植物营养与肥料学报 2010,16(5):1209-1216
Plant Nutrition and Fertilizer Science

NaCl 胁迫对菜用大豆种子抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响

王 聪[1,2], 朱月林[1*], 杨立飞[1], 陈 磊[1]
(1 国家大豆改良中心,南京农业大学园艺学院,江苏南京 210095; 2 内蒙古民族大学农学院,内蒙古通辽 028042)

摘要: 采用蛭石栽培,在 100 mmol/L NaCl 胁迫下,对耐盐性不同的两个菜用大豆[*Glycine max* (L.) Merr.]品种种子的过氧化氢(H_2O_2)含量及抗坏血酸-谷胱甘肽(AsA-GSH)循环进行了研究。结果显示,NaCl 胁迫显著增加了菜用大豆种子的 H_2O_2 含量,但耐盐品种"绿领特早"的增幅低于盐敏感品种"理想高产 95-1"。NaCl 胁迫期间,"绿领特早"种子中抗坏血酸过氧化物酶(APX)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)、谷胱甘肽还原酶(GR)活性,AsA、GSH 含量以及 AsA/DHA 值和 GSH/GSSG 值的增幅高于同期的"理想高产 95-1",或降幅低于同期的"理想高产 95-1"; 脱氢抗坏血酸(DHA)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)含量的增幅低于同期的"理想高产 95-1"。表明"绿领特早"种子在胁迫期间能够保持较高的 AsA-GSH 循环效率,可有效地抑制 H_2O_2 的积累,这可能是其耐盐性较强的重要原因之一。

关键词: NaCl 胁迫; 菜用大豆种子; 抗坏血酸; 谷胱甘肽
中图分类号: S565.1.01　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1008-505X(2010)05-1209-08

Effects of NaCl stress on ascorbate-glutathione cycle in vegetable soybean seeds

WANG Cong[1,2], ZHU Yue-lin[1*], YANG Li-fei[1], CHEN Lei[1]
(*1 National Center for Soybean Improvement/College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2 College of Agronomy, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia 028042, China*)

Abstract: The peroxide(H_2O_2) content and ascorbate(AsA)-glutathione(GSH) cycle in seeds of two vegetable soybean cultivars[*Glycine max* (L.) Merr.] with different salt tolerances were studied using the vermiculite culture under 100 mmol/L NaCl stress. The results show that H_2O_2 contents in seeds of two vegetable soybean cultivars are significantly increased under the NaCl stress, and the increased amount of "Lülingtezao" resistant to the NaCl stress is lower than that of "Lixianggaochan 95-1" susceptible to the NaCl stress. During the NaCl stress period, the activities of ascorbate peroxidase(APX), dehydroascorbate reductase(DHAR) and glutathione reductase(GR), contents of AsA and GSH, and ratios of AsA/DHA and GSH/GSSG of "Lülingtezao" are higher than those of "Lixianggaochan 95-1", and/or their decrease were lower than those of "Lixianggaochan 95-1". While contents of dehydroascorbic acid(DHA) and oxidized glutathione(GSSG) of "Lülingtezao" are lower than those of "Lixianggaochan 95-1". These results indicate that "Lülingtezao" could maintain efficient metabolism of AsA-GSH cycle during the stress period, and further maintain lower H_2O_2 accumilation. This might be one of important reasons for higher salt tolerance of "Lülingtezao".

Key words: NaCl stress; vegetable soybean seed; ascorbate; glutathione

---

收稿日期: 2009-11-02　　**接受日期**: 2010-03-22
基金项目: "十一·五"国家高技术"863"研究计划重大项目(2006AA10A110); 国家转基因生物新品种培育科技重大专项(2009ZX080042011B); 内蒙古民族大学博士启动基金项目(BS217)资助。
作者简介: 王聪(1968—),男,内蒙古和林格尔县人,博士,副教授,主要从事蔬菜生理和生物技术研究。E-mail: tongliaowangcong@163.com
* 通讯作者 E-mail: ylzhu@njau.edu.cn

盐胁迫是造成农作物产量、品质下降的主要的非生物胁迫类型,它可以引起植物产生氧化胁迫,导致活性氧(ROS)过量积累。各类ROS形成于特定的氧化还原反应,如线粒体、叶绿体电子传递链所致的氧气不完全还原或水的不完全氧化。单线态氧($^1O_2$)的形成可随之刺激其它ROS的产生,如过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子(O_2^-)和羟自由基(HO·)等。这些活性分子对脂类、核酸和蛋白质有着很强的破坏性。植物为减轻活性氧对细胞膜及胞内生物大分子的伤害,在细胞内形成了复杂的活性氧清除系统:一类是保护酶系统,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等;另一类是非酶促小分子抗氧化物质,包括抗坏血酸、谷胱甘肽、V_E、类胡萝卜素等[1-3]。抗坏血酸是植物体内一个主要代谢物,存在于细胞液、叶绿体、液泡、线粒体和细胞壁中,90%以还原态(AsA)存在[4-5]。脱氢抗坏血酸(DHA)是AsA的氧化形式,DHA可在脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)的作用下还原形成AsA。谷胱甘肽是硫酸根还原同化途径中主要的含硫非蛋白终端产物,是细胞内最主要的、含量最丰富的含巯基低分子肽,在原核生物和真核生物中都广泛存在,植物细胞中的谷胱甘肽90%分布于细胞质[6]。生物体中存在两种形式的谷胱甘肽,一种是还原型谷胱甘肽(GSH),另一种是氧化型谷胱甘肽(GSSG)。AsA和GSH的代谢途径AsA-GSH循环系统在植物抵抗氧化胁迫、清除ROS方面具有重要作用,二者含量的高低与植物的抗逆性密切相关[7-10];而抗坏血酸过氧化物酶(APX)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)、谷胱甘肽还原酶(GR)等是植物AsA-GSH氧化还原途径中重要的酶组分,对促进AsA和GSH的再生、维持AsA-GSH循环运转具有重要作用[11]。

