

超重力处理对黄瓜幼苗生理生化指标的影响

杨致芬, 郭春绒, 杨致荣

(山西农业大学 文理学院, 山西 太谷 030801)

摘要:以 $1\ 000\times g$ 、 $1\ 500\times g$ 、 $2\ 000\times g$ 的超重力对刚萌动的黄瓜种子分别处理 1、2、3 h, 研究其对黄瓜幼苗生理生化指标的影响。结果表明: 处理组黄瓜幼苗的叶绿素 a(Chla) 含量均高于对照组, 叶绿素 b(Chlb) 含量均低于对照组, 总叶绿素含量 $1\ 000\times g$ 、2 h, $1\ 000\times g$ 、3 h, $1\ 500\times g$ 、1 h 和 $2\ 000\times g$ 、2 h 处理的高于对照组。处理组丙二醛(MDA) 含量、过氧化物氧(POD) 活性高于对照组, 而处理组过氧化氢酶(CAT) 活性、超氧化物酶(SOD) 活性均低于对照组。超重力处理可提高黄瓜对逆境的适应性, 作为一诱变条件可用于植物的抗逆育种实践中。

关键词: 超重力; 黄瓜幼苗; 生理生化指标

中图分类号: S 642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)02-0009-03

随着人类对空间资源的开发利用和世界航天工业的发展, 为人们突破地球重力场的限制提供了可能。世界各国科学家利用宇宙射线辐照、微重力、高真空、磁场等特殊环境进行了大量的空间科学试验, 并培育出许多优良作物品种。微重力环境能使作物产生优良变异。Soga 和 Martzivanou 等^[1-6] 通过超重力处理拟南芥、玉米、小萝卜、黄瓜和红豆的研究结果指出, 超重力在个体形态水平对植物幼苗的影响主要是抑制幼苗胚轴的伸长。Kittang 等^[7] 研究发现, 在 8 000 个拟南芥基因中, 超重力处理后有 177 个基因表达发生了变化。国内超重力技术在作物育种中的应用最初研究的是利用离心力对作物种子进行处理的报道, 研究离心后种子的酶及结构特性的改变, 离心力对蚕豆叶片质体汁液中磷酸己糖异构酶活力的影响^[8]。可见, 超重力处理可能引发植物在形态水平和细胞分子水平的变化。该试验研究了不同超重力对黄瓜幼苗叶片生理生化指标的影响, 旨在探讨超重力条件对黄瓜生长发育的影响机理, 并为黄瓜抗逆栽培和抗逆育种提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选用的黄瓜品种为保护地品种津春 3 号, 由天津市黄瓜研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 材料处理 黄瓜种子用 0.1% 氯化汞消毒

第一作者简介: 杨致芬(1975-), 女, 硕士, 讲师, 主要从事基础生物化学与分子生物学的工作。E-mail: yzhifen1975@163.com。
基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(20031067); 山西农业大学科技创新基金资助项目(2004081)。

收稿日期: 2008-09-18

10 min, 无菌水冲洗 3 次, 置于(16 cm×2.5 cm)培养皿中, 加 10 mL 蒸馏水, 在 25℃培养箱中暗培养 1 d。材料种子刚刚萌动时, 随机抽取刚萌动的 100 粒种子, 用 $1\ 000\times g$ 、 $1\ 500\times g$ 、 $2\ 000\times g$ 的超重力分别处理 1、2、3 h, 进行离心处理, 每处理 3 次重复。处理后的种子在实验室条件下, 于苗盘(26 cm×2.5 cm)中进行砂基培养, 每天定时浇 1/2 的 Hoagland 营养液。

1.2.2 幼苗生理生化指标测定 待幼苗第 3 片真叶展开时, 随机剪取不同部位的叶片进行生理生化指标测定, 叶绿素含量采用 80% 丙酮浸提法测定^[9]、丙二醛(MDA) 含量采用 TBA (硫代巴比妥酸) 显色法测定^[9]、过氧化物酶(POD) 活性采用愈创木酚法测定^[9]、过氧化氢酶(CAT) 活性采用高锰酸钾滴定法测定^[9]、SOD 活性采用氮蓝四唑(NBT) 法测定^[9]。数据用 SPSS 软件处理与统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同超重力处理对黄瓜幼苗叶绿素含量的影响

