

文章编号:1000-694X(2012)03-683-08

逐渐干旱胁迫下生物土壤结皮中真藓和土生对齿藓的活性氧清除机制

石 勇^{1,2}, 赵 昕^{1,2*}, 贾荣亮², 李新荣^{1,2}

(1. 中国科学院寒区旱区环境与工程研究所 植物逆境生理生态与生物工程实验室, 甘肃 兰州 730000; 2. 中国科学院寒区旱区环境与工程研究所 沙坡头沙漠试验研究站, 甘肃 兰州 730000)

摘 要: 真藓(*Bryum argenteum*)和土生对齿藓(*Didymodon vinealis*)是腾格里沙漠南缘沙坡头地区生物土壤结皮中重要的藓类植物组成成分。我们以真藓和土生对齿藓为材料,研究了逐渐干旱胁迫下两者的活性氧(ROS)清除机制及其差别。结果表明,逐渐干旱胁迫下,真藓的 H_2O_2 含量略微升高,丙二醛(MDA)含量显著下降,可溶性蛋白含量变化不大。在逐渐干旱胁迫下,真藓以过氧化氢酶(CAT)为主,超氧化物歧化酶(SOD)为辅,清除其体内活性氧自由基(ROS),抗坏血酸过氧化物酶(APX)和过氧化物酶(POD)作用不明显,而谷胱甘肽还原酶(GR)和还原性谷胱甘肽(GSH)则主要在中度干旱胁迫下起作用。逐渐干旱胁迫下,土生对齿藓的 H_2O_2 和 MDA 含量均显著上升,而可溶性蛋白含量显著下降。在逐渐干旱胁迫下,土生对齿藓以 GSH 为主,SOD、CAT 为辅,清除其体内 ROS,APX 和 GR 的作用不明显,而 POD 则主要在中度干旱胁迫下起主要作用。

关键词: 真藓; 土生对齿藓; 活性氧; 逐渐干旱胁迫

中图分类号: Q945.1 **文献标识码:** A

干旱胁迫与植物膜脂过氧化及保护酶系统关系的研究已受到普遍重视^[1]。干旱胁迫可以加剧植物体内活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)的产生,ROS 包括超氧化物阴离子($O_2^{\cdot-}$)和羟自由基(OH^{\cdot}),过氧化氢(H_2O_2)和单线态氧(1O_2)等。这些物质十分活跃,被认为是植物代谢过程中的毒副产品,它们能够氧化植物体内膜系统,导致生物膜脂过氧化、蛋白质变性、DNA 链断裂^[2-3]以及光合作用受阻等多种有害的细胞学效应。ROS 一旦超出了植物的清除能力会造成植物体氧化损伤^[4],严重时导致植物细胞死亡^[5]。为了适应外界的逆境条件,植物在长期进化中已形成了清除活性氧自由基、抑制膜脂过氧化作用的酶促和非酶促系统,前者主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)等酶类,后者主要是维生素 C(Vc)、维生素 E(Ve)、类胡萝卜素(Car)和谷胱甘肽(GSH)等小分子抗氧化物质^[6-7]。

生物土壤结皮是微生物、藻类、地衣、苔藓植物类群与土壤共同形成的有机复合体^[8],广泛存在于干旱、半干旱地区^[9],对维持沙丘固定起着重要作

用。藓类植物是生物土壤结皮层的优势成分^[10],对于维持生物土壤结皮的稳定,抵御风蚀、水蚀起着关键性作用^[11]。它们形态结构相对简单,但可以生存于极端干旱、高温、贫瘠和高 pH 值等极端环境中。人们对生物土壤结皮中苔藓的干旱适应性形态特征和繁殖特性已有了相关报道^[12-13],但有关其生理生化抗逆机制的研究报道较少^[14]。

真藓(*Bryum argenteum*)和土生对齿藓(*Didymodon vinealis*)是沙坡头地区生物土壤结皮藓类植物重要组成成分,因此,本试验以真藓与土生对齿藓为试验材料,研究了逐渐干旱胁迫下真藓和土生对齿藓活性氧清除机制,探讨两者的抗旱机理差异,有助于理解二者在生物土壤结皮生态恢复过程中的重要作用。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

试验材料来自沙坡头试验站,位于腾格里沙漠东南缘的宁夏回族自治区中卫县沙坡头地区,地理坐标为 $37^{\circ}27'N, 104^{\circ}57'E$ 。本区域属于草原化荒漠

收稿日期:2011-03-18; 改回日期:2011-05-24

基金项目:国家自然科学基金项目(30770343,40825001)资助

作者简介:石勇(1986—),男,湖南人,硕士研究生,主要从事荒漠植被研究。Email: shiy05@gmail.com

* 通讯作者:赵昕(Email: zhaox@lzb.ac.cn)

地带,也是沙漠与绿洲的过渡区^[15],具有寒冷、干燥、多风的气候特征。年平均降水量 186.2 mm,多集中于 7—9 月。年蒸发量 3 000 mm,年平均相对湿度仅 43%,属于极端干旱区,水是该地区生态系统过程的驱动力和关键的非生物限制因子^[16]。试验材料为生物土壤结皮中优势组分真藓和土生对齿藓,经室内培养一段时间后,采取给予定量水分湿润,然后断水逐渐干旱的胁迫处理。分别取断水后 1 h(对照,测得植株含水量为 75%),24 h(中度干旱胁迫,测得植株含水量为 30%)和 48 h(重度干旱胁迫,测得植株含水量为 10%)的真藓和土生对齿藓地上部分为试验材料。为避免瞬时水分的影响,提取样本时用液氮研磨,提取相应物质,测定各项指标,每个指标测定 3 个重复。用 Excel 2007 和 SPSS 16.0 以及 origin 8.0 统计分析软件对数据进行计算、相关性分析及绘图。

