

# 紫花苜蓿叶片对硒胁迫的生理响应研究

代惠萍<sup>1,2,3</sup>, 崔科飞<sup>2</sup>, 贾根良<sup>4</sup>, 赵桦<sup>2,3</sup>, 李新生<sup>1,3</sup>, 徐皓<sup>2</sup>

(1. 陕西理工学院 陕西省资源生物重点实验室, 陕西 汉中 723001; 2. 陕西理工学院 生物科学与工程学院, 陕西 汉中 723001;

3. 陕南秦巴山区生物资源综合开发协同创新中心, 陕西 汉中 723001; 4. 西北农林科技大学 理学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:**以紫花苜蓿“大叶苜蓿”“维多利亚”“阿尔冈金”为试材, 采用土培法, 研究了硒胁迫对3种紫花苜蓿叶片酶促防御系统的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性及丙二醛(MDA)、可溶性蛋白质含量的影响。结果表明:在100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Se时, 硒胁迫显著提高了3种紫花苜蓿叶片SOD、APX、POD、CAT活性和可溶性蛋白质含量。Se为900  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, SOD、APX活性和可溶性蛋白质、MDA含量显著增加, 而CAT、POD活性显著降低。不同品种间抗氧化酶活性相比, “大叶苜蓿”抗氧化酶SOD、APX、POD、CAT活性显著高于其它2个苜蓿品种, 且差异显著。综合评价表明, “大叶苜蓿”的抗氧化能力最强, 其次为“阿尔冈金”, “维多利亚”苜蓿的抗氧化能力最差。

**关键词:**紫花苜蓿; 硒胁迫; 抗氧化特性

**中图分类号:**S 551+.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)17-0064-04

硒(Se)是人类和动物生命必需的营养元素之一<sup>[1]</sup>, 同时也是植物生长所需的一种有益元素<sup>[2-4]</sup>, 过量硒对植物产生毒害, 植物出现中毒症状, 生长及生理活动受到抑制, 植物细胞对硒的毒性最敏感的部位是一些特殊的和基本反应中需要S的部位, 低浓度的Se对植物吸收S的影响不大, 反而会刺激作物的一些生理反应。但当大量的Se取代S进入植物组织中, 一些酶的巯基(-GSH)就会失去作用, 含硒的巯基干扰细胞的正常生化反应和酶的功能<sup>[5-6]</sup>。同时, Se能够预防和抑制镉、砷、汞、银等有毒元素对机体的伤害<sup>[7-8]</sup>。在食物链中, 由于Se主要来源于植物并最终来源于土壤, 土壤中Se的含量、形态和作物对Se的吸收转化等都直接影响着食物链中Se水平<sup>[9-10]</sup>, 因此, 土壤中的Se一直是研究热点。田应兵等<sup>[11]</sup>通过水培试验表明, 适量的硒能促进黑麦草分蘖、株高以及地上部、根系及总生物量的增加, 硒浓度

为1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 黑麦草的生长受到抑制甚至中毒死亡。为探索植物在硒胁迫下抗氧化能力间的相互关系, 对于揭示植物的耐硒机制、促进植物修复技术的应用具有重要意义。

目前, 关于Se胁迫下不同紫花苜蓿体内的防御系统的响应机制还鲜见报道。该试验以硒为胁迫因子, 以紫花苜蓿(*Medicago sativa*)为试材, 研究硒胁迫对3个品种紫花苜蓿叶片保护酶活性及膜脂过氧化的影响, 以期培育耐硒苜蓿新品种探索新的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为“大叶苜蓿”“维多利亚”“阿尔冈金”3种栽培品种紫花苜蓿。

供试土壤为陕西理工学院生物工程学院生物修复实验试验地的园田土, 采用园田土、草炭、蛭石, 按照3:1:1的体积比充分混匀, 自然风干, 过2 mm筛。然后取若干土样做本底值测试, 并将其余土分装于塑料盆中。

