

外源水杨酸对镉胁迫下月季叶片超弱发光的影响

苏亚南^{1,2}, 魏振林², 姚翠鸾^{1,2}, 焦传珍²

(1. 河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002 2 德州学院 生物系, 山东 德州 253023)

摘要: 通过对月季叶片超弱发光强度及SOD 活性和MDA 含量测定, 结果表明: 当外源水杨酸浓度达到 50 mg · L⁻¹ 时, SA 可以缓解镉对月季叶片的胁迫作用, 降低活性氧的含量, 并减弱月季叶片延迟发光的强度, 同时也表明植物体内活性氧的含量改变与植物延迟发光的衰减趋势有着直接的联系。

关键词: 超弱发光; 水杨酸; 镉

中图分类号: S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2007)12—0117—02

生物超弱发光(ultra-weak luminescence, UWL)是所有生物都具有的一种普遍现象。通过对植物超弱发光现象的研究, 可以更深入的了解外界环境对植物体内生理活动的影响。目前, 植物超弱发光现象已经被越来越多的应用在植物抗胁迫的研究中。

由于镉在生产中的大量应用, 造成土壤及生活用水中镉的含量增加, 严重危害人类的健康及动植物的生长发育。水杨酸(SA)具有缓解镉胁迫, 增加植物抗逆性的作用。试验通过研究外源水杨酸对镉胁迫下月季叶片的缓解作用以及对月季叶片超弱发光的影响, 进一步深入了解 SA 缓解植物胁迫作用的机理及超弱发光在植物抗逆研究中的作用机制。

1 材料和方法

1.1 植物材料培养

剪取长势较一致的月季叶片作为试验材料, 采集后用去离子水清洗叶片表面, 立即放入含有 20 mL 1/10× Hoagland 培养液的培养皿中, 上表皮朝上悬浮培养, 叶片尽量悬于液体表面, 于光照培养箱中 32℃ 培养。设定空白对照与镉处理对照, 在镉处理的样品中分别加入浓度为 15、25、50 mg · L⁻¹ SA 溶液。所有样品共培养 24 h。

1.2 自发光及延迟发光强度检测

超微弱发光的测定在 18℃ 的暗室中进行, 仪器使用中国科学院生物物理所生产的 BPCL 超微弱发光分析仪。

自发光检测: 用滤纸吸干叶片表面水分, 置于样品室中测量其自身发光强度。每次测量 100 s, 纪录下光子总数, 重复 3 次。样品测量前先测定 2 次本底, 用样品测量的平均值减本底的平均值作为自身发光强度的测量值。

延迟发光检测: 用滤纸吸干叶片表面的水分, 将叶片置于 MT-3091 型荧光灯光照 5 min 后(灯距叶片

25 cm), 迅速放入样品室, 立刻开始测定叶片的发光强度, 随时间的衰减, 测量时间 200 s, 记录下延迟发光曲线。

1.3 理化测定

粗酶液的制备: 采用张志良等^[1] 的方法制备粗酶提取液。**超氧化物歧化酶(SOD)活性测定:** 采用 NBT 还原法测定 SOD 活力, 使用 T6 紫外可见分光光度计测定 A₅₆₀ 的吸光值并计算 SOD 活力。**丙二醛(MDA)含量的测定:** 采用张志良等^[1] 的方法, 使用 T6 紫外可见分光光度计测定 A₅₂₃、A₆₀₀、A₄₅₀ 的吸光值并计算 MDA 的含量。

2 结果与分析

2.1 自发光结果与分析

自发光试验过程中试验样品完全避光, 所以光合作用对植物超弱发光的影响可以忽略不计。自发光涨落曲线反映的是植物自身发育过程中产生的光子强度。由自发光涨落曲线可知, 月季叶片经 24 h 培养后, 无论是镉处理后还是 SA 处理后与空白对照相比较, 曲线变化趋势无明显规律, 说明镉和 SA 在短期内对植物的发育影响都不显著, 植物发育相对稳定, 并未表现出明显的细胞衰老或死亡。

