

结荚期喷施壳聚糖对臭氧胁迫下大豆活性氧代谢系统的影响

王 岩,赵艺欣,孙加伟,王俊力,曹 莹,赵天宏

(沈阳农业大学 农学院,辽宁 沈阳 110866)

摘 要:为揭示外源壳聚糖对 O₃ 胁迫下农作物活性氧代谢系统的影响机理,以大豆(*Glycine max*)为研究材料,利用开顶式气室(OTCs)研究了结荚期喷施 CTS 对 O₃ 胁迫下大豆叶片活性氧自由基产生速率、含量,膜脂过氧化程度,抗氧化酶活性,抗氧化物质含量及大豆籽粒产量的影响。结果表明:在整个生育期内,与对照相比,高浓度 O₃ 处理下,大豆叶片 O₂⁻ 产生速率、H₂O₂ 含量升高,MDA 含量、相对电导率增大,SOD、CAT、POD 活性下降,ASA、GSH 含量及大豆籽粒产量降低,对大豆表现为伤害效应。结荚期喷施外源 CTS 后,经 O₃ 胁迫的大豆叶片 O₂⁻ 产生速率、H₂O₂ 含量降低,MDA 含量、相对电导率减小,SOD、CAT、POD 活性升高,ASA、GSH 含量以及大豆籽粒产量增加,表明外源 CTS 一定程度上缓解了 O₃ 胁迫对大豆的伤害,但这种缓解作用是有限的。

关键词:壳聚糖;臭氧胁迫;活性氧代谢

中图分类号:S565.1 文献标识码:A 文章编号:1000-9841(2010)03-0408-05

Effects of Reactive Oxygen Species Metabolic System on Soybean (*Glycine max*) under Exogenous Chitosan to Ozone Stress

WANG Yan, ZHAO Yi-xin, SUN Jia-wei, WANG Jun-li, CAO Ying, ZHAO Tian-hong

(College of Agronomy, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China)

Abstract: In order to reveal effect mechanism of crop reactive oxygen species (ROS) metabolic system under exogenous chitosan (CTS) to ozone (O₃) stress, open top chambers were utilized to investigate the change of ROS production rate, lipid peroxidation extent, anti-oxidative enzymes activities and antioxidant content in soybean (*Glycine max*) leaves and the grains yield. The results indicated that, compared to the control, the elevated O₃ concentration induced an increase on O₂⁻ production rate, H₂O₂ content, MDA content and relative electrical conductivity and a decrease on the activities of SOD, CAT and POD, the content of AsA and GSH in the whole growth stage and also a decline on grains yield. Exogenous CTS treatment relieves the aggravation of ROS damage through ozone stress, which represents protective efficacy to soybean, O₂⁻ production rate, H₂O₂ content, MDA content and membrane permeability decreased, while anti-oxidative enzymes activity and anti-oxidative substances increased. But the alleviation of exogenous CTS to ozone is limited.

Key words: Exogenous CTS; Ozone stress; ROS metabolic

自 20 世纪 90 年代以来,全球变化一直是各国政府、科学界与公众强烈关注的环境和科学问题之一。臭氧(O₃)是主要的二次空气污染物,是重要温室气体和光化学烟雾的主要成分,对动、植物和人类健康都产生不利影响。对流层清洁大气中 O₃ 的自然背景或本底浓度为 20 ~ 80 nL · L⁻¹ 左右,污染大气中约 100 ~ 200 nL · L⁻¹ [1]。预计到 2100 年,对流层中 O₃ 浓度将增加一倍 [2]。O₃ 浓度的日益增加,对生态环境特别是农业生态环境产生了很大影响。壳聚糖(CTS)是一种新型的植物生长调节剂,可促进植物的生长,改善植物根系的发育。研究发现,CTS 明显增强了种子发芽,提高了与植物次生代谢和抗性相关酶的活性,同时提高农作物产量和改善农产品的品质,对农产品贮藏保鲜也具有明显的效果 [3]。

