

王 聪, 杨恒山, 刘艳华, 等. NaCl 胁迫下外源壳聚糖对菜用大豆叶绿体 AsA-GSH 循环的影响[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(5): 1141-1147.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2016.05.030

## NaCl 胁迫下外源壳聚糖对菜用大豆叶绿体 AsA-GSH 循环的影响

王 聪<sup>1</sup>, 杨恒山<sup>1</sup>, 刘艳华<sup>2</sup>, 董永义<sup>1</sup>, 马玉露<sup>1</sup>, 贾俊英<sup>1</sup>, 包金花<sup>1</sup>, 郑 毅<sup>1</sup>

(1. 内蒙古民族大学农学院, 内蒙古 通辽 028042; 2. 内蒙古赤峰市农牧业水利局农业技术推广站, 内蒙古 赤峰 024000)

**摘要:** 为探讨壳聚糖对 NaCl 胁迫下光合作用的调节机制, 采用盆栽试验方法研究了外源壳聚糖对 NaCl 胁迫下菜用大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.] 叶绿体内 AsA-GSH 循环的影响。选用菜用大豆主栽品种绿领特早为试验材料, 设 4 个处理: ①叶面喷洒清水, 根部浇灌营养液 (对照); ②叶面喷洒壳聚糖溶液, 根部浇灌营养液; ③叶面喷洒清水, 根部浇灌溶有 NaCl 的营养液; ④叶面喷洒壳聚糖溶液, 根部浇灌溶有 NaCl 的营养液。结果表明, 外源壳聚糖阻止了 NaCl 胁迫下菜用大豆干质量的下降, 显著降低了叶绿体 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量, 显著提高了抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、单脱氢抗坏血酸还原酶 (MDHAR)、脱氢抗坏血酸还原酶 (DHAR)、谷胱甘肽还原酶 (GR)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 活性以及还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量和胁迫中期还原型抗坏血酸 (AsA) 含量。外源壳聚糖对 NaCl 胁迫下菜用大豆叶绿体内 AsA-GSH 循环产生了显著促进作用, 使 AsA-GSH 循环保持较强的活性氧清除能力, 这可能是其维持较强光合能力, 进而减缓干质量下降的重要原因之一。

**关键词:** 外源壳聚糖; NaCl 胁迫; 叶绿体; AsA-GSH 循环

**中图分类号:** S565.1.01 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2016)05-1141-07

## Influences of exogenous chitosan on AsA-GSH cycle in vegetable soybean chloroplast under NaCl stress

WANG Cong<sup>1</sup>, YANG Heng-shan<sup>1</sup>, LIU Yan-hua<sup>2</sup>, DONG Yong-yi<sup>1</sup>, MA Yu-lu<sup>1</sup>, JIA Jun-ying<sup>1</sup>,  
BAO Jin-hua<sup>1</sup>, ZHENG Yi<sup>1</sup>

(1. College of Agriculture, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028042, China; 2. Agricultural Technology Extension Station, Chifeng City, Inner Mongolia Water Conservancy Bureau of Agriculture and Animal Husbandry, Chifeng 024000, China)

**Abstract:** In order to investigate the mechanism of photosynthesis regulation by chitosan under NaCl stress, the effects of exogenous chitosan on AsA-GSH cycle in the chloroplasts of NaCl-stressed vegetable soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] was studied. Four treatments were set for soybean Lutingtezao: (1) foliar water spraying and root watering with nutrient solution (control); (2) foliar chitosan solution spraying and root watering with nutrient solution; (3) foliar water spraying and root watering with NaCl solution; and (4) foliar chitosan solution spraying and root watering with NaCl solution. The results showed that exogenous chitosan prevented vegetable soybean dry mass from declining, decreased chloroplast H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content and improved the contents of ascorbate peroxidase (APX), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbic acid reductase (DHAR), glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (GPX) activities and dehydroascorbic glutathione (GSH), as well as dehydroascorbic acid (AsA) during the mid-term of NaCl stress, suggesting that exogenous chitosan facilitated the AsA-GSH cycle of vegetable soybean chloroplast, so that the AsA-GSH cycle maintained strong activity of reactive oxygen scavenging, which may be one of the key reasons to keep strong photo-

收稿日期: 2016-01-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31260472, 31260483)

作者简介: 王 聪 (1968-), 男, 内蒙古和林人, 博士, 教授, 主要从事蔬菜生理生态和生物技术研究。(E-mail) tongliaowangcong@163.com

synthetic capacity to prevent dry mass from declining.

