

硅对盐胁迫下黄瓜叶片 膜脂过氧化和活性氧清除系统的影响

姚秋菊¹, 张晓伟¹, 赵小忠², 魏国强³

(1. 河南省农业科学院园艺研究所, 河南 郑州 450002; 2. 郑州市农产品质检流通中心, 河南 郑州 450006;

3. 浙江大学园艺系, 浙江 杭州 310029)

摘要:研究了水培条件下硅对盐胁迫时黄瓜幼苗膜脂过氧化和活性氧清除系统的影响。结果表明, 加硅使盐胁迫下黄瓜幼苗叶片保护酶(SOD, AsA-POD, G-POD)的活性显著升高, 抗坏血酸(AsA)和谷胱甘肽(GSH)的含量明显增加, 黄瓜叶片的丙二醛(MDA)的含量显著下降。加硅可显著提高盐胁迫条件下黄瓜叶片相对含水量, 降低叶片电解质渗漏率。因此, 加硅可减轻盐胁迫对黄瓜幼苗的伤害, 硅参与了植物的代谢或生理活动。

关键词: 黄瓜; 硅; 盐胁迫; 膜脂过氧化; 活性氧清除系统

中图分类号: S642.201 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2008)01-0109-05

Effects of Silicon on Lipid Peroxidation and Active Oxygen Scavenging System in Leaves of Cucumber Seedlings under Salt Stress

YAO Qiu-ju¹, ZHANG Xiao-wei¹, ZHAO Xiao-zhong², WEI Guo-qiang³

(1. Institute of Horticulture, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;

2. Henan Farm Products Quality Testing and Detection Center, Zhengzhou 450006, China;

3. Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: Two cucumber (*Cucumis sativus* L.) cultivars were grown in a hydroponics culture system to study the effects of silicon (S) on the lipid peroxidation and active oxygen scavenging systems in seedling leaves under salt stress. The results showed that, under salt stress, adding S could significantly increase the activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (AsA-POD) and guaiacol peroxidase (G-POD) and the content of ascorbic acid (AsA) and glutathione reduced form (GSH) in cucumber leaves, while markedly decreased the malondialdehyde (MDA) content. Compared with the plants treated with salt alone, addition of S significantly increased the relative water content (RWC) and decreased the electrolyte leakage percentage in plants leaves for both cultivars, so that alleviated the damage of cucumber seedlings caused by salt stress. The results of the present study suggested that S involved in the metabolic or physiological changes in higher plants.

Key words: Cucumber; Silicon; Salt stress; Lipid peroxidation; Active oxygen scavenging system

土壤盐渍化是影响植物生产的主要因素之一^[1]。目前, 世界上有4亿~9亿hm²的土地受盐渍化影响^[2], 我国盐渍化土壤面积约2700万hm²^[3]。并且过量的灌溉及降雨的缺乏加剧了盐渍化程度, 使土壤盐渍积累逐年增加。随着园艺作物设施栽培面积的日益扩大, 温室土壤的次生盐渍化也已成为国内外设施栽培中普遍存在的问题。

硅是地球表面的第二大元素, 然而硅是否是植

物必需营养元素还未被证实。但众所周知, 硅是植物健康生长的有益元素^[4,5]。研究证实, 硅可以影响许多植物(尤其是单子叶植物)的生长及生物学产量, 增强抗逆性, 缓解重金属积累的危害, 并保护作物免遭病菌侵染^[6]。最近的研究还表明, 适量硅可显著提高作物的抗盐性, 降低作物盐害^[7-11]。梁永超在研究硅对大麦适应盐胁迫能力的影响时发现, 硅降低了大麦叶片电解质渗漏率, 提高了盐胁迫大

麦体内超氧化物歧化酶(SOD)活性，并降低了丙二醛(MDA)含量，显示硅可降低盐胁迫大麦膜脂过氧化伤害^[9-11]。

本试验以耐盐性不同的2个黄瓜品种为材料，研究硅对盐胁迫下黄瓜叶片膜脂过氧化和活性氧清除系统的影响。其目的是阐明硅提高黄瓜耐盐性的作用机理，并为加速开发利用盐渍土和设施园艺的可持续发展提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验处理

