

# 硒对菠菜抗氧化系统及过氧化氢含量的影响

李登超<sup>1,2</sup> 朱祝军<sup>1,\*</sup> 徐志豪<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 浙江大学园艺系, 杭州 310029; <sup>2</sup> 浙江林学院科技处, 临安 311300; <sup>3</sup> 浙江省农业科学院园艺研究所, 杭州 310021)

**摘 要:** 研究了不同浓度硒对菠菜的生长、超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、过氧化氢酶 (CAT)、脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 等酶活性以及抗坏血酸 (AsA)、过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 含量的影响。结果表明: 低浓度硒 ( $0.1\text{ mg L}^{-1}$ ) 促进了菠菜的生长, 而高浓度硒 ( $1.0\text{ mg L}^{-1}$ ) 抑制生长; 低浓度硒提高了 SOD、CAT 及 GSH-PX 活性, 而 APX 和 DHAR 活性则随硒浓度的升高而降低; AsA 含量随硒浓度的增加而减少,  $H_2O_2$  含量先随硒浓度的增加而下降, 但在高硒浓度时又上升。总之, 适量的硒处理能增强菠菜的抗氧化能力, 增加产量。

**关键词:** 菠菜; 硒; 抗氧化作用; 抗坏血酸; 过氧化氢

**中图分类号:** S 636.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2002) 06-0547-04

硒作为人体必需的微量元素具有多种有益的生物学功能<sup>[1]</sup>。自由基理论证实生物代谢产生的活性氧 (AOS) 在体内积累是导致衰老及多病的重要原因之一<sup>[2]</sup>。目前硒的抗衰老作用已应用于抗衰老食品中<sup>[3]</sup>。近年来已初步证实含硒的谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 存在于高等植物中, 是抗氧化及抗衰老的保护性酶之一<sup>[4]</sup>。本试验以菠菜为试材, 从产量、抗氧化系统及  $H_2O_2$  含量等方面探讨了硒在植物体内的作用及其对抗氧化系统的影响, 以期合理开发富硒蔬菜等提供理论依据和科学指导。

## 1 材料与方 法

试材为杭州市金科种苗公司提供的圆叶菠菜 (*Spinacia oleracea* L.)。试验于 2000 年 3~5 月在浙江大学园艺系温室内进行。3 月 7 日将温水浸泡过的种子播于育苗盘内, 基质为珍珠岩。4 月 2 日菠菜幼苗第 3 片真叶初展时将其移入 10 L 的塑料箱内, 缓苗 7 d 后, 选大小一致的移入 5 L 的塑料桶内, 同时做硒处理。硒浓度分别为 0、0.05、0.1、0.5、 $1.0\text{ mg L}^{-1}$ 。每个处理 4 盆, 每盆 4 株, 随机排列。每周更换 1 次营养液, 基础营养液按 Hoagland 配方, 以  $Na_2SeO_3$  形式供硒。试验期间, 日最高光照强度为  $850\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ , 白天气温  $20\sim 26\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 夜间气温  $10\sim 15\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 整个试验过程用电动供气泵全天供气。收获前 1 天, 自上而下取完全展开的第 2 片功能叶分别测其酶活性及其它生理指标。4 月 29 日一次性采收, 分别记录其鲜样质量, 烘箱  $50\sim 55\text{ }^{\circ}\text{C}$  烘干后分别记录其干样质量。

SOD (超氧化物歧化酶) 活性测定参照何宇炯等<sup>[5]</sup>的方法; CAT (过氧化氢酶) 活性测定参照 Cakmak 法<sup>[6]</sup>; APX (抗坏血酸过氧化物酶) 及 DHAR (脱氢抗坏血酸还原酶) 参照 Nakano 方法<sup>[7]</sup>; GSH-PX 活性参照 Elleman 及郭静成等 DTNB 显色法<sup>[8,9]</sup>测定。AsA 含量参照 Tanaka 等人的方法<sup>[10]</sup>测定;  $H_2O_2$  含量参照陈拓等<sup>[11]</sup>方法测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度硒对菠菜生长的影响