1.2 过氧化氢和丙二醛含量的测定

H_2O_2 含量测定按 Sergive^[17] 方法进行。

丙二醛(MDA)含量按 Fryer 等^[18] 方法测定,略有改动。取不同时间段水分含量的植株地上部分各 0.1 g,加 4 ml 含 10% 的三氯乙酸(TCA)和 0.25% 的硫代巴比妥酸(TBA)研磨,95 °C 加热 30 min,冰浴冷却,10 000 g 离心 10 min。取上清于 OD_{532} , OD_{600} 处测定光吸收。

MDA 含量计算公式:

$$MDA(\mu\text{mol}/\text{ml}) = 6.45 \times (OD_{532} - OD_{600}) - 0.560$$

1.3 可溶性蛋白的提取和抗氧化系统酶活性的测定

称取苔藓地上部分茎叶(约 0.2 g)在液氮中研磨成粉末,悬浮于 3 ml 预冷的磷酸缓冲液中(50 mmol · L⁻¹ 磷酸钾缓冲液, pH 值为 7.8, 5 mmol · L⁻¹ DTT, 5 mmol · L⁻¹ EDTA 和 2% PVP),悬浮液于 15 000 g 下离心 15 min,上清液为提取可溶性蛋白,用于酶活性测定。以上操作均在 0~4 °C 下进行。

样品的总可溶性蛋白质浓度按照 Bradford^[19] 的方法测定,以 10~100 μg 牛血清白蛋白(BSA)作标准曲线。

SOD 活性按照 Beyer 等^[20] 的方法测定。APX 活性按照 Aebi^[21] 的方法测定。CAT 活性按照 Aebi^[22] 的方法测定。POD 活性按 Maehly 等^[23] 的方

法测定。GR 活性按照 Smith 等^[24] 的方法测定。GSH 含量按照 Anderson 等^[25] 的方法测定。

2 结果

2.1 苔藓过氧化氢、丙二醛和可溶性蛋白含量的变化

H_2O_2 是植物体内主要的 ROS 之一,其含量变化在一定程度上可以反应 ROS 的产生情况。如图 1 所示,逐渐干旱胁迫下,真藓的 H_2O_2 含量有少量增加,但没有显著差异且含量较低。土生对齿藓的 H_2O_2 含量随干旱胁迫加剧显著增加,尤其是在重度干旱胁迫下, H_2O_2 含量较对照增加了近 87%。

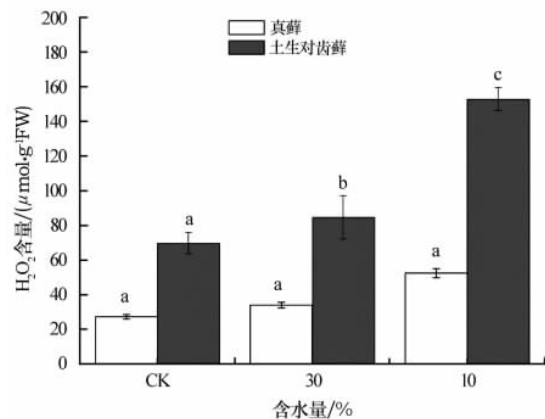


图 1 逐渐干旱胁迫对真藓和土生对齿藓 H_2O_2 含量的影响
[数据为平均值±标准误;同一图中,不同字母表示差异显著($P < 0.05$),以下同]

Fig. 1 Effects of gradual drought stress on H_2O_2 contents in *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis*

植物在逆境胁迫下,细胞原生质膜中的不饱和脂肪酸受 ROS 攻击易发生脂质过氧化,形成脂氢过氧化物(ROOH)。ROOH 可以分解产生 MDA,因此,MDA 的含量可以反映膜脂过氧化作用的强弱^[26]。从图 2 可以看出,逐渐干旱胁迫下真藓和土生对齿藓的 MDA 含量变化不一致。随着干旱胁迫的程度增加,真藓的 MDA 含量降低得十分显著,中度干旱胁迫较对照降低了 34%,重度干旱胁迫较对照降低了近 80%。而逐渐干旱胁迫下,土生对齿藓的 MDA 含量增加较平缓:中度干旱胁迫较对照没有明显变化,重度干旱胁迫较对照有显著增加,但较中度干旱胁迫没有明显变化。

当植物遭受干旱胁迫时,很容易导致蛋白质氧化损伤。活性氧能够氧化很多种蛋白质氨基酸残基(如 Arg, His, Lys, Pro, Thr 和 Trp 等)形成羰基化蛋白质,从而导致可溶性蛋白含量减少。因此,检测

