

增强 UV-B 辐射对铁皮石斛保护酶的影响

莫运才, 曾令杰, 冯鸿耀, 黄 涵

(广东药学院 中药学院, 广东 广州 510006)

摘 要:以铁皮石斛品种“云南红杆”为试材,研究了 5.1 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ (L1)、10.3 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ (L2)和 15.6 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ (L3)3 个强度的 UV-B 辐射处理下,铁皮石斛叶片保护酶活性及 MDA 含量的变化差异。结果表明:在整个辐射处理期间,L1 处理叶片的 SOD 活性总体高于 CK,幅度波动不明显;L2 和 L3 处理的 SOD 活性总体趋势呈先升高后降低的变化趋势。3 个处理组的 POD 均呈现出先升高后降低的趋势,之后升高再降低。L1 处理的 CAT 活性先缓缓下降,然后逐渐上升,最后趋于平稳;L2 和 L3 的波动幅度较大,最后都明显降低。随着辐射时间的延长,叶片中 MDA 含量明显增加,如 L2 和 L3。而 L1 处理下叶片中 MDA 含量与 CK 相比,含量变化不大。分析表明,UV-B 辐射造成抗氧化系统的变化,可能是由于 UV-B 辐射下活性氧积累导致的。

关键词:铁皮石斛;增强 UV-B 辐射;保护酶活性;丙二醛

中图分类号:R 282.71 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0170-04

随着现代工业的迅猛发展和全球人口的急剧膨胀,环境问题越来越受到关注。因大量排放作为致冷剂的氟氯烷烃和氮氧化物,大气平流层臭氧浓度日益下降,导致到达地面的太阳紫外辐射(主要是 UV-B,280~320 nm)增强^[1-4]。UV-B 辐射的增加,不仅能改变植物的外观形态,还能使细胞的内外环境中产生各种具有生理毒性的活性氧自由基(reactive oxygen species,ROS)。这些氧自由基不仅会影响植物光合作用效率,而且会破坏生物细胞膜结构物质,使其透性发生变化,导致细胞自溶^[5]。目前普遍认为,植物酶系统是高等植物清除活性氧的重要防御系统。酶系统主要有超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)、过氧化物酶(peroxidase,POD)和过氧化氢酶(catalase,CAT),它们能消除细胞内活性氧的伤害,防止膜脂过氧化。然而尽管增强 UV-B 辐射在一定程度上提高了抗氧化酶的活性,但一些研究仍表明,增强 UV-B 辐射的膜脂过氧化产物——丙二醛(MDA)含量明显升高,同时膜脂脂肪酸组成配比改变,不饱和度指数有所下降,最终仍导致植物体受到伤害。

铁皮石斛对光敏感,臭氧层变薄导致 UVB 辐照增

强,将严重影响野生石斛的生长。UV-B 辐射对铁皮石斛生长的影响研究尚鲜见报道,该试验主要是模拟不同剂量的 UV-B 辐射影响下,研究铁皮石斛抗氧化酶的活性及其膜脂过氧化物丙二醛含量的变化,以期在在当前大气臭氧层持续衰减等环境问题日益加剧的现状下寻求有效手段,以提高铁皮石斛抗 UV-B 辐射能力并维持产量提供一定科学依据和参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试铁皮石斛品种为“云南红杆”,无菌幼苗由广东药学院中药学院资源系 335 实验室培育。通过试验,筛选出铁皮石斛生根壮苗最佳培养基为 1/2MS+2.0 mg/L NAA+10%香蕉泥+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂。筛选色绿、健壮、高 5~6 cm、生长状态基本一致的幼苗转移到装有以上培养基的塑料杯中。培养室温度(25±2)℃,以日光灯为光源,光照强度 2 000 lx,光照 12 h/d。培养一段时间后,筛选生长状况基本相同的组培苗进行 UV-B 辐照试验。

1.2 试验方法

UV-B 辐照试验在组培条件下进行,设立对照组和试验组。对照组设为 CK,幼苗仅用日光灯照射;试验组有 3 个处理,幼苗在日光灯照射的同时,人工分别增加 5.1 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ (L1)、10.3 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ (L2)和 15.6 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ (L3)3 个强度的 UV-B 辐照,并进行 4 h/d 的辐照时间处理,每处理 10 杯组培苗,每杯接种 5 棵幼苗。照射后的第 2、

第一作者简介:莫运才(1991-),男,广东湛江人,硕士研究生,研究方向为中药质量评价。E-mail:1210309308@qq.com.

