

壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜生理生化指标的缓解作用

曹 委^{1,2}, 陈振德², 王 文^{2,3}, 陈 宁⁴

(1.青岛农业大学园艺学院, 山东 青岛 266109; 2.青岛市农业科学研究院, 山东 青岛 266100; 3.西南大学园艺园林学院, 重庆 400716; 4.山东农业大学生命科学学院, 山东 泰安 271018)

摘 要:以菠菜(*Spinacia oleracea* L.)为材料,在露地栽培条件下研究了不同浓度壳聚糖(0、50、100、200 mg·L⁻¹)对毒死蜱胁迫下菠菜超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、O₂⁻产生速率、过氧化氢(H₂O₂)、丙二醛(MDA)、脯氨酸、可溶性糖积累的缓解作用。结果表明,壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜抗氧化酶活性及相关生理指标起到了缓解作用,其中低浓度壳聚糖(50、100 mg·L⁻¹)的缓解作用更为明显。喷施低浓度壳聚糖后,能提高菠菜的 SOD 活性,降低 O₂⁻产生速率以及 MDA、脯氨酸和 H₂O₂ 的积累,从而缓解毒死蜱对菠菜的胁迫作用。与毒死蜱胁迫相比,壳聚糖能将毒死蜱胁迫下的抗氧化酶活性及相关生理指标较早的恢复到对照水平,主要体现在 SOD 活性以及 MDA、可溶性糖、脯氨酸和 H₂O₂ 积累的变化上。就壳聚糖的缓解作用而言,壳聚糖对菠菜 SOD 活性、O₂⁻产生速率以及 MDA、脯氨酸和 H₂O₂ 积累的缓解作用较大,而对 POD、CAT、APX 活性和可溶性糖积累的缓解作用较小。

关键词:壳聚糖;毒死蜱;农药胁迫;抗氧化酶;菠菜

中图分类号:X592 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)05-0851-07

Alleviation Effects of Spraying Chitosan on Spinach Seedling Physiological Indexes Under Chlorpyrifos Stress

CAO Wei^{1,2}, CHEN Zhen-de¹, WANG Wen^{2,3}, CHEN Ning⁴

(1.College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 2.Qingdao Academy of Agricultural Sciences, Qingdao 266100, China; 3.College of Horticulture, Southwest University, Chongqing 400716, China; 4.College of Life Science, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: In recent years, more attentions have been paid to the chemical pesticide application and its influences on crops. It is well documented that the use of organophosphorus pesticides in vegetables could significantly change some physiological metabolisms, and then growth of vegetables. In the present study we investigated effects of spraying chitosan with different concentration on the activities of SOD, POD, CAT, and APX, O₂⁻ producing rate, and the content of H₂O₂, MDA, proline, and soluble sugar in spinach seedlings under chlorpyrifos stress in the open-field. Results showed that spraying with lower chitosan concentrations(50,100 mg·L⁻¹) alleviated damages caused by chlorpyrifos stress more effectively than that of with other concentration. After spraying with lower concentrations, the SOD activity was increased, O₂⁻ producing rate, MDA, proline, and H₂O₂ content in spinach seedlings were reduced. The activities of SOD, and POD, the content of H₂O₂, MDA, proline, and soluble sugar in chitosan spraying treatments could be recovered more earlier from the chlorpyrifos stress to the control level. The effects of spraying chitosan on the activity of SOD, O₂⁻ producing rate, the content of H₂O₂, proline, and MDA in spinach were more effectively than on the activities of POD, CAT, and APX, and the soluble sugar content.

Keywords: chitosan; chlorpyrifos; pesticide stress; antioxidant enzymes; spinach

在现行农耕制度下, 农药在防治作物病虫害、减少作物产量损失方面起了很重要的作用。毒死蜱

(Chlorpyrifos)作为一种有机磷杀虫、杀螨剂,适用于水稻、小麦、棉花、果树、蔬菜、茶树上多种咀嚼式和刺吸式口器害虫的防治。尤其是随着高效高毒农药的禁用,毒死蜱作为代替高效高毒的农药,其使用范围越来越广,用量越来越大。由于蔬菜复种指数高、茬口多,病虫害发生频繁,在生产实践中常常因防治病虫害而大量、多次使用化学农药,从而造成蔬菜产品中

收稿日期:2009-10-19

基金项目:青岛市自然科学基金(07-2-3-4-jch)

作者简介:曹 委(1985—),男,硕士研究生,主要从事蔬菜生理与食品安全方面的研究。E-mail:killer2ying@163.com

通讯作者:陈振德 E-mail:qdczd@tom.com

农药残留量超标。农药对病虫害的发生有防治作用,表观上对作物本身没有造成药害,但其生理生化指标却发生着明显的变化^[1]。张清智等^[2]研究表明,不同浓度毒死蜱对大棚栽培条件下小白菜的抗氧化酶活性产生较明显的影响,表现为先下降后上升的趋势;毒死蜱胁迫导致 MDA 含量增加,促进了小白菜的膜脂过氧化作用。若过量使用毒死蜱,会导致植物体内 POD 活性以及 MDA 和脯氨酸含量增加^[3]。杨涛等^[4]报道,喷施乐果可促使菠菜叶片 POD 和 CAT 活性增强,MDA 含量明显增加。氰戊菊酯胁迫对小白菜 SOD 和 POD 活性以及 MDA 含量的影响较大^[5]。在油菜遭受丙溴磷胁迫初期,POD 和 CAT 活性发生明显变化^[6]。此外有机磷农药喷洒后致使植物体内产生大量活性氧自由基,进而诱导细胞内防御活性氧自由基毒害物质的产生^[7]。