结荚期是大豆植株生长最旺盛时期,这个时期大豆干物质积累达到高峰。因此,对臭氧浓度升高条件下大豆活性氧代谢机理进行研究,并在结荚期利用外源 CTS 对臭氧胁迫下大豆体内活性氧的产生进行了外源调控。研究了喷施外源 CTS 对 O₃ 胁迫下大豆叶片活性氧自由基产生速率、含量,膜脂过氧化程度,抗氧化酶活性,抗氧化物质含量及大豆籽粒产量的影响,为减少活性氧对植物的伤害,获得农业高产、稳产提供理论依据。

1 材料与方法

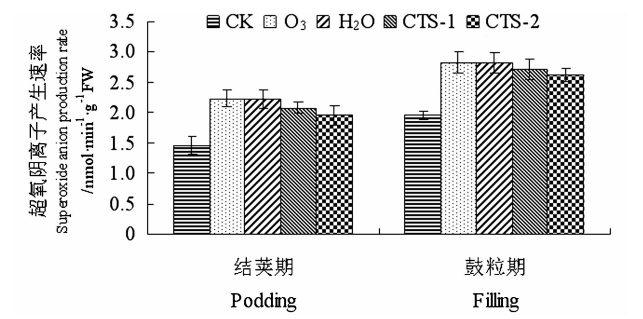
1.1 供试材料

以大豆品种铁丰 29 为试验材料。

收稿日期:2010-03-10
基金项目:国家自然科学基金资助项目(30970448,30500069)。
第一作者简介:王岩(1971-),女,硕士,助研,研究方向为作物栽培生理。
通讯作者:赵天宏,博士,副教授。E-mail: zth1999@163.com。

