

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2016.07.2015121104

李贺勤, 王维华, 江绪文. 抗坏血酸对铜胁迫下广藿香幼苗生长、铜积累和抗氧化酶活性的影响[J]. 环境化学, 2016, 35(7): 1431-1437
LI Heqin, WANG Weihua, JIANG Xuwen. Effects of exogenous ascorbic acid on seedling growth, copper accumulation and antioxidant enzyme activities of *Pogostemon cablin* under copper stress[J]. Environmental Chemistry, 2016, 35(7): 1431-1437

抗坏血酸对铜胁迫下广藿香幼苗生长、 铜积累和抗氧化酶活性的影响*

李贺勤[#] 王维华[#] 江绪文^{**}

(青岛农业大学农学与植物保护学院/山东省旱作农业技术重点实验室, 青岛, 266109)

摘 要 通过室内水培试验,研究了外源添加抗坏血酸(Ascorbic acid, AsA)对铜(Copper, Cu)胁迫下广藿香(*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.)幼苗生长、Cu²⁺积累和抗氧化酶活性的影响.结果显示,与对照相比,10—80 μmol·L⁻¹ Cu²⁺降低了广藿香幼苗的苗长、根长、植株生物量和根系耐性指数,且随 Cu²⁺浓度增大抑制作用增强.与 Cu²⁺胁迫相比,外源添加 0.10—0.50 mmol·L⁻¹ AsA 提高了广藿香幼苗的苗长、根长、植株生物量、根系耐性指数、根系活力以及 SOD、POD、CAT 和 APX 酶活性,降低其根系相对电导率、MDA 含量和 Cu²⁺含量;随 AsA 浓度的增加,苗长、根长、植株生物量、根系耐性指数、根系活力以及 POD 和 CAT 活性先升高后下降,相对电导率、MDA 含量和 Cu²⁺含量先下降后上升, SOD 和 APX 活性则一直增加.结果显示,外源添加 0.25 mmol·L⁻¹ 的 AsA 能提高广藿香幼苗细胞清除活性氧的能力,一定程度上缓解 40 μmol·L⁻¹ Cu²⁺胁迫对膜系统的伤害,减轻 Cu²⁺胁迫对广藿香幼苗生长的毒害作用.

关键词 广藿香, 铜胁迫, 抗坏血酸, 幼苗生长, 抗氧化酶.

Effects of exogenous ascorbic acid on seedling growth, copper accumulation and antioxidant enzyme activities of *Pogostemon cablin* under copper stress

LI Heqin[#] WANG Weihua[#] JIANG Xuwen^{**}

(Shandong Provincial Key Laboratory of Dryland Technology/College of Agronomy and Plant Protection,
Qingdao Agricultural University, Qingdao, 266109, China)

Abstract: Effects of exogenous ascorbic acid on the growth, copper accumulation and antioxidant enzyme activities of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. seedlings under copper stress were studied by a hydroponic experiment in the room. The results showed that, compared with control, shoot length, root length, biomass and root tolerance index were all reduced by 10—80 μmol·L⁻¹ Cu²⁺. With the increase of Cu²⁺ concentration, the inhibitory effects were enhanced. Compared with copper stress, shoot length, root length, biomass, root tolerance index, root vigor and the activities of

2015 年 12 月 11 日收稿 (Received: December 11, 2015).

* 青岛农业大学高层次人才引进项目 (1113346), 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金 (BS2014NY007), 青岛农业大学应用型人才培养特色名校建设工程教学研究项目 (XJG2013147), 山东省旱地作物水分高效利用创新团队项目 (62112N5) 资助.

Sponsored by the Research Foundation for Advanced Talents of Qingdao Agricultural University (1113346), the Outstanding Young Scientist Research Award Fund of Shandong Province of China (BS2014NY007), the Teaching Research Project for Construction of the Famous School for Training Practice-oriented Talents of Qingdao Agricultural University (XJG2013147) and the Innovation Team Project for High Efficient Utilization of Water of Dry-land Crops in Shandong Province (62112N5).

#共同贡献 These authors contributed to the work equally.

** 通讯联系人, Tel: 0532-86080447, E-mail: mjxw888@163.com

Corresponding author, Tel: 0532-86080447, E-mail: mjxw888@163.com

superoxide dismutase, peroxidase, catalase and ascorbateperoxidase in roots of *pogostemon cablin* seedling were all improved by exogenous ascorbic acid with $0.10\text{--}0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, while relative electrical conductivity, copper accumulation and malondialdehyde content were reduced. With the increase of AsA concentration, shoot length, root length, biomass, root tolerance index, root vigor and the activities of peroxidase and catalase first increased and then decreased. Relative electrical conductivity, copper accumulation and malondialdehyde content first decreased and then increased. The activities of superoxide dismutase and ascorbateperoxidase increased. The above results indicated that the ability of eliminating reactive oxygen species could be improved and the damage of cell membrane system by $40\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Cu}^{+2}$ could be alleviated to some degree by exogenous $0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ascorbic acid.

