

铜胁迫和间作对玉米抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响

王晓维^{1,2}, 黄国勤^{1,2}, 徐健程^{1,2}, 聂亚平^{1,2}, 万进荣^{1,2}, 杨潇一^{1,2}, 杨文亭^{1,2*}

(1.江西农业大学作物生理生态与遗传育种教育部重点实验室, 南昌 330045; 2.江西农业大学农学院, 南昌 330045)

摘要:为探讨红壤地玉米-豌豆间作种植模式对铜污染的响应机制,通过盆栽试验,研究了不同铜浓度(0、100、200、400、600 mg·kg⁻¹)对玉米单作和玉米间作豌豆条件下植株生物量、铜含量、玉米抗氧化酶活性[超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)]及丙二醛含量(MDA)的影响。结果表明:在高 Cu²⁺浓度(600 mg·kg⁻¹)胁迫下,间作玉米地上部和地下部干重较单作分别提高了 20%和 36.6%,与单作相比,随着 Cu²⁺浓度升高(100、200、400、600 mg·kg⁻¹),间作模式下玉米地上部铜含量分别降低了 86.81%、44.57%、22.01%、11.11%,而地下部铜含量则分别提高了 78.89%、24.79%、35.29%、13.31%,且差异均达到显著水平。在不同 Cu²⁺浓度胁迫下,玉米叶和根中的 SOD、POD、CAT 活性和 MDA 含量均随着 Cu²⁺浓度的增加而提高,仅 Cu²⁺浓度达到 600 mg·kg⁻¹ 时玉米体内的 CAT 活性有所下降。间作条件下玉米根的 SOD 活性较单作提高了 48.07%~117.27%,间作玉米叶的 SOD 活性较单作提高了 11.30%~46.90%。不同种植模式对 Cu²⁺胁迫条件下的玉米 POD 活性均没有显著影响。在 Cu²⁺(0~400 mg·kg⁻¹)胁迫下,间作玉米叶的 CAT 活性较单作均显著提高,分别提高了 71.37%、140.40%、229.80%和 161.75%,间作玉米根的 CAT 活性与单作无显著差异。间作玉米根的 MDA 含量较单作降低了 26.13%~64.53%;在 100、200 mg·kg⁻¹ Cu²⁺胁迫下,间作玉米叶的 MDA 含量较单作降低了 0.30%和 26.24%,但在 400、600 mg·kg⁻¹ Cu²⁺胁迫下,间作玉米叶的 MDA 含量较单作提高了 32.62%和 93.51%。综上所述,在一定范围的 Cu²⁺胁迫条件下,玉米根和叶中的抗氧化酶活性及 MDA 含量均有所提高来维持正常生长,间作模式在 Cu²⁺胁迫下对玉米根和叶的抗氧化酶系统能起到一定的保护作用。

关键词:铜;抗氧化酶;丙二醛;间作

中图分类号:X503.231 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)10-1890-07 doi:10.11654/jaes.2014.10.003

Effects of Copper Stresses and Intercropping on Antioxidant Enzyme Activities and Malondialdehyde Contents in Maize

WANG Xiao-wei^{1,2}, HUANG Guo-qin^{1,2}, XU Jian-cheng^{1,2}, NIE Ya-ping^{1,2}, WAN Jin-rong^{1,2}, YANG Xiao-yi^{1,2}, YANG Wen-ting^{1,2*}

(1.Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding, Ministry of Education, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2.College of Agronomy, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: With industrial development, the area of arable land contaminated by heavy metals is steadily increasing around the world, especially in developing countries. Intercropping has shown the potential to phytoremediate heavy metal polluted soils. A pot experiment was conducted to explore the antioxidant responses of maize to copper (Cu) pollution in red soil under maize-pea intercropping. Five Cu concentrations (0, 100, 200, 400, 600 mg·kg⁻¹) and two cropping patterns (maize monoculture and maize-pea intercropping) were designed. Plant biomass, Cu contents, antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, POD) and MDA contents of maize were measured. Compared with those in the monoculture, the aboveground and underground dry biomass of maize in high Cu²⁺ concentration (600 mg·kg⁻¹) were increased by 20% and 36.6%, respectively, under the intercropping system. However, Cu contents in the aboveground were reduced by 86.81%, 44.57%, 22.01% and 86.81%, but root Cu increased by 78.89%, 24.79%, 35.29% and 24.79% in 100, 200, 400 mg·kg⁻¹ and 600 mg·kg⁻¹ treatments, respectively, under the intercropping system, compared with the maize monoculture. Significant difference in plant Cu was present between intercropping and monoculture. The SOD, POD, CAT activities and MDA content in leaves and roots of maize all in-

收稿日期:2014-04-23

基金项目:国家自然科学基金项目(31360108);江西省大学生创新训练计划项目(DC201307)

