

锶胁迫对苗期大豆抗氧化系统的影响*

何庆元¹, 向仕华², 张超¹, 佟怡馨¹, 孙丽萍¹,
包礼云¹, 吴婷¹, 黄守程¹

(1. 安徽科技学院 生命科学学院 安徽 凤阳 233100;
2. 自贡市农业科学研究所 四川 自贡 643000)

摘要:【目的】研究稳定性同位素锶对大豆抗氧化系统的影响。【方法】在 1/2 浓度 Hoagland 营养液培育的大豆中, 用不同浓度 (0.00、1.00、5.00、10.00、20.00 和 40.00 mmol/L) 的 SrCl₂ 溶液处理 Vc 期 (单叶半展开, 叶片的叶缘已分离), 待大豆生长至 V2 期 (单叶以上第一片复叶充分生长), 分析不同浓度处理对大豆生长以及 POD、SOD 和 CAT 酶活性及同工酶的影响。【结果】SrCl₂ 处理显著抑制大豆的生长 ($P<0.05$), 并随浓度升高抑制作用增强。0.00~10.00 mmol/L 范围内 SrCl₂ 处理大豆中 POD 酶活性迅速升高; 此后, 随浓度升高, POD 酶活性逐渐降低。SrCl₂ 处理使 SOD 和 CAT 酶活性显著升高 ($P<0.05$), 并且在 5.00 mmol/L 达到最大; 此后, 随浓度升高, 酶活性降低。SrCl₂ 处理大豆的 SOD/POD、SOD/CAT 和 SOD/(POD+CAT) 比值都显著降低 ($P<0.05$)。POD 同工酶在 1.00 和 5.00 mmol/L SrCl₂ 处理时出现了 1 条新的同工酶谱带, 但 5.00 mmol/L 以上浓度处理时 POD 同工酶谱带减少。SOD 和 CAT 在 SrCl₂ 处理时都出现了 1 条新的谱带。【结论】大豆能够通过增强抗氧化酶活性来缓解 SrCl₂ 造成的胁迫, 然而 SOD 酶活性增强较小, 是造成伤害的限制因素。SrCl₂ 处理能够影响不同类型的抗氧化同工酶表达。

关键词: 大豆; 锶; 抗氧化酶; 同工酶

中图分类号: S 565. 103. 4 文献标识码: A 文章编号: 1004-390X (2018) 04-0617-07

Effects of Strontium Stress on the Antioxidative System of Soybean (*Glycine max*)

HE Qingyuan¹, XIANG Shihua², ZHANG Chao¹, TONG Yixin¹, SUN Liping¹,
BAO Liyun¹, WU Ting¹, HUANG Shoucheng¹

(1. Life Science College, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China;
2. Zigong Institute of Agricultural Sciences, Zigong 643000, China)

Abstract: [Purpose] In order to study the effect of strontium on soybean antioxidant system.

[Method] The soybean seedlings of Vc period were deal with using different concentration (0.00, 1.00, 5.00, 10.00, 20.00 and 40.00 mmol/L) SrCl₂ with 1/2-strength Hoagland nutrient solution. The effects on the growth, enzyme activities and isoenzymes of POD, SOD and CAT were analyzed by different treatments until soybean grow to V2 period. [Result] The growth of soybean was significantly inhibited by SrCl₂ treatments ($P<0.05$). The inhibition of soybean growth was greater with increasing SrCl₂ concentration. The POD activity rapidly increased from 0.00 to 10.00 mmol/L SrCl₂

收稿日期: 2017-05-18 修回日期: 2018-01-05 网络出版时间: 2018-07-24

*基金项目: 四川省科技支撑计划 (2015NZ0046); 安徽科技学院稳定人才项目; 安徽科技学院重点学科 (AKZDXK2015B02); 安徽科技学院大学生创新课题 (16XCX50)。