研究表明,在冷害胁迫下,伴随着欧洲赤松体内SOD活性的提高,AsA含量及与AsA-GSH循环相关的酶活性均相应升高,对冷害胁迫下的松针起到了保护作用[12-13];但如果只是SOD活性升高,生成的H_2O_2不能及时通过AsA-GSH循环清除,就会导致H_2O_2的过量积累[11]。这充分说明H_2O_2的进一步清除在相当程度上要依赖于AsA-GSH循环的运转。

关于氧化胁迫下大豆植株体内AsA、GSH含量的变化前人已做了一定的研究工作[14-15],但主要集中在对营养器官的研究,有关NaCl胁迫对大豆种子发育过程中抗氧化物质代谢的影响尚未见报道。本试验以耐盐性不同的两个菜用大豆品种为材料,对NaCl胁迫下二者种子膨大过程中AsA-GSH循环中抗氧化物质含量及相关酶活性的差异进行比较研究,旨在探明AsA-GSH抗氧化系统在NaCl胁迫下对菜用大豆种子发育的影响,为进一步研究菜用大豆生殖生长时期的耐盐机理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

2006年对国内外搜集的15个菜用大豆[*Glycine max* (L.)Merr.]品种苗期耐盐性进行鉴定,结果鉴定出2个耐盐品种"绿领特早"和"天峰",2个盐敏感品种"理想高产95-1"和"绿领3号",其余为中等耐盐品种。2007年,为验证菜用大豆苗期与成株期的耐盐性是否一致,对"绿领特早"、"台湾75"(中等耐盐品种)、"理想高产95-1"等3个耐盐级别不同的品种结荚期的耐盐性进行了鉴定,结果显示3品种苗期与结荚期的耐盐性一致[16]。本研究选取耐盐品种"绿领特早"和盐敏感品种"理想高产95-1"为试验材料。

1.2 试材培育及处理

试验在南京农业大学玻璃温室内进行。2008年9月1日干种子直播于上直径39 cm、下直径26 cm、高34 cm的塑料盆中,蛭石作基质,每盆定苗4株。真叶展开后每2 d浇1/4浓度日本园试营养液1次,每盆浇液1 L;开花后浇1/2浓度营养液,浇液量同前期。

9月26日始花。此后一周内每天挂牌标记开花期,并记录每天的挂牌数,以此确定每天的开花数。9月30日花数最多,试验即以该天开花形成的种子为研究对象。

花后12 d(10月12日)进行NaCl处理,NaCl处理的适宜浓度为100 mmol/L[16]。NaCl溶于1/2浓度日本园试营养液,均匀浇入基质中,每2 d浇液一次,浇液量同上。对照仅浇营养液。每处理5盆,3次重复,随机排列。

1.3 测定项目及方法

10月12日开始取样(NaCl处理0 d),以后每3 d取样一次,取同一天开花形成的种子(9月30日开花),测定有关生理指标,共取样6次。

H_2O_2含量参照林植芳等[17]的方法;AsA和DHA含量参照Jin等[11]的方法;GSH和GSSG含量按照Gossett等[18]的方法;APX活性采用Nakano和Asada[19]的方法;DHAR活性按Krivosheeva等[20]的

方法测定。GR 活性参照 Foyer 和 Halliwell[21] 的方法,稍加修改: 取 0.2 g 鲜种子,加入 1.6 mL Tricine -NaOH 缓冲液(pH 值为 7.8)冰浴研磨,4℃ 下 15000 × g 离心 20 min,将上清液定容至 2 mL 进行酶活性测定。3 mL 反应体系包括: 0.3 mL 1 mmol/L NADPH,1.8 mL 0.1 mol/L Tricine -NaOH 缓冲液(pH 值为 7.8),酶液 0.6 mL,0.3 mL 5 mmol/L GSSG,以不加 GSSG 做对照,测定 OD340 变化值,以每分钟变化 0.1 为一个酶活性单位。

试验数据用 SAS 软件 t 测验法进行差异显著性($P < 0.05$)分析。

2　结果与分析

由于不同菜用大豆品种在生理特性上存在天然差异,如以某些生理指标的绝对值大小来衡量 NaCl 胁迫的影响可能会出现谬误,为此,本试验采用比较各生理指标的相对量评价 NaCl 胁迫对不同品种的影响。相对量即 NaCl 胁迫下某生理指标值较该指标对照值的增加或降低幅度。

