

Cr³⁺胁迫对青菜中植物络合素含量及 AsA-GSH 代谢关键酶活性的影响

齐 君¹, 吕金印^{2*}, 李鹰翔¹, 王 帅², 叶庆富³

(1.西北农林科技大学理学院, 陕西 杨凌 712100; 2.西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨凌 712100; 3.浙江大学核农所, 浙江 杭州 310029)

摘 要:采用不同浓度 Cr³⁺处理,测定不同耐铬性青菜品种叶片中抗坏血酸-谷胱甘肽(AsA-GSH)代谢关键酶活性及植物络合素含量等生理指标。结果表明,随着处理浓度的增加,两个青菜品种叶片中植物络合素及抗氧化剂含量呈增加趋势。高浓度 Cr³⁺(250 mg·L⁻¹)处理下,耐铬性强的矮抗青品种叶片中超氧阴离子(O₂⁻)含量与对照相比增幅较小,耐铬性差的绿秀品种则增幅较大;耐铬性强的矮抗青叶片中还原型抗坏血酸(AsA)、还原型谷胱甘肽(GSH)含量显著高于对照($P<0.05$),而绿秀品种则略增,差异不显著($P>0.05$);耐铬性强的矮抗青品种叶片中脱氢抗坏血酸(DHA)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量分别是对照的 1.87、1.72 倍,低于耐性差的绿秀品种(1.98、1.94 倍)。随着铬处理浓度的增加,AsA-GSH 关键酶活性呈先增后降趋势。高浓度 Cr³⁺处理下,耐铬性强的矮抗青品种叶片中植物络合素(PCs)含量、抗坏血酸过氧化物酶(APX)及脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)活性分别比对照增加了 30.9%、38.9%、45.2%,而耐性差的绿秀分别增加了 11.5%、30.5%、43.0%。综合分析表明,矮抗青在 Cr³⁺处理下具有较高的 AsA-GSH 代谢关键酶活性和非酶物质含量,可能是不同青菜品种对 Cr³⁺耐受性差异的内在生理原因。

关键词:青菜;铬;植物络合素;抗坏血酸;谷胱甘肽

中图分类号:Q945.78 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2012)07-1303-07

Effects of Chromium Stress on the Content of Phytochelatins and the Activities of Key Enzymes of Ascorbate-glutathione Cycle in *Brassica chinensis* L.

QI Jun¹, LÜ Jin-yin^{2*}, LI Ying-xiang¹, WANG Shuai², YE Qing-fu³

(1.College of Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2.College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 3.Institute of Nuclear-Agricultural Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: The content of phytochelatins and the activities of key enzymes of Ascorbate-glutathione cycle in varieties of Aikangqing and Lvxiu were studied with different concentrations of Cr³⁺. The results showed that the contents of phytochelatins and antioxidant increased with the increase of Cr³⁺ concentration in both varieties. Under high concentration of Cr³⁺ (250 mg·L⁻¹), O₂⁻ contents in leaves of cabbages were significantly increased ($P<0.05$), and the increased amount of Aikangqing was lower than that of Lvxiu. AsA and GSH contents in leaves of Aikangqing were significantly increased compared to control ($P<0.05$), while those of in Lvxiu were not significantly increased ($P>0.05$). DHA and GSSG contents in Aikangqing were 1.87 and 1.72 times as much as control and those were 1.98 and 1.94 times as much as control in Lvxiu, respectively. The activities of key enzymes in AsA-GSH increased with the increase of Cr³⁺ concentration. The content of phytochelatins (PCs), the activity of ascorbate peroxidase (APX), and dehydroascorbate reductase (DHAR) in Aikangqing were 30.9%, 38.9%, 45.2% higher than control under the concentration of 250 mg·L⁻¹ Cr³⁺ treatment, respectively, while those in Lvxiu were 11.5%, 30.5%, 43.0% higher than control, respectively. In conclusion, Aikangqing had a higher activities of key enzymes of AsA-GSH and phytochelatins under Cr³⁺ stress, which attribute to its higher Cr³⁺ tolerance. Our results showed that there were chromium-resistance differences between varieties of cabbages, this provides the theoretical guidance and technical support for people had the choice of low accumulation cabbages varieties.

Keywords: *Brassica chinensis* L.; chromium; phytochelatins; ascorbate; glutathione

收稿日期:2012-02-05

基金项目:农业部农业公益性行业科研专项“核技术在高效、低碳农业中的应用”(201103007)

