



不同耐铝型杉木幼苗叶片抗氧化系统 对铝胁迫的响应特征

罗红艳^{1,2}, 陈潇潇^{1,2}, 石零珊^{1,2}, 曹光球^{1,2}, 林思祖^{1,2}, 叶义全^{1,2}

(1 福建农林大学 林学院, 福州 350002; 2 国家林业局杉木工程技术研究中心, 福州 350002)

摘要: 为探讨铝胁迫对杉木抗坏血酸-谷胱甘肽(AsA-GSH)循环的影响, 明确 AsA-GSH 循环在杉木耐铝性中的作用, 以耐铝(YX26)和铝敏感型(YX5)杉木家系为材料, 分析了铝胁迫对不同耐铝型杉木叶片氧化损伤、抗氧化酶活性和 AsA-GSH 循环系统的影响。结果表明: (1) 铝胁迫显著增加杉木叶片丙二醛(MDA)含量, 而且 YX5 叶片中 MDA 含量增幅显著大于 YX26。(2) 铝胁迫不同程度增加了 2 个杉木家系叶片过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR)活性以及抗坏血酸(AsA)、脱氢抗坏血酸(DHA)、还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量, 而且除 AsA 含量外, 铝胁迫下 YX26 中上述酶活性和非酶性抗氧化剂含量的增幅均大于 YX5。(3) 铝胁迫下 YX5 叶片中过氧化氢酶(CAT)和脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)的活性受到显著抑制, 而 YX26 中这两个酶的活性却有所增加, 且 YX26 中的 DHAR 活性显著高于对照。(4) 铝胁迫抑制了 2 个杉木家系超氧化物歧化酶(SOD)活性, 但 YX26 中 SOD 活性的降幅小于 YX5。研究认为, 铝胁迫下通过维持 AsA-GSH 循环酶活性和非酶性抗氧化系统的高效运转, 增强自身活性氧清除能力是耐铝型杉木家系具有较强铝耐能力的生理基础。

关键词: 铝胁迫; 杉木; 抗氧化酶; AsA-GSH 循环

中图分类号: Q945.78; S791.27 **文献标志码:** A

Response of Anti-oxidative System in Leaves of Different Al-tolerant *Cunninghamia lanceolata* to Aluminum Stress

LUO Hongyan^{1,2}, CHEN Xiaoxiao^{1,2}, SHI Lingshan^{1,2},
CAO Guangqiu^{1,2}, LIN Sizhu^{1,2}, YE Yiquan^{1,2*}

(1 Forestry College, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2 Chinese Fir Engineering Technology Research Center, State Forestry Administration, Fuzhou 350002, China)

Abstract: In order to investigate the effect of aluminum (Al) stress on the ascorbate-glutathione (AsA-GSH) cycle in leaves of *Cunninghamia lanceolata*, and elucidate the role of antioxidant enzymes and AsA-GSH cycle in *C. lanceolata* under Al stress, we employed two *C. lanceolata* families differing in Al tolerance (Al-sensitive YX5 and Al-tolerant YX26), and analyzed the effect of Al stress on malondialdehyde (MDA) content, antioxidant enzyme activities, and AsA-GSH cycle in leaves of *C. lanceolata*. The results showed that: (1) The MDA content in leaves of *C. lanceolata* increased significantly under Al stress as compared with the control, and the increased rate of MDA content in the leaves of *C. lanceolata* was

收稿日期: 2018-04-11; 修改稿收到日期: 2018-05-23
基金项目: 福建省自然科学基金(2017J01608); 福建省高校青年自然科学基金重点项目(JZ160433); 福建农林大学科研启动基金(61201400827)
作者简介: 罗红艳(1992—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物地理学研究。E-mail: 849929985@qq.com.
* 通信作者: 叶义全, 博士, 讲师, 硕士研究生导师, 主要从事森林培育研究。E-mail: yeyiquan008@163.com

lesser in the YX26 than that in the YX5. (2) The enzyme activities of peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX), monodehydro ascorbate reductase (MDAR) and the contents of ascorbic acid (AsA), dehydroascorbic acid (DHA), glutathione (GSH), and oxidized glutathione (GSSG) were increased to varying degrees under Al stress, and the increased rate of enzyme activities and non-enzyme antioxidants in the leaves of *C. lanceolata* were higher in the YX26 than that in the YX5 except for AsA content. (3) The enzyme activities of catalase (CAT) and dehydroascorbate reductase (DHAR) were greatly inhibited in the YX5 under Al stress, while the opposite was true for the YX26. Moreover, the DHAR activity in YX26 was significantly higher under Al stress as compared with the control. Additionally, the superoxide dismutase (SOD) was suppressed in leaves of different *C. lanceolata* families under Al stress, and the decreased rate of SOD in YX26 was lower than that in YX5. (4) The avoved results suggested that the Al-tolerant *C. lanceolata* family can enhance the scavenged capacity for reactive oxygen species by efficiency maintaining the enzyme activities and non-enzymes antioxidants in AsA-GSH cycle, and which may be the physillogical basis of resistant families in adaptation to Al stress.

Key words: aluminum stress; *Cunninghamia lanceolata*; antioxidant enzyme; AsA-GSH cycle

杉木(*Cunninghamia lanceolata*)是中国南方重要的速生用材树种之一,因其具有材质优良和速生丰产等特点被广泛种植,在中国林业生产中占据重要地位^[1]。长期林业生产实践表明,铝毒是中国南方富铁铝化酸性土壤中限制杉木生长,导致杉木人工林产量下降的主要原因之一^[2-3]。近年来,随着肥料的不合理使用、杉木连栽代数的增加以及全球酸沉降的加剧,南方林地土壤的酸化程度进一步加深^[4-7],从而极大地促进土壤中活性铝的释放,导致土壤中活性铝的含量显著增加,使杉木遭受铝毒害状况日益加剧。因此,选育具有耐铝能力的优良杉木家系,充分挖掘优良家系的遗传潜力,提高杉木对铝胁迫的耐性,是解决当前林地土壤铝毒害问题的有效途径之一,而探明杉木遭受铝毒和耐铝性的生理生化机制是开展杉木耐铝品种选育和遗传改良的基础。尽管近年来已有部分学者对杉木铝毒展开了研究,但大部分研究主要集中在铝毒胁迫对杉木的生长、养分吸收、有机酸分泌和 SOD 活性的影响等方面^[3,8-13],迄今对于杉木自身如何感知铝胁迫,并作出响应的调控机制仍知之甚少。因此,开展杉木铝毒胁迫耐性机制的研究,对于揭示杉木适应铝毒胁迫环境的生物学过程,并通过基因工程手段改良杉木耐铝能力,改善酸性土壤中杉木的生长,最终提高杉木人工林的产量具有重要理论和现实意义。

