

不同光照条件下缺镁对黄瓜生长及活性氧清除系统的影响

杨广东^{1,2} 朱祝军^{1*}

(¹ 浙江大学园艺系, 杭州 310029; ² 山西省农业科学院棉花研究所, 运城 044000)

摘 要: 探讨了不同光照条件下缺镁对黄瓜生长及活性氧清除系统的影响。结果表明, 强光下缺镁明显抑制黄瓜植株的生长, 叶片中超氧自由基 ($O_2^{\cdot -}$) 产生速率、 H_2O_2 和丙二醛 (MDA) 含量明显增加, 超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (AsA-POD)、抗坏血酸还原酶 (DR) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 的活性明显上升; 而弱光下缺镁则对植株生长影响较小, 叶片中 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率、 H_2O_2 和 MDA 含量以及 SOD、AsA-POD、DR、GR 的活性无明显变化, 过氧化氢酶 (CAT) 的活性在各处理间均无显著差异。强光下缺镁对植株的伤害较大, 可能与活性氧的增加有关。

关键词: 黄瓜; 缺镁; 光照强度; 活性氧; H_2O_2 清除酶系统

中图分类号: S 642. 2; Q 945 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2001) 05-0430-05

在光合作用的电子传递中, 当光系统 I (PSI) 将电子传递给分子氧而不是传递给铁氧还蛋白时, 将会产生超氧自由基 ($O_2^{\cdot -}$), 并由此产生其他活性氧化合物, 如 H_2O_2 , OH^{\cdot} 和 1O_2 等, 这些活性氧会对光合器官的膜、蛋白质等造成伤害。为防御这些活性氧的毒害作用, 植物叶绿体内存在着抗氧化剂和抗氧化酶防御系统, 对叶绿体起保护作用。在叶绿体中超氧化物歧化酶 (SOD) 可催化 $O_2^{\cdot -}$ 歧化生成 H_2O_2 和 O_2 , 由于叶绿体中不含过氧化氢酶 (CAT), 因此, 叶绿体中 H_2O_2 的清除主要依赖于抗坏血酸的清除系统^[1~3]。在该系统中, 抗坏血酸过氧化物酶 (AsA-POD) 以抗坏血酸 (AsA) 为电子供体催化 H_2O_2 还原, 同时抗坏血酸氧化为脱氢抗坏血酸 (DAsA)。DAsA 有两条代谢途径: 一条是由谷胱甘肽还原酶 (GR) 和脱氢抗坏血酸还原酶 (DR) 将 NADPH 的电子传递给 DAsA, 再生成 AsA, 保证 AsA-POD 催化的酶促反应有足够的电子供体; 另一条是其碳链进一步被降解^[4]。

植物在低温、干旱、臭氧和高铵等逆境条件下, 尤其是结合强光条件下, 依赖于抗坏血酸的过氧化氢清除酶系统的活性明显增加^[5~8]。Cakmak 和 Marschner^[9] 用菜豆做的试验表明, 强光下缺镁明显增加依赖于抗坏血酸的过氧化氢清除酶系统的活性。他们推论, 这与活性氧增加有关。但对活性氧含量的变化未作深入的研究。作者以黄瓜为材料, 研究不同光强下缺镁对黄瓜植株生长、叶片叶绿素含量、 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率、 H_2O_2 和丙二醛 (MDA) 含量以及 SOD、CAT 和依赖于抗坏血酸的过氧化氢清除酶系统活性的影响, 以探讨黄瓜缺镁时活性氧含量的变化与抗氧化酶活性的关系以及影响植株生长的生理机制。

收稿日期: 2001-01-18; 修回日期: 2001-04-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39770440); 霍英东青年教师基金资助项目