作者简介:齐 君(1986—),女,山东淄博人,在读硕士生,主要从事植物微量元素吸收代谢机理研究。E-mail:beyond1995@163.com

* 通讯作者:吕金印 E-mail:Jinyinlu@163.com

重金属是当今世界备受关注的污染物之一^[1],随着科学技术的迅猛发展和工业化进程的加快,以各种途径进入土壤的铬已成为环境的污染源。高浓度的铬不仅影响蔬菜等农产品的产量和品质,而且进入食物链直接或间接地给人类健康带来不良影响^[2-3]。青菜(*Brassica chinensis* L.)又称小白菜,是我国广泛种植的主要蔬菜品种^[4],井彩巧等^[5]对 38 种不同基因型大白菜可食部分 Cd 和 Pb 含量差异进行研究发现,不同基因型品种对不同重金属的吸收积累存在显著差异。胡学玉等^[6]研究了锌胁迫下不同青菜品种的耐锌能力差异。刘涛等对辣椒^[7]的研究表明,低温胁迫下辣椒体内 AsA、DHA、GSH、GSSG 含量显著高于对照。Macarena Mellado 等^[8]研究表明,随着铜处理时间的延长,石莼体内 AsA、DHA 含量呈先增加后降低趋势,而 GSH、GSSG 含量则变化不显著。在 NaCl 胁迫下,黑麦草幼苗叶片中 H₂O₂ 含量明显积累,APX、DHAR、GR 活性显著高于对照^[9]。说明逆境条件下,植物体内的抗氧化物质及相关酶活性增加,有利于及时清除过量的 H₂O₂ 等有害物质。目前有关重金属镉对植物胁迫报道较多,而铬对蔬菜中非酶物质含量及抗坏血酸-谷胱甘肽循环生理机制鲜有报道。本研究选用两种不同铬耐性青菜品种,测定不同浓度铬处理下青菜叶片中植物络合素含量及 AsA-GSH 循环中抗氧化物质含量与关键酶活性变化,探讨不同耐铬性青菜铬处理下的生理调控机制,旨在为蔬菜的无害化栽培及铬低积累青菜品种的选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选用对 Cr³⁺耐受性差异较大的两个青菜品种矮抗青和绿秀^[10],其中矮抗青耐 Cr³⁺性强。矮抗青种子购自杨凌农科大农城种业科技中心,绿秀种子购自青岛国际种苗有限公司。

1.2 铬处理

挑选籽粒饱满一致的两种青菜种子,0.1%HgCl₂ 表面消毒 10 min,去离子水洗净,播种在塑料盆中(上口直径 16.8 cm、底部直径 9.2 cm、高 11.1 cm),每盆 30 粒种子,盆内装有 1.5 kg 过 30 目的沙子为基质,盆底垫一层中速滤纸,以便排水。种子发芽培养 7 d 后间苗,每盆 15 株。定期浇灌 Hoagland 营养液,以补充水分和养分。生长 30 d 后将幼苗转移至装有 1/2 Hoagland 营养液的塑料盆中,移苗 7 d 后分别采用 0、50、150、250 mg·L⁻¹ 4 种浓度 Cr³⁺(CrCl₃·6H₂O)溶液处

理,每种处理重复 3 次。最高处理浓度 250 mg·L⁻¹ 参照国家土壤环境质量标准中水地铬的三级标准(GB 15618—1995)确定。处理 5 d 后采样,用于生长和生理指标的测定。整个试验在光照培养室中进行,昼/夜温度(25±3/21±3)℃,光暗(14/10)h,光强 150 μmol·m⁻²·s⁻¹。

1.3 丙二醛(MDA)及超氧离子(O₂^{·-})含量测定

参照李合生、高俊凤等的方法^[11-12]。

1.4 酸溶性 SH、GSH、PCs 含量测定^[13]

酸溶性 SH 的提取和含量测定:称 0.5 g 青菜叶片,加入 5 mL 0.02 mol·L⁻¹ EDTA,4℃下研磨,吸 1.5 mL 匀浆与 10%TCA 混合,12 000×g 离心 10 min,上清液用于酸溶性 SH 含量测定。取 2 mL 上清液与 0.4 mol·L⁻¹ Tris 缓冲液(pH8.9)和 0.1 mL 0.01 mol·L⁻¹ DTNB 混合,412 nm 比色。GSH 含量测定参照高俊凤等的方法^[12]。PCs 含量为酸溶性 SH 含量与 GSH 含量的差值。以上测定均在 4℃下操作。

1.5 AsA、DHA、GSH、GSSG 含量及 APX、DHAR、GR 酶活性测定

还原型谷胱甘肽 AsA、DHA、GSSG 含量测定参照薛延丰等^[14]的方法。APX、DHAR、GR 酶活性测定参照 Ma 等^[15]的方法略加修改。取 0.5 g 叶片,加 4 mL 预冷的 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液[pH7.0,含 1 mmol·L⁻¹ EDTA、1%聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、0.25% TritonX-100]研磨,4℃下 8 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,上清液即为酶液。

1.6 数据处理

采用 SPSS17.0 软件进行方差分析和 LSD 检验,数值结果用 3 次重复的平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 Cr³⁺处理对青菜 MDA 及超氧离子(O₂^{·-})含量的影响

MDA 是反映植物在逆境环境下细胞膜过氧化程度的重要指标^[16]。本研究中,低浓度 Cr³⁺(50 mg·L⁻¹)处理下,两种青菜叶片 MDA 含量与对照相比差异不显著($P>0.05$)。中、高浓度 Cr³⁺(150、250 mg·L⁻¹)处理下 MDA 含量显著升高($P<0.05$)。高浓度 Cr³⁺处理下矮抗青、绿秀叶片 MDA 含量分别是对照的 2.91、3.58 倍(图 1)。Cr³⁺处理下,耐铬胁迫能力较强的矮抗青 MDA 含量上升幅度较小,表明细胞膜脂过氧化程度相对较低,铬胁迫对其伤害程度较小。

植物在逆境下会因活性氧代谢平衡失调,发生细

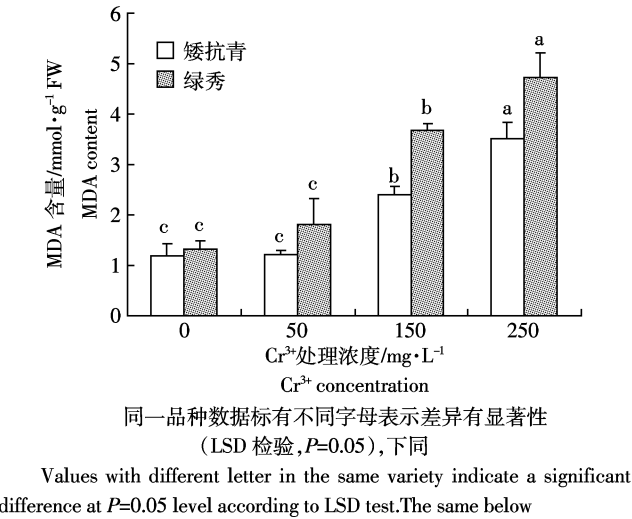


图 1 不同浓度 Cr^{3+} 处理对青菜叶片 MDA 含量的影响
Figure 1 Effect of Cr^{3+} stress on the content of MDA in leaves of two varieties of *Brassica chinensis* L.