黄瓜(*Cucumis sativus L.*)品种为津研4号(耐盐性较强)和津绿4号(耐盐性较弱)。种子发芽后播种于蛭石中，当第1片真叶露尖后，挑选生长一致的幼苗移入带孔盖板的10L塑料箱中，每箱9株，装入8L用去离子水配制的完全营养液(pH 6.2)，完全营养液的组成为：Ca(NO₃)₂·4H₂O 4.0 mmol/L，KNO₃ 0.8 mmol/L，NH₄H₂PO₄ 1.3 mmol/L，MgSO₄·7H₂O 2.0 mmol/L，Fe-EDTA 70.0 μmol/L，MnSO₄·H₂O 10.0 μmol/L，H₃BO₃ 50.0 μmol/L，ZnSO₄·7H₂O 0.7 μmol/L，CuSO₄·5H₂O 0.2 μmol/L，(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 0.01 μmol/L。第2片真叶完全展开后进行处理，设置①CK(不加硅不加氯化钠)；②加硅不加氯化钠(1.0 mmol/L S, S)；③不加硅加氯化钠(50 mmol/L NaCl, NaCl)；④加硅加氯化钠(1.0 mmol/L S + 50 mmol/L NaCl, S + NaCl)4个处理，每个处理重复3次。不加硅处理中加入1.7 mmol/L的硫酸钾溶液，以平衡钾离子。试验期间，每3d调1次pH值，6d更换1次营养液并全天通气，白天气温22~28℃，夜间17~20℃。处理后第10天取植株顶部向下第一完全展开功能叶，测定叶片相对含水量、电解质渗漏率、MDA、抗坏血酸(AsA)、谷胱甘肽(GSH)和硅含量，超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(AsA-POD)、愈创木酚过氧化物酶(G-POD)、过氧化氢酶(CAT)活性。

取2个品种成熟饱满的种子各100粒于发芽盒内，加入1% NaCl溶液，以蒸馏水处理为CK，在培养箱(25℃)发芽，重复3次，2d后调查种子发芽率，验证黄瓜品种的耐盐性^[12]。试验结果是津研4号和津绿4号CK的发芽率分别是92%和94%，1% NaCl溶液处理的发芽率分别是80%和54%，表明2个黄瓜品种耐盐性存在差异，津研4号的耐盐能力较强。这与准备试验的结果一致。

1.2 测定方法

叶片相对含水量按照公式：RWC(%) = (鲜质

量-干质量)/(饱和质量-干质量) × 100%，叶片剪下后马上称鲜质量，把称完鲜质量后的叶片放入蒸馏水的烧杯中，黑暗放置24 h后称饱和质量^[13]。

按李锦树等^[14]方法测定叶片的电解质渗漏率。MDA含量测定参照王以柔等^[15]的方法。

SOD, AsA-POD, G-POD 和 CAT 的提取和测定：取0.3 g叶片，加2 mL 25 mmol/L HEPES缓冲液(含0.2 mmol/L EDTA, pH 7.8)和2%不溶性PVP。测定AsA-POD时提取液中含2 mmol/L AsA。冰浴中匀浆，过2层纱布，4℃ 15 000 r/mn 离心20 mn，上清液用于测定SOD^[16]，AsA-POD^[17]，G-POD^[18]和CAT^[17]的活性。用SHIMADZU UV-2410 PC分光光度计酶动力学软件测定吸光度的变化。

AsA和GSH含量测定：取0.3 g叶片，加入2 mL 5%的冷三氯乙酸研磨，4℃下，15 000 r/mn 离心15 mn，参照Sgherr和Navar^[19]的方法测定AsA和GSH含量。

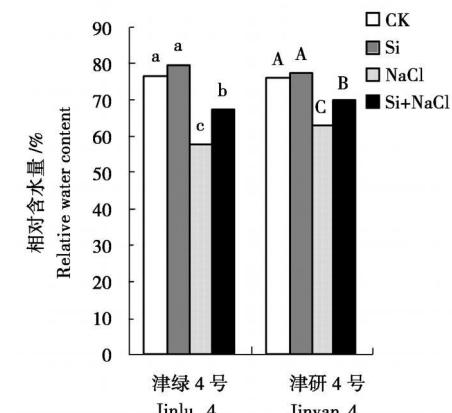
硅含量的测定：称取剪碎鲜样1.0 g，加入6 mL 2%TCA(三氯乙酸)溶液研磨匀浆，4 000 r/mn 离心10 mn，取上清液用硅钼蓝比色法测定，所测得的硅简称TCA-S^[20]。

所有测定均重复3次，用SAS软件统计分析。

2 结果与分析

2.1 硅对盐胁迫下黄瓜叶片含水量的影响

由图1可知，在NaCl胁迫条件下，2个黄瓜品种叶片相对含水量显著降低，加硅可显著提高黄瓜叶片的含水量；不加NaCl时，加硅处理植株叶片的相对含水量与CK差异不显著。



不同字母表示t测验p=0.05水平上差异显著，津绿4号

用小写字母表示，津研4号用大写字母表示。下同。

Means marked with the same small (Jinlu 4) or capital (Jinyan 4) letters above the square column are not significantly at 0.05 level according to t test. The same as below.