作者简介: 何庆元 (1978—), 安徽宿松人, 男, 博士, 副教授, 主要从事豆科植物遗传育种研究。

E-mail: heqingyuan1@163.com

网络出版地址: [http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).201705007](http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).201705007)

concentrations and decreased with increasing of SrCl_2 concentration when SrCl_2 concentration exceeded 10.00 mmol/L. Activities of SOD and CAT of addition SrCl_2 treatment were significantly higher than no addition ($P<0.05$). Two enzyme activities were the highest 5.00 mmol/L SrCl_2 concentration. The activities decreased with increasing SrCl_2 concentration when SrCl_2 concentration exceeded 5.00 mmol/L. The ratio of SOD/POD, SOD/CAT and SOD/(POD+CAT) were significantly diminished in addition SrCl_2 treatment ($P<0.05$). There was one new band of POD isoenzyme in 1.00 and 5.00 mmol/L SrCl_2 treatments. The bands of POD isoenzyme were reduced more than 5.00 mmol/L SrCl_2 concentrations. There was one new band of SOD and CAT isoenzyme in SrCl_2 treatments, respectively. [Conclusion] The activities of soybean antioxidative enzyme were enhanced to alleviate the strontium stress in SrCl_2 treatment. It is limiting factor of alleviation stress that SOD activity enhanced relatively low. SrCl_2 treatment could affect the expression of antioxidant isoenzymes.

Keywords: soybean; strontium; antioxidant enzyme; isoenzyme

稳定性同位素锶 (Sr) 是人体需要的微量元素, 适量的锶能够促进骨细胞和血管内皮细胞增殖, 抑制破骨细胞形成和降低血管紧张性等功效^[1-2]。然而锶可沉积在人骨组织中并滞留多年, 因此人持续或过量摄入锶会引起机体急、慢性损伤, 如神经调节功能、心血管功能、免疫功能障碍^[3]。随着锶被广泛应用于显像管、制药、焰火等生产以及放射性治疗和核工业等行业之中, 越来越多的锶进入土壤和水等生态环境, 在土壤、水和植物之间转移, 过量的锶通过饮用水和植物食物链途径进入人体, 可能引发人患多种疾病。

利用植物对锶的吸收和富集作用修复遭受高浓度锶污染地区的生态环境具有成本低、效果好、无二次污染等优点。已有的研究表明: 低浓度的锶能够促进一些植物的光合作用, 增强叶片光合效率, 而高浓度的锶妨碍叶片光合作用, 导致光合效率降低^[4-6]。说明在一定条件下低浓度的锶促进植物生长, 高浓度锶对植物产生逆境胁迫作用。逆境胁迫作用在细胞质中大量累积活性氧 (ROS) 分子, 如过氧化氢 (H_2O_2)、超氧阴离子 (O_2^-) 和羟自由基 (HO^-) 等, 进而使植物受到次级氧化胁迫, 最终作用到细胞核的组氨酸激酶受体蛋白 (HKT), 使膜脂、蛋白质和核酸等氧化损伤, 进而改变细胞代谢, 引起对植物的伤害^[7-8]。植物为减轻活性氧对细胞膜及胞内生物大分子的伤害, 其中最为重要的一类途径是通过保护酶系统, 包括过氧化物酶 (POD)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 等清除活性氧, 从而降低逆境胁迫对植物的伤害作用^[9-10]。低浓度的

ROS 能够诱导植物产生对生物和非生物胁迫的保护机制, 但高浓度的 ROS 导致过度的保护, 最终造成对细胞的损伤^[11]。

豆科植物具有较强的富集锶能力, 其干物质中锶的含量最高^[12], 在修复锶污染方面具有较高的应用价值。大豆是全球种植面积最大的豆科作物, 提供了世界 69% 的食用蛋白和 30% 的食用油^[13], 并且一定锶离子浓度中生长的大豆, 其植物铁蛋白 (包括香豆素类、异戊烯黄酮和异黄酮) 含量升高^[14], 异黄酮等物质具有防癌、抗衰老、抗氧化、防治心血管疾病等作用。因此, 在锶污染的土壤中种植大豆不但能够起到修复作用, 而且能够增加大豆中促进人类健康的物质积累。然而, 高浓度的锶可能会对大豆产生逆境胁迫, 导致大豆减产乃至绝收、死亡。锶胁迫植物的抗氧化生理机制虽有部分研究, 但结果并不一致^[15-16], 而锶胁迫大豆抗氧化系统研究也未见报道, 因此本研究旨在探讨大豆锶胁迫下大豆的抗氧化机制, 为大豆修复锶造成的环境污染等提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大豆为南农 1138-2, 是奉贤穗稻黄单株选择获得的品系, 是长江中下游大豆育种的优异亲本和重要推广品种^[17]。