**Key words:** exogenous chitosan; NaCl stress; chloroplast; AsA-GSH cycle

盐胁迫是造成农作物产量、品质下降的主要非生物胁迫类型,而选择外源抗胁迫物质对栽培作物进行处理,是目前提高植物耐盐性最简便、有效、可行的方法。壳聚糖是甲壳素脱乙酰化后得到的一种聚氨基葡萄糖,被认为是廉价、清洁、可再生的很有潜力的非生物胁迫抗性诱导剂。有研究表明,盐胁迫下外源壳聚糖可提高黄瓜<sup>[1]</sup>、豇豆<sup>[2]</sup>超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等活性,显著缓解盐害症状。NaCl胁迫可导致菜用大豆净光合速率大幅下降,而外源壳聚糖通过诱导气孔或(和)非气孔因素显著缓解其净光合速率的下降<sup>[3]</sup>。低温胁迫下,外源壳聚糖可显著提高辣椒幼苗的SOD、POD、过氧化氢酶(CAT)的活性<sup>[4]</sup>。干旱条件下喷施壳聚糖可明显提高辣椒谷胱甘肽(GSH)及抗坏血酸(AsA)含量,降低细胞质膜相对透性和丙二醛(MDA)含量<sup>[5]</sup>。壳聚糖通过降低AsA-GSH循环活性以提高H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量,进而刺激干旱胁迫下水稻的生长,这也说明H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>是壳聚糖诱导抗旱反应过程中的信号分子<sup>[6]</sup>。上述研究结果也表明,外源壳聚糖对相同胁迫下不同种类植物的抗性诱导机制不尽相同。

叶绿体是植物光合作用的场所,也是细胞中对盐最敏感的细胞器<sup>[7]</sup>。盐胁迫会导致植物叶绿体中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量大幅增加<sup>[8-9]</sup>,致使膜脂过氧化,进而影响植物光合作用的正常进行。叶绿体AsA-GSH循环是维持叶绿体内活性氧(ROS)动态平衡,促进光合作用正常进行的重要酶促保护系统。NaCl胁迫下外源壳聚糖影响菜用大豆叶绿体AsA-GSH循环运转的机制尚未见报道。本试验通过研究NaCl胁迫下施用壳聚糖后菜用大豆叶绿体中抗氧化酶活性和抗氧化剂含量的变化,以探讨外源壳聚糖对叶绿体AsA-GSH循环的影响,进而阐明壳聚糖调控光合作用的生理机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

菜用大豆[*Glycine max* (L.) Merr.]选用主栽品种绿领特早。试验于2014年4月至6月在内蒙古民族大学试验基地日光温室内进行,干种子直播于上直径25 cm、下直径15 cm、高20 cm的塑料盆中,

蛭石作基质,浇灌日本园试营养液<sup>[10]</sup>,每盆定苗4株。真叶展开后每3 d浇1/4浓度日本园试营养液1次,每盆浇液0.5 L。

### 1.2 壳聚糖诱导及NaCl处理

试验设如下处理:①对照(CK),叶面喷洒清水,根部浇灌营养液;②处理1(T1),叶面喷洒壳聚糖溶液,根部浇灌营养液;③处理2(T2),叶面喷洒清水,根部浇灌溶有NaCl的营养液;④处理3(T3),叶面喷洒壳聚糖溶液,根部浇灌溶有NaCl的营养液。每处理15盆,3次重复。NaCl处理的适宜浓度为100 mmol/L<sup>[11]</sup>;壳聚糖处理的适宜浓度为200 mg/L(2013年预备试验结果)。

2片真叶完全展开后,用手持小型喷雾器将壳聚糖溶液均匀喷洒在幼苗叶片的正面和背面,以量足但不下滴为宜,对照和T2处理喷洒清水。诱导处理后5 d进行NaCl处理,NaCl溶于1/4浓度日本园试营养液,均匀浇入处理T2和处理T3基质中。

### 1.3 测定项目及方法

NaCl处理0 d开始取叶测定,以后每3 d测定1次,共测定6次。处理15 d(T2处理植株叶片出现明显褪绿、黄化症状)后测幼苗全株干质量。

叶绿体制备:参照孙锦的方法<sup>[12]</sup>。

过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性以及还原型抗坏血酸(AsA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、蛋白质含量均采用试剂盒(购自苏州科铭生物技术有限公司)测定。以试剂盒提供的提取液悬浮叶绿体后,按试剂盒所述方法测定。