壳聚糖(chitosan)是自然界广泛存在的一种天然聚合物,在农业上具有诱导作物抗性、提高产量的作用。有研究表明,在黄瓜上喷施壳聚糖能够促进生长、提高壮苗指数^[8],增加产量、改善品质^[9],增强幼苗的抗冷性和抗盐性^[10-11]。从心黎等^[12]报道,用 0.4%壳聚糖预处理红掌叶片,可增强其 SOD 活性,降低 MDA 含量。用壳聚糖处理苜蓿幼苗有增加干旱胁迫下脯氨酸积累速率的趋势,提高和维持其 POD 活性^[13]。100 mg·L⁻¹壳聚糖处理苹果幼苗,可提高其 SOD 和 CAT 活性,增加可溶性糖含量,降低 MDA 含量^[14]。闫晓花^[15]研究表明,壳聚糖处理可使低温胁迫下辣椒幼苗的可溶性糖含量、SOD 和 CAT 活性升高,MDA 含量降低。吴飞鹏^[16]研究了壳聚糖对自由基的清除作用,指出壳聚糖清除自由基的能力随着壳聚糖浓度的增大而提高,随着壳聚糖分子量的增大而降低。

上述大多是农药或壳聚糖对植物生长发育、生理生化以及逆境胁迫影响方面的研究,但壳聚糖对农药胁迫下植物生理生化指标的影响未见报道。本试验通过研究不同浓度壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜抗氧化酶活性及相关生理指标的影响,以探讨壳聚糖对毒死蜱胁迫的缓解作用。

1 材料与方法

1.1 供试农药

毒死蜱,40%乳油,有效成分(Chlorpyrifos)的化学名称为 O,O-二乙基-O-(3,5,6-三氯-2-吡啶基)硫代磷酸酯,由广西田园生化股份有限公司生产。

壳聚糖,脱乙酰度≥90.0%,粘度<100 cps,由上

海伯奥生物科技有限公司生产。

1.2 材料种植

菠菜品种为耐冬,由青岛国际种苗有限公司提供。试验安排在青岛市农科院综合试验场试验田,在整地之前取土样分析土壤养分,有机质 1.77%,碱解 N 169.4 mg·kg⁻¹,速效 P₂O₅ 174.8 mg·kg⁻¹,速效 K₂O 140.0 mg·kg⁻¹,pH 5.7。

每 666.7 m² 基施复合肥(养分含量 45%)50 kg,将试验田耕翻整平后,按 1.2 m 的畦宽做畦。2009 年 4 月 2 日干籽直播,每穴 5~6 粒菠菜种子,株行距为 20 cm×30 cm。每畦作为一个试验小区,小区面积为 1.2 m×6.0 m,按照常规进行田间管理。在 2009 年 5 月 6 日菠菜长有 6~7 片叶片、株高 15~20 cm 时进行试验处理。

1.3 试验方法

于 2009 年 5 月 6 日(菠菜长有 6~7 片叶片)均匀喷雾 1 000 倍液毒死蜱,每小区喷施 0.5 L(对照不喷毒死蜱,只喷等量清水)。2 d 后在已经喷施毒死蜱的菠菜上喷施 0、50、100 和 200 mg·L⁻¹ 的壳聚糖水溶液,以喷施等量的清水、且未喷施毒死蜱的正常生长菠菜作为对照,每个处理重复 3 次,每个重复一个小区,随机排列。喷施壳聚糖后第 0(2 h)、1、3、5、7、14 d 取样,样品采集选用多点混合采样方法,采集的样品立即送实验室检测。取第 3 片展开叶测定超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性、丙二醛(MDA)含量、O₂^{·-}产生速率和 H₂O₂ 含量;取整株测定可溶性糖和脯氨酸含量。计算结果均以菠菜鲜重计。

1.4 测定方法

称取菠菜叶片 0.5 g 放入研钵中,加 5 mL pH 7.8 (0.05 mol·L⁻¹)的磷酸缓冲液(含 1%的 PVP),冰浴研磨,匀浆倒入离心管中,4 ℃离心 10 min (12 000 r·min⁻¹),上清液即为酶提液。置于 0~4 ℃下保存待用。

SOD 活性的测定采用氮蓝四唑法测定,NBT 光还原 50%为单位,测定 OD₅₆₀^[17]。POD 活性的测定采用愈创木酚法,以每分钟内 OD₄₇₀ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位^[17]。CAT 活性的测定采用紫外吸收法,以每分钟内 OD₂₄₀ 变化 0.1 为 1 个酶活性单位^[17]。MDA 含量的测定采用硫代巴比妥酸法,测定 OD₆₀₀、OD₅₃₂、OD₄₅₀^[18]。APX 活性参照 Nakano 等的方法测定^[19]。O₂^{·-}产生速率参照王爱国等的方法测定^[20]。H₂O₂ 含量参照林植芳等的方法测定^[21]。脯氨酸含量的测定采用磺基水杨酸法,测定 OD₅₂₀^[22]。可溶性糖含量的测定采用蒽