1.2 试验设计

选取籽粒饱满的大豆种子, 经 0.1% HgCl_2 消毒 8 min, 自来水冲洗 5 遍, 播种于装有湿沙的

花盆中, 置于温室大棚中, 自然光照, 待出苗后, 选取长势一致的幼苗转至 1/2 Hoagland 营养液 (pH 5.8) 中用不同浓度 SrCl_2 进行处理。试验设 6 个处理, 在 1/2 Hoagland 中分别添加含 0.00、1.00、5.00、10.00、20.00 和 40.00 mmol/L 的 SrCl_2 溶液, 每个处理 3 个重复, 每个重复 1 盆, 每盆 5 株。

1.3 测定项目和方法

根长和茎长: 培养至 V2 期, 以子叶节为分界点, 分别测量根长和茎长。

鲜重和干重: 从子叶节剪断后, 吸干水渍, 成为根和茎, 称量根和茎鲜重, 经 105 $^{\circ}\text{C}$ 杀青 10 min, 80 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重后分别称取根和茎干重。根冠比 = 根干重/茎干重。

分别采集三出复叶的中间小叶, 重复内 5 株混合取样, 每重复取 0.20 g, 立即用液氮充分研磨, 然后用预冷的 0.20 mol/L 的磷酸缓冲液 (pH 7.8) 按料:液 = 1:5 多次洗涤, 全部转移至 1.5 mL 的离心管中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 10 000 r/min 离心 20 min, 取上清液, 作为待测粗酶液。

酶活性测定: POD 活性用愈创木酚法测定^[18], SOD 活性用邻苯三酚自氧化速率法测定^[19], CAT 活性用紫外吸收法测定^[18]。酶的活力单位用比活力单位表示, 即每分钟吸光度变化 1 个 OD 值 (OD/min)。

$$\text{酶活性单位} = K \cdot (\Delta A \cdot V_t) / (V_s \cdot t)$$

式中, K = 提取酶液总质量 (料和液总质量)/样品质量; ΔA 是反应时间内吸光度的变化, V_t 是测定吸光值时的总体积; V_s 是测定时取用的酶液体积; t 为反应时间, min。

同工酶电泳: 3 种同工酶都采用 Tris-HCl 缓冲体系, 浓缩胶浓度为 4%, 分离胶为 7%。先

用 80 V 电泳 1 h, 然后用 110 V 将 POD 和 SOD 电泳至溴酚蓝至胶底端为止, CAT 溴酚蓝至胶低端后继续电泳 1 h。POD 同工酶用联苯胺染色法^[20]、SOD 同工酶用氯化硝基四氮唑蓝 (NBT) 法^[21]、CAT 同工酶用改良的铁染色法^[22]染色。

1.4 数据分析

数据用 Excel 2007 和 SPSS 13.0 进行统计分析, 经单因素方差分析 (ANOVA) 检验显著性, 最小极差法 (LSD) 进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 锶对大豆生长的影响

从表 1 可知: 随着 SrCl_2 浓度升高, 大豆根长、茎长、根鲜重和干重、茎鲜重和干重都相应减小, 在没有 SrCl_2 胁迫下, 生长最好。根冠比随 SrCl_2 浓度升高而相应增大, 说明 SrCl_2 胁迫逆境条件下, 根生长减少小于茎的减少。经方差分析表明: 大豆的 7 个生长指标都受到不同 SrCl_2 浓度处理的显著影响。最小极差法 (LSD) 多重比较显示: 根长只有在 5.00 和 10.00 mmol/L SrCl_2 浓度处理时差异不显著, 其他处理之间都存在显著差异。茎长只有在 1.00 和 5.00 mmol/L SrCl_2 浓度处理时差异不显著, 其他处理之间都存在显著差异。根鲜重在 1.00 和 5.00 mmol/L 以及 10.00 和 20.00 mmol/L SrCl_2 浓度处理之间不存在显著差异, 其他处理间有显著差异。茎鲜重在不加 SrCl_2 处理与 1.00 mmol/L SrCl_2 处理没有显著差异, 并显著高于添加 5.00 mmol/L 及以上浓度的 SrCl_2 处理。根干重在不加 SrCl_2 处理显著高于用 SrCl_2 处理的根干重, 并且 5.00 mmol/L 及以上浓度处理之间没有显著差异。茎干重只有用 5.00 和 10.0 mmol/L 之间以及 20.00 和 40.00 mmol/L

表 1 不同浓度 SrCl_2 处理下大豆的根和茎生长性状表现

Tab. 1 Characteristics of soybean's root and stem growth treated with different concentrations of SrCl_2