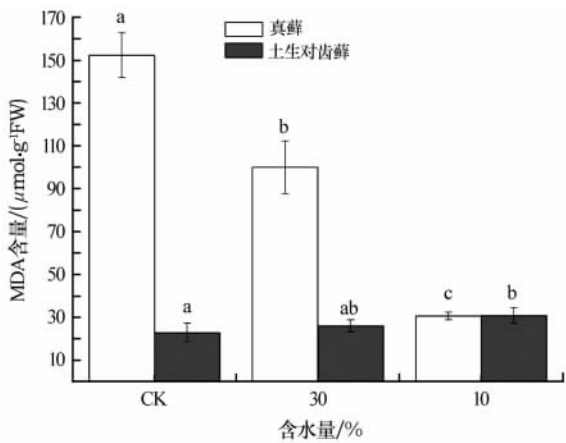


图 2 逐渐干旱胁迫对真藓和土生对齿藓 MDA 含量的影响
Fig. 2 Effects of gradual drought stress on MDA contents in *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis*

可溶性蛋白含量可用来评价蛋白质氧化损伤情况^[27]。逐渐干旱胁迫下,真藓和土生对齿藓的可溶性蛋白含量都有所下降(图 3)。随着干旱胁迫的程度增加,真藓的可溶性蛋白含量有略微降低,但无显著差异。土生对齿藓的可溶性蛋白含量在中度干旱胁迫下显著降低,降低了近 75%,重度干旱胁迫较对照显著降低,降低了近 80%,但重度干旱胁迫较中度干旱胁迫无显著差异。

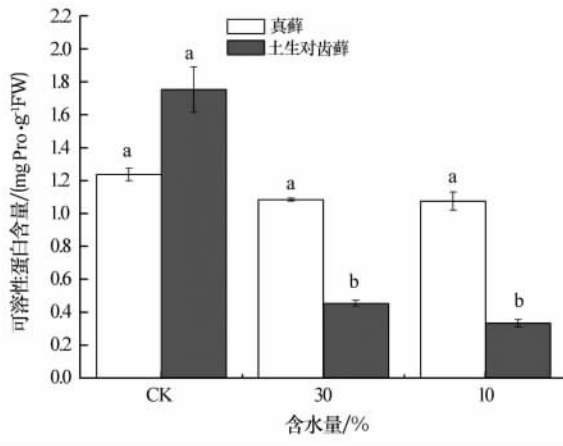


图 3 逐渐干旱胁迫对真藓和土生对齿藓可溶性蛋白含量的影响

Fig. 3 Effects of gradual drought stress on soluble protein contents in *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis*

2.2 苔藓抗氧化系统酶活性变化

2.2.1 苔藓 SOD 活性的变化

SOD 是膜脂过氧化防御系统的主要保护酶,能歧化 $O_2^{\cdot -}$ 成 H_2O_2 , 是清除活性氧的第一道防线^[28]。较高的 SOD 活性是植物抵抗逆境胁迫的生

理基础。从图 4 可以看出,逐渐干旱胁迫下,真藓和土生对齿藓的 SOD 活性虽然有所变化,但均没有显著差异。

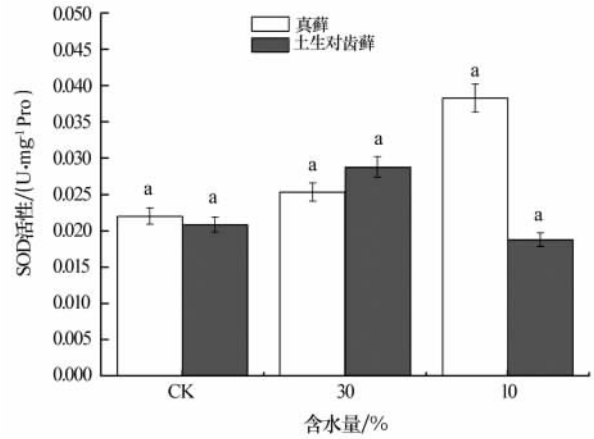


图 4 逐渐干旱胁迫对真藓和土生对齿藓 SOD 活性的影响
Fig. 4 Effects of gradual drought stress on SOD activities of *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis*

2.2.2 苔藓 POD 活性的变化

POD 是植物体内普遍存在的一种酶,参与植物的生长发育以及多种生理生化代谢过程和对逆境的适应调节机制。POD 可清除多种类型的活性氧,在植物体内清除活性氧过程中起着重要作用。在逐渐干旱胁迫下,真藓和土生对齿藓的 POD 活性变化不一致(图 5)。真藓 POD 活性随着干旱胁迫加剧而下降,中度干旱胁迫较对照有所降低,但没有显著差异,而重度干旱胁迫较对照有显著降低,降低了近 90%。土生对齿藓 POD 活性随着干旱胁迫程度加剧先增加后减少,中度干旱胁迫较对照有显著增加,

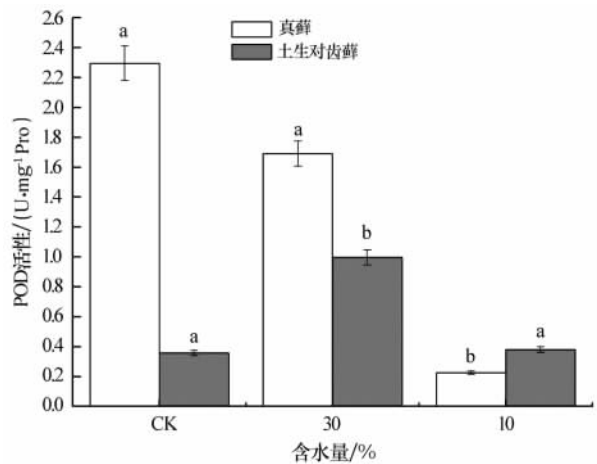


图 5 逐渐干旱胁迫对真藓和土生对齿藓 POD 活性的影响
Fig. 5 Effects of gradual drought stress on POD activities of *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis*