铝胁迫诱导的活性氧迸发及其介导的质膜氧化损伤被认为是铝胁迫引起植物生长受抑的主要原因之一^[14]。正常情况下,植物体内活性氧的产生和清除处于稳态平衡状态,对植物并无害处,甚至可以作为一种有益的信号分子广泛参与植物各种生理过程的调控^[15]。但在铝胁迫条件下,植物体内活性氧的

大量迸发,会对质膜的结构和完整性造成严重破坏,从而引起氧化损伤,最终抑制植物对养分和水分的吸收^[16]。植物为缓解铝毒胁迫引起的氧化损伤,在长期适应铝毒环境过程中进化出一套由酶促和非酶促抗氧化系统组成的活性氧清除体系。抗坏血酸-谷胱甘肽循环(AsA-GSH)作为植物抗氧化系统的重要组成部分,在调控植物体内活性氧水平,增强植物逆境胁迫耐性中扮演着重要角色^[17-20]。目前关于 AsA-GSH 循环在铝胁迫^[17]、重金属胁迫^[18,20]、干旱胁迫^[19]和低温胁迫^[21]等非生物胁迫中的作用已得到证实,而且越来越多研究证实 AsA-GSH 酶活性与植物逆境胁迫耐性密切相关^[22-24]。尽管目前关于植物耐铝机制的研究已有不少,但这些研究主要集中在农作物中^[22-24],而对杉木耐铝机制的研究较少^[8],特别是关于 AsA-GSH 循环在杉木耐铝性中的作用尚未见研究报道。因此,本研究以耐铝型(YX26)和铝敏感型(YX5)杉木家系为试验材料,考察铝胁迫对杉木叶片膜脂过氧化、抗氧化酶和 AsA-GSH 循环的影响,并进一步分析不同耐铝型杉木无性系对铝胁迫响应的差异,探讨抗氧化酶系统与杉木耐铝能力之间的相互关系,以期从 AsA-GSH 角度揭示杉木耐铝机理,并为利用基因工程手段改良杉木耐铝能力,改善酸性土壤上杉木的生长,从而最终提高杉木人工林产量提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试杉木家系材料是由国家林业局杉木工程技术研究中心提供的 YX5 和 YX26 一年生杉木苗。本课题组在前期试验中对包括杉木家系 YX5 和 YX26

在内的 72 个杉木家系进行苗期耐铝性的筛选,结果显示,YX26 较耐铝,而 YX5 则对铝较为敏感。

1.2 试验设计

本试验于 2016 年 4 月中旬在福建农林大学田间实验室温室大棚进行。统一选用盆口内径 40 cm、底部内径 35 cm、高度 33 cm 的圆形塑料花盆开展盆栽试验,盆栽基质为蛭石和珍珠岩(2 : 1,V/V)混合物。选取长势(苗高、地径)基本一致的 1 年生杉木家系 YX5 和 YX26 幼苗,先将其移栽入塑料花盆中缓苗 10 d,每盆 3 株苗,缓苗结束后开始进行铝胁迫试验处理。本试验共设 2 个处理,分别为对照(CK)和铝胁迫(Al),2 个处理均设 3 次重复,每次重复共 4 盆。试验处理中对对照用 Hoagland 营养液浇灌,铝胁迫处理用 Hoagland 营养液再加 AlCl₃ 溶液浇灌,铝浓度为 1 mmol · L⁻¹,营养液 pH 均为 4.5。试验期间每天定时向每盆中浇 0.2 L 相应营养液 1 次,处理 10 d 后,用消毒处理的剪刀剪取杉木幼苗上部高度一致的当年生枝条尖端的无病无斑、完全展开的新生叶,立即置于自封袋于液氮中速冻,并置于 -80 ℃ 冰箱保存,用于后续相关生理指标的测定。

1.3 测定指标与方法

试验采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定杉木幼苗叶片丙二醛(MDA)的含量^[25]。采用愈创木酚法^[27-28]测定杉木幼苗叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性,过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外线吸收法^[26-27]测定。还原型抗坏血酸(AsA)、氧化型抗坏血酸(DHA)、还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)的含量根据 Logan 等^[28]和 Aravind 等^[29]的方法测定。抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(GR)活性的测定参考 Jiang 等^[30]的方法。单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR)和脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)的含量测定参考 Nakano 等^[31]的方法。

1.4 数据处理

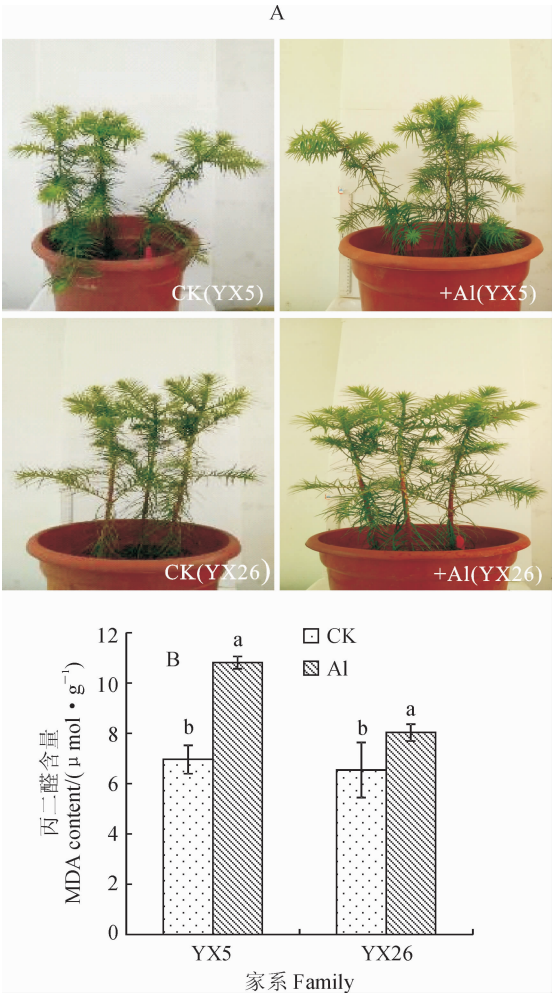
采用 Excel 2010 对试验数据进行整理及绘图,试验数据均为 3 次重复取平均值±标准误,并用 SPSS19.0 软件进行 LSD 多重比较分析($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 铝胁迫对不同杉木家系幼苗叶片表型和 MDA 含量的影响