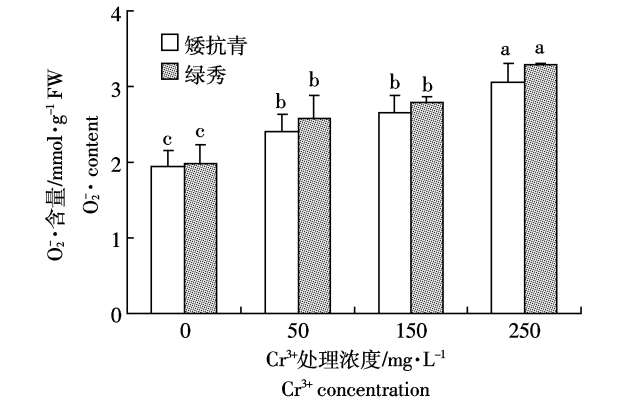


图 2 不同浓度 Cr^{3+} 处理对青菜叶片 $\text{O}_2\cdot^-$ 含量的影响
Figure 2 Effect of Cr^{3+} stress on the content of $\text{O}_2\cdot^-$ in leaves of two varieties of *Brassica chinensis* L.

胞膜脂过氧化,影响膜的结构和功能。由图 2 可以看出,随着 Cr^{3+} 处理浓度的增加,超氧阴离子($\text{O}_2\cdot^-$)含量显著增加($P<0.05$),尤其在低浓度 Cr^{3+} (250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下矮抗青和绿秀中超氧阴离子($\text{O}_2\cdot^-$)含量分别是对照的 1.57 倍和 1.66 倍。不同浓度铬处理下,耐铬性差

的绿秀中 $\text{O}_2\cdot^-$ 含量相对较高,表明高浓度 Cr^{3+} (250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理加速了青菜叶片细胞膜脂过氧化。

2.2 不同浓度 Cr^{3+} 处理对青菜 SH、GSH、PCs 含量的影响

PCs 是植物体内在重金属诱导下产生的一类多肽,对重金属离子的螯合能力很强,在重金属的积累和解毒过程中发挥重要作用^[7]。表 1 显示,随着 Cr^{3+} 处理浓度的升高,青菜叶片中酸溶性 SH、GSH、PCs 含量呈先升后降趋势,在中浓度 Cr^{3+} (150 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下达到最大值。在高浓度 Cr^{3+} (250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下,矮抗青中酸溶性 SH、GSH、PCs 分别比对照增加了 31.8%、33.3%、30.9%,而耐性较差的绿秀分别比对照增加了 18.4%、15.4%、11.5%(表 1)。铬处理下矮抗青表现出较高的清除活性氧非酶物质含量,可能与矮抗青具有较高的耐铬胁迫能力有关。

2.3 不同浓度 Cr^{3+} 处理对青菜 AsA、DHA 含量及 AsA/DHA 比值的影响

还原型抗坏血酸(AsA)是植物体内重要的非酶抗氧化剂,也是其细胞中主要的氧化还原缓冲剂^[8]。由图 3A、B 可以看出,不同浓度 Cr^{3+} 处理下两个青菜品种随着处理浓度的增加,AsA、DHA 含量呈增加趋势,在中浓度 Cr^{3+} (150 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下达到最高值。高浓度 Cr^{3+} (250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下,耐铬性强的品种矮抗青叶片中 AsA 含量与对照相比增加了 29.4%,而耐铬性差的绿秀增加了 25.1%,矮抗青叶片中 DHA 含量比对照增加了 87%,低于绿秀(98%)。

AsA/DHA 比值反映抗坏血酸氧化还原状态。在低、中、高 3 种浓度 Cr^{3+} 处理下,与对照相比,耐铬性强的矮抗青 AsA/DHA 比值下降幅度较小(图 3 C),分别为 18.3%、26.6%、30.7%,而耐铬性差的绿秀下降幅度较大,分别为 30.1%、30.6%、36.8%。表明不同浓度铬处理下,矮抗青中还原型抗氧化物质的含量相对较高,抗氧化能力较强。

表 1 不同浓度 Cr^{3+} 处理对青菜酸溶性 SH、GSH 和 PCs 含量的影响($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)						
Table 1 Effect of Cr^{3+} stress on the content of acid soluble SH, GSH and PCs of <i>Brassica chinensis</i> L.($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)						
铬浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cr concentration	酸溶性 SH		GSH		PCs	
	矮抗青 Aikangqing	绿秀 Lvxiu	矮抗青 Aikangqing	绿秀 Lvxiu	矮抗青 Aikangqing	绿秀 Lvxiu
0	54.7±5.2d	61.8±1.3c	24.3±1.4d	27.9±2.2c	30.4±1.2d	33.9±0.9c
50	91.7±3.9b	85.6±6.3b	37.3±1.8b	36.4±0.7b	54.4±2.1b	49.3±5.6b
150	123.3±4.3a	117.4±8.1a	48.7±1.0a	46.9±2.1a	74.6±5.2a	70.5±10.2a
250	72.1±2.9c	73.2±6.2c	32.3±2.1c	32.2±2.0c	39.8±0.8c	37.8±1.0c

注:同列数据标有不同字母表示差异有显著性(LSD 检验, $P=0.05$)。
Values with different letter in the same column indicate a significant difference at $P=0.05$ level according to LSD test.

