

赵风云,宋新华. 硒和谷胱甘肽复合作用对大麦苗生理和抗氧化特性的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(21):120-123.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.21.027

硒和谷胱甘肽复合作用对大麦苗生理和抗氧化特性的影响

赵风云, 宋新华

(山东理工大学生命科学院, 山东淄博 255049)

摘要:用大麦苗分析单一硒(Se)、谷胱甘肽(GSH)和Se+GSH处理15 d对大麦苗富集Se与GSH及其抗氧化特性的影响。结果显示,Se+GSH复合处理比单一Se或GSH处理增加了大麦苗对Se和GSH的积累量。抗氧化酶系统在Se+GSH复合处理与Se或GSH单一处理之间存在差异。Se+GSH复合处理的大麦苗过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽S-转移酶(GST)的活性高于Se或GSH单一处理,相反,过氧化物酶(POD)活性则低于Se或GSH处理。Se+GSH处理超氧化物歧化酶(SOD)的活性比GSH处理低,而抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性则比GSH处理高。Se+GSH复合处理条件下谷胱甘肽还原酶(GR)的活性大于Se处理而小于GSH处理。Se+GSH处理的大麦苗丙二醛(MDA)含量无明显变化,而总抗氧化能力(T-AOC)显著提高。说明Se+GSH复合作用比单一GSH或Se更有利于促进GSH和Se的吸收与积累,同时增强抗氧化效果。

关键词:硒;谷胱甘肽;复合作用;大麦苗;抗氧化特性

中图分类号: S512.301 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)21-0120-04

大麦苗含有丰富的氨基酸、矿物质、活性酶、维生素等营养成分,具有良好的营养和保健作用,已经开发出大麦苗粉、大麦汁饮品、保健产品添加剂和大麦苗面类食品等保健食品,特别是富硒大麦产品的开发应用对提高人体免疫、预防缺硒引起的各种疾病至关重要^[1-2]。硒是一些抗氧化酶和硒蛋白的重要组成部分,具有多种生物活性功能,它不仅是人体和动物必需的微量元素,而且对植物的生长、产量、品质、抗逆及抗氧化水平等都有重要的调节作用。对番茄、大蒜与胡萝卜等植物的研究表明,适量的硒促进植物的生长,但过量的硒则抑制生长^[3-5]。在水稻、蜈蚣草、番茄、铁皮石斛和大麦等植物中研究发现,硒能提高还原型谷胱甘肽(GSH)与抗坏血酸(AsA)含量及抗氧化酶活性,减少过氧化氢(H_2O_2)的积累和丙二醛(MDA)的产生,缓解除草剂、重金属、盐和低温对植物的伤害^[6-10]。一定浓度范围内外源硒使谷子产量、谷胱甘肽(GSH)、可溶性糖和粗蛋白含量增加,并提高过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)等抗氧化酶的活性^[11-12]。GSH不仅是植物体内重要的抗氧化剂,也是人体抗衰老和增强免疫力不可缺少的活性分子,它是谷胱甘肽抗氧化系统的重要组成部分,在氧化防御反应、化合物代谢、核酸和蛋白质等大分子的生物合成、细胞信号传导和蛋白质间相互作用等方面具有重要的调节作用^[13-14]。GSH作为细胞内的重要还原剂,影响抗氧化系统中SOD、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)等多种酶的活性^[14]。外源GSH影响植物抗氧

化系统中保护酶的活性,改变内源GSH和AsA的含量,参与植物细胞对重金属、极端温度、干旱、高盐等逆境胁迫的应答^[15-16]。外源硒增加小麦、水稻、番茄等植物谷胱甘肽过氧化物酶活性和GSH含量,影响谷胱甘肽氧化还原循环^[6,8,10,17]。硒和GSH系统在增强机体的抗氧化能力和预防过量自由基引起的疾病过程中发挥重要作用^[1-2,18]。关于硒和GSH对生物生理生化的影响已开展了广泛研究,但是对于这二者的复合作用则少见报道。本试验旨在分析同时富集硒和GSH大麦苗生理生化特性的变化,为进一步开发富硒和GSH大麦苗功能食品奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料 with 处理