叶绿体是植物体有机物合成的场所, 叶绿素是光能的吸收器, 叶绿素含量的高低直接决定植株有机物的合成能力。通过测定植株叶片的叶绿素含量可以判断它合成有机物的能力。由表 1 可见, 处理组黄瓜幼苗的叶绿素 a(Chla) 含量均高于对照组, 其 $1\ 000\times g$ 、2 h 处理的 Chla 含量增加最多, 比对照的增加 76.8%。 $1\ 000\times g$ 各处理间 Chla 含量差异显著; 在相同时间条件下, 不同重力处理组间 Chla 含量均有差异。叶绿素 b(Chlb) 含量均低于对照组, 其同一重力条件下, 时间越长 Chlb 含量降低越多; $1\ 000\times g$ 、 $1\ 500\times g$ 和 $2\ 000\times g$ 处理间 Chlb 含量差异显著。总叶绿素含量 $1\ 000\times g$ 、2 h, $1\ 000\times g$ 、3 h, $1\ 500\times g$ 、1 h 和 $2\ 000\times g$ 、2 h 处理的高于对照组, 其 $1\ 000\times g$ 、2 h 增加最多, 比对照增加 46.5%。所有处

理 Chla/Chlb 都比对照高。

表 1 不同超重力处理对黄瓜幼苗叶绿素含量的影响

Table 1 Effects of hypergravity treatments on chlorophyll content of Squash seedling

处理	叶绿素 a 含量 Chl a	叶绿素 b 含量 Chl b	叶绿素含量 Chl	叶绿素 a/ b
Treatments	content/mg · g ⁻¹	content/mg · g ⁻¹	content/mg · g ⁻¹	Chl a/Chl b
CK	1.73 ± 0.03F	0.59 ± 0.34A	2.32 ± 0.19D	2.94
1 000×g 1 h	1.75 ± 0.19F	0.42 ± 0.36B	2.17 ± 0.18D	4.21
1 000×g 2 h	3.06 ± 0.20A	0.34 ± 0.37C	3.40 ± 0.20A	9.05
1 000×g 3 h	2.41 ± 0.21CD	0.33 ± 0.38C	2.74 ± 0.21BC	7.22
1 500×g 1 h	2.35 ± 0.21D	0.26 ± 0.39ED	2.61 ± 0.21C	9.25
1 500×g 2 h	2.06 ± 0.22E	0.25 ± 0.40ED	2.31 ± 0.22D	8.17
1 500×g 3 h	2.05 ± 0.22E	0.15 ± 0.40F	2.20 ± 0.21D	13.83
2 000×g 1 h	2.03 ± 0.23E	0.27 ± 0.40D	2.30 ± 0.22D	7.61
2 000×g 2 h	2.57 ± 0.233B	0.22 ± 0.40E	2.79 ± 0.22BC	11.39
2 000×g 3 h	2.74 ± 0.22B	0.14 ± 0.44F	2.88 ± 0.22B	19.68

注:同列数据尾注相同字母的表示差异不显著(P>0.05),不同字母表示差异显著(P<0.01);1000×g,1 h代表1000×g超重力处理1 h,其余类推,下表同。

2.2 不同超重力处理对黄瓜幼苗丙二醛含量的影响

MDA 是膜脂过氧化分解的主要产物,通常作为膜脂过氧化的指标,反映植物对逆境条件反应的强弱。由表 2 可知,处理组丙二醛含量高于对照组,随着重力加大,处理时间的延长,丙二醛含量逐步升高,比对照增加

表 2 不同超重力处理对黄瓜幼苗生理生化指标的影响

Table 2 The effects of different hypergravity treatments on the physiological and biochemical indices of Squash seedling

处理	丙二醛 Malondaldehyde	过氧化氢酶活性 CAT activity	过氧化物酶活性 POD activity	超氧化物酶活性 SOD activity
Treatments	/μmol · g ⁻¹ FW	/mg · g ⁻¹ · min ⁻¹	/OD ₄₇₀ · g ⁻¹ · min ⁻¹ FW	/U · g ⁻¹
CK	19.59 ± 2.10I	60.86 ± 4.32A	64.44 ± 13.21C	238.60 ± 9.14A
1 000×g 1 h	21.52 ± 2.01IH	60.70 ± 3.87A	78.35 ± 14.71AB	189.46 ± 9.39E
1 000×g 2 h	23.48 ± 2.10H	60.63 ± 4.03A	78.49 ± 15.35BA	137.84 ± 9.80F
1 000×g 3 h	26.43 ± 2.16G	60.61 ± 4.15A	76.77 ± 16.07BA	102.42 ± 10.83C
1 500×g 1 h	28.45 ± 2.20F	54.58 ± 4.22B	84.57 ± 16.30A	222.07 ± 10.26B
1 500×g 2 h	30.49 ± 2.23E	51.11 ± 4.292DC	82.93 ± 16.50A	200.16 ± 5.02CD
1 500×g 3 h	32.64 ± 3.12D	45.22 ± 4.33E	80.67 ± 7.56A	187.35 ± 5.16E
2 000×g 1 h	35.17 ± 2.28C	57.89 ± 4.37A	85.58 ± 5.64A	236.74 ± 6.31A
2 000×g 2 h	38.10 ± 1.92B	53.73 ± 4.40C	83.91 ± 16.20A	208.02 ± 10.71C
2 000×g 3 h	46.17 ± 3.03C	48.54 ± 4.43D	81.34 ± 16.88A	193.47 ± 5.13DE