84! # [\ ï Õ
WÀ R à - μ D ") H7 Y2H/ B@ TKU) Y/ #j
&' x y Qx EC& EC~ 5 1 () b R S P ÿ ,
) g Â p Ò g Â F x y ! ¿ © ¥ á ^ ' , | 1 ä à
† ‡ †) Y/ " ï] _ ^ ï í ÿ ö ! ÿ „ 8489 ? ! G
! 4 > ? ! á î D ï # Â ; q j ð t Ç μ ' Ç : Ò 8 ¥
á & ¿ © l & Â - ñ Ò R à { ,) s Þ w t ä B J
g < " R ^ : 9 5 5 1 # j ä B : Â < " (: " % ? < ñ # !
Â - " Ñ R à { , z • w æ § t z • w : Â < 0 Ä
æ § ' " ; ù ' Ò 8 ° μ p Ò &
E C o ¥ 9 , Þ à \$ / X Þ à " j Ý ! ù a î μ 5
) s Þ w ! ù > 9 7 ? 2 3 + ? 2 3 ^ & # ') s Þ à ") s Þ w ù
G ! Þ w ^ & 8 % r & 7 ? 2 3 + ? 2 3 ^ & # ' P i) Þ à " | ê
] ³) s Þ < t & ' ô É ÿ c á ' T ç Þ à #
/ Y (: & Þ à " | ê #] ³) s Þ < t & ' ô É ÿ c á
' ï Þ w / Y (Þ à ! Þ w ^ 9 % ? l + Q ^ & # ' / Y (: ! Þ
à " | ê #] ³) s Þ < t & ' ô É ÿ c á ' G Þ w
/ Y (! Þ w ^ 8 9 % ? l + Q ^ & # & " À 9 - E C ! - ! % Ö
\$ > % \$ % (Z & ' - - μ D , ! ~ , μ D & % ß ...
† " † ý - & O² ß + B ? ! ^ # & - ' % & % (R • o ™
û Ç Ü) s ! ~ (Q x O B " h % ß & = h % # ! | ê # ÿ
c á ' / Y (" O % > (# ! ~) s Q x t) Y / G , x y !
é € ~ ß & ' ~ Ô À ñ 9 % ? Q j & ' ô É x y á
' á ' & E C # ™ ç ' ' • 2 € O " Š ! P Q R S Ä
8 Þ μ š 8 u » & - | ê # " O % & % (# j . ³ #
" O % & " (# ! N ! ° l & ' † ‡ ô f à K ô É ^ E
1 ! ~ , Þ à μ D ™ @ ë \$ Ô & O % \$ % (ò , Ç μ
9 î ! § î à &
84\$# g ! < = + X Y
84\$4& Â V ñ ò ó Ä ™ H & ; U # â B » — Â ù -
T " (6 H 1 2 A K @ 2 7 !) _ # t ù g " (" À ó ® • -
ï (>) % B • F " P E L U 1 2 K 7 H 1 2 A K P i) _ # Þ Ð t -
ï ^ ' u u w L • (9) &
84\$4! # ô Ò § ñ \$ h ò & ; U # ! e : " M @ 2 7 L A
@ K B E L K M N - # Þ Ð t - ï " À ô A @ z ò •
" Y + - # z q • (9) % ö ¹ h (À N N (: & - æ ¹ h (
á ! " À ÿ ö ¹ h • - ï (¹) &
84\$4\$# € ñ \$ • Ä V & ; U # â B • 8 Ê • Ô
" (6 H 1 2 A K L A 7 6 0 0 K () N # ý n - ï " À . + Y u
B • l • (=) % B • F Ô " / @ 2 0 0 1 / - Y # ý n t
- ï " À ë ÿ 4 î • (9) % B • 8 Ô " ^ K 1 2 A @ K
^) N # ý n t - ï " À ! > i ÷ • (9) &
84\$4># € ñ \$ 0 ³ ö " & ; U # ° ø © • " - G 2 U
T F @ A ! - G # Þ Ð - ï ' u u w L • (9) % % ' ù
" R 3 0 0 2 7 K R (P # Þ Ð À e - T ú u • " N Y . + # •
- ï (¹) &
84\$49# ÷ " ¿ Š Ä ä & ; U # & ' î à Y ! ö ³ ù
a : W ! - ï q K ß ³ æ ' K ß ³ @ ' ý ³ @ j K ß ê
æ & / X Þ à ') s Þ à j ÿ c Þ à ' L ^ 8 % ß ' \$ ß
j ! ß t é € Ô ! " À ¹ Â • é " À Ð % 4 % 8 # K @ &

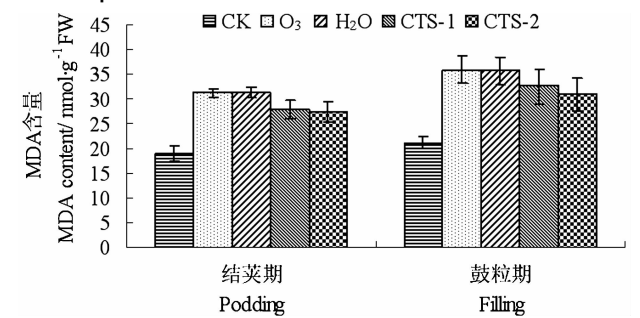
84># Ò Ó M _
À M F 1 2 0 , \ R 3 % \$ j N ^ (! 4 % x y æ § ' " &
! #] ^ + M _
! 4 8 # ž Á ™ x j | š , œ • ç ! " U ' , " ÿ .
a 7 , 0 ± 2
? @ Ç μ d Â % t & Þ à & ' ô É) _ # ù g "
(t Ž • ® Ñ & 0 • ! ~ G Þ w) s Þ à % ! | ê #
j . ³ # & ' ô É t) _ # ù g " (€ Ö 0 - a ! ;
/ X 5 ™ € £ œ • , " • ç é " @ u % 4 % # ! q - ¼ '
L ^ 9 ! 4 " d j >> 4 9 d & ÿ c á ' o ‡ Þ w / Y (Þ
à Y ! ;) s Þ à † z ! & ' ô É) _ # ù g " (~ |
ê # j . ³ # € Ö 0 ó ï ! q 5 ! / Y (: & Þ à ó ï o
" • " @ o % 4 % 9 # ! ~ | ê # j . ³ # ' L ó í ' 4 " d
j > 4 % d ! â / Y (: ! Þ à ï ~ | ê # " • ï -) s Þ
à " @ u % 4 % 9 # ! ó ¼ ^ & ! 4 8 d &