责任作者:曾令杰(1970-),男,湖南人,博士,教授,研究方向为中药材 GAP 种植与中药质量研究。E-mail:598479380@qq.com.

基金项目:广东省科技计划重点资助项目(2012A030100012)。

收稿日期:2014-11-10

4、6、8、10、12 天取铁皮石斛苗的叶片测定叶片 SOD、POD 和 CAT 的活性及 MDA 含量,重复 3 次。

1.3 项目测定

铁皮石斛苗叶片 POD 活性测定采用愈创木酚法^[6],SOD 和 CAT 活性测定参考李合生^[7]的方法,MDA 含量测定参考张志良^[6]的方法。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2003 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 UV-B 辐射对铁皮石斛苗叶片 SOD 活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)是抵御活性氧自由基介导的氧化损伤的第一道防线,是植物体内清除 ROS 的关键酶类,植物对于逆境的抵抗能力往往与植物体内 SOD 的活性水平有关。由图 1 可知,3 种 UV-B 辐射强度对 SOD 的活性都有影响。L1 处理在辐射处理 12 d 内,其 SOD 活性保持较高水平,幅度波动不明显,总体上高于 CK。L2 处理的 SOD 活性呈先升高后降低的趋势,在辐射处理的第 6 天,其 SOD 活性值达到最大值。L3 处理的 SOD 活性变化趋势与 L2 处理大体相似,不过在其 SOD 活性值达到最大后,迅速下降,可能是由于 UV-B 辐射强度较大以及长时间辐射,植物细胞已受到严重破坏,细胞中的 SOD 被破坏失活。

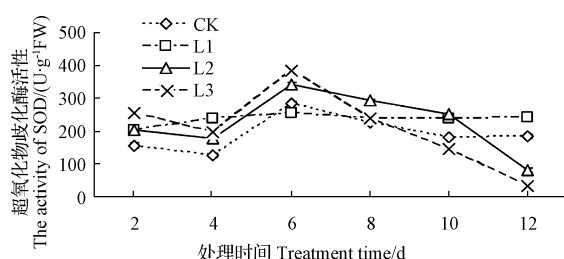


图 1 UV-B 辐射对铁皮石斛苗叶片 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effect of UV-B radiation on the activity of SOD in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo seedling leaves

2.2 UV-B 辐射对铁皮石斛苗叶片 POD 活性的影响

普遍认为过氧化物酶(POD)主要清除植物体内的过氧化物,如过氧化氢。由图 2 可以看出,CK、L1 和 L2 处理总体变化趋势相似,均是先升后降,然后迅速回升,到第 8 天达到最大值,之后又开始下降。L3 处理的 POD 活性先升(上升的幅度不大)后迅速降低,到第 6 天达到最小值,而后又回升直到第 10 天,达到最大值,其波动的幅度较 L1 和 L2 大。这也说明 L3 处理组 UV-B 的辐射强度较大。

2.3 UV-B 辐射对铁皮石斛苗叶片 CAT 活性的影响

过氧化氢酶(CAT)可专一清除 H_2O_2 ,可以清除线粒体电子传递、脂肪酸 β -氧化及光呼吸氧化过程中产生

的 H_2O_2 ^[5]。其与 SOD 共同作用,及时清除 UV-B 辐射期间产生的较高活性氧,使植物体内的活性氧维持在一个较低的水平。由图 3 可知,L1 处理的 CAT 活性先缓缓下降然后又逐渐上升,最后趋于平稳。这说明铁皮石斛苗能够抵御 L1 处理下 UV-B 辐射产生的活性氧的毒害。L2 和 L3 处理的 CAT 活性变化趋势相同,在处理第 12 天后,L2 和 L3 处理的 CAT 活性分别是对照的 15%和 6%,这可能是随着处理时间的延长,CAT 活性明显降低,防止活性氧毒害的能力逐渐减弱。

