

外源激素对盐胁迫下草莓试管苗酶活性的影响

郑 平 生

(甘肃省果业管理办公室,甘肃 兰州 730030)

摘 要:以草莓“香菲”和“大将军”为试材,研究了一定浓度的细胞分裂素(6-BA)和生长素(IAA)协同处理对盐胁迫下草莓试管苗叶片酶活性的影响。结果表明:15 d后,0.5 mg/L的 IAA 和 6-BA 处理 0.3%盐胁迫下的试管苗生长趋于正常,体内丙二醛含量降低,保护酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)以及过氧化氢酶(CAT)活性增强,盐胁迫危害程度减轻。

关键词:草莓试管苗;盐胁迫;外源激素;缓解

中图分类号:S 668.403.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)06-0116-03

植物体内的激素含量与其耐盐性有一定的关系。在盐分胁迫下用激素处理可以提高植物抗盐性,抵消盐分胁迫,促进植物生长^[1]。外源 6-苄基氨基嘌呤(6-BA)能够增加大麦等植物体内细胞分裂素含量,缓解盐胁迫对植物正常生长的伤害^[2-4]。吲哚乙酸(IAA)能够增加盐胁迫下大豆幼苗干物质产量,提高光合效率,降低植物膜脂过氧化及膜的相对透性,促进盐胁迫下大豆幼苗的生长^[5]。用赤霉素(GA₃)处理盐胁迫下的菜豆,可促其生长,抵消盐分对菜豆的生长和光合及运输等的抑制作用;GA₃处理盐胁迫下的草莓试管苗,试管苗叶片叶

绿素含量增加,体内丙二醛含量降低,保护酶 SOD、POD、CAT 活性增强,生长抑制受到减弱^[6]。显然,植物体内各类激素的平衡与植物对盐碱的敏感性有关。现对盐胁迫下外源 6-BA 和 IAA 对草莓试管苗叶片酶活性的影响进行研究,以期探讨外源激素对盐胁迫下草莓生长机理,为草莓抗盐研究和栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试草莓品种为“香菲”和“大将军”,选择在 MS 培养基上生长健壮、大小一致的继代试管苗为试材。

1.2 试验方法

设处理 1:MS+0.3% NaCl、处理 2:MS+0.3% NaCl+0.5 mg/L 6-BA、处理 3:MS+0.3% NaCl+0.5 mg/L IAA 3 个处理,以培养基 MS 为对照,每处理 20 瓶,每瓶 3 株,

作者简介:郑平生(1975-),男,硕士,农艺师,研究方向为果树生物技术,现主要从事果树生物技术研究及示范推广等工作。

基金项目:甘肃省扶贫办资助项目(0070730)。

收稿日期:2012-11-12

Comparison and Analysis of Total RNA Extraction Methods from *Populus simonii* × *P. nigra* Pollen

YUAN Hong-mei^{1,2}, ZHAO Li-juan³, GUO Wen-dong⁴, WU Jian-zhong², ZHANG Li-guo², GUAN Feng-zhi²

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040; 2. Institute of Industrial Crops, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 3. Institute of Crop Breeding, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 4. Institute of Nature and Ecology, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract: Taking the pollen of *Populus simonii* × *P. nigra* as material, four kinds of total RNA extraction methods (traditional CTAB method, RNAout kit, improved CTAB method and SDS method) were compared using agarose gel electrophoresis, spectrophotometry and RT-PCR method. The results showed that SDS method was suitable for total RNA with high purity and good integrity extraction from *Populus simonii* × *P. nigra* pollen. It had also the advantage of simplicity, less operation time and low cost. It was an ideal method for total RNA extraction from *Populus simonii* × *P. nigra* pollen.