1 材料与方法

1.1 试验处理

试验在浙江大学蔬菜研究所菜圃玻璃温室中进行。黄瓜 (*Cucumis sativus* L., 品种为浙农 18 号) 种子发芽后播种于草炭中, 出苗后浇稀释的完全营养液, 两周后挑选生长一致的幼苗移栽到营养液中, 每盆 4 株, 含 10 L 营养液。全营养液配方 (mol/L): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 5×10^{-3} ; KNO_3 5×10^{-3} ; KH_2PO_4 1×10^{-3} ; MgSO_4 2×10^{-3} ; FeEDTA 4.5×10^{-5} ; 微量元素成分与 Arnon 相同。植株在完全营养液中生长 12 d 后, 设置如下处理: 缺镁 (1×10^{-4} mol/L) 和正常供镁 (2×10^{-3} mol/L); 分别进行遮光和自然光处理, 遮光率为 60%; 缺镁处理中加入 1×10^{-3} mol/L Na_2SO_4 调节 SO_4^{2-} 。试验期间, 每两天更换一次营养液并连续通气, 白天气温 22~ 28℃, 夜间 15~ 18℃, 日最高光照强度 $950 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。每处理重复 4 次。处理后于第 13 天分别取植株中上部完全伸展的功能叶测定叶绿素含量, $\text{O}_2^{\cdot -}$ 产生速率, H_2O_2 、MDA、AsA、DAsA 含量和酶活性。所有测定重复 3 次。植株于处理后 14 d 收获并干燥称质量, 收获前测量植株形态指标。

1.2 测定方法

用打孔器采取叶圆片, 加 80% 丙酮, 低温下匀浆, 离心。参照前人的方法测定叶绿素含量, $\text{O}_2^{\cdot -}$ 产生速率^[10], H_2O_2 ^[11]、MDA^[12]、AsA 和 DAsA^[9]、蛋白质 (用于计算酶活性) 含量^[13]。

取 0.3 g 叶片, 加 10 mL 25 mmol/L HEPES 缓冲液 (含 0.2 mmol/L EDTA, pH 7.8) 和 2% 不溶性 PVP。测定抗坏血酸过氧化物酶时提取液中含 2 mmol/L AsA。冰浴中匀浆, 过 2 层纱布, 15 000 g 离心 20 min, 上清液用于测定 SOD 活性^[14], CAT、AsA-POD、DR、GR 等酶活性^[12]。用 SHIMADZU UV-2410 分光光度计酶动力学软件测定吸光度的变化。

2 结果与分析

2.1 不同光照下缺镁对黄瓜植株生长和叶绿素含量的影响

表 1 表明, 强光下生长的植株株高、茎粗、鲜样质量和干样质量明显大于弱光下生长的植株。强光下缺镁明显抑制植株的生长。但在弱光下, 缺镁对植株生长的影响相对较小, 除干样质量达显著差异外, 株高、茎粗和鲜样质量都未达显著差异。

表 1 不同光强下缺镁对黄瓜植株生长和叶片叶绿素含量的影响
Table 1 Effect of magnesium deficiency under different light intensities on the plant growth and leaf chlorophyll content of cucumber

处理 Treatment	株高 Plant height (cm)	茎粗 Stem diameter (cm)	鲜样质量 Fresh mass (g/plant)	干样质量 Dry mass (g/plant)	叶绿素含量 Chlorophyll content (mg/g)
弱光 Low light - Mg^{2+}	178.6±6.2 c	0.728±0.027 c	9.52±2.72 c	3.12±0.19 d	3.82±0.09 b
	+ Mg^{2+}	176.9±8.6 c	0.736±0.031 c	12.89±0.98 c	4.46±0.13 b
强光 High light - Mg^{2+}	190.7±7.6 b	0.798±0.026 b	21.47±1.40 b	6.78±0.24 b	2.20±0.29 c
	+ Mg^{2+}	212.5±14.2 a	0.858±0.031 a	28.76±1.57 a	11.95±1.21 a

强光下缺镁处理从第 6 天植株下部叶片开始黄化，叶脉间逐渐褪绿，并向上部叶蔓延，到处理后 13 d，中下部叶片严重失绿，并出现斑枯坏死症状；而弱光下缺镁症状不明显。强光下缺镁使叶片叶绿素含量比正常供镁植株降低了约 75%，显著低于弱光下生长叶片，而弱光下缺镁对叶绿素含量的影响较小。

2.2 不同光照下缺镁对叶片 O₂⁻ 产生速率、H₂O₂ 和 MDA 含量的影响

图 1 表明，强光下缺镁植株叶片中 O₂⁻ 产生速率明显增加，而在弱光下缺镁则不明显。强光下缺镁叶片 H₂O₂ 和 MDA 含量也显著增加，而弱光下增加不明显。这表明黄瓜植株在缺镁时，强光下易引起叶片中活性氧的增加，从而引起膜脂过氧化产物 MDA 的积累。

