

铜胁迫对小麦幼苗过氧化氢清除酶的影响

张敏敏, 赵 瑛, 张运晖

(甘肃省农业科学院生物技术研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 以小麦品种宁春4号为指示材料, 研究了浓度为100、300、500 $\mu\text{mol/L}$ 的 CuCl_2 对小麦幼苗抗氧化酶(CAT、POD和APX)活性的影响。结果表明, 随着 Cu^{2+} 胁迫浓度的增加, 小麦幼苗叶片过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性显著上升, 且有相似的变化趋势, 在 Cu^{2+} 胁迫浓度为300 $\mu\text{mol/L}$ 时活性最高。抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性在100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下降低, 由300 $\mu\text{mol/L}$ 增加到500 $\mu\text{mol/L}$ 时先升高后降低。

关键词: 小麦幼苗; 铜胁迫; 过氧化氢酶; 过氧化物酶; 抗坏血酸过氧化物酶

中图分类号: S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2014)07-0042-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2014.07.017

Effects of Copper Stress on Hydrogen Peroxide Scavenging Enzymes of Wheat Seedlings

ZHANG Min-min, ZHAO Ying, ZHANG Yun-hui

(Institute of Biotechnology Research, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: The Ningchun 4 wheat was used as a material in this test, which studies the influence of the activity on wheat seedling antioxidant enzymes (CAT, POD and APX), under the different concentration (100 $\mu\text{mol/L}$, 300 $\mu\text{mol/L}$, 500 $\mu\text{mol/L}$) CuCl_2 . The results showed that the increase of Cu stress concentration, the activity of wheat seedling leaves catalase (CAT) and peroxidase (POD) rises significantly, and have a similar changing trend. When the concentration of enzymatic is 300 $\mu\text{mol/L}$, enzymatic is the most active. But when ascorbic acid peroxidase (APX) is 100, $\mu\text{mol/L}$ the activity of enzyme is living lower. And the concentration of enzymatic was 1 300 $\mu\text{mol/L}$ and 500 $\mu\text{mol/L}$, it increases firstly, and then decreases.

Key words: Wheat seedlings; Cu stress; Catalase; Peroxidase; Ascorbic acid peroxidase

铜(Cu)是植物生长必需的元素, 其不仅是生物体内某些氧化酶的组分, 而且还是光合作用过程中质体蓝素电子传递体的重要组分^[1]。微量的铜可以保证植物正常生命活动, 但当它在生物体内富集的含量超过植物体所需时, 就使植物体生理代谢紊乱, 制约其生长发育^[2]。当植物体受到重金属的胁迫, 会影响离子间的代谢平衡, 产生超氧自由基, 导致膜质的过氧化作用, 从而影响植物的生长发育过程。但植物体受到金属胁迫时, 在其耐受范围内, 会启动其体内的一套防御体系, 去应对各种生理变化, 如通过抗氧化酶(POD、APX和CAT)系统清除体内产生的活性氧, 维持其正常的生命活动。我们以我国西北大面积种植的优质小麦品种宁春4号为材料, 研究了铜胁迫对小麦幼苗过氧化氢清除酶的影响, 分析比较相应生理指标的变化, 试图探明铜单一胁迫对小麦的毒性, 以揭示铜污染对植物生理生化方面的造成的影响及其耐受机制, 为提高作物品质和治理重金属污染提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料及方法

指示小麦品种为宁春4号。试验共设4个处理, 处理1为清水对照(CK); 处理2为100 $\mu\text{mol/L}$ CuCl_2 ; 处理3为300 $\mu\text{mol/L}$ CuCl_2 ; 处理4为500 $\mu\text{mol/L}$ CuCl_2 。3次重复。

