

研究报告 Original Papers

低氧胁迫对不同耐性黄瓜品种根系抗氧化系统的影响

康云艳, 郭世荣*, 段九菊

南京农业大学园艺学院, 南京 210095

摘要: 低氧胁迫下, 两品种黄瓜幼苗根中活性氧、丙二醛(MDA)和抗氧化剂含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)活性均显著提高, 耐低氧性较强的‘绿霸春4号’根中活性氧和丙二醛含量上升幅度小于耐低氧性较弱的‘中农8号’, 而保护酶活性和还原型抗氧化剂含量提高幅度大于‘中农8号’。

关键词: 低氧胁迫; 黄瓜幼苗; 抗氧化系统

Influence of Hypoxia Stress on Antioxidative System of Roots in Two Different Resistant Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Cultivars

KANG Yun-Yan, GUO Shi-Rong*, DUAN Jiu-Ju

College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: Seedlings of a hypoxia-resistant cultivar, ‘Lübachun No.4’, and a hypoxia-sensitive cultivar, ‘Zhongnong No.8’, were subjected to hypoxia stress treatments. Under hypoxia stress, the contents of ROS, MDA and antioxidants, and the activities of SOD, CAT, APX, and DHAR were enhanced in cucumber seedlings roots of both two varieties. The extent of increase in ROS and MDA contents in ‘Lübachun No.4’ roots was less than those in ‘Zhongnong No.8’ roots, however, the extent of increase in activities of SOD, CAT, APX, DHAR and AsA and GSH contents in ‘Lübachun No.4’ roots was greater than those in ‘Zhongnong No.8’ roots.

Key words: hypoxia stress; cucumber seedlings; antioxidative system

黄瓜无土栽培过程中, 植株根际极易形成低氧逆境, 直接影响栽培效益(康云艳等 2006)。低氧胁迫下, 植株线粒体片层出现不可逆的结构变化, ATP合成减少, 活性氧代谢平衡遭到破坏, 体内活性氧积累。植物细胞在感受到厌氧信号后, 启动抗氧化机制, 以维持个体存活(王文泉和张福锁 2001)。以往对低氧胁迫下黄瓜抗氧化系统变化的研究多侧重于酶系统(SOD、POD、CAT)和活性氧含量的变化(胡晓辉等 2005), 而研究低氧胁迫下黄瓜幼苗根系酶系统和非酶系统的变化未见报道。本文以两个耐低氧性不同的黄瓜品种为试材, 采用营养液水培方法, 研究低氧胁迫下黄瓜幼苗根系抗氧化系统的变化, 以及抗氧化系统与黄瓜耐低氧胁迫能力之间的关系。

材料与amp;方法

试验于 2006 年春季在本校温室内进行。实验

材料为黄瓜(*Cucumis sativus* L.)耐低氧性较强的品种‘绿霸春4号’和耐低氧性较弱的品种‘中农8号’。种子播于装有石英砂的塑料盘中, 长至幼苗二叶一心时, 选取整齐一致的幼苗定植于装有 1/2 倍 Hoagland 营养液(pH 6.3±0.1)的水槽中, 继续培养, 幼苗三叶一心时, 将两品种幼苗各分成两部分, 每部分各 18 株进行下列处理:(1)对照, 用气泵正常通入空气(40 min·h⁻¹), 维持营养液中溶氧浓度(DO)为 8.0 mg·L⁻¹左右;(2)低氧处理, 用溶氧浓度调节仪(昆腾, 美国生产)控制营养液 DO 值为 0.9~1.1 mg·L⁻¹; 处理后 0、2、4、6、8 d 取幼苗根系中部进行各项指标的测定, 试验重复 3 次。

收稿 2006-12-20 修定 2007-06-22

资助 国家自然科学基金(30571263)。

* 通讯作者(E-mail: srguo@njau.edu.cn; Tel: 025-84395267)。

超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)产生速率、丙二醛(MDA)含量按照 Jiang 和 Zhang (2001)方法测定;过氧化氢(H_2O_2)含量按照 Uchida 等(2002)文中的方法测定;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和谷胱甘肽还原酶(GR)活性按照 Jiang 和 Zhang (2001)文中方法测定;脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)活性测定按照 Hossain 和 Asada (1984)文中方法;单脱氢抗坏血酸还原酶