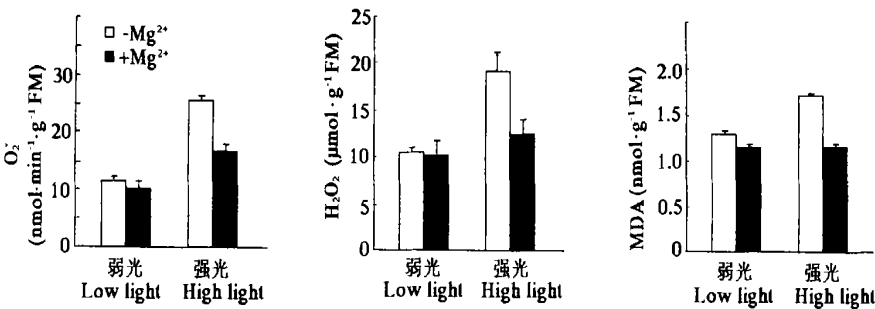


图 1 不同光照下缺镁对黄瓜植株叶片 O₂⁻ 产生速率、H₂O₂ 和 MDA 含量的影响

Fig. 1 Effect of magnesium deficiency under different light intensities on the O₂⁻ producing rate, H₂O₂ and MDA contents in the leaves of cucumber

2.3 不同光照下缺镁对叶片 SOD、CAT 和依赖抗坏血酸的 H₂O₂ 清除酶系统活性的影响

由表 2 可见，强光下植株叶片中 AsA 含量减少，使 DAsA/AsA 比值升高，尤其是在缺镁时特别明显；但在弱光下，AsA 含量和 DAsA/AsA 在缺镁和正常供镁时差异不显著。强光明显增加 SOD 和依赖抗坏血酸 H₂O₂ 清除酶系统 AsA-POD、DR 和 GR 的活性。强光下缺镁显著增加植株叶片中 SOD 和依赖抗坏血酸 H₂O₂ 清除酶系统 AsA-POD、DR 和 GR 的酶活性，而在弱光下则不明显。但 CAT 活性在不同光照和镁浓度处理下变化不大。

表 2 不同光照下缺镁对黄瓜植株叶片 SOD、CAT 和依赖抗坏血酸 H₂O₂ 清除酶系统活性的影响

Table 2 Effect of magnesium deficiency under different light intensities on the activities of SOD, CAT and ascorbate dependent H₂O₂ scavenging enzymes in cucumber leaves

处理 Treatment	SOD (U·g ⁻¹ FM) (U·mg ⁻¹ protein)	CAT (μmol·min ⁻¹ ·g ⁻¹ FM) (μmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ protein)	AsA POD (μmol·min ⁻¹ ·g ⁻¹ FM) (μmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ protein)	DR (μmol·min ⁻¹ ·g ⁻¹ FM) (μmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ protein)	GR (μmol·min ⁻¹ ·g ⁻¹ FM) (μmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ protein)	AsA (mg·g ⁻¹ FM) DAsA/ AsA
		(μmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ protein)	(μmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ protein)	(μmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ protein)	(μmol·min ⁻¹ ·mg ⁻¹ protein)	
弱光 Low light - Mg ²⁺	344. 8±9. 5c	0. 365±0. 014a	30. 15±2. 18c	0. 97±0. 08c	0. 49±0. 02c	0. 29±0. 01a
	17. 3±2. 1c	0. 018±0. 007a	1. 32±0. 44c	0. 037±0. 007c	0. 029±0. 004c	4. 16±0. 94b
	314. 2±8. 7d	0. 347±0. 017a	28. 7±2. 59c	0. 76±0. 06d	0. 32±0. 01d	0. 28±0. 02a
	15. 9±1. 2c	0. 017±0. 008a	1. 25±0. 38c	0. 029±0. 011c	0. 016±0. 007d	4. 25±1. 06b
强光 High light - Mg ²⁺	428. 7±11. 2a	0. 372±0. 020a	67. 6±3. 45a	1. 75±0. 12a	0. 89±0. 08a	0. 16±0. 03c
	24. 3±2. 7a	0. 019±0. 002a	3. 50±0. 27a	0. 096±0. 021a	0. 046±0. 012a	5. 93±0. 72a
	363. 6±7. 6b	0. 366±0. 022a	42. 0±1. 89b	1. 24±0. 11b	0. 68±0. 07b	0. 23±0. 02b
	19. 4±1. 6b	0. 020±0. 007a	2. 31±0. 67b	0. 057±0. 012b	0. 037±0. 003b	4. 68±0. 47b