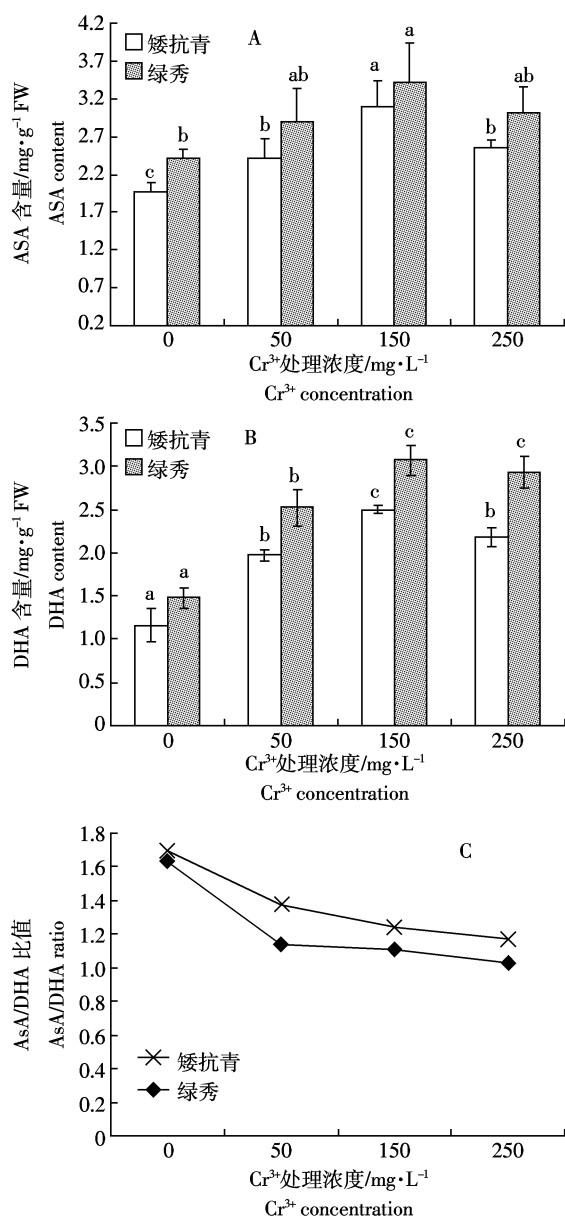


图3 不同浓度 Cr³⁺处理对青菜叶片 AsA、DHA 含量及 AsA/DHA 比值的影响

Figure 3 Effect of Cr³⁺ stress on the content of AsA, DHA and AsA/DHA ratio in leaves of two varieties of *Brassica chinensis* L.

2.4 不同浓度 Cr³⁺处理对青菜 GSH、GSSG 含量及 GSH/GSSG 比值的影响

谷胱甘肽是植物体内重要的抗氧化剂和氧化还原势调节剂。由图 4 A-B 可知,随着 Cr³⁺处理浓度的增加,两品种青菜叶片中 GSH、GSSG 含量呈先增后降趋势,在中浓度 Cr³⁺(150 mg·L⁻¹)处理时达到最高值。高浓度 Cr³⁺(250 mg·L⁻¹)处理下,矮抗青中 GSH 含量与对照相比增加了 33.3%,而耐性较差的绿秀增加了 15.4%,GSSG 含量耐性强的矮抗青比对照增加了 72%,低于耐性差的绿秀(94%)。

GSH/GSSG 比值表示谷胱甘肽氧化还原势,随处理浓度的增加呈下降趋势。图 4C 表明,高浓度 Cr³⁺(250 mg·L⁻¹)处理下,矮抗青中 GSH/GSSG 比值比对照下降了 23.3%,而绿秀比对照下降了 40.8%。表明 Cr³⁺处理下,矮抗青维持了较高的还原型谷胱甘肽(GSH)相对积累量,较低的氧化态谷胱甘肽(GSSG)相对积累量,保持了相对较高的 GSH/GSSG 比值。