$c(\text{SrCl}_2)/(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	根长/cm length of root	茎长/cm length of shoot	根鲜重/g fresh weight of root	茎鲜重/g fresh weight of shoot	根干重/g dry weight of root	茎干重/g dry weight of shoot	根冠比 root/shoot ratio
0.00	23.25 \pm 0.69 a	26.78 \pm 1.78 a	0.83 \pm 0.035 a	1.42 \pm 0.079 a	0.057 \pm 0.004 a	0.157 \pm 0.008 a	0.37 \pm 0.006 c
1.00	20.45 \pm 1.06 b	21.63 \pm 1.11 b	0.67 \pm 0.045 b	1.35 \pm 0.069 ab	0.054 \pm 0.004 b	0.135 \pm 0.008 b	0.42 \pm 0.008 b
5.00	18.50 \pm 0.60 c	20.10 \pm 1.36 b	0.63 \pm 0.055 b	1.28 \pm 0.049 b	0.052 \pm 0.003 bc	0.120 \pm 0.007 c	0.43 \pm 0.002 b
10.00	17.77 \pm 0.35 c	17.98 \pm 0.38 c	0.59 \pm 0.024 c	0.92 \pm 0.013 c	0.051 \pm 0.002 c	0.117 \pm 0.012 c	0.44 \pm 0.025 b
20.00	15.45 \pm 0.99 d	7.77 \pm 0.15 d	0.56 \pm 0.018 c	0.78 \pm 0.053 d	0.048 \pm 0.002 c	0.096 \pm 0.007 d	0.53 \pm 0.017 a
40.00	13.03 \pm 0.68 e	1.42 \pm 0.08 e	0.48 \pm 0.015 d	0.75 \pm 0.019 d	0.047 \pm 0.001 c	0.086 \pm 0.004 d	0.54 \pm 0.019 a

注: 同列不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$); 下同。

Note: Different letters in the same column indicate significant difference among different treatments at 0.05 level; the same as below.

SrCl_2 浓度处理之间没有显著差异，其他处理之间都存在显著差异。根冠比在不加 SrCl_2 处理时显著小于其他处理，1.00、5.00 和 10.0 mmol/L SrCl_2 处理之间没有显著差异，20.00 和 40.00 mmol/L 处理之间没有显著差异。

2.2 锶对大豆抗氧化酶活性的影响

从表2可知：添加 SrCl_2 后，各浓度处理的 POD、SOD 和 CAT 酶活性均有不同程度的升高，3种酶活性都表现为随 SrCl_2 浓度的升高，先升高后降低，并且只要添加 SrCl_2 处理大豆的酶活性都显著高于未添加 SrCl_2 处理大豆的酶活性。其中，POD 酶活性从 0 到 5.00 mmol/L SrCl_2 处理时缓慢升高，当用 10.00 mmol/L SrCl_2 处理时，迅速升高到最大，然后随处理浓度升高缓慢下降，并且 10.00 与 20.00 mmol/L 处理之间没有显著差异，与其他处理之间都存在显著差异，而 20.00 与 40.00 mmol/L SrCl_2 处理之间以及 1.00 与 5.00 mmol/L SrCl_2 处理之间也没有显著差异。

SOD 酶活性从 0.00 到 5.00 mmol/L SrCl_2 处理时迅速升高，0.00、1.00 和 5.00 mmol/L 3 个 SrCl_2 浓度处理的酶活性两两之间都存在显著性差异。5.00 到 40.00 mmol/L SrCl_2 处理酶活性缓慢下降，并且 5.00、10.00 和 20.00 mmol/L SrCl_2 处理之间酶活性没有显著性差异，而 10.00、20.00 和 40.00 mmol/L SrCl_2 处理之间酶活性也没有显著差异。

CAT 酶活性从 0.00 到 5.00 mmol/L SrCl_2 处理时同样迅速升高，0.00、1.00 和 5.00 mmol/L 3 个 SrCl_2 浓度处理的酶活性两两之间都存在显著性差异。而从 5.00 到 40.00 mmol/L SrCl_2 处理的酶活性减少有所减缓，10.00 与 20.00 mmol/L SrCl_2 处理之间没有显著差异，20.00 与 40.00 mmol/L

