

铜胁迫对费菜生理特性的影响

袁红艳, 刘晓红, 李叶峰, 王永亮, 赵 歌, 陆小平

(苏州大学, 江苏 苏州 215123)

摘 要: 采用水培的方法, 研究不同浓度的 Cu^{2+} (80、160、240、320、400 $\mu\text{mol/L}$) 在不同时期对费菜生理生化特性的影响。结果表明: SOD 的活性随胁迫时间的延长虽有一定程度的波折, 但整体呈下降趋势; 低浓度 Cu^{2+} ($\text{Cu}^{2+} < 240 \mu\text{mol/L}$) 处理下, CAT 的活性随处理时间延长呈升高趋势, 高浓度 Cu^{2+} ($\text{Cu}^{2+} \geq 240 \mu\text{mol/L}$) 处理下, CAT 酶的活性持续下降; Cu^{2+} 浓度为 160 $\mu\text{mol/L}$ 时, SOD 和 CAT 的活性最低, 3 个时期 SOD、CAT 酶的活性之间均达到极显著差异; 电导率大小随 Cu^{2+} 浓度的增加而大体升高; 随 Cu^{2+} 浓度增加 MDA 含量有一定程度的波折, 但 MDA 含量均高于对照; 可溶性糖和脯氨酸的含量随 Cu^{2+} 浓度增加总体呈增加趋势。

关键词: 费菜; 铜胁迫; 生理特性

中图分类号: S 567.23⁺7 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)16-0056-03

费菜 (*Sedum aizoon* L.), 又名养心草、土三七, 是景天科多年生草本植物。具有良好的药用、食用和观赏价值, 是一种很有发展前景的养生蔬菜。Cu 是高等植物生长发育过程中的一种重要微量营养元素, 作为细胞色素氧化酶、酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶、多胺氧化酶、超氧化物歧化酶等的辅基而参与呼吸代谢中的氧化还原反应^[1-3]。叶绿体质体蓝素 (Palstocyanin) 中的铜参与光合作用的电子传递过程, 缺铜可使植物体内相关物质合成受阻, 但是过量的铜又对植物产生毒害作用, 降低植物叶片中叶绿素含量, 破坏类囊体上的色素蛋白复合体的结构, 影响植物光合作用的光合电子传递^[3], 通过 Haber-Weiss 和 Fenton 型反应诱导活性氧 (ROS) 产生^[3], 累积的活性氧可以引发脂质和蛋白质的过氧化作用, 从而严重干扰植物正常的生理代谢^[4]。过量的铜引发植物生理生化代谢过程紊乱, 并最终抑制植物生长发育。还可能通过拮抗作用, 造成植物体内其它元素的平衡失调。蔬菜受重金属 Cu 污染后, 不仅严重影响其产量和品质, 而且会进一步通过食物链进入人体, 危及人类健康^[5]。现以费菜为材料, 研究不同浓度的 Cu^{2+} 对费菜生理生化特性的影响, 旨在为费菜的无公害生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

费菜于实验室室内扦插繁殖繁育而成。

1.2 试验方法

剪取生长良好、长势基本一致的费菜, 进行完全营养液水培, 完全营养液基本组成为: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 KCl 、 K_2SO_4 分别为 2.00、0.10、0.50、0.10、0.70 mmol/L; H_3BO_3 、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 、 Fe-EDTA 分别为 10.00、0.50、1.0、0.20、0.01、100 $\mu\text{mol/L}$; 营养液预培养 15 d (长出比较旺盛的根系), 开始进行 Cu 处理并采用全营养液培养。共设 6 个浓度处理组, 以 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 浓度计, 分别为 0 (对照组)、80、160、240、320、400 $\mu\text{mol/L}$, 每处理 3 次重复, 每个重复 3 棵苗, 用 0.1 mol/L NaOH 或 0.1 mol/L HCl 调节营养液 pH 值至 5.5 左右, 每 4 d 更换 1 次营养液, 生长期间观察植物的长势和症状表现。

1.3 测定指标及方法

处理 10、16、22 d 后分别测定植株叶片的 SOD、CAT 等相关生理指标。质膜透性测定用电导仪法^[6]; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性, 参照高俊凤方法^[7]; 过氧化氢酶 (CAT) 活性测定采用紫外分光光度计法^[8]; 丙二醛 (MDA) 含量和可溶性糖含量采用硫代巴比妥酸 (TBA) 比色法测定^[9]; 脯氨酸测定采用磺基水杨酸法^[8]。