增加了近 3 倍;重度干旱胁迫较中度干旱胁迫有显著降低,降低了近 60%。

2.2.3 苔藓 CAT 活性的变化

CAT 不仅是植物中清除 H_2O_2 的关键酶,而且是植物耐受胁迫所必需的保护酶^[29],它催化 H_2O_2 生成 H_2O ,此反应不需要另外的动力。逐渐干旱胁迫下,真藓的 CAT 活性显著增加,中度干旱胁迫较对照增加了 37%,重度干旱胁迫较对照增加了 73% (图 6)。而土生对齿藓的 CAT 活性在逐渐干旱胁迫下的变化没有显著差异。

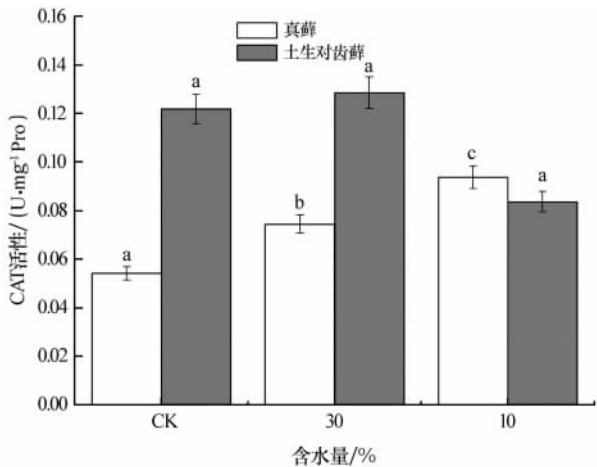


图 6 逐渐干旱胁迫对真藓和土生对齿藓 CAT 活性的影响
Fig. 6 Effects of gradual drought stress on CAT activities of *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis*

2.2.4 苔藓 APX 活性的变化

APX 是植物 AsA-GSH 氧化还原途径的重要组成部分之一。APX 利用 AsA 为电子供体将 H_2O_2 转化为 H_2O ,是植物体中清除 H_2O_2 的关键酶。随着干旱胁迫的程度增加,真藓和土生对齿藓的 APX 活性都会降低 (图 7)。真藓的 APX 活性随着干旱

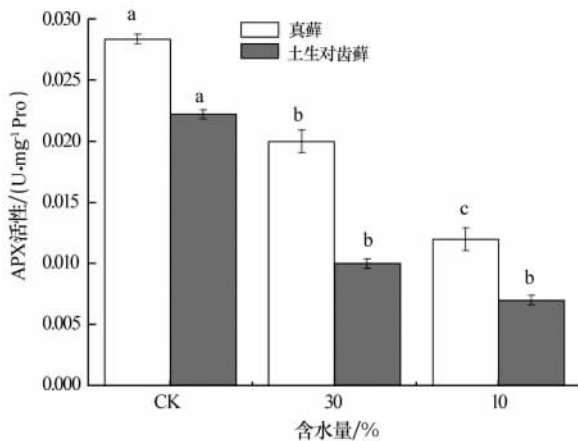


图 7 逐渐干旱胁迫对真藓和土生对齿藓 APX 活性的影响
Fig. 7 Effects of gradual drought stress on APX activities of *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis*

胁迫程度增加而显著下降,中度干旱胁迫较对照下降了 29%,重度干旱胁迫较对照下降了 58%。土生对齿藓的 APX 活性在中度干旱胁迫下较对照有显著下降,降低了约 55%;重度干旱胁迫下 APX 活性较对照显著下降,降低了约 69%。但重度干旱胁迫较中度干旱胁迫但没有显著变化。

2.2.5 苔藓 GR 活性和 GSH 含量的变化

GR 通过参与 AsA-GSH 循环而在细胞活性氧的清除中起重要作用。在氧化胁迫反应中,它对于保护细胞内的谷胱甘肽库大部分处于还原状态起着关键的作用(谷胱甘肽完成它的生理功能必须保持还原的状态)。由图 8 可以看出,随着干旱胁迫程度的增加,真藓和土生对齿藓的 GR 活性变化完全相反。逐渐干旱胁迫下,真藓的 GR 活性有所增加。中度干旱胁迫较对照有显著增加,重度干旱胁迫较对照也有显著增加,但重度干旱胁迫较中度干旱胁迫变化不大。然而,逐渐干旱胁迫下,土生对齿藓的 GR 活性显著下降,中度干旱胁迫较对照降低了近 25%,重度干旱胁迫较对照降低了近 63%。