Key words: *Populus simonii* × *P. nigra*; pollen; RNA extraction; RT-PCR

3次重复,单芽接种。接种后在温度(23±2)℃、光照强度2 000 lx、光/暗周期为10 h/14 h下培养。

1.3 项目测定

处理15 d后,参照李合生^[7]方法测定试管苗各品种叶片中丙二醛(MDA)含量和保护酶超氧化物歧化酶(SOD)(氮蓝四唑(NBT)法)、过氧化物酶(POD)(愈创木酚法)以及过氧化氢酶(CAT)(紫外吸收法)等的活性。

1.4 数据分析

试验数据采用SPSS软件进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 外源激素对盐胁迫下草莓试管苗细胞膜脂质过氧化物丙二醛(MDA)含量的影响

由图1可知,用0.3%的NaCl处理草莓试管苗,15 d后试管苗体内丙二醛含量大幅增加,品种“香菲”和“大将军”试管苗丙二醛含量分别达到1.24和1.34 μmol/L,是正常生长试管苗的1.75倍和2.63倍,说明试管苗膜脂过氧化程度加重,受到盐胁迫危害,且“大将军”叶片的丙二醛含量增加幅度比品种“香菲”大,说明“香菲”耐盐性较“大将军”强。用外源6-BA和IAA分别处理盐胁迫下的试管苗,15 d后测定试管苗叶片丙二醛含量,2个品种叶片丙二醛含量均明显降低,分别为0.91、0.84 μmol/L和0.83、0.61 μmol/L,是盐胁迫下的73.39%、62.69%和66.94%、45.52%,但都高于对照,2个品种叶片丙二醛含量分别是对照的1.28、1.65倍和1.2、1.2倍,说明外源激素6-BA和IAA能在一定程度上降低盐胁迫下草莓试管苗细胞膜膜脂过氧化程度,减轻盐危害;“大将军”丙二醛含量值的变化比“香菲”大,外源激素的作用效果比“香菲”更明显;6-BA的处理草莓叶片丙二醛含量的值比IAA的处理大,说明生长素IAA对盐胁迫的缓解作用比细胞分裂素6-BA强。

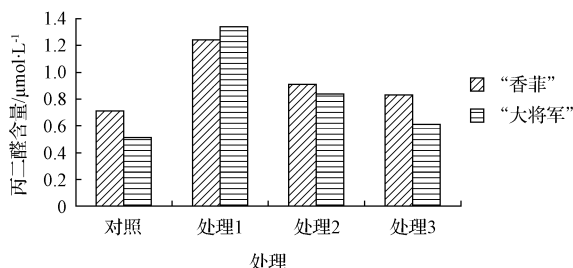


图1 外源激素对盐胁迫下草莓试管苗丙二醛的影响

Fig. 1 Effect of exogenous hormones on content of MDA of strawberry plantlets' leaves under salt stress

2.2 外源激素对盐胁迫下草莓试管苗超氧化物歧化酶(SOD)活性变化的影响

用NaCl处理草莓试管苗,生长15 d后测定试管苗叶片SOD活性,结果是SOD活性明显降低,“香菲”和“大将军”分别是对照的77.01%和61.05%(图2),“大将军”叶片的SOD活性降低幅度比“香菲”大,说明“大将军”受盐分的危害程度较“香菲”严重。用外源6-BA和IAA分别处理盐胁迫下的试管苗,15 d后测定试管

苗叶片SOD活性,2个品种SOD活性均有增强,分别为259.43、162.9 U·g⁻¹·min⁻¹和272.91、168.11 U·g⁻¹·min⁻¹,比盐胁迫下分别提高了10.76%、14.04%和16.52%、17.68%,达到正常生长草莓试管苗叶片SOD活性的85.3%、70.3%和89.71%、72.54%,说明在盐胁迫下加入外源激素6-BA和IAA能在一定程度上提高草莓试管苗叶片SOD活性,减轻盐胁迫对草莓试管苗的危害。品种间,外源激素的缓解作用效果“大将军”比“香菲”强。处理间,IAA的处理SOD活性增加值比6-BA大,说明生长素IAA对盐胁迫的缓解作用较细胞分裂素6-BA强。

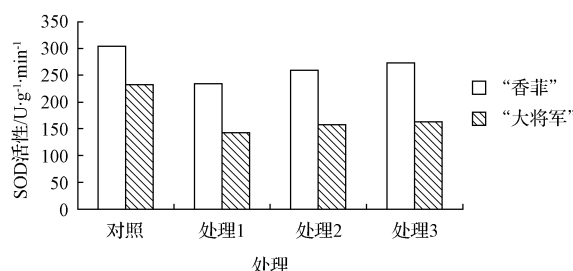


图2 外源激素对盐胁迫下草莓试管苗SOD活性的影响

Fig. 2 Effect of exogenous hormones on activity of SOD of strawberry plantlets' leaves under salt stress