### 1.2 试验方法

采用盆栽法, 用25 cm×16 cm塑料盆, 每盆土壤质量约2 kg, 设置3个处理, 6次重复, 共18盆。于2014年3月播种, 选饱满、无病虫害苜蓿种子, 用0.1%的 $\text{HgCl}_2$ 消毒10 min, 每盆播种20粒, 在自然光照条件下培养, 出芽15 d后间苗, 每盆留15株长势均匀的幼苗。植株生长期间用Hoagland营养液浇灌, 苜蓿幼苗生长

**第一作者简介:**代惠萍(1972-), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 现主要从事植物逆境生理等研究工作。E-mail: daihp72@aliyun.com

**基金项目:**陕西省教育厅重点实验室科研计划资助项目(15JS019); 陕西省自然科学基金资助项目(2015JM3086); 甘肃省环境生物监测与修复重点实验室开放基金资助项目(GBBL2015006); 国家大学生创新创业训练计划资助项目(201510720570); 陕西省大学生创新创业训练计划资助项目(1970); 陕西理工学院大学生创新创业训练计划资助项目(UIRP15034); 陕西省植物学重点学科2016资助项目。

**收稿日期:**2016-04-15

60 d后,向盆内加入  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  与去离子水配成母液,然后稀释成所需的处理浓度,试验共设置 2 个浓度的硒处理,即  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Se、 $900 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Se,以  $0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Se 为对照(CK),溶液 pH 用 NaOH 或 HCl 调至 6.5。并一次性施入相应的盆栽土壤中。培养期间,采用称重法,补充消耗的水分。在胁迫 60 d 时进行收获,选择生长基本一致的植株,每个处理收获 12 株,将每株叶片分开,迅速用液氮速冻,保存于  $-80^\circ\text{C}$  冰箱中,进行相关指标测定。

### 1.3 项目测定

可溶性蛋白质含量、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、过氧化物酶(POD)活性和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性均参照 DAI 等<sup>[12]</sup>的方法测定。

### 1.4 数据分析

采用统计软件 SPSS 12 进行统计分析。One-Way ANOVA 方差分析比较不同处理间各项指标的差异,通过 LSD 法进行差异显著性( $P < 0.05$ )分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 硒对不同紫花苜蓿叶片保护酶活性的影响

图 1A 表明,随 Se 浓度增加,不同苜蓿叶片的 SOD 活性呈现增加的趋势。Se 为  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,3 种苜蓿叶片的 SOD 活性均显著提高( $P < 0.05$ )。Se 为  $900 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,3 种苜蓿叶片的 SOD 活性分别比对照增加了 24.3%、23.7%、17.9%。不同苜蓿 SOD 活性大小依次为“大叶苜蓿”>“阿尔冈金”>“维多利亚”。

由图 1B 可知,参试紫花苜蓿叶片 APX 活性呈现上升的变化趋势,Se 为  $900 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,3 种紫花苜蓿叶片 APX 活性分别比对照增加了 84.7%、73.9%、68.3%。

图 1C、D 表明,参试紫花苜蓿叶片 CAT 活性和 POD 活性总体呈先增加后降低的变化趋势。Se 为  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,3 种紫花苜蓿叶片 CAT 活性和 POD 活性分别比对照增加了 33.0% 和 36.3%、21.4% 和 32.9%、10.1% 和 20.7%。当 Se 为  $900 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,“大叶苜蓿”叶片的 CAT 活性和 POD 活性增加了 20.6% 和 8.9%,而“阿尔冈金”和“维多利亚”苜蓿比对照降低了 16.3% 和 20.1%、39.2% 和 34.1%。