2.5 不同浓度 Cr³⁺处理对青菜 APX、DHAR、GR 活性的影响

APX、DHAR、GR 是抗坏血酸谷胱甘肽循环代谢

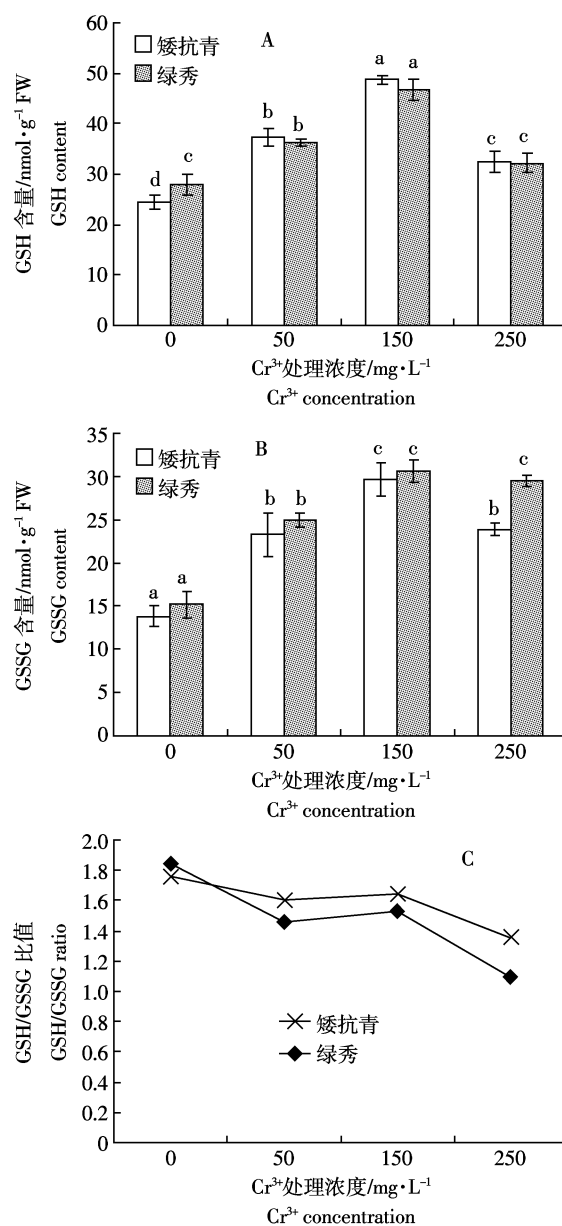


图4 不同浓度 Cr³⁺处理对青菜叶片 GSH、GSSG 含量及 GSH/GSSG 比值的影响

Figure 4 Effects of Cr³⁺ stress on contents of GSH, GSSG and GSH/GSSG ratio in leaves of two varieties of *Brassica chinensis* L.

中重要的酶类,能够有效清除 H_2O_2 [19]。图5至图7表明,随着 Cr^{3+} 处理浓度的增加,矮抗青和绿秀中 APX、DHAR、GR 活性呈先增后降趋势。中浓度 Cr^{3+} (150 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下,矮抗青和绿秀中 APX 和 DHAR 活性达到最高值。高浓度 Cr^{3+} (250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下,矮抗青体内 APX 和 DHAR 活性分别比对照增加了 38.9%、24.9%,而绿秀比对照增加了 26.2%、19.8%(图5、图6),显示了矮抗青具有较高的酶活性和清除 ROS 的能力。在中浓度 Cr^{3+} (150 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下,矮抗青和绿秀 GR 活性分别是对照的 2.32 倍和 1.75 倍,高浓度 Cr^{3+} (250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下,矮抗青和绿秀中 GR 活性比对照下降了 16.6%和 33.5%(图7)。表明铬胁迫对矮抗青中 GR 活性的诱导显著高于绿秀。

3 讨论

高浓度铬抑制植物生长发育及光合等生理代谢过程。高浓度铬胁迫下,对芥菜型油菜[20]生长特性的研究表明,铬影响植物的正常生长,植株矮小、叶片内

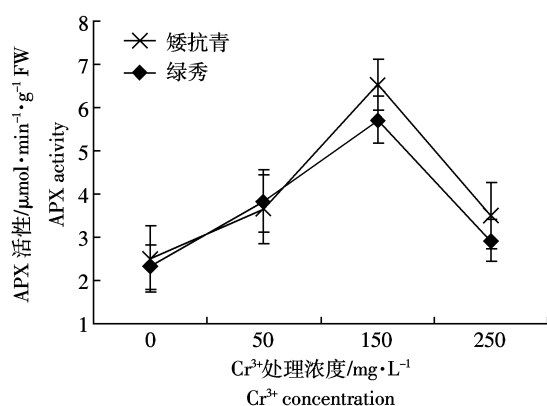


图5 不同浓度 Cr^{3+} 处理对青菜叶片 APX 活性的影响

Figure 5 Effect of Cr^{3+} stress on the activity of APX in leaves of two varieties of *Brassica chinensis* L.

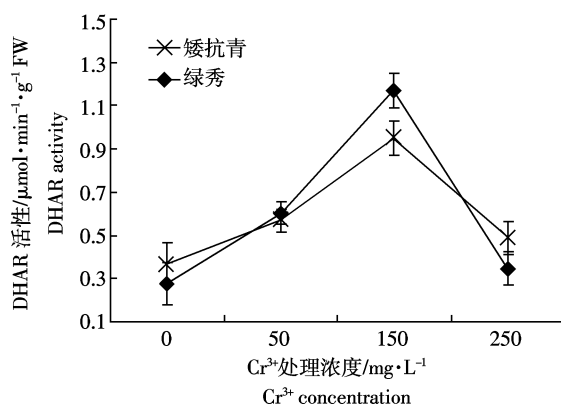


图6 不同浓度 Cr^{3+} 处理对青菜 DHAR 活性的影响

Figure 6 Effect of Cr^{3+} stress on the activity of DHAR in leaves of two varieties of *Brassica chinensis* L.

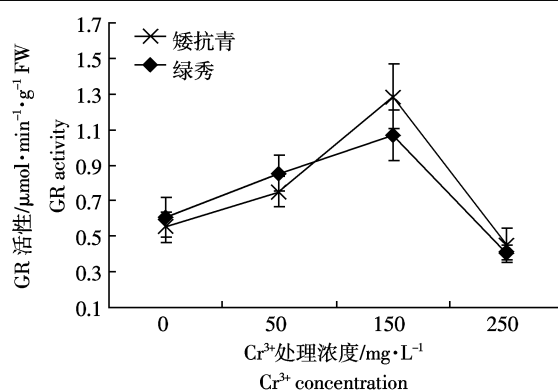


图7 不同浓度 Cr^{3+} 处理对青菜叶片 GR 活性的影响

Figure 7 Effect of Cr^{3+} stress on the activity of GR in leaves of two varieties of *Brassica chinensis* L.