由表 1 可以看出, 低浓度硒 ( $0.1\text{ mg L}^{-1}$ ) 促进了菠菜的生长, 增加了产量, 其中以浓度 0.05

收稿日期: 2001-10-19; 修回日期: 2002-06-12

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目

\*通讯作者: zhjzhu@zju.edu.cn。

$\text{mg L}^{-1}$ 处理生长最佳,鲜样质量与干样质量分别比对照增加了 32.90 % 和 33.20 %。高浓度硒 ( $1.0 \text{ mg L}^{-1}$ ) 则抑制了菠菜的生长,鲜样质量与干样质量分别比对照降低了 11.90 % 和 5.77 %,说明硒对菠菜的生长存在剂量效应。

表 1 不同浓度硒对菠菜生长的影响

Table 1 The effect of different concentrations of selenium on the growth of spinach

硒浓度 Se concentration ( $\text{mg L}^{-1}$ )	单盆鲜样质量 Fresh mass (g)	增加 Increment (%)	单盆干样质量 Dry mass (g)	增加 Increment (%)
0	147.31 $\pm$ 4.78B	0	10.45 $\pm$ 0.36C	0
0.05	195.71 $\pm$ 12.59A	32.90	13.91 $\pm$ 0.18A	33.20
0.1	152.93 $\pm$ 7.55B	3.81	11.80 $\pm$ 0.58B	12.90
0.5	139.40 $\pm$ 2.08BC	- 5.37	10.67 $\pm$ 0.16C	2.10
1.0	129.84 $\pm$ 5.69C	- 11.90	9.85 $\pm$ 0.43C	- 5.77

注: 经邓肯氏新复极差法显著性测定, 大写字母为差异达到 0.01 极显著水平。

Note: Different capital letters in each column indicate that the values are significant difference at 0.01 level by Duncan's multiple range test.

## 2.2 不同浓度硒对菠菜 SOD、CAT、APX 活性的影响

由图 1 可以看出, 加硒处理均提高了 SOD 活性, 其中以  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  处理为最高, 比对照提高了 29.9 %。加硒处理均提高了 CAT 活性, 0.05、0.1、0.5、 $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  硒处理 CAT 活性分别比对照提

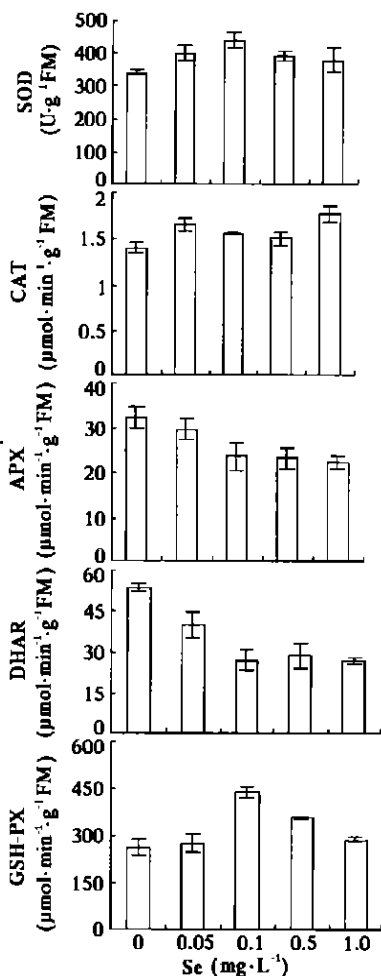


图 1 不同浓度硒对菠菜 SOD、CAT、APX、DHAR 及 GSH-PX 活性的影响

Fig. 1 The effect of different concentrations of selenium on the activities of SOD, CAT, APX, DHAR and GSH-PX in spinach

高了 18.4 %、10.5 %、6.97 % 和 25.9 %。加硒处理明显降低了 APX 的活性, 且随着硒浓度的升高, 活性逐渐降低。

## 2.3 不同浓度硒对 DHAR、GSH-PX 活性的影响

如图 1 所示, 加硒处理明显降低了 DHAR 的活性, 0.05、0.1、0.5、 $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  硒处理分别比对照降低了 25.3 %、49.7 %、47.1 %、50.1 %。加硒处理后增强了 GSH-PX 活性, 其中以  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  处理为最高。