2.1　NaCl 胁迫对菜用大豆种子 H_2O_2 含量的影响

NaCl 胁迫下,"绿领特早"种子的 H_2O_2 含量呈逐渐上升的趋势,"理想高产 95 -1"的 H_2O_2 含量先大幅上升,胁迫 12 d 后趋于平缓(图 1)。与对照相比,"绿领特早"的 H_2O_2 含量在胁迫 3 d 和 6 d 时无显著变化,其余时期均显著升高,增幅分别为 17.92%、26.91% 和 33.18%;"理想高产 95 -1"在胁迫 3 d 时未受显著影响,之后各个胁迫时期均显著升高,且胁迫 9 ~ 15 d 时的增幅均大于同期的"绿领特早"。说明 NaCl 胁迫下,耐盐品种"绿领特早"种子中 H_2O_2 的相对积累量较低。

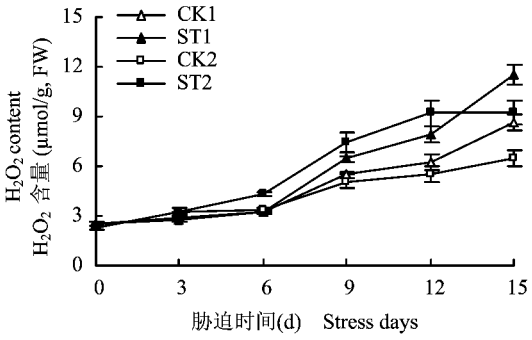

图 1　NaCl 胁迫对菜用大豆种子中 H_2O_2 含量的影响

Fig. 1　Effect of NaCl stress on H_2O_2 content in vegetable soybean seeds

[注(Note): CK—对照 CK ; ST—NaCl 胁迫 NaCl stress; 1—"绿领特早"Lülingtezao",2—"理想高产 95 -1""Lixianggaochan 95 -1".]

2.2　NaCl 胁迫对菜用大豆种子 APX、DHAR 和 GR 活性的影响

2.2.1 对 APX 活性的影响　NaCl 胁迫下,"绿领特早"种子中 APX 活性呈先上升后下降的趋势。胁迫 3 ~ 12 d 时均显著高于对照,15 d 时无显著变化;其中胁迫 3 d 和 6 d 时的活性分别为对照的 5.13 和 4.76 倍,胁迫 9 d 和 12 d 时的增幅为 45.91% 和 26.59%。"理想高产 95 -1"的 APX 活性呈波状变化,胁迫 3 ~ 9 d 时显著高于对照,但增幅低于同期的"绿领特早";胁迫 12 和 15 d 时较对照显著降低 28.40% 和 18.67%(图 2)。说明 NaCl 胁迫下,"绿领特早"种子的 APX 活性能够大幅增加或未受显著影响(胁迫 15 d 时),进而维持了较高的 APX 活性。

2.2.2 对 DHAR 活性的影响　NaCl 胁迫下,"绿领特早"和"理想高产 95 -1"的 DHAR 活性均呈先升后降的趋势变化,两品种分别在胁迫 6 d 和 3 d 时达到峰值(图 3)。其中"绿领特早"的活性在胁迫 3 ~ 12 d 时均显著高于对照,增幅分别为 27.01%、31.29%、23.76% 和 37.88%,胁迫 15 d 时无显著变化;"理想高产 95 -1"的活性在胁迫 3 和 6 d 时显著高于对照,增幅分别为 24.84%、24.80%,低于同期的"绿领特早",其余时期均显著低于对照。表明 NaCl 胁迫下,耐盐品种"绿领特早"种子的 DHAR 活性长时间受到显著诱导,活性大幅增加,保持了较强的活性优势。

2.2.3 对 GR 活性的影响　图 4 可见,"绿领特早"的 GR 活性在胁迫 0 ~ 6 d 时变化较平缓,之后大幅下降;"理想高产 95 -1"的 GR 活性在 NaCl 胁迫下呈先升后降的趋势,3 d 时达到峰值,之后大幅下降。与对照相比,"绿领特早"的活性在胁迫 3 和 15 d 时无显著变化,其余时期均显著升高;"理想高产 95 -1"的活性在胁迫 3、6 d 时无显著变化,其余时期均显著降低。表明 NaCl 胁迫下,"理想高产 95 -1"的 GR 活性长时间受到显著抑制,活性大幅下降;而"绿领特早"的 GR 活性则受到显著诱导或未受显著影响,进而保持了相对较高的 GR 活性,维持了较强的活性优势。

2.3　NaCl 胁迫对菜用大豆种子 AsA、DHA 含量及 AsA/DHA 比值的影响

2.3.1 对 AsA 含量的影响　两品种的 AsA 含量在 NaCl 胁迫下均呈先升后降的趋势变化。与对照相比,"绿领特早"种子的 AsA 含量在胁迫 3 ~ 9 d 时显著升高,12 d 时无显著变化,15 d 时显著降低;"理想高产 95 -1"的含量在胁迫 3 d 时无显著变化,