由图 1,A 可以看出,铝胁迫处理前后两个家系杉木幼苗表型并未发生明显变化,表明浓度 1 mmol · L⁻¹

短期(10 d)铝胁迫处理对杉木生长表型没有明显的影响。MDA 是植物细胞膜脂过氧化的产物,其含量的高低通常用来表征细胞质膜遭受氧化损伤程度的大小。如图 1,B 所示,铝胁迫显著诱导 MDA 在两杉木家系幼苗叶片中积累,且铝胁迫下两个杉木家系幼苗叶片 MDA 含量均显著高于对照($P<0.05$),其中铝敏感型家系 YX5 和耐铝型家系 YX26 幼苗叶片中 MDA 含量分别较对照增加了 55.28%和 22.82%,说明铝胁迫下耐铝型杉木家系叶片遭受的膜脂过氧化程度明显小于铝敏感型杉木家系 YX5。



同一家系不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著;下同。

图 1 铝胁迫下不同耐铝型杉木家系幼苗表型及叶片丙二醛含量的变化

Different normal letters of the same family indicate significant differences between different treatments at 0.05 level;

The same as below

Fig. 1 The plant morphology and malondialdehyde content in leaves of *C. lanceolata* families with contrasting Al tolerance under Al stress

2.2 铝胁迫对不同耐铝型杉木家系幼苗叶片抗氧化酶活性的影响

图 2,A 显示,与对照相比,铝胁迫处理显著降低敏感型杉木家系 YX5 叶片 CAT 活性($P < 0.05$),而对耐铝型杉木家系 YX26 叶片 CAT 活性则略有提高,且 YX26 活性显著高于 YX5,表明 CAT 活性在 YX26 中的表达属于组成型,而在 YX5 中的表达属于抑制型。同时,由图 2,B 可知,与 CAT 活性变化趋势类似,铝胁迫下敏感型杉木家系 YX5 叶片 SOD 活性受到明显抑制,其活性显著低于对照($P < 0.05$);尽管铝胁迫下耐铝型杉木家系 YX26 叶片 SOD 活性也表现出下降趋势,但其活性与对照组差异并不显著($P > 0.05$)。另外,与前两个抗氧化酶活性变化趋势不同,铝胁迫下两个杉木家系叶片中 POD 活性(图 2,C)均较对照有所增

加,其中敏感型杉木家系 YX5 和耐铝型杉木家系 YX26 叶片中 POD 活性分别较对照增加了 14.96% 和 96.27%,且铝处理下耐铝型杉木家系叶片 POD 活性与对照相比差异达到显著水平($P < 0.05$)。无论是对照还是铝胁迫处理下,耐铝型杉木家系 YX26 叶片中 CAT 和 POD 活性均高于铝敏感型杉木家系 YX5,而耐铝型杉木家系 YX26 幼苗叶片中 SOD 活性均不同程度地低于铝敏感型杉木家系 YX5。

2.3 铝胁迫对不同耐铝型杉木家系幼苗叶片 AsA-GSH 循环非酶性抗氧化剂含量的影响

铝胁迫条件下,两个杉木家系叶片中 AsA 的含量均比相应对照显著增加($P < 0.05$),其中敏感型杉木家系 YX5 和耐铝型家系 YX26 叶片中 AsA 含量增幅分别达到 62.36% 和 24.18%(图 3,A)。与 AsA 含量表现类似,铝胁迫处理也显著促进 GSH 在杉木叶片中的积累,其中敏感型家系 YX5 和耐铝型杉木家系 YX26 叶片 GSH 含量分别较对照增加了 36.60% 和 703.93%(图 3,B)。与对照相比(图 3,C,D),铝胁迫下两杉木家系叶片中 DHA 含量不存在显著差异($P > 0.05$),但铝胁迫处理大幅显著增加了两个杉木家系叶片中 GSSG 的含量($P < 0.05$),铝敏感家系 YX5 和耐铝家系 YX26 叶片中 GSSG 含量增幅分别为 105.38% 和 135.68%。上述结果表明,铝胁迫下两个杉木家系叶片中非酶性抗氧化剂含量大多显著增加,且耐性家系杉木 YX26 叶片中 GSH、DHA 和 GSSG 的含量增幅明显高于敏感型家系 YX5。

2.4 铝胁迫对不同杉木家系幼苗叶片 AsA-GSH 循环酶活性的影响

铝胁迫处理显著增加了两个杉木家系叶片 APX 活性($P < 0.05$),其中铝敏感型杉木家系 YX5 和耐铝型杉木家系 YX26 叶片中 APX 活性较对照分别增加了 16.41% 和 23.83%(图 4,A)。但是,与 APX 活性变化趋势相反,铝胁迫处理显著抑制两个杉木家系叶片 GR 活性($P < 0.05$)(图 4,B)。同时,由图 4,C 可知,铝敏感杉木家系幼苗叶片中 MDAR 活性在铝胁迫下较对照增加了 5.70%($P > 0.05$),而耐铝杉木家系 YX26 叶片中则显著增加了 8.66% ($P < 0.05$)。另外,铝胁迫对两个杉木家系幼苗叶片 DHAR 活性变化具有不同的影响,其中铝敏感杉木家系 YX5 叶片中 DHAR 活性较对照显著降低了 31.83%,而耐铝杉木家系 YX26 叶片中则显著增加了 26.15%(图 4,D)。

