

广豆根幼苗对干旱胁迫的生理响应

李林轩, 唐美琼, 梁莹, 韦坤华, 缪剑华

(广西药用植物园 广西药用资源保护与遗传改良重点实验室, 广西 南宁 530023)

摘要:以广豆根幼苗为试材,采用不同质量浓度 PEG-6000 模拟土壤干旱胁迫处理广豆根 (*Sophora tonkinensis* Gagnep.) 幼苗 60 d 后,测定叶中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性及丙二醛(MDA)含量,探讨山豆根对干旱胁迫的适应机理,观测广豆根在干旱胁迫下的生理响应。结果表明:经不同质量浓度 PEG-6000 胁迫后,广豆根 MDA 的含量显著提高,几种保护酶活性在不同浓度干旱胁迫后都有不同程度的变化,但都显著或极显著高于正常水分处理;在 15% 处理下 CAT 活性显著高于其它处理;随着 PEG 浓度的增加,SOD 活性表现出一直升的趋势。

关键词:广豆根;干旱胁迫;生理响应

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)10-0181-03

植物赖以生存的环境并不总是适宜的,干旱、盐碱和低温等逆境条件都会限制植物的生长,其中干旱胁迫的影响越来越突出。植物在干旱胁迫下体内产生大量自由基而引发膜脂过氧化作用,破坏细胞膜系统,影响植物的正常生长甚至导致植物死亡^[1]。在长期的进化过程中,植物为保护自己免受或少受伤害形成相应的清除活性氧自由基保护酶系统,在逆境条件下调动自身的防御系统,包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶

(CAT)、过氧化物酶(POD)等活性的变化,以及通过它们之间相互协调有效的清除植物体内多余的 O_2^- 、 H_2O_2 等自由基,引起一系列生理生化方面的反应^[2]。丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的主要产物之一,通常利用它作为膜脂过氧化的指标,表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱^[3]。

广豆根为豆科植物越南槐(*Sophora tonkinensis* Gagnep.)的干燥根及根茎^[4],富含苦参碱与氧化苦参碱等活性成分,是抗肿瘤和消炎镇痛方面不可多得的良药^[5]。广豆根野生资源生长环境恶劣,零星生长于石山岩缝之中,具有很强的抗旱能力。然而,在广豆根所表现出强抗旱能力的生理机制方面研究仍是空白。长期以来,由于盲目的采挖造成广豆根野生资源已接近枯竭,在不改变药材质量的前提下必须开展广豆根人工栽培。该研究采用不同质量浓度的 PEG-6000 对盆栽广豆

第一作者简介:李林轩(1986-),男,本科,研究实习员,现从事药用植物生理生化学等研究工作。E-mail:starry1125@sina.com。

责任作者:缪剑华(1961-),男,博士,研究员,现从事药用植物中药学等研究工作。E-mail:mjh1962@vip.163.com。

基金项目:国家发改委中药材扶持资金资助项目(发改运行[2007]2706号);广西科学基金资助项目(桂科自 0991025Z)。

收稿日期:2012-02-24

Study on Esterase Isozyme Analysis Diversity of *Pleurotus Citrinopileatus*

CUI Dan, YAO Fang-jie, ZHANG You-min

(College of Horticulture, Engineer Research Center of Edible and Medical Mushroom of Education Ministry, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: The esterase isozymes of 20 strains of *Pleurotus citrinopileatus* were studied with the polyacrylamide gel electrophoresis techniques. The results showed that their esterase isozymes map was rich diversity. Fourteen enzyme belts of esterase isozymes of twenty strains were detected. Three of them had the same migration rate and eleven of them were different. The polymorphism was 78.6%. At the similarity level 0.8, the test strains were classified into seven groups in the dendrogram of esterase isoenzymes of *P. citrinopileatus*.

Key words: *Pleurotus citrinopileatus*; esterase isozyme; diversity; cluster analysis

根幼苗进行干旱胁迫,通过对叶片中 MDA 含量、SOD、CAT、POD 等保护酶活性的测定,了解广豆根对干旱胁迫的生理响应,为广豆根抗旱机理的研究和人工栽培提供理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以播种后 3 个月的广豆根盆栽苗为试验对象,广豆根种子采于广西药用植物园那坡县广豆根种植基地。在广西药用植物园玻璃温室中进行正常的管理。

1.2 试验方法

1.2.1 胁迫处理 选取饱满的广豆根种子,均匀撒播在广西药用植物园玻璃温室中育苗床上,待种子出芽并长至三叶期时选取长势一致的幼苗移栽至花盆中。用 5%、15%、25% 3 个质量浓度的聚乙二醇 6000(PEG-6000)进行胁迫处理,处理时间为 60 d,设不添加 PEG-6000 的处理为对照组,5 次重复,每个重复 4 株。每 30 d 浇灌 1 次处理液,以浇透土壤为度,并定期浇适量的水,使之处于同等生长环境下。试验开始后第 60 天取样,取第 1 片完全展开叶以下 3~8 片叶进行生理生化试验。

