

Cu²⁺胁迫下三种蔬菜四种抗氧化生理指标的变化

马沛勤, 陈莉, 陈俊

(运城学院 生命科学系, 山西 运城 044000)

摘要:以油菜、生菜、茼蒿的幼苗为试材,研究了不同浓度 CuCl₂ 溶液(0、40、80、120、160 mg/L)胁迫下 3 种蔬菜的生理生化指标(SOD 活性、POD 活性、MDA 含量、维生素 C 含量)的变化。结果表明:随 CuCl₂ 胁迫浓度的升高,3 种蔬菜超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性均呈先升后降的趋势,活性变化主要由种间和 CuCl₂ 胁迫引起;丙二醛(MDA)含量呈逐渐上升趋势,含量变化主要由浓度引起;维生素 C 含量呈先降再升趋势,含量变化与种间和胁迫浓度都有关。试验推测,茼蒿的抗铜胁迫机制可能以 SOD、POD 活性平衡上升为主,油菜的抗铜胁迫机制可能与维生素 C 含量上升关系密切。

关键词:油菜;生菜;茼蒿;Cu²⁺;SOD;POD;MDA;维生素 C

中图分类号:S 636 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)10-0011-04

目前,重金属造成的土壤污染日趋严重。Cu²⁺ 是植物生长所必需的微量元素之一,Cu²⁺ 的不足会导致蔬菜生长受到抑制,但 Cu²⁺ 又是一种重金属元素,过量的铜又会使蔬菜受到毒害。大多数植物对 Cu²⁺ 具有敏感性,

土壤中的 Cu²⁺ 稍微过量便会对蔬菜产生毒害作用。铜盐毒害往往造成蔬菜生长缓慢或停止生长,甚至死亡^[1];Cu²⁺ 也会通过食用蔬菜在人体中积累,危害人体健康。油菜、生菜、茼蒿是深受人们喜爱的 3 种蔬菜,现以 3 种蔬菜为试材,研究不同浓度 CuCl₂ 胁迫下蔬菜体内生理生化指标的变化以及 3 种蔬菜对铜胁迫的适应性。该试验对重金属的毒害机理和作物的抗性机理进行了研究,对蔬菜生产、抗性品种合理开发利用、抗性基

第一作者简介:马沛勤(1960-),女,本科,副教授,研究方向为遗传进化。E-mail:peiqinma@163.com

收稿日期:2013-01-17

Effect of Different Soil Moisture Contents on Net Photosynthetic Rate and Antioxidant Abilities in Huangguan Pear Leaves

ZHANG Xiao-feng, HAN Xiang, ZHANG Jian-guang

(College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Pear Engineering and Technology Research Center of Hebei Province, Baoding, Hebei 071000)

Abstract: With two years old potted 'Huangguan' pear trees as material, the effect of different soil moisture contents and spraying brassinosteroid(BR) on leaf Pn and antioxidant ability in leaves were investigated in 'Huangguan' pears. The results showed that, when the soil moisture content maintained about 75% or so, the maximum leaf Pn was observed, being 22.0%, 78.5% and 70.9% higher than 65%, 55% and 40% soil moisture treatments, respectively. As soil moisture contents decreased, the net photosynthetic rates reduced but when the content reached 55% or below, the leaf Pn remained a lower level without significant changes. Moreover, when soil moisture content maintained 75% or so, a lower level of SOD and APX activity was found but as soil moisture contents decreased, the activity of both enzymes increased and when the soil moisture content reached 55%, the activity achieved the maximum. However, when the soil moisture content decreased to 40%, the activity reduced significantly. Under stressed or unstressed soil moisture conditions, spraying BR could significantly increase leaf SOD and APX activities, with SOD activity from four soil moisture treatments increasing by 39.1%~113.3% and APX by 28.8%~141.7%. Furthermore, when the soil moisture stress(55% and 40%) occurred, the AsA contents in leaves rised. In addition, applying BR could change the diurnal leaf Pn pattern.