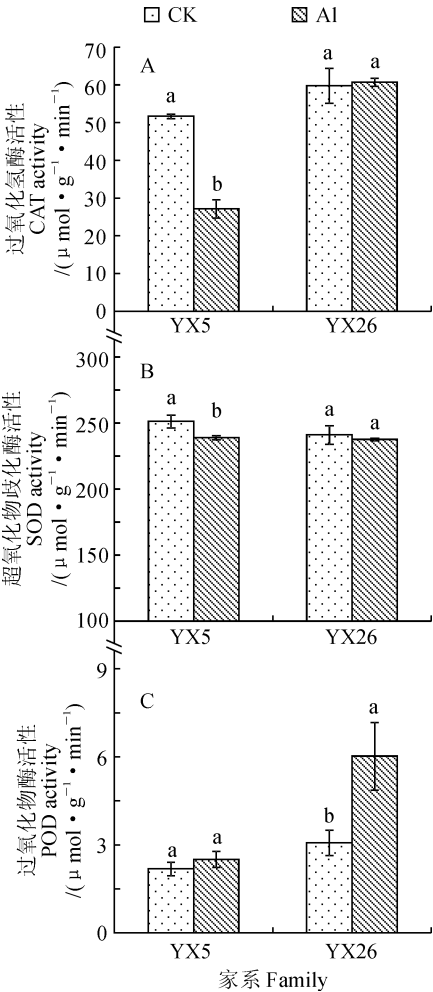


图 2 铝胁迫下不同耐铝型杉木家系幼苗叶片抗氧化酶活性的变化

Fig. 2 The antioxidant enzyme activities in leaves of *C. lanceolata* families with contrasting Al tolerance under Al stress

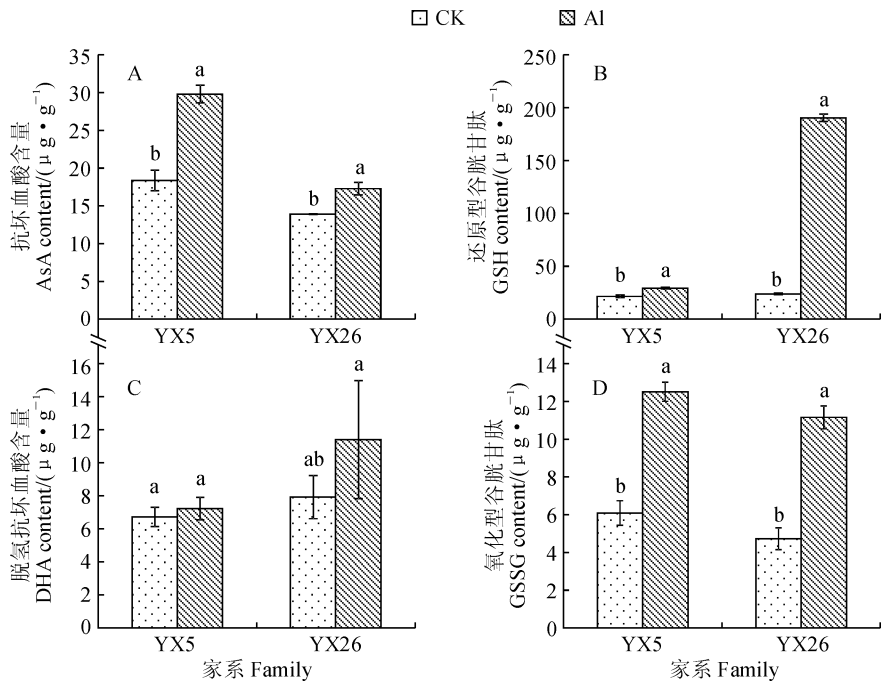


图3 铝胁迫下不同耐铝型杉木家系幼苗叶片 AsA、GSH、DHA 和 GSSG 含量的变化
Fig. 3 The contents of AsA, GSH, DHA and GSSG in leaves of *C. lanceolata* families with contrasting Al tolerance under Al stress

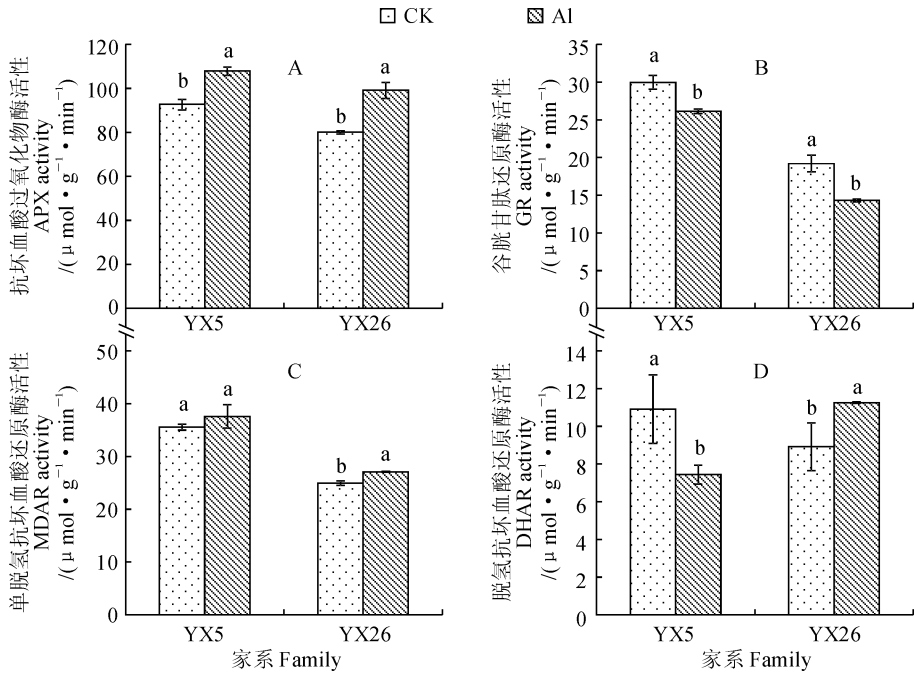


图4 铝胁迫下不同耐铝型家系杉木幼苗叶片 AsA-GSH 循环酶活性的变化
Fig. 4 The enzyme activities of AsA-GSH cycle in leaves of *C. lanceolata* families with contrasting Al tolerance under Al stress