图1 硅对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片相对含水量的影响

Fig. 1 Effects of Si on relative water content of the leaves of cucumber seedlings under salt stress

2.2 硅对盐胁迫下黄瓜叶片细胞膜透性的影响

由图 2-A 可以看出, NaCl 胁迫引起 2 个黄瓜品种叶片的电解质渗漏率显著升高, 耐盐性较强品种(津研 4 号)的电解质渗漏率小于耐盐性较弱的品种(津绿 4 号), 加硅可显著降低 2 个黄瓜品种叶片的电解质渗漏率, 表明受到的伤害较小。不加 NaCl 时, 加硅处理叶片的电解质渗漏率与 CK 的差异不显著。盐胁迫使黄瓜叶片 MDA 含量(以鲜质量计, 下同)明显升高, 加硅能显著降低叶片 MDA 含量; 不

加 NaCl 处理与 CK 的 MDA 含量差异不显著; 表明 NaCl 胁迫使黄瓜幼苗叶片细胞膜脂过氧化加剧, 加硅可以减轻黄瓜叶片的膜脂过氧化程度(图 2-B)。

2.3 硅对盐胁迫下黄瓜叶片 SOD, AsA-POD, G-POD 和 CAT 活性的影响

SOD 催化 O_2^- 歧化反应生成 O_2 和 H_2O_2 , 其活性被认为是抗逆境的重要指标^[9]。AsA-POD 是叶绿体中清除 H_2O_2 的关键酶, G-POD 和 CAT 可以分解 H_2O_2 。

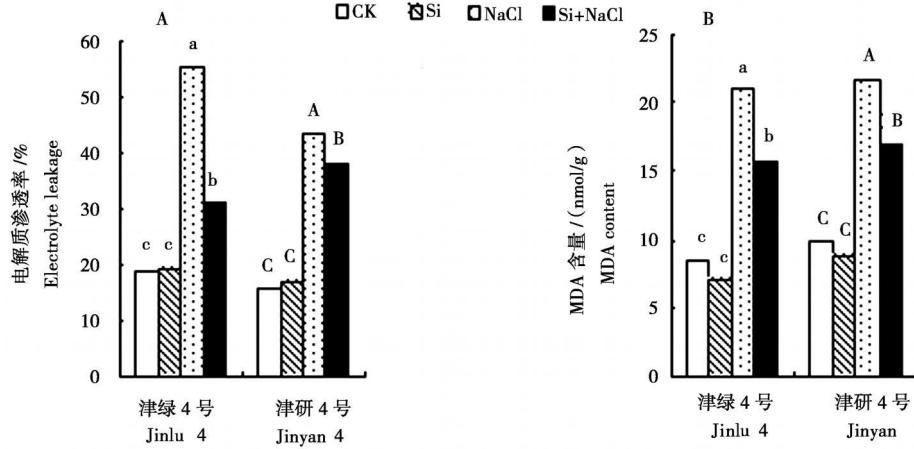


图 2 硅对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片电解质渗漏率和 MDA 含量的影响

Fig. 2 Effects of Si on electrolyte leakage and MDA content of the leaves of cucumber seedlings under salt stress