酮比色法,测定 $OD_{620}^{[22]}$ 。上述指标测定均用日本岛津 UV-2550 型紫外可见分光光度计测定。

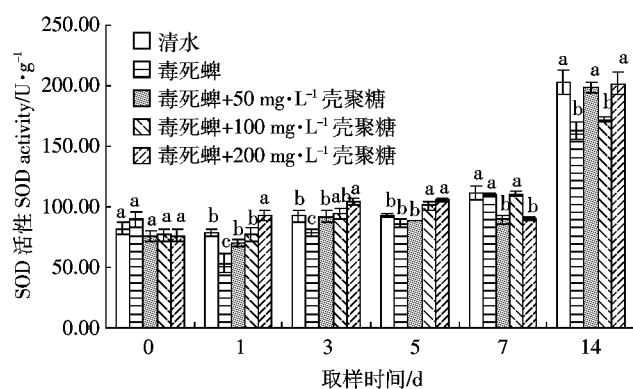
1.5 统计方法

采用 Excel、DPS2000 进行数据的统计分析。

2 结果与分析

2.1 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中抗氧化酶活性的缓解作用

从图 1 可以看出,菠菜在受到毒死蜱胁迫后,SOD 活性明显受到抑制,在第 1、3、14 d 均与清水对照达到显著差异水平。喷施壳聚糖后,SOD 活性在第 1 d 到第 5 d 较单喷毒死蜱有明显提高,尤其是喷施壳聚糖后的第 1 d,50、100、200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 壳聚糖处理分别比单喷毒死蜱的 SOD 活性增加 30.9%、45.4%、74.9%。从第 3 d 开始,50、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 壳聚糖处理的 SOD 活性与对照水平基本一致,而单喷毒死蜱的 SOD 活性在第 14 d 仍与对照存在显著差异。第 14 d,各处理的 SOD 活性均明显提高,说明随着试验天数的增加,菠菜受到的毒死蜱胁迫已经减弱,胁迫对 SOD 活性的抑制作用已经基本解除。上述结果说明,一方面毒死蜱胁迫对菠菜 SOD 活性影响的持续时间较长;另一方面壳聚糖对毒死蜱胁迫具有明显的缓解作用,可在较短的时间内使菠菜的 SOD 活性恢复到对照水平。



图中字母 a、b、c 分别表示 $P < 0.05$ 差异显著水平,下同。

Numbers in the figure with a, b, c letters indicate a significant difference $P < 0.05$, same below.

图 1 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中 SOD 活性的缓解作用

Figure 1 Alleviation effects of chitosan on SOD activity in spinach under chlorpyrifos stress

图 2 显示,菠菜 POD 活性变化呈现先降低后升高的趋势。除第 1 d 外,毒死蜱胁迫均不同程度地促进了菠菜 POD 活性的提高。其中第 0 d,POD 活性较对照增加了 22.6%;第 3 d 增加了 34.1%;第 5 d 增加

了 1.61%;第 7 d 增加了 81.1%;第 14 d 增加了 6.39%。喷施毒死蜱之后再喷壳聚糖,菠菜的 POD 活性均比毒死蜱胁迫的低(第 1 d 除外)。直到第 14 d,毒死蜱胁迫及壳聚糖处理的菠菜 POD 的活性接近对照水平,无显著差异。这说明毒死蜱胁迫对菠菜 POD 活性影响的持续时间较长,而壳聚糖消除毒死蜱胁迫对菠菜 POD 活性影响的时间过程也较长。

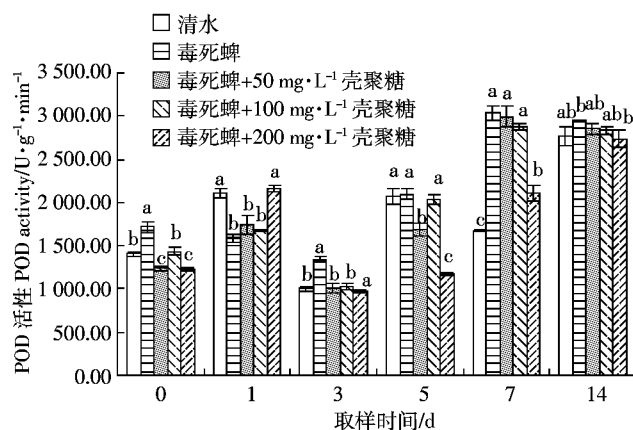


图 2 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中 POD 活性的缓解作用

Figure 2 Alleviation effects of chitosan on POD activity in spinach under chlorpyrifos stress

由图 3 可知,毒死蜱胁迫对 CAT 活性的影响较小。在第 0 d,各处理的 CAT 活性均高于对照,分别比对照增加了 15.3%、17.3%、9.7%、14.3%。随着处理时间的延长,各处理的 CAT 活性基本保持不变,只是在第 3 d 时,单喷毒死蜱、50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 壳聚糖、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 壳聚糖、200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 壳聚糖处理的 CAT 活性均比对照低。到第 14 d,所有处理的 CAT 活性差异不显著(图 3),说明毒死蜱对菠菜 CAT 活性的影响基本消除。