2.2 延迟发光结果与分析

图 1 为空白对照与镉处理对照的延迟发光衰减曲线比对, 数据表明经镉溶液处理后发光强度明显加强, 而且衰减也变的缓慢, 由于 100 s 后叶片处于自发光状态, 所以在作图时未予考虑。

图 2~4 为不同浓度 SA 处理样品与镉处理对照的延迟发光衰减曲线比对, 数据表明当 SA 的浓度低于 50 mg · L⁻¹ 时, 衰减曲线的衰减趋势较为接近镉处理对照; 当 SA 的浓度达到 50 mg · L⁻¹ 时衰减曲线的衰减趋势开始接近正常对照。

2.3 SA 缓解月季叶片镉胁迫作用对 SOD 活力的影响

由图 5 知, 当月季叶片经过氯化镉溶液处理后, SOD 活力明显低于正常水平; 当加入不同浓度的 SA 后, SOD 的活力随 SA 浓度的增加呈现逐渐上升趋势; 当 SA 的浓度到达 50 mg · L⁻¹ 时, SOD 的活力明显提

第一作者简介: 苏亚南(1981-), 男, 河北石家庄人, 河北大学在读硕士研究生, 从事植物生理学研究。E-mail: wzl19741028@163.com。

通讯作者: 焦传珍。

收稿日期: 2007—07—02

高,但浓度低于 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,SA 对于提高 SOD 活力没有明显的效果。这表明 SA 可以增加 SOD 的活力,促进月季叶片细胞内活性氧转变为 H_2O_2 ,降低活性氧对

细胞的损伤,缓解了镉对月季叶片的胁迫效应。

2.4 SA 缓解月季叶片镉胁迫作用对 MDA 含量的影响

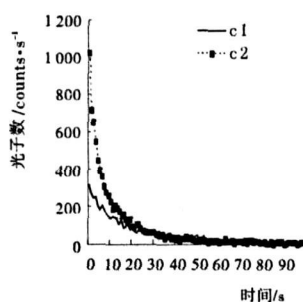


图1 对照组月季叶片延迟发光曲线

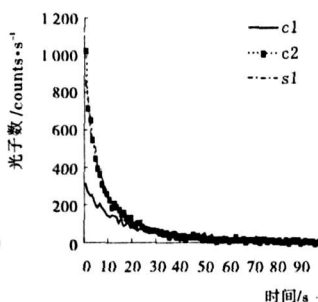


图2 s1与对照组延迟发光曲线对比

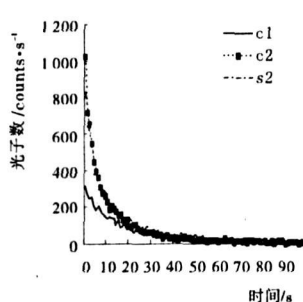


图3 s2与对照组延迟发光曲线对比

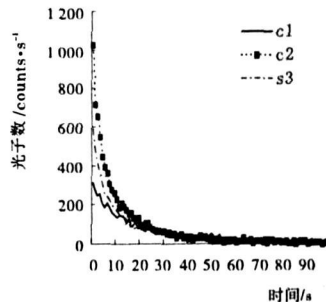


图4 s3与对照组延迟发光曲线对比

注: c1: 空白对照; c2: 镉处理对照; s1: $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ SA; s2: $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ SA; s3: $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ SA, 以下同。

由图6知,当月季叶片经过氯化镉溶液处理后,MDA 含量明显高于正常水平,当加入不同浓度的 SA 后,MDA 含量随 SA 浓度的增加而逐渐下降,当 SA 浓度达到 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 MDA 的含量接近正常对照水平,

当 SA 浓度低于 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,MDA 的含量基本一致且略高于正常对照。MDA 含量的降低,表明 SA 在一定程度上减轻了活性氧对脂膜的损伤,缓解了镉对月季叶片的胁迫效应。