Keywords: *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth., copper stress, ascorbic acid, seedling growth, antioxidant enzyme.

近年来,随着农药和化肥的大量施用、工业和生活废弃物的排放,越来越多的重金属污染物进入土壤环境中,导致土壤中重金属污染日益严重.目前最引人注意的土壤重金属污染是 Cu、Pb、As、Cd、Hg 等^[1],这些重金属含量超过一定限度时,不仅会造成植物生长发育和代谢异常^[2-5],导致产量和品质下降,还可通过不同方式进入食物链,进而威胁人类健康.因此,对土壤重金属污染进行治理意义重大.

中草药在医疗康复及保健方面具有独特的优势,越来越受到各国人民的重视.然而土壤中浓度过高的重金属,不仅影响中草药的生长,还易造成其体内重金属含量超标,影响用药安全性^[6].因此,中草药中重金属污染问题日益引起人们的关注,成为当前的研究热点.广藿香 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.,为唇形科多年生草本植物,以地上部分入药,有芳香化浊、和中止呕、发表解暑之功效.然而,已有研究报道某些广藿香药材中存在 Cu 超标现象^[7],影响了广藿香的可持续发展.

Cu 等重金属胁迫可导致植物体内产生大量的活性氧(ROS),破坏细胞膜结构的完整性,紊乱其代谢功能.相对电导率的大小和丙二醛(MDA)含量能反映逆境胁迫下植物质膜受伤害的程度^[8-9],而超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)在植物抵抗胁迫、清除逆境下 ROS 积累方面具有重要作用^[10-11].抗坏血酸(Ascorbic acid, AsA)作为植物体内一种重要的抗氧化剂,在植物抵抗温度胁迫、盐胁迫、生物胁迫等过程中起着非常重要的保护功能^[12],但关于 AsA 对重金属胁迫下植物生长和生理的影响还知之较少.

本研究用 $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 模拟 Cu^{2+} 胁迫环境,采用室内水培法探讨外源添加 AsA 对 Cu^{2+} 胁迫下广藿香幼苗生长、 Cu^{2+} 积累和抗氧化酶活性的影响,研究结果为进一步明确 AsA 的功能及其调控机理提供理论依据,也为土壤重金属污染治理提供理论参考.

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 实验材料

广藿香 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.的干燥成熟种子购于江苏源丰种业, $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 由天津市津北精细化工有限公司提供,抗坏血酸(AsA)由莱阳市康德化工有限公司提供.

1.2 实验设计

取大小均匀饱满健康的广藿香种子, 0.5% NaClO 溶液消毒 10 min 后,无菌水清洗数遍,备用.采用水培法,使用 Hoagland 营养液为基本培养液.在种子发芽盒底部铺两层经 Hoagland 营养液充分湿润的滤纸,播入种子后盖上盒盖,置于智能人工气候箱中进行发芽培养.温度为 $30\text{ }^\circ\text{C}$,光强为 2500 lx ,每天光照 8 h(由预试验知,此条件下广藿香发芽和生长速度最快).4 d 后将发芽种子转移至含 10 、 20 、 40 、 $80\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Cu}^{2+}$ 的 Hoagland 营养液继续培养,同时设 Hoagland 营养液为对照(CK).每个处理设 3 个重复,每重复含 100 粒发芽的种子.以后每天喷洒适量上述营养液以保持滤纸湿润,15 d 后收获,测定幼苗生长指标,从而确定 Cu^{2+} 胁迫浓度.

Cu²⁺胁迫浓度确定后,采用含 Cu²⁺胁迫的 Hoagland 营养液将 AsA 浓度设置为 0.10、0.25、0.50 mmol·L⁻¹,分别以 T1、T2 和 T3 表示,另设 Hoagland 营养液 CK1 和 Cu²⁺胁迫(40 μmol·L⁻¹)对照 CK2,共 5 个处理.在种子发芽盒底部铺两层发芽纸,加入上述相应营养液充分湿润后,将发芽 4 d 的种子置床,盖上盒盖,置于智能人工气候箱中进行培养,每处理 5 次重复,每重复含 100 粒发芽的种子,培养条件同上.15 d 后收获,测定幼苗生长指标和生理指标.

1.3 指标测定

1.3.1 幼苗生长指标

幼苗收获后,从各重复中随机选取 10 株,测其根长、苗长;幼苗植株先后经 105 ℃(30 min)、80 ℃(6 h)烘干后测其生物量;根系耐性指数=处理组根系长度平均值/对照根系长度平均值.