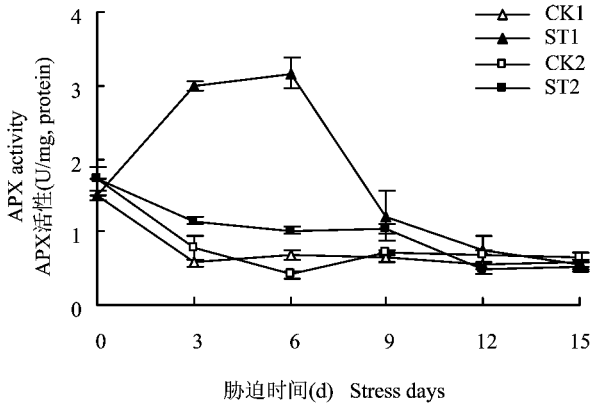

图2 NaCl胁迫对菜用大豆种子APX活性的影响

Fig. 2 Effect of NaCl stress on APX activity in vegetable soybean seeds

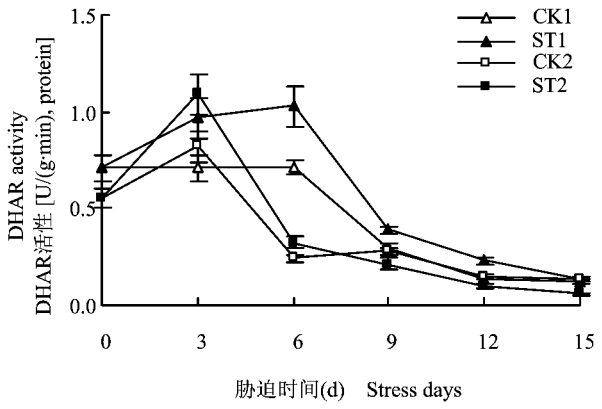

图3 NaCl胁迫对菜用大豆种子DHAR活性的影响

Fig. 3 Effect of NaCl stress on DHAR activity in vegetable soybean seeds

[注(Note): CK—对照CK; ST—NaCl胁迫NaCl stress; 1—"绿领特早"Lülingtezao"; 2—"理想高产95-1""Lixianggaochan 95-1".]

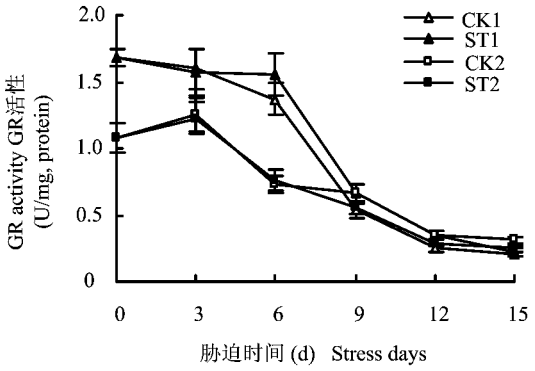

图4 NaCl胁迫对菜用大豆种子GR活性的影响

Fig. 4 Effect of NaCl stress on GR activity in vegetable soybean seeds

[注(Note): CK—对照CK; ST—NaCl胁迫NaCl stress; 1—"绿领特早"Lülingtezao"; 2—"理想高产95-1""Lixianggaochan 95-1".]

6 d时显著升高,其余时期均显著降低,其中胁迫6 d时的增幅低于同期的"绿领特早",胁迫15 d时的降幅大于同期的"绿领特早"(图5a)。表明NaCl胁迫下,"绿领特早"种子的AsA含量较长时间受到显著诱导,而"理想高产95-1"的AsA含量则较长时间受到显著抑制,"绿领特早"种子AsA的相对积累量在整个胁迫期间均高于同期的"理想高产95-1"。

2.3.2 对DHA含量的影响 NaCl胁迫下,"绿领特早"种子中DHA含量呈逐渐上升的趋势,"理想高产95-1"呈先升后降的趋势(图5b)。其中"绿领特早"的DHA含量在胁迫3 d时显著低于对照,6 d时未受显著影响,其余时期均显著高于对照;"理想高产95-1"的含量在胁迫3 d时与对照无显著差异,其余时期均显著高于对照,其中胁迫9～15 d时的增幅均高于同期的"绿领特早"。说明NaCl胁迫中、后期促进了菜用大豆种子中DHA的积累,但与"理想高产95-1"相比,"绿领特早"种子中DHA的相对积累量较低。

2.3.3 对AsA/DHA比值的影响 "绿领特早"种子的AsA/DHA比值在NaCl胁迫下呈先升后降的趋势,"理想高产95-1"则呈波状变化(图5c)。其中"绿领特早"的AsA/DHA比值在胁迫3和6 d时显著高于对照,9 d时无显著变化,12 d和15 d时较对照显著降低16.67%、25.86%;"理想高产95-1"的AsA/DHA比值在胁迫3和6 d时与对照无显著差异,胁迫9～15 d依次较对照显著降低33.33%、38.32%和54.13%,其中胁迫12 d和15 d时的降幅高于同期的"绿领特早"。表明"绿领特早"在NaCl胁迫期间保持了相对较高的AsA/DHA比值。

总之,NaCl胁迫下,耐盐品种"绿领特早"种子中AsA含量及AsA/DHA比值的增幅均高于同期的"理想高产95-1",降幅均低于同期的"理想高产95-1",而DHA含量的变化则与之相反。