(MDAR)活性测定按照 Miyake 和 Asada (1992)文中的方法;蛋白质含量的测定按照 Bradford (1976)的方法进行;抗坏血酸含量按照 Arakawa 等(1981)的方法测定;谷胱甘肽含量按照 Griffith (1980)的方法测定。在处理 8 d 时用台式扫描仪(EPSON EXPERSION 1680)和图像分析软件WinRHIZO(加拿大 Regent Instruments 公司)进行根系分析,每处理取样 15 株。

表1 低氧胁迫对黄瓜幼苗生长的影响

Table 1 Effects of hypoxia stress on growth of cucumber seedlings

处理	地上部鲜重/g·株 ⁻¹		总根长/cm·株 ⁻¹		根系总吸收面积/cm ² ·株 ⁻¹		根系总体积/cm ³ ·株 ⁻¹		总根尖数/No·株 ⁻¹	
	‘绿霸春4号’	‘中农8号’	‘绿霸春4号’	‘中农8号’	‘绿霸春4号’	‘中农8号’	‘绿霸春4号’	‘中农8号’	‘绿霸春4号’	‘中农8号’
对照	45.508 ^a	55.044 ^a	2010.420 ^a	2738.683 ^a	597.443 ^a	747.620 ^a	13.293 ^a	17.875 ^a	11597 ^a	11929 ^a
低氧	31.831 ^b	33.488 ^b	1077.728 ^b	1280.423 ^b	325.76 ^b	356.585 ^b	9.308 ^b	7.755 ^b	6893 ^b	6456 ^b
低氧/对照	0.699	0.608	0.536	0.468	0.545	0.477	0.700	0.434	0.594	0.541

数字后不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

实验结果

1 低氧胁迫下的幼苗生长

从表1可以看出,根际低氧胁迫下的黄瓜地上部和根系生长均显著受抑而下降;抗低氧能力较强的‘绿霸春4号’地上部鲜重、根的总长、总表面积、总体积以及总根尖数降低幅度均低于抗低氧能力较弱的‘中农8号’。

2 低氧胁迫下幼苗根中的 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 和MDA含量变化

如图1所示,低氧胁迫下,两品种幼苗根中 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率、 H_2O_2 及MDA含量均显著提高,并随着处理时间的延长均呈先上升后下降的趋势,试验期间均高于未作低氧处理的,且抗低氧能力较弱的‘中农8号’提高幅度大于抗低氧能力较强的‘绿霸春4号’。低氧胁迫4 d后,‘绿霸春4号’根中 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率、 H_2O_2 及MDA含量均显著低于‘中农8号’($P < 0.05$)。

3 低氧胁迫下的幼苗根中抗氧化酶活性变化

从图2可以看出:(1)低氧胁迫下,两品种幼苗根中SOD和CAT活性均升高,并随着处理时间的延长呈先上升后下降的趋势,试验期间均高于未作低氧处理区的,此两种酶的活性约在处理