1.2.2 指标测定方法 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光还原法^[6];过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外分光光度法^[6];过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[6];丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸(TBA)反应法^[6]。

1.3 数据处理

试验数据处理及显著性分析采用 SPSS、Excel 分析程序。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对广豆根幼苗叶片 SOD 活性的影响

由图 1 可知,经过不同质量浓度 PEG 干旱胁迫处理后,广豆根叶片 SOD 活性都升高,在 5%、15% 和 25% PEG 处理下其活性分别比正常处理升高 19.2%、42.3% 和 57.7%,其中 25%PEG 浓度下 SOD 活性与 CK 之间存在显著差异($P<0.05$),表明严重的干旱胁迫对广豆根造成显著的伤害。由以上的分析看出,干旱胁迫激活了广豆根叶片 SOD 活性水平,使其清除自由基的能力加强,且随着胁迫质量浓度的增加,其激活程度也较大。

2.2 干旱胁迫对广豆根幼苗叶片 CAT 活性的影响

由图 2 可知,随着 PEG 质量浓度的增加,广豆根 CAT 活性表现出先上升后下降的变化趋势,方差分析表明,干旱胁迫下 CAT 活性始终显著高于正常水分处理。该结果表明,广豆根具有很强的活性氧清除能力,但是严重的干旱胁迫会对它造成一定的伤害。而 CAT 活性在 15%PEG 浓度处理下比 5%和 25%PEG 浓度处理下显著提高,表明干旱胁迫后 CAT 表现出较高的水平,但

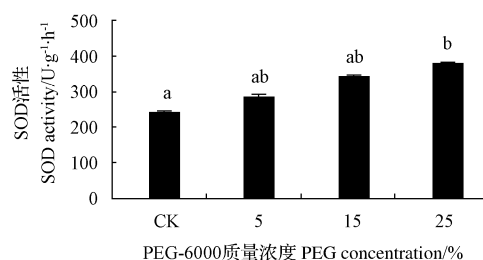


图 1 PEG 干旱胁迫对 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effect of PEG drought stress on SOD activity

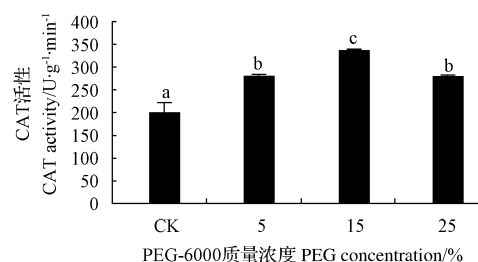


图 2 PEG 干旱胁迫对 CAT 活性的影响

Fig. 2 Effect of PEG drought stress on CAT activity

是它消除活性氧的水平可能存在一个阈值,超过这个阈值后,植物将会受到更大的伤害。

2.3 干旱胁迫对广豆根幼苗叶片 POD 活性的影响

由图 3 可知,干旱胁迫后 POD 的活性始终显著高于正常水分处理,随着胁迫质量浓度的增加,表现出先上升后下降再上升的变化趋势。这表明广豆根的 POD 活性对干旱胁迫很敏感,在干旱胁迫下可以调动 POD 的活性,从而清除活性氧,有效的维持细胞膜的稳定性,避免膜质过氧化伤害。

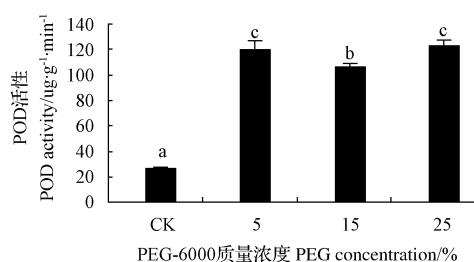


图 3 PEG 干旱胁迫对 POD 活性的影响

Fig. 3 Effect of PEG drought stress on POD activity

2.4 干旱胁迫对广豆根幼苗叶片 MDA 含量的影响

由图 4 可知,不同质量浓度 PEG-6000 模拟的干旱胁迫处理显著影响广豆根叶片 MDA 的积累,在 5%、15% 和 25% PEG 处理下 MDA 的含量都显著高于正常处理($P<0.05$),它的积累量随着胁迫程度的增加表现出先上升后下降的变化趋势。说明轻度干旱胁迫就足以使广豆根产生显著的膜脂过氧化作用,但它在受伤之后能积极的进行自我调整,显示出一定的抗旱能力。