2.4 NaCl胁迫对菜用大豆种子GSH、GSSG含量及GSH/GSSG比值的影响

2.4.1 对GSH含量的影响 NaCl胁迫下,"绿领特早"种子中的GSH含量呈先升后降的趋势,胁迫3 d时达到峰值,15 d时降到最低点;"理想高产95-1"的含量在胁迫3～9 d时变化平缓,12 d时降到最低点,之后又小幅上升(图6a)。其中"绿领特早"的GSH含量在胁迫3～9 d时显著高于对照,胁迫12、15 d时与对照无显著差异;"理想高产95-1"的

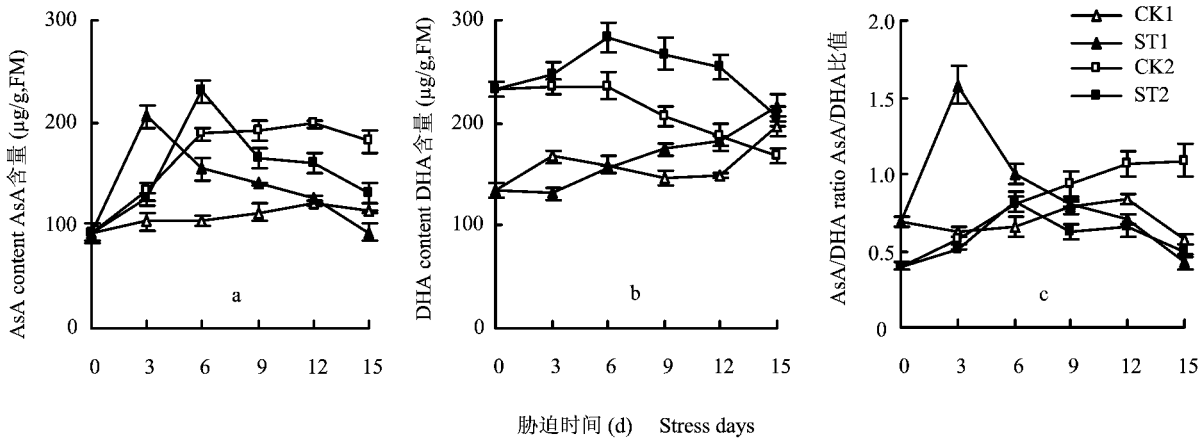

图 5　NaCl 胁迫对菜用大豆种子 AsA、DHA 含量及 AsA/DHA 比值的影响

Fig. 5　Effects of NaCl stress on contents of AsA and DHA and AsA/DHA ratio in vegetable soybean seeds

[注(Note): CK—对照 CK ; ST—NaCl 胁迫 NaCl stress; 1—"绿领特早"Lulingtezao"; 2—"理想高产 95 -1""Lixianggaochan 95 -1".]

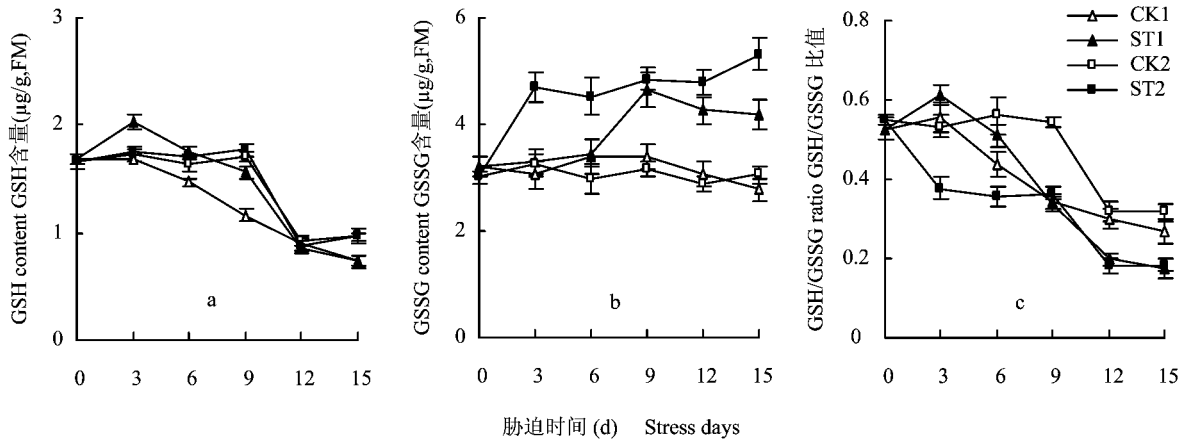

图 6　NaCl 胁迫对菜用大豆种子 GSH、GSSG 含量及 GSH/GSSG 比值的影响

Fig. 6　Effects of NaCl stress on contents of GSH and GSSG and GSH/GSSG ratio in vegetable soybean seeds

[注(Note): CK—对照 CK; ST—NaCl 胁迫 NaCl stress; 1—"绿领特早"Lulingtezao"; 2—"理想高产 95 -1""Lixianggaochan 95 -1".]