作者简介:王晓维(1989—),男,广东韶关人,硕士研究生,从事农业生态环境研究。E-mail:sgwxw89@163.com

*通信作者:杨文亭 E-mail:ywt111@163.com

creased with increasing Cu^{2+} concentrations. But Cu^{2+} addition at $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ caused CAT activity decrease. Compared to the monoculture, SOD activity under maize-pea intercropping increased by 48.07%~117.27% in roots and 11.30%~46.90% in leaves. Cropping patterns had no significant effect on POD activity under the same Cu^{2+} stress. In 0~400 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cu stresses, CAT activities in maize leaves were significantly increased by 71.37%, 140.40%, 229.80% and 161.75% respectively under the intercropping over the monoculture, whereas no significant difference in the CAT activities in roots was observed between two cropping systems. The intercropping practice reduced MDA contents in maize roots by 26.13%~64.53%; while intercropping caused MDA decline only at 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ but increased at 400 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and 600 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, as compared with the monoculture. In summary, intercropping could improve antioxidant enzymatic system in maize roots and leaves and thus alleviate Cu toxicity under Cu^{2+} stresses.

Keywords: copper; antioxidases; malondialdehyde; intercropping

铜既是生物生长必需的营养元素,又是一种污染元素。近几十年来,随着工农业生产的快速发展,铜的用途越来越广泛,用量也迅速增加。铜矿的过度开采,农业生产上含铜杀菌剂和畜牧业中含铜饲料的大量使用及工业生产中含铜污染物的大量排放,导致农田土壤中铜含量严重超过正常范围,铜污染已成为世界性问题^[1]。当土壤中铜含量超过一定浓度时会产生很高的植物毒性^[2],影响其生长发育及产量,同时通过富集作用累积到作物体内进入食物链对人体造成危害。如何预防和修复土壤重金属污染已成为亟须解决的重要问题。植物间作体系能够充分利用资源分布的异质性,提高资源的利用效率,将其应用于土壤重金属污染的修复,被认为是一条有效的新途径^[3]。蒋成爱等^[4]研究表明,将东南景天与不同根系植物间作,发现与玉米和大豆间作,可以显著提高东南景天地上部对 Zn、Pb、Cd 3 种重金属的吸收。王吉秀等^[5]研究表明玉米和不同蔬菜间套模式是抑制作物可食部分吸收累积重金属 Pb、Cu、Cd 含量的有效措施。在没有重金属胁迫的条件下,Xia 等^[6]田间试验表明,玉米和豆科作物(蚕豆、鹰嘴豆和大豆)间作能够减少玉米籽粒中铜元素的含量。在有重金属胁迫的条件下,玉米间作番茄也能降低玉米地上部和根系铜含量^[7]。Jiang 等^[8]将重金属超富集植物与低累积作物玉米间作,超富集植物提取重金属的效率比单种超富集植物明显提高,同时能够生产符合卫生标准的玉米产品,是一条不需要间断农业生产、较为经济合理的治理方法。Evans 等^[9]通过将豌豆 *PtMTA* 基因导入酵母菌及拟南芥中,发现豌豆该基因具有抗重金属铜功能。针对江西近年来迅猛发展的畜牧业,大量的畜禽粪污对环境的污染也是急需解决的难题,特别是饲料中大剂量使用铜、锌元素导致农田环境污染,破坏土壤质地和微生物结构,甚至影响作物产量和品质^[10]。

江西玉米种植面积达 $2.81 \times 10^4 \text{ hm}^2$,而豆类作物(大豆和豌豆为主)种植面积达到 $1.59 \times 10^5 \text{ hm}^2$ ^[11],是

江西省旱地重要的种植作物,其中亦有部分种植面积为玉米间作豆类作物。综合来看,通过作物间作来修复江西红壤铜污染可能是一种合理的植物修复方法。因此,本文以玉米和豌豆间作体系为研究对象,通过研究不同 Cu^{2+} 添加量对间作和单作玉米干重、铜含量以及根和叶中抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响,以期探讨间作模式对铜污染条件下玉米抗氧化酶系统及质膜损伤机理的影响机制,为合理利用间作修复土壤铜污染及合理的有机肥施用量提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自江西农业大学农业科技园红壤试验地表层(0~20 cm)红壤,土壤先于室内自然风干,剔除植物根系后,过 2 mm 筛备用。试验土壤基本理化性状为:pH 3.96,有机质含量 $31.34 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,全氮 $1.74 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,碱解氮 $121.33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,有效磷 $31.68 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,速效钾 $163.67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,全铜含量为 $33.52 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,有效态铜含量为 $2.31 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。供试作物玉米(*Zea mays*)品种为中糯 103,豌豆(*Pisum sativum* L.)品种为中豌 4 号,均购于南昌市种业公司。

1.2 盆栽试验与采样

本试验设置 2 种植植模式和 5 种铜浓度,共 10 个处理(表 1),每处理重复 3 次,共 30 盆。盆钵高 7.5 cm,盆口直径 5 cm,每盆装土 250 g。于 7 月 30 日按每千克土壤 0、100、200、400、600 mg 铜离子量添加铜溶液($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,分析纯),平衡 45 d。9 月 4 日进行玉米和豌豆育苗,9 月 16 日移栽,玉米每盆定植 1 株;间作豌豆每盆定植 2 株。自播种之日起,每 3 d 用 30 mL Hoagland 营养液(四水硝酸钙 $945 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,硝酸钾 $506 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,硝酸铵 $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,磷酸二氢钾 $136 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,硫酸镁 $493 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,铁盐溶液 2.5 mL, pH 6.0,蒸馏水)浇灌,以保证玉米和豌豆生长及土壤水分。11 月 5