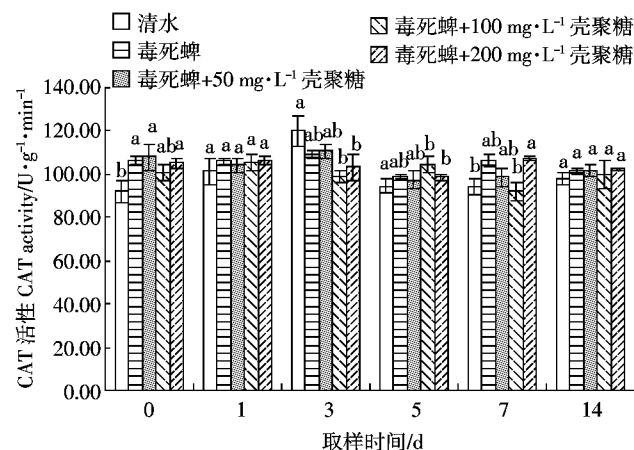


图 3 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中 CAT 活性的缓解作用

Figure 3 Alleviation effects of chitosan on CAT activity in spinach under chlorpyrifos stress

2.2 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中 APX 活性的缓解作用

从图 4 可以看出,APX 活性呈现先降低后升高的趋势,这与图 2 显示 POD 活性的变化规律基本相同。第 0 d,各处理之间的差异不明显。在第 3 d,各处理 APX 活性接近或低于对照水平;而到第 5 d 和第 7 d,各处理 APX 活性均高于对照,达到显著性差异;到第 14 d,各处理 APX 活性均接近对照水平,且差异不显著。在第 3、5、7 d,50 mg·L⁻¹ 壳聚糖处理的菠菜中 APX 的活性比单喷毒死蜱的 APX 活性分别增加 16.1%、1.7%、16.1%,说明低浓度的壳聚糖处理在一定程度上能缓解毒死蜱胁迫对菠菜 APX 活性的影响。

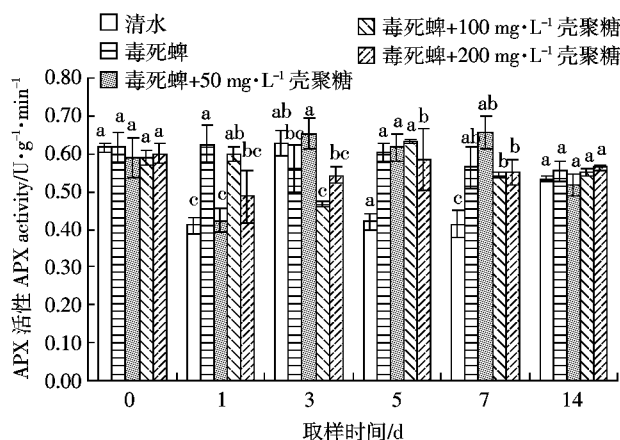


图 4 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中 APX 活性的缓解作用
Figure 4 Alleviation effects of chitosan on APX activity in spinach under chloryrifos stress

2.3 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中 O₂·产生的缓解作用

图 5 表明,单喷毒死蜱,菠菜 O₂·产生速率高于清水对照,直到第 14 d,O₂·产生速率才与对照接近。在喷施毒死蜱之后再喷施壳聚糖,O₂·产生速率较单喷毒死蜱的明显降低,特别是低浓度壳聚糖(50、100 mg·L⁻¹)处理下,从第 0 d 到第 7 d 均与单喷毒死蜱 O₂·产生速率达到极显著差异,第 0 d 降低 23.0%和 42.5%;第 1 d 降低 17.5%和 19.7%;第 3 d 降低 18.1%和 29.5%;第 5 d 降低 11.6%和 9.5%;第 7 d 降低 25.8%和 16.4%。到第 14 d,各处理 O₂·产生速率与对照基本接近,差异不显著。可见低浓度壳聚糖能使菠菜中 O₂·产生速率降低,说明低浓度壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中 O₂·的产生有明显的缓解作用。200 mg·L⁻¹ 壳聚糖处理的 O₂·产生速率自始至终高于对照,但低于单喷毒死蜱处理,这说明高浓度壳聚糖对毒死蜱的胁迫作用有一定的缓解效果,但不及低浓度

壳聚糖的缓解效果明显。

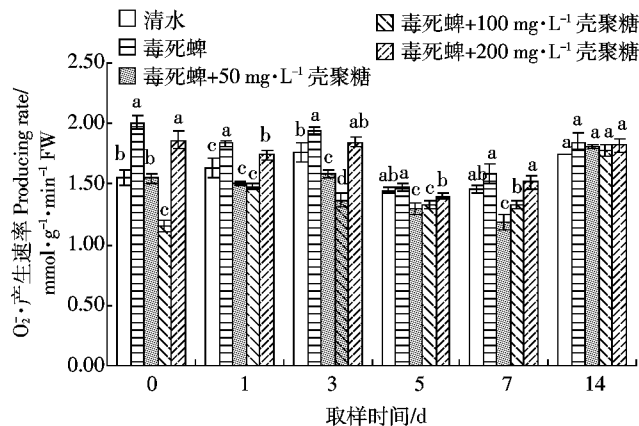


图 5 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中 O₂·产生的缓解作用
Figure 5 Alleviation effects of chitosan on O₂· producing in spinach under chloryrifos stress