大麦种子用75%乙醇(30 s)和次氯酸钠(15 min)消毒,无菌水冲洗干净,置于培养盘放培养箱内26~28℃暗培养48 h,其间定时喷洒无菌水。然后将小苗移植到培养盆中(含灭菌的沙子,底部有滤网,外套无孔盆,便于换水),放在培养室[昼/夜相对湿度60%/80%,昼/夜温度26℃/20℃,光照14 h,光照度200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]用霍格兰(Hoagland)营养液培养3 d后开始处理。在营养液中分别或同时添加还原型谷胱甘肽(GSH)和亚硒酸钠(Na_2SeO_3 , Se),其中GSH每天递增0.5 mmol/L,Se每天递增0.1 $\mu\text{mol}/\text{L}$,直至最终浓度分别为GSH 3 mmol/L,Se 0.6 $\mu\text{mol}/\text{L}$,然后用终浓度培养15 d(每天换培养液),收割大麦苗用于测定各项指标。每种处理至少独立重复3次,每次至少3个平行处理(约100株/盆)。

1.2 试验方法

1.2.1 硒和GSH含量的测定 硒含量的测定依据GB 5009.93—2017《食品安全国家标准 食品中硒的测定》中电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS);GSH的提取和含量

收稿日期:2018-08-23

基金项目:山东省自然科学基金(编号:ZR2015CL009);山东省淄博市科技发展计划(编号:2017ZBXC196)。

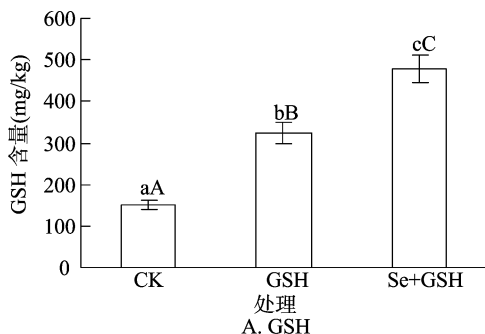
作者简介:赵风云(1963—),女,山东诸城人,博士,教授,主要从事植物生物学研究。E-mail:1795320202@qq.com。

的测定参照 Luwe 等的方法^[19]。

1.2.2 酶液的提取及酶活性的测定 各种酶的提取参照 Rao 等的方法^[20], APX 的提取液额外加入 5 mmol/L 抗坏血酸。APX 和 POD 活性的测定参照 Rao 等的方法^[20]; 脱氢抗坏血酸酶 (DHAR) 活性的测定按照 Chen 等的方法^[21]; CAT 活性的测定参照 Rao 等的方法^[22]; SOD 活性的测定参照 Zhao 等的方法^[23]; GR 和 GST 活性的测定参照 Gronwald 等的方法^[24]。

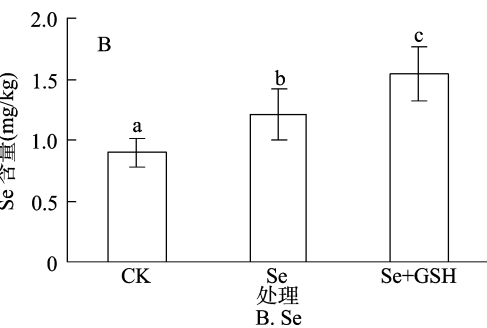
1.2.3 MDA 含量的测定 MDA 含量的测定参照林植芳等的方法^[25]。

1.2.4 大麦苗粉总抗氧化能力 (T-AOC) 的测定 总抗氧化能力的测定按 T-AOC 测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 说明书进行。将各种处理的大麦苗用液氮研磨成粉, 取真空冷冻干燥前/干燥后相同质量的大麦苗粉, 按 1 g : 9 mL 的比例加入蒸馏水, 冰水浴条件下制成匀浆液, 4 247 r/min 离心 10 min, 用上清液测定。



用不同小写字母、大写字母分别表示 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 。下图同

图1 Se+GSH 复合处理对大麦苗 GSH 和 Se 含量的影响



2.2 Se + GSH 复合处理对大麦苗抗氧化酶活性的影响

2.2.1 Se + GSH 复合处理对大麦苗 SOD 和 CAT 活性的影响 如图 2-A 所示, 与对照比, 不同处理条件下大麦苗 SOD 活性都显著降低 ($P < 0.05$)。其中, Se 单一处理比对照低 53.74% 且与 Se + GSH 处理差异不显著, 但 GSH 单一处理的