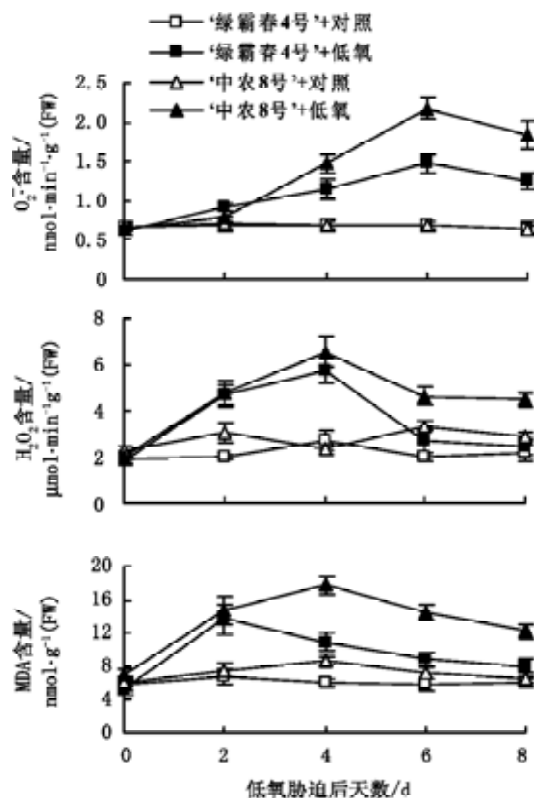


图1 低氧胁迫下黄瓜幼苗根系 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 和MDA的含量变化

Fig.1 Changes of contents of $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 and MDA in roots of cucumber seedlings under hypoxia stress

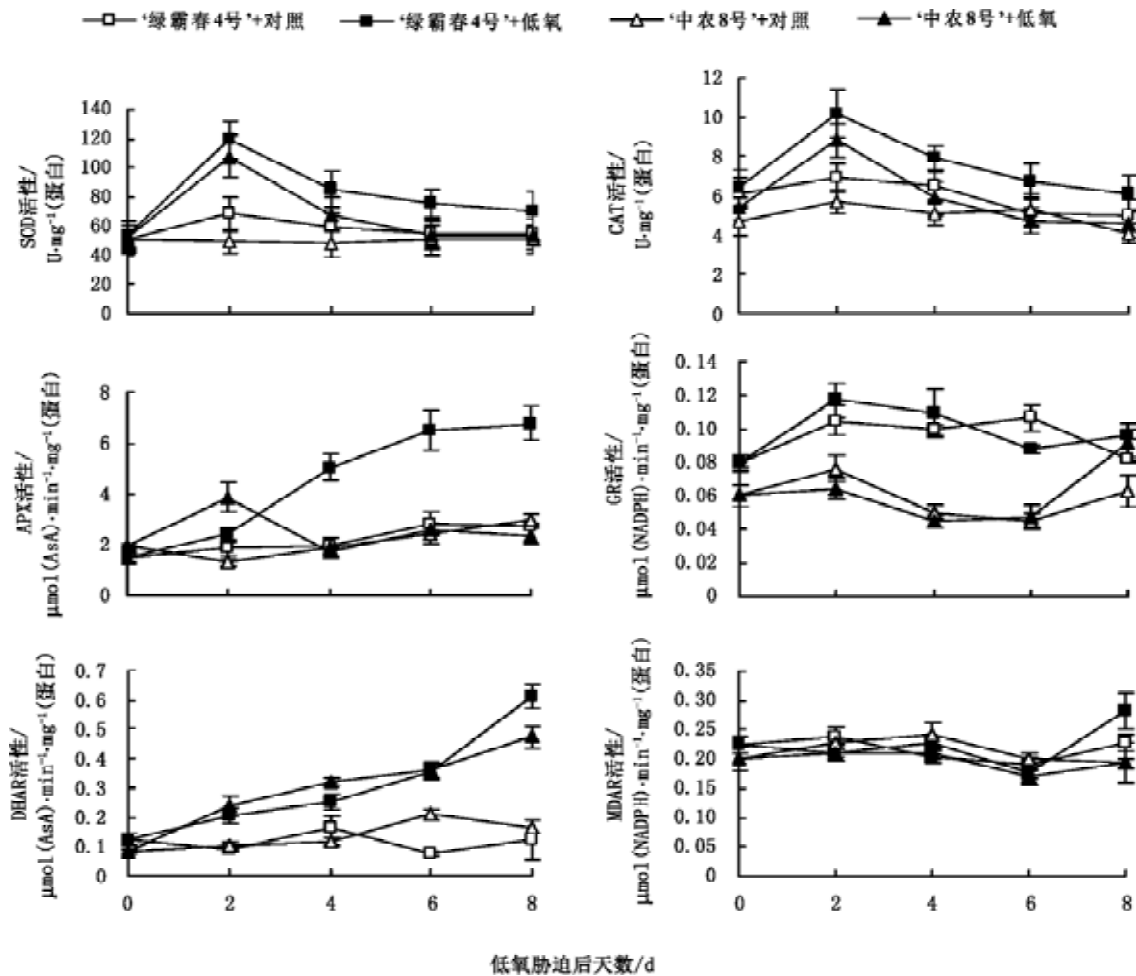


图2 低氧胁迫下黄瓜幼苗根中抗氧化酶活性的变化

Fig.2 Changes of antioxidative enzymes activities of roots in cucumber seedlings under hypoxia stress