GSH 含量在整个胁迫期间均与对照无显著差异。说明在 NaCl 胁迫前、中期(3 ～ 9 d)"绿领特早"种子中 GSH 的相对积累量均高于同期的"理想高产 95 -1"。

2.4.2 对 GSSG 含量的影响　NaCl 胁迫下,"绿领特早"种子中的 GSSG 含量呈先升后降的趋势;"理想高产 95 -1"的 GSSG 含量呈波状上升的趋势(图 6b)。与对照相比,"绿领特早"的 GSSG 含量在胁迫 3 d 和 6 d 时无显著变化,9 ～ 15 d 时均显著升高;而"理想高产 95 -1"的 GSSG 含量在整个胁迫期间均显著升高,且在胁迫 9 ～ 15 d 时的增幅大于同期的"绿领特早"。说明 NaCl 胁迫期间"绿领特早"种子中 GSSG 的相对积累量均低于同期的"理想高产 95 -1"。

2.4.3 对 GSH/GSSG 比值的影响　NaCl 胁迫下,"绿领特早"的 GSH/GSSG 比值呈先升后降的趋势,胁迫 3 d 时达到峰值,15 d 时降到最低点;"理想高产 95 -1"的 GSH/GSSG 比值呈波状下降的趋势(图 6c)。其中"绿领特早"在胁迫 3 ～ 9 d 时的 GSH/GSSG 比值与对照无显著差异,胁迫 12 和 15 d 时分别较对照显著降低 33.07% 和 33.90%;"理想高产 95 -1"的 GSH/GSSG 比值在整个胁迫期间均显著低于对照,其中胁迫 12 和 15 d 时的降幅大于同期的"绿领特早"。说明耐盐品种"绿领特早"在整个胁迫期间均维持了相对较高的 GSH/GSSG 比值。

总之,NaCl 胁迫下,耐盐品种"绿领特早"种子中维持了较高的 GSH 相对积累量(3 ～ 9 d 时),较低的 GSSH 相对积累量,进而保持了相对较高的 GSH/GSSG 比值。

3 讨论

盐胁迫对植物的伤害很大程度上是通过破坏生物膜的生理功能引起的。当植物受到干旱、盐渍等逆境胁迫时,ROS 的代谢平衡被破坏,导致自由基大量积累[22-23]。如果过多的活性氧自由基不能被及时清除,就会生成破坏力更强的 HO·,从而加快膜脂过氧化进程,使膜系统完整性降低,蛋白质、DNA 等生物大分子受到伤害,细胞物质交换平衡遭到破坏,进而导致一系列生理生化代谢紊乱,使植物生长受到抑制[24-25]。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盐渍等逆境胁迫能力的强弱。本研究表明,NaCl 胁迫显著增加了菜用大豆种子中的 H_2O_2 含量,但在相同胁迫条件下,耐盐品种"绿领特早"的增幅均低于同期的盐敏感品种"理想高产 95-1"。说明耐盐品种能快速有效地清除种子中过量积累的 H_2O_2,降低膜脂过氧化程度。

AsA-GSH 循环途径是植物组织中直接清除 H_2O_2 的酶促催化系统[26-27],而 APX 和 DHAR 是 AsA-GSH 循环中的关键酶,其活性的高低直接影响到 AsA 和 DHA 在 AsA-DHA 库的含量。Tao 等[12]的研究表明,冷害胁迫下欧洲赤松幼苗体内 DHA 占 AsA-DHA 库的比例从 9% 上升到 50%,认为这与其较高的 APX 活性和较低的 MDHAR 及 DHAR 活性有关。因此,APX 和 DHAR 活性的平衡对维持较高的 AsA 含量是非常重要的。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 GSSG 还原为 GSH,是 AsA-GSH 循环中最后一步的关键酶,对 AsA 和 GSH 的再生具有重要作用。Foyer 和 Noctor[28] 认为,GR 的活性直接影响 GSH 库的水平,GR 活性的提高能够维持植物体内较高的 GSH 含量和合适的 GSH/GSSG 比值,并在保持细胞氧化还原势方面发挥重要作用。本研究中,耐盐品种"绿领特早"种子的 APX 活性在 NaCl 胁迫 3 ~ 12 d 期间显著升高,胁迫 15 d 时活性有所下降,接近对照水平;盐敏感品种"理想高产 95-1"的 APX 活性在胁迫 3 ~ 9 d 时显著升高,但增幅低于同期的"绿领特早",胁迫 12、15 d 时均显著降低。伴随着 APX 活性的升高,"绿领特早"的 DHAR 和 GR 活性分别在胁迫 3 ~ 12 d 和 6 ~ 12 d 期间大幅升高;而"理想高产 95-1"的 DHAR 活性只在胁迫 3 d 和 6 d 时高于对照,GR 活性在胁迫 9 ~ 15 d 期间均显著低于对照。说明耐盐品种"绿领特早"在胁迫期间能够维持较高且相对协调平衡的 APX、DHAR 和 GR 活性,使过量产生的 H_2O_2 及时被清除;同时为 AsA-GSH 循环的正常运转及 AsA、GSH 的再生提供了有力保障。而盐敏感品种"理想高产 95-1"由于 APX、DHAR 及 GR 的活性均相对较低,且三者的活性失去了平衡(APX 的活性在胁迫 3 ~ 9 d 期间受到诱导,DHAR、GR 的活性则较长时间均受到显著抑制),致使 AsA-GSH 循环的运转受阻,AsA、GSH 的再生受到抑制,进而使过量积累的 H_2O_2 不能被及时清除。"绿领特早"种子在 NaCl 胁迫期间 H_2O_2 含量的增幅低于同期的"理想高产 95-1"就充分反映了这一点。