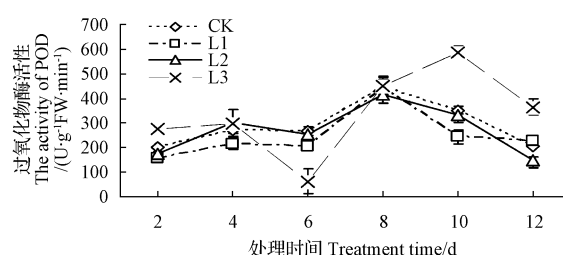


图 2 UV-B 辐射对铁皮石斛苗叶片 POD 活性的影响

Fig. 2 Effect of UV-B radiation on the activity of POD in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo seedling leaves

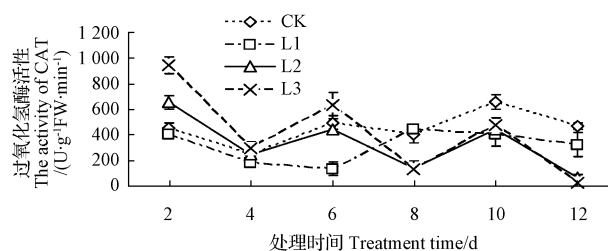


图 3 UV-B 辐射对铁皮石斛苗叶片 CAT 活性的影响

Fig. 3 Effect of UV-B radiation on the activity of CAT in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo seedling leaves

2.4 UV-B 辐射对铁皮石斛苗叶片 MDA 含量的影响

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化最重要的产物之一。植物在逆境下遭受伤害与活性氧积累诱发的膜脂过氧化作用密切相关。由图 4 可知,随着 UV-B 辐射强度的增加,MDA 的含量逐渐增大。L1 处理的 MDA 含量变

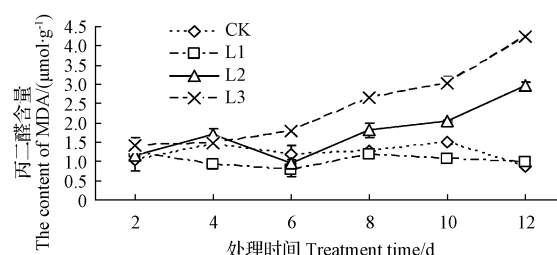


图 4 UV-B 辐射对铁皮石斛苗叶片丙二醛含量的影响

Fig. 4 Effect of UV-B radiation on MDA content in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo seedling leaves

化不明显,而 L2 和 L3 处理的明显升高。UV-B 辐射第 12 天后,L1、L2 和 L3 处理组的 MDA 含量分别为对照的 112%、338%和 482%。

3 讨论与结论

增强 UV-B 辐射对很多植物都有不同的影响,在植物体内,有一套完整的抗氧化酶系统,能够清除活性氧,如 O_2^- 、 H_2O_2 。正常情况下,植物体内活性氧的产生与清除始终处于一种动态平衡,以保持体内正常的生理代谢过程。植物体内的保护酶系统主要是 SOD、POD、CAT 等。在保护酶系统中,SOD 将 O_2^- 歧化 H_2O_2 和 O_2 ,而 H_2O_2 和 O_2 可以毒性更强的 $\cdot OH$,因此,必须迅速把 H_2O_2 和 O_2 消除掉,才能防止活性氧的伤害。试验研究表明,在 UV-B 辐射处理初期,SOD 和 CAT 的活性先稍微降低,然后又升高,且升高的幅度与辐射强度呈正相关。而 POD 受到一定的抑制,辐射强度越大,抑制越明显。表明在 UV-B 辐射初期,3 种保护酶能够协调作用消除辐射所诱导的活性氧。这与陈拓等^[8]和吴业飞等^[9]提出的在增强 UV-B 辐射处理下,抗氧化酶活性增强的结论吻合。但随着辐射时间的延长,高强度 UV-B 辐射处理组如 L2 和 L3,抗氧化酶活性逐渐降低,即是对活性氧消除能力逐渐减弱,这使得膜脂过氧化不断加剧,从而产生其它生理反应。这与吴业飞等^[9]在葡萄和晏斌等^[10]在水稻所得到的研究结论相一致。研究还发现,低强度的 UV-B 辐射下(如 L1),其抗氧化酶系统的变化没有 L2 与 L3 处理的强烈。而且根据它们的生长状况可以看出,在处理后期,L1 处理的叶片稍微变紫,而 L2 和 L3 处理的植株已经表现出不同程度的衰老迹象,如叶片变黄、掉叶。这说明低强度 UV-B 处理使植株产生的活性氧能得到有效地清除。