3 讨论

活性氧(ROS)主要包括超氧自由基(O_2^-)、单线态氧($^1\text{O}_2$)、过氧化氢(H_2O_2)和羟基自由基($\cdot\text{OH}$),正常生长条件下,植物可通过多种途径产

生 ROS,但在植物自身酶系统的作用下植物细胞内 ROS 的产生和清除保持着动态平衡^[32]。逆境胁迫下,这种平衡会被打破,从而诱导 ROS 迅速积累,当 ROS 积累超出植物自身调节范围,就会对细胞或组织造成毒害作用,引起细胞质膜磷脂中不饱和脂肪

酸链的过氧化分解,造成整体膜结构的破坏,膜透性增大,离子外渗,引起细胞功能紊乱^[33]。尽管铝不是过渡金属元素,无法催化氧化还原反应,但铝可以通过形成铝超氧化物半还原态自由基而使其具有过氧化活性^[34],因此铝胁迫通常会引起超氧自由基($O_2^{\cdot-}$)、单线态氧(1O_2)、过氧化氢(H_2O_2)和羟基自由基($\cdot OH$)等 ROS 的积累,导致细胞脂质过氧化、蛋白质氧化、核酸损伤和酶失活,甚至造成细胞死亡^[14]。MDA 作为膜脂氧化的主要产物,是逆境胁迫条件下表征植物遭受氧化损伤程度的关键指标之一^[22]。许多研究报道,铝胁迫可显著增加植物体内活性氧积累,从而引起膜脂过氧化。例如, Sun 等^[17]的研究表明铝胁迫可显著增加小麦(*Triticum aestivum* L.)根尖活性氧的含量,而引起氧化损伤,且铝敏感型小麦(Yangmai-5)根尖受氧化损伤程度比耐铝型小麦(Jian-864)更为严重。类似地, Gianakoula 等^[35]发现不同铝浓度处理显著增加了玉米(*Zea mays* Linn.)根中 MDA 含量,且耐铝型玉米基因型(VA-22)根中 MDA 含量均显著低于铝敏感基因型(A4/67)。本试验结果表明,铝胁迫使杉木叶片 MDA 含量显著增加,表明铝胁迫也引起了杉木叶片氧化损伤,使细胞质膜结构完整性遭到破坏,说明铝胁迫已经开始对杉木叶片细胞的膜系统产生影响,而且耐铝型杉木家系 YX26 叶片中 MDA 含量显著低于铝敏感型杉木家系 YX5,又说明铝敏感杉木家系 YX5 受到的氧化损伤程度比耐性杉木家系 YX26 更为严重。另外,从表型上看无论是耐铝型还是铝敏感型杉木家系,铝胁迫并未对其生长产生明显的影响,这可能由于相对于草本植物来说木本植物具有更强的铝耐性,而且杉木长期生长在铝胁迫环境中可能已经进化出一定的适应铝毒环境的机制,短期胁迫(10 d)处理并不能对其生长产生太大的影响,而且由于本试验采用的是 1 年生的杉木,其相对于几个月生的幼苗来讲具有更强的耐铝性。上述结果也同时表明相对于表型变化而言,生理学上的响应更为迅速灵敏,这种快速的生理学响应为植物适应逆境胁迫提供了有效保障。

为减轻逆境胁迫诱导的氧化损伤,维持细胞膜系统结构的稳定性,植物在长期适应逆境胁迫过程中,进化出一套由酶促和非酶促抗氧化系统组成的抗氧化体系,这些抗氧化体系在维持植物体内活性氧稳态平衡,缓解逆境胁迫引起的氧化损伤中发挥着关键作用^[36]。SOD、POD 和 CAT 是植物体内重要的抗氧化酶,其通过协同作用清除体内活性氧保

护细胞免受氧化损伤。一般而言,逆境胁迫下植物抗氧化酶活性的变化与植物的种类、遭受胁迫的强度以及胁迫时间的长短有关^[37]。本试验中铝敏感型杉木家系 YX5 叶片 CAT 活性受到显著抑制,尽管耐铝杉木家系 YX26 在铝胁迫下 CAT 活性变化并不显著,但无论在正常还是在铝胁迫下其 CAT 活性均高于敏感型杉木家系 YX5,表明铝胁迫下耐性杉木家系 YX26 组成型维持较高的 CAT 活性是其较耐受活性氧诱导的氧化损伤的可能原因之一。本试验还表明,铝胁迫下不同耐铝型家系杉木幼苗叶片 SOD 活性均出现下降,而且敏感型杉木家系 YX5 幼苗叶片中 SOD 活性下降幅度大于耐铝型杉木家系 YX26,这可能由于敏感型杉木家系自身对铝胁迫的抵抗能力有限,高浓度和长时间的铝处理使其酶活性显著降低。陈志刚等^[38]研究也发现随着铝处理浓度的增加(当铝浓度超过 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时)和处理时间的延长($>8\text{ h}$),黑麦草(*Lolium*)根系 SOD 活性显著降低。另外,本试验中铝胁迫下不同杉木家系叶片 POD 活性均表现出增加的趋势,且耐铝型杉木家系 YX26 叶片 POD 活性显著高于对照,表明铝胁迫下耐性杉木家系增强了自身活性氧清除能力,这与铝胁迫下不同耐铝型栎类(*Trichosanthes kirilowii* Maxim.)^[39]和玉米^[40]的 POD 活性变化规律一致。由此可见,与铝敏感型杉木家系相比,铝胁迫下耐铝型杉木家系具有较高的保护酶活性,从而使其具有更强的活性氧清除能力,这可能是导致耐铝型杉木家系 YX26 比敏感型杉木家系 YX5 更耐铝胁迫诱导的氧化损伤的原因之一,同时也表明抗氧化酶在杉木耐铝性调控中扮演着关键角色。