2.4 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中 H₂O₂ 积累的缓解作用

总的来看,各处理的菠菜中 H₂O₂ 含量在前 3 d 略有升高,从第 5 d 开始明显降低,到第 14 d 各处理的 H₂O₂ 含量接近对照水平,差异不显著(图 6)。单喷毒死蜱,从第 0 d 直到第 14 d,菠菜中的 H₂O₂ 含量均高于对照,特别是第 1、3、7 d 分别比对照增加 17.0%、30.0%、50.0%,达到极显著差异水平。与壳聚糖缓解 O₂·产生速率的结论相类似,低浓度壳聚糖(50、100 mg·L⁻¹)与单喷毒死蜱相比,也不同程度地降低了菠菜中 H₂O₂ 含量。如第 1 d,50、100 mg·L⁻¹ 壳聚糖处理的 H₂O₂ 含量比单喷毒死蜱降低 16.4%;第 3 d 降低 28.2%和 25.6%,均达到差异极显著水平。上述结果说明,低浓度壳聚糖的确对毒死蜱胁迫下菠菜中 H₂O₂ 积累有较明显的缓解作用。

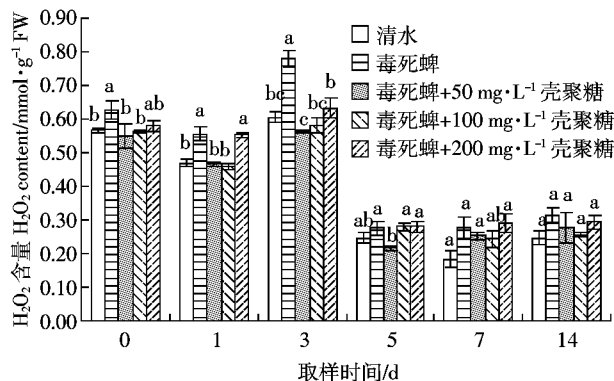


图 6 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中 H₂O₂ 积累的缓解作用
Figure 6 Alleviation effects of chitosan on H₂O₂ accumulation in spinach under chloryrifos stress

2.5 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中MDA积累的缓解作用

从图7可以看出,从第0 d到第14 d,毒死蜱胁迫明显提高了菠菜中的MDA含量,与对照相比分别提高了19.1%、28.1%、36.7%、51.2%、62.6%和26.4%,差异达极显著水平。喷施毒死蜱之后再喷壳聚糖,菠菜中MDA含量比单喷毒死蜱有明显降低。如第1 d,50、100 mg·L⁻¹壳聚糖较单喷毒死蜱的MDA含量分别降低了23.9%和30.4%,第3 d分别降低了22.9%和24.1%,均达到差异极显著水平。此外,从第1 d开始,低浓度壳聚糖(50、100 mg·L⁻¹)处理的MDA含量均与对照相近,这种趋势直到第14 d。这表明低浓度壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中MDA的积累具有明显的缓解作用。叶面喷施200 mg·L⁻¹壳聚糖虽然比单喷毒死蜱的MDA含量也有较明显的减少效果,但始终比对照高。说明高浓度壳聚糖对毒死蜱胁迫的缓解作用不及低浓度壳聚糖,这与H₂O₂积累和O₂^{·-}产生的变化趋势基本一致。

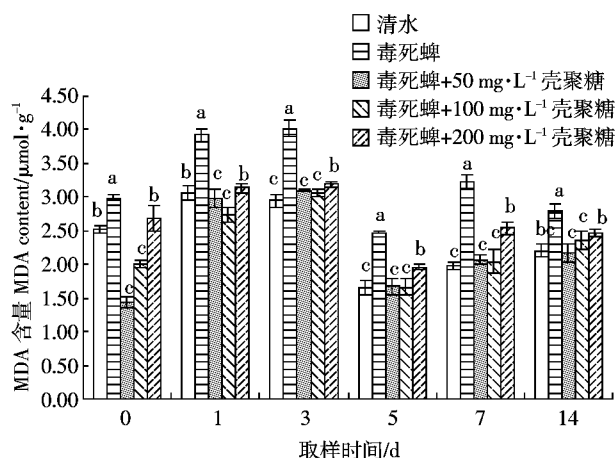


图7 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中MDA积累的缓解作用

Figure 7 Alleviation effects of chitosan on MDA accumulation in spinach under chloryrifos stress

2.6 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中脯氨酸积累的缓解作用

图8显示,第0 d取样测定,单喷毒死蜱的脯氨酸含量比对照增加31.6%,喷施50、100、200 mg·L⁻¹壳聚糖的脯氨酸含量虽然比对照有所增加,但比单喷毒死蜱的分别降低19.5%、21.2%和7.2%。从第1 d之后这种处理之间的差异在逐渐缩小,到第5 d各处理之间的差异均未达到极显著水平。壳聚糖的缓解作用表现在降低了毒死蜱胁迫下菠菜中脯氨酸的含量,其中低浓度壳聚糖(50、100 mg·L⁻¹)在第0 d到第3 d的

缓解作用最为明显。

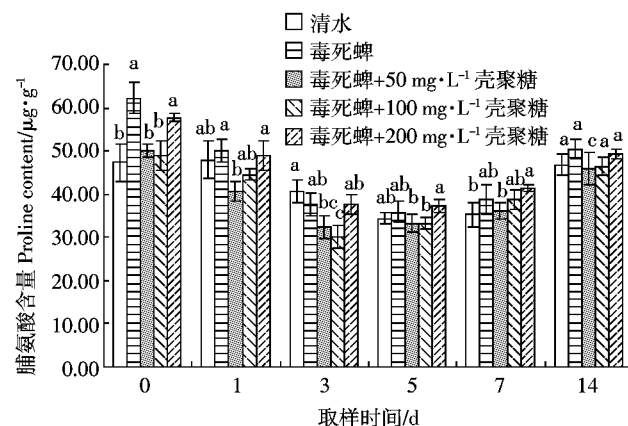


图8 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中脯氨酸积累的缓解作用

Figure 8 Alleviation effects of chitosan on proline accumulation in spinach under chloryrifos stress