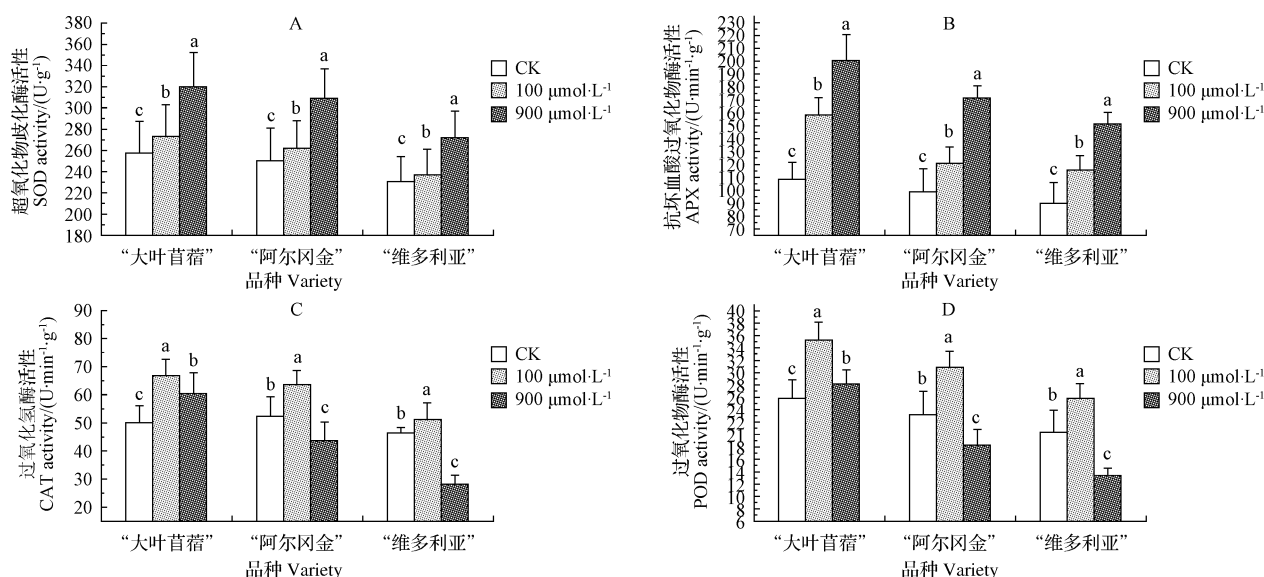


图 1 硒胁迫对紫花苜蓿 SOD、CAT、APX、POD 活性的变化

Fig. 1 Changes of different Se stress on activities of SOD, CAT, APX, POD of the three *Medicago sativa* leaves

### 2.2 硒对不同紫花苜蓿叶片可溶性蛋白质含量和丙二醛(MDA)含量的影响

由图 2A 可知,不同紫花苜蓿叶片中可溶性蛋白质含量随 Se 胁迫浓度的增大呈增长的变化趋势,且均显著高于对照组,与对照差异显著( $P < 0.05$ )。Se 浓度为  $900 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,可溶性蛋白质含量达到最高,分别比对照提高了 18.7%、14.1%、10.6%。由此可见,硒胁迫处理后,“大叶苜蓿”叶片可能会产生某些抗性蛋白酶以

抵御外界胁迫,减少 Se 对植株的损伤。

由图 2B 可知,随着 Se 处理浓度升高,“大叶苜蓿”和“阿尔冈金”叶片丙二醛(MDA)含量呈先降低后增加的变化趋势,而“维多利亚”MDA 含量呈上升的变化趋势。当 Se 浓度为  $900 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时达到最大值,比对照增加了 14.8%、18.7%、27.4%。不同紫花苜蓿相比,“大叶苜蓿”MDA 含量上升幅度小于“阿尔冈金”和“维多利亚”苜蓿。