叶绿素含量测定:以丙酮悬浮叶绿体后,按Arnon的方法<sup>[13]</sup>测定。

### 1.4 数据处理

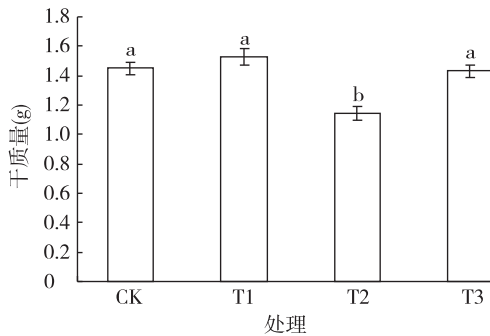
应用SPSS分析软件对试验数据进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 壳聚糖对NaCl胁迫下菜用大豆幼苗干质量的影响

由图1可知,处理后15 d,T1处理(叶面喷洒壳

聚糖溶液)的幼苗干质量与对照无显著差异;T2 处理(NaCl 胁迫)的干质量较对照显著降低,降幅为 19%;T3 处理(叶面喷洒壳聚糖溶液+NaCl 胁迫)的干质量较 T2 处理增加 25%,且达到对照水平。表明外源壳聚糖可阻止盐胁迫对菜用大豆生长的抑制作用。但是在无盐胁迫条件下,外源壳聚糖对菜用大豆生长的促进作用不显著。



对照(CK):叶面喷洒清水,根部浇灌营养液;T1:叶面喷洒壳聚糖溶液,根部浇灌营养液;T2:叶面喷洒清水,根部浇灌溶有 NaCl 的营养液;T3:叶面喷洒壳聚糖溶液,根部浇灌溶有 NaCl 的营养液。不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图 1 壳聚糖对 NaCl 胁迫下菜用大豆干质量的影响

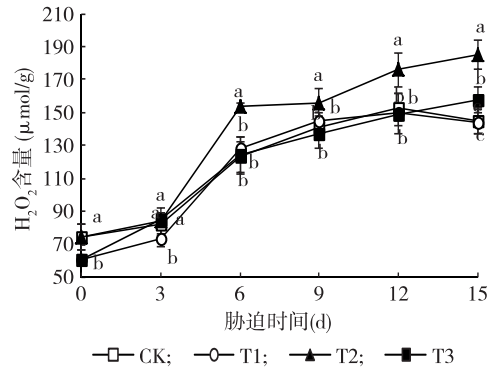
Fig.1 Effect of chitosan on dry weight of vegetable soybean under NaCl stress

## 2.2 壳聚糖对 NaCl 胁迫下菜用大豆叶绿体 $H_2O_2$ 含量的影响

植物细胞内  $O_2^{\cdot-}$ 、 $H_2O_2$  等大量积累,可加剧膜脂过氧化,伤害膜系统。叶面喷施壳聚糖后 5 d、8 d 时(T1 处理)菜用大豆叶绿体  $H_2O_2$  含量显著低于对照;NaCl 胁迫后 6~15 d,T2 处理(NaCl 胁迫)叶绿体  $H_2O_2$  含量显著高于对照,T3 处理(叶面喷洒壳聚糖溶液+NaCl 胁迫)叶绿体  $H_2O_2$  含量显著低于 T2 处理;NaCl 胁迫后 6 d、9 d、12 d 时 T3 处理叶绿体  $H_2O_2$  含量维持在对照水平,15 d 时降幅达 15%(图 2)。表明外源壳聚糖可抑制 NaCl 胁迫下叶绿体  $H_2O_2$  的产生;无盐胁迫条件下,壳聚糖只对前期  $H_2O_2$  的形成产生显著抑制作用。

## 2.3 壳聚糖对 NaCl 胁迫下菜用大豆叶绿体 AsA-GSH 循环的影响

2.3.1 对叶绿体 AsA 含量的影响 AsA 是叶绿体内重要的抗氧化剂,在清除  $H_2O_2$  过程中发挥着重要作用。图 3 显示,T1 处理叶绿体 AsA 含量 0 d 时较对照显著升高,3 d 时则显著下降;T2 处理叶绿体

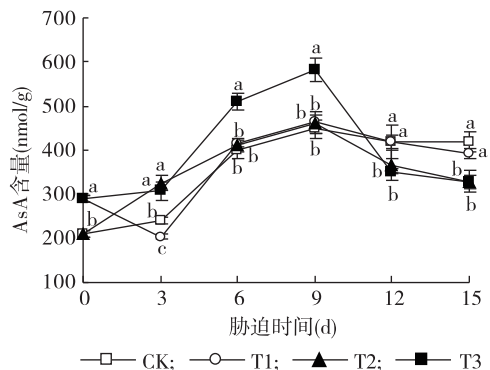


T1~T3 处理及对照见图 1 注。不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图 2 壳聚糖对 NaCl 胁迫下菜用大豆叶绿体  $H_2O_2$  含量的影响