L & # (° j ú ç ! " C s) _ # Ñ ¢ , 0 " v
A (5 ? & # N % & % " 4 . " / P i ^ § \$ " - , ; " (" 4 & % * (4 . " 9 7 % 4
: * % * . , 4 - * & * Q 5 * 4 " , ! E + (4 - (/ * & * 4 ' ' & % # * 4 ' .
b Ñ ! â 0 ú í ! o ‡ Þ à j & ' ô É P i) _ Þ
Ð t ý Þ Ö 0 o ‡ &) s Þ à t & ' ô É P i) _ Þ Ð
' L ~ . ³ # j | ê # " • " @ u % 4 % 9 # j , " • G
- / X " @ u % 4 % 8 # ! q ù G ¼ w ' L ^ & " 4 " d j
! 4 8 d & ÿ c á ' o ‡ Þ w / Y (Y ! ;) s Þ à †
z ! & ' ô É P i) _ Þ Ð Ö 0 ó ï ! q 5 / Y (: & Þ à
j / Y (: ! Þ à t } & ó ¼ ' L ^ > 4 ! d j O 4 9 d ! ,
ó ï o " • " @ o % 4 % 9 # &
H₂O₂ content / mol g⁻¹ FW
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
CK O₃ H₂O CTS-1 CTS-2
结荚期 Podding 鼓粒期 Filling
L ! # (° j ú ç ! " C s P i) _ x p 0 " v
A (5 ? ! # N % & % " 4 . " / O i P i , ; " 4 * 4 " (4 . " 9 7 % 4 : * % * .
, 4 - * & * Q 5 * 4 " , ! E + (4 - (/ * & * 4 ' ' & % # * 4 ' .

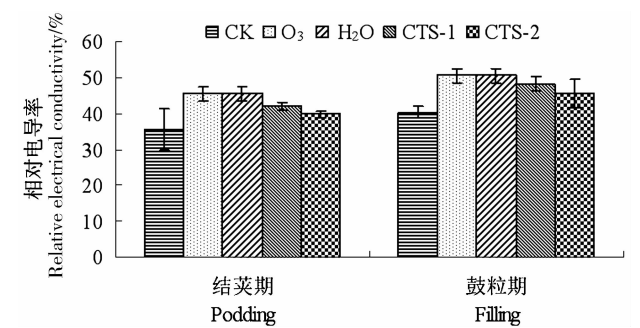
!4!#žÁ™×j|š›œ•¢!"¢i£›v0±²

o‡pàj&'ôÉMN-þÐtýþôÖ{&œ!®Ñ\$0•!qMN-þÐ"t&MÙp^\$)ₛpàOp₁pàO/Y(:\$pàO/Y(:>pàO/Xpà!¢π³Gpw)ₛpàY!&'ôÉMN-þÐÖ0ÙG!^~|§#,, "•"@u%4%&#G⁻/X!~|ê#j.³# 'LÙG'94!d b=¼% d & ãÿc/Y(pàMóì<³)ₛβ<t&'ôÉMN-þÐ!q5/Y(:&pàj/Y(:!pà€~|ê#"•"@u%4%9#j⁻)ₛpà!q}&ó¼' L^&&4&d j&\$4Od&



L\$#(°júc!"CsMN-xp0"vA(5? \$# N%&%("4. "/ < F2 ; "4*4' (4 ."97*%4 :.*%*. , 4-*&*Q5*4" , .! E+ (4 - (/*&4' '&%#*4'.