Key words: pear; brassinosteroid(BR); net photosynthetic rate; antioxidant; drought stress

因克隆和提高人们的健康生活水平都有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为大小均匀、籽粒饱满的油菜、生菜、茼蒿种子。

1.2 试验方法

将油菜、生菜、茼蒿种子分别用自来水冲洗后于 25℃ 下用蒸馏水浸泡 24 h, 再挑选露白的 3 种蔬菜种子, 蒸馏水冲洗后, 平铺于有 4 层纱布垫底、用 KMnO_4 消毒过的托盘中, 上盖 1 层纱布, 置于 22℃ 的光照恒温培养箱中培养, 每隔 24 h 换蒸馏水 1 次^[2]。待苗长出 1 片真叶后, 分别将 3 种蔬菜幼苗转移至消毒过的培养皿中, 分别用 0 (对照, 蒸馏水培养)、40、80、120、160 mg/L 5 种浓度的 CuCl_2 进行胁迫培养。每隔 24 h 换 1 次胁迫液, 5 d 后分别测定超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 活性和丙二醛 (MDA)、维生素 C 的含量。

1.3 项目测定

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性采用氮蓝四唑 (NBT) 光还原法测定^[3]; 过氧化物酶 (POD) 活性采用愈创木酚法测定^[3]; 丙二醛 (MDA) 含量采用硫代巴比妥酸法测定^[3]; 维生素 C 的含量采用碘量滴定法测定^[4]。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2003 和应用 DPS V 3.01 专业

版统计软件进行方差分析, 用 Duncan 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 3 种蔬菜幼苗 SOD 活性、POD 活性、MDA 含量、维生素 C 含量的测定

由表 1 可知, 在试验范围内, 随着 Cu^{2+} 胁迫浓度的逐渐升高, 3 种蔬菜的 SOD、POD 活性均呈现先升再降趋势; 油菜和生菜在 Cu^{2+} 浓度 120 mg/L 时 SOD 达到最大活性, 茼蒿在 80 mg/L 达到最大活性; 油菜的 POD 活性在 120 mg/L 时达到最大值, 生菜和茼蒿在 80 mg/L 时达到最大值; 随着 Cu^{2+} 胁迫浓度的升高, 3 种蔬菜中 MDA 含量呈现逐渐上升趋势; 随着 Cu^{2+} 胁迫浓度的逐渐升高, 油菜、生菜中的维生素 C 含量呈现先降后升的趋势, 茼蒿中维生素 C 含量呈现先降后升再降的趋势。3 种蔬菜都在 40 mg/L 时维生素 C 的含量最低。

2.2 SOD 活性、POD 活性、MDA 含量、维生素 C 含量变化方差分析

对 Cu^{2+} 胁迫浓度间和蔬菜种间进行二因素方差分析。表 2 表明, Cu^{2+} 胁迫浓度间和蔬菜种间 SOD 活性差异都达到极显著水平 ($P < 0.01$); Cu^{2+} 胁迫浓度间和蔬菜种间 POD 活性差异都达到极显著水平 ($P < 0.01$); Cu^{2+} 胁迫浓度间 MDA 含量差异达极显著水平 ($P < 0.01$), 蔬菜种间 MDA 含量差异达到显著水平 ($0.05 > P > 0.01$); Cu^{2+} 胁迫浓度间和蔬菜种维生素 C 含量差异都达极显著水平 ($P < 0.01$)。

表 1 Cu^{2+} 胁迫下 3 种蔬菜幼苗 SOD 活性、POD 活性、MDA 含量、维生素 C 含量比较

Table 1 SOD, POD, MDA activity and VC content three kinds of vegetable seedlings under Cu^{2+} stress

处理浓度 Concentration /mg · L ⁻¹	SOD 活性 SOD activity/OD 值			POD 活性 POD activity/OD 值			MDA 活性 MDA activity/OD 值			维生素 C 含量 VC content/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$		
	油菜 Rape	生菜 Lettuce	茼蒿 Chrysanthemum	油菜 Rape	生菜 Lettuce	茼蒿 Chrysanthemum	油菜 Rape	生菜 Lettuce	茼蒿 Chrysanthemum	油菜 Rape	生菜 Lettuce	茼蒿 Chrysanthemum
0	0.154	0.223	0.108	0.460	0.176	0.196	0.210	0.009	0.010	5.0	2.8	4.0
40	0.191	0.266	0.213	0.509	0.296	0.348	0.026	0.023	0.013	4.8	2.2	3.4
80	0.228	0.260	0.253	0.625	0.353	0.446	0.027	0.025	0.020	5.0	2.6	3.8
120	0.241	0.292	0.248	0.787	0.286	0.412	0.031	0.028	0.028	5.4	2.6	4.2
160	0.215	0.276	0.221	0.564	0.185	0.351	0.033	0.031	0.032	5.8	3.0	4.0