SrCl_2 处理之间没有显著差异。

SOD/POD 的比例在 0、1 和 5 mmol/L SrCl_2 浓度处理中没有显著差异，并且显著大于 10、20 和 40 mmol/L SrCl_2 浓度处理，后 3 个高浓度 SrCl_2 处理之间也没有显著差异。SOD/CAT 的比值在未添加 SrCl_2 处理时显著大于添加 SrCl_2 处理时的值，但添加 SrCl_2 处理后，浓度越高，值也越大，从 1.00 到 20.00 mmol/L 的 SrCl_2 处理范围内没有显著差异，5.00 到 40.00 SrCl_2 处理范围内也没有显著差异。SOD/(POD+CAT) 的值中，未添加 SrCl_2 处理时显著大于添加 SrCl_2 处理的值，添加了 SrCl_2 处理的比值之间没有显著差异。

3 个酶的活性分析表明：低浓度 SrCl_2 处理能够迅速提高酶的活性，增强抗氧化能力，达到缓解 SrCl_2 胁迫的作用，但浓度达到一定程度后，随 SrCl_2 浓度升高，酶活性逐渐降低，抗氧化能力受到一定的抑制。

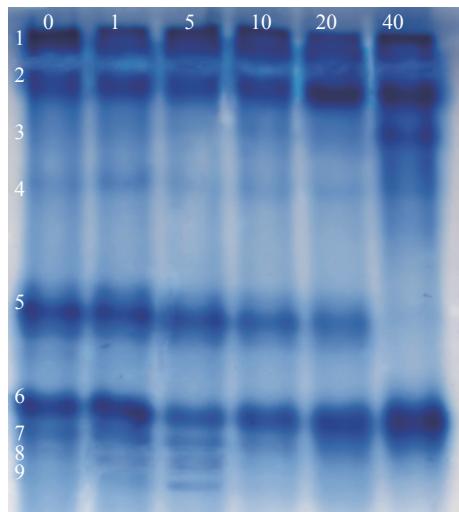
2.3 锶胁迫对大豆抗氧化酶谱的影响

从图1可知：在 SrCl_2 胁迫下，大豆叶片中共产生了 9 种不同的 POD 酶带。其中，1、2、4、6 和 7 型是 6 个处理共有的酶带，随 SrCl_2 浓度的增加，同工酶的种类先增加，在对照处理的大豆中，除了第 9 型 POD 同工酶不表达外，其余 8 种表达；在 1 和 5 mmol/L SrCl_2 处理时大豆 POD 同工酶种类表达最多，9 种 POD 的同工酶都表达。5 mmol/L 处理后，随浓度升高，POD 同工酶种类表达减少，10 和 20 mmol/L 处理下第 8 和 9 型 POD 同工酶不表达，其余均表达，40 mmol/L SrCl_2 处理下表达酶类型最少，第 5、8 和 9 型 3 种 POD 同工酶不表达。说明随 SrCl_2 浓度的升高，部分类型的 POD 同工酶基因表达受到抑制。

表 2 不同 SrCl_2 处理大豆抗氧化酶活性和比值

Tab. 2 Activities and ratio of anti-oxidative enzyme of soybean under different SrCl_2 treatments

$c(\text{SrCl}_2)/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	酶活性/(OD \cdot min $^{-1}$) activities of anti-oxidative enzyme			SOD/POD	SOD/CAT	SOD/(POD+CAT)
	POD	SOD	CAT			
0.00	14.66 \pm 1.18 d	9.42 \pm 1.29 d	30.98 \pm 3.29 d	0.64 \pm 0.04 a	0.30 \pm 0.02 a	0.21 \pm 0.01 a
1.00	20.02 \pm 1.81 c	11.66 \pm 1.44 c	56.35 \pm 2.86 bc	0.59 \pm 0.12 a	0.21 \pm 0.02 c	0.15 \pm 0.02 b
5.00	24.44 \pm 1.94 c	15.70 \pm 1.37 a	69.77 \pm 5.19 a	0.65 \pm 0.05 a	0.23 \pm 0.04 bc	0.17 \pm 0.02 b
10.00	54.82 \pm 2.66 a	14.93 \pm 1.16 ab	60.09 \pm 6.44 b	0.27 \pm 0.02 b	0.25 \pm 0.03 bc	0.13 \pm 0.01 c
20.00	49.50 \pm 4.97 ab	14.46 \pm 0.86 ab	58.40 \pm 3.04 bc	0.30 \pm 0.05 b	0.25 \pm 0.03 bc	0.13 \pm 0.02 c
40.00	45.38 \pm 4.25 b	13.56 \pm 0.65 bc	51.80 \pm 3.97 c	0.30 \pm 0.02 b	0.26 \pm 0.01 b	0.14 \pm 0.01 c



注: 横向数字代表 SrCl_2 处理浓度; 纵向数字代表 POD 同工酶酶谱; 下同。

Note: The transverse numbers represent the concentrations of SrCl_2 , and the vertical numbers represent the patterns of POD isoenzymes.