3 讨论

在我国南方地区, 土壤中含镁矿物易风化淋失, 造成土壤供镁能力降低, 尤其在夏季强光下, 不少植物出现缺镁症状^[15]。蔬菜作物更易出现缺镁, 处于畦边田角充分暴露于阳光下的植株更有多发、重发缺镁症倾向^[16]。作物缺镁时首先是老叶脉间失绿, 叶脉仍呈绿色形成清晰网纹状花叶, 严重时叶片形成坏死斑块。我们的试验也表明, 强光下植株更易产生缺镁症状, 这可能与活性氧的增加对植株造成的伤害作用有关(图 1)。虽然强光缺镁植株叶片中 SOD 和依赖于抗坏血酸的过氧化氢清除酶活性明显增加, 但由于活性氧来不及清除, 还是对叶绿体造成很大的伤害, 特别是衰老叶片中由于酶活性的降低, 叶片叶脉间失绿明显, 甚至坏死。Cakmak^[2]认为, 主要是由于缺镁造成强光下叶片中的碳水化合物积累, 引起光抑制作用, 使 Mehler 反应形成的 O_2^- 增加, 造成叶绿体的光氧化伤害作用。我们的试验也证明了活性氧对强光下缺镁植株叶片起很大的光氧化伤害作用。

CAT 活性在强光下缺镁时稍高于正常供镁植株, 但差异不显著。这可能与 CAT 主要存在于过氧化物体中有关^[17], 而强光下主要是叶绿体中 H_2O_2 等活性氧的浓度明显增加。

AsA 和 DAsA 是依赖 AsA 的 H_2O_2 清除酶系统中的两个重要组分, 其在植物体内保持相对平衡对 H_2O_2 的还原起着重要作用^[2, 18]。我们的试验表明, 强光下缺镁使 AsA 含量降低, 而升高了 DAsA/AsA 的比值, 这可能是因为 AsA-POD 在还原 H_2O_2 时使大量的 AsA 氧化成 DAsA, 但这个结果同 Cakmak 等^[9]用菜豆所得结果不一致, 可能与所用的植物材料不同有关。

参考文献:

- 1 Asada K, Takahashi M. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In: Klye D J, Osmond C B, Amtzen C J, ed. Photoinhibition. Amsterdam: Elsevier, 1987. 227~ 287
- 2 Cakmak I. Activity of ascorbate dependent H_2O_2 scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium and potassium deficient leaves, but not in phosphorus deficient leaves. J Exp. Bot., 1994, 45: 1259~ 1266
- 3 Gillham D J, Dodge A D. Hydrogen peroxide scavenging systems within pea chloroplasts. A quantitative study. Planta, 1986, 167: 246~ 251
- 4 Asada K. Ascorbate peroxidase a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plant. Physiol. Plant, 85: 235~ 246
- 5 Schoener S, Krause G H. Protective systems against active oxygen species in spinach, response to cold acclimation in excess light. Planta, 1990, 80: 383~ 389
- 6 Snimoff N, Colombe S V. Drought influences the activity of enzymes of the chloroplast hydrogen peroxide scavenging system. J. Exp. Bot., 1988, 39: 1097~ 1108
- 7 Conklin P L, Last R L. Differential accumulation of antioxidant mRNAs in Arabidopsis thaliana exposed to ozone. Plant Physiol., 1995, 109: 203~ 212
- 8 寿森炎, 杨信廷, 朱祝军, 等. 氮素形态和光照强度对番茄生长及抗氧化酶活性的影响. 浙江大学学报 (农业与生命科学版), 2000, 26 (5): 500~ 504
- 9 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., 1992, 98: 1222~ 1227
- 10 王爱国, 罗广华. 植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系. 植物生理学通讯, 1990, (6): 55~ 57
- 11 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 等. 衰老叶片和叶绿体中 H_2O_2 的积累与膜脂过氧化化的关系. 植物生理学报, 1988, (1): 16~ 22
- 12 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. 植物营养与肥料学报, 1998, (4): 379~ 385
- 13 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein