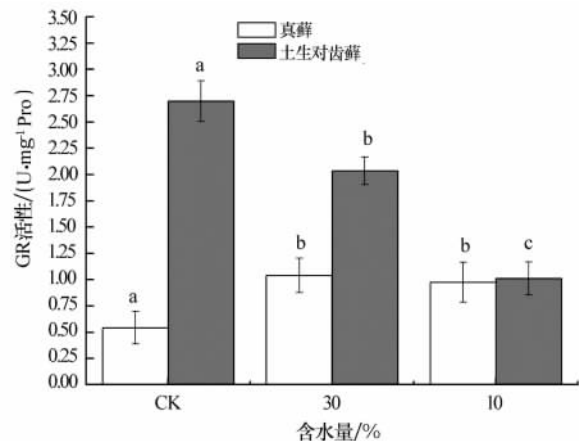


图 8 逐渐干旱胁迫对真藓和土生对齿藓 GR 活性的影响
Fig. 8 Effects of gradual drought stress on GR activities of *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis*

GSH 是普遍存在于植物组织中的小分子量抗氧化物质,在缓减氧化胁迫、抵御逆境伤害方面具有非常重要的作用^[30]。它不但可直接同活性氧自由基反应将其还原,还可与 APX、GR 等一起形成 AsA-GSH 循环参与清除 H_2O_2 ^[31]。随着干旱胁迫程度地增加,真藓和土生对齿藓的 GSH 含量变化并不一致(图 9)。真藓的 GSH 含量随着干旱胁迫加剧先增加后减少,中度干旱胁迫较对照有显著增加,增加了近一倍,重度干旱胁迫较中度干旱胁迫有显著降低,降低了近 18%。而土生对齿藓的 GSH 含量随着干旱胁迫加剧显著增加,中度干旱胁迫较

对照增加了 58%, 重度干旱胁迫较对照增加了近 80%。

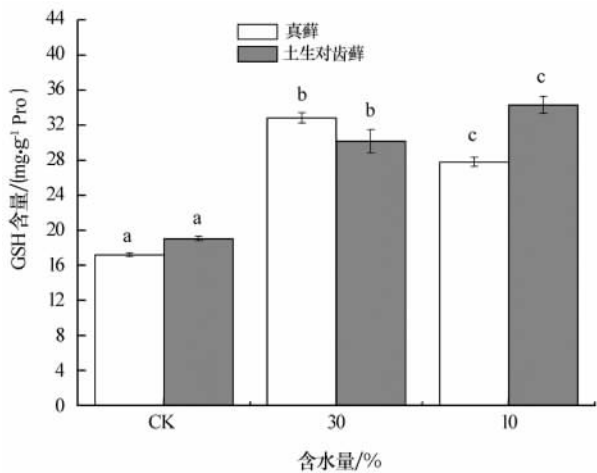


图9 逐渐干旱胁迫对真藓和土生对齿藓 GSH 含量的影响
Fig. 9 Effects of gradual drought stress on GSH contents in *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis*

3 讨论

任何环境胁迫都会干扰细胞的正常代谢, 诱发 ROS 的积累从而产生氧化胁迫^[32]。干旱胁迫使植物细胞产生大量的 ROS, 使植物体内的活性氧代谢失调, 对植物造成伤害。H₂O₂ 是植物体内重要的活性氧分子, 在植物内所引起的脂质过氧化可造成组织和细胞的损伤, 具有较高的活性和毒性。在逐渐干旱胁迫下, 真藓的 H₂O₂ 含量增加的幅度很小, 不是很明显, 但土生对齿藓的 H₂O₂ 含量增加得十分显著, 而且干旱胁迫越严重, H₂O₂ 积累得越多(见图 1)。陈立松等^[33]研究表明, 水分胁迫不同程度地增加了荔枝(*Litchi chinensis*) 叶片 H₂O₂ 的含量, 抗旱性强的品种 H₂O₂ 含量增加幅度均小于抗旱性弱的品种。类似的, 真藓的 H₂O₂ 含量增加的幅度很小, 很可能是因为真藓较土生对齿藓有更强的 H₂O₂ 清除能力或抗氧化能力。

MDA 是膜脂过氧化的主要产物之一, 是有细胞毒性的物质, 能够引起细胞膜功能紊乱。逐渐干旱胁迫下, 土生对齿藓的 MDA 含量缓慢增加(见图 2), 是因为干旱胁迫导致活性氧累积, 从而引发膜脂过氧化反应, 膜脂遭到活性氧攻击后严重受损^[34], 造成 MDA 的积累, 膜透性增大, 与左利萍等^[35]对红砂叶片的研究结果一致。而真藓 MDA 含量随干旱胁迫的程度增加反而降低(见图 2), 与土生对齿藓 MDA 变化完全相反, 很有可能是因为真藓有更

强的抵抗氧化胁迫和膜脂修复能力, 具体原因有待进一步研究。耐旱极强的真藓, 膜质过氧化水平低, 至少部分是由于干旱胁迫诱导真藓叶片中 CAT 和 GR 活性增强、GSH 含量增加(见图 6, 图 8, 图 9), 使其能及时清除干旱胁迫引起的活性氧的缘故。