2.7 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中可溶性糖积累的缓解作用

菠菜受到毒死蜱胁迫之后,其可溶性糖含量有所降低,在第1、3 d,与对照差异达到极显著水平(图9)。喷施壳聚糖之后,低浓度(50、100 mg·L⁻¹)的可溶性糖含量与对照相近;而高浓度(200 mg·L⁻¹)的可溶性糖含量均比对照低。低浓度壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中可溶性糖积累的缓解作用主要表现在前期第1 d至第5 d含糖量的提高上。到第14 d,单喷毒死蜱以及喷施壳聚糖的各处理的可溶性糖含量与对照基本相近。

3 讨论

植物体内SOD、POD、CAT、APX是细胞抵御活性

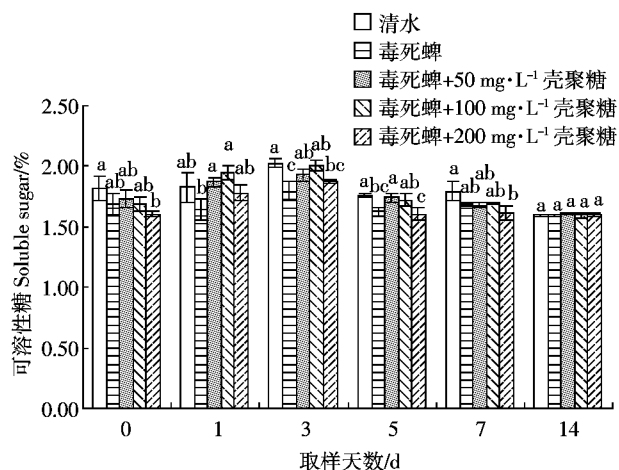


图9 壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜中可溶性糖积累的缓解作用

Figure 9 Alleviation effects of chitosan on soluble sugar accumulation in spinach under chloryrifos stress

氧伤害的重要保护性酶,在清除活性氧代谢中起着重要作用。SOD 是植物体内清除活性氧系统的第一道防线,其主要功能是将 $O_2^{\cdot-}$ 歧化成 O_2 和 H_2O_2 ^[23]。POD 的作用是辅助 SOD,清除 SOD 的歧化产物。 H_2O_2 的积累会启动并加剧膜脂过氧化作用,CAT 可以催化 H_2O_2 生成 H_2O ^[24]。APX 是植物体内尤其是叶绿体中清除 H_2O_2 的关键酶^[25]。植物在正常代谢中会产生 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 等活性氧,在正常情况下植物体自身活性氧的产生和清除两者处于低水平平衡状态,但在逆境胁迫下,植物体自身活性氧的产生和清除系统间的平衡被打破,从而引起膜的伤害^[26]。MDA 是膜脂过氧化过程中的分解产物,其含量高低表示膜脂过氧化程度和对逆境胁迫反应的强弱。MDA 含量越高,则损伤越大^[27]。植物对逆境胁迫的适应还可以通过积累胞内的有机物或无机物来进行渗透调节,脯氨酸和可溶性糖作为植物重要的渗透调节物质,对逆境胁迫具有重要的适应意义^[28]。

本研究表明,菠菜在受到毒死蜱胁迫后,SOD 活性在胁迫初期明显受到抑制,此时 H_2O_2 大量积累, $O_2^{\cdot-}$ 产生速率显著高于对照水平,清除 H_2O_2 的主要抗氧化酶 POD、CAT、APX 的活性呈现不规则的变化,说明毒死蜱能在较短的时间内使植物受到伤害,造成活性氧代谢失调,菠菜的抗氧化酶系统遭到破坏。同时在胁迫初期,菠菜的 MDA 含量也显著增高,而渗透调节物质脯氨酸和可溶性糖含量却有所降低,证明此时菠菜的膜系统已遭到破坏,其渗透调节能力下降。随着毒死蜱胁迫时间的延长,SOD、POD、CAT、APX 活性均比胁迫初期有所升高,其中 SOD、POD 活性的升高最为明显,均在毒死蜱胁迫后第 14 d 达到最大值;与之相对的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率和 H_2O_2 含量也从第 5 d 开始逐渐降低,这可能是到了胁迫后期,菠菜中毒死蜱的残留量逐渐减少,其受到胁迫的影响逐渐减弱,抗氧化酶系统不再受抑制,起到了清除活性氧的作用。这与张清智等^[2]研究的毒死蜱胁迫下小白菜抗氧化酶活性呈现先降低后升高的结论基本一致。随着毒死蜱胁迫程度的降低,菠菜中 MDA 的含量也呈现下降的趋势。到毒死蜱胁迫后第 14 d,除 SOD 与 MDA 外,菠菜的其他生理生化指标均与对照差异不显著,此时菠菜已恢复正常生长。

壳聚糖对毒死蜱胁迫下菠菜生理生化指标的缓解作用主要体现在两个方面:一是壳聚糖能将受毒死蜱胁迫的菠菜部分相关生理生化指标(SOD、MDA、可溶性糖、脯氨酸、 H_2O_2)减缓胁迫影响而较早地恢复