? @ÇμdÂ%t&pà&'ôÉ†j¹h(tž•®Ñ>0•&~)ₛpwÙG#\$%!&'ôÉ†j¹h(~â , | § # , , " • ÛG"@u%4%&#!~|ê#j.³# 'LÙG!O&d j !949d & ã³o‡pw/Y(pàY!³)ₛpàt&'ôÉ†j¹h(Ö0óì!„ õG⁻/Xçé&/Y(:&pàj/Y(:!pàt}&óì¼w' L^=4=d j&4'd!q5!/Y(:!pà~|ê#"•ì⁻)ₛpà"@u%4%9#!ã/Y(:&pàóìo"•"@o%4%9#&

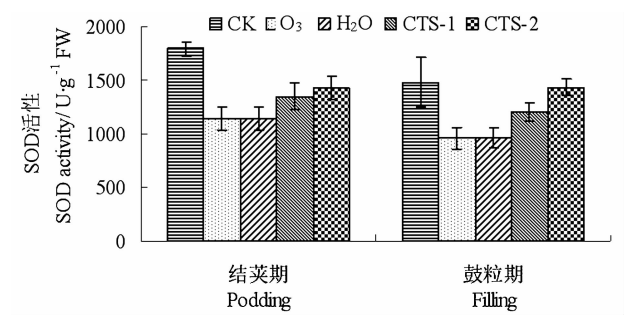


L>#(°júc!"Csβ|m],0"vA(5?>#N%&%("4. "/ &: %) * * ; '& ; % ; "4- ; ; ') ('9 (4 ."97*%4 :.*%*. , 4-*&*Q5*4" , .! E+ (4 - (/*&4' '&%#*4'.

!4\$#žÁ™×j|š›œ•¢!"½›v*Ô0±²

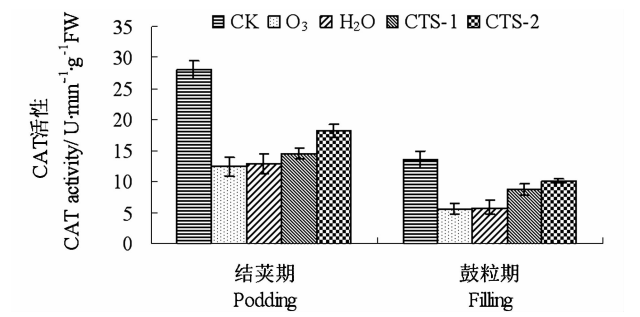
!4\$4&#€ñ\$•.ÅV#Ñ9¢π!~|ê#j.³

#!)ₛβ<%t&'ôÉ()Nÿn€o‡¾wtóì!%oGÑÇμÖ™t a „ qÿnüûóì!^ , "•ì⁻/X"@u%4%&#!qóì¼w' L^'\$4&d j \$94&d &ÿc/Y(pàY!³)ₛβ<t&'ôÉ()NÿnÖ0ÙG!„ õì⁻/Xçé!/Y(:&pàj/Y(:!pàt}&ÙG¼w' L^!94!d j >"4!d&;)ₛpà†z!/Y(:&pà' L~|ê#j.³#£œ•"•"@u%4%9#j , , " • çé"@u%4%&#!ã/Y(:!pàï~|ê#"•G⁻)ₛpà"@u%4%9#&



L9#(°júc!"Cs()NU'0"vA(5?9#N%&%("4. "/ +PF %') ('9 (4 ."97*%4 :.*%*. , 4-*&*Q5*4" , .! E+ (4 - (/*&4' '&%#*4'.

o‡pàj&'ôÉ/-Yÿntýþ®Ñ'0•&)ₛpàt&'ôÉ/-Yÿn÷•ïüûóìt§½!%öÿn•Xì⁻/Xçé!~.³#ó¼}&!^9O&Od!^~â , | § # , , " • óì"@u%4%&#!ãÿc/Y(pàY!³)ₛβ<t&'ôÉ/-YÿnÖ0¬a!qÿn‡N÷•ïüû%ót§½!%o/Y(:&pàj/Y(:!pà€~â , | § # , , " • G⁻"@u%4%&#)ₛpà%t&'ôÉ/-Yÿn!q}&¬¼' L^994'd j O¼=d &



L'(°júc!"Cs/-YU'0"vA(5?'#N%&%("4. "/ !2E %') ('9 (4 ."97*%4 :.*%*. , 4-*&*Q5*4" , .! E+ (4 - (/*&4' '&%#*4'.