2.3 外源激素对盐胁迫下草莓试管苗过氧化物酶(POD)活性的影响

由图3可知,盐胁迫下试管苗叶片POD活性降低,试管苗长势较差,生长明显受到抑制。用外源6-BA和IAA分别处理盐胁迫下的试管苗,处理15 d后,试管苗体内POD活性增强,“香菲”和“大将军”分别达到26.89、23.64 U·g⁻¹·min⁻¹和27.81、24.31 U·g⁻¹·min⁻¹,比盐胁迫下分别增长5.58%、7.02%和9.19%、10.05%,是对照的84.94%、73.48%和87.88%、75.57%,试管苗盐胁迫危害有所减轻,但还不能达到正常生长。品种间,“香菲”叶片的POD活性变化值比“大将军”小,说明盐胁迫下外源激素的作用效果比“大将军”弱。处理间,IAA的处理草莓试管苗叶片POD活性的变化值比6-BA大,说明盐胁迫下生长素IAA缓解作用较细胞分裂素6-BA强。

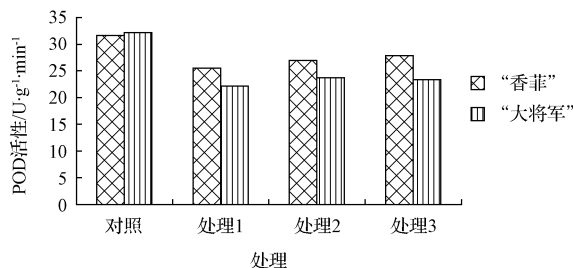


图3 外源激素对盐胁迫下草莓试管苗POD活性的影响

Fig. 3 Effect of exogenous hormones on activity of POD of strawberry plantlets' leaves under salt stress

2.4 外源激素对盐胁迫下草莓试管苗体内过氧化氢酶(CAT)活性的影响

盐胁迫下,试管苗体内CAT活性明显降低,由图4

可知,15 d后“香菲”和“大将军”试管苗叶片 CAT 活性测定值分别降为对照的 85%、69%。用外源 6-BA 和 IAA 分别处理 2 个品种后,试管苗盐害有所减轻,生长转好,叶片 CAT 活性测定值均升高,2 个品种分别比盐胁迫下提高了 7.45%、10.17%和 10.14%、18.76%,达到对照的 90.38%、75.37%和 92.65%、81.25%。品种间,“香菲”叶片的 CAT 活性的变化值较“大将军”小,说明外源激素对盐胁迫下“大将军”的缓解作用比“香菲”强;处理间,IAA 处理 CAT 活性的变化值较 6-BA 大,说明 IAA 的缓解作用较 6-BA 强。

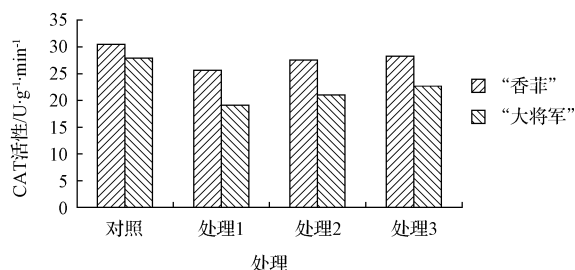


图 4 外源激素对盐胁迫下草莓试管苗 CAT 活性的影响

Fig. 4 Effect of exogenous hormones on activity of CAT of strawberry plantlets' leaves under salt stress

3 讨论

盐分胁迫使植物体内细胞分裂素含量降低^[8],外源细胞分裂素可增加植物体内细胞分裂素的含量^[9-11],调节植物体内盐分的运输和分配,使盐离子在植物体内有效的分布和积累,有效提高植物的耐盐性。外源 6-苄氨基嘌呤(6-BA)能够增加植物体内细胞分裂素含量,缓解盐胁迫对植物正常生长的危害^[2],魏爱丽等^[5]用 IAA 处理盐胁迫下的大豆幼苗,结果表明 IAA 可促使盐胁迫下大豆幼苗生长,提高大豆幼苗的耐盐性。现采用外源 6-BA 和 IAA 分别处理盐胁迫下的草莓试管苗,结果是试管苗长势好转,体内丙二醛含量显著降低,保护酶 SOD、POD 和 CAT 活性明显升高,试管苗盐胁迫危害程度减轻,生长抑制受到减弱。外源 6-BA、IAA 的增加首