2 d 时达到最大值。相同条件下的‘绿霸春4号’根系 SOD 活性高于‘中农8号’,两品种根系 CAT 活性无显著差异。(2)低氧胁迫下的‘绿霸春4号’根中 APX 活性持续上升,‘中农8号’根中 APX 活性约在 2 d 时达到最大值后下降并基本稳定;低氧胁迫 4 d 后,‘绿霸春4号’根中 APX 活性显著高于‘中农8号’($P < 0.05$)。在整个低氧胁迫期间两品种幼苗根中 GR 和 MDAR 活性保持相对稳定, DHAR 活性均上升,‘绿霸春4号’上升幅度大于‘中农8号’。

4 低氧胁迫下的幼苗根中抗氧化剂含量变化

从图 3 可知:(1)在整个试验期间未作低氧处理区的植株根中 AsA+DAsA、AsA、DAsA 含量及 AsA/DAsA 相对稳定,低氧胁迫处理区两品种

幼苗根中 AsA 含量及 AsA/DAsA 均高于未作低氧处理的,‘绿霸春4号’上升幅度大于‘中农8号’,两品种的 DAsA 含量均无明显变化。(2)在整个试验期间未作低氧处理的植株根中 GSH+GSSG、GSH、GSSG 含量及 GSSG/GSH 相对稳定,低氧胁迫下,‘绿霸春4号’幼苗根中 GSH、GSH+GSSG、GSSG 含量升高,并随着处理时间的延长均呈先上升后下降的趋势,试验期间均高于未作低氧处理的,GSSG/GSH 保持相对稳定,略低于未作低氧处理的;低氧胁迫处理的‘中农8号’幼苗根中 GSH+GSSG、GSSG 含量略高于未作低氧处理的,但未达到显著水平,GSH 含量保持相对稳定,在整个试验期间 GSSG/GSH 均高于未作低氧处理的。