将小麦种子先用1 g/kg的 HgCl_2 表面消毒10 min, 然后用自来水冲洗24 h。挑取颗粒饱满完整的种子, 暗培养萌发24 h后种植于铺有滤纸的培养皿中, 按试验设计浓度分别向培养皿中加入 CuCl_2 的1/4 Hoagland营养液进行胁迫处理, 于25 $^{\circ}\text{C}$ 、12 h/12 h (光照/黑暗)和24 000 Lx光照强度的培养箱中培养, 6 d后取叶片分别测定相应指标。

1.2 测定方法

将0.5 g小麦叶片剪碎。用2 mL 50 mmol/L PBS (pH 7.8, 含0.1% PVP和0.1 mmol/L EDTA)提取液在4 $^{\circ}\text{C}$ 冰浴中研磨, 12 000 r/min下离心30 min, 取上层清液用于测定过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性。CAT活性的检测参照Aebi的方法^[3],

收稿日期: 2014-04-18

作者简介: 张敏敏(1985—), 女, 甘肃武都人, 研究实习员, 主要从事农产品开发与利用工作。联系电话: (0)18693112939。

POD活性的检测参照Rao的愈创木酚法^[4], 抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性检测参照Nakano和Asada的方法^[5]。数据采用SPSS 13.0软件处理, 结果用平均值±标准误表示。采用Excel作图。

2 结果与分析

2.1 Cu²⁺胁迫对小麦CAT活性的影响

从图1可以看出, 随着Cu²⁺浓度增加, 小麦叶片CAT活性呈先增加后减弱的趋势。其中, Cu²⁺为100、300 μmol/L条件下, CAT活性与CK相比分别增加约24%、34%, Cu²⁺ 500 μmol/L胁迫则使CAT活性较对照升高20%。由此可见, 低浓度的Cu²⁺胁迫可诱导小麦CAT活性升高, 而高浓度的Cu²⁺处理对CAT活性的诱导作用减弱。

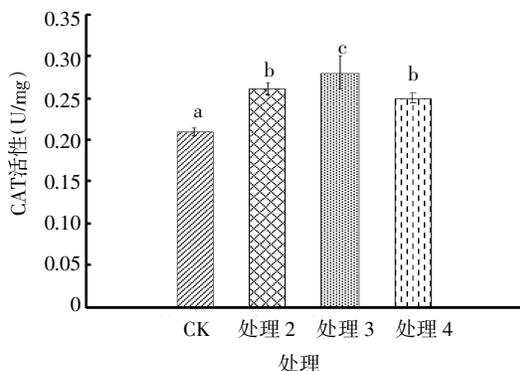


图1 Cu²⁺对小麦叶片CAT活性的影响

2.2 Cu²⁺胁迫对小麦POD活性的影响

从图2可以看出, 随着Cu²⁺胁迫程度的增加, 小麦POD活性先升高后降低趋势, 各药剂处理与对照差异均达到显著水平 ($P < 0.05$), 其中Cu²⁺浓度为300 μmol/L时, POD活性达最高, 较对照升高约138%; Cu²⁺为100、500 μmol/L时, 分别较CK增加约41%、47%。说明低浓度的Cu²⁺可胁迫诱导小麦POD活性升高, 而高浓度的Cu²⁺处理对POD活性的诱导作用会减弱。

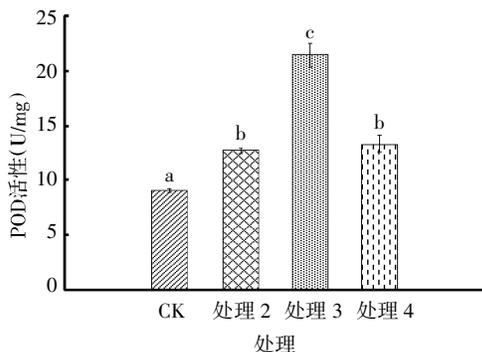


图2 Cu²⁺对小麦叶片POD活性的影响

2.3 Cu²⁺胁迫对小麦APX含量的影响

从图3可以看出, 在Cu²⁺为300 μmol/L的胁迫下,

小麦幼苗APX活性最高, 较CK约升高7%。当Cu²⁺胁迫浓度为100 μmol/L、500 μmol/L时, 小麦幼苗APX活性较对照降低约4%、3%, 但差异不显著。表明Cu²⁺浓度对小麦幼苗APX活性的影响不显著。