可溶性蛋白含量是植物体代谢过程中蛋白质损伤的重要指标, 其变化可以反映细胞内蛋白质合成、变性及降解等多方面的信息^[36]。在干旱条件下, 植物体内可能产生更多的蛋白质或者细胞内一些不溶性蛋白转变为可溶性蛋白^[37-39]。但这与本次试验结果不相符。逐渐干旱胁迫下, 真藓的可溶性蛋白含量的变化不大, 但土生对齿藓的可溶性蛋白含量显著下降(见图 3)。韩蕊莲等^[40]对沙棘(*Hippophae rhamnoides*) 叶的研究表明, 通常轻度干旱胁迫导致可溶性蛋白含量上升, 而重度或中度干旱胁迫导致可溶性蛋白含量下降。长时间严重干旱使沙棘体内分解代谢大于合成代谢, 可溶性蛋白大量降解, 且胁迫程度越强, 降解幅度越大。本试验中土生对齿藓可溶性蛋白含量变化规律与以上研究结果基本一致, 韩蕊莲的研究结果也可以解释本试验中土生对齿藓在逐渐干旱胁迫下可溶性蛋白含量都减少的现象。但真藓的可溶性蛋白含量降低幅度很小, 很有可能这种程度的干旱无法对真藓造成胁迫。与土生对齿藓相比, 真藓能忍受更极端的干旱胁迫。

SOD、POD、CAT 和 APX 是 4 种重要的清除逆境所产生的氧自由基的保护酶。SOD 能清除 O₂^{·-}, POD、CAT 和 APX 都可以除去干旱胁迫条件下植物体内累积的 H₂O₂。在极端干旱胁迫环境中, 这几种抗氧化酶能保持较高活性是藓类植物在长期进化中形成的一种适应性特征。本次试验结果表明, 固沙生物土壤结皮中重要组分真藓和土生对齿藓的 SOD 活性变化与固沙植物油蒿(*Artemisia ordosica*)^[41] 完全不同。随干旱胁迫加剧, 油蒿的 SOD 活性显著升高, 而真藓和土生对齿藓的 SOD 活性变化都不明显(见图 4), 可能是因为 SOD 在两者清除 O₂^{·-} 的过程中只起到辅助作用, 具体原因有待进一步研究。

CAT、POD 和 APX 是植物清除 H₂O₂ 的重要的保护酶。本次试验中, 真藓的 CAT 活性随干旱胁迫加剧显著升高(见图 6), 而 POD、APX 活性却显著下降(见图 5, 图 7), 但其 H₂O₂ 含量变化不大且保持在较低水平。这说明真藓的 CAT 是清除 H₂

O_2 的主要保护酶,将 H_2O_2 的含量控制到最低水平,减少对其造成氧化损伤,而 POD 和 APX 作用不明显。逐渐干旱胁迫下,土生对齿藓的 CAT 活性没有显著变化(见图 6),APX 活性却显著下降(见图 7),说明 CAT 对于土生对齿藓的 H_2O_2 清除只起到辅助作用,而 APX 作用不明显。其 POD 活性随干旱胁迫加剧表现为先升高后降低(见图 5),与沙伟等^[42]对东亚砂藓(*Racomitrium japonicum*)的研究结果相似。可能是由于中度干旱胁迫诱导土生对齿藓产生了过多的 $O_2^{\cdot-}$,为了防止植物受到严重的伤害,土生对齿藓迅速清除过多的 $O_2^{\cdot-}$,生成的大量 H_2O_2 ,同时引起 POD 活性迅速上升。但在重度干旱胁迫下,POD 活性降低, H_2O_2 含量却剧烈增加,说明过多的活性氧积累超过了土生对齿藓的清除能力。此时的土生对齿藓很可能已经处于休眠状态,类似于许多生长在干旱环境里的苔藓,虽然其植物体几乎与土壤以相同的速度丧失水分,却能在不同程度上忍耐脱水和干旱,随着环境变干可将植物体内的含水量降得很低,以休眠的状态生存^[43]。

植物在遭受胁迫时需动员整个防御系统以抵抗胁迫诱导的氧化伤害,在启动保护酶促清除系统时,更要启动非酶促清除系统保证细胞的正常机能^[44]。GSH 是植物非酶促系统中重要的小分子抗氧化物质,它的一个很重要功能就是通过 AsA-GSH 循环再生 AsA^[45-47]。在这个途径中,GSH 充当氧化还原反应的中介^[45],被氧化成 GSSG,随后通过 GR 还原成 GSH 并维持这一循环,清除 H_2O_2 。逐渐干旱胁迫下,真藓的 GR 活性随着 GSH 含量的升降而升降(见图 8,图 9),说明 GR 是 AsA-GSH 循环的限速酶,在还原 GSH 过程中起着重要的作用。但逐渐干旱胁迫下土生对齿藓的 GR 活性变化却和 GSH 含量变化出现完全相反的结果,GR 的活性下降了,GSH 的含量却一直攀升。这至少说明土生对齿藓和真藓活性氧清除机制中 GSH 响应不同,但更深层的原因有待进一步研究探讨。

4 结论

本试验表明,真藓和土生对齿藓的活性氧清除系统在逐渐干旱胁迫下有着不同的响应机制。

逐渐干旱胁迫下,真藓的 MDA 含量下降, H_2O_2 含量略微升高,但可溶性蛋白含量变化不大。真藓的抗氧化系统在逐渐干旱胁迫下的变化主要

为:CAT 活性增加,GR 活性和 GSH 含量均先增加后降低,SOD 活性变化不大,而 APX 和 POD 活性下降。这表明逐渐干旱胁迫下真藓的 ROS 增加不是很剧烈,而且 CAT 在清除 ROS 过程中起着重要的作用,SOD 则起着辅助作用,而 APX 和 POD 作用不明显。GR 和 GSH 在中度干旱胁迫下清除 ROS 有着重要作用,但在重度干旱胁迫下作用不明显。