表 2 SOD 活性、POD 活性、MDA 含量、维生素 C 含量变化方差分析

Table 2 The variance analysis of SOD, POD, MDA activity and VC content changes

变异来源		SOD 活性 SOD activity				POD 活性 POD activity			
Source of variation	ss	df	S ²	F	ss	df	S ²	F	
浓度间 Between concentration	0.0177	4	0.0044	10.159 **	0.0463	4	0.0116	9.665 **	
种间 Between species	0.0105	2	0.0053	12.121 **	0.1674	2	0.0837	0.001 **	
误差 Error	0.0035	8	0.0004		0.0096	8	0.0012		
总变异 Total variation	0.0317	14			0.2233	14			
变异来源		MDA 活性 MDA activity				维生素 C VC content			
Source of variation	ss	df	S ²	F	ss	df	S ²	F	
浓度间 Between concentration	0.0006	4	0.00010	15.061 **	1.0827	4	0.2707	7.808 **	
种间 Between species	0.0001	2	0.00001	4.653 *	16.3893	2	8.1947	236.385 *	
误差 Error	0.0001	8	0.00002		0.2773	8	0.0347		
总变异 Total variation	0.0008	14			17.7493	14			

2.3 SOD 活性、POD 活性、MDA 含量、维生素 C 含量多重比较分析

对差异显著的 Cu^{2+} 胁迫浓度间和蔬菜种间用 Duncan 法进一步进行多重比较分析,由表 3、4 可知,蔬菜幼苗 SOD 活性在铜浓度 40~160 mg/L 差异不显著,0 mg/L 与其它浓度之间均达极显著差异。不同蔬菜 SOD 活性在油菜和茼蒿之间差异不显著,在生菜与油菜、生菜与茼蒿之间达极显著差异。说明 SOD 活性差异与不同蔬菜有很大关系,生菜>茼蒿>油菜;与 Cu^{2+} 胁迫有很大关系,但与胁迫浓度关系不大;120 mg/L

Cu^{2+} 胁迫达到 3 种蔬菜能够忍耐的最大浓度。

蔬菜幼苗 POD 活性在铜浓度 120、80、40 mg/L 之间差异不显著,而在 0 与 40、80、120 mg/L 之间存在极显著差异。 Cu^{2+} 浓度在 120 mg/L 时 POD 活性最大。不同蔬菜间 POD 活性差异达 5%显著水平,油菜与生菜、茼蒿之间 POD 活性存在 1%极显著差异。油菜的 POD 活性最大。说明 POD 活性差异与不同蔬菜有很大关系,油菜>茼蒿>生菜。与 Cu^{2+} 胁迫有很大关系,但与胁迫浓度关系不大,120 mg/L 活性最高。

表 3 Cu^{2+} 不同浓度下 SOD 活性、POD 活性、MDA 含量、维生素 C 含量显著性比较

Table 3 The significance difference of SOD,POD,MDA activity and VC content under different concentrations of Cu^{2+}

浓度 Concentration /mg · L ⁻¹	SOD 活性 SOD activity 平均值 Mean	显著性 Significance	浓度 Concentration /mg · L ⁻¹	POD 活性 POD activity 平均值 Mean	显著性 Significance	浓度 Concentration /mg · L ⁻¹	MDA 含量 MDA content 平均值 Mean	显著性 Significance	浓度 Concentration /mg · L ⁻¹	维生素 C 含量 VC content 平均值 Mean	显著性 Significance
80	0.26033	aA	120	0.39236	aA	160	0.03200	aA	160	4.26667	aA
120	0.24700	aA	80	0.38554	aA	120	0.02800	abAB	120	4.06667ab	A
160	0.23733	aA	40	0.35571	abA	80	0.02500	bcAB	0	3.93333	abAB
40	0.22333	aA	160	0.30594	bcAB	40	0.02067	cBC	80	3.80000	bcAB
						0	0.01367	dC	40	3.46667	cB

注:小写字母表示差异显著水平为 5%,大写字母表示差异显著水平为 1%。表 4 同。

Note: Different small letters mean significant difference at 5% level, capital letters mean very significant different at 1% level. Same as Table 4.