先是增加了试管苗体内 6-BA、IAA 的含量,调节了试管苗体内盐分的运输和分布,使盐离子在其体内有效的分布和积累,相对降低试管苗体内 Na^+ 、 Cl^- 含量,促使试管苗新叶生长和芽的发生^[7]。其次是降低试管苗体内自由基产物丙二醛的含量,使 3 种保护酶活性升高,缓解了盐分胁迫对细胞膜的伤害,增强细胞膜系统的完整性和稳定性,提高了试管苗对离子的选择性。具体的调节机理报道的不多,还有待进一步探讨。该试验中 6-BA 的增加影响试管苗根的发生和伸长,可能是外源 6-BA 的加入打破了试管苗体内细胞分裂素和生长素的平衡,细胞分裂素含量相对升高,高细胞分裂素/低生长素诱导丛芽形成,抑制根发生^[12]。在实际生产中,细胞分裂素和配合使用生长素或多种激素混合使用来缓解盐胁迫对植物的伤害可能会取得较好的效果,还需要进一步研究。

参考文献

- [1] 王忠. 植物生理学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:458-459.
- [2] 朱速松. 6-苄氨基嘌呤对大麦耐盐性的调节机理[J]. 南京农业大学学报,1996,19(3):12-16.
- [3] 张士功,高吉寅,宋景芝. 盐胁迫条件下小麦幼苗体内 Na^+ 、 K^+ 和 Cl^- 的含量及其分布影响[J]. 华北农学报,1999(4):39-44.
- [4] 郑平生,金芳,燕丽萍. 几种外源激素对盐胁迫下草莓试管苗生长的影响[J]. 甘肃农业大学学报,2004,39(3):277-280.
- [5] 魏爱丽,陈云昭. IAA 对盐胁迫下大豆幼苗膜伤害及抗盐力的影响[J]. 西北植物学报,2000,20(3):410-414.
- [6] 郑平生,金芳. 外源 GA_3 对盐胁迫下草莓试管苗生长的影响[J]. 黑龙江农业科学,2008(5):5-6.
- [7] 李合生. 植物生理生化实验原理技术[M]. 北京:高等教育出版社,2001.
- [8] Itaie, Vadia Y. Kinetin-like activity in root exudate of water stressed sunflower[J]. Physiol Plant,1965,18:941-944.
- [9] Leschem. Cytokinin interaction with radical metabolism and senescence effects on endogenous lipoxygenase and purine oxidation[J]. Plant Physiol, 1981,56:453-457.
- [10] Kuiper D. Actual cytokinin concentration in plant tissue as an indicator for salt resistance in cereals[J]. Plant and Soil,1990,123:243-250.
- [11] 朱速松. 6-苄氨基嘌呤对大麦耐盐性的调节机理[J]. 南京农业大学学报,1996,19(3):12-16.
- [12] 程家胜. 植物组织培养与工厂化育苗技术[M]. 北京:金盾出版社,2003:43.

Study on Exogenous Hormones on the Activity of Membrane Protective Enzymes of Strawberry Plantlets in Salt Stress

ZHENG Ping-sheng

(Office of Management, Fruit Industry of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730030)

Abstract: Taking the strawberry cultivar 'Xiangfei' and 'Dajiangjun' as test materials, the mitigative effect of a certain concentration of exogenous 6-BA and IAA on the activity of membrane protective enzymes of strawberry plantlets under certain salt stress *in vitro* were studied. The results showed that after 15 days *in vitro* culture, compared with those which grew under salt stress, the treatments with 0.5 mg/L 6-BA and 0.5 mg/L IAA which strawberry plantlets were inoculated in medium with 0.3 percent NaCl could comparatively delay the accumulation of malondialdehyde (MDA), relatively promote the activity of membrane protective enzymes such as superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT). And the harmful levels of salt stress were reduced, the plantlets become normal.

Key words: strawberry plantlets; salt stress; exogenous hormones; mitigate