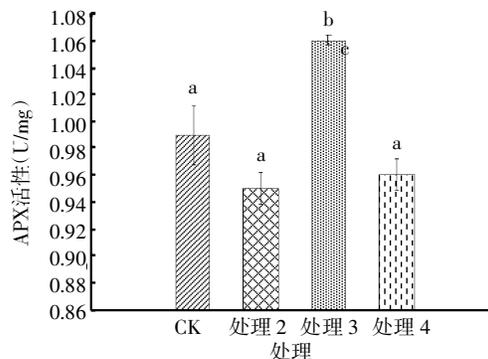


图3 Cu²⁺对小麦叶片APX活性的影响

3 小结与讨论

1) 随着Cu²⁺胁迫浓度的增加, 小麦幼苗叶片过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性均有显著上升, 且有相似的变化趋势, 其中Cu²⁺为300 μmol/L时活性最高。Cu²⁺浓度为100 μmol/L条件下, 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性降低, Cu²⁺浓度由300 μmol/L增加到500 μmol/L时, APX活性先升高后降低。说明铜胁迫使小麦幼苗抗氧化酶活性发生改变, 保护细胞免受胁迫损伤。这可能与小麦自身抗氧化系统抵御外界胁迫, 维持细胞正常的结构与功能, 保证其正常生长有关^[6]。

2) CAT普遍存在于植物体内的所有组织中, 是生物氧化过程一系列抗氧化酶的终端, 具有很强的催化能力, 能将H₂O₂分解为O²和H₂O^[7]。POD是植物体内广泛存在的一种抗氧化酶类, 在植物呼吸中起重要作用, 可以在一定程度上降低活性氧对植物的伤害^[8-9]。APX是植物氧化还原途径的重要组分, 是植物叶绿体中专一清除H₂O₂的关键酶^[10-11]。小麦幼苗抵御Cu胁迫造成的氧化损伤时, CAT、POD、APX 3种抗氧化酶表现出了不同的变化趋势, 其中Cu²⁺对小麦叶片中CAT、POD的影响较为显著, CAT、POD的变化趋势趋同, 出现先增加后减小的变化。但二者又有区别, POD的变化趋势更大, 可见CAT和POD对Cu毒害反应的敏感性不同。而APX作为叶绿体内重要的抗氧化酶, 在Cu²⁺胁迫下变化并不明显。因此, 植物对不同金属离子的抗氧化机制是不同的, 不同的抗氧化酶可以发挥不同的抗氧化功能, 这可能因胁迫程度和物种不同等造成。

参考文献:

[1] 潘瑞炽. 植物生理学(第5版)[M]. 北京: 高等教育出

蔬菜废弃物堆肥研究进展

徐 瑞, 于安芬, 李瑞琴, 白 滨, 丁文姣

(甘肃省农业科学院畜草与绿色农业研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 介绍了近十多年来国内外对蔬菜废弃物好氧堆肥处理的研究现状, 包括不接种微生物的自然好氧堆肥和接种微生物的好氧堆肥, 并详细介绍了堆肥工艺、堆肥基料以及所接种的微生物, 列举了目前普遍使用的腐熟度指标。

关键词: 蔬菜废弃物; 好氧堆肥; 微生物; 腐熟度指标; 研究现状

中图分类号: S216 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2014)07-0044-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2014.07.018