1.4 数据分析

采用 Excel 2007、SPSS 11.5 统计软件进行数据处理及统计分析。

第一作者简介: 袁红艳 (1983-), 女, 山东济宁人, 在读硕士, 研究方向为园林植物与观赏园艺。

通讯作者: 陆小平 (1958-), 男, 博士, 教授, 现主要从事园艺 (园林) 植物遗传育种的教学和研究工作。E-mail: szlxp@yahoo.com.cn

收稿日期: 2010-04-21

2 结果与分析

2.1 铜胁迫对费菜保护酶活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)是细胞抵御活性氧伤害的重要保护酶类,在清除超氧自由基、过氧化氢和过氧化物以及阻止或减少羟基自由基形成等方面起着重要作用。由表 1 可知,随着胁迫时间的延长,SOD 的活性整体呈下降趋势。处理前期(10 d),随着 Cu²⁺ 浓度的增加,SOD 的活性呈上升趋势,酶的活性基本上都高于对照。在处理的第 16 天,各处理组 SOD 的活性稍高于对照。处理后期(22 d),SOD 的活性都降至对照水平以下,酶的活性有一定程度的波折,但存在下降的趋势。Cu²⁺ 浓度为 80 μmol/L 时,SOD 的活性先升高后降低。Cu²⁺ 浓度≤240 μmol/L 时,CAT 的活性随处理时间延长持续升高。而当 Cu²⁺ 浓度>240 μmol/L 时,CAT 的活性先升高后下降。T-检验显示,SOD、CAT 在 3 个不同时期之间均达到极显著差异(P<0.01),为低浓度胁迫下的刺激和高浓度下的抑制作用。

表 1 不同 Cu²⁺ 浓度对费菜叶片 SOD 和 CAT 活性影响

浓度 /μmol·L ⁻¹	SOD 活性/U·g ⁻¹ ·h ⁻¹ FW			CAT 活性/U·g ⁻¹ ·min ⁻¹ FW		
	10 d	16 d	22 d	10 d	16 d	22 d
0	929.0b	931.7ABb	910.7a	82.3B	82.6Cc	85.8C
80	977.1ab	960.6Bb	844.9a	75.2C	82.1Cc	93.2B
160	919.4b	868.2Aa	874.2a	74.2C	81.2Cc	92.3B
240	988.9ab	942.2ABb	861.6a	75.6C	90.8Bb	98.8A
320	1 027.1a	937.2ABb	894.8a	88.9A	95.6ABb	84.6C
400	1 043.0a	964.6Bb	867.9a	91.4A	96.5Aa	62.5D

注:ISD 法进行显著性检验,大写字母表示具有极显著性差异(P<0.01),小写字母表示具有显著性差异(P<0.05),下同。

2.2 铜胁迫对费菜质膜透性和 MDA 含量的影响

植物组织受到逆境伤害时,由于质膜功能受损或结构破坏,使其透性增大,细胞内各种水溶性物质包括电解质向外渗漏,电导将因电解质的外渗而增大,伤害越重,外渗越多,相对电导率的增加也越大。

由表 2 可知,Cu²⁺ 处理对相对电导率和 MDA 含量影响显著,电导率大小随 Cu²⁺ 浓度的增加而大体升高,Cu²⁺ 浓度为 160 μmol/L 时最小。随 Cu²⁺ 浓度增加 MDA 含量有一定程度的波折,但 MDA 含量均高于对照。经方差分析,Cu²⁺ 浓度为 400 μmol/L,相对电导率的大小与对照间差异显著,而各处理间差异不显著;MDA 含量在对照和各处理间(除 Cu²⁺ 浓度为 320 μmol/L 差异显著外)差异极显著,各处理间差异不显著。经相关性分析,相对电导率大小和 MDA 含量呈极显著正相关性(P=0.001,相关系数 r=0.722^{**})。Cu²⁺ 浓度与相对电导率大小呈极显著正相关性(P=0.000,相关系数 r=0.797^{**})。Cu²⁺ 浓度与 MDA 含量呈显著相关性(P=0.048,相关系数 r=0.472^{*})。

2.3 铜胁迫对费菜叶片渗透调节物质的影响

由表 3 可知,可溶性糖的含量随 Cu²⁺ 浓度增加总体呈增加趋势,Cu²⁺ 浓度为 400 μmol/L 时,与对照及 80 μmol/L 之间差异显著,其余处理之间差异皆不显著。脯氨酸的含量随着处理浓度的增加而整体呈上升趋势,各处理间脯氨酸的含量和对照差异显著。