Fig.2 Effect of chitosan on  $H_2O_2$  content in vegetable soybean chloroplast under NaCl stress

AsA 含量 3 d 时显著高于对照,12 d、15 d 时受到显著抑制;T3 处理显著提高了 NaCl 胁迫 6 d、9 d 时的 AsA 含量,增幅分别为 24%、27%,12 d、15 d 时维持在 T2 处理水平。说明壳聚糖对 NaCl 胁迫中期 AsA 的产生具有显著诱导作用,同时也表明壳聚糖的作用具有时效性。



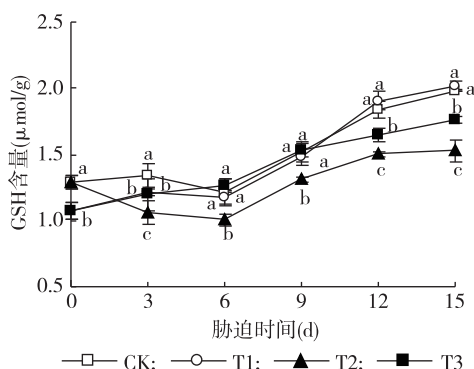
T1~T3 处理及对照见图 1 注。不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图 3 壳聚糖对 NaCl 胁迫下菜用大豆叶绿体 AsA 含量的影响

Fig.3 Effect of chitosan on AsA content in vegetable soybean chloroplast under NaCl stress

2.3.2 对叶绿体 GSH 含量的影响 GSH 通过促进 AsA 再生参与清除  $H_2O_2$ 。由图 4 可知,与对照相比,T1 处理显著减低了 0 d、3 d 时叶绿体 GSH 含量;在整个 NaCl 胁迫期间 T2 处理 GSH 含量均显著下降,至 15 d 时较对照降幅达 23%;与 T2 处理相比,T3 处理 GSH 含量显著升高,其中 6 d、9 d 时维

持在对照水平,15 d时较T2处理的增幅为15%。表明外源壳聚糖对整个NaCl胁迫期间GSH的再生产生了显著诱导作用,但对无NaCl胁迫条件下早期GSH的形成产生了显著抑制作用。



T1~T3处理及对照见图1注。不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

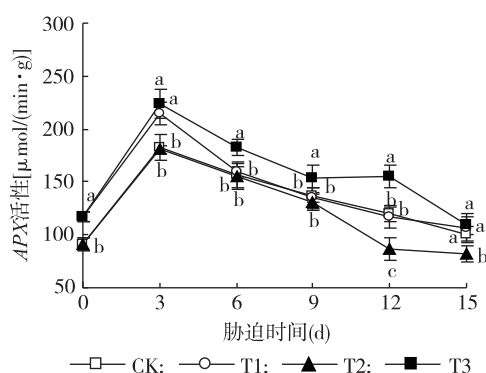
图4 壳聚糖对NaCl胁迫下菜用大豆叶绿体GSH含量的影响

Fig.4 Effect of chitosan on GSH content in vegetable soybean chloroplast under NaCl stress

2.3.3 对叶绿体APX活性的影响 APX可以AsA为电子供体直接清除 $H_2O_2$ 。T1处理叶绿体APX活性在0 d、3 d时显著高于对照;T2处理3~9 d期间APX活性维持在对照水平,12 d时出现下降趋势,至15 d时较对照同期的降幅达19%;T3处理使整个NaCl胁迫期间的APX活性显著升高,且3~12 d期间均显著高于对照,15 d时回落至对照水平,较T2处理的增幅达32%(图5)。可见,壳聚糖对整个NaCl胁迫期间的APX活性产生了显著诱导作用,无盐胁迫条件下对前期APX活性的提高起到了促进作用。

2.3.4 对叶绿体MDHAR活性的影响 MDHAR催化单脱氢抗坏血酸(MDHA)还原形成AsA,在AsA还原过程中发挥着重要作用。由图6可知,T1处理0 d时MDHAR活性显著升高;T2处理12 d、15 d时活性受到显著抑制,较对照的降幅分别为11%、16%;T3处理显著提高了NaCl胁迫3~12 d时MDHAR的活性,其中12 d时较T2处理的增幅达33%,且显著高于对照。