到对照水平;二是壳聚糖能增大 SOD 活性,调节 POD、CAT、APX 活性,减小 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率,降低 MDA、脯氨酸和 H_2O_2 在细胞中的积累量,增强可溶性糖的渗透调节能力。人们利用壳聚糖作用于低温胁迫^[10,15]、干旱胁迫^[13-14]和盐胁迫^[11]的作物也得出了相类似的结论。在本试验中,喷施毒死蜱 2 d 之后再喷壳聚糖,菠菜的 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率, H_2O_2 、脯氨酸和 MDA 的积累量较单喷毒死蜱明显降低,特别是低浓度($50, 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)壳聚糖的这种减少效果明显大于高浓度($200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),表明低浓度壳聚糖可以缓解毒死蜱胁迫下菠菜活性氧代谢失调造成的膜伤害。壳聚糖对抗氧化酶系统的作用主要是提高了 SOD 的活性,但对 POD、CAT、APX 活性的调节作用不大。这可能是由于在胁迫初期,毒死蜱胁迫抑制了 POD、CAT、APX 活性,无法正常启动抗氧化酶系统清除积累的 H_2O_2 ,致使菠菜中 H_2O_2 含量较高;直到第 5 d H_2O_2 含量开始大幅减少,说明随着胁迫程度的降低,抗氧化酶系统不再受抑制,起到了清除 H_2O_2 的作用。

4 结论

壳聚糖可减缓毒死蜱胁迫对菠菜造成的活性氧代谢加剧和膜质过氧化产物升高的趋势,进而使膜脂过氧化作用减弱,缓解细胞膜的损伤。关于壳聚糖是作为信号物质诱导抗性相关基因的表达,还是直接作用于细胞膜系统来缓解毒死蜱胁迫对菠菜造成的细胞膜氧化损伤,有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘井兰, 于建飞, 印建莉, 等. 化学农药对植物生理生化影响的研究进展[J]. 农药, 2006, 45(8): 511-514.
LIU Jing-lan, YU Jian-fei, YIN Jian-li, et al. Research progress on the effect of chemical pesticides on plant physiology and biochemistry[J]. *Agrochemicals*, 2006, 45(8): 511-514.
- [2] 张清智, 陈振德, 王文娇, 等. 毒死蜱胁迫对小白菜抗氧化酶活性和相关生理指标的影响[J]. 生态学报, 2008(9): 4525-4530.
ZHANG Qing-zhi, CHEN Zhen-de, WAN Wen-jiao, et al. Effects of chlorpyrifos stress on antioxidant enzyme activities and some related compound contents in pakchoi[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008(9): 4525-4530.
- [3] 沈 燕, 封超年, 李 邵, 等. 农药对干旱胁迫下小麦幼苗生理生化特性的影响[J]. 江苏农业科学, 2007, 3: 16-19.
SHEN Yan, FENG Chao-nian, LI Shao, et al. Effects of spraying pesticides on physiological and biochemical characteristics in wheat seedlings under drought stress[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2007, 3: 16-19.
- [4] 杨 涛, 李传勇, 汤惠华. 乐果对菠菜叶片 POD、SOD、CAT 活性及 MDA 含量的影响[J]. 亚热带植物科学, 2004, 33(4): 19-21.
YANG Tao, LI Chuan-yong, TANG Hui-hua. Effects of dimethoate on activities of POD, SOD, CAT and MDA content in spinach leaves[J].