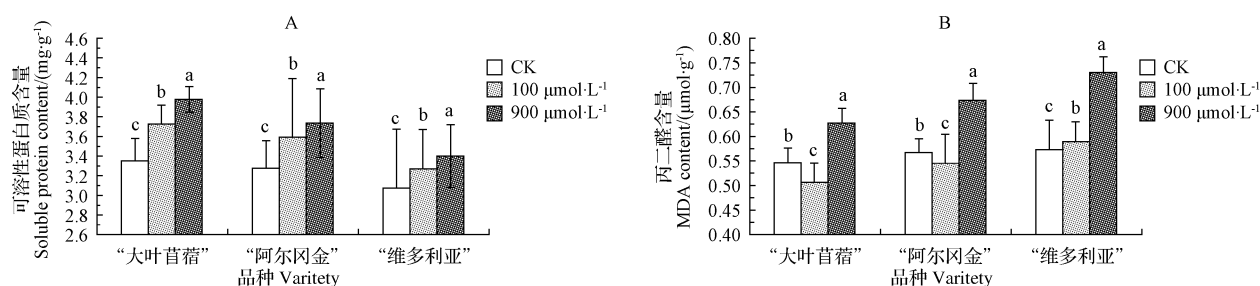


图2 硒胁迫对紫花苜蓿可溶性蛋白质含量和丙二醛含量的变化

Fig. 2 Changes of different Se stress on soluble protein content and MDA content of three *Medicago sativa* leaves

### 3 结论与讨论

在逆境条件下,植物体内的可溶性蛋白质大多数是参与各种代谢活动的酶类,其积累量的高低是判断植物生理响应的一个重要指标<sup>[13]</sup>。随着硒胁迫浓度增加,可溶性蛋白质含量呈上升的变化趋势,当 Se 浓度为 900  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,可溶性蛋白质含量达到最高值,不同紫花苜蓿间相比较,“大叶苜蓿”显著高于其它 2 个品种。该研究进一步证实,在低浓度 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Se 胁迫下,“大叶苜蓿”和“阿尔冈金”叶片的脂质过氧化产物 MDA 含量显著降低,这与吴永尧等<sup>[14]</sup>的研究结果相一致。说明硒在紫花苜蓿体内清除过量自由基防止过氧化方面发挥重要作用。

植物在硒胁迫下,自由基等氧化性物质增多,导致膜的过氧化作用,会损害生物膜的结构和功能,影响生物膜的完整性。FILEK 等<sup>[15-16]</sup>研究表明,Se 可以缓解 Cd 对植物幼苗生长的抑制作用,缓解植物的氧化胁迫,降低脂质过氧化反应。FENG 等<sup>[17]</sup>认为 Se 对重金属有拮抗作用,在调节生物体内的活性氧和抗氧化剂、重建细胞膜和叶绿体组织、阻碍重金属的吸收和转运、改变重金属的存在形态等方面发挥作用。薛瑞玲等<sup>[18]</sup>和 RAMOS 等<sup>[19]</sup>研究表明,在小白菜和莴苣菜中发现适当浓度的外源 Se(IV)和 Se(VI)均提高其抗氧化作用,促进了叶绿素的合成和生长,缓解了重金属对绿豆的胁迫作用<sup>[19]</sup>。该试验验证了这一点,在 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Se 胁迫下,参试紫花苜蓿 SOD、CAT、APX、POD 活性呈不同程度增加趋势。不同品种相比较,“大叶苜蓿”叶片 SOD、CAT、APX、POD 活性显著高于“阿尔冈金”和“维多利亚”。说明适当的浓度 Se 胁迫下,增强紫花苜蓿细胞内的抗氧化系统功能,从而减少氧化损伤,提高植株对 Se 胁迫的抗性。

### 参考文献

- [1] 殷金岩,耿增超,孟令军,等.不同硒肥对马铃薯产量、硒含量及品质的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,40(9):122-127.
- [2] PILON-SMITS E A, LEDUC D L. Phytoremediation of selenium using transgenic plants[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2009, 20(2): 207-212.
- [3] LI H H, MCGRATH S P, ZHAO P J. Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite[J]. New Phytologist, 2008, 178(1): 92-102.
- [4] MERVI M S, JUHA K, ISABEL L H, et al. Agronomic biofortification

of *Brassica* with selenium-enrichment of SeMet and its identification in *Brassica* seeds and meal[J]. Plant and Soil, 2010, 337(1-2): 273-283.