MDA 含量是衡量植物在逆境中膜脂过氧化程度的重要指标之一^[9]。该研究在高强度的 UV-B 辐射条件下,MDA 的含量明显增加,如 L2 和 L3 处理。说明了 UV-B 辐射胁迫影响铁皮石斛苗体内活性氧代谢系统的

平衡,使植物体内活性氧大量积累,引发膜脂过氧化,可能破坏膜的结构^[11]。这与 Tevini 等^[12]和魏晓雪等^[13]在其它大多植物上的研究结论基本一致。而 L1 处理的 MDA 含量与 CK 组相比变化不大。这也进一步说明低强度的 UV-B 辐射下,铁皮石斛苗叶片保护酶能够抵御 UV-B 辐射诱导产生的活性氧的胁迫。植物酶系统对于 UV-B 辐射的响应具有复杂性,而其分子机理有待进一步研究。

参考文献

- [1] Kerr J, Meelroy C. Evidence for large upward trends of ultraviolet-B radiation linked to ozone depletion[J]. Science, 1993, 262: 1032-1034.
- [2] Scotto J, Cotton G, Urbach F, et al. Biologically effective ultraviolet radiation: surface measurements in the United States, 1974 to 1985[J]. Science, 1988, 239: 762-764.
- [3] Msdronich S, McKenzie R L, Bjorn L O, et al. Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the earth's surface[J]. Journal Photochemistry and Photobiology B: Biology, 1998, 46: 5-19.
- [4] 彭祺, 周青. 植物次生代谢响应 UV-B 辐射胁迫的生态学意义[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(3): 610-615.
- [5] 古今, 陈宗瑜, 管先能, 等. 植物酶系统对 UV-B 辐射的响应机制[J]. 生态学杂志, 2006, 25(10): 1269-1274.
- [6] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [7] 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, 2000: 267-268.
- [8] 陈拓, 任红旭, 王勋陵. UV-B 辐射对小麦抗氧化系统的影响[J]. 环境科学学报, 1999, 19(4): 451-455.
- [9] 吴业飞, 吴鲁阳, 张振文. 紫外线-B 辐射增强对葡萄叶片抗氧化系统的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2008, 36(12): 161-166.
- [10] 晏斌, 戴秋杰. 紫外线 B 对水稻叶组织中活性氧代谢及膜系统的影响[J]. 植物生理学报, 1996, 22(4): 373-378.
- [11] 聂磊, 刘鸿先, 彭少麟. 增强 UV-B 辐射对柚树苗生长和生理特性效应研究[J]. 生态科学, 2001, 20(3): 31-38.
- [12] Tevini M, Braun J, Fieser G. The protective function of the epidermal layer of rye seedling against ultraviolet-B radiation[J]. Photochem Photobiol, 1991, 53: 329-333.
- [13] 魏晓雪, 于景华, 李德文, 等. UV-B 辐射增强对红松幼苗针叶脂质过氧化及抗氧化系统的影响[J]. 林业科学, 2011, 47(5): 54-59.