图 1 不同浓度 SrCl_2 处理对大豆 POD 同工酶谱的影响

Fig. 1 Effects of SrCl_2 treatments on the POD isoenzyme patterns of soybean

从图 2 可知: 在 SrCl_2 胁迫的作用下, 大豆叶片中共产生了 5 条不同的 SOD 酶带。其中在不添加 SrCl_2 处理的大豆中有 4 种 SOD 同工酶, 3 型 SOD 同工酶不表达, 5 个添加 SrCl_2 处理的大豆中, 5 种 SOD 同工酶都表达, 说明添加 SrCl_2 处理诱导了 3 型 SOD 同工酶表达来缓解胁迫作用所产生的活性氧 (ROS) 分子所产生的伤害。

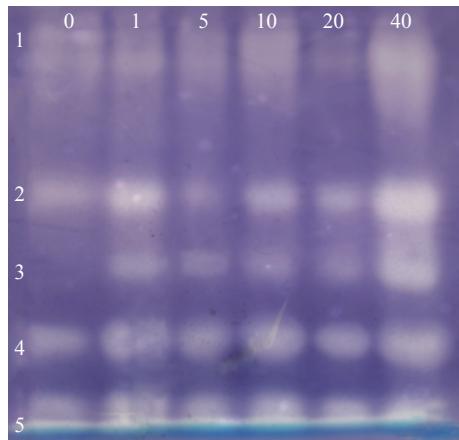


图 2 不同浓度 SrCl_2 处理对大豆 SOD 同工酶谱的影响

Fig. 2 Effects of SrCl_2 treatments on the SOD isoenzyme patterns of soybean

从图 3 可知: 在 SrCl_2 胁迫的作用下, 大豆叶片中共产生了 2 条不同的 CAT 酶带。其中在不添加 SrCl_2 处理的大豆中只能产生 1 型 CAT

同工酶, 而在 5 个添加 SrCl_2 处理的大豆中, 1 和 2 型 2 种 CAT 同工酶同时表达, 说明添加 SrCl_2 处理诱导了 2 型 CAT 同工酶表达来缓解胁迫作用所产生的活性氧 (ROS) 分子所产生的伤害。

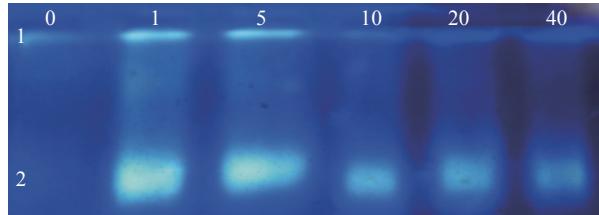


图 3 不同浓度 SrCl_2 处理对大豆 CAT 同工酶谱的影响

Fig. 3 Effects of SrCl_2 treatments on the CAT isoenzyme patterns of soybean

3 讨论

已有研究表明: 低浓度的镉能够促进油菜和水稻的生长, 提高光合效率, 高浓度的镉抑制植物生长^[5, 23], 然而大豆上并未见相关报道。本研究利用不同浓度镉处理大豆幼苗, 结果表明: 低浓度到高浓度的镉处理对大豆生长都有一定的抑制作用, 随浓度的增加, 抑制作用越强。虽然一定浓度镉能够使大豆增加对人类有益的植物铁蛋白含量^[14], 然而随镉浓度的增加, 大豆生长受到危害, 因此镉污染严重的地区并不适合大豆种植。

植物在逆境胁迫下大量累积活性氧分子。过量的 ROS 攻击脂质、蛋白质等生物分子, 导致它们氧化降解, 酶失活, 生物膜透性增强^[24]。抗氧化酶系统能够有效清除植物中因胁迫诱导产生的过量 ROS^[25]。大豆在镉处理胁迫下, 3 种抗氧化酶 (POD、SOD 和 CAT) 活性都显著升高, 并且随浓度增大都快速升高, 其中 POD 酶活性在 10 mmol/L SrCl_2 处理时增加到最大, SOD 和 CAT 酶活性在 5 mmol/L SrCl_2 处理时达到最大。此后, 随 SrCl_2 处理浓度增大, 3 种抗氧化酶的活性均有不同程度的降低, 但降低速度低于先前各自的升高速度。这可能是在低浓度镉胁迫下, 大豆快速增强抗氧化系统酶的表达减少镉胁迫产生的活性氧积累, 有助于缓解胁迫带来的伤害, 但在高浓度镉胁迫条件下, 大豆抗氧化系统无法应对大量累积的 ROS, 导致了对植物的伤害。