## 2.4 不同浓度硒对菠菜 AsA、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 含量的影响

AsA 不仅是叶绿体中 APX 清除  $\text{H}_2\text{O}_2$  的专一性电子供体, 而且是一种重要的抗氧化剂, 参多种 AOS 的清除<sup>[12]</sup>。由图 2 可以看出, 与未加硒处

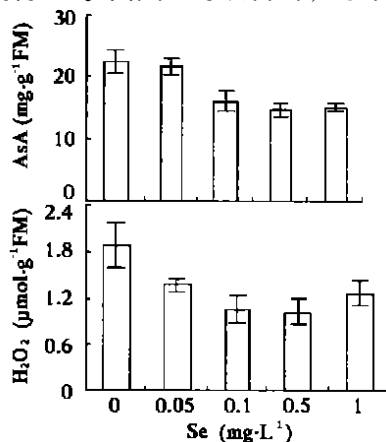


图 2 不同浓度硒对菠菜抗坏血酸 (AsA) 及过氧化氢 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 含量的影响

Fig. 2 The effect of different concentrations of selenium on the contents of AsA and  $\text{H}_2\text{O}_2$  in spinach

理相比, 加硒后均降低了 AsA 含量, 且随着硒浓度的升高, AsA 含量逐渐降低, 0.05、0.1、0.5、1.0 mg L<sup>-1</sup> 硒处理分别比对照降低了 3.33%、27.7%、33.6%、32.1%。

另外可以看出, 在适度范围内, 加硒处理明显降低了 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的含量, 各加硒处理分别比对照降低了 26.4%、43.1%、43.7% 和 30.7%, 经统计分析, 均达到极显著水平。

### 3 讨论

适量浓度硒 (0.1 mg L<sup>-1</sup>) 处理促进了菠菜的生长, 而高浓度硒 (1.0 mg L<sup>-1</sup>) 则抑制了植株的生长, 可能是由于适量硒进入体内提高了某些抗氧化酶活性, 增强了植株体内的抗氧化能力; 而高浓度硒处理, 可能由于硒取代了 SH- 中的硫, 影响了正常的蛋白质代谢, 从而抑制了某些酶的生理活性, 表现为抑制了生长, 降低了产量。

含硒的 GSHPX 是动物必需的酶, 但是否为植物所必需还未定论。GSHPX 对 GSH 具有高度的特异性, 能特异地催化 GSH 与过氧化物 (如 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ROOH 等) 的氧化还原反应 (GSH + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → GSSG + H<sub>2</sub>O; GSH + ROOH → GSSG + ROH + H<sub>2</sub>O)<sup>[12]</sup>。本试验研究结果表明, GSHPX 活性随硒处理浓度的增加表现为先升后降的趋势。这与小麦、水稻、丝瓜、黄瓜、大白菜等萌发种子和幼苗<sup>[9]</sup>以及油菜幼苗<sup>[16]</sup>中的试验结果一致。说明 GSHPX 在高等植物中可能也广泛存在, 且硒对体内该酶的活性存在剂量效应, 在一定的硒浓度内, 硒促进了该酶的活性, 而超过一定硒浓度, 植物产生毒害, 生长受到抑制, 该酶活性下降。加硒后 APX、DHAR 的活性均明显地降低。其原因可能是由于加硒激活了 GSHPX, 清除了较多的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 GSH, 使 APX、DHAR 催化反应的底物减少, 机体对 APX、DHAR 的需求相对降低, 从而导致 APX、DHAR 活性下降。DHAR 活性下降, 导致 AsA 的再生能力下降, 从而使 AsA 含量明显减少。但 AsA-GSH 循环不仅需要 AsA 及 GSH 等电子供体, 还需要还原力 NADPH 和 H<sup>+</sup>, 所以硒对该循环的影响还有待于进一步的研究。