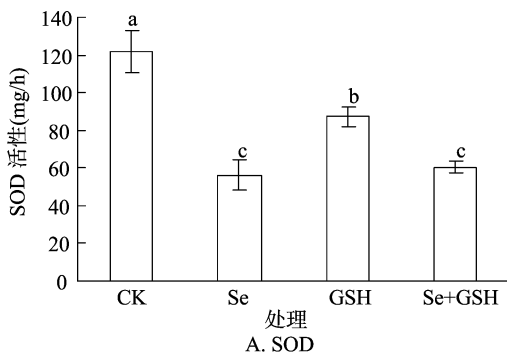
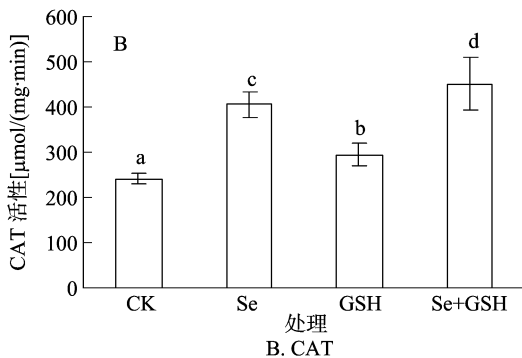


图2 Se+GSH 复合处理对大麦苗 SOD 和 CAT 活性的影响

降低幅度小于 Se 和 Se + GSH 处理 ($P < 0.05$)。

如图 2-B 所示, 3 种处理条件下的 CAT 活性都比对照有所提高 ($P < 0.05$), 其中 Se + GSH 处理的大麦苗 CAT 活性增强程度最大, 比对照高 87.30%, 比 GSH 单一处理高 53.11%。



2.2.2 Se + GSH 复合处理对大麦苗 APX 和 DHAR 活性的影响 如图 3-A 所示, 3 种处理条件下 APX 活性变化存在显著差异, 其中 Se 单一处理比对照高 22.43% ($P < 0.05$), GSH 单一处理的 APX 活性比对照低 40.52% ($P < 0.05$), 而 Se + GSH 复合处理与对照差异不显著。

如图 3-B 所示, GSH 单一处理的 DHAR 活性比对照增

强 11.26% ($P < 0.05$), Se 和 Se + GSH 处理的 DHAR 活性大小类似, 且均与对照差异不显著。

2.2.3 Se + GSH 复合处理对大麦苗 GST 和 GR 活性的影响

如图 4-A 所示, 3 种处理的大麦苗 GST 活性都比对照强, 其中 Se + GSH 处理的增加幅度最大, 分别比对照、单一 Se 和单一 GSH 处理高 107.38% ($P < 0.01$)、84.48% ($P < 0.05$) 和