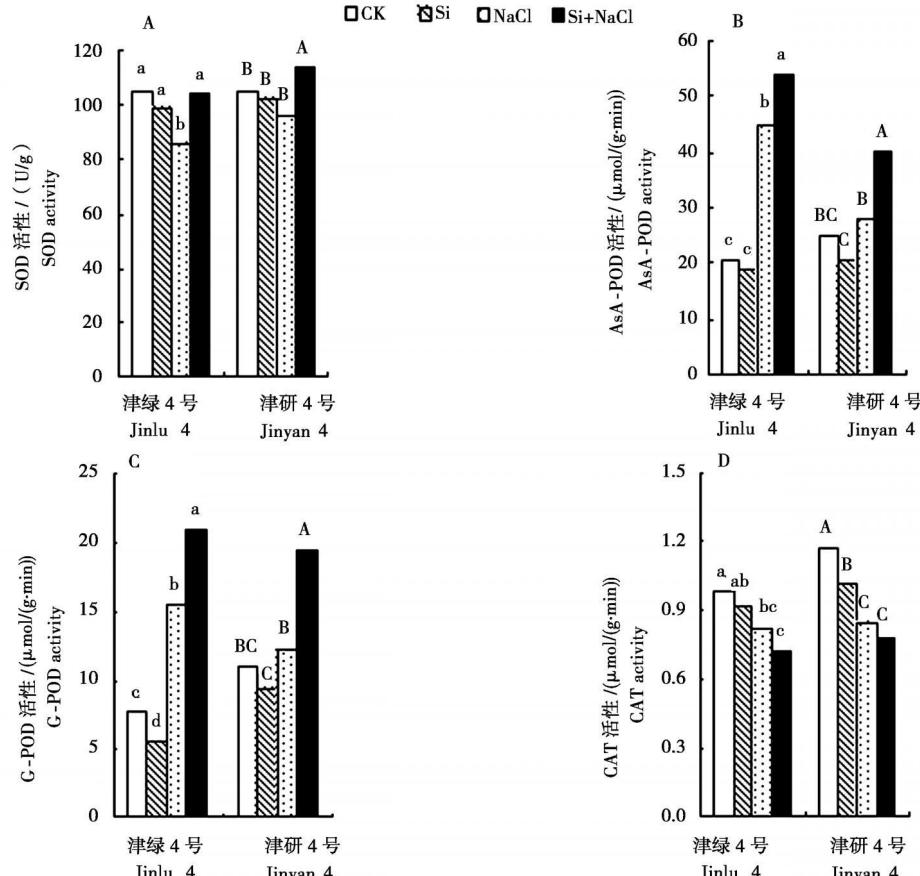


图 3 硅对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片 SOD, AsA-POD, G-POD 和 CAT 活性的影响

Fig. 3 Effects of Si on SOD, AsA-POD, G-POD and CAT activities in leaves of cucumber seedlings under salt stress

图 3-A 表明, 在盐胁迫条件下, SOD 活性显著降低, 加硅可显著提高黄瓜叶片 SOD 活性; 不加 NaCl 处理与 CK 酶活性差异不显著。由图 3-B 可知, 在盐胁迫时, AsA-POD 活性显著升高, 加硅处理 AsA-POD 活性显著高于不加硅处理; 不加 NaCl 处理与 CK 酶活性差异不显著。由图 3-C 可以看出, 在盐胁迫条件下, 2 个耐盐性不同品种叶片的 G-POD 活性显著升高, 加硅处理 G-POD 活性显著高于不加硅处理; 不加 NaCl 时, 加硅可显著降低津绿 4 号黄瓜叶片 G-POD 活性, 对津研 4 号黄瓜叶片影响不显著。由图 3-D 可知, 在盐胁迫条件下, 2 个黄瓜品种叶片的 CAT 活性显著降低, 加硅与否对 CAT 活性影响不大; 不加 NaCl 时, 加硅与否对津绿 4 号黄瓜叶片

CAT 活性影响不大, 但加硅可显著降低津研 4 号黄瓜叶片 CAT 活性。

2.4 硅对盐胁迫下黄瓜叶片 AsA 和 GSH 含量的影响

由图 4-A 可以看出, 在盐胁迫条件下, 加硅可显著提高黄瓜叶片中 AsA 含量; 在不加 NaCl 时, 加硅与否对津绿 4 号黄瓜叶片中 AsA 含量影响很小, 但加硅可显著提高津研 4 号黄瓜叶片中 AsA 含量。图 4-B 表明, 在盐胁迫条件下, 黄瓜叶片中 GSH 含量显著降低, 加硅可显著提高 GSH 含量; 在不加 NaCl 时, 与 CK 相比, 加硅可显著提高黄瓜叶片中 GSH 含量。