1.3.2 幼苗生理指标

取广藿香幼苗根系,按照高俊凤主编^[13]的《植物生理学指导》介绍的方法测其细胞膜透性(用相对电导率表示)、SOD 活性、POD 活性、CAT 活性、APX 活性、丙二醛含量(MDA),按照郑坚^[14]等的方法测其根系活力.取广藿香幼苗,分成苗和根部分,烘干后于农业部饲料效价与安全监督检验测试中心(北京)测 Cu²⁺含量,方法参照 GB/T 13885—2003.

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 Cu²⁺浓度对广藿香幼苗生长的影响

Cu²⁺是植物生长发育必需的微量营养元素,对植物正常的生长发育有着重要意义^[15].土壤中含有 Cu²⁺可供植物吸收利用,但土壤中 Cu²⁺含量过高时,将会对植物产生毒害作用,影响其生长^[16].如 Cu²⁺浓度超过 5 mg·L⁻¹时,野艾蒿的株高、根长、地上部干重降低^[17];5—20 μmol·L⁻¹ Cu²⁺处理明显抑制玉米幼苗根系生长,并减少玉米幼苗的干物质重量^[18];200 μmol·L⁻¹的 Cu²⁺可抑制小麦幼苗生长,使根长、生物量显著下降^[19];Cu²⁺浓度超过 250 μmol·L⁻¹时,甜菜幼苗生长受到显著抑制,其单株干、鲜重和叶面积均显著下降^[20].本研究中,Cu²⁺降低了广藿香幼苗的苗长、根长、生物量和根系耐性指数,随 Cu²⁺浓度增加抑制作用加强.当 Cu²⁺浓度增加为 40 μmol·L⁻¹和 80 μmol·L⁻¹时,根长、生物量和根系耐性指数下降变缓,且差异不显著.故 40 μmol·L⁻¹ Cu²⁺可以作为室内水培条件下广藿香幼苗生长的胁迫条件(表 1).本研究结果与前人的研究结果一致.但因植物材料的不同,Cu²⁺胁迫浓度有所差异.

表 1 Cu²⁺对广藿香幼苗生长指标的影响

Table 1 Growth indexes of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. seedling under Cu²⁺ stress

Cu ²⁺ 浓度 Concentration/(μmol·L ⁻¹)	苗长 Shoot length/cm	根长 Root length/cm	生物量 Biomass/(mg/10 株)	根系耐性指数 Root tolerance index
CK	1.48±0.11a	3.20±0.12a	16.1±0.2a	—
10	1.38±0.10a	3.08±0.08b	15.5±0.1b	0.96±0.03a
	(-6.76%)	(-3.75%)	(-3.73%)	
20	1.12±0.08b	2.84±0.05c	12.7±0.4c	0.89±0.02b
	(-24.32%)	(-11.25%)	(-21.12%)	
40	0.92±0.08c	2.46±0.05d	11.0±0.3d	0.77±0.04c
	(-37.84%)	(-23.13%)	(-31.68%)	
80	0.78±0.07d	2.36±0.04d	10.7±0.2d	0.74±0.03c
	(-47.3%)	(-26.25%)	(-33.54%)	

注:同一列中有不同字母者代表差异达显著水平($P<0.05$);括号内数据代表处理值比对照值的降低率; $n=3$.

Note: Different letters within column denote significant difference ($P<0.05$); the values of the brackets are the inhibition over control; $n=3$.

2.2 AsA 对 Cu²⁺胁迫下广藿香幼苗生长的影响

与正常处理相比,40 μmol·L⁻¹ Cu²⁺胁迫使广藿香幼苗的苗长、根长和植株生物量分别显著降低了 31.08%、22.09%和 32.30% ($P<0.05$).在此胁迫条件下,外源添加 AsA 后,广藿香幼苗的苗长、根长、生物量以及根系耐性指数都有所提高.当 AsA 浓度为 0.25 mmol·L⁻¹时,苗长、根长和生物量分别比 Cu²⁺胁迫

迫处理显著提高 19.61%、12.6% 和 13.76%,但仍显著低于正常处理 17.57%、12.27% 和 22.98%;根系耐性指数比 Cu^{2+} 胁迫处理显著提高 12.82%。然而,AsA 浓度继续增加,这些指标有所下降,但仍高于 Cu^{2+} 胁迫,低于正常处理,且在生物量上存在显著差异(表 2)。这说明外源添加 AsA 一定程度上减轻了 Cu^{2+} 胁迫对广藿香幼苗的伤害作用。