表1 铜污染盆栽实验设计

Table 1 Pot experiment design for copper pollution

处理 Treatments	种植方式 Cropping patterns	铜离子浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Copper ion concentration
SCu0	单作玉米 Maize monoculture cropping	0
SCu1		100
SCu2		200
SCu3		400
SCu4		600
ICu0	玉米-豌豆间作 Maize-pea intercropping	0
ICu1		100
ICu2		200
ICu3		400
ICu4		600

日进行取样,取样时沿土面将玉米地上部和地下部分离,以去离子水将玉米和豌豆植株洗净,分别称取去除叶脉后叶片和及白根各 0.2 g 用于测定抗氧化酶活性及丙二醛含量,剩余部分称鲜重后 105 ℃杀青 30 min,70 ℃烘干至恒重,根据折干率换算用于测定酶活及丙二醛含量的植株样品干重。利用湿式消解法处理植株样品,原子吸收分光光度法测定植株中的铜含量。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 粗酶液的制备

分别剪取各处理玉米根系和叶片(去除叶脉)0.3 g 置于预冷的研钵中,加入 50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH7.8 的磷酸缓冲液 5 mL(内含 2%聚乙烯吡咯烷酮)研磨匀浆,4 ℃ 10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 0.5 h,上清即为酶粗提液。

1.3.2 超氧化物歧化酶(Super oxide dismutase, SOD)活性的测定

利用 SOD 对氮蓝四唑(NBT)的光抑制作用来测定^[12]。在试管中分别加入不同体积的 0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH7.8)、0.13 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Met 溶液、0.75 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NBT 溶液、0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 EDTA- Na_2 溶液、0.02 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的核黄素溶液、粗酶液和蒸馏水,混匀后把其中一支对照管遮光,与其他各管同时置于 4000 lx 的日光灯下反应 20 min,用黑布罩上试管终止反应。以遮光的对照管作为空白调零,在 560 nm 波长下测定各管的吸光度。

1.3.3 过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性的测定

利用愈创木酚法测定^[12]。取粗酶液 0.5 mL 于试管中,加入 0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液(pH7.8)1.5 mL,25 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 愈创木酚 0.5 mL,0.2 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ H_2O_2 0.5 mL,摇匀立即计时 3 min,每隔 1 min 读数一次,以 0.5 mL

0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液替代粗酶液 470 nm 下调零。

1.3.4 过氧化氢酶活性(Catalase, CAT)的测定

利用紫外吸收法测定^[12]。取粗酶液 0.05 mL 于试管中,加入 0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液(pH7.0)3 mL,0.2 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2O_2 0.05 mL,摇匀立即计时 3 min,每隔 30 s 读数一次,以 0.5 mL 0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液替代粗酶液 470 nm 下调零。

1.3.5 丙二醛含量(Malondialdehyde, MDA)测定

利用硫代巴比妥酸法测定^[12]。取粗酶液 1 mL 于试管中,加入 0.5%硫代巴比妥酸 2 mL 混匀后,沸水浴 20 min 立即放于冰水浴中,冷却后 3000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,于 532、600、450 nm 比色,以 0.5%硫代巴比妥酸为空白。

1.3.6 植株铜含量测定

植物样品采用硝酸-高氯酸消煮,用火焰原子吸收分光光度法测定^[13]。

1.4 数据统计

用 Microsoft Excel 2010 进行数据处理,SPSS 17.0 统计软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 铜胁迫和间作对玉米和豌豆干重的影响

从表 2 来看,两种种植模式下,玉米干重均随着铜浓度升高而降低,当铜浓度达到 Cu4 时干重达到最小,与对照干重存在显著差异,其他各浓度处理均与对照无显著差异。铜胁迫对豌豆干重的影响与玉米表现一致,当铜浓度达到 Cu2 时,与对照不存在显著差异,Cu3 和 Cu4 处理干重均与对照存在显著差异,铜浓度达到 Cu4 时,豌豆干重最小,且 Cu2 与 Cu4 之间豌豆干重存在显著差异。

与单作相比,间作地上部与地下部的干物质累积量表现较为一致。Cu0~Cu2 胁迫的间作玉米地上部干重较单作分别降低了 22.32%、16.37%、26.03%,而 Cu3 胁迫的间作地上部干重则与单作持平,当铜胁迫达到 Cu4 时,间作玉米地上部干重较单作提高了 16.67%,但差异均未达到显著水平。在 Cu0~Cu2 胁迫下间作玉米地下部较单作分别降低了 23.65%、11.13%、4.22%,Cu3 胁迫下间作地上部干重则与单作持平,当铜浓度胁迫达到 Cu4 时,间作玉米地上部干重较单作提高了 24.47%,但差异均未达到显著水平。这说明高浓度铜胁迫下,间作模式对玉米生长有一定的保护作用,且对地下部的促进作用高于地上部。