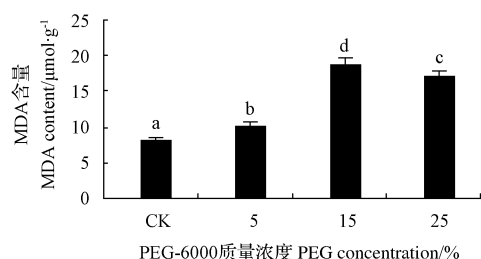


图4 PEG干旱胁迫对MDA含量的影响

Fig. 4 Effect of PEG drought stress on MDA content

3 讨论与结论

植物对干旱胁迫的适应反应是一个非常复杂的生理生态学问题,干旱胁迫下植物体内自由基产生和消除之间的平衡被打破,出现自由基累积而引发或加剧细胞膜脂过氧化,对植物的正常生长造成影响^[1]。自生物自由基伤害学说提出以来,干旱胁迫和植物膜脂过氧化及保护酶系统之间的研究越来越受到人们重视^[7]。

在干旱逆境条件下,SOD、POD、CAT活性以及其保护性物质相互协调,有效地清除逆境条件下一些代谢过程产生的活性氧,使活性氧维持在一个较低水平上,从而可以减缓活性氧积累,使植株维持较正常的生长发育^[8]。PEG浸种或PEG模拟干旱胁迫下,一些不同种类的植物都表现为SOD和CAT活性升高^[9-10]。

该研究中广豆根幼苗在不同程度的干旱胁迫下,不同保护酶的活性变化有所不同,但CAT、POD和SOD酶活性始终都高于正常水分处理。随着PEG-6000浓度的增加,其CAT活性表现出先上升后下降的变化趋势,POD活性表现出先上升后下降再上升的变化趋势,而SOD活性表现出一直升高的趋势,可见4种酶活性总体

表现出彼此协调的变化趋势,有利于清除广豆根体内的自由基,降低膜脂过氧化水平,使其免受干旱胁迫的伤害,是广豆根抗干旱的生理基础之一。在各个酶活性改变的同时,MDA含量则表现出先增加后逐渐下降的变化,可能是广豆根叶片保护酶活性的防御系统还未协调好,导致未能及时清除的H₂O₂产生积累,从而引起膜脂过氧化加剧,使膜系统受到损伤。这需要下一步对不同程度干旱胁迫下广豆根叶片生理指标进行动态的监测试验验证,以期为广豆根的抗旱性建立更全面的评价体系。

参考文献

- [1] Scandalios J G. Oxygen stress and superoxide dismutase [J]. Plant Physiol, 1993, 101: 7-12.
- [2] Bowler C, Van M, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance [J]. Annu Rev Plant Mol Biol, 1992, 43: 83-116.
- [3] Chen S Y. Relationship between membrane lipid peroxidation and the stressed plants [J]. Chin Bull Bot, 1989, 6(4): 211-217.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 1部. 北京: 化学工业出版社, 2010: 25-26.
- [5] 王俊学, 王国俊. 苦参碱及氧化苦参碱的药理作用及临床应用 [J]. 肝脏, 2000, 5(2): 116-117.
- [6] 郝建军, 康宗利, 于洋. 植物生理学实验技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 141-142.
- [7] 师晨娟, 刘勇, 张林玉. 苗木抗旱生理及抗旱调控技术 [J]. 世界林业研究, 2006(3): 33-37.
- [8] 谢亚军, 王兵, 梁新华, 等. 干旱胁迫对甘草幼苗活性氧代谢及保护酶活性的影响 [J]. 农业科学研究, 2008, 29(4): 19-22.
- [9] Snimoff N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation [J]. New Phytol, 1993, 125: 27-58.
- [10] Zhang J, Kirkham M B. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by abscisic acid benzoic acid and propyl gallate [J]. Plant Physiol, 1996, 149: 489-493.

Physiological Responses of *Sophora tonkinensis* Gagnep. Seedlings under Drought Stress

LI Lin-xuan, TANG Mei-qiong, LIANG Ying, WEI Kun-hua, MIAO Jian-hua

(Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant, Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and Genetic Improvement, Nanning, Guangxi 530023)

Abstract: *Sophora tonkinensis* Gagnep. seedling was chosen as test material, the protective enzymes activity include superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) and malondialdehyde (MDA) content in leaves were measured when the *S. tonkinensis* Gagnep. had lived in different concentration of polyethylene glycol (PEG-6000) treatment soil for 60 days, the physiological responses under drought stress and find out the plant drought adaptation of *Sophora tonkinensis* Gagnep. were studied. The results showed that the MDA content increased and the activity of the protective enzymes had different changes but were notably higher than the normal treatment under different concentration of PEG-6000. The activity of CAT was notably higher under the 15% treatment. The activity of SOD was increased with the increasing concentration of PEG.

Key words: *Sophora tonkinensis* Gagnep.; drought stress; physiological responses