表 2 AsA 对 Cu^{2+} 胁迫下广藿香幼苗生长指标的影响

Table 2 Effects of AsA on morphological indexs of <i>Pogostemon cablin</i> (Blanco) Benth. seedling under Cu^{2+} stress				
处理 Treatments	苗长 Shoot length/cm	根长 Root length/cm	生物量 Biomass/(mg/ 10 株)	根系耐性指数 Root tolerance index
CK1	1.48±0.13a	3.26±0.17a	16.1±0.2a	—
CK2	1.02±0.16c (-31.08%)	2.54±0.15c (-22.09%)	10.9±0.3d (-32.30%)	0.78±0.05b
T1	1.16±0.11bc (-21.62%)	2.62±0.13c (-19.63%)	11.3±0.2c (-29.81%)	0.80±0.04ab
T2	1.22±0.08b (-17.57%)	2.86±0.17b (-12.27%)	12.4±0.3b (-22.98%)	0.88±0.07a
T3	1.08±0.13bc (-37.04%)	2.70±0.16bc (-17.18%)	11.5±0.2c (-28.57%)	0.83±0.05ab

注：同一列中有不同字母者代表差异达显著水平 ($P<0.05$) ;括号内数据代表处理值比对照值的降低率; $n=5$;下同。
Note: Different letters within column denote significant difference ($P<0.05$) ; the values of the brackets are the inhibition over control; $n=5$; The same below.

Cu^{2+} 胁迫导致植物形态结构发生改变、生物量下降,可能是因为植物受到 Cu^{2+} 胁迫时,一方面,体内正常的离子吸收、运输、渗透和调节等方面平衡被打破,使代谢过程紊乱;另一方面,较多的 Cu^{2+} 进入植株体内后,不仅与核酸、蛋白质和酶等大分子物质结合,而且还可取代某些酶和蛋白质行使其功能时所必需的特定元素,使其变性或活性降低,造成生理功能紊乱^[16]。外源添加 AsA 提高了广藿香幼苗的苗长、根长和生物量,缓解了 Cu^{2+} 胁迫的毒害作用。这可能与 AsA 在植物细胞分裂与生长、细胞壁组成和光合作用等生长发育代谢活动以及抵御逆境胁迫的抗氧化保护等方面具有重要的调控功能有关^[12]。在 AsA 浓度为 $0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,缓解作用最显著。

2.3 AsA 对 Cu^{2+} 胁迫下广藿香幼苗根系相关生理指标的影响

2.3.1 AsA 对 Cu^{2+} 胁迫下广藿香幼苗 Cu^{2+} 含量的影响

正常处理条件下,广藿香幼苗叶片和根中的 Cu^{2+} 含量分别为 $2.85\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ 和 $3.16\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$,表明 Cu^{2+} 是广藿香生长发育的必需元素; $40\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 胁迫下,广藿香幼苗叶片和根中的 Cu^{2+} 含量显著高于正常处理,且根中 Cu^{2+} 含量高于叶片。这可能与 Cu^{2+} 胁迫下植株根冠细胞分裂及生长受抑制,根系生长缓慢、活力降低,致使植物对养分和水分的吸收减少,导致根吸收的 Cu^{2+} 不易向叶片输送有关^[21]。与 $40\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 胁迫相比,外源添加 AsA 显著降低了广藿香幼苗叶片和根中的 Cu^{2+} 含量,这可能与 AsA 改变了植物体内矿质元素的含量,阻碍植物过量吸收 Cu^{2+} 有关。在外源 AsA 浓度为 $0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, Cu^{2+} 含量下降到最低,但仍显著高于正常处理条件下的 Cu^{2+} 含量(表 3)。可见,外源添加 AsA 降低了广藿香幼苗叶片和根系中的 Cu^{2+} 含量,缓解了 Cu^{2+} 对幼苗的伤害作用。这与相同条件下广藿香幼苗的生长情况相一致。

表 3 AsA 对 Cu^{2+} 胁迫下广藿香幼苗铜的影响

Table 3 Effects of AsA on copper accumulation of <i>Pogostemon cablin</i> (Blanco) Benth. seedling under Cu^{2+} stress		
处理 Treatments	叶片 Cu^{2+} 含量 Cu^{2+} in leaf/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$)	根 Cu^{2+} 含量 Cu^{2+} in root/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$)
CK1	2.85±0.20e	3.16±0.31d
CK2	20.78±0.54a	92.74±0.62a
T1	18.20±0.70b	87.66±1.35b
T2	13.85±0.44d	83.31±0.69c
T3	15.88±0.43c	84.54±0.79c