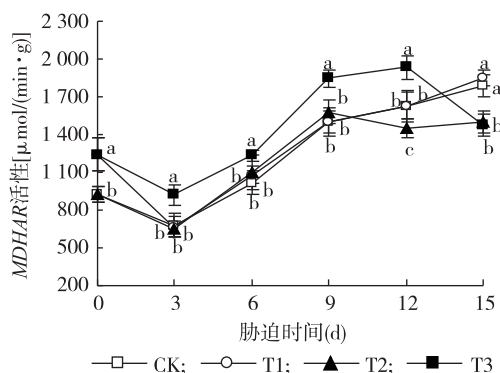
2.3.5 对叶绿体DHAR活性的影响 DHAR催化脱氢抗坏血酸(DHA)还原形成AsA,是AsA-GSH循环的关键酶。图7显示,各处理DHAR活性均呈先升后降的趋势。T1处理0 d时DHAR活性显著升高;



T1~T3处理及对照见图1注。不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

图5 壳聚糖对NaCl胁迫下菜用大豆叶绿体APX活性的影响

Fig.5 Effect of chitosan on APX activity in vegetable soybean chloroplast under NaCl stress



T1~T3处理及对照见图1注。不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

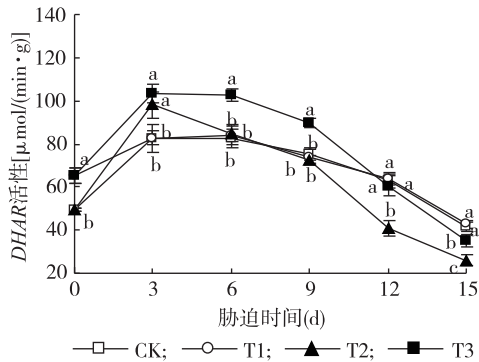
图6 壳聚糖对NaCl胁迫下菜用大豆叶绿体MDHAR活性的影响

Fig.6 Effect of chitosan on MDHAR activity in vegetable soybean chloroplast under NaCl stress

T2处理3 d时活性显著升高,6 d、9 d时回落至对照水平,之后开始显著下降,至15 d时较对照同期的降幅达37%;T3处理对NaCl胁迫6~15 d时DHAR活性产生了持续诱导作用,其中6 d、9 d时显著高于对照,12 d时仍维持在对照水平,15 d时较T2的增幅达34%。

2.3.6 对叶绿体GR活性的影响 GR催化氧化型谷胱甘肽(GSSG)还原形成GSH,是AsA-GSH循环的关键酶。由图8可看出,T1处理0 d时GR活性显著高于对照;T2处理3~9 d时活性维持在对照水平,12 d、15 d时较对照显著下降,降幅分别为30%、35%;T3处理使整个NaCl胁迫期间的GR活性均大

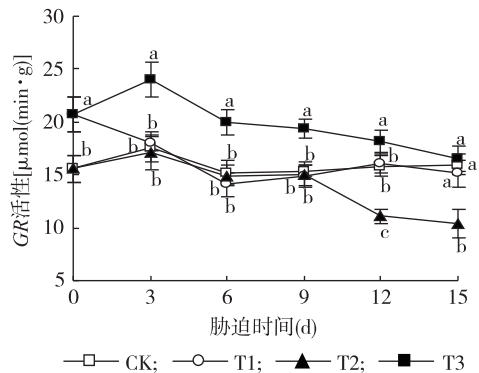




T1~T3 处理及对照见图 1 注。不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 7 壳聚糖对 NaCl 胁迫下菜用大豆叶绿体 DHAR 活性的影响  
Fig.7 Effect of chitosan on DHAR activity in vegetable soybean chloroplast under NaCl stress

幅升高,且 3~12 d 期间显著高于对照,15 d 时回落至对照水平,其中 12 d、15 d 时较 T2 处理的增幅分别达到 64%、60%。可见壳聚糖对整个 NaCl 胁迫期间的 GR 活性产生了显著的促进作用。

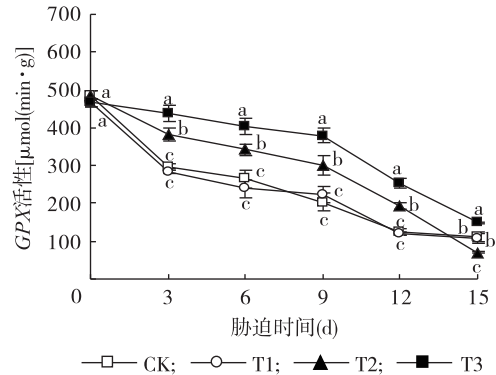


T1~T3 处理及对照见图 1 注。不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 8 壳聚糖对 NaCl 胁迫下菜用大豆叶绿体 GR 活性的影响  
Fig.8 Effect of chitosan on GR activity in vegetable soybean chloroplast under NaCl stress