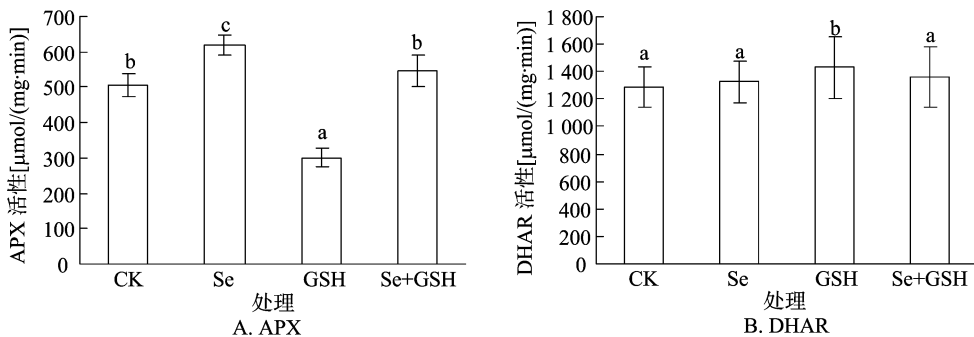


图3 Se+GSH 复合处理对大麦苗 APX 和 DHAR 活性的影响

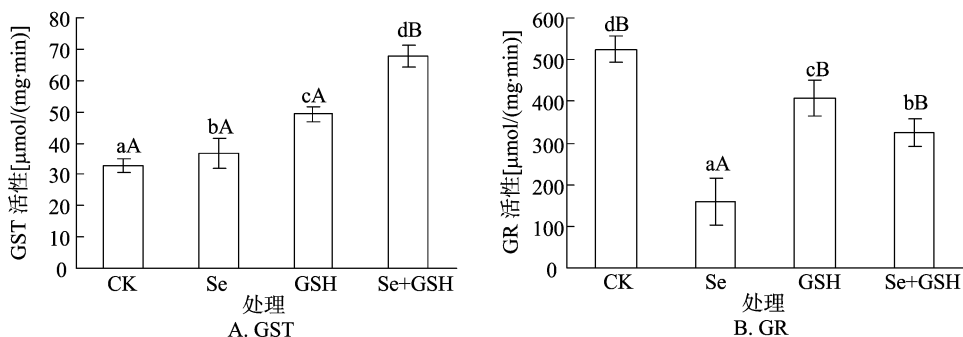


图4 Se+GSH 复合处理对大麦苗 GST 和 GR 活性的影响

37.24% ($P < 0.05$)。

如图 4-B 所示,3 种处理条件下的大麦苗 GR 活性都比对照低,但是降低程度有差异,其中,单一 GSH 处理的降低幅度最小,比对照低 22.24% ($P < 0.05$),其次是 Se + GSH 复合处理 ($P < 0.05$),单一 Se 处理的 GR 活性最低,比对照低 69.46% ($P < 0.01$)。

2.2.4 Se + GSH 复合处理对大麦苗 POD 活性的影响 如图 5 所示,与对照比,单一 Se 处理的 POD 活性略有增强,但差异不显著,单一 GSH 和 Se + GSH 处理的 POD 活性都减弱,其中 Se + GSH 复合处理的减弱幅度最大,比对照减弱 47.53% ($P < 0.05$)。

2.3 Se + GSH 复合处理对大麦苗 MDA 含量的影响

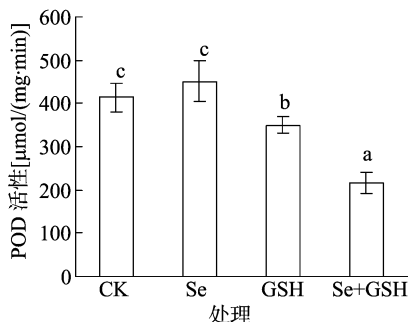


图5 Se+GSH 复合处理对大麦苗 POD 活性的影响

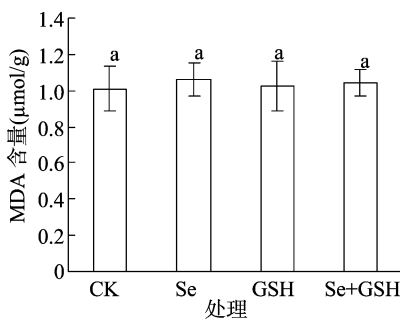


图6 Se+GSH 复合处理对大麦苗 MDA 含量的影响

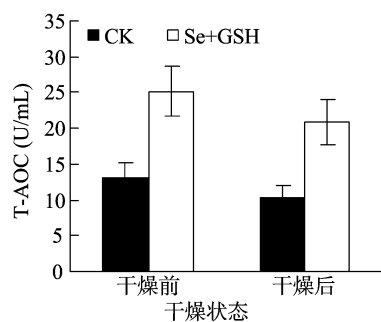


图7 Se+GSH 复合处理对大麦苗粉总抗氧化能力 T-AOC 的影响

3 讨论与结论

硒在增强机体的抗氧化能力、预防缺硒和过量自由基引起的疾病过程中发挥重要作用^[1-2,18]。通过植物吸收将有毒的无机硒转化为无毒的有机硒是提高人体摄取硒的重要途径。植物对硒的吸收积累能力与植物种类、发育时期、处理时

间、处理方式、浓度及硒的价态等有关。对同一植物而言,在硒的价态和处理方式相同时,一定的时间和浓度范围内,随着时间的延长和浓度的增加植物对硒的吸收积累也增加,但是时间过长或浓度过高则会抑制植物生长并减少对硒的吸收^[26-29]。本试验中,萌发生长 5 d 的大麦苗用 0.6 μmol/L 亚硒酸钠处理 15 d 时对硒的吸收积累效果较好。张承东等的