AsA 是一种普遍存在的非酶促抗氧化物质,在 AsA-GSH 循环清除 H_2O_2 过程中发挥着重要作用,同时 AsA 还可直接清除 $O_2^{\cdot-}$[29]。AsA 的含量、氧化还原状态(AsA/DHA 比值)及其合成、代谢相关酶类的活性变化与植物对逆境胁迫的响应有关[10]。Shalata 等[30] 报道,盐胁迫使盐敏感番茄根系中的 AsA 含量降低,DHA 含量明显升高,AsA/DHA 比值降低,代谢相关酶 APX 和单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)活性也降低;而耐盐品种与之相反,表明番茄的耐盐性与 AsA 含量、AsA/DHA 比值及其代谢相关酶的活性有关。GSH 是生物体内另一种重要的抗氧化剂,可作为 DHA 再生 AsA 的电子供体,其氧化还原过程通过 AsA-GSH 循环与 AsA 相联系,在促进 AsA 再生上具有重要作用[6]。GSH 的抗氧化作用就是通过使 DHA 再还原实现的。GSH 含量的提高可增强植物的抗逆性,逆境下 GSH 合成量的增加是植物体对逆境胁迫的一种应激反应[6]。刘正鲁等[31] 的研究认为,NaCl 处理后,在胁迫前期,番茄嫁接苗 GSH 含量升高,GSSG 含量下降,GSH/GSSG 比值显著升高,自根苗则表现出相反的趋势。随着胁迫时间的延长,嫁接苗 GSH 含量开始下降,但与自根苗相比,嫁接苗仍能保持较高的 GSH 含量;较高的 GSH 含量为嫁接苗清除活性氧,减少膜脂过氧化奠定了物质基础。本研究中,NaCl 胁迫下"绿领特早"种子中 AsA 及 GSH 含量、AsA/DHA 及 GSH/GSSG 比值的增幅均高于同期的"理想高产 95-1",降幅则低于同期的"理想高产 95-1";DHA、GSSG 含量的增幅均低于同期的"理想高产 95-1"。说明"绿领特早"对 NaCl 胁迫具有较强的适应能力,在胁迫期间能够保持较高的氧化还原力(AsA/DHA 比值、GSH/GSSG 比值)和高水平的抗

氧化物质(AsA、GSH),为 AsA-GSH 循环的有效运转及活性氧的及时清除奠定了物质基础,进而降低了种子细胞的膜脂过氧化程度。

综上所述,NaCl 胁迫下两品种在抗坏血酸和谷胱甘肽代谢方面均发生了显著变化。耐盐品种"绿领特早"种子在胁迫期间能够保持较高且相对协调平衡的 APX、DHAR 和 GR 活性,使 AsA-GSH 循环能够快速有效地运转,促进了 AsA 和 GSH 的再生,进而维持了较强的氧化还原力和高水平的抗氧化物质,使过量产生的 H_2O_2 能被及时清除。说明维持 AsA-GSH 循环快速有效地运转,保持较强的抗氧化物质的再生能力对提高菜用大豆的抗氧化胁迫能力,降低盐胁迫对其种子的伤害具有重要作用。

参 考 文 献:

[1] McKersie B D, Leshem Y Y. Stress and stress coping in cultivated plants[M]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishes, 1994. 256.

[2] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control[J]. Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol., 1998, 49: 249-279.

[3] Fisarakis I, Chartzoulakis K, Stavrakas D. Response of sultana vines(*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery[J]. Agric. Water Manag., 2001, 51(1): 13-27.

[4] Foyer C H, Noctor G. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen chloroplasts, peroxisomes and mitochondria[J]. Physiol. Plant., 2000, 119(3): 355-364.

[5] Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt K V. Antioxidants, oxidative damage oxygen deprivation stress: a review[J]. Ann. Bot., 2003, 91(2): 179-194.

[6] May M J, Vernoux T, Leaver C *et al*. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development[J]. J. Environ. Bot., 1998, 49(321): 649-667.

[7] Smirnoff N. The function and metabolism of ascorbic acid in plants [J]. Ann. Bot., 1996, 78(6): 661-669.

[8] Davey M W, Montagu M V, Inzé D *et al*. Plant L-Ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing[J]. J. Sci. Food Agric., 2000, 80(7): 825-860.

[9] Ball L, Accotto G P, Bechtold U *et al*. Evidence for a direct link glutathione biosynthesis and stress defense gene expression in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2004, 16(9): 2448-2462.

[10] 陈坤明,宫海军,王锁民. 植物抗坏血酸的生物合成、转运及其生物学功能[J]. 西北植物学报,2004,24(2): 329-336.
Chen K M, Gong H J, Wang S M. Biosyn thesis, transport and function of ascorbate in plants[J]. Acta Bot. Bor.-Occid. Sin., 2004, 24(2): 329-336.