Effect of Enhanced Ultraviolet-B Radiation on Protective Enzymes in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo Seedling Leaves

MO Yun-cai, ZENG Ling-jie, FENG Hong-yao, HUANG Han

(College of Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510006)

Abstract: Taking 'Yunnan Honggan' which was a type of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo as test material, the study was done to reveal the changes of protective-enzyme activation and MDA in *Dendrobium officinale* Kimura et Migo seedling leaves, exposing to three kinds radiations: ultraviolet-B radiation (UV-B) of 5.1 $\mu W/cm^2$, 10.3 $\mu W/cm^2$ and 15.6 $\mu W/cm^2$. The results showed that the activities of SOD in L1 treatment were higher than that of CK and with a small fluctuation. The

贮藏期对资丘木瓜药材质量的影响

靳李娜, 刘义梅, 杨蕾磊, 陈科力

(教育部中药资源和中药复方重点实验室, 湖北中医药大学, 湖北 武汉 430065)

摘要:以资丘木瓜药材为试材, 将采收后的资丘木瓜果实进行晒制干燥, 封装贮藏在阴凉干燥处, 研究了不同贮藏时间对资丘木瓜含水量、齐墩果酸、熊果酸含量的影响。结果表明:随着贮藏时间的增加, 资丘木瓜药材中含水量从 9.10% 上升到 14.60%, 贮藏期在 18 个月内, 资丘木瓜中齐墩果酸、熊果酸含量以及二者之和基本保持稳定, 而 18 个月后含量开始下降, 并且低于药典中的含量。该试验研究资丘木瓜商品药材 0~30 个月贮藏期的含水量、有效成分含量的变化, 发现较长贮藏期引起药材质量下降, 以为资丘木瓜的生产管理和质量标准的制定提供科学依据。

关键词:资丘木瓜; 贮藏期; 含水量; 有效成分含量

中图分类号:S 567.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)05-0173-03

资丘木瓜产于湖北长阳, 是中药木瓜的优质地道药材。木瓜来源于蔷薇科植物贴梗海棠 (*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Naikai.) 的干燥近成熟果实^[1], 临床上广泛地用作湿痹拘挛、腰膝关节酸重疼痛、暑湿吐泻、转筋挛痛、脚气水肿等症, 是我国大宗药材。研究表明木瓜中的齐墩果酸、熊果酸为具有抗菌作用的组分群, 其中齐墩果酸抑菌最强^[2]。中药材的贮藏对其品质的影响, 是中药现代化研究的重要内容之一。现以湖北榔坪镇栽培的资丘木瓜为试验材料, 在相同贮藏条件下, 研究不同贮藏时间内水分、齐墩果酸、熊果酸及二者总含量

的变化, 以期了解储存期对木瓜品质的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试资丘木瓜药材样品于 2011 年 7 月采摘自湖北省宜昌市榔坪镇资丘木瓜种植基地, 样品经湖北中医药大学生药教研室陈科力教授鉴定, 属蔷薇科植物贴梗海棠 (*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Naikai.) 的干燥近成熟果实。

仪器: Ultimate 3000 型高效液相色谱仪, KQ5200E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), BP61S 型十万分之一分析天平(德国赛多利斯公司), AL204 万分之一分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), GZX-9070MBE 数显鼓风干燥箱。

试剂: 齐墩果酸(批号: 110709-201206)和熊果酸(批号: 110742-200519)对照品购自中国食品药品检定研究院。水为娃哈哈纯净水, 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理方法 将采摘的新鲜果实按照传统方

第一作者简介:靳李娜(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药资源及其品质研究。E-mail: candy_jln@163.com.

责任作者:陈科力(1949-), 男, 教授, 研究方向为中药资源及其品质研究。E-mail: kelichen@126.com.

基金项目:武汉市青年科技晨光计划资助项目(201271031398); 湖北省教育厅科学技术研究计划优秀中青年人才资助项目(D20112004)。

收稿日期:2014-11-12

overall trend of the SOD in L2 and L3 treatments were rising and then declining. The activities of POD of L1, L2 as well as L3 showed a rising and declining trend in turn. The activity of CAT in L1 treatment showed a result as below: at first increased slowly, then decreased gradually, and finally tended to be smooth and stable; the results in L1 and in L3 treatments were different from that in L1: firstly with a big fluctuation, and finally with an obvious decline. With radiated time going on, the contents of MDA in the leaves increased obviously, such as in L2 and in L3 treatments. However, comparing with CK, the content of MDA in L1 treatment had a small fluctuation. The analysis indicated that the accumulation of Reactive Oxygen Species(ROS) induced by UV-B radiation may influence the biosynthesis of antioxidant systems.

Keywords: *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; enhanced UV-B radiation; protective-enzyme activation; MDA