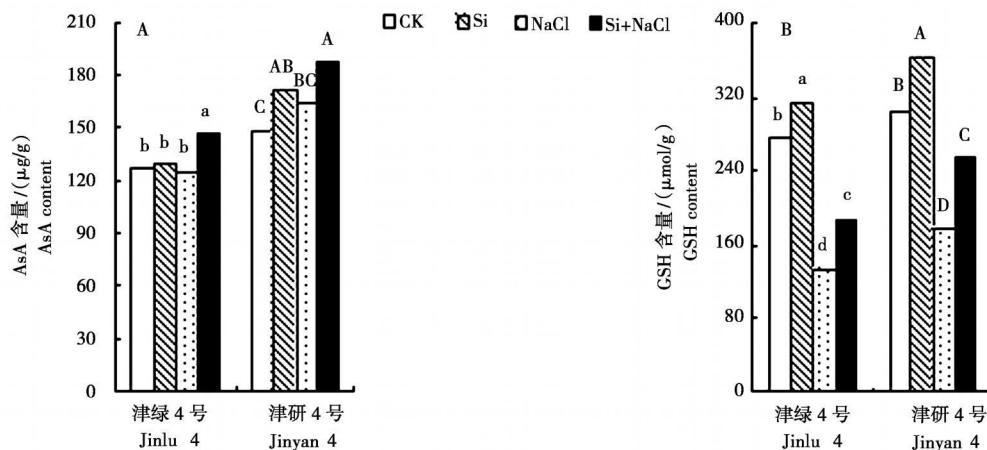


图 4 硅对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片抗坏血酸和谷胱甘肽含量的影响

Fig. 4 Effects of Si on AsA and GSH content in leaves of cucumber seedlings under salt stress

2.5 硅对盐胁迫下黄瓜叶片中硅含量的影响

从图 5 可以看出, 在盐胁迫条件下, 黄瓜叶片中硅含量明显高于对照, 加硅处理的硅含量显著高于不加硅处理; 在不加 NaCl 时, 加硅处理的硅含量显著高于对照。说明营养液中加的可溶性硅被根系吸收并运输到叶片。

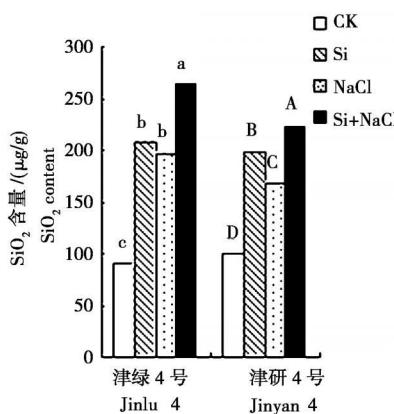


图 5 硅对盐胁迫下黄瓜幼苗叶片硅含量的影响

Fig. 5 Effects of Si on Silicon content in leaves of cucumber seedlings under salt stress

3 讨论

盐胁迫下, 植物体内的活性氧增加, 细胞内积累的活性氧直接影响膜脂和膜蛋白的结构, 膜结构的改变会直接影响膜的透性及对离子的选择性^[21]。植物细胞内存在清除活性氧的酶促和非酶促的保护系统, SOD, AsA-POD, G-POD 和 CAT 是酶促保护系统中的重要组成^[15, 22]。根据 Haber-Weiss 分子氧到水的单电子还原路径, SOD 催化 O₂^{·-}歧化反应生成 O₂ 和 H₂O₂; G-POD 和 CAT 可以分解 H₂O₂; SOD, G-POD 和 CAT 的协同作用可降低氧自由基的积累; AsA-POD 是叶绿体中清除 H₂O₂ 的关键酶^[17, 22]。本研究表明, 耐盐性不同的黄瓜在盐胁迫条件下, 硅处理可明显提高盐胁迫下黄瓜叶片的 SOD, AsA-POD 和 G-POD 活性; 对 CAT 活性影响不显著; 能减轻盐胁迫引起的膜脂过氧化对膜的伤害, 表现在硅处理后, 无论是耐盐性强还是耐盐性较差黄瓜品种的 MDA 含量均显著低于只有盐处理的叶片, 加硅处理显著降低叶片电解质渗漏率。加硅可显著减轻盐胁迫对黄