SOD 是清除生物体内 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 的唯一酶类, GSHPX 只能通过活性氧之间的动态平衡间接影响 O<sub>2</sub><sup>·-</sup> 的量, 因此 GSHPX 活性的升高对 SOD 的影响较大。由于 GSHPX 和 CAT 有共同的底物 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 因此 GSHPX 活性的改变, 直接影响了 CAT 活性。低硒时 (0.05 mg L<sup>-1</sup>), GSHPX 的提高还不能足以清除较多的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 使较多的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 进入过氧化体, 导致 CAT 活性的上升, 随着 GSHPX 活性的进一步升高, 清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 能力增强, 进入过氧化体中的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 减少, 导致 CAT 活性下降。在高浓度硒 (1.0 mg L<sup>-1</sup>) 时 GSHPX 活性下降, CAT 活性又上升。生物体内的过氧化作用, 主要是由 AOS 自由基及其衍生物引起的脂质过氧化作用, 而生物体代谢产生的 AOS 可在体内相互转化, 而使其抗氧化系统的作用对象之间存在动态平衡<sup>[13]</sup>。本试验也证明了这一点。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 是一种重要的活性氧, 相对较稳定, 不能直接启动膜脂过氧化, 但它可以通过 Haber-Weiss 反应 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + O<sub>2</sub><sup>·-</sup> → OH + O<sub>2</sub>) 以及 Fenton 反应 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + Fe<sup>2+</sup> → OH + OH<sup>-</sup> + Fe<sup>3+</sup>) 生成极具破坏性的 OH<sup>·</sup>, OH<sup>·</sup> 可启动连续性的脂质过氧化作用, 还可通过特异性位点攻击使 DNA 断裂<sup>[14,15]</sup>。测定体内的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 发现, 在一定的硒浓度范围内, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的含量随硒浓度的升高而明显的降低。在高浓度时 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 又有上升, 可能是由于高浓度硒对植株产生毒害用, 造成 GSHPX 活性下降的缘故。由此可见, 在适度范围内, 加硒处理能增强抗氧化酶的活性, 降低 AOS 对机体的伤害。

### 参考文献:

- 1 吴求亮, 杨玉爱. 微量元素与生物健康. 贵阳: 贵州科技出版社, 2000. 30~46
- 2 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学. 第二版. 北京: 科学出版社, 1998. 366~389
- 3 陈必链, 黄 键. 我国富锌和富硒功能食品研究现状. 食品研究与开发, 1999, 20 (1): 33~37
- 4 侯少范, 薛泰麟, 谭见安. 高等植物中的谷胱甘肽过氧化物酶及其功能. 科学通报, 1994, 39 (6): 553~556
- 5 何宇炯, 徐如涓, 赵 橘. 表油菜素内酯对绿豆幼叶衰老的促进作用. 植物生理学报, 1996, 22 (1): 58~62

- 6 Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiol.*, 1991, 98: 1222 ~ 1227
- 7 Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxides scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*, 1981, 22: 867 ~ 880
- 8 Leopold Flohe, Wolfgang A G. Assay of glutathione peroxidase. *Methods of Enzymology*, 1984, 105: 104 ~ 121
- 9 郭静成, 尹顺平. 硒对高等植物中 GSH-PX 活性及 GSH 含量的影响. *西北植物学报*, 1998, 18 (4): 533 ~ 537
- 10 Tanaka K, Suda Y, Kondo N, et al. Ozone tolerance and the ascorbate-dependent hydrogen peroxide decomposing system in chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*, 1985, 26: 1425 ~ 1431
- 11 陈 拓, 王勋陵. UV-B 辐射对小麦叶片代谢的影响. *西北植物学报*, 1999, 19 (2): 284 ~ 289
- 12 Gillham D J, Dodge A D. Hydrogen-peroxide-savenging systems within pea chloroplasts: A quantitative study. *Planta*, 1986, 167: 246 ~ 251
- 13 段咏新, 傅庭治, 傅家瑞. 硒在大蒜体内的生物富集及其抗氧化作用. *园艺学报*, 1997, 24 (4): 343 ~ 347
- 14 徐志防, 罗广华, 王爱国, 等. 光合作用的光抑制与光合器官的活性氧代谢. *植物生理学通讯*, 1999, 35 (4): 325 ~ 332
- 15 Bham P L, Novacky A. Use of dimethyl sulfoxide to detect hydroxyl radical during bacteria-induced hypersensitive reaction. *Plant Physiol.*, 1991, 96: 1157 ~ 1160
- 16 薛泰麟, 侯少范, 谭见安, 等. 硒在高等植物体内的抗氧化作用. *科学通报*, 1993, 38 (3): 274 ~ 277