如图 6 所示,各处理组 MDA 含量与对照组之间差异不显著。

2.4 Se + GSH 复合处理对大麦苗粉总抗氧化能力 T-AOC 的影响

为了进一步分析 Se + GSH 复合处理大麦苗粉的抗氧化水平,分别测定真空冷冻干燥前后的大麦苗粉提取液总抗氧化能力 T-AOC。如图 7 所示,干燥前,对照和 Se + GSH 复合处理大麦苗粉的 T-AOC 分别为 13.13、25.14 U/mL,后者的总抗氧化能力比前者高 91.47%。真空冷冻干燥后,对照和 Se + GSH 复合处理的大麦苗粉的 T-AOC 都有所下降,与干燥前比,对照和复合处理的 T-AOC 分别降低 21.48% 和 16.79%,但复合处理的总抗氧化能力仍然比对照大 1.03 倍。

研究表明,硒能提高 GSH 含量,影响抗氧化酶活性,减少 H_2O_2 的积累和 MDA 的产生,进而缓解逆境对植物的伤害^[6-10]。GSH 是谷胱甘肽抗氧化系统的重要组成部分,也是人体抗衰老和增强免疫力不可缺少的活性分子^[13-14]。本试验中 Se + GSH 复合处理条件下,大麦苗 Se 和 GSH 的含量比单一 Se 或 GSH 处理都多,说明 Se + GSH 复合作用促进了 Se 和 GSH 的积累。Se 和 GSH 都能增强生物体的抗氧化能力,减少过量自由基的产生。抗氧化酶系统是植物体内清除自由基的重要途径。本研究中,大麦苗几个抗氧化酶的活性在 Se + GSH 复合处理与单一 Se 或 GSH 处理之间存在差异。如 Se + GSH 处理 SOD 活性的减弱幅度大于单一 GSH 处理。就清除 H_2O_2 的抗氧化酶 CAT、APX 和 POD 而言,不同处理条件下其活性变化也不同,如 Se + GSH 处理的大麦苗 CAT 活性增强程度大于 Se 或 GSH 单一处理;Se + GSH 复合处理的 APX 活性无显著变化,而单一 Se 处理使 APX 活性增强,相反,单一 GSH 处理则使其活性减弱;Se + GSH 复合处理的 POD 活性显著弱于 GSH 或 Se 单一处理。GST 和 GR 是谷胱甘肽抗氧化系统的重要酶,本试验中 Se + GSH 处理的 GST 活性增强幅度显著大于 Se 和 GSH 单一处理;无论是单一处理还是复合处理大麦苗 GR 的活性都减弱,但是单一 GSH 处理的减弱幅度小于单一 Se 和 Se + GSH 处理组的。本试验条件下,Se + GSH 处理的大麦苗 MDA 含量无明显变化,而总抗氧化能力显著提高。这些结果说明 Se + GSH 复合作用比单一 GSH 或 Se 更有利于促进 GSH 和 Se 的吸收与积累,同时增强抗氧化效果。本研究为进一步研发富集 GSH 和 Se 大麦苗功能营养粉奠定了重要基础。

参考文献:

- [1] 郑慧敏,王 军,王梦竹. 大麦苗的营养价值及应用[J]. 大麦与谷类科学,2017,34(2):20-22,27.
- [2] 鲜 瑶,张 雷,宋 戈,等. 大麦苗粉营养保健功能的研究进展[J]. 中国食物与营养,2016,22(11):73-76.
- [3] 施和平,张英聚,刘振声. 番茄对硒的吸收分布和转化[J]. 植物学报,1993,35(7):541-546.
- [4] 王永勤,曹家树,李建华,等. 施硒对大蒜产量和含硒量的影响[J]. 园艺学报,2001,28(5):425-429.
- [5] Biacs P A, Daood H G, Kodar I. Effect of Mo, Se, Zn and Cr treatments on the yield, element concentration, and carotenoid content of carrot[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43(3):589-591.
- [6] 张承东,韩朔睽,魏钟波. 硒对除草剂胁迫下水稻幼苗活性氧清除系统响应的作用[J]. 环境科学,2002,23(4):93-96.
- [7] Srivastava M, Ma L Q, Rathinasabapathi B, et al. Effects of selenium on arsenic uptake in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(3):1115-1121.
- [8] 王建华,何晓玲,崔金霞,等. 外源硒对 NaCl 胁迫下加工番茄幼苗膜脂过氧化和 AsA - GSH 循环的影响[J]. 新疆农业科学, 2014, 51(10):1814-1820.
- [9] 张艳嫣,陈 丹,谭艳玲,等. 外源硒对低温胁迫下铁皮石斛幼苗的缓解效应及其抗氧化生理特征变化[J]. 西北植物学报,2013, 33(4):747-754.
- [10] 孙协平,罗友进,周广文. 硒对甜樱桃叶片褪黑素和谷胱甘肽氧化还原循环的影响[J]. 中国农业科学,2017,50(22):4373-4381.
- [11] 王永会,周大迈,张爱军,等. 外源硒对谷子抗氧化酶活性及其品质的影响[J]. 中国土壤与肥料,2015(4):112-117.
- [12] 穆婷婷,杜慧玲,张福耀,等. 外源硒对谷子生理特性、硒含量及其产量和品质的影响[J]. 中国农业科学,2017,50(1):51-63.
- [13] 段喜华,唐中华,郭晓瑞. 植物谷胱甘肽的生物合成及其生物学功能[J]. 植物研究,2009,30(1):98-105.
- [14] 闫慧芳,毛培胜,夏方山. 植物抗氧化剂谷胱甘肽研究进展[J]. 草地学报,2013,21(3):428-434.
- [15] Kocsy G, von Ballmoos P, Suter M, et al. Inhibition of glutathione synthesis reduces chilling tolerance in maize[J]. Planta, 2000, 211(4):528-536.
- [16] 刘传平,郑爱珍,田 娜,等. 外源 GSH 对青菜和大白菜镉毒害的缓解作用[J]. 南京农业大学学报,2004,27(4):26-30.
- [17] 郭静成,尹顺平. 硒对高等植物中谷胱甘肽过氧化物酶活性及谷胱甘肽含量的影响[J]. 西北植物学报,1998,18(4):533-537.
- [18] Sies H. Strategies of antioxidant defense [J]. Pharmacological Research, 1995, 31(1):161.
- [19] Luwe M W F, Takahama U, Heber U. Role of ascorbate in detoxifying ozone in the apoplast of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves[J]. Plant Physiology, 1993, 101(3):969-976.
- [20] Rao M V, Hale B A, Ormrod D P. Amelioration of ozone - induced oxidative damage in wheat plants grown under high carbon dioxide (role of antioxidant enzymes) [J]. Plant Physiology, 1995, 109(2):421-432.
- [21] Chen Z, Young T E, Ling J, et al. Increasing vitamin C content of plants through enhanced ascorbate recycling[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100(6):3525-3530.
- [22] Rao M V, Paliyath G, Ormrod D P, et al. Influence of salicylic acid on H_2O_2 production, oxidative stress, and H_2O_2 - metabolizing enzymes. Salicylic acid - mediated oxidative damage requires H_2O_2 [J]. Plant Physiology, 1997, 115(1):137-149.
- [23] Zhao F Y, Wang X Y, Zhao Y X, et al. Transferring the Suaeda salsa glutathione S - transferase and catalase genes enhances low temperature stress resistance in transgenic rice seedlings[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2006, 32(2):231-238.
- [24] Gronwald J W, Plaisance K L. Isolation and characterization of glutathione S - transferase isozymes from sorghum [J]. Plant Physiology, 1998, 117(3):877-892.
- [25] 林植芳,李双顺,林桂珠,等. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及膜脂过氧化作用的关系[J]. 植物学报,1984,26(6):605-615.
- [26] 付冬冬,段曼莉,梁东丽,等. 不同价态外源硒对小白菜生长及养分吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2011,17(2):358-365.
- [27] 王家伟,陈雄波,黄起东,等. 不同水稻品种对硒的吸收转化试验[J]. 农业工程,2016,6(4):82-84.
- [28] 王晓洁,阮 新,杨 波,等. 大麦苗富硒研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8):253-257.
- [29] 黄太庆,江泽普,邢 颖,等. 水稻对外源硒的吸收利用研究[J]. 农业资源与环境学报,2017,34(5):449-455.