- dye binding. Anal. Biochem., 1976, 72: 248~ 254
- 14 Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase occurrence in higher plants. Plant physiol., 1977, 59: 309~ 314
- 15 汪 洪, 褚天铎. 植物镁营养的研究进展. 植物学通报, 1999, 16 (3): 245~ 250
- 16 秦遂初. 作物营养障碍的诊断及防治. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1986. 55~ 59
- 17 Elstner E F. Oxygen activation and oxygen toxicity. Ann. Rev. Plant Physiol., 1982, 33: 73~ 96
- 18 Cakmak I, Marschner H. Effect of zinc nutritional status on activities of superoxide radical and hydrogen peroxide scavenging enzymes in bean leaves. Plant and soil., 1993, 155: 127~ 130

Effects of Magnesium Deficiency on Growth and Active Oxygen Scavenging System in Cucumber under Different Light Intensities

Yang Guangdong^{1,2} and Zhu Zhujun¹

(¹Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029; ²Cotton Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Yuncheng 044000)

Abstract: The effects of magnesium deficiency on the growth and active oxygen scavenging system under different light intensities were studied in cucumber. The results showed that magnesium deficiency under high light intensity inhibited plant growth, however, magnesium deficiency did hardly affect plant growth under low light intensity. O_2^- -producing rate, H_2O_2 and MDA contents, and the activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, dehydroascorbate reductase, glutathione reductase in the leaves were considerably increased by magnesium deficiency under high light intensity, but were not significantly affected under low light intensity. There were no significant differences of catalase activity among all treatments.

Key words: Cucumber; Deficiency; Magnesium; Light intensity; Active oxygen; H_2O_2 scavenging enzymes

欢迎订阅 2002 年下列期刊

《植物生理与分子生物学学报》 (原名《植物生理学报》英文刊名为 Journal of Plant Physiology and Molecular Biology. 双月刊, A4 开本, 80 面, 邮发代号 4 161, 国外代号 BM72 CN31-1351/Q 改为 31-1878/Q, 定价 20 元, 全年 120 元, 全国各地邮局订阅. 编辑部地址: 上海市枫林路 300 号, 邮编: 200032; 电话: 021-64174492, 传真: 021-64042385; 电子邮件: zkzhou@iris.sipp.ac.cn

《南京农业大学学报》是综合性、多科性农业科学学术期刊. 季刊, 标准 16 开本, 120 页. 每期定价 8 元, 全年 32 元. 全国各地邮局均可订阅, 邮发代号 28 53. 可向编辑部直接办理邮购. 编辑部地址: 南京卫岗 1 号

《南京农业大学学报》编辑部 邮编: 210095 联系电话: (025) 4395214 E-mail: naukb@mail.njau.edu.cn

《蚕业科学》是中国蚕学会主办的蚕丝学专业学术期刊. 季刊, 大 16 开本, 64 页, 每期定价 7 元, 全年 28 元. 全国各地邮局发行, 亦可向编辑部订阅. 邮发代号 28 23. 编辑部地址: 江苏省镇江市中国农科院蚕业研究所 邮编: 212018 电话: 0511-5616835 传真: 0511-5622507 E-mail: CYKE@chinajournal.net.cn

《福建农业科技》是由福建省农业科学院主办的综合性农业科技期刊. 双月刊, 16 开 48 页. 每期 2.5 元, 全年 15 元. 逢双月初出版. 邮发代号: 34 15, 全国各地邮局(所)均可订阅, 漏订者可直接向本刊编辑部补购(另加 20% 邮寄费). 地址: 350003 福州市五四路 247 号. 电话: (0591) 7884435, 7869455. 传真: 7884674. E-mail: fjnykj@163.net 或: fjnk@chinajournal.net.cn http://fjnk.chinajournal.net.cn