## Effects of Selenium on Antioxidative System and $H_2O_2$ Content in Spinach

Li Dengchao<sup>1,2</sup>, Zhu Zhujun<sup>1</sup>, and Xu Zhihao<sup>3</sup>

<sup>(1)</sup> Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; <sup>(2)</sup> Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, China;

<sup>(3)</sup> Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

**Abstract :** The effects of different concentrations of selenium on the growth, the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), dehydroascorbate reductase (DHAR), glutathione peroxidase (GSH-PX) and the content of ascorbate (AsA), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) were studied in the hydroponic spinach. The results showed that the growth was enhanced by selenium at the low level ( $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), but inhibited at the high level ( $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). The activities of SOD, CAT and GSH-PX were increased and the activities of APX and DHAR were decreased. The contents of AsA and  $H_2O_2$  decreased with the increasing selenite concentration, whereas,  $H_2O_2$  content decreased firstly and then increased. From our results, we conclude that proper selenite concentration could increase the yield and antioxidative activity of spinach.

**Key words :** Spinach ; Selenium; Antioxidative activity; Ascorbate ; Hydrogen peroxide

## 欢迎购阅下列新书

- |                               |                                   |                                |
|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| 1 - 1 《英汉生物学词汇》(第二版) 99 元     | 1 - 26 《蛋白质纯化与鉴定实验指南》(译) 52 元     | 1 - 47 《植物体细胞胚发生的分子生物学》 34 元   |
| 1 - 2 《英汉/汉英生物化学词汇》 30 元      | 1 - 27 《实用分子生物学方法手册》 32 元         |                                |
| 1 - 3 《拉汉英农业害虫名称》 90 元        | 1 - 28 《植物基因工程原理与技术》(第二版) 87 元    | 1 - 48 《细胞信号转导》(第三版) 55 元      |
| 1 - 7 《PCR 技术实验指南》(译) 110 元   |                                   | 1 - 49 《植物营养分子生理学》 48 元        |
| 1 - 8 《植物生理与分子生物学》 94 元       | 1 - 31 《被子植物有性生殖图谱》 96 元          | 1 - 50 《细胞实验指南》(译) (上、下) 244 元 |
| 1 - 9 《汉英生物学词汇》 106 元         | 1 - 32 《基因工程原理》(第二版) 上册 58 元      |                                |
| 1 - 10 《新英汉病毒学词典》 36 元        | 1 - 33 《基因工程原理》(第二版) 下册 78 元      | 1 - 51 《拉汉英种子植物名称》(第三版) 134 元  |
| 1 - 11 《蛋白质结构分析》(译) 46 元      | 1 - 34 《基因及其表达》 24 元              |                                |
| 1 - 12 《生物化学制备技术》 39 元        | 1 - 38 《植物生殖遗传学》 30 元             | 1 - 52 《分子克隆实验指南》(第三版) 187 元   |
| 1 - 13 《蛋白质电泳实验技术》 29 元       | 1 - 39 《蛋白质技术手册》 33 元             | 1 - 53 《生物信息学: 序列与基因组分析》 82 元  |
| 1 - 14 《分子遗传学》 70 元           | 1 - 41 《英汉生物化学及分子生物学词典》 88 元      |                                |
| 1 - 16 《植物发育的分子机理》 45 元       | 1 - 42 《生物技术概论》 23 元              | 1 - 54 《生物化学技术原理及应用》(第三版) 45 元 |
| 1 - 17 《植物分子遗传学》 45 元         | 1 - 43 《分子细胞生物学》 78 元             |                                |
| 1 - 22 《英汉化学化工词汇》(第四版) 110 元  | 1 - 44 《现代遗传学原理》 77 元             | 1 - 55 《基因工程》 49 元             |
| 1 - 24 《精编分子生物学实验指南》(译) 123 元 | 1 - 45 《分子克隆实验指南》(第三版英文原版) 1300 元 | 1 - 56 《分子生物学》 89 元            |
| 1 - 25 《植物分子生物学实验指南》(译) 52 元  |                                   |                                |

以上价格已含邮资。购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号《园艺学报》编辑部, 邮编: 100081。