从植株铜元素含量看(表 2),与单作相比,不同铜

表 2 铜胁迫与间作对玉米及豌豆干重及玉米铜含量的影响

Table 2 Effects of copper stress and intercropping on dry weight of maize and peas and maize Cu content

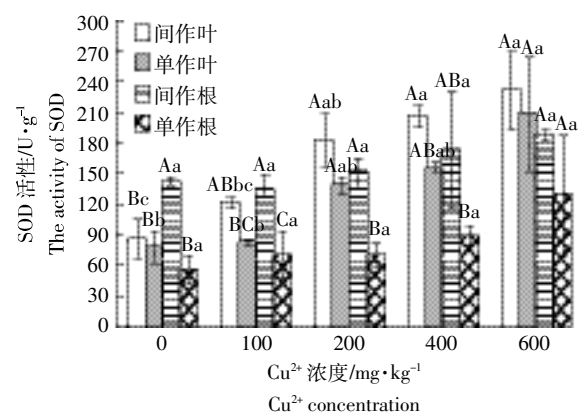
处理 Treatment	玉米单作 Maize monoculture cropping		玉米-豌豆间作 Maize-pea intercropping		玉米单作与玉米-豌豆间作铜含量差值 Copper content differences between maize monoculture and maize-peas intercropping		豌豆干重/g Dry biomass of peas
	地上部干重/g Dry biomass of aboveground part	地下部干重/g Dry biomass of underground part	地上部干重/g Dry biomass of aboveground part	地下部干重/g Dry biomass of underground part	地上部/mg·kg ⁻¹ Aboveground	地下部/mg·kg ⁻¹ Underground	
Cu0	0.57±0.06a	0.38±0.03a	0.46±0.02a	0.31±0.06a	0.03±0.00e	-0.03±0.00d	6.14±0.56a
Cu1	0.45±0.14ab	0.27±0.09ab	0.39±0.05ab	0.24±0.01ab	0.30±0.00a	-0.23±0.00c	4.79±0.13ab
Cu2	0.40±0.12ab	0.25±0.10ab	0.32±0.04ab	0.24±0.03ab	0.21±0.00b	-0.28±0.00 b	3.98±0.66bc
Cu3	0.26±0.04ab	0.20±0.04ab	0.26±0.06ab	0.20±0.08ab	0.09±0.00c	-0.37±0.00a	2.77±0.20cd
Cu4	0.20±0.10b	0.11±0.03b	0.24±0.08b	0.15±0.02b	0.06±0.00d	-0.27±0.00b	1.94±0.49d

注:同列不同小写字母表示各处理间差异显著($P<0.05$)。
Note: Values with different small letters within a column indicate significant differences ($P<0.05$).

浓度胁迫下(Cu1~Cu4),间作模式均降低了玉米地上部铜含量,分别降低了86.81%、44.57%、22.01%、11.11%;但一定程度上提高了玉米地下部的铜含量,分别提高78.89%、24.79%、35.29%、13.31%。不同铜浓度胁迫下,间作模式玉米植株地上部铜含量与单作的差值存在显著差异,但二者差值随着铜浓度升高而减小,在Cu4胁迫下差值最小;间作模式下玉米植株地下部铜含量与单作的差值也存在显著差异,但二者差值随着铜浓度升高而增大,在Cu3胁迫下差值达到最大,而Cu4胁迫可能由于铜浓度过高,导致间作玉米与单作差值减小,但与对照相比差异显著。

2.2 铜胁迫和间作对玉米 SOD 活性的影响

SOD 是生物体内超氧阴离子自由基的清除剂,能有效地防止它们对生物体的损害,参与植物体对重金属胁迫所做出的各种生理生化反应,是植物体内一种很重要的抗氧化酶类^[14]。由图 1 可以看出,无论玉米单作还是间作,玉米根或叶的 SOD 活性均表现为随着土壤中铜浓度增加逐渐升高,在 Cu4 时,SOD 活性达到最高值,与田胜尼等^[15]通过盆栽实验研究铜对鸭跖草 SOD 活性的影响有较为一致的结果。在高浓度 Cu²⁺处理下,重金属参与植物体内的氧化还原循环,引起活性氧的变化,在一定浓度范围内活性氧作为信号分子可提高 SOD 活性。随着铜离子浓度的上升,间作模式中玉米叶的 SOD 活性均有一定的提高。与对照(ICu0)相比,ICu1 处理的玉米叶 SOD 活性无显著增加,而 ICu2、ICu3 和 ICu4 的玉米叶 SOD 活性均有显著提高,但 3 个 Cu²⁺浓度之间没有显著差异。对于玉米单作来说,与对照(SCu0)相比,只有 SCu4 玉米叶 SOD 活性有显著提高。不同浓度 Cu²⁺胁迫