2.3.2 AsA 对 Cu²⁺胁迫下广藿香幼苗根系细胞膜透性、MDA 含量和根系活力的影响

根系是植物吸收养分和水分的主要器官,也是植物首先感受土壤逆境胁迫的重要部位^[22],土壤中重金属含量直接影响到根系的生长发育.逆境胁迫下膜脂过氧化进程加快,MDA 作为细胞膜脂过氧化的产物,其在植物体内含量的变化可以作为衡量逆境对植物造成氧化损害的指标^[23].相对电导率是衡量细胞膜透性的重要指标,其值越大,表示电解质的渗漏量越多,细胞膜受害程度越重.本研究中,40 μmol·L⁻¹ Cu²⁺胁迫下,广藿香幼苗根系的细胞膜透性和 MDA 含量分别比正常处理显著增加了 54.66%和 64.38% ($P<0.05$).与 40 μmol·L⁻¹ Cu²⁺胁迫相比,外源添加 AsA 降低了广藿香幼苗根系的细胞膜透性和 MDA 含量.在外源 AsA 浓度为 0.25 mmol·L⁻¹时,细胞膜透性和 MDA 含量分别达最小值 24.03%和 4.57 μmol·g⁻¹ FW,且与 Cu²⁺胁迫处理有显著差异,但仍分别显著高于正常处理 20.94%和 16.28%;AsA 浓度继续增大时,细胞膜透性和 MDA 含量又有所回升,但仍显著低于 Cu²⁺胁迫处理(表 4).由研究结果可知,Cu²⁺胁迫破坏了广藿香幼苗根系的细胞膜完整性,使其透性增大,外渗物增加;外源添加 AsA 缓解了 Cu²⁺胁迫对广藿香幼苗根系的伤害作用.

根系活力是衡量根系功能的主要指标之一,能够反映根的生长情况和代谢水平,根系活力越大,表明根系的代谢强度越旺盛,根系越健壮^[24].本研究中,40 μmol·L⁻¹ Cu²⁺胁迫下,广藿香幼苗的根系活力比正常处理显著降低了 47.47% ($P<0.05$),同时根中 Cu²⁺含量显著升高,表明 Cu²⁺胁迫对广藿香幼苗的根系产生了毒害作用,这与细胞膜透性增大和 MDA 含量增加相吻合.已有研究表明,多种重金属胁迫会导致植物根系活力下降,如 Pb²⁺浓度超过 25 mg·L⁻¹时,玉米根系活力呈下降趋势^[25];Al³⁺浓度超过 0.5 mmol·L⁻¹时,水稻根系活力下降显著^[26];Cd²⁺浓度超过 0.1 mg·L⁻¹时,多年生黑麦草和剪股颖的根系活力显著下降^[27];当 Cu²⁺或 Zn²⁺浓度超过 40 mg·L⁻¹时,香根草根系活力呈显著下降的趋势,且浓度越高,下降幅度越大^[28].在本研究中,根系活力的降低可能影响了广藿香植株对养分和水分的吸收,进而影响了广藿香幼苗的生长.这由 Cu²⁺胁迫对广藿香苗长的影响大于根长的结果可以证实.与 40 μmol·L⁻¹ Cu²⁺胁迫相比,外源添加 AsA 提高了广藿香幼苗的根系活力.在 AsA 浓度为 0.25 mmol·L⁻¹时,根系活力增加到最大值 9.27 μg·g⁻¹·h⁻¹FW,且与 Cu²⁺胁迫处理有显著差异,但仍显著低于正常处理 25.66%;AsA 浓度继续增大时,根系活力有所减小,但仍显著高于 Cu²⁺胁迫处理(表 4).由此可知,40 μmol·L⁻¹ Cu²⁺胁迫下,广藿香幼苗根系的耐受力显著降低,导致根系的吸收能力下降,对广藿香幼苗的生长造成不利影响.AsA 的加入,缓解了 Cu²⁺对广藿香根系的毒害,提高了根系活力.

表 4 AsA 对 Cu²⁺胁迫下广藿香幼苗根系膜透性、MDA 含量和根系活力的影响
Table 4 Effects of AsA on membrane permeability, MDA content and root vigor of *Pogostemon cablin*
(Blanco) Benth. seedling under Cu²⁺ stress

处理 Treatments	相对电导率 Relative electrical conductivity/%	MDA 含量 MDA content/(μmol·g ⁻¹ FW)	根系活力 Root vigor/(μg·g ⁻¹ ·h ⁻¹ FW)
CK1	19.87±0.40e	3.93±0.20d	12.47±0.39a
CK2	30.73±0.45a	6.46±0.13a	6.55±0.23d
T1	27.23±0.31c	5.67±0.28b	7.52±0.36c
T2	24.03±0.70d	4.57±0.19c	9.27±0.18b
T3	28.40±0.71b	5.37±0.15b	7.68±0.12c