卷、发育不良、生物量下降。 Cr^{3+} 胁迫可促进植株体内活性氧的产生,启动膜脂过氧化作用,引起活性氧代谢平衡失调,而最终破坏生物膜结构。本研究中,在低浓度 Cr^{3+} (50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下,两种青菜外观形态生长与对照无明显差异;而高浓度 Cr^{3+} (250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理 5 d 后,青菜叶片发黄,边缘卷曲。

正常生长的植物细胞内自由基的产生和清除处于动态平衡,一旦这种平衡遭到破坏,自由基就会积累[21-22],植物的这种氧化损伤通常在干旱、盐渍等逆境条件下得到加强。因此,能否及时清除过量积累的活性氧,缓解氧化胁迫对细胞造成的伤害,在一定程度上反映了植物耐逆境胁迫能力的强弱。本研究中,随着 Cr^{3+} 处理浓度的增加,超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)含量明显升高,对叶片产生了一定的氧化损伤,并且处理的浓度越高,所造成的氧化伤害越严重。这与前人在番茄[23]、木麻黄[24]中的研究结果相类似。中、高浓度 Cr^{3+} (150、250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下,耐铬胁迫较强的矮抗青 MDA 上升幅度明显低于耐铬胁迫差的绿秀,表明绿秀叶片膜脂过氧化水平较高,膜结构受损,铬处理对耐铬胁迫较弱的品种绿秀伤害较大。

胞内离子络合对植物重金属的解毒起着重要作用,硫代谢产物(如 GSH、PCs 等)是衡量植物防御重金属伤害程度的指标,能与金属离子结合形成硫肽复合物,通过一些转运蛋白,将这些复合物转运到胞外,或者将他们储存在液泡等细胞器内,以降低金属离子对植物的毒害作用[25-26]。本研究中,随着 Cr^{3+} 处理浓度升高,两种青菜叶片酸溶性 SH、GSH 和 PCs 含量增加,在中浓度 Cr^{3+} (150 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)处理下达到最高值,可能是青菜受到胁迫并启动了 PCs 合成机制,铬在青菜细胞内形成区室化,以阻止铬对青菜的损伤。这与前人在白檀[27]中研究结果类似。高浓度 Cr^{3+} (250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

处理下,矮抗青叶片中 PCs 含量与对照相比增加了 30.9%,明显高于绿秀(11.5%)。表明矮抗青具有较高的形成植物络合素能力,抗铬胁迫能力较强。

AsA-GSH 循环各组分主要涉及 APX、DHAR 和 GR 等几种抗氧化酶及 AsA、GSH 两种非酶抗氧化剂^[28]。在 AsA-GSH 循环中,APX 以 AsA 为电子供体,直接清除 H₂O₂,而 MDHR、DHAR 和 GSH 有助于保持 AsA 的水平,对于减少起负面作用的 DHA 积累有重要作用^[29]。还原型谷胱甘肽(GSH)可被氧化形成氧化型谷胱甘肽(GSSG),从而构成细胞内主要的氧化还原缓冲体系,并在抗氧化胁迫及氧化还原等信号传导中发挥至关重要的作用^[30]。本试验表明,高浓度 Cr³⁺(250 mg·L⁻¹)处理下,耐性强的矮抗青与对照相比 AsA、GSH 含量增幅高于绿秀,DHA、GSSG 含量的增幅低于绿秀,说明矮抗青具有相对较高的抗氧化物质含量。高浓度处理下,矮抗青叶片中 AsA/DHA、GSH/GSSG 比值与对照相比下降幅度低于绿秀,说明矮抗青对 Cr³⁺胁迫具有较强的适应能力,在处理期间能够保持较高的氧化还原力(AsA/DHA、GSH/GSSG 比值),为 AsA-GSH 循环的有效运转及活性氧的清除奠定了物质基础,进而减轻了细胞的膜脂过氧化程度。

抗坏血酸过氧化物酶(APX)是叶绿体中清除 H₂O₂ 的重要酶,在植物逆境胁迫中具有重要的抗氧化作用。GR 是一种与 NADPH 电子传递功能相关的黄素蛋白,其主要功能是以 NADPH 为底物,将氧化型谷胱甘肽(GSSG)还原为 GSH,是 AsA-GSH 循环中最后一步的关键酶,对 AsA 和 GSH 的再生具有重要的作用。APX 利用 AsA 清除 H₂O₂,而 AsA 被氧化形成单脱氢抗坏血酸(MDHA)和脱氢抗坏血酸(DHA),MDHA 和 DHA 在单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR)和 DHAR 作用下再生成 AsA。APX、DHAR 和 GSH 有助于保持 AsA 的水平。本试验中随着 Cr³⁺浓度的增加,矮抗青和绿秀中 APX、DHAR、GR 活性随着处理浓度的增加而升高,在高浓度胁迫下,矮抗青中 APX 和 DHAR 活性与对照相比,增幅高于绿秀,而 GR 活性降幅低于绿秀。说明在铬胁迫下,耐铬胁迫较强的矮抗青能够及时清除过量产生的 H₂O₂,从而减轻细胞的膜脂过氧化程度,同时为抗坏血酸-谷胱甘肽循环的正常运转及 AsA、GSH 的再生提供了有力保障。