不同大写字母表示同一浓度下两种种植模式根和叶存在显著差异($P<0.05$),不同小写字母表示同一种植模式下相同玉米器官,在不同铜浓度下存在显著差异($P<0.05$)。下同
Activities with different capital letters at the same cropper concentration indicate significant differences in leaves or roots between two cropping patterns at $P<0.05$; Activities with different lowercase letters in the same cropping pattern and the same maize tissue indicate significant differences between different copper concentrations at $P<0.05$. The same as below

图 1 铜胁迫与间作对玉米 SOD 活性的影响

Figure 1 Effects of copper stresses and intercropping on SOD activity in leaves and roots of maize

对玉米根的 SOD 活性均不存在显著影响。

在相同浓度的 Cu²⁺胁迫下,不同种植模式下的玉米 SOD 活性也表现了一定的差异。在 Cu0 中,间作模式下玉米根的 SOD 活性显著高于单作玉米根,活性提高了 167.36%,但间作模式的玉米叶 SOD 活性与单作模式的无显著差异。Cu1 和 Cu2 的结果比较一致,间作玉米根的 SOD 活性均显著高于单作玉米根,分别提高了 97.61%和 117.27%,间作玉米叶 SOD 活

性较单作也有一定的增加趋势,但无显著差异。 Cu3 和 Cu4 处理,间作玉米叶和根的SOD活性均高于单作玉米,但差异不显著。在 Cu^{2+} 胁迫下,间作模式在一定程度上影响了玉米叶和根的SOD活性,提高了玉米对 Cu^{2+} 胁迫的适应能力。

2.3 铜胁迫和间作对玉米 POD 活性的影响

POD是植物体内酶促防御系统的一种保护酶,能有效催化过氧化氢分解成水,从而有效阻止过氧化氢在植物体内的累积,排除其对植物细胞膜结构的潜在伤害^[16]。从图2可以看出,无论是单作还是间作玉米根和叶的POD活性均表现为一致的趋势,随着 Cu^{2+} 浓度升高,玉米POD活性逐渐增强,在 Cu4 时玉米POD活性达到最高值。在间作条件下,与 Cu0 相比, Cu1 的玉米叶POD活性无显著差异,但 Cu2 、 Cu3 、 Cu4 的玉米叶POD活性均有显著提高,分别提高了341.48%、380.92%和411.85%;玉米根的POD活性,仅 Cu4 时与 Cu0 相比提高了120.03%,差异达到显著水平。单作条件下,与 Cu0 相比,玉米叶和根的POD活性随着 Cu^{2+} 浓度升高均有提高,仅 Cu4 时达到显著水平,分别提高了94.45%和105.35%。

在相同浓度的 Cu^{2+} 胁迫下,玉米单作和间作模式下的POD活性存在一定的差异。在 Cu0 中,相比玉米单作,间作模式显著降低了玉米叶的POD活性,降低了158.77%,但间作模式下的玉米根SOD活性无显著差异。在有 Cu^{2+} 胁迫时,相比玉米单作,间作模式下玉米叶POD活性有一致的增加趋势,间作模式下玉米根的POD活性在 Cu1 和 Cu2 时有降低的趋势,但在 Cu3 和 Cu4 时有增大的趋势,在 Cu4 时达到最大。种植模式在 Cu^{2+} 胁迫的条件下对玉米POD活性没有显著影响,但没有 Cu^{2+} 胁迫时间作模式显著降低了玉

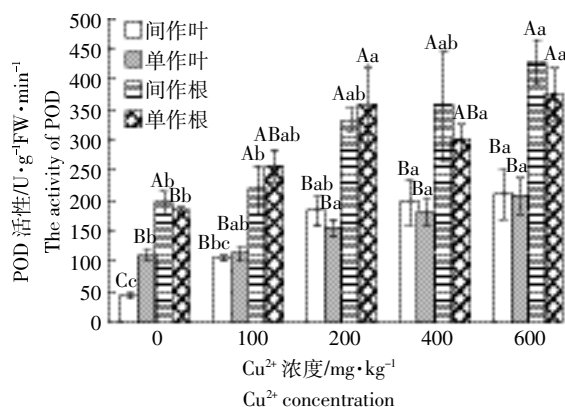


图2 铜胁迫与间作对玉米POD活性的影响

Figure 2 Effects of copper stresses and intercropping on POD activity in leaves and roots of maize

米叶POD活性。在 Cu0 、 Cu1 、 Cu2 时间作模式能在一定程度上缓解重金属铜对玉米的胁迫。

2.4 铜胁迫和间作对玉米CAT活性的影响

CAT与过氧化氢具有较高的亲和力,主要清除线粒体电子传递、脂肪酸氧化过程中产生的过氧化氢,其含量变化是植物体内过氧化氢在体内变化的标志性反应^[17-18]。由图3可以看出,当 Cu^{2+} 浓度为 Cu0 ~ Cu3 时,随着 Cu^{2+} 浓度的提高,间作玉米叶的CAT活性逐渐升高, Cu3 时CAT活性达到最大。随着 Cu^{2+} 浓度的继续提高,CAT活性逐渐降低,与其他浓度处理的CAT活性存在显著差异,呈现典型的单峰变化趋势。当 Cu^{2+} 浓度在 Cu0 ~ Cu2 范围时,间作玉米根和单作玉米叶的CAT活性逐渐下降, Cu2 时CAT活性达到最小;当 Cu3 时间作玉米根和单作玉米叶的CAT活性上升, Cu^{2+} 浓度超过 $400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后,玉米CAT活性迅速下降。单作玉米根的CAT活性随着 Cu^{2+} 浓度的上升而逐渐降低,但 Cu4 时单作根的CAT活性最低,明显低于其他浓度处理的CAT活性。