2.3.3 AsA 对 Cu²⁺胁迫下广藿香幼苗根系 SOD、POD、CAT 和 APX 酶活性的影响

SOD、POD 和 CAT 是植物体内的保护酶系统,它们相互协调配合能有效清除植物体内的 ROS.SOD 可歧化 O²⁻生成 H₂O₂和过氧化物,并且减少具毒性的高活性氧化剂羟自由基(·OH)的形成,CAT 和 POD 共同作用把 H₂O₂和过氧化物转化为 H₂O 与 O₂^[11].正常生理条件下,植物能通过保护酶系统清除体内的 ROS,使细胞膜免受伤害.逆境胁迫时,植物体内保护酶系统失调,导致 ROS 产生的速度大于其清除速度,造成 ROS 积累,使细胞膜受到伤害,也会造成植物体内离子失衡.本研究中,与正常处理相比,40 μmol·L⁻¹ Cu²⁺胁迫显著降低了广藿香幼苗根系的 SOD、POD 和 CAT 酶活性 ($P<0.05$),表明广藿香幼苗自身清除 ROS 的能力下降.这可能与高浓度 Cu²⁺胁迫下植物体内蛋白结构和功能遭到破坏,酶活性受到抑制,代谢趋于紊乱有关.40 μmol·L⁻¹ Cu²⁺胁迫下,外源添加 AsA 提高了这些酶的活性.随 AsA 浓

度的增加,SOD 酶活性呈现一直增加的趋势,且各处理间差异显著;POD 和 CAT 酶活性呈先升高后降低的变化趋势,在 AsA 浓度为 $0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,酶活性分别增加到最大值 $23.71\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 和 $19.07\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$,且与 Cu^{2+} 胁迫处理有显著差异,但仍低于正常处理;在 AsA 浓度为 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,POD 和 CAT 酶活性有所下降,但仍显著高于 Cu^{2+} 胁迫处理(表 5).这说明广藿香幼苗的 Cu^{2+} 胁迫在一定程度上得到了缓解.原因可能是 AsA 缓解了 Cu^{2+} 对植物体内蛋白结构和功能的破坏,促进了酶系统的合成,从而增强了植物体内 ROS 的清除能力.

APX 是一种亚铁血红素蛋白,是植物 ROS 代谢中重要的抗氧化酶之一,尤其是叶绿体中清除 H_2O_2 的关键酶,也是 AsA 代谢的主要酶类^[10].与正常处理相比, $40\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 胁迫处理显著降低了广藿香幼苗根系的 APX 酶活性($P<0.05$).这可能与过多的 Cu^{2+} 限制了植物体内 Fe^{2+} 的代谢有关. $40\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 胁迫下,添加 AsA 提高了 APX 的酶活性,且随 AsA 浓度的增加,APX 酶活性呈现一直增加的趋势.在 AsA 浓度为 $0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,APX 酶活性显著高于 Cu^{2+} 胁迫处理,且高于正常处理,但差异不显著;在 AsA 浓度为 $0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,APX 酶活性显著高于正常处理(表 5).这说明广藿香幼苗的 Cu^{2+} 胁迫在一定程度上得到了缓解.原因可能与 AsA 通过 APX 的催化作用或者本身直接与 H_2O_2 反应,将 H_2O_2 还原为 H_2O ,从而降低植物细胞的 H_2O_2 累积,减轻由此引起的氧化胁迫^[29].

表 5 AsA 对 Cu^{2+} 胁迫下广藿香幼苗根系 SOD、POD、CAT 和 APX 酶活性的影响
Table 5 Effects of AsA on the activities of SOD, POD, CAT and APX of *Pogostemon cablin* (Blanco)

Benth. seedling under Cu^{2+} stress				
处理 Treatments	SOD 活性 SOD activity/ $(\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW})$	POD 活性 POD activity/ $(\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW})$	CAT 活性 CAT activity/ $(\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW})$	APX 活性 APX activity/ $(\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{FW})$
CK1	$103.07\pm4.29\text{c}$	$24.85\pm0.85\text{a}$	$19.69\pm0.60\text{a}$	$20.75\pm0.83\text{b}$
CK2	$80.19\pm3.53\text{e}$	$17.67\pm1.20\text{d}$	$15.31\pm0.51\text{d}$	$14.93\pm0.29\text{d}$
T1	$92.13\pm2.93\text{d}$	$19.66\pm0.75\text{c}$	$17.13\pm0.99\text{c}$	$17.80\pm0.41\text{c}$
T2	$116.51\pm5.25\text{b}$	$23.71\pm1.55\text{ab}$	$19.07\pm0.40\text{ab}$	$21.66\pm0.59\text{ab}$
T3	$127.83\pm2.43\text{a}$	$22.52\pm0.75\text{b}$	$18.19\pm0.23\text{bc}$	$22.57\pm0.82\text{a}$

3 结论 (Conclusion)

Cu^{2+} 胁迫抑制了广藿香幼苗的生长,且浓度增大,抑制作用增强;本实验中 $40\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 胁迫下, $0.10\text{--}0.50\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 外源 AsA 的加入,提高了 Cu^{2+} 胁迫下广藿香幼苗的苗长、根长和生物量,降低了相对电导率、 Cu^{2+} 含量和 MDA 含量,提高了根系活力以及 SOD、POD、CAT 和 APX 活性,从而缓解了 Cu^{2+} 对广藿香幼苗的毒害作用. AsA 的最适浓度为 $0.25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$.