4 结论

(1)Cr³⁺胁迫下,不同耐铬性青菜品种叶片中超氧

离子(O₂^{·-})及 MDA 含量呈先增后降趋势。在高浓度铬处理下,耐铬胁迫能力较强的品种矮抗青与对照相比,增加的幅度小于绿秀,铬胁迫对矮抗青的伤害程度比绿秀小。

(2)铬胁迫下两种青菜品种中非酶物质(SH、GSH、PCs)含量增加,耐铬性较强的矮抗青表现出相对较高的非酶物质含量。

(3)铬胁迫下,青菜叶片 AsA、DHA、GSH、GSSG 含量及 APX、DHAR、GR 活性均随着处理浓度的增加呈先增后降趋势,中浓度 Cr³⁺(150 mg·L⁻¹)处理下达到最高值,AsA/DHA、GSH/GSSG 比值呈下降趋势。在高浓度 Cr³⁺(250 mg·L⁻¹)处理下,矮抗青中 APX、DHAR 活性增幅高于绿秀,GR 活性降幅低于绿秀,矮抗青具有较高 AsA-GSH 代谢关键酶活性和较高的抗氧化能力。

参考文献:

- [1] 陈德碧, 朱建勇. 水杨酸对番茄种子萌发及幼苗生长铬胁迫的缓解效应[J]. 北方园艺, 2010(2): 13-16.
CHEN De-bi, ZHU Jian-yong. Mitigative effect of salicylic acid on tomato seed germination and seedling growth under chromium stress[J]. *Northern Horticulture*, 2010(2): 13-16.
- [2] 卢志红, 赵小敏, 朱美英. 铬 Cr⁶⁺对水稻种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2008, 3(6): 60-62.
LU Zhi-hong, ZHAO Xiao-min, ZHU Mei-ying. Effect of chromium (Cr⁶⁺) on rice seed germination and seedling growth[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2008, 3(6): 60-62.
- [3] 宋 威, 张 芹, 李桂玲. 烟草种子对铬胁迫的生理响应[J]. 湖北农业学报, 2011, 50(14): 2897-2899.
SONG Wei, ZHANG Qin, LI Gui-ling. The physiological response of the tobacco seeds under chromium stress[J]. *Hubei Agricultural Science*, 2011, 50(14): 2897-2899.
- [4] 陈 瑛, 李廷强, 杨肖娥. 镉对不同基因型小白菜根系生长特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 15(1): 170-176.
CHEN Ying, LI Ting-qiang, YANG Xiao-e. Effects of Cd on growth characteristics of root systems of pakchoi with different genotypes[J]. *Plant Nutrient and Fertilizer Science*, 2009, 15(1): 170-176.
- [5] 井彩巧. 不同基因型大白菜镉和铅含量差异研究[J]. 园艺学报, 2006, 33(2): 402-404.
JING Cai-qiao. Studies on Cd and Pb contents of different Chinese cabbage genotypes[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, 33(2): 402-404.
- [6] 胡学玉, 李学垣, 谢振翅. 不同青菜品种吸锌能力差异及与根系分泌物的关系[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(2): 234-238.
HU Xue-yu, LI Xue-huan, XIE Zhen-chi. Differences of Zn uptake in various pakchoi cultivars and relationship between Zn uptake and root exudates[J]. *Plant Nutrient and Fertilizer Science*, 2002, 8(2): 234-238.
- [7] 刘 涛, 徐 刚, 高文瑞, 等. ALA 对低温胁迫下辣椒植株叶片中 AsA-GSH 循环的影响[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(4): 830-835.
LIU Tao, XU Gang, GAO Wen-rui, et al. Effect of 5-aminolevulinic acid on the ascorbate-gultathione system of pepper leaves under low temperature stress[J]. *Jiangsu J of Agr Sci*, 2011, 27(4): 830-835.