在相同浓度的 Cu^{2+} 胁迫下,玉米单作和间作模式下的CAT活性表现出较为一致的规律。 Cu4 时玉米间作和单作叶CAT活性无显著差异,其余 Cu^{2+} 浓度(Cu0 、 Cu1 、 Cu2 、 Cu3)胁迫下,均表现为间作玉米叶CAT活性均显著高于单作,分别提高了71.37%、140.40%、229.80%和161.75%。在中低浓度 Cu^{2+} 胁迫下(Cu0 ~ Cu2)均表现为单作玉米根CAT活性高于间作,当 Cu^{2+} 浓度达到 Cu3 ~ Cu4 时,则表现为间作玉米根CAT活性高于单作,且差异均达到显著水平。上述结果表明,在较低浓度的 Cu^{2+} 胁迫下,间作模式有利于提高玉米叶适应 Cu^{2+} 胁迫环境,过高浓度的 Cu^{2+} 胁迫,破坏了玉米的CAT活性。

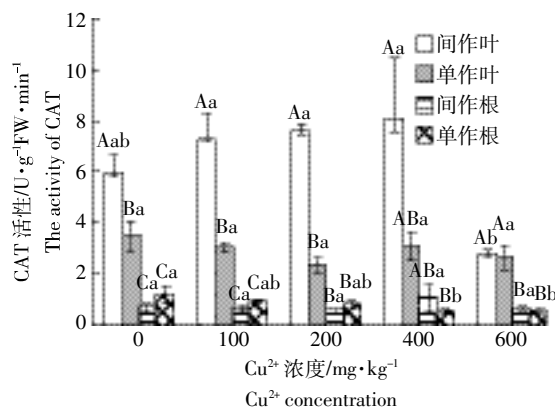


图3 铜胁迫与间作对玉米CAT活性的影响

Figure 3 Effects of copper stresses and intercropping on CAT activity in leaves and roots of maize

2.5 铜胁迫和间作对玉米 MDA 含量的影响

MDA 是膜脂氧化的最终分解产物,是植物细胞膜质过氧化程度的体现,其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度^[19]。丙二醛含量高,说明植物细胞膜质过氧化程度高,细胞膜受到的伤害严重。从图 4 可以看出,间作叶和单作根的 MDA 含量随着 Cu^{2+} 浓度的上升而逐渐上升,但各处理之间没有显著差异。在低浓度时($\text{Cu}0$ 、 $\text{Cu}1$),单作玉米叶的 MDA 含量随着 Cu^{2+} 浓度的升高而增加, $\text{Cu}2$ 、 $\text{Cu}3$ 时 MDA 含量随着 Cu^{2+} 浓度的上升而下降, $\text{Cu}4$ 时 MDA 含量达到最大值,但各处理之间无显著差异。

在相同浓度的 Cu^{2+} 胁迫下,玉米单作和间作模式下的 MDA 含量表现出较为一致的规律。在 $\text{Cu}0$ ~ $\text{Cu}2$ 时,叶中 MDA 含量均表现为单作高于间作,而 $\text{Cu}3$ ~ $\text{Cu}4$ 时,则表现为间作高于单作,但两种模式比较,玉米 MDA 含量均无显著差异。根中 MDA 含量均表现为单作高于间作,在 $\text{Cu}0$ ~ $\text{Cu}1$ 时,两种种植模式下玉米根的 MDA 含量均无显著差异,而 $\text{Cu}2$ ~ $\text{Cu}4$ 时均表现为单作玉米根 MDA 含量显著高于间作玉米,分别提高了 181.93%、120.50% 和 142.27%。

3 讨论

铜是植物生长必需元素,植物体可作为多种酶的辅基,且对非催化蛋白质也具有很强的亲和力。当铜含量超过一定限度时,则会对植物生长、呼吸、光合等生理过程产生明显的抑制作用,直接或间接启动膜质的过氧化作用,导致膜的损伤和叶绿素分解。而植物亦可通过累积脯氨酸、增强抗氧化酶活性等方式来提高自身对铜的抵抗能力^[20]。综合来看,玉米间作豌豆受盆栽空间所限,由于种间竞争,在低浓度 Cu^{2+} 胁迫下