表 4 3 种蔬菜 SOD 活性、POD 活性、MDA 含量、维生素 C 含量显著性比较

Table 4 The significance comparative of significance of activities of SOD,POD,MDA activity and VC content

种 Species	SOD 活性 SOD activity 平均值 Mean	显著性 Significance	种 Species	POD 活性 POD activity 平均值 Mean	显著性 Significance	种 Species	MDA 含量 MDA content 平均值 Mean	显著性 Significance	种 Species	维生素 C 含量 VC content 平均值 Mean	显著性 Significance
生菜 Lettuce	0.2634	aA	油菜	0.48019	aA	生菜 Lettuce	0.0266	aA	油菜	5.20	aA
茼蒿 Chrysanthemum	0.2086	bB	茼蒿	0.30078	bB	茼蒿 Chrysanthemum	0.0244	abA	生菜	3.88	bB
油菜 Rape	0.2058	bB	生菜	0.22900	cB	油菜 Rape	0.0206	bA	茼蒿	2.64	cC

蔬菜幼苗 MDA 含量在铜浓度间差异显著:0 mg/L 与 160、120、80 mg/L 之间存在极显著差异,160 与 40 mg/L 之间存在极显著差异,160 mg/L 时 MDA 含量最高。不同蔬菜 MDA 含量在茼蒿与油菜之间达 5%显著差异,油菜中 MDA 含量最高。说明 MDA 含量差异与 Cu^{2+} 胁迫浓度有很大关系,浓度越高,活性越大;与蔬菜种类的关系较小。

蔬菜幼苗维生素 C 含量在铜浓度 0 与 40 mg/L 之间存在 5%显著差异,在 40 与 160、120 mg/L 之间存在 1%极显著差异。160 mg/L 时维生素 C 的含量最高。不同蔬菜的维生素 C 含量间均存在 1%极显著差异,油菜的维生素 C 含量最高。说明维生素 C 含量与不同蔬菜有很大关系,油菜>生菜>茼蒿;与 Cu^{2+} 胁迫浓度有很大关系,40 mg/L 最低,160 mg/L 最高。

3 讨论与结论

脂质的过氧化作用是典型的活性氧(ROS)(包括超氧阴离子、 H_2O_2 、羟基自由基等)参与的自由基链反应,直接干扰和破坏生物膜的生理功能,但体内存在抗氧化的保护系统。正常情况下,过氧化和抗氧化处于平衡

中,不至于造成对机体的损伤。但平衡失调时,脂质过氧化将加剧。

生物细胞内的 SOD 将超氧阴离子歧化为 H_2O_2 , POD 再将 H_2O_2 清除^[5]。铜可以直接诱发 ROS 产生。单价态铜与氧结合易产生超氧阴离子自由基,超氧阴离子自由基可转化为 H_2O_2 ,后者又可以在铜的催化下反应生成羟基自由基。毒性很强的羟基自由基可以氧化细胞内的所有生物分子,使细胞受害甚至死亡。同时 Cu^{2+} 胁迫也启动抗氧化酶系统,清除过量 H_2O_2 和超氧阴离子,防止氧化伤害或毒性更强的羟基自由基的形成^[6]。

Cu^{2+} 胁迫下,SOD 活性与 POD 活性随胁迫浓度的升高呈现先升后降趋势,活性差异与不同蔬菜有很大关系,与 Cu^{2+} 胁迫有很大关系,SOD 活性生菜>茼蒿>油菜;POD 活性油菜>茼蒿>生菜。说明铜胁迫诱发了活性氧,也启动了抗氧化酶系统。在 Cu^{2+} 80~120 mg/L 胁迫浓度下活性氧的积累水平达到了蔬菜本身所能调控阈值,120~160 mg/L 过多的活性氧自由基无法清除,导致 SOD、POD 本身活性下降^[7]。

SOD增加的幅度比POD大很多时,即SOD/POD比值增加,那么SOD分解产生的 H_2O_2 就不能被及时地清除,积累的 H_2O_2 将与未被SOD分解的超氧阴离子自由基在细胞内游离铁和铜等催化下通过Fen-ton反应形成羟基自由基,加剧氧化胁迫作用^[8]。

油菜对照SOD/POD=0.837,160 mg/L SOD/POD=0.381,随胁迫浓度的升高,比值减小,SOD增加的幅度比POD小。生菜对照SOD/POD=0.364,160 mg/L SOD/POD=1.492,随胁迫浓度的升高,比值减增大,SOD增加的幅度比POD大。茼蒿对照SOD/POD=0.514,160 mg/L SOD/POD=0.630,随胁迫浓度的升高,比值基本稳定,SOD增加的幅度与POD一致。所以,就SOD、POD活性推论:抗 Cu^{2+} 胁迫能力茼蒿>油菜>生菜。