已有的研究表明: 在清除 ROS 的途径中, SOD 酶负责将 O_2^- 歧化为 H_2O_2 , POD 和 CAT 酶负责清除 H_2O_2 ^[20], 如果两者比例不协调同样达不

到清除活性氧毒害的作用。本研究表明：虽然3种抗氧化酶都有不同程度的升高，然而SOD/POD值在高于5.00 mmol/L的SrCl₂处理下显著降低。而SOD/CAT比值在添加SrCl₂处理就表现降低，SOD/(POD+CAT)的比值添加SrCl₂处理就表现为显著下降，而添加不同浓度SrCl₂处理之间没有显著差异。说明清除SrCl₂胁迫所产生ROS对大豆伤害的限制因素是SOD酶无法将O₂⁻歧化为H₂O₂。

同工酶能催化相同的化学反应，但其蛋白质分子结构、理化性质等存在明显差异。植物随生长阶段、外界环境的改变和自身生理状态的改变，同工酶谱带会发生相应的改变。在逆境胁迫下，植物为抵御不良环境会表达产生抗氧化系统酶的旁路途径，表达新的同工酶^[8,26]。本研究所用材料南农1138-2是基因型高度纯合的品种，本研究中同工酶的基因表达差异唯一来源于不同SrCl₂处理。从抗氧化酶的同工酶谱带可见：POD种质资源遗传多样性研究在1和5 mmol/L SrCl₂处理时大豆POD同工酶谱带最多，SrCl₂处理诱导大豆表达了新的同工酶，5 mmol/L以上随SrCl₂浓度升高，POD同工酶谱带减少，表达受到抑制。而SOD和CAT同工酶在添加SrCl₂处理都新增了1条谱带，说明SrCl₂处理诱导了同工酶基因的表达，使大豆产生了一种新的同工酶谱带。

4 结论

SrCl₂作用抑制了大豆的生长，并随浓度升高抑制作用增加。大豆抗氧化系统的POD、SOD和CAT酶活性随SrCl₂浓度升高，表现为先升高后降低。其中POD在10 mmol/L、SOD和CAT在5 mmol/L SrCl₂处理时活性最大。并且SOD/POD、SOD/CAT和SOD/(POD+CAT)在SrCl₂处理下比值降低，SOD酶活性是清除SrCl₂使大豆产生过量ROS的限制因素。1.00和5.00 mmol/L SrCl₂处理下大豆产生1条新的POD酶谱带，5 mmol/L以上SrCl₂浓度处理，随浓度增加有部分POD谱带消失。SOD和CAT同工酶在SrCl₂处理时产生了1条新的酶带。

[参考文献]