反而降低了玉米的干重,而高浓度 Cu^{2+} 胁迫下,种间竞争减小,间作优势体现在玉米干物质累积量。高浓度的 Cu^{2+} 胁迫致使玉米叶中的超氧自由基含量升高,导致 SOD 活性上升,催化超氧自由基转变为 H_2O_2 ,与金进等^[21]研究结果较为一致。 Cu^{2+} 处理下间作玉米叶和根的 SOD 活性均高于单作玉米,可能是由于间作模式下,两种作物根系分泌物,尤其是豌豆分泌的有机酸可能活化土壤中的铜,使得土壤有效态铜含量升高,促进了玉米对 Cu^{2+} 的吸收。当较多的 Cu^{2+} 进入玉米后,致使玉米体内的超氧自由基含量高于单作,而 SOD 为超氧自由基清除剂,进而增强 SOD 活性来清除过多的超氧自由基,故表现为间作模式下玉米 SOD 活性高于单作玉米。POD 活性与 SOD 活性表现出较为一致的规律,SOD 将超氧自由基氧化成 H_2O_2 ,随着 H_2O_2 含量不断升高,POD 和 CAT 活性也呈现上升趋势,这是玉米体内的一种自我保护机制^[22]。随着 Cu^{2+} 胁迫的加剧($600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),CAT 活性开始呈现下降趋势,表明玉米体内的保护性酶系统可能开始受到破坏,由 SOD 催化产生的 H_2O_2 已无法进一步分解,使得 H_2O_2 在玉米体内大量累积, H_2O_2 成为玉米体内胁迫的主要物质。而 POD 具有双重性,既能催化 H_2O_2 与其他底物进行氧化反应而被清除,又能催化超氧自由基和 H_2O_2 转变为羟自由基而加重过氧化作用^[23]。在高浓度 Cu^{2+} 胁迫下玉米体内产生 H_2O_2 及过氧化物,POD 活性上升,可能导致羟自由基增多,引起叶片膜脂过氧化加剧,使得 MDA 含量增加^[24]。

4 结论

(1)高浓度 Cu^{2+} 胁迫下,玉米间作豌豆能提高玉米地上部和地下部的干物质累积量,从而保持玉米在高浓度 Cu^{2+} 胁迫下的生长。

(2)与单作相比,间作模式显著降低了玉米地上部铜含量,而显著提高了玉米地下部铜含量,且随着铜浓度的升高,二者之间的差值呈下降趋势。

(3)在一定范围内的 Cu^{2+} 胁迫下,玉米体内的 SOD、POD、CAT 活性和 MDA 含量均随着 Cu^{2+} 胁迫浓度的增加而提高,但 Cu^{2+} 浓度达到 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,玉米体内的 CAT 活性有所下降。

(4)相同的 Cu^{2+} 浓度胁迫下,与单作相比,玉米间作豌豆能增强玉米叶和根中的 SOD 和 CAT 活性。在高浓度 Cu^{2+} 胁迫下,提高了间作玉米根的 POD 活性,降低了间作玉米根中 MDA 含量和质膜氧化损伤程度。

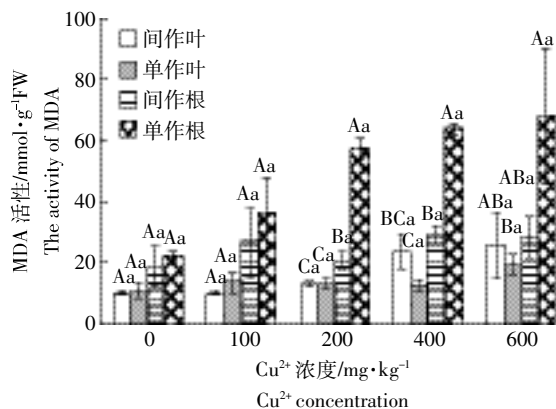


图 4 铜胁迫与间作对玉米 MDA 含量的影响

Figure 4 Effects of copper stresses and intercropping on MDA content in leaves and roots of maize

参考文献:

- [1] 张文韬, 黄保健, 郭世荣, 等. 铜对空心菜光合作用及保护酶活性的影响[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(2):303-307.
ZHANG Wen-tao, HUANG Bao-jian, GUO Shi-rong, et al. Effects of copper on photosynthesis and protective enzyme activities of *Ipomoea aquatica* Forsk[J]. *Jiangsu Agricultural Science*, 2010, 26(2):303-307.
- [2] Bona E, Marsano F, Cavaletto M, et al. Proteomic characterization of copper stress response in *Cannabis sativa* roots[J]. *Proteomics*, 2007, 7(7): 1121-1130.
- [3] 卫泽斌, 郭晓方, 丘锦荣, 等. 间套作体系在污染土壤修复中的应用研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(增刊):267-272.
WEI Ze-bin, GUO Xiao-fang, QIU Jin-rong, et al. Innovative technologies for soil remediation: Intercropping or co-cropping[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(Suppl):267-272.
- [4] 蒋成爱, 吴启堂, 吴顺辉, 等. 东南景天与不同植物混作对土壤重金属吸收的影响[J]. 中国环境科学, 2009, 29(9):985-990.
JIANG Cheng-ai, WU Qi-tang, WU Shun-hui, et al. Effect of co-cropping *Sedum alfredii* with different plants on metal uptake[J]. *China Environmental Science*, 2009, 29(9):985-990.
- [5] 王吉秀, 祖艳群, 李元, 等. 玉米和不同蔬菜间套模式对重金属 Pb、Cu、Cd 累积的影响研究[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(11):2168-2173.
WANG Ji-xiu, ZU Yan-qun, LI Yuan, et al. Effects of maize and vegetable intercropping system on accumulation of Pb, Cu and Cd in plants[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(11):2168-2173.
- [6] Xia H Y, Zhao J H, Sun J H, et al. Maize grain concentrations and above-ground shoot acquisition of micronutrients as affected by intercropping with turnip, faba bean, chickpea, and soybean[J]. *Science China Life Sciences*, 2013, 56(9):823-834.
- [7] An L Y, Pan Y H, Wang Z B, et al. Heavy metal absorption status of five plant species in monoculture and intercropping[J]. *Plant and Soil*, 2011, 345(1-2):237-245.
- [8] Jiang C A, Wu Q T, Sterckeman T, et al. Co-planting can phytoextract similar amounts of cadmium and zinc to mono-cropping from contaminated soils[J]. *Ecological Engineering*, 2010, 36:391-395.
- [9] Evans K, Gatehouse J, Lindsay W, et al. Expression of the pea metallothionein-like gene *PbMTA* in *Escherichia coli* and *Arabidopsis thaliana* and analysis of trace metal ion accumulation; Implications for *PbMTA* function[J]. *Plant Molecular Biology*, 1992, 20(6):1019-1028.
- [10] 袁玲花, 徐加宽, 颜士敏, 等. 土壤铜胁迫对不同粒型水稻品种产量和品质的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2):435-441.
YUAN Ling-hua, XU Jia-kuan, YAN Shi-min, et al. Effects of soil Cu stress on grain yield and quality of indica rice cultivars[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2):435-441.
- [11] 江西省统计局. 江西统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2013.
Statistic Bureau of Jiangxi. Jiangxi statistical year book[M]. Beijing: China Statistic Press, 2013.
- [12] 张志良, 瞿伟菁, 李小芳. 植物生理学实验指导[M]. 四版. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第三版. 北京: 高等教育出版社, 2008.
BAO Shi-dan. Soil Agricultural Chemistry Analysis[M]. Third edition, Beijing: Higher Education Press, 2008.
- [14] Rosenbaugh E G, Manickam D S, Batrakova E V, et al. Neuronal uptake and subcellular localization of functional nanoformulated copper/zinc superoxide dismutase (SOD nano)[J]. *The FASEB Journal*, 2012, 26: 893. 2.
- [15] 田胜尼, 彭少麟, 张玉琼, 等. 铜胁迫对鸭跖草的生长及生理特性的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(9):144-147.
TIAN Sheng-ni, PENG Shao-lin, ZHANG Yu-qiong, et al. The effects of copper stresses on the growth and physiological characteristics for *Commelina communis* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(9):144-147.
- [16] 王松华, 张华, 何庆元. 铜胁迫对紫花苜蓿幼苗叶片抗氧化系统的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(9):2285-2290.
WANG Song-hua, ZHANG Hua, HE Qing-yuan. Effects of copper stress on *Medicago sativa* seedlings leaf antioxidative system[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(9):2285-2290.
- [17] R Doctrow S, Liesa M, Melov S, et al. Salen Mn complexes are superoxide dismutase/catalase mimetics that protect the mitochondria[J]. *Current Inorganic Chemistry*, 2012, 2(3):325-334.
- [18] Jessica E S. Nanoceria exhibit redox state-dependent catalase mimetic activity[J]. *Chemical Communications*, 2010, 46(16):2736-2738.
- [19] Weismann D, Hartvigsen K, Lauer N, et al. Complement factor H binds malondialdehyde epitopes and protects from oxidative stress[J]. *Nature*, 2011, 478(7367):76-81.
- [20] Dong Y J, Xu L L, Wang Q H, et al. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidative ability, and mineral element contents of perennial ryegrass under copper stress[J]. *Journal of Plant Interactions*, 2014, 9(1):402-411.
- [21] 金进, 叶亚新, 李丹, 等. 重金属铜对玉米的影响[J]. 玉米科学, 2006, 14(3):83-86.
JIN Jin, YE Ya-xin, LI Dan, et al. Effect of heavy metal (copper) coercion on maize[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2006, 14(3):83-86.
- [22] Vural H, Demirin H, Kara Y, et al. Alterations of plasma magnesium, copper, zinc, iron and selenium concentrations and some related erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with Alzheimer's disease[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2010, 24(3): 169-173.
- [23] Thounaojam T C, Panda P, Mazumdar P, et al. Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 53:33-39.
- [24] Drązkiewicz M, Skórzyńska-Polit E, Krupa Z. Copper-induced oxidative stress and antioxidant defence in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Biometals*, 2004, 17(4):379-387.