3 结论和讨论

叶绿素在光合作用中起着吸收光能的作用,其叶绿素含量越多,利用光能合成的有机物质就越多,有利于细胞的组织构建。旺盛的代谢过程和生长发育对于植物抵抗逆境是有利的。叶绿素 a 以吸收长波光为主,而叶绿素 b 则能有效地吸收短波光为主的漫射光与散射光^[10]。结果表明,处理组黄瓜幼苗的叶绿素 a 含量均高于对照组,超重力处理提高了黄瓜叶片叶绿素 a 的合成能力;叶绿素 b 含量均低于对照组,超重力处理降低了黄瓜叶片叶绿素 b 的合成能力,从而降低其吸收利用弱光及散射光的能力;总叶绿素含量 1 000×g、2 h, 1 000×g、3 h, 1 500×g、1 h 和 2 000×g、2 h 处理的高于对照组,所有处理 Chla/ Chlb 值都比对照高。1 000×g、2 h 处理

9.85%~136.77%,1 000×g、1 500×g 和 2 000×g 处理间丙二醛含量差异显著。

2.3 不同超重力处理对黄瓜幼苗过氧化氢酶活性、过氧化物酶活性和 SOD 活性的影响

过氧化氢酶是一种酶类清除剂,又称为触酶,是以铁卟啉为辅基的结合酶。它可促使 H₂O₂ 分解为分子氧和水,清除体内的 H₂O₂,从而使细胞免于遭受 H₂O₂ 的毒害,是生物防御体系的关键酶之一。由表 2 可知,处理组过氧化氢酶活性均低于对照组,在相同重力条件下,随着时间的延长 CAT 活性呈降低趋势,1 000×g 各组处理间差异不显著,1 500×g、2 000×g 各组处理间差异显著。SOD 是重要的活性氧清除酶,当体内大量活性氧产生时,它能及时有效地清除自由基,保护细胞免受活性氧的伤害。处理组 SOD 活性低于对照组 SOD 活性,在一定重力条件下,随着时间的延长 SOD 活性降低;在一定时间条件下,随重力的增大 SOD 活性增高,1 000×g、1 500×g 和 2 000×g 各组处理间差异显著。POD 是植物体内重要的抗氧化酶,能有效地清除 H₂O₂,与 SOD 酶活性变化相反,处理组 POD 活性显著高于对照组,在相同重力条件下,随着时间的延长 POD 活性降低,在相同时间条件下,随重力加大 POD 活性增加。

总叶绿素含量最高,且 Chla/ Chlb 值比对照提高了 3 倍,这说明 1 000×g、2 h 处理可能更好地提高黄瓜叶片光合能力,增强其合成有机物的能力,进而增强其对逆境的抵抗能力。超重力处理使黄瓜叶片叶绿素含量发生改变,并影响其组成,其原因可能是由于超重力处理影响了相关酶的活性,从而影响了叶绿素的合成及其组成。

黄瓜经超重力处理后,其生理生化机理受到了一定的影响。植物在逆境环境中,细胞原生质膜中的不饱和脂肪酸会发生过氧化作用产生 MDA,使质膜系统受到伤害,其选择性受到破坏,细胞质内电解质外渗量增加,因而 MDA 含量可反映膜脂过氧化作用的强弱。试验研究表明,超重力处理后,所有处理组黄瓜幼苗 MDA 含量