Ñ=^o‡pà%&'ôÉ^Nÿntž•ÓÔ!~â , | § # , !Gpw)ₛpàóì<&'ôÉt^Nÿn!q}Gó¼^!%4&d!^~|ê#j.³#€ , " • ì⁻/X"@u%4%&#)ₛpàY!ÿcá' /Y(:&pàj/Y(:!pàM~"ï¼

| } ¢ ¢ ! G ¢ w) ¢ ¢ à t & ' ô É) ¢ ¢ ù g
 " (' P)) ¢ ¢ Ð ' MN- ¢ ¢ Ð) â t n ∈ G⁻ / X ! ¢ ¢
 ¢ ¢ G ¢ w) ¢ ¢ ¢ à v ø < & ' ô É t ¢ ¢ n B ù⁻ T
 A 5 é ý !^a " < & ' ô É) ¢ ¢) ¢ ¢ P)) ¢ ¢ t ù g ! Õ
 & ' ô É Á / B • R S ! ã / < B • R S ¢ ¢ ™ ¢ ¢ Å
 ! < & ' ô É MN- ¢ ¢ Ð t ¬^a ! Õ k | â Á ¢ ! Š
 Õ & ' ô É t k | â t n ¬^a ! / ; _ ¢ ¢ ¢ ¢ ¢^(8%)

孙加伟等^[11]的研究结果相一致。结荚期外源喷施 CTS 后,经 O_3 处理的大豆叶片 O_2^- 产生速率、 H_2O_2 含量、MDA 含量和膜透性在整个成熟期内均有所降低,但仍高于 CK 水平,并且不同浓度的 CTS 和 SA 处理的降低幅度有所不同,这说明结荚期外源喷施 CTS 可降低由 O_3 胁迫所造成的大豆叶片氧化伤害程度,从而进一步减轻大豆叶片的膜损伤,但这种缓解作用是有限的。有关研究表明^[12],当植物受到外界胁迫时,壳聚糖能改变植物保卫细胞的 H_2O_2 浓度从而调节气孔的开关。因此,当大豆受到 O_3 胁迫时,其叶片气孔可能会随着关闭,导致 O_3 的进入量减少,使 O_2^- 产生速率和 H_2O_2 含量不断下降,从而降低了氧化伤害程度。

高浓度 O_3 处理的大豆叶片 SOD 活性、CAT 活性、POD 活性、ASA 含量、GSH 含量均低于 CK,表明高浓度 O_3 处理破坏了大豆叶片的抗氧化系统结构,降低了大豆叶片的抗氧化酶活性和抗氧化物质含量,使大豆叶片抵御 O_3 胁迫伤害的能力降低,这与赵天宏等^[13]对玉米的研究结果相一致。结荚期外源喷施 CTS 后,经 O_3 处理的大豆叶片 SOD 活性、CAT 活性、POD 活性、ASA 含量、GSH 含量均有所增加,但仍低于 CK 水平,并且不同浓度的 CTS 处理的升高幅度有所不同,表明结荚期外源喷施 CTS 和 SA 在一定程度上修复了由 O_3 胁迫所破坏的大豆叶片抗氧化系统结构,使其抵御 O_3 胁迫伤害的能力增强。此时 CTS 和 SA 的抗性诱导性可能增强了大豆的抗性生理生化的变化,启动了酶促抗氧化系统和非酶促系统,从而增加了大豆叶片抗氧化物质含量并维持了较高的 SOD、CAT 和 POD 活性。