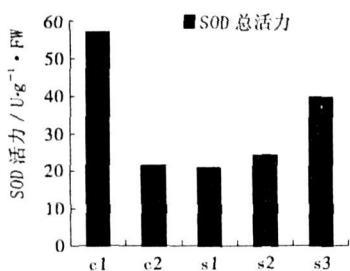


图5 SOD 活力测定

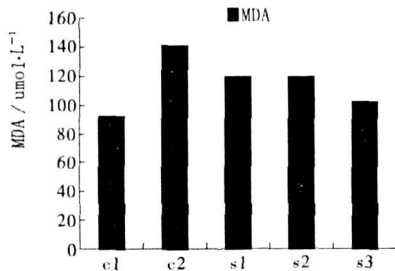


图6 MDA 含量测定

试验通过对月季叶片延迟发光强度及 SOD 活性和 MDA 含量的测定,结果显示当 SA 浓度达到 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,月季叶片延迟发光强度降低并接近空白对照水平,与之相对应,SOD 活力及 MDA 含量也接近空白对照水平,而 SOD 活力及 MDA 含量的改变反映了植物体内活性氧含量的变化趋势,这不仅表明外源 SA 对缓解月季叶片镉胁迫具有一定的作用,还说明植物体内活性氧含量的变化趋势与植物延迟发光的强度有着直接的联系。

3 讨论

众多研究表明,当植物所处的外界环境改变时,植物自身超弱发光强度也会发生相应的变化。试验通过对月季叶片延迟发光强度及 SOD 活性和 MDA 含量的测定,结果都表明当外源 SA 浓度达到 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,可以缓解镉胁迫对植物造成的损伤,降低活性氧的含量及月季叶片延迟发光的强度。这证明了在遭受外界胁迫过程中,植物体内活性氧的含量改变与植物延迟发光的衰减趋势有着直接的联系。

镉可以与植物细胞脂膜结合,提高脂膜的透性,增加脂膜的氧化程度,而施加过高浓度的外源 SA 浓度达 1 mM 以上时^[2],也可以使植物细胞脂膜发生过氧化损

伤。试验选择的 SA 浓度都低于 1 mM ,所以未能表明高浓度的 SA 是否可以增加镉对月季叶片的胁迫效应。通过对月季叶片延迟发光强度测定,发现施加较低浓度的外源 SA 具有缓解月季叶片镉胁迫的作用,这与 Ashraf 等^[3]的研究吻合。另一方面,作为植物细胞内的一种信号分子,SA 并不直接作用于损伤部位,而是通过激活其它防御机制保护植物自身,缓解外界胁迫的影响^[4]。

Ashraf 等^[2]研究表明 镉胁迫下植物体内内源 SA 的浓度显著增加,但比通过外源 SA 预处理的对照要低,这显示镉与 SA 并未形成复合物,SA 并未直接与镉作用缓解镉胁迫造成的损伤;Ashraf 等^[3]还发现 SA 所激活的防御机制与植物自身抗氧化反应无关。所以,SA 是否通过激活其他蛋白激酶途径影响 SOD 活性及 MDA 的含量、缓解镉胁迫对植物的损伤还有待进一步的试验证明。

参考文献

- [1] 张之良 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社 2003.
- [2] Mulpuri V R, Paliyath G, Ormrod D P. Influence of Salicylic Acid on H_2O_2 Production, Oxidative Stress, and H_2O_2 -Metabolizing Enzymes[J]. Plant Physiol, 1997, 115: 137-149.
- [3] Ashraf M, Iris F, Manfred G. Salicylic Acid Alleviates the Cadmium Toxicity in Barley Seedlings[J]. Plant Physiology, 2003, 132: 272-281.
- [4] Omar B, Victoriano V, Miguel A B. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings[J]. Plant Physiol, 2001, 126: 1024-1030.

(致谢: 该试验在德州学院生物系院级重点实验室完成,得到了实验室老师和本科毕业生周文智的帮助,同时也得到河北大学李光教授的诸多指导,在此一并表示谢意。)