表 2 不同 Cu²⁺ 浓度费菜质膜透性和 MDA 含量影响

浓度 /μmol·L ⁻¹	相对电导率 /%	MDA 含量 /μmol·g ⁻¹ FW
0	11.80b	2.61B
80	15.91ab	4.01Aab
160	14.05ab	3.85Aab
240	16.89ab	4.23Aab
320	16.04ab	3.74ABa
400	17.28a	4.13Aab

可溶性糖和脯氨酸是参与细胞渗透调节的主要物质。Cu²⁺ 胁迫下可溶性糖和脯氨酸含量的增加有利于细胞或组织持水,防止脱水。可溶性糖增加,可能是细胞内大分子糖类的分解加强,而合成受抑,蔗糖的合成加快,光合产物形成过程中,直接转变成低分子量可溶的蔗糖、葡萄糖、果糖和半乳糖等,最终导致可溶性糖含量上升^[4]。

表 3 不同 Cu²⁺ 浓度对费菜叶片可溶性糖含量和脯氨酸含量的影响

浓度 /μmol·L ⁻¹	可溶性糖含量 /mmol·g ⁻¹ FW	脯氨酸含量/μg·g ⁻¹
0	13.43b	9.48Cc
80	14.07b	11.70BCb
160	14.63ab	13.45Bb
240	16.74ab	11.86BCb
320	16.49ab	12.97Bb
400	17.35a	17.90Aa

3 讨论

正常情况下植物体内各项代谢的生理生化过程都是比较稳定而协调的,当植物受到逆境胁迫时,其内部生理机制会发生一系列的变化,主要表现为:根系活力下降,叶绿素降解,细胞膜透性增大,渗透调节物质增加,活性氧含量增加,启动抗氧化酶和非酶抗氧化物质发生应答性变化。

试验中在胁迫的初期,SOD 活性随 Cu²⁺ 浓度增加而升高,是由于逆境胁迫下 O₂⁻ 的产生会增多,从而诱导了酶活性的增强^[9]。但随胁迫时间的延长,Cu²⁺ 在植株体内累积,使植物体内活性氧的产生和清除系统失去平衡,造成植物细胞内的保护酶 SOD 活性下降。在处理的最后阶段(16~22 d),当 Cu²⁺ 浓度≤240 μmol/L 时,CAT 活性随着胁迫时间的延长持续升高与 SOD 协同作用清除体内活性氧。随着胁迫时间的延长和 Cu²⁺ 浓度的增加,CAT 活性持续下降。可能是过量的 Cu²⁺ 使酶分子发生沉淀、络合等反应,使蛋白质变性,而使酶

失活,或者植物体中 O_2^- 的增加超过了正常歧化能力,而对组织细胞多种功能膜及酶系统破坏,以至抑制酶的活性。 Cu^{2+} 浓度为 $160 \mu\text{mol/L}$ 时, SOD、CAT 这 2 种酶的活性在每个时期都最低。对此作出 2 点推测,一是 Cu^{2+} 浓度升至 $160 \mu\text{mol/L}$ 时植物受到 Cu^{2+} 毒害,开始启动其它的抗性机制,比如诱导 NPT 合成以络合过量重金属,减小铜的毒害,这可能是酶活性没升高的原因。当 Cu^{2+} 浓度大于 $160 \mu\text{mol/L}$, 其它抗性机制不能充分降低重金属的毒害作用,使活性氧的量增加,刺激抗氧化物酶活性增高。二是 Cu^{2+} 浓度在 $0 \sim 160 \mu\text{mol/L}$ 时,随着胁迫浓度的升高,铜积累速率逐渐加快,当 Cu^{2+} 浓度大于 $160 \mu\text{mol/L}$ 时,积累速率开始下降。在 $160 \mu\text{mol/L}$ 处铜积累速率达到最大,导致活性氧的急剧上升,使活性氧大量积累,导致酶的活性急剧下降。何冰^[1]报道,铅积累速率随着重金属浓度的增加先上升后下降,在 160 mg/L 处理下积累速率急剧上升达到最大,后下降至逐渐平稳。