除了常规的抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 外, AsA-GSH 循环关键酶如 APX、GR、DHAR 和 MDAR 也是植物体内活性氧清除的另一关键途径^[21-24]。在 AsA-GSH 循环中,APX 主要利用 AsA 来清除 H_2O_2 ,其对 H_2O_2 的亲和性要远大于 CAT; GR 则主要催化 GSSG 还原为 GSH,而 GSH 通过为 H_2O_2 提供电子供体将 H_2O_2 还原成水,同时 GSH 被氧化成 GSSG;MDHA 和 MDHAR 则主要介导 AsA 再生^[41]。大量研究表明铝在引起植物氧化损伤的同时,也能够刺激植物 AsA-GSH 循环中相关酶活性的提高,增强植物对活性氧的清除能力^[17,42-43]。本试验同样发现铝胁迫下两个杉木家系叶片 APX 活性均较对照显著增加,表明铝胁迫下杉木通过提高自身对 H_2O_2 清除的能力,从而减轻

铝胁迫诱导的氧化损伤。而且耐铝型杉木家系 YX26 叶片 APX 活性增幅要高于敏感型杉木家系 YX5,暗示铝胁迫下耐铝型杉木家系 YX26 叶片受到的氧化损伤小于铝敏感型 YX5,可能与其维持较高的 APX 活性,从而具有增强活性氧清除能力有关。与本研究结果类似,前期一些研究也表明铝胁迫能显著增加植物体内 APX 活性^[17,43-44],可见铝胁迫下 APX 活性的提高是植物应答铝胁迫的通用机制。GR 是 AsA-GSH 循环另一关键酶,本试验中铝胁迫下不同耐铝型杉木家系幼苗叶片 GR 活性均显著受到抑制,这可能由于 GR 对铝胁迫较为敏感,高浓度或长时间的铝处理使其活性显著受抑,这与李琲琲等^[24]和马进等^[22]研究发现高浓度(500 mmol·L⁻¹ NaCl)和长时间(8 d)盐胁迫处理显著降低大麦(*Hordeum vulgare* L.)和紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.) GR 活性的结论相似。MDAR 和 DHAR 是 AsA 再生关键酶^[45]。本试验中发现,铝胁迫处理显著提高耐铝型杉木家系 YX26 叶片 MDAR 和 DHAR 活性,而敏感型杉木家系 YX5 叶片 MDAR 略有增加,但 DHAR 活性却显著受抑。铝胁迫下耐铝型杉木家系 YX26 通过显著增加 MDAR 和 DHAR 活性,促进 AsA 的循环再生,一方面有利于维持植物细胞内较高的还原态微环境,避免细胞内环境呈现氧化态而带来的一系列问题。另一方面,增加 AsA 和 GSH 的积累,还能有效清除铝胁迫诱导的活性氧,这也在一定程度上说明了铝胁迫下耐铝型杉木 YX26 受到的氧化损伤程度低于铝敏感型杉木家系 YX5 的原因,该结果同时也表明 AsA-GSH 循环关键酶同样在调控杉木耐铝

性中起着重要作用。

AsA 和 GSH 作为非酶性抗氧化物质,同样在清除植物体内活性氧方面具有重要作用,它们通常与 AsA-GSH 循环关键酶相互偶联起作用^[46]。与前人研究结果类似,本研究中也发现铝胁迫显著增加了不同耐铝型杉木家系叶片中 AsA 和 GSH 含量,这可能是杉木应对铝毒的一种适应性反应,通过促进二者的积累来增强自身的耐性。尽管铝胁迫均显著增加了 AsA 和 GSH 的含量,但敏感型杉木家系 YX5 叶片中 AsA 含量高于耐铝型杉木 YX26,这可能与其细胞内大量的 AsA 用于解毒有关。此外,铝胁迫下耐铝型杉木家系 YX26 中 APX 活性增幅大于 YX5 也从侧面证实铝胁迫下 YX26 中 AsA 维持较高的周转速率,从而减轻过氧化氢对 YX26 叶片造成的氧化损伤。铝胁迫下耐铝型杉木家系 YX26 叶片中 GSH 含量的增幅要显著大于敏感型杉木家系 YX5,GSH 含量的增加一方面有利于为 AsA-GSH 循环提供充足底物,维持 AsA-GSH 循环高效运转,另一方面能使植物具有更强的活性氧清除能力,有效减轻铝胁迫诱导的氧化损伤。因此,这可能也是铝胁迫下耐铝型杉木家系 YX26 受到的氧化损伤要低于铝敏感型杉木家系 YX5 的可能原因。

综上所述,与铝敏感型杉木家系 YX5 相比,铝胁迫下耐铝型杉木家系 YX26 通过维持较高的 CAT 和 POD 活性,同时通过增加铝胁迫下 APX、DHAR 和 MDAR 的活性,提高 AsA-GSH 循环的运行效率,促进 AsA 和 GSH 的再生,进而增强其自身对活性氧的清除能力,从而最终减轻铝胁迫对杉木叶片造成的氧化损伤,使植株表现出更强的耐铝能力。

参考文献:

[1] 薛 爽,叶义全,饶丽莎,等. 杉木遗传转化中抗生素种类和浓度的筛选[J]. 四川农业大学学报, 2017, **35**(2): 227-233.
XUE S, YE Y Q, RAO L S, *et al.* Selection of antibiotic species and concentration in genetic transformation of *Cunninghamia lanceolata* Hook[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2017, **35**(2): 227-233.

[2] 罗承德,张 健,刘继龙. 四川盆周山地杉木人工林衰退与铝毒害阈值的探讨[J]. 林业科学, 2000, **36**(1): 9-14.
LUO C D, ZHANG J, LIU J L. Researches on the Threshold of Aluminum toxicity and the decline of Chinese Fir plantation in Hilly Area Around The Sichuan Basin[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2000, **36**(1): 9-14.

[3] 雷 波,刘 彬,罗承德,等. 杉木人工混交林对土壤铝毒害的缓解作用[J]. 生态学报, 2014, **34**(11): 2 884-2 891.
LEI B, LIU B, LUO C D, *et al.* Catabatic effect from artificial mixed plantation of *Cunninghamia lanceolata* on soil aluminum toxicity[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, **34**(11): 2 884-2 891.

[4] 杨玉盛,俞新妥,邱仁辉,等. 不同栽杉代数根际土壤肥力及生物学特性变化[J]. 应用与环境生物学报, 1999, **5**(3): 254-258.
YANG Y S, YU X T, QIU R H, *et al.* Variation of rhizospheric soil fertility under different Chinese Fir rotations[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 1999, **5**(3): 254-258.