逐渐干旱胁迫下,土生对齿藓的 MDA 和 H_2O_2 含量均显著增加,而可溶性蛋白含量显著下降。其抗氧化系统中除了 GSH 含量上升,POD 活性先升后降外,CAT、SOD 活性均变化不大,而 APX 和 GR 活性却下降。这表明逐渐干旱胁迫下,土生对齿藓的 ROS 显著增加且对其造成氧化胁迫,GSH 在清除 ROS 过程中起主要作用,SOD 和 CAT 起辅助作用,而 APX 和 GR 的作用不明显。POD 则在中度干旱胁迫下清除 ROS,在重度干旱胁迫下作用不明显。

参考文献(References):

- [1] 王军辉,查学强,罗建平,等. 干旱胁迫对玉米幼苗脂质过氧化作用及保护酶活性的影响[J]. 安徽农业科学,2006,34(15): 3568-3569,3571.
- [2] Hasegawa P M, Bressan R A, Zhu J K, et al. Plant cellular and molecular response to high salinity[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,2000,51:463-499.
- [3] Mehdy M C. Active oxygen species in plant defense against pathogens[J]. Plant Physiology,1994,105:467-472.
- [4] Sakaki T, Kondo N, Sugahara K. Breakdown of photosynthetic pigments and lipids in spinach leaves with ozone fumigation: Role of active oxygens[J]. Physiologia Plantarum, 1983, 59(1):28-34.
- [5] Mudd J B. Biochemical basis for the toxicity of ozone[M]// Yunus M, Iqbal M. Plant Response to Air Pollution. New York: John Wiley and Sons, 1996:267-284.
- [6] 许长城,邹琦. 大豆叶片早促衰老及其与膜脂过氧化的关系[J]. 山东农业大学学报,1993,19(4):359-364.
- [7] 陈少裕. 膜脂过氧化与植物逆境胁迫[J]. 植物学通报,1989,6(4):211-217.
- [8] Li X R, Zhou H Y, Wang X P, et al. The effects of sand stabilization and revegetation on cryptogam species diversity and soil fertility in the Tengger Desert, Northern China[J]. Plant and Soil,2003,251:237-245.
- [9] 李新荣,贾玉奎,龙利群,等. 干旱半干旱地区土壤微生物结皮的生态学意义及若干研究进展[J]. 中国沙漠,2001,21(1):4