MDA是膜质过氧化作用的主要产物之一,作为脂质过氧化的指标,用于表示细胞膜过氧化程度和蔬菜对逆境条件反应的强弱。试验中MDA含量随 Cu^{2+} 胁迫浓度升高逐渐升高,含量变化与浓度关系很大,与不同蔬菜的关系较小。MDA含量变化说明铜胁迫诱发生成的活性氧,引起膜质过氧化作用加剧,对细胞膜的氧化程度在3种蔬菜之间无大差异。

维生素C属于阻断型抗氧化剂,可以捕捉和消除包括链反应中产生的自由基^[9],中断和延缓链反应的进行。试验中,维生素C含量随 Cu^{2+} 胁迫浓度升高呈现先降后升趋势,含量变化与不同蔬菜有很大关系,油菜>生菜>茼蒿,与 Cu^{2+} 胁迫浓度有很大关系,40 mg/L最低,

160 mg/L最高。维生素C含量变化说明 Cu^{2+} 胁迫影响到维生素C的合成,40 mg/L胁迫时,维生素C合成受到影响,这可能与维生素C合成酶的活化有关^[10]。随着胁迫浓度升高,抗氧化功能启动,维生素C含量上升。

由试验推测,茼蒿的抗铜胁迫机制可能以SOD、POD活性上升为主,油菜的抗铜胁迫机制可能与维生素C含量关系密切。

参考文献

- [1] 马沛勤,陈莉.白菜渣对重金属离子铜的吸附研究[J].北方园艺,2011(24):25-30.
- [2] 刘素春,满浪涛,廖柏寒,等.铜胁迫对黄瓜幼苗抗氧化酶及同工酶的影响[J].应用生态学报,2006,17(2):300-304.
- [3] 李和生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000:195-197.
- [4] 郭新华.无机及分析化学实验[M].4版.北京:高等教育出版社,2006:146-148.
- [5] 刘正鲁,朱月林,胡春梅,等.氯化钠胁迫对嫁接茄子生长、抗氧化酶活性、活性氧代谢的影响[J].应用生态学报,2007,18(3):537-541.
- [6] 宋福南,杨传平,刘雪梅,等.盐胁迫对怪柳超氧化物歧化酶活性的影响[J].东北林业大学学报,2006,34(3):32-35.
- [7] 周长芳,吴国荣,施国新,等.水花生抗氧化系统在抵御铜胁迫中的作用[J].植物学报,2001,43(4):389-394.
- [8] 史吉平,董永华.重金属胁迫对小麦超氧化物歧化酶活性的影响[J].华南农业大学学报,1997,18(2):66-71.
- [9] 赵迎春.铜、镉胁迫对番茄幼苗生长及过氧化物酶活性的影响[J].安徽农业科学,2008,36(22):9384-9385.
- [10] 唐长奇.铜、锌胁迫下西红柿体内维生素的累积及其可能意义[J].植物生理学通讯,1984,20(1):15.

Study on the Cu^{2+} Stress on Physiological and Biochemical Index in Three Kinds of Vegetables

MA Pei-qin, CHEN Li, CHEN Jun

(Department of Life Science, Yuncheng University, Yuncheng, Shanxi 044000)

Abstract: Three kinds of vegetables (rape, lettuce, chrysanthemum) seedlings was chosen as test materials, different concentrations of $CuCl_2$ solution (0 mg/L, 40 mg/L, 80 mg/L, 120 mg/L, 160 mg/L) stress on physiological and biochemical indexes (SOD activity, POD activity, MDA content, VC content) changes were studied. The results showed that with the stress concentration increasing, three kinds of vegetables SOD, POD activity showed an increasing and then decreasing trend and the changes of activity caused by the different vegetables; the content of MDA was gradually rising trend and the changes of content caused mainly by the concentration of cadmium stress; the content of VC decreased at first and then ascending trend and the changes of content caused by the different vegetables and concentration of cadmium stress. It was speculated that chrysanthemum of resistance to copper stress mechanism may be SOD, POD activity rised evenly and rape resistance to copper stress mechanism may be related to the content of VC increased close.

Key words: rape; lettuce; garland chrysanthemum; Cu^{2+} ; SOD; POD; MDA; VC