[5] 曹必荣. 杉松轮作对土壤全铝及交换性铝的影响[J]. 湖南林业科技, 2013, 40: 14-16.
CAO B R. Effects of fir-pine rotation on total aluminum and exchangeable aluminum in soil[J]. *Human Forestry Science & Technology*, 2013, 40: 14-16.

[6] 刘 丽,徐明恺,汪思龙,等. 杉木人工林土壤质量演变过程

- 中土壤微生物群落结构变化[J]. 生态学报, 2013, **33**(15): 4 692-4 706.
- LIU L, XU M K, WANG S L, *et al.* Effect of Different *Cunninghamia lanceolata* plantation soil qualities on soil microbial community structure[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, **33**(15): 4 692-4 706.
- [7] DUAN L, YU Q, ZHANG Q, *et al.* Acid deposition in Asia: emissions, deposition, and ecosystem effects[J]. *Atmospheric Environment*, 2016, 146: 55-69.
- [8] 李树斌, 翁 闲, 王士亚, 等. 铝胁迫及营养复合作用对杉木幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2015, **44**(3): 264-269.
- LI S B, WENG X, WANG S Y, *et al.* Combined effects of aluminum and nutrient on the antioxidant enzymes of Chinese Fir seedlings[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University* (Natural Science Edition), 2015, **44**(3): 264-269.
- [9] 杨婉身, 陈 惠, 王晓丽, 等. 酸铝对杉木磷吸收和代谢的影响[J]. 林业科学, 2000, **36**(3): 73-76.
- YANG W S, CHEN H, WANG X L, *et al.* Influence of Acid aluminum on absorption and metabolism of phosphorus in Chinese Fir[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2000, **36**(3): 73-76.
- [10] 林立更, 林思祖, 郑燕萍, 等. 铝胁迫下 DL-异柠檬酸- γ 内酯对杉木根系分泌氨基酸的影响[J]. 江西农业大学学报, 2006, **28**(1): 63-68.
- LIN L G, LIN S Z, ZHENG Y P, *et al.* Effect of DL-hydroxy-1,2,3-propanetracarboxylic on the Am inophenol excreted by the roots of Chinese-Fir seedling under Al stress[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2006, **28**(1): 63-68.
- [11] 苏小青, 曹光球, 林思祖, 等. 铝胁迫条件下 DL-异柠檬酸- γ 内酯对杉木幼苗硝酸还原酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2008, **24**(10): 192-196.
- SU X Q, CAO G Q, LIN S Z, *et al.* The effect of DL-hydroxy-1,2,3-propanetracarboxylic on NR activity of Chinese seedling under the stress of aluminum[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, **24**(10): 192-196.
- [12] 林思祖, 曹光球, 何宗明, 等. 铝胁迫下 DL-异柠檬酸- γ 内酯对杉木幼苗 SOD 活性的影响[J]. 福建林学院学报, 2010, **30**(2): 97-101.
- LIN S Z, CAO G Q, HE Z M, *et al.* Effect of DL-hydroxy-1,2,3-propanetracarboxylic on NR activity of the seedlings of Chinese Fir under the stress of aluminum[J]. *Journal of Fujian College of Forestry*, 2010, **30**(2): 97-101.
- [13] 张 帆, 罗承德, 张 健. 外源钙、磷、氮对铝胁迫下杉木幼苗生长影响的调控研究[J]. 应用生态学报, 2005, **16**(2): 213-217.
- ZHANG F, LUO C D, ZHANG J. Alleviation Effect of Exogenous Ca, P and N on The growth of chinese Fir seedlings under Al stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, **16**(2): 213-217.
- [14] KOCHIAN L V, PINEROS M A, LIU J P, *et al.* Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2015, 66: 571-598.
- [15] DIETZ K J, MITTLER R, NOCTOR G.. Recent progress in understanding the role of reactive oxygen species in plant cell signaling[J]. *Plant Physiology*, 2016, **171**(3): 1 535-1 539.
- [16] HUANG W J, YANG X D, YAO S C, *et al.* Reactive oxygen species burst induced by aluminum stress triggers mitochondria-dependent programmed cell death in peanut root tip cells[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 82: 76-84.
- [17] SUN C L, LIU L J, YU Y, *et al.* Nitric oxide alleviates aluminum-induced oxidative damage through regulating the ascorbate-glutathione cycle in roots of wheat[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2015, **57**(6): 550-561.
- [18] WU Z C, ZHAO X H, SUN X C, *et al.* Antioxidant enzyme systems and the ascorbate-glutathione cycle as contributing factors to cadmium accumulation and tolerance in two oilseed rape cultivars (*Brassica napus* L.) under moderate cadmium stress[J]. *Chemosphere*, 2015, 138: 526-536.
- [19] SHAN C, ZHOU Y, LIU M. Nitric oxide participates in the regulation of the ascorbate-glutathione cycle by exogenous jasmonic acid in the leaves of wheat seedlings under drought stress[J]. *Protoplasma*, 2015, **252**(5): 1 397-1 405.
- [20] TRIPATHI D K, MISHRA R K, SINGH S, *et al.* Nitric oxide ameliorates zinc oxide nanoparticles phytotoxicity in wheat seedlings: implication of the ascorbate-glutathione cycle[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1-12.
- [21] 王 萍, 李彦慧, 张雪梅, 等. 低温对仁用杏雌蕊抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响[J]. 园艺学报, 2013, **40**(3): 417-425.
- WANG P, LI Y H, ZHANG X M, *et al.* Effects of low temperature stress on ascorbate-glutathione cycle in kernel apricot pistil[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, **40**(3): 417-425.
- [22] 马 进, 郑 钢, 裴翠明, 等. 抗坏血酸-谷胱甘肽循环在紫花苜蓿突变体耐盐性中的作用[J]. 植物生理学报, 2015, **51**(10): 1 749-1 756.
- MA J, ZHENG G, PEI C M, *et al.* The function of ascorbate-glutathione cycle in salt tolerance of Alfalfa mutant[J]. *Plant Physiology Journal*, 2015, **51**(10): 1 749-1 756.
- [23] 孙德祥, 秦海霞, 丁会纳, 等. 硅肥对干旱胁迫下冬小麦旗叶抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统及产量的影响[J]. 麦类作物学报, 2015, **35**(5): 693-698.
- SUN D X, QIN H X, DING H N, *et al.* Effect of silicon fertilizer on ascorbic acid and glutathione circulatory system in flag leaf and yield of winter wheat under drought stress[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2015, **35**(5): 693-698.
- [24] 李琲琲, 刘志萍, 张凤英, 等. 耐盐和非耐盐大麦幼苗叶片抗氧化及抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统对 NaCl 胁迫的反应差异[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, **23**(3): 712-720.
- LI B B, LIU Z P, ZHANG F Y, *et al.* Response difference of antioxidant and ascorbate-glutathione cycle system to NaCl stress between salt tolerant and sensitive barley cultivars at the seedling stage[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2017, **23**(3): 712-720.
- [25] 华 春, 王仁雷, 刘友良. 外源 GSH 对盐胁迫下水稻叶绿体活性氧清除系统的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2003, **29**(5): 415-420.