试验中随 Cu^{2+} 浓度增加 MDA 含量有一定程度的波折,但 MDA 含量均高于对照。MDA 含量可能与酶的活性有关系,经相关性分析, SOD 活性和 MDA 含量呈显著负相关性($P=0.042$, $r=-0.828^*$)。内源性 SOD 活性增加,清除了部分自由基,使得过氧化程度降低,引起 MDA 含量下降^[9]。所以,在胁迫过程中 MDA 含量可能会有一定程度的波折。这说明植物虽然受到胁迫,但是抗氧化酶系统的平衡未被打破,内源性 SOD 活性,清除了部分自由基,使得过氧化程度降低,引起 MDA 含量下降。脯氨酸和可溶性糖是植物体内存在的重要渗透调节物质,使细胞和组织保持水平衡^[12],在逆境下这些物质的积累可有助于提高植物抗氧化能力及逆境适应性。

The Effect on the Physiological Characteristic of *Sedum aizoon* L. Under Copper Stress

YUAN Hong-yan, LIU Xiao-hong, LI Ye-feng, WANG Yong-liang, ZHAO Ge, LU Xiao-ping
(Suzhou University, Suzhou, Jiangsu 215123)

Abstract: In water culture experiment, the effects of heavy metal Cu^{2+} at different concentration and different periods ($80, 160, 240, 320, 400 \mu\text{mol/L}$) on the physiological and biochemical characteristics of *Sedum aizoon* L. were studied. The study with water culture showed that the activity of superoxide dismutase (SOD) was on the downside generally, in spite of twisting and turning to a certain extent. When treated with low concentration Cu^{2+} ($Cu^{2+} < 240 \mu\text{mol/L}$), the activity of catalase (CAT) tended to increase, but decrease sustainably with high Cu^{2+} concentration ($Cu^{2+} \geq 240 \mu\text{mol/L}$). The activities of SOD, CAT got to their minimum values on the $160 \mu\text{mol/L}$ concentration. The activities of SOD, CAT among those three periods come up to remarkable difference. Relative electric conductivity increase generally with the increasing of Cu^{2+} concentration. The content of MDA twists and turns to a certain extent, but all higher than the comparison level. Content of soluble sugar and proline increase generally with the increasing of the Cu^{2+} concentration.

Key words: *Sedum aizoon* L.; Cu^{2+} stresses; physiological and biochemical characteristics.

植物细胞有多种抗重金属机制,受保护酶活性、渗透调节物质,金属硫蛋白(MT)及植物络合素(PC)等共同调节。费菜体内 SOD、CAT 活性、脯氨酸、MDA、可溶性糖和脯氨酸含量随重金属胁迫的动态变化,有效防止(减轻)了细胞的膜脂过氧化程度,维持了细胞膜的完整性,避免(减轻)了重金属胁迫的伤害,是费菜对重金属胁迫的适应性反应和重金属胁迫下费菜得以生存的重要调节机制。

参考文献

- [1] 颜昌宙,曾阿妍. 沉水植物对重金属 Cu^{2+} 的生物吸附及其生理反应[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(2): 366-370.
- [2] 张启翔. 中国观赏园艺研究进展[M]. 北京: 中国林业出版社, 2008: 439-442.
- [3] 王松华,杨志敏,吕波等. 印度芥菜对 Cu 诱导的氧化胁迫响应[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(1): 24-27.
- [4] 胡筑兵,陈亚华,王桂萍等. 铜胁迫对玉米幼苗生长、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性的影响[J]. 植物学通报, 2006, 23(2): 129-137.
- [5] 周泽义. 中国蔬菜重金属污染控制[J]. 资源生态环境网络研究动态, 1999, 10(3): 21-27.
- [6] 张治安,陈展宇. 植物生理学实验技术[M]. 长春: 吉林大学出版社, 2008: 178-179.
- [7] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 广州: 世界图书出版公司, 2000: 137-202.
- [8] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 161-162, 168-169.
- [9] 郝再彬,苍晶,徐仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004: 106-108.
- [10] 冯琛,路新枝,于文功. 逆境胁迫对条斑紫菜生理生化指标的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2004: 22-26.
- [11] 何冰,杨肖娥. 东南景天对铅的耐性和富集特性及其对铅污染土壤修复效应的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [12] 徐勤松,施国新,计汪栋等. Zn 对苜蓿叶片保护酶活性、渗透调节物质含量和 Ca^{2+} 定位分布的影响[J]. 水生生物学报, 2009, 33(4): 613-618.