- Subtropical Plant Science*, 2004, 33(4):19-21.
- [5] 张清智, 陈振德, 刘红玉. 氰戊菊酯对小白菜抗氧化酶活性及丙二醛(MDA)含量的影响[J]. 生态毒理学报, 2008, 5:507-512.
ZHANG Qing-zhi, CHEN Zhen-de, LIU Hong-yu. Effects of fenvalerate on the activities of antioxidant enzymes, and contents of malondialdehyde(MDA) in pakchoi[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 5:507-512.
- [6] 程晓平, 陈雁君, 高知义, 等. 丙溴磷农药对油菜抗氧化酶活性的影响[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 5:836.
CHENG Xiao-ping, CHEN Yan-jun, GAO Zhi-yi, et al. Effects of profenofos stress on activity of POD and CAT of brassica napus[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2007, 5:836.
- [7] 唐红枫, 生秀梅, 熊 丽, 等. 有机磷农药对小白菜中可溶性蛋白质及 SOD、 Mg^{2+} -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase 和 CAT 的影响[J]. 华中师范大学学报, 2006, 3:83-84.
TANG Hong-feng, SHENG Xiu-mei, XIONG Li, et al. The impact of organophosphates pesticide to soluble proteins and several oxidant enzymes in vegetable[J]. *Journal of Central China Normal University*, 2006, 3:83-84.
- [8] 于仁竹, 于贤昌, 王桂红. 壳聚糖对黄瓜幼苗生长和生理特性的影响[J]. 西北农业学报, 2003, 12(4):102-104.
YU Ren-zhu, YU Xian-chang, WANG Gui-hong. Effect of chitin on the growth and physiological characteristics of cucumber seedling[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2003, 12(4):102-104.
- [9] 罗 兵, 徐朗莱, 孙海燕. 壳聚糖对黄瓜品质和产量的影响[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(1):20-23.
LUO Bing, XU Lang-lai, SUN Hai-yan. Effects of chitosan on the quality and product yield of cucumber[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2004, 27(1):20-23.
- [10] 薛国希, 高辉远, 李鹏民, 等. 低温下壳聚糖处理对黄瓜幼苗生理生化特性的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2004, 30(4):441-448.
XUE Guo-xi, GAO Hui-yuan, LI Peng-min, et al. Effects of chitosan treatment on physiological and biochemical characteristics in cucumber seedlings under low temperature[J]. *Acta Photophysiological Sinica*, 2004, 30(4):441-448.
- [11] 刘桂智. 壳聚糖对日光温室黄瓜抗盐及生长发育状况的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2007.
LIU Gui-zhi. Effects of chitosan on salt-resistant and growth development of cucumber in greenhouse[D]. Yangling:Northwest University of Agriculture and Forestry Science and Technology, 2007.
- [12] 从心黎, 黄绵佳, 杨意伯. 壳聚糖对红掌离体叶片渗透胁迫的缓解效应[J]. 云南农业科技, 2008, 1:29-30.
CONG Xin-li, HUANG Mian-jia, YANG Yi-bo. Alleviation effects of spraying chitosan in vitro anthurium leaves under osmotic stress[J]. *Yunnan Agricultural Science and Technology*, 2008, 1:29-30.
- [13] 王延峰, 郝振荣, 常海飞. 壳聚糖处理对苜蓿幼苗抗旱性的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(24):10322-10323.
WANG Yan-feng, HAO Zhen-rong, CHANG Hai-fei. Effects chitosan treatment on drought resistance of alfalfa seedlings[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(24):10322-10323.
- [14] 杨 峰, 胡景江, 李建龙, 等. 干旱胁迫下壳聚糖对苹果幼苗抗旱性生理指标的影响[J]. 南京林业大学学报, 2008, 11:62-64.
YANG Feng, HU Jing-jiang, LI Jian-long, et al. Effects of chitosan on some physiological indices of apple seedlings under drought stress[J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2008, 11:62-64.
- [15] 闫晓花, 郁继华, 雍山玉, 等. 壳聚糖对辣椒幼苗抗寒性的效应[J]. 甘肃农业大学学报, 2007, 6(3):51-54.
YAN Xiao-hua, YU Ji-hua, YONG Shan-yu, et al. Effect of chitosan on chilling tolerance of pepper seedling[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2007, 6(3):51-54.
- [16] 吴飞鹏. 壳聚糖对自由基的清除作用研究[D]. 广州:暨南大学, 2007.
WU Fei-peng. Research of radicals scavenged activities of chitosan[D]. Guangzhou: JiNan University, 2007.
- [17] 邹 琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
ZOU Qi. Plant Physiology experimental guide[M]. Beijing:China Agriculture Press, 2000.
- [18] 赵世杰, 许长城, 邹 琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3):207-210.
ZHAO Shi-jie, XU Chang-cheng, ZOU Qi, et al. Improved method for determination in plant tissue MDA[J]. *Plant Physiology Communications*, 1994, 30(3):207-210.
- [19] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts[J]. *Plant Cell Physiology*, 1981, 22(5):867-880.
- [20] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧化物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990(6):55-57.
WANG Ai-guo, LUO Guang-hua. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants[J]. *Plant Physiology Communications*, 1990(6):55-57.
- [21] 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化的关系[J]. 植物生理学报, 1988, 14(1):12-16.
LIN Zhi-fang, LI Shuang-shun, LIN Gui-zhu, et al. The relationship between aging leaves and in H_2O_2 accumulation and membrane lipid peroxidation in chloroplasts[J]. *Acta Photophysiological Sinica*, 1988, 14(1):12-16.
- [22] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2004.
LI He-sheng. Physiology and biochemistry of plant experimental principle and technical[M]. Beijing:Higher Education Press, 2004.
- [23] Neill S J, Desikan R, Clarke A, et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(372):1237-1247.
- [24] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts:scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons [J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1999, 50:601-639.
- [25] 孙卫红, 王伟青, 孟庆伟. 植物抗坏血酸过氧化物酶的作用机制、酶学及分子特性[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(2):143-147.
SUN Wei-hong, WANG Wei-qing, MENG Qing-wei. Functional mechanism and enzymatic and molecular characteristic of ascorbate peroxidase in plants[J]. *Plant Physiology Communications*, 2005, 41(2):143-147.
- [26] 李智辉, 王新颖, 周广柱, 等. 低温胁迫下新铁炮百合幼苗叶片活性氧的产生及保护酶活性的变化[J]. 北方园艺, 2007, 12:106-108.
LI Zhi-hui, WANG Xin-ying, ZHOU Guang-zhu, et al. Generation of activated oxygen and change of defense enzyme activity in *L. formolon-gi* seedling under low temperature[J]. *Northern Horticulture*, 2007, 12:106-108.
- [27] 蒋 燕, 孟 玲, 赵会杰. 高温干旱处理对番茄不同品种幼苗生长的影响[J]. 北方园艺, 2007(1):1-5.
JIANG Yan, MENG Ling, ZHAO Hui-jie. Influences of high temperature with soil drought on physiological character of tomato seedlings[J]. *Northern Horticulture*, 2007(1):1-5.
- [28] 武维华. 植物生理学[M]. 北京:科学出版社, 2003:430-431.
WU Wei-hua. Plant physiology[M]. Beijing:Science Press, 2003:430-431.