HUA C, WANG R L, LIU Y L. Effects of exogenous glutathione on active oxygen scavenging system in chloroplasts of rice under salt stress[J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2003, **29**(5): 415-420.

[26] 张蜀秋. 植物生理学实验技术教程[M]. 北京: 科学出版社, 2011.

[27] 赖善聪. 基于若干生理过程的不同杉木家系抗旱性评价[D]. 福州: 福建农林大学.

[28] LOGAN B A, GRACE S C, Adams III W W, *et al.* Seasonal differences in xanthophyll cycle characteristics and antioxidants in *Mahonia repens* growing in different light environments [J]. *Oecologia*, 1998, **116**(1): 9-17.

[29] ARAVIND P, PRASAD M N. Modulation of Cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* by zinc involves ascorbate-glutathione cycle and glutathione metabolism [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2005, **43**(2): 107-116.

[30] JIANG M, ZHANG J. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2001,**42**(11): 1 265-1 273.

[31] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1981, **22**(5): 867-880.

[32] APEL K, HIRT H. Reactive Oxygen Species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2004, **55**: 373-399.

[33] 黄亚成,秦云霞. 植物中活性氧的研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, **28**(36): 219-226.

HUANG Y C, QIN Y X. Advances on reactive oxygen species in plants[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, **28**(36): 219-226.

[34] EXLEY C. The Pro-oxidant Activity of Aluminum[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2004, **36**(3): 380-387.

[35] GIANNAKOULA A, MOUSTAKAS M, SYROS T, *et al.* Aluminum stress induces up-regulation of an efficient antioxidant system in the Al-tolerant maize line but not in the Al-sensitive line[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, **67**(3): 487-494.

[36] WU Z, LIU S, ZHAO J, *et al.* Comparative responses to silicon and selenium in relation to antioxidant enzyme system and the glutathione-ascorbate cycle in flowering Chinese Cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis*) under Cadmium stress [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2017, **133**: 1-11.

[37] 杨舒怡,陈晓阳,惠文凯,等. 逆境胁迫下植物抗氧化酶系统响应研究进展[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2016, **45**(5): 481-489.

YANG S Y, CHEN X Y, HUI W K, *et al.* Progress in responses of antioxidant enzyme systems in plant to environmental stresses[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2016, **45**(5): 481-489.

[38] 陈志刚,张红蕊,周晓红,等. 铝胁迫对黑麦草根系抗氧化酶活性和丙二醛含量的诱导特征研究[J]. 土壤通报, 2012, **43**(2): 391-395.

CHEN Z G, ZHANG H R, ZHOU X H, *et al.* Study on characteristics of antioxidant enzymes activities and MDA contents in *Lolium multiflorum* roots induced by aluminum stress[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2012, **43**(2): 391-395.

[39] 高培培,章 艺,吴玉环,等. 外源水杨酸对铝胁迫下栝楼光合特性及耐铝性的影响[J]. 水土保持学报, 2012, **26**(6):268-273.

GAO P P, ZHANG Y, WU Y H, *et al.* Effect of exogenous SA photosynthesis and Al tolerance of *Trichosanthes kirilowii* Maxim under aluminum stress[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2012, **26**(6): 268-273.

[40] 周伦理,解光宁,张振葆,等. 两个不同耐铝玉米自交系根系对铝毒胁迫的响应[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20**(4): 669-674.

ZHOU L L, XIE G N, ZHANG Z B, *et al.* Responses of two maize inbred lines of different aluminium tolerance to Al-induced oxidative stress[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2014, **20**(4): 669-674.

[41] 孙军利,赵宝龙,郁松林. 外源水杨酸对高温胁迫下葡萄几种抗氧化酶活性和抗氧化物含量的影响[J]. 植物生理学报, 2014, **50**(7): 1 014-1 018.

SUN J L, ZHAO B L, YU S L. Effect of exogenous salicylic acid on antioxidant enzymes activities and antioxidants contents in grape seedlings under high temperature stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, **50**(7): 1 014-1 018.

[42] WANG H, LI Y, HOU J, *et al.* Nitrate reductase-mediated nitric oxide production alleviates al-induced inhibition of root elongation by regulating the ascorbate-glutathione cycle in soybean roots[J]. *Plant and soil*, 2017, **410**(1-2): 453-465.

[43] SHARMA, PALLAVI, R. S. DUBEY. Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of Aluminum[J]. *Plant Cell Reports*, 2007, **26**(11): 2 027-2 038.

[44] SHARMA P, DUBEY R S. Ascorbate peroxidase from rice seedlings: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of Osmolytes[J]. *Plant Science*, 2004, **167**: 541-550.

[45] 吕新民,杨怡帆,鲁晓燕,等. CaCl₂对NaCl胁迫下酸枣苗AsA-GSH循环的影响[J]. 园艺学报, 2017, **44**(5): 953-962.

LÜ X M, YANG Y F, LU X Y, *et al.* Effects of CaCl₂ on the AsA-GSH cycle of sour jujube seedlings under NaCl stress [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2017, **44**(5): 953-962.

[46] NAGALAKSHMI N, PRASAD M N V. Responses of glutathione cycle enzymes and glutathione metabolism to copper stress in *Scenedesmus bijugatus* [J]. *Plant Science*, 2001, **160**(2): 291-299.

(编辑:裴阿卫)