[11] Bowler C, Montagu M V, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol., 1992, 43: 83-116.

[12] Jin Y H, Tao D L, Hao Z Q *et al*. Environmental stresses and redox status of ascorbate[J]. Acta Bot. Sin., 2003, 45(7): 795-801.

[13] Tao D L, Oquist G, Wingsle G. Active oxygen scavengers during cold acclimation of scots pine seedlings in relation to freezing tolerance[J]. Cryobiol., 1998, 37(1): 38-45.

[14] Knorzer O C, Durner J, Boger P. Alterations in the antioxidative system of suspension-cultured soybean cells(*Glycine max*) induced by oxidative stress[J]. Physiol. Plant, 1996, 97(2): 388-396.

[15] Cheng F Y, Burkey K O, Michael Robinson J, Booker F L. Leaf extracellular ascorbate in relation to O_3 tolerance of two soybean cultivars[J]. Environ. Pollut., 2007, 150(3): 355-362.

[16] 王聪,朱月林,杨立飞,等. 菜用大豆耐盐品种的筛选及其耐盐生理特性[J]. 江苏农业学报,2009, 25(3): 621-627.
Wang C, Zhu Y L, Yang L F *et al*. Screening of vegetable soybean cultivars for salt tolerance and their physiological characteristics[J]. Jiangsu J. Agric. Sci., 2009, 25(3): 621-627.

[17] 林植芳,李双顺,林桂珠,等. 衰老叶片和叶绿体中 H_2O_2 的累积与膜脂过氧化的关系[J]. 植物生理学报,1988,14(1): 12-16.
Lin Z F, Li S S, Lin G Z *et al*. The accumulation of hydrogen peroxide in senescing leaves and chloroplasts in relation to lipid peroxidation[J]. Acta Phytophysiol. Sin., 1988, 14(1): 16-22.

[18] Gosset D R, Millhollon E P, Lucas M C. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton [J]. Crop Sci., 1994, 34(3): 706-714.

[19] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate: specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. Plant Cell Physiol., 1981, 22(5): 867-880.

[20] Krivosheeva A, Tao D L, Ottander C *et al*. Cold acclimation and photoinhibition of photosynthesis in Scots pine [J]. Planta, 1996, 200(3): 296-305.

[21] Foyer C H, Halliwell B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism[J]. Planta, 1976, 133(1): 21-25.

[22] 魏国强,朱祝军,方学智,等. NaCl 胁迫对不同品种黄瓜幼苗生长、叶绿素荧光特性和活性氧代谢的影响[J]. 中国农业科学,2004,37(11): 1754-1759.
Wei G Q, Zhu Z J, Fang X Z *et al*. The effects of NaCl stress on plant growth, chlorophyll fluorescence characteristics and active oxygen metabolism in seedlings of two cucumber cultivars[J]. Sci. Agric. Sin., 2004, 37(11): 1754-1759.

[23] 李文兵,王燕凌,李芳,等. 水分胁迫下多枝柽柳体内活性氧与保护酶的关系[J]. 新疆农业大学学报,2007,30(1): 30-34.
Li W B, Wang Y L, Li F *et al*. Relationship between active oxygen and protective enzymes in *Tamarixr amosissima* under water stress[J]. J. Xinjiang Agric. Univ., 2007, 30(1): 30-34.

[24] 王忠. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社,2000. 422-439.
Wang Z. Plant physiology[M]. Beijing: China Agricultural

Press, 2000. 422–439.

[25] Ahmed S, Nawata E, Hosokawa M *et al*. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging[J]. Plant Sci., 2002, 163(1): 117–123.

[26] Allen R D, Webb R P, Schake S A. Use of transgenic plants to study antioxidant defenses[J]. Free Radic. Biol. Med., 1997, 23(3): 473–479.

[27] Chernikova T, Michael Robinson J, Lee E H, Mulchi C L. Ozone tolerance and antioxidant enzyme activity in soybean cultivars[J]. Photosynth. Res., 2000, 64(1): 15–26.

[28] Foyer C H, Noctor G. The molecular biology and metabolism of glutathione[A]. Grill D, Tausz M, De Kok L J *et al* (eds.). Significance of glutathione in plant adaptation to the environment [M]. Kluwer: Academic Publishers, 2001. 27–57.

[29] Foyer C H. Ascorbic acid[A]. Alscher R G, Hess J L(eds). Antioxidants in higher plants[M]. Boca Raton: CRC Press, 1993. 31–58.

[30] Shalata A, Mittova V, Volokita M *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]. Physiol. Plant., 2001, 112(4): 487–494.

[31] 刘正鲁,朱月林,魏国平,等. NaCl 胁迫对茄子嫁接幼苗叶片抗坏血酸和谷胱甘肽代谢的影响[J]. 西北植物学报,2007, 27(9): 1795–1800.

Liu Z L, Zhu Y L, Wei G P *et al*. Metabolism of ascorbic acid and glutathione in leaves of grafted eggplant seedlings under NaCl stress[J]. Acta Bot. Bor.-Occid. Sin., 2007, 27(9): 1795–1800.