- [5] CARTES P, GIANFREDI L, MORA M L. Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms[J]. Plant and Soil, 2005, 276: 359-367.
- [6] CARTES P, GIANFREDI L, MORA M L. Selenium distribution in ryegrass and its antioxidant role as affected by sulfur fertilization[J]. Plant and Soil, 2006, 285: 187-195.
- [7] 雷红灵. 植物硒及其含硒蛋白的研究[J]. 生命科学, 2012, 24(2): 128-129.
- [8] FARGAŠOVÁ A, PASTIEROVÁ J, SVETKOVÁ K. Effect of Se-metal pair combinations (Cd, Zn, Cu, Pb) on photosynthetic pigments production and metal accumulation in *Sinapis alba* L. seedlings[J]. Plant Soil and Environment, 2006, 52: 8-15.
- [9] 陈平, 吴秀峰, 张伟锋, 等. 硒对镉胁迫下水稻幼苗叶片元素含量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2006, 14(3): 114-117.
- [10] QI X, LIU Y Y, SONG T X. Effect of selenium on root oxidizing ability and yield of rice under ferrous stress[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2004, 11(1): 19-22.
- [11] 田应兵, 陈芬, 程玲, 等. 硒对黑麦草生长、品质及谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响[J]. 湖北农学院学报, 2004, 24(2): 112-116.
- [12] DAI H P, SHAN C J, LU C, et al. Response of antioxidant enzymes in *Populus × canadensis* under cadmium stress[J]. Pakistan Journal of Botany, 2012, 44(6): 1943-1949.
- [13] 代惠萍, 赵桦, 李军超, 等. 锌胁迫对紫花苜蓿生理生化特性的影响及积累能力研究[J]. 北方园艺, 2014(10): 50-53.
- [14] 吴永尧, 卢向阳, 彭振坤, 等. 硒在水稻中的生理生化作用探讨[J]. 中国农业科学, 2000, 33(1): 100-103.
- [15] FILEK M, KESKINEN R, HARTIKAINEN H, et al. The protective role of selenium in rape seedlings subjected to cadmium stress[J]. Journal of Plant Physiology, 2008, 165(8): 833-844.
- [16] FILEK M, KOS'CIELNIAK J, LABANOWSKA M, et al. Selenium-induced protection of photosynthesis activity in rape (*Brassica napus*) seedlings subjected to cadmium stress, fluorescence and EPR measurements[J]. Photosynthesis Research, 2010, 105(1): 27-37.
- [17] FENG R, WEI C, TU S, et al. A dual role of Se on Cd toxicity: evidences from the uptake of Cd and some essential elements and the growth responses in paddy rice[J]. Biological Trace Element Research, 2013, 151(1): 113-121.
- [18] 薛瑞玲, 梁东丽, 吴雄平, 等. 亚硒酸钠和硒酸钠对小白菜生长生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2010, 30(5): 974-980.
- [19] RAMOS S J, FAQUIN V, GUIHERME L R G, et al. Selenium biofortification and antioxidant activity in lettuce plants fed with selenate and selenite[J]. Plant Soil and Environment, 2010, 56: 584-588.



# 低温条件下油菜素内酯对黄金香柳生理指标的影响

张霓雯<sup>1</sup>, 王莉<sup>2</sup>, 吴云<sup>2</sup>, 刘光立<sup>2</sup>

(1. 四川航天职业技术学院 计算机科学系, 四川 广汉 618300; 2. 四川农业大学 风景园林学院, 四川 成都 611130)