随着我国农业产业结构的调整, 蔬菜产业迅速发展。据联合国粮农组织(FAO)统计, 2007年中国蔬菜收获面积及产量均居世界第1位, 分别占世界的43%、49%, 总产量5.65亿t^[1]。城镇居民生活水平的日益提高, 净菜上市已成为习惯, 这就对蔬菜上市前的加工处理提出了更高要求。但大量质量不佳的蔬菜和净菜加工处理时产生的叶、根、茎和果实等都会最终成为固体废弃物, 高负荷的有机物经降雨产生的地面径流冲刷及地下渗漏污染地表水和地下水, 极大地威胁着水环境及人类健康^[2]。

蔬菜废弃物的生物质类型主要为总糖、蛋白质、脂肪、半纤维素、纤维素以及木质素^[3]。和城市生活垃圾以及其它农业废弃物相比, 蔬菜废

弃物具有高含水率、高生物降解率和基本无毒害性的特性^[2,4]。尾菜的含水率通常在90%左右, 以干基计算含氮量在3%~4%, 总磷含量为0.3%~0.5%, 钾含量为1.8%~5.3%, 其营养成分与常用的天然有机肥料相当^[2]。另外, 蔬菜废弃物的产生地主要集中在蔬菜种植地和蔬菜加工交易场所, 不易与其它生活垃圾混合, 可以单独收集处理。如果将蔬菜废弃物简单按照一般生活垃圾的方式进行处理, 不仅成本高, 而且在某种程度上是资源浪费。从20世纪80年代开始, 国外陆续开始研究专门针对蔬菜废弃物的处理处置方法, 这些处理处置方法的思路借鉴了传统固体废物处理和废水处理技术的经验, 并针对蔬菜废弃物的特点进行改进和优化, 主要包括好氧堆肥法、厌氧消化法、

收稿日期: 2014-05-22

基金项目: 甘肃省科技重大专项计划“临洮县千亩设施循环农业关键技术研究示范基地建设”(1102NKDJ031)部分内容

作者简介: 徐 瑞(1987—), 女, 甘肃兰州人, 研究实习员, 研究方向为微生物发酵。联系电话: (0)13893100527。

E-mail: 370516883@qq.com

通讯作者: 于安芬(1965—), 女, 甘肃静宁人, 副研究员, 主要从事农产品质量安全、牧草深加工及农业剩余物资源化利用研究。E-mail: gsyuanfeng@126.com

出版社, 2004。

- [2] 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.
- [3] AEBI H. Catalase in vitro[J]. Methods Enzymol, 1984, 105: 121-126.
- [4] RAO M V, PALIYATH C, ORMROD D P. Ultraviolet-B and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Physiol, 1996, 110(1): 125-136.
- [5] NAKANO Y, ASADA K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. Plant Cell Physiol, 1981, 22: 867-880.
- [6] 李宇洁, 安 梅. 外源 NO 对 Pb 胁迫下亚麻幼苗的保护效应[J]. 甘肃农业科技, 2013(11): 26-29.
- [7] 孙 健, 铁柏清, 钱 湛, 等. 单一重金属胁迫对灯

心草生长及生理生化指标的影响[J]. 土壤通报, 2007, 38 (1): 121-127.

- [8] 孙 华. 镉、铅胁迫对野生地被植物甘野菊种子萌发、幼苗生长及生理特性的影响 [D]. 内蒙古: 内蒙古农业大学, 2008.
- [9] 史 薇, 徐海量, 赵新风, 等. 胀果甘草种子萌发对干旱胁迫的生理响应[J]. 生态学报, 30(8): 2112-2117.
- [10] USHIMARU T, KANEMATSU S, SHIBASAKA M, *et al.* Effect of hypoxia on the antioxidative enzymes in aerobically grown rice (*Oryza sativa*) seedlings [J]. Physiologia Plantarum, 1999, 107(2): 181-187.
- [11] KRAUS T E, FLETCHER R A. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury is detoxification of active oxygen involved [J]. Plant and Cell Physiology, 1994, 35: 45-52.

(本文责编: 陈 伟)