2.3.7 对叶绿体 GPX 活性的影响 GPX 是机体抗氧化防御体系中的重要酶之一,它以 GSH 为底物清除  $H_2O_2$ 。由图 9 可知,各处理 GPX 活性均呈逐渐下降的趋势。T1 处理在整个处理期间未对 GPX 活性产生显著影响;T2 处理 GPX 活性在 NaCl 胁迫 3~12 d 期间显著高于对照,15 d 后受到显著抑制,较对照显著下降 38%;整个 NaCl 胁迫期间 T3 处理 GPX 活性均较 T2 处理大幅升高,且均显著高于对

照,其中 15 d 时活性较 T2 处理增加 1.12 倍。表明外源壳聚糖对整个 NaCl 胁迫期间 GPX 活性产生了显著且强劲的促进作用。



T1~T3 处理及对照见图 1 注。不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

图 9 壳聚糖对 NaCl 胁迫下菜用大豆叶绿体 GPX 活性的影响  
Fig.9 Effect of chitosan on GPX activity in vegetable soybean chloroplast under NaCl stress

### 3 讨论

叶绿体是植物进行光合作用的重要细胞器,保持叶绿体内活性氧代谢动态平衡对维持光合作用正常进行具有重要意义。本研究结果表明,外源壳聚糖可显著缓解 NaCl 胁迫 15 d 时菜用大豆干质量的下降,显著抑制 NaCl 胁迫期间叶绿体  $H_2O_2$  的产生。说明外源壳聚糖对菜用大豆叶绿体的抗氧化系统产生了显著诱导作用,及时清除了过量的  $H_2O_2$ ,缓解了盐胁迫对其造成的伤害,使光合系统能够正常运转,光合作用得以正常进行,进而缓解了干质量的下降。

AsA-GSH 循环是清除叶绿体内过量  $H_2O_2$  的主要酶促循环系统,而 APX、MDHAR、DHAR 是 AsA-GSH 循环的关键酶。APX 以 AsA 为电子供体实现对  $H_2O_2$  的清除,因此 APX 活性与 AsA 含量呈负相关关系<sup>[14]</sup>。被氧化的 AsA 形成 MDHA,进而歧化形成 DHA,MDHAR 及 DHAR 分别将 MDHA 及 DHA 还原生成 AsA。王玉等<sup>[15]</sup>研究发现,UV-B 胁迫下叶绿体 MDHAR 基因 (*LeMDHAR*) 过表达番茄植株的 MDHAR 活性及 AsA 含量均显著高于野生型番茄,表明叶绿体 MDHAR 对 AsA 再生具有重要作用。DHAR 同样在叶绿体 AsA 再生过程中发挥着重要作用<sup>[16]</sup>。AsA 是叶绿体内重要的抗氧化剂,存在于类

囊体膜和叶绿体基质中<sup>[17]</sup>,能够直接或间接地清除 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot HO$ 及 $H_2O_2$ <sup>[18]</sup>。本研究结果显示,外源壳聚糖显著提高了菜用大豆在盐胁迫中期(6 d、9 d)的AsA含量,此外还显著促进了APX、MDHAR及DHAR等活性。盐胁迫15 d时,在MDHAR未受显著影响,APX及DHAR活性均受壳聚糖诱导显著升高的情况下,AsA含量维持在盐胁迫水平,说明DHAR在AsA再生过程中同样发挥了重要作用,这与王玉等<sup>[15]</sup>及Asada<sup>[16]</sup>的结果相符。据此可认为,APX、MDHAR及DHAR等的综合作用是影响AsA含量的一个重要因素。NaCl胁迫下,外源壳聚糖通过诱导APX、MDHAR及DHAR等的活性,并且维持各酶活性协调变化,促进AsA的氧化、再生,使AsA-GSH循环能更加快速、有效运转,进而加速对 $H_2O_2$ 的清除,这可能是壳聚糖诱导菜用大豆在NaCl胁迫下产生较强 $H_2O_2$ 清除能力的重要原因之一。