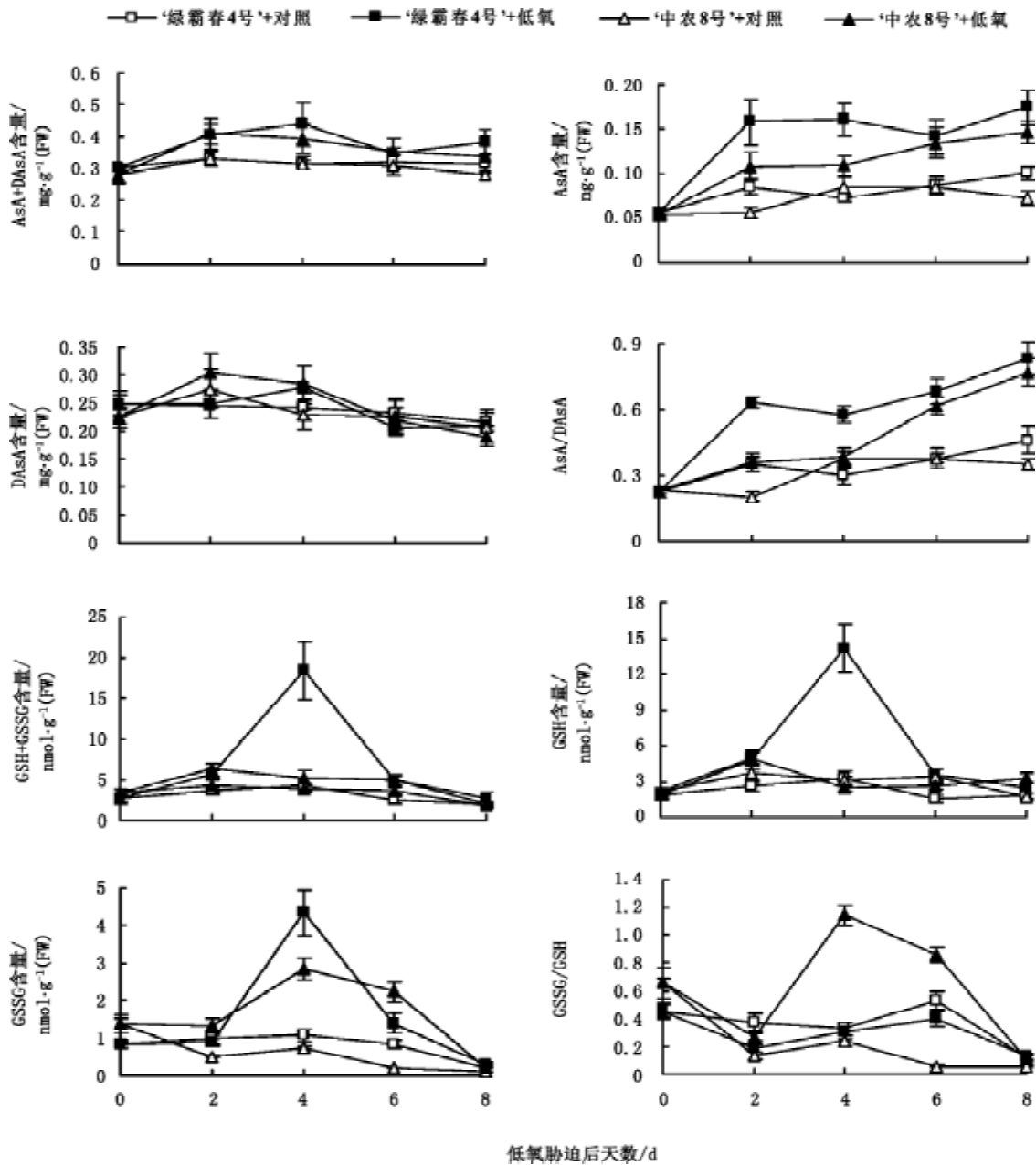


图3 低氧胁迫下黄瓜幼苗根中抗氧化剂含量的变化

Fig.3 Changes of antioxidants contents of roots in cucumber seedlings under hypoxia stress

讨论

低氧胁迫下,植物体内活性氧含量增加,植株遭受氧化胁迫(Blokhina等2003)。本文结果表明,1 mg·L⁻¹低氧胁迫下,黄瓜幼苗根系O₂⁻、H₂O₂和MDA含量均高于未作低氧处理的,ROS的产生主要来源于植物体末端氧化酶的作用以及线粒体电子传递过程中的电子泄露,且低氧胁迫下氧

气由植物体地上部向根系的运输、细胞内能荷降低、还原力提高、细胞质酸化、有害的Fe²⁺和Cu²⁺等低价阳离子过剩等因素都促进ROS的积累(康云艳等2006)。相同条件下的抗低氧能力较强的‘绿霸春4号’根组织ROS含量均低于抗低氧性较弱的‘中农8号’。

前人在大豆(Ahmed等2002)、茄子(Lin等2004)以及小麦(Biemelt等1998)中的研究表明,低

氧胁迫下,过高的活性氧造成活性氧浓度的提高从而促进植物体内抗氧化酶活性增加,加之植物体内抗氧化剂非酶系统(AsA-GSH循环,即APX、GR、MDAR、DHAR、AsA及GSH等共同作用清除植物体内 H_2O_2),以维持正常的氧化代谢平衡,这是植物对低氧胁迫的一种适应机制(Blokhina等2003)。本文结果表明,根际低氧胁迫下,幼苗根系中CAT活性在处理约2d时达到峰值后下降并趋于稳定,表明CAT对于早期 H_2O_2 的清除有重要意义。低氧胁迫后期,两品种幼苗根系APX、DHAR活性持续上升,表明APX和DHAR等构成的非酶系统在胁迫后期 H_2O_2 的代谢中发挥作用;但是,两品种幼苗根系GR和MDAR活性在整个低氧胁迫期间保持相对稳定,表明黄瓜幼苗根系AsA-GSH循环中主要是由APX和DHAR两种酶起清除活性氧作用的。相同条件下的抗低氧能力较强的‘绿霸春4号’根系APX、DHAR活性上升幅度高于抗低氧能力较弱的‘中农8号’,这可能是‘绿霸春4号’根系中活性氧含量低于‘中农8号’的一个原因。据此可以认为,低氧胁迫下,黄瓜幼苗根中CAT、APX和DHAR共同参与活性氧的清除,这显然有助于提高黄瓜幼苗的抗低氧胁迫能力。