- 11.
- [10] 杨丽雯,周海燕,樊恒文,等. 沙坡头人工固沙植被生态系统土壤恢复研究进展[J]. 中国沙漠,2009,29(6):1116—1123.
- [11] 徐杰,白学良,田桂泉,等. 腾格里沙漠固定沙丘结皮层藓类植物的生态功能及与土壤环境因子的关系[J]. 中国沙漠,2005,25(2):234—242.
- [12] 郑云普,赵建成,张丙昌,等. 荒漠藓类结皮层中齿肋赤藓形态结构适应性及其原丝体发育特征[J]. 中国沙漠,2009,29(5):878—884.
- [13] 魏美丽,张元明. 生物结皮中齿肋赤藓叶片细胞显微与亚显微结构特征[J]. 中国沙漠,2009,29(3):493—498.
- [14] Dazy M, Béraud E, Cotelle S, et al. Antioxidant enzyme activities as affected by trivalent and hexavalent chromium species in *Fontinalis antipyretica* Hedw[J]. Chemosphere, 2008, 73: 281—290.
- [15] 李新荣,石庆辉,张景光,等. 沙坡头地区人工植被演变过程中植物多样性变化的研究[J]. 中国沙漠,1998,18(增刊):23—29.
- [16] 李新荣,张志山,王新平,等. 干旱区土壤植被系统恢复的生态水文学研究进展[J]. 中国沙漠,2009,29(5):845—852.
- [17] Sergiev I, Alexieva V, Karanov E. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective system and stress markers in plant[J]. Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences, 1997, 51: 121—124.
- [18] Fryer M J, Andrews J R, Oxborough K, et al. Relation between CO₂ assimilation photosynthetic electron transport and active O₂ metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature[J]. Plant Physiology, 1998, 116: 571—581.
- [19] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Chemistry, 1976, 72: 248—254.
- [20] Beyer W F, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions[J]. Analytical Chemistry, 1987, 161(2): 559—566.
- [21] Aebi H. Catalases[M]//Bergmeyer H U. Methods of Enzymatic Analysis. New York: Academic Press, 1974(2): 673—684.
- [22] Aebi H. Catalase in vitro[J]. Methods in Enzymology, 1984, 105: 121—126.
- [23] Maehly A C, Chance B. The assay of catalases and peroxidases[J]. Methods in Enzymology, 1954, 1: 357—424.
- [24] Smith I K, Vierheller T L, Thorne C A. Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)[J]. Analytical Biochemistry, 1988, 175(2): 408—413.
- [25] Anderson J V, Chevone B I, Hess J L. Seasonal variation in the antioxidant system of eastern white pine needles[J]. Plant Physiology, 1992, 98: 501—508.
- [26] Chen G, Hu W Y, Xie P T, et al. Solvent for extracting malondialdehyde in plant as an index of senescence[J]. Plant Physiology Communications, 1991, 27(1): 44—46.
- [27] 伏毅,戴媛,谭晓荣,等. 干旱对小麦幼苗脂类和蛋白质氧化损伤的影响[J]. 作物杂志, 2010(3): 45—50.
- [28] Neill S J, Desikan R, Clarke A, et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(372): 1237—1247.
- [29] Willekens H, Langebartels C, Tiré C, et al. Differential expression of catalase genes in *Nicotiana plumbaginifolia* (L.)[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, 91: 10450—10454.
- [30] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1998, 49: 249—279.
- [31] Liu Y G, Wang X, Zeng G M, et al. Cadmium-induced oxidative stress and response of the ascorbate-glutathione cycle in *Bechmeria nivea* (L.) Guad[J]. Chemosphere, 2007, 69: 99—107.
- [32] Smirnoff N. Plant resistance to environmental stress[J]. Current Opinion in Biotechnology, 1998, 9(2): 214—219.
- [33] 陈立松,刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片活性氧代谢的影响[J]. 园艺学报, 1998, 25(3): 241—246.
- [34] 曲东,王保莉,山仑. 干旱条件下磷对小麦 SOD, MDA 及可溶性蛋白的影响[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(5): 126—132.
- [35] 左利萍,李毅,焦健. 水分梯度下不同地理种群红砂叶片生理特征比较研究[J]. 中国沙漠, 2009, 29(3): 514—518.
- [36] 康俊梅,杨青川,樊奋成. 干旱对苜蓿叶片可溶性蛋白的影响[J]. 草地学报, 2005, 13(3): 199—202.
- [37] 彭永康,崔世民. 植物过氧化物酶的结构、催化反应及生理功能[J]. 天津师范大学学报, 1993, 22(2): 65—72.
- [38] 韩建民. 抗旱性不同的水稻品种对渗透胁迫的反应及其与渗透调节的关系[J]. 河北农业大学学报, 1990, 13(1): 17—21.
- [39] 李德全,邹琦,程炳嵩. 土壤干旱下不同抗旱性小麦品种的渗透调节和渗透调节物质[J]. 植物生理学报, 1992, 18(2): 37—44.
- [40] 韩蕊莲,李丽霞,梁宗锁. 干旱胁迫下沙棘叶片细胞膜透性与渗透调节物质研究[J]. 西北植物学报, 2003, 23(1): 23—27.
- [41] 龚吉蕊,张立新,赵爱芬,等. 油蒿(*Artemisia ordosica*)抗旱生理生化特性研究初报[J]. 中国沙漠, 2002, 22(4): 337—392.
- [42] 沙伟,王欢,师帅. 旱后复水对东亚砂藓生理生化指标的影响[J]. 武汉植物学研究, 2010, 28(2): 246—249.
- [43] 吴玉环,程佳强,冯虎元,等. 耐旱藓类的抗旱生理及其机理研究[J]. 中国沙漠, 2004, 24(1): 23—29.
- [44] 张巍巍,郑飞翔,王效科,等. 臭氧对水稻根系活力、可溶性蛋白含量与抗氧化系统的影响[J]. 植物生态学报, 2009, 33(3): 425—432.
- [45] Foyer C H, Halliwell B. Presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposed role in ascorbic acid

- metabolism[J]. *Planta*, 1976, 133(1): 21–25.
- [46] Groden D, Beck E. H₂O₂ destruction by ascorbate-dependent systems from chloroplasts[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1979, 546(3): 426–435.
- [47] Nakano Y, Asada K. Spinach chloroplasts scavenge hydrogen peroxide on illumination[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1980, 21(7): 1295–1307.

The Reactive Oxygen Species Scavenging Mechanism of *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis* in Biological Soil Crusts under Gradual Drought Stress

SHI Yong^{1,2}, ZHAO Xin^{1,2}, JIA Rong-liang², LI Xin-rong^{1,2}

(1. Laboratory of Plant Stress Ecophysiology and Biotechnology, Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 2. Shapotou Desert Research and Experiment Station, Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract: *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis* are important components of sand-fixation biological soil crust in Shapotou region, south margin of Tengger Desert. We studied the different reactive oxygen species (ROS) scavenging mechanisms of *Bryum argenteum* and *Didymodon vinealis* under gradual drought stress. Results showed that under gradual drought stress, *Bryum argenteum*'s H₂O₂ content increased slightly, its malondialdehyde (MDA) content decreased significantly and soluble protein content changed slightly. *Bryum argenteum* scavenged its ROS mainly by catalase (CAT) and supplemented by superoxide dismutase (SOD) under gradual drought stress, while its ascorbate peroxidase (APX) and peroxidase (POD) didn't function a lot. However, glutathione reductase (GR) and glutathione (GSH) of *Bryum argenteum* played roles only under moderate drought stress. Under gradual drought stress, both H₂O₂ and MDA contents of *Didymodon vinealis* increased significantly, while its soluble protein content decreased sharply. *Didymodon vinealis* scavenged its ROS mainly by GSH under gradual drought stress and supplemented by SOD and CAT, while its APX and GR didn't function a lot. However, its POD played a role only under moderate drought stress.

Keywords: *Bryum argenteum*; *Didymodon vinealis*; reactive oxygen species; gradual drought stress