- [8] Macarena Mellado, Rodrigo A Contreras. Copper-induced synthesis of ascorbate, glutathione and phytochelatin in the marine alga *Ulva compressa* (Chlorophyta) [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2011, 23: 1-7.
- [9] 刘建新, 王鑫, 李博萍. 外源一氧化氮供体 SNP 对 NaCl 胁迫下黑麦草幼苗叶片抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响[J]. 草业学报, 2010, 19(2): 82-88.
- LIU Jian-xin, WANG Xin, LI Bo-ping. Effects of exogenous nitric oxide donor SNP on ascorbate-glutathione cycle metabolism in ryegrass seedling leaves under NaCl stress [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2010, 19(2): 82-88.
- [10] 宋相帝, 吕金印, 邸丽俊, 等. 铬胁迫对青菜 (*Brassica chinensis* L.) 植物螯合肽含量及抗氧化特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(5): 843-848.
- SONG Xiang-di, LÜ Jin-yin, DI Li-jun, et al. Effects of chromium stress on the content of phytochelatin and antioxidative characteristics in *Brassica chinensis* L. [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(5): 843-848.
- [11] 李合生, 孙群, 赵世杰. 植物生理生化试验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 125-128.
- LI He-sheng, SUN Qun, ZHAO Shi-jie. Theory and technique of plant physiological and biochemical experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 125-128.
- [12] 高俊凤. 植物生理实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 192-201.
- GAO Jun-feng. Guidance of plant physiology experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 192-201.
- [13] Zhang W H, Cai Y, Downum K R. Thiol synthesis and arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata* (Chinese brake fern) [J]. *Environmental Pollution*, 2004, 131: 337-345.
- [14] 薛延丰, 冯慧芳, 石志琦, 等. 水葫芦沼液对青菜生长及 AsA-GSH 循环影响的动态研究[J]. 草业学报, 2011, 20(3): 91-98.
- XUE Yan-feng, FENG Hui-fang, SHI Zhi-qi, et al. Dynamic changes in the growth and the AsA-GSH circulation metabolism of Chinese cabbage treated with a biogas slurry of water hyacinth [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2011, 20(3): 91-98.
- [15] Ma Yu-hua, Ma Feng-wang, Zhang Jun-ke. Effects of high temperature on activities and gene expression of enzymes involved in ascorbate glutathione cycle in apple leaves [J]. *Plant Science*, 2008, 175: 761-766.
- [16] Sun Hai-ping, Li Lin, Wang Xu. Ascorbate-glutathione cycle of mitochondria in osmoprimed soybean cotyledons in response to imbibitional chilling injury [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168: 226-232.
- [17] 蔡保松, 雷梅, 陈同斌, 等. 植物螯合肽及其在抗重金属胁迫中的作用[J]. 生态学报, 2003, 23(10): 2125-2132.
- CAI Bao-song, LEI Mei, CHEN Tong-bin, et al. Phytochelatin and their roles in phyto-tolerance to heavy metals: A review [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(10): 2125-2132.
- [18] 王聪, 朱月林, 杨立飞, 等. NaCl 胁迫对菜用大豆种子抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(5): 1209-1216.
- WANG Cong, ZHU Yue-lin, YANG Li-fei, et al. Effect of NaCl stress on ascorbate-glutathione cycle in vegetable soybean seeds [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2010, 16(5): 1209-1216.
- [19] Abed Shalata, Valentina Mittova, Micha Volokita, et al. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidative system [J]. *Physiologia Plantarum*, 2001, 112: 487-494.
- [20] 王爱云, 钟国锋, 徐刚标, 等. 铬胁迫对芥菜型油菜生理特性和铬富集的影响[J]. 环境科学, 2011, 32(6): 1717-1725.
- WANG Ai-yun, ZHONG Guo-feng, XU Gang-biao, et al. Effects of Cr (VI) stress on physiological characteristics of *Brassica juncea* and its Cr uptake [J]. *Environmental Science*, 2011, 32(6): 1717-1725.
- [21] Nader Chaparzadeh, Maria Lucia D'Amico, Ramazan-Ali Khavari-Nejad, et al. Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2004, 42: 695-701.
- [22] 罗娅, 汤浩茹, 张勇. 低温胁迫对草莓叶片 SOD 和 AsA-GSH 循环酶系统的影响[J]. 园艺学报, 2007, 34(6): 1405-1410.
- LUO Ya, TANG Hao-ru, ZHANG Yong. Effect of low temperature stress on activities of SOD and enzymes of ascorbate glutathione cycle [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2007, 34(6): 1405-1410.
- [23] 张微, 吕金印, 柳玲. 不同基因型番茄幼苗对镉胁迫的生理响应及镉吸收差异[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(6): 1065-1071.
- ZHANG Wei, LÜ Jin-yin, LIU Ling. Different of cadmium absorption and physiological responses of different varieties of tomatoes to cadmium stress [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(6): 1065-1071.
- [24] 周希琴, 李裕红. 木麻黄种子萌发对铬胁迫的生理生态响应研究[J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(1): 53-55.
- ZHOU Xi-qin, LI Yu-hong. The physiological and ecological responses of the seed germination of *Casuarina equisetifolia* to chromic stress [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2004, 12(1): 53-55.
- [25] Wang Chao, Sun Qin, Wang Li-ya. Cadmium toxicity and phytochelatin production in a rooted-submerged macrophyte *Vallisneria spiralis* exposed to low concentrations of cadmium [J]. *Environmental Toxicology*, 2009, 24(3): 271-278.
- [26] Christopher S Cobbett. Phytochelatin and their roles in heavy metal detoxification [J]. *Plant Physiology*, 2000, 123(3): 825-832.
- [27] Zeng Xiao-wen, Lena Q Ma, Qiu Rong-liang, et al. Responses of non-protein thiols to Cd exposure in Cd hyperaccumulator *Arabidopsis paniculata* Franch [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 66(3): 242-248.
- [28] 刘玉凤, 李天来, 高晓倩. 夜间低温胁迫对番茄叶片活性氧代谢及 AsA-GSH 循环的影响[J]. 西北植物学报, 2011, 31(4): 707-714.
- LIU Yu-feng, LI Tian-lai, GAO Xiao-qian. Active oxygen metabolism and Ascorbate-Glutathione cycle of tomato leaves under low nocturnal temperature [J]. *Acta Botanica Borealiorientalis Sinica*, 2011, 31(4): 707-714.
- [29] 马玉华, 马锋旺, 马小卫, 等. 干旱胁迫对苹果叶片抗坏血酸含量及其代谢相关酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2008, 36(3): 150-154.
- MA Yu-hua, MA Feng-wang, MA Xiao-wei, et al. Effects of drought stress on ascorbic acid contents and activities of related metabolic enzymes in apple leaves [J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2008, 36(3): 150-154.
- [30] 朱云集, 田文仲, 谢迎新, 等. 硫素对冬小麦旗叶抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统的影响[J]. 西北植物学报, 2010, 30(11): 2191-2196.
- ZHU Yun-ji, TIAN Wen-zhong, XIE Ying-xin, et al. Effects of sulphur ascorbic acid and glutathione circulatory system in flag leaf of winter wheat [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sinica*, 2010, 30(11): 2191-2196.