[1] 王伟,赵建华.锶对人骨髓间充质干细胞增殖和成骨分

- 化的影响[J].解放军医学杂志,2010,35(4):420.
- [2] 蔺艳,张莹茜,盘强文,等.锶矿水对人血管内皮细胞的增殖和功能的影响[J].中国食品卫生杂志,2013,25(2):136.
- [3] COHEN-SOLAL M. Strontium overload and toxicity: impact on renal osteodystrophy[J]. Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association-European Renal Association, 2002, 17(S2): 30.
- [4] CHEN M, TANG Y L, AO J, et al. Effects of strontium on photosynthetic characteristics of oilseed rape seedlings[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2012, 59(6): 772. DOI: [10.1134/S1021443712060052](https://doi.org/10.1134/S1021443712060052).
- [5] 周璐璐,唐运来,陈霞,等.锶对油菜幼苗叶片光合作用的影响[J].植物学报,2013,48(3):313. DOI: [10.3724/SP.J.1259.2013.00313](https://doi.org/10.3724/SP.J.1259.2013.00313).
- [6] 朱靖,刘建芹,杨叶,等.锶胁迫对垂柳光合生理的影响[J].环境科学与技术,2015,38(10):32.
- [7] DEIN U, STEPHAN A B, HORIE T, et al. Plant salt-tolerance mechanism[J]. Trends in Plant Science, 2014, 19(6): 371. DOI: [10.1016/j.tplants.2014.02.001](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.02.001).
- [8] 何庆元,向仕华,吴萍,等.硫化氢对盐胁迫条件下大豆抗氧化酶活性的影响[J].大豆科学,2015,34(3):427. DOI: [10.1186/j.issn.1000-9841.2015.03.0427](https://doi.org/10.1186/j.issn.1000-9841.2015.03.0427).
- [9] FOYER C H, DESCOURVIÈRES P, KUNERT K J. Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants[J]. Plant, Cell and Environment, 1994, 17: 507. DOI: [10.1111/j.1365-3040.1994.tb00146.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1994.tb00146.x).
- [10] BOWLER C, MONTAGU M V, INZÉ D. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 1992, 43: 83. DOI: [10.1146/annurev.pp.43.060192.000503](https://doi.org/10.1146/annurev.pp.43.060192.000503).
- [11] VAN BREUSEGEM F, VRANOVÁ E, DAT J F, et al. The role of active oxygen species in plant signal transduction[J]. Plant Science, 2001, 161(3): 405. DOI: [10.1016/S0168-9452\(01\)00452-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00452-6).
- [12] 姜晓燕,刘淑娟,闫冬,等.植物对核素锶的吸附与富集作用研究现状[J].癌变·畸变·突变,2014,26(6):463. DOI: [10.3969/j.issn.1004-616x.2014.06.014](https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-616x.2014.06.014).
- [13] LAM H M, XU X, LIU X, et al. Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies patterns of genetic diversity and selection[J]. Nature Genetics, 2010, 42(12): 1053. DOI: [10.1038/ng.715](https://doi.org/10.1038/ng.715).
- [14] WÓJCIAK-KOSIOR M, SOWA I, BLICHARSKI T, et al. The stimulatory effect of strontium ions on phytoestrogens content in *Glycine max* (L.) Merr[J]. Molecules, 2016, 21(1): 90. DOI: [10.3390/molecules21010090](https://doi.org/10.3390/molecules21010090).
- [15] 敖嘉,唐运来,陈梅,等. Sr胁迫对油菜幼苗抗氧化指标影响的研究[J].核农学报,2010,24(1):166.
- [16] 杨叶,陈珂,朱靖.施加钙对锶胁迫下麻疯树生长及生理生化的影响[J].核农学报,2015,29(2):405. DOI: [10.11869/j.issn.100-8551.2015.02.0405](https://doi.org/10.11869/j.issn.100-8551.2015.02.0405).
- [17] 熊冬金,赵团结,盖钧镒.中国大豆育成品种亲本分析[J].中国农业科学,2008,41(9):2589. DOI: [10.3864/j.issn.0578-1752.2008.09.004](https://doi.org/10.3864/j.issn.0578-1752.2008.09.004).

- [18] 李忠光, 龚明. 植物生理学综合性和设计性实验教程[M]. 武汉: 华中科技大学出版社, 2014.
- [19] 韩少华, 朱靖博, 王妍妍. 邻苯三酚自氧化法测定抗氧化活性的方法研究[J]. 中国酿造, 2009, 207(6): 155. DOI: [10.3969/j.issn.0254-5071.2009.06.050](https://doi.org/10.3969/j.issn.0254-5071.2009.06.050).
- [20] 王松华, 张华, 崔元戎, 等. 镉对灵芝菌丝抗氧化系统的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(6): 1355.
- [21] 罗广华, 王爱国. 植物 SOD 的凝胶电泳及活性的显示[J]. 植物生理学通讯, 1983, 6: 44. DOI: [10.13592/j.cnki.pjj.1983.06.024](https://doi.org/10.13592/j.cnki.pjj.1983.06.024).
- [22] 董泗建, 刘昌玲. 一种鉴定过氧化氢酶活性的铁染色法[J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(1): 86.
- [23] CHOI Y H, KANG H S, JUN I, et al. Transfer of ⁹⁰Sr to rice plants after its acute deposition onto flooded paddy soils[J]. Journal of Environmental Radioactivity, 2007, 93(3): 157. DOI: [10.1016/j.jenvrad.2006.12.008](https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2006.12.008).
- [24] SHARMA S S, DIETZ K J. The relationship between metal toxicity and cellular redox imbalance[J]. Trends in Plant Science, 2009, 14(1): 43. DOI: [10.1016/j.tplants.2008.10.007](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.007).
- [25] MITTLER R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. Trends in Plant Science, 2002, 7(9): 405. DOI: [10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9).
- [26] 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.

责任编辑: 何承刚