瓜叶片的伤害, 提高黄瓜抵御盐害的能力。

AsA 是植物体内非酶促保护系统的重要成员之一, 参与植物体内的氧化还原过程, 可还原 O_2^- 、清除 $\cdot OH$ 、猝灭 1O_2 及歧化 H_2O_2 , 此外还可再生另一种强抗氧化剂 VE^[23]。本试验结果表明, 在盐胁迫条件下, 加硅可以显著提高黄瓜叶片中 AsA 含量。GSH 是植物体内一种重要的抗氧化物质, 保护酶类和结构蛋白的-SH 基, 使其免受氧化胁迫。盐胁迫引起黄瓜叶片中 GSH 含量下降, 但加硅可显著提高叶片内 GSH 含量, 这与梁永超等^[11]在大麦上的研究结果一致。

参考文献:

- [1] 陈 阳, 王 贺, 张福锁, 等. 硅盐互作下小獐毛植物体内元素分布及生理特性的研究[J]. 植物生态学报, 2003, 27(2): 189– 195.
- [2] 郝治安, 吕有军. 植物耐盐机制研究进展[J]. 河南农业科学, 2004(11): 30– 33.
- [3] 郭建华, 李跃进, 卢炜丽. 3 种盐胁迫对小麦苗期生长的影响[J]. 华北农学报, 2007, 22(3): 148– 150.
- [4] Epstein E. The anomaly of silicon in plant biology [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91(1): 11– 17.
- [5] Epstein E. Silicon [J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1999, 50: 641– 664.
- [6] 梁永超, 丁瑞兴. 硅对大麦根系中离子的微域分布的影响及其与大麦耐盐性的关系[J]. 中国科学(C辑), 2002, 32(2): 113– 121.
- [7] Ahmad R, Zaheer S H, Ismail S. Role of silicon in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Plant Sci, 1992, 85: 43– 50.
- [8] Matoh T, Kurasawa P, Takahashi E. Salt-induced damage to rice plants and alleviation effect of silicate [J]. Soil Sci Plant Nutr, 1986, 32: 295– 304.
- [9] Lang Y C, Shen Q R, Shen Z G, et al. Effects of silicon on salt tolerance of two barley cultivars [J]. J Plant Nutr, 1996, 19: 173– 83.
- [10] Lang Y C. Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress[J]. Plant and Soil, 1999, 29: 217– 224.
- [11] Lang Y C, Chen Q, Lu Q, et al. Exogenous silicon increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. J Plant Physiol, 2003, 29: 217– 224.
- [12] 张恩平, 张淑红, 司龙亭, 等. NaCl 胁迫对黄瓜幼苗子叶膜脂过氧化的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2001, 32(6): 446– 448.
- [13] 贾利强, 李吉跃, 郎南军, 等. 水分胁迫对黄连木、清香木幼苗的影响[J]. 北京林业大学学报, 2003, 25(3): 55– 59.
- [14] 李锦树, 王洪春, 王文英, 等. 干旱对玉米叶片细胞透性及膜脂的影响[J]. 植物生理学报, 1983, 9(3): 223– 229.
- [15] 王以柔, 曾韶西, 李晓萍. 低温诱导水稻幼苗的光氧化伤害[J]. 植物生理学报, 1990, 16(2): 102– 108.
- [16] Annopolski N, Res S K. Superoxide dismutase occurrence in higher plants [J]. Plant Physiol, 1977, 59: 309– 314.
- [17] 朱祝军, 喻景权, Gerendas J, 等. 氮素形态和光照强度对烟草的 H_2O_2 清除酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1998, 4(4): 379– 385.
- [18] Egley G H, Paul R N, Vaughn K C, et al. Role of peroxidase in the development of water impermeable seed coats in *Sida spinosa* L. [J]. Planta, 1983, 157: 224– 232.
- [19] Ghosh C L M, Navar-Izzo F. Sunflower seedlings subjected to increasing water deficit stress: oxidative stress and defence mechanism [J]. Physiol Plant, 1995, 93: 25– 30.
- [20] 梁永超, 陈兴华, 王大平. 水稻植株体内 TCA-S(三氯乙酸溶性硅)含量变化及其分布[J]. 江苏农业学报, 1991, 7(4): 41– 43.
- [21] 陈 沁, 刘友良. 谷胱甘肽对盐胁迫大麦叶片活性氧清除系统的保护作用[J]. 作物学报, 2000, 26(3): 365– 372.
- [22] 蒋明义, 杨文英, 许 江, 等. 渗透胁迫下水稻幼苗中叶绿素降解的活性氧损伤作用[J]. 植物学报, 1994, 36(4): 289– 295.
- [23] 蒋明义, 郭绍川. 水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(2): 144– 150.