与上述结果相对应,外源壳聚糖还持续提高了盐胁迫下菜用大豆叶绿体GSH含量及GR活性。GSH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,对促进AsA再生具有重要作用<sup>[19]</sup>。而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<sup>[20]</sup>。此外,外源壳聚糖还显著提高了菜用大豆叶绿体GPX的活性。GPX是酶促清除机制中的关键酶类<sup>[21]</sup>,可以催化GSH与 $H_2O_2$ 反应生成GSSG及水,从而阻止OH·自由基的产生<sup>[22]</sup>。有研究表明,过表达*PeGPX*基因使烟草耐盐性显著提高<sup>[23]</sup>。降低拟南芥叶绿体中*AtGPX1*与*AtGPX7*基因的表达后,转基因植株的抗光氧化胁迫能力显著降低<sup>[24]</sup>。可见,GPX在提高植物抗逆性方面具有重要作用。而GSH的抗氧化作用是通过使DHA还原以及作为GPX的催化底物实现的。盐胁迫下,外源壳聚糖通过诱导GR及GPX活性,维持较高且协调平衡的GR、GPX及DHAR活性水平,以促进GSH的再生及AsA的还原,促进AsA-GSH循环持续快速、有效运转,加速对 $H_2O_2$ 的清除。外源壳聚糖诱导菜用大豆在盐胁迫期间维持较高的AsA含量和较低的 $H_2O_2$ 含量就充分反映了这一点。

无盐胁迫条件下,外源壳聚糖主要对菜用大豆叶绿体前期(0~3 d)各抗氧化酶活性和抗氧化剂含

量指标产生了显著影响,且对多数指标表现出显著的促进作用。但值得注意的是,3 d时AsA的再生受到显著抑制,可能是由于此时DHAR活性未受显著影响,而APX活性显著升高所致;在GR及DHAR活性的增幅相近且GPX活性未受显著影响的情况下,0 d时GSH活性较对照显著下降,很可能是壳聚糖在GSH合成阶段产生抑制作用所致。

外源壳聚糖是通过激活甲壳素诱导受体激酶1(CERK1)而发挥作用的<sup>[25]</sup>。当植物细胞受到几丁质时,细胞表面受体-CERK1通过其赖氨酸基(Lysine motif, LysM)直接与甲壳素结合(含胞外段),植物细胞膜上的CERK1通过胞外LysM结构域二聚化完成配体感应,使其胞内结构域磷酸化并激活下游防卫反应信号通路<sup>[26]</sup>。可见,壳聚糖是通过直接作用于细胞膜而诱导植物胞内防御反应的。NaCl胁迫下,植物体可通过 $Ca^{2+}$ 信号转导、SOS信号转导<sup>[27]</sup>、促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联<sup>[28]</sup>等途径传导胁迫信号,进而诱导植物细胞发生一系列抗盐生理反应。外源壳聚糖在NaCl胁迫下也可能是通过直接作用于细胞膜进而诱导植物胞内抗盐机制而发挥作用的。当菜用大豆在逆境下受到胁迫伤害时,外源壳聚糖可诱导其潜在的抗逆能力,调动抗逆协调机制,以阻止伤害或降低伤害程度。本研究中,无盐胁迫条件下与NaCl胁迫下外源壳聚糖的作用不同,可能是其启动了不同的应答机制所致。NaCl胁迫下,外源壳聚糖诱导激发菜用大豆潜在抗盐性,使其维持了较强的活性氧清除能力。

综上所述,外源壳聚糖在无盐胁迫和NaCl胁迫下对菜用大豆叶绿体AsA-GSH循环产生了不同的影响;NaCl胁迫下,外源壳聚糖使菜用大豆保持较高且协调变化的APX、DHAR、GR及GPX活性,进而使AsA-GSH循环能更加快速、有效地运转,促进AsA、GSH的再生,维持较强的氧化还原力,及时清除过量 $H_2O_2$ ,这可能是壳聚糖使菜用大豆维持光合作用正常进行,保持较强同化力,进而阻止干质量下降的重要生理基础之一。

#### 参考文献:

- [1] 宋士清, 尚庆茂, 郭世荣, 等. 壳聚糖对黄瓜幼苗抗盐的协同生理作用研究[J]. 西北植物学报, 2006, 26(3): 435-441.
- [2] 周娟, 邹礼平. 壳聚糖对盐胁迫下豇豆幼苗生长发育的影响[J]. 北方园艺, 2014(23): 30-33.
- [3] 王聪, 杨恒山, 董永义, 等. 外源壳聚糖对NaCl胁迫下菜用