**摘要:**以二年生黄金香柳扦插苗为试材,研究了不同浓度油菜素内酯(BR)试剂(CK、0.000 1、0.001、0.01、0.1、1 mg·L<sup>-1</sup>)在各低温(5、0、-5、-10℃)条件下对黄金香柳叶片生理指标的影响。结果表明:随着BR试剂浓度的升高,黄金香柳叶片叶绿素含量、游离脯氨酸含量、可溶性糖含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性均呈现先上升后下降的变化趋势,并显著高于对照(CK);当BR试剂浓度为0.1 mg·L<sup>-1</sup>时达到最大值。丙二醛(MDA)含量呈现先下降后上升的变化趋势,显著低于对照;BR浓度为0.1 mg·L<sup>-1</sup>时达到最低值。POD活性、SOD活性和CAT活性在0~5℃增幅最大。说明油菜素内酯有利于提高黄金香柳在低温条件下的生长能力;0.01~0.10 mg·L<sup>-1</sup>的BR试剂最适合黄金香柳在低温下的生长;当温度在0~5℃时,BR试剂对黄金香柳生长的影响最大。

**关键词:**黄金香柳;油菜素内酯;生理指标;低温

**中图分类号:**S 793.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)17-0067-06

黄金香柳(*Melaleuca bracteata* cv. 'Revolution Gold') 属桃金娘科白千层属常绿灌木或小乔木,别名千层金,

原产新西兰和澳大利亚,是20世纪初选育出的变异新种<sup>[1]</sup>。黄金香柳株型直立,枝条细长柔软,叶片全年呈金黄色或鹅黄色,是园林绿化、庭院栽植的优良色叶树<sup>[2]</sup>。1999年黄金香柳首次从台湾引进到深圳,在园林中生长良好,并有很好的适应性。此前有报道称黄金香柳在0℃低温条件下已明显受害,抗寒极限温度在-15℃左右。黄金香柳在成都地区露地越冬仍存在较大风险。因此,如何有效提高黄金香柳的抗寒性仍然是当前亟需研究和探讨的热点。

**第一作者简介:**张霓雯(1989-),女,四川广元人,本科,助教,现主要从事园林植物栽培应用等研究工作。E-mail:631991145@qq.com.

**责任作者:**刘光立(1977-),男,山东德州人,博士,副教授,现主要从事园林植物栽培与野生植物应用等研究工作。E-mail:liugl\_1@163.com.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31370436)。

**收稿日期:**2016-04-18

## Study on Selenium Stress on Physiological Responses of *Medicago sativa* Leaves

DAI Huiping<sup>1,2,3</sup>, CUI Kefei<sup>2</sup>, JIA Genliang<sup>4</sup>, ZHAO Hua<sup>2,3</sup>, LI Xinsheng<sup>1,3</sup>, XU Hao<sup>2</sup>

(1. Shaanxi Province Key Laboratory of Bio-resources, Shaanxi University of Technology, Hanzhong, Shaanxi 723001; 2. College of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong, Shaanxi 723001; 3. Qinling-Bashan Mountains Bioresources Comprehensive Development, Collaborative Innovation Center, Hanzhong, Shaanxi 723001; 4. College of Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100)

**Abstract:** Taking *Medicago sativa* ssp., 'Vitoria' alfalfa and *Medicago sativa* cv. as materials, effects of Se stress on the activities of antioxidant enzymes and the contents of soluble protein and MDA in three *Medicago sativa* L. were studied with soil culture. The results indicated that the activities of SOD, APX, POD and CAT and the content of soluble protein in the leaves of three *Medicago sativa* L. was increased under 100 μmol·L<sup>-1</sup> Se. After exposure to 900 μmol·L<sup>-1</sup> Se, Se stress markedly increased the activities of SOD and APX, and the contents of soluble protein and MDA in the leaves of three *Medicago sativa* L. However, Se stress markedly decreased the activities of CAT and POD in the leaves of three *Medicago sativa* L. Under different levels of Se stress, *Medicago sativa* ssp. had the highest activities of SOD, CAT, APX and POD, compared with other species. Above results suggested that the order of antioxidant capacity of the three *Medicago sativa* L. species was *Medicago sativa* ssp., 'Vitoria' alfalfa and *Medicago sativa* cv.

**Keywords:** *Medicago sativa* L.; Se stress; antioxidant characteristics