AsA和GSH是植物体内存在的抗氧化剂,是自由基清除系统的重要组成部分,它不仅参与AsA-GSH循环,清除 H_2O_2 ,还可以作为抗氧化剂直接清除活性氧,可还原 $O_2^{\cdot-}$ 、清除 $\cdot OH$ 及歧化 H_2O_2 ;同时GSH还可以通过调节膜蛋白中巯基与二硫键化合物的比率,而对细胞膜起保护作用。AsA通过AsA-GSH循环再生有两种途径:一是通过MDAR和NAD(P)H的共同作用;二是通过DHAR、GR以及GSH的共同作用(Mittler2002)。本文结果表明,低氧胁迫下,两品种幼苗根中MDAR活性无明显变化,而DHAR活性均持续上升;由此说明,低氧胁迫下,GSH介导的DAsA还原对于幼苗根中AsA再生是有作用的。低氧胁迫期间,‘绿霸春4号’根系GSH含量显著提高,而‘中农8号’根中谷胱甘肽氧化还原库中以GSSG的增加为主,而用于再生AsA的GSH含量并未增加,以致AsA的再生受到限制,不能有效地清除 H_2O_2 ,这可能是‘绿霸春4号’

根系中活性氧含量低于‘中农8号’的另外一个原因。由此说明低氧胁迫下,黄瓜幼苗根中AsA和GSH的协同作用可以提高黄瓜幼苗抗低氧胁迫的能力。

参考文献

- 胡晓辉,郭世荣,李璟,王素平,贾永霞(2005).低氧胁迫对黄瓜幼苗根系无氧呼吸酶和抗氧化酶活性的影响.武汉植物学研究,23(4):337~341
- 康云艳,郭世荣,段九菊,胡晓辉(2006).24-表油菜素内酯对低氧胁迫下黄瓜根系抗氧化系统及无氧呼吸酶活性的影响.植物生理与分子生物学学报,32(5):535~542
- 王文泉,张福锁(2001).高等植物厌氧适应的生理及分子机制.植物生理学通讯,37(1):63~70
- Ahmed S, Nawata E, Hosokawa M, Domae Y, Sakuratani T (2002). Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. *Plant Sci*, 163: 117~123
- Arakawa N, Tsutsumi K, Sanceda NG, Kurata T, Inagaki C (1981). A rapid and sensitive method for the determination of ascorbic acid using 4, 7-diphenyl-1, 10-phenanthroline. *Agric Biol Chem*, 45 (5): 1289~1290
- Biemelt S, Keetman U, Albrecht G (1998). Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. *Plant Physiol*, 116: 651~658
- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot*, 91: 179~194
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72: 248~254
- Griffith OW (1980). Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal Biochem*, 106: 207~212
- Hossain MA, Asada K (1984). Purification of dehydroascorbate reductase from spinach and its characterization as a thiol enzyme. *Plant Cell Physiol*, 25 (1): 85~92
- Jiang MY, Zhang JH (2001). Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiol*, 42 (11): 1265~1273
- Lin KHR, Weng CC, Lo HF, Chen JT (2004). Study of the root antioxidative system of tomatoes and eggplants under waterlogged conditions. *Plant Sci*, 167: 355~365
- Mittler R (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci*, 7 (9): 405~410
- Miyake C, Asada K (1992). Thylakoid-bound ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts and photoreduction of its primary oxidation product of monodehydroascorbate radicals in thylakoids. *Plant Cell Physiol*, 33: 541~553
- Uchida A, Andre TI, Takashi H (2002). Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Sci*, 163: 515~523