O_3 胁迫后,作为大豆产量构成因子的单株粒数、单株粒重、百粒重和单株荚数均低于 CK,说明高浓度 O_3 处理降低了大豆的籽粒产量,这与付宇等^[14]的研究相一致。结荚期外源喷施 CTS 后,经 O_3 处理的大豆单株粒数、单株粒重、百粒重和单株荚数均有所升高,但仍低于 CK 水平,这说明结荚期外源喷施 CTS 在一定程度上增强了大豆叶片叶绿体抵御 O_3 胁迫伤害的能力,使净光合速率提高,加速了大豆光合产物的积累,使籽粒产量增加。

参考文献

- [1] 汪开治. 环境大气臭氧污染对植物的影响(1)[J]. 生物学报, 1993, 28(4): 1-2. (Wang K Z. Effects of ozone pollution in the environment on plants (1) [J]. Biology, 1993, 28 (4): 1-2.)
- [2] Felzer B, Kicklighter D, Mellilo J, et al. Effects of ozone on net primary production and carbon sequestration in the conterminous United States using a biogeochemistry model [J]. Tellus, 2004, 56B: 230-248.
- [3] Bol J F, Linthorst H J M, and Cornelissen B J C. Plant pathogenesis-Related proteins induced by virus infection[J]. Annual Review of phytopathology, 1990, 28: 113-138.
- [4] 王爱国, 罗广华. 植物超氧化自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(6): 55-57. (Wang A G, Luo G H. The quantitative relationship between superoxide free radical and reactions of hydroxylamine in plants[J]. Plant Physiology Communications, 1990, 26(6): 55-57.)
- [5] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000:127-130. (Zou Q. Plant physiology experiments [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:127-130.)
- [6] 薛应龙. 植物生理学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 67-69. (Xue Y L. Plant physiology experiments [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1985: 67-69.)
- [7] Beyer W F, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in condition[J]. Annual Biochemical, 1987, 161: 559-566.
- [8] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化原理和实验技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004:260-261. (Li H S, Sun Q, Zhao S J, et al. The principles and experimental techniques of plant physiological and biochemical [M]. Beijing: Higher Education Press, 2004:260-261.)
- [9] Anderson M E. Determination of glutathione and glutathione disulphide in biological samples [J]. Methods Enzymological, 1985, 113: 548-555.
- [10] 张巍巍, 赵天宏, 王美玉, 等. O_3 浓度升高对油松光合作用的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(3): 1024-1028. (Zhang W W, Zhao T H, Wang M Y, et al. Effects of elevated O_3 concentration on photosynthesis of Pinus [J]. Agro-Environment Science, 2007, 26 (3): 1024-1028.)
- [11] 孙加伟, 赵天宏, 付宇, 等. 臭氧浓度升高对玉米活性氧代谢及抗氧化酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(5): 1929-1934. (Sun J W, Zhao T H, Fu Y, et al. Effects of elevated ozone concentration on reactive oxygen species metabolism and antioxidant enzyme activity in maize [J]. Agro-Environment Science, 2008, 27 (5): 1929-1934.)
- [12] Lee S, Choi H, Suh S, et al. Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and commelin communis [J]. Plant Physiology, 1999, 121: 147-152.
- [13] 赵天宏, 孙加伟, 赵艺欣, 等. CO_2 和 O_3 浓度升高及其复合作用对玉米 (*Zea mays* L.) 活性氧代谢及抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学报, 2008, 28(8): 3644-3653. (Zhao T H, Sun J W, Zhao Y X, et al. Effects of elevated CO_2 and O_3 concentration on active oxygen metabolism and antioxidant enzyme activity in maize (*Zea mays* L.) [J]. Ecology, 2008, 28 (8): 3644-3653.)
- [14] 付宇, 赵天宏, 孙加伟, 等. 大气 O_3 浓度升高对玉米光合作用和籽粒品质的影响[J]. 华北农学报, 2008, 23(6): 120-124. (Fu Y, Zhao T H, Sun J W, et al. Effects of elevated O_3 concentration on photosynthesis and grain quality in maize [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2008, 23 (6): 120-124.)