比对照增加,这说明超重力处理对生物膜有一定的破坏作用,且随重力加大、时间的延长破坏越严重,这可能导致其抗逆性的减弱。

SOD、CAT 和 POD 是活性氧清除剂。SOD 的主要功能是清除 O_2^- , 产生 H_2O_2 , H_2O_2 可以和 O_2^- 相互作用产生更多的氧自由基,对细胞形成伤害;POD 和 CAT 可以清除体内的 H_2O_2 , 防止 H_2O_2 和 O_2^- 相互作用,从而维持体内的活性氧代谢平衡^[1],在逆境条件下保护酶的结构破坏或活性降低,造成植株体内活性氧积累,引发或加剧细胞膜脂过氧化,造成膜系统的损伤。该试验研究表明,超重力处理后,黄瓜幼苗叶片中 SOD 和 CAT 活性降低,但 POD 活性提高,表明植株为减缓逆境伤害作出了适应性响应;但由于 SOD 活性降低,细胞内超氧自由基积累;CAT 活性降低,不能有效清除细胞内的 H_2O_2 , H_2O_2 和 O_2^- 相互作用产生更多的氧自由基,促使质膜发生过氧化,细胞内 MDA 积累。MDA 的积累反过来引起蛋白质分子发生交联而使 SOD、CAT 活性降低,进一步加剧细胞质膜的氧化。

综上所述,超重力处理能影响黄瓜的生理生化机理,利用一定的超重力处理可提高黄瓜幼苗的抗逆性,超重力处理可作为一诱变条件用于植物的抗逆育种实践中,但超重力处理对植物抗逆性的影响和生理生化机理还有待进一步研究。

参考文献

[1] Martzivanou M, Hampp R. Hypergravity effects on the Arabidopsis transcriptome[J]. *Physiol Plant*, 2003, 118(2): 221-231.

- [2] Soga K, Wakabayashi K, Hosono T, et al. Hypergravity induced increase in the apoplastic pH and its possible involvement in suppression of beta-glucan breakdown in maize seedlings[J]. *Aust. J. Plant Physiol*, 2000, 27(10): 967-972.
- [3] Soga K, Wakabayashi K, Kamisaka S, et al. Gravitopercption in growth inhibition of plant shoots under hypergravity conditions produced by centrifugation is independent of that in gravitropism and may involve mechanoreceptors[J]. *Planta*, 2004, 218(6): 1054-1061.
- [4] Soga K, Wakabayashi K, Kamisaka S, et al. Growth restoration in azuki bean and maize seedlings by removal of hypergravity stimuli[J]. *Adv. space Res*, 2003, 31(10): 2269-2274.
- [5] Soga K, Wakabayashi K, Kamisaka S, et al. Perception mechanism of gravity stimuli in hypergravity induced growth inhibition of azuki bean roots[J]. *Biol. Sci. Space*, 2003, 17(3): 179-180.
- [6] Soga K, Wakabayashi K, Kamisaka S, et al. Mechanoreceptors rather than sedimentable amyloplasts perceive the gravity signal in hypergravity induced inhibition of root growth in azukibeans[J]. *Funct. Plant Biol*, 2005, 32(2): 175-179.
- [7] Kittang A, van Loon J, Vorst O, et al. Ground based studies of gene expression in Arabidopsis exposed to gravity stresses[J]. *Gravity Physiol*, 2004, 1(2): 223-224.
- [8] 林杉,陶洪斌,赵紫娟.离心力对蚕豆叶片质外体汁液中磷酸己糖异构酶活性的影响[J]. *植物生理学通讯*, 2002, 38(2): 153-155.
- [9] 李合生. *植物生理生化实验原理与技术* [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 134-137, 260-263, 164-169.
- [10] 何维明,董鸣.毛乌素沙地旱柳生长和生理特征对遮荫的反应[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(2): 16-19.
- [11] 周艳虹,喻景权,钱琼秋等.低温弱光对西葫芦幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(6): 84-87.

Effects of Hypergravity on the Physiological and Biochemical Indices of Cucumber Seedlings

YANG Zhi-fen, GUO Chun-rong, YANG Zhi-rong

(College of Arts and Science, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China)

Abstract: Cucumber was used as plant material in the experiment. Germination of alfalfa seeds were treated with $1000\times g$, $1500\times g$, $2000\times g$ for 1, 2, 3 hours to investigate the responses of physiological and biochemical indices. The results indicated: The content of Chla cucumber seedling increased, but Chlb decreased, Chlorophyll content of cucumber seedlings increased under $1000\times g$, 2 h, $1000\times g$, 3 h, $1500\times g$, 1 h and $2000\times g$, 2 h treatments. The content of malondialdehyde and POD activity of cucumber seedlings increased but the CAT activity and the SOD activity decreased, different hypergravity could enhance adapt adversity of cucumber seedlings, and it could serve as a way of breeding.

Key words: Hypergravity; Cucumber seedlings; Physiological and biochemical indices