参考文献 (References)

[1] 韩小丽, 张小波, 郭兰萍, 等. 中药材重金属污染现状的统计分析[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18): 2041-2048.
HAN X L, ZHANG X B, GUO L P, et al. Statistical analysis of residues of heavy metals in Chinese crude drugs[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2008, 33(18): 2041-2048 (in Chinese).
[2] 孙秀梅, 张纪秀, 张海军, 等. 镉胁迫对拟南芥中氨基酸及其衍生物的影响[J]. 环境化学, 2010, 29(1): 25-28.
SUN X M, ZHANG J X, ZHANG H J, et al. Effect of cadmium on amino acid and their derivatives in *Arabidopsis thaliana* [J]. Environmental Chemistry, 2010, 29(1): 25-28 (in Chinese).
[3] 吴琦, 季辉, 张卫建. 土壤铅和镉胁迫对空心菜生长及抗氧化酶系统的影响[J]. 中国农业科技导报, 2010, 12(2): 122-127.
WU Q, JI H, ZHANG W J. Effects of soil Pb and Cd stresses on the growth and antioxidative enzyme system of swamp cabbage(*Ipomoea Aquatica Forsk.*) [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2010, 12(2): 122-127 (in Chinese).
[4] 庞欣, 王东红, 彭安. 镉对铅胁迫下小麦幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 环境化学, 2002, 21(4): 318-323.
PANG X, WANG D H, PENG A. Effects of La^{3+} on the activities of antioxidant enzymes in wheat seedlings under lead stress [J]. Environmental Chemistry, 2002, 21(4): 318-323 (in Chinese).
[5] 张杰, 黄永杰, 周守标. 铜胁迫下铜对水稻幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 环境化学, 2010, 29(5): 932-937.
ZHANG J, HUANG Y J, ZHOU S B. Effect of La^{3+} on growth and activities of antioxidant enzymes in rice seedling under copper stress [J]. Environmental Chemistry, 2010, 29(5): 932-937 (in Chinese).
[6] 郑琪, 南铁贵, 袁媛, 等. 9 种市售药材中重金属含量调查[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(3): 14-17.
ZHENG Q, NAN T G, YUAN Y, et al. Investigation of heavy metals content in nine kinds of commercial traditional Chinese medicines [J].

- Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2015, 21(3):14-17 (in Chinese).
- [7] 张俊清, 符乃光, 赖伟勇, 等. 海南广藿香等 4 种南药重金属含量研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(12): 1018-1019.
ZHANG J Q, FU N G, LAI W Y, et al. The content of heavy metals in 4 kinds of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth in Hainan[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2006, 31(12): 1018-1019 (in Chinese).
- [8] MORAN J F, BECANA M, ITURBE-ORMAETXE I, et al. Drought induces oxidative stress in pea plants[J]. Planta, 1994, 194(3): 346-352.
- [9] DAVEY M W, STALS E, PANIS B, et al. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues [J]. Analytical Biochemistry, 2005, 347(2):201-207.
- [10] KOZI A. Ascorbate peroxidase-a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants[J]. Physiologia Plantarum, 1992, 85(2):235-241.
- [11] PANDHAIR V, SEKHON B S. Reactive oxygen species and antioxidants in plants: An overview[J]. Journal of Plant Biochemistry Biotechnology, 2006, 15(2):71-78.
- [12] 闫慧芳, 夏方山, 王明亚, 等. 植物体内自由基清除剂抗坏血酸研究进展[J]. 草业科学, 2013, 30(8): 1246-1252.
YAN H F, XIA F S, WANG M Y, et al. Research progress on ascorbic acid in plants[J]. Pratacultural Science, 2013, 30(8): 1246-1252 (in Chinese).
- [13] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
GAO J F. Experimental guidance for plant physiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006 (in Chinese).
- [14] 郑坚, 陈秋夏, 金川, 等. 不同 TTC 法测定枫香等阔叶树容器苗根系活力探讨[J]. 浙江农业科学, 2008, 1(1): 39-42.
ZHENG J, CHEN Q X, JIN C, et al. The effects of different TTC method for the determination of pine broadleaf tree seedling root vigor [J]. Zhejiang Agricultural Sciences, 2008, 1(1): 39-42 (in Chinese).
- [15] 祝沛平. 铜在植物生长发育中的作用[J]. 生物学通报, 2000, 35(10): 7.
ZHU P P. Effect of copper on plant growth and development[J]. Bulletin of Biology, 2000, 35(10): 7 (in Chinese).
- [16] 林义章, 徐磊. 铜污染对高等植物的生理毒害作用研究[J]. 中国生态农业学报, 2007, 15(1): 201-204.
LIN Y Z, XU L. Physiological toxicity of copper pollution to higher plant[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2007, 15(1): 201-204 (in Chinese).
- [17] 甄泉, 严密, 杨红飞, 等. 铜污染对野艾蒿生长发育的胁迫及伤害[J]. 应用生态学报, 2006, 17(8): 1505-1510.
ZHEN Q, YAN M, YANG H F, et al. Coercion and damage of Cu pollution on *Artemisia lavandulaefolia* growth[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(8): 1505-1510 (in Chinese).
- [18] 胡筑兵, 陈亚华, 王桂萍, 等. 铜胁迫对玉米幼苗生长、叶绿素荧光参数和抗氧化酶活性的影响[J]. 植物学通报, 2006, 23(2): 129-137.
HU Z B, CHEN Y H, WANG G P, et al. Effects of copper stress on growth, chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant enzyme activities of *Zea mays* seedlings[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2006, 23(2):129-137(in Chinese).
- [19] 彭向永, 宋敏. 外源半胱氨酸对铜胁迫下小麦幼苗生长、铜积累量及抗氧化系统的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(12): 3504-3511.
PENG X Y, SONG M. Effects of exogenous cysteine on growth, copper accumulation and antioxidative systems in wheat seedlings under Cu stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(12): 3504-3511 (in Chinese).
- [20] 杨丽丽, 冯中涛, 王宝山. 铜胁迫对甜菜幼苗生长和光合特性的影响[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 2012, 27(4): 120-123.
YANG L L, FENG Z T, WANG B S. Effects of Cu^{2+} stress on growth and photosynthesis of *Beta vulgaris*[J]. Journal of Shandong Normal University(Natural Science), 2012, 27(4):120-123 (in Chinese).
- [21] 刘明美, 沈益新. Cu^{2+} 胁迫对多花黑麦草生长及饲草品质的影响[J]. 中国草地, 2005, 27(1):39-44.
LIU M M, SHEN Y X. Effect of Cu^{2+} stress on the growth and quality of Italian Ryegrass[J]. Grassland of China, 2005, 27(1):39-44(in Chinese).
- [22] 田生科, 李延轩, 杨肖娥, 等. 植物对铜的吸收运输及毒害机理研究进展[J]. 土壤通报, 2006, 37(2): 387-394.
TIAN S K, LI Y X, YANG X E, et al. Mechanisms of copper uptake, transportation and detoxification in plants[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2006, 37(2): 387-394 (in Chinese).
- [23] MILLER G, SHULAEV V, MITTLER R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress[J]. Physiol Plantarum, 2008, 133(3): 481-489.
- [24] 王小平, 吴向华, 毛善国. 盐胁迫对九粒白根系活力及叶绿素含量与抗性生理的影响[J]. 北方园艺, 2013, 10: 32-34.
WANG X P, WU X H, MAO S G. Effect of NaCl stress on root activity, chlorophyll content and resistance physiology of *Phaseolus vulgaris* [J]. Northern Horticulture, 2013, 10: 32-34 (in Chinese).
- [25] 张利红, 李雪梅, 陈强, 等. 铅对不同品种玉米幼苗抗氧化酶活性及根系活力的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2006, 28(2): 119-122.
ZHANG L H, LI X M, CHEN Q, et al. Effects of Lead on antioxidant enzymes and root activities among maize cultivars[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2006, 28(2): 119-122 (in Chinese).
- [26] 谢国生, 师瑞红, 庞贞武, 等. 铝胁迫下水稻幼苗根系的生理特性[J]. 应用生态学报, 2009, 20(7): 1698-1704.
XIE G S, SHI R H, PANG Z W, et al. Physiological characteristics of rice seedlings roots under aluminum stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(7): 1698-1704 (in Chinese).
- [27] 王慧忠, 何翠屏. 重金属离子胁迫对草坪草根系生长及其活力的影响[J]. 中国草地学报, 2002, 24(3): 55-58.
WANG H Z, HE C P. Effects of the heavy metals stress on root growth and vigour of turfgrass[J]. Grassland of China, 2002, 24(3): 55-58 (in Chinese).
- [28] 努扎艾提·艾比布, 刘云国, 宋华晓, 等. 重金属 Zn、Cu 对香根草生理生化指标的影响及其积累特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(1): 54-59.
NUZA'AITI A B B, LIU Y G, SONG H X, et al. Effects of Zn and Cu on physiological and biochemical processes and their accumulation characteristics of *Vetiver*[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(1): 54-59 (in Chinese).
- [29] BLOKHINA O, VIROLAINEN E, FAGERSTEDT K V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review[J]. Annals of Botany, 2003, 91(2):179-194.