧胁迫下不同品种的猕猴桃体内抗氧化系统调节机制和活性氧的清除能力不同。抗性较强的‘秦美’猕猴桃在低氧下保持了较高的 SOD、POD、CAT 活性,体内抗氧化平衡机制启动迅速、清除活性氧自由基的能力较强;膜质过氧化程度较低,细胞受到的损伤小,植株受到的伤害轻。

4.2 低氧胁迫下,猕猴桃体内 CAT 对清除活性氧的贡献率最大,是清除自由基的关键酶。

4.3 猕猴桃叶和根对低氧胁迫的感受和适应机理不同。

## References

- [1] 郭世荣, 橘昌司, 李谦盛. 营养液温度和溶解氧浓度对黄瓜植株氮化合物含量的影响. 植物生理与分子生物学报, 2003, 29(6): 593-596.
- Guo S R, Ju C S, Li Q S. Effects of temperature and dissolved oxygen concentration of nutrient solution on the nitrogenous compound content in plants of *Cucumis sativus* L. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2003, 29(6): 593-596. (in Chinese)
- [2] Hisashi K N. Anoxia tolerance in rice roots accumulated by several different periods of hypoxia. *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160: 565-568.
- [3] Fukao T, Bailey-Serres J. Plant responses to hypoxia-is survival a balancing act? *Trends in Plant Science*, 2004, 9(9): 449-456.
- [4] 胡晓辉, 郭世荣, 李 璟, 王素平, 贾永霞. 低氧胁迫对黄瓜幼苗根系无氧呼吸酶和抗氧化酶活性的影响. 武汉植物学研究, 2005, 23(4): 337-341.
- Hu X H, Guo S R, Li J, Wang S P, Jia Y X. Effects of hypoxia stress on anaerobic respiratory enzyme and antioxidant enzyme activities in roots of cucumber seedlings. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2005, 23(4): 337-341. (in Chinese)
- [5] 高洪波, 郭世荣, 汪 天. 根际低氧胁迫对网纹甜瓜硝酸盐氮、铵态氮和蛋白质含量的影响. 园艺学报, 2004, 31(2): 236-238.
- Gao H B, Guo S R, Wang T. Effect of root-zone hypoxia on  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  and protein contents of muskmelon seedlings. *Acta Horticulturae Sinica*, 2004, 31(2): 236-238. (in Chinese)
- [6] 刘文革, 阎志红, 王 川, 张红梅. 西瓜幼苗抗氧化系统对淹水胁迫的响应. 果树学报, 2006, 23(6): 860-864.
- Liu W G, Yan Z H, Wang C, Zhang H M. Response of antioxidant defense system in watermelon seedling subjected to waterlogged stress. *Journal of Fruit Science*, 2006, 23(6): 860-864. (in Chinese)
- [7] 王义强, 谷文众, 姚水攀, 唐隆平, 蒋舜村. 淹水胁迫下银杏主要生化指标的变化. 中南林学院学报, 2005, 25(3): 78-80.
- Wang Y Q, Gu W Z, Yao S P, Tang L P, Jiang S C. Variation of the main biochemistry index of ginkgo under flooding stress. *Journal of Central South Forestry University*, 2005, 25(3): 78-80. (in Chinese)
- [8] Drew M C. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and accumulation under hypoxia and anoxia. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1997, 48: 223-250.
- [9] 晏 斌, 戴秋杰, 刘晓忠, 黄少白, 王志霞. 玉米叶片涝渍伤害过程中超氧自由基的积累. 植物学报, 1995, 37(9): 738-744.
- Yan B, Dai Q J, Liu X Z, Huang S B, Wang Z X. Accumulation of superoxide radical in corn leaves during waterlogging. *Acta Botanica Sinica*, 1995, 37(9): 738-744. (in Chinese)
- [10] Garmczarska M, Bednarski W. Effect of a short-time hypoxic treatment followed by re-aeration on free radicals level and antioxidative enzymes in lupine roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004, 42: 233-240.
- [11] 高洪波, 郭世荣. 外源  $\gamma$ -氨基丁酸对营养液低氧胁迫下网纹甜瓜幼苗抗氧化酶活性和活性氧含量的影响. 植物生理与分子生物学报, 2004, 30(6): 651-659.
- Gao H B, Guo S R. Effects of exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid on antioxidant enzyme activity and reactive oxygen content in muskmelon seedlings under nutrient solution hypoxia stress. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2004, 30(6): 651-659. (in Chinese)
- [12] Keyhani E, Ghamsari L, Keyhani J, Hadizadeh M. Antioxidant enzymes during hypoxia-anoxia signaling events in *Crocus sativus* L. corm. *New York Academy of Sciences*, 2006, 1091(1): 65-75.
- [13] 康云艳, 郭世荣, 段九菊, 胡晓辉. 24-表油菜素内酯对低氧胁迫下黄瓜根系抗氧化系统及无氧呼吸酶活性的影响. 植物生理与分子生物学报, 2006, 32(5): 535-542.
- Kang Y Y, Guo S R, Duan J J, Hu X H. Effects of 24-epibrassinolide



- on antioxidant system and anaerobic respiratory enzyme activities in cucumber roots under hypoxia stress. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2006, 32 (5): 535-542. (in Chinese)
- [14] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 167-169.
- Li H S. *Plant Physiological-Biochemical Principles and Techniques*. Beijing: High Education Press, 2000: 167-169. (in Chinese)
- [15] 曾韶西, 王以柔, 刘鸿先. 低温光照下与黄瓜子叶叶绿素降低有关的酶促反应. *植物生理学报*, 1991, 17(2): 177-182.
- Zeng S X, Wang Y R, Liu H X. Some enzymatic reactions related to chlorophyll degradation in cucumber cotyledons under chilling in the light. *Acta Phytophysiological Sinica*, 1991, 17(2): 177-182. (in Chinese)
- [16] Dhindsa R S, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 1981, 32(1): 93-101.
- [17] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系. *植物生理学通讯*, 1990, (6): 55-57.
- Wang A G, Luo G H. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants. *Plant Physiology Communications*, 1990, (6): 55-57. (in Chinese)
- [18] Uchida A, Jagendorf A T, Hibino T, Takabe T, Takabe T. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Science*, 2002, 163: 515-523.
- [19] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 孟庆伟. 植物组织中丙二醛测定方法的改进. *植物生理学通讯*, 1991, 30(3): 207-210.
- Zhao S J, Xu C C, Zou Q, Meng Q W. Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues. *Plant Physiology Communications*, 1991, 30(3): 207-210. (in Chinese)
- [20] 郝再彬, 苍晶, 徐仲. 植物生理实验. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004: 101-104.
- Hao Z B, Cang J, Xu Z. *Experiment of Plant Physiology*. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2004: 101-104. (in Chinese)
- [21] Biemelt S, Keetman U, Mock H-P, Grimm B. Expression and activity of isoenzymes of superoxide dismutase in wheat roots in response to hypoxia and anoxia. *Plant, Cell & Environment*, 2000, 23: 135-144.
- [22] Blokhina O B, Chirkova T V, Fagerstedt K V. Anoxic stress leads to hydrogen peroxide formation in plant cells. *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52(359): 1179-1190.
- [23] Skulachev V P. Membrane-linked systems preventing superoxide formation. *Bioscience Reports*, 1997, 17(3): 347-366.
- [24] Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt K V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 2003, 91: 179-194.
- [25] Ellis M H, Dennis E S, Peacock W J. Arabidopsis roots and shoots have different mechanisms for hypoxic stress tolerance. *Plant Physiology*, 1999, 119: 57-64.

(责任编辑 曲来娥)