- 大豆光合作用及荧光特性的影响[J]. 西北植物学报, 2015, 35(6): 1198-1205.
- [4] 郁继华, 闫晓花, 张洁宝, 等. 壳聚糖对低温胁迫下辣椒幼苗活性氧产生和保护酶活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(4): 725-726.
- [5] 马彦霞, 郁继华, 张国斌, 等. 壳聚糖对水分胁迫下辣椒幼苗氧化损伤的保护作用[J]. 中国农业科学, 2012, 45(10): 1964-1971.
- [6] PONGPRAYOON W, ROYTRAKUL S, PICHAYANGKURA R, et al. The role of hydrogen peroxide in chitosan-induced resistance to osmotic stress in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Growth Regulation, 2013, 70: 159-173.
- [7] CHEESEMAN J M. Mechanism of salinity tolerance in plants [J]. Plant Physiology, 1988, 87: 547-550.
- [8] 钱琼秋, 宰文珊, 朱祝军, 等. 外源硅对盐胁迫下黄瓜幼苗叶绿体活性氧清除系统的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2006, 32(1): 107-112.
- [9] 华 春, 王仁雷, 刘友良. 外源 AsA 对盐胁迫下水稻叶绿体活性氧清除系统的影响[J]. 作物学报, 2004, 30(7): 692-696.
- [10] 蒋先明. 蔬菜栽培学总论[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 191.
- [11] 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.
- [12] 孙 锦. 菠菜对海水胁迫响应的生理机制研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2009: 61-62.
- [13] ARNON D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenol oxidase in *Beta vulgaris* [J]. Plant Physiology, 1949, 24: 1-5.
- [14] 秦爱国, 于贤昌. 马铃薯抗坏血酸含量及其代谢相关酶活性关系的研究[J]. 园艺学报, 2009, 36(9): 1370-1374.
- [15] 王 玉, 孔凡英, 尹 波, 等. 过表达单脱氢抗坏血酸还原酶基因提高番茄抗 UV-B 胁迫能力[J]. 植物生理学报, 2014, 50(1): 95-104.
- [16] 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.
- [17] SH ALATA A, MEUMANN P M. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation [J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52(364): 2207-2211.
- [18] MUNNE-BOSCH S, ALEGRE L. Interplay between ascorbic acid and lipophilic antioxidant defences in chloroplasts of water-stressed *Arabidopsis* plants [J]. Febs Letters, 2002, 524: 145-148.
- [19] MAY M J, VERNOUX T, LEAVER C, et al. Glutathione homeostasis in plants: implications for environmental sensing and plant development [J]. Journal of Experimental Botany, 1998, 49(321): 649-667.
- [20] FOYER C H, NOCTOR G. The molecular biology and metabolism of glutathione [M]//GRILL D, TAUSZ M, DE KOK L J, et al. Significance of glutathione in plant adaptation to the environment. Amsterdam: Kluwer Academic Publishers, 2001: 27-57.
- [21] ARTHUR J R. The glutathione peroxidase [J]. Cell Molecular Life Science, 2000, 57(13-14): 1825-1835.
- [22] BERCZI A, MOLLER I M. Redox enzymes in the plant plasma membrane and their possible roles [J]. Plant, Cell & Environment, 2000, 23(12): 1287-1302.
- [23] 王菲菲, 丁明全, 邓澍荣, 等. 胡杨谷胱甘肽过氧化物酶基因的克隆及转化植株耐盐性分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2012, 31(3): 231-239.
- [24] CHANG CCC, SLESIAK I, JORDA L, et al. *Arabidopsis* chloroplastic glutathione peroxidase play a role in cross talk between photooxidative stress and immune responses [J]. Plant Physiology, 2009, 150(2): 670-683.
- [25] POVERO T, LORETI E, PUCCIARIELLO C, et al. Transcript profiling of chitosan-treated *Arabidopsis* seedlings [J]. Journal of Plant Research, 2011, 124: 619-629.
- [26] LIU T T, LIU Z X, SONG C J, et al. Chitin-induced dimerization activates a plant immune receptor [J]. Science, 2012, 336(6085): 1160-1164.
- [27] CHINNUSAMY V, JAGENDORF A, ZHU J K. Understanding and improving salt tolerance in plants [J]. Crop Science, 2005, 45: 437-448.
- [28] LINK V L, HOFMANN M G, SINHA A K, et al. Biochemical evidence for the activation of distinct subsets of mitogen-activated protein kinases by voltage and defence-related stimuli [J]. Plant Physiology, 2002, 128(1): 271-281.

(责任编辑:张震林)