

DOI:10.11937/bfyy.201702037

高压静电场处理对甘草苗期生理生化指标的影响

李亚娇, 郭九峰, 刘晓婷, 王淑妍, 那日

(内蒙古大学 物理科学与技术学院, 离子束生物工程自治区重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010021)

摘要:以甘草为试材,采用高压静电场处理甘草种子的方法,研究了电压及处理时间对甘草苗期几项生理生化指标的影响。结果表明:电场处理降低了苗期的相对含水量、提高了苗期的根冠比、根长和株高。随着甘草苗龄的增加,整体上叶绿素a含量18 kV组高于对照组,15 kV组低于对照组;整体上叶绿素b含量18 kV组在前45 d高于对照组,45~90 d低于对照组,而15 kV组一直低于对照组。电场处理组的可溶性蛋白含量在30~75 d低于对照组,75~90 d整体略高于对照组。

关键词:高压静电场;甘草;生理生化指标

中图分类号:S 567.23⁺⁹ **文献标识码:**A

文章编号:1001—0009(2017)02—0153—05

甘草属多年生草本豆科植物,素有中药“国老”之称,是世界自然基金重点保护物种之一^[1],在我国主要分布于干旱和半干旱地区。甘草地上部分呈灌木状,地下部分根茎呈圆柱形,根系发达且粗壮,外部褐色、内部淡黄色^[2-3],其主要药用部位是根和茎部,具有清热解毒的作用,用于咳嗽气短,消炎去火、喉咙肿痛等^[4-7]。甘草不仅有药用功效,而且具有喜光、耐旱、耐热、生命力顽强等特点,根系发达、固沙能力很强,适宜在土层深厚、土质疏松的砂质土壤中生长,因此可以用来维护生态环境,防风固沙,对稳定和改善生态环境具有积极作用^[8-10]。

静电场是一个操作简单、经济实惠、对环境没有污染的试验设备,多年来静电场对植物的生物学效应研究从未间断过^[11-14],并且对其应用越来越广泛、深入,以提高人们的生活质量,改善生存环境^[15-17]。已有大量的研究验证了电场生物学效应的科学性^[18-22],并有很多成功的实例,如王清元等^[23]用场强为200 kV·m⁻¹和300 kV·m⁻¹的电场处理水稻种子,有力的促进了种子萌发。陈花等^[24]对荞麦幼苗

抗旱能力进行试验,发现适当电压处理增强了幼苗的抗旱能力。李亚娇等^[25]前期研究发现用电场处理甘草种子提高了其发芽率,该试验通过高压静电场处理甘草种子,对其苗期根冠比、叶绿素^[26-28]、可溶性蛋白质^[29-31]进行检测,探究高压静电场对甘草苗期的生物效应,以期为静电场在甘草人工栽培上的利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试材料 以内蒙古北方生态甘草种植基地提供的乌拉尔甘草为试材。

1.1.2 供试仪器 由图1可知,A为负极板,B为玻璃载物盘,C为正极板,D为电压表,E为电源,A与C间距为1 cm,极板直径为21 cm。将甘草种子放在玻璃载物盘上,置于两极板正中进行电场处理。每次电场处理后,严格进行放电处理,保证安全。KQ-100DE型数控超声清洗器;CFLLTACHI U-2900型日立紫外可见光分光光度计等。

1.1.3 供试药品 98%的浓硫酸,10%的次氯酸钠,牛血清白蛋白,考马斯亮蓝G-250,无水乙醇,PB缓冲液。

1.2 试验方法

通过前期试验,甘草种子经过浓硫酸浸泡后电场处理,U=18 kV,T=25 min为发芽率最高组,U=15 kV,T=15 min为发芽率一般组,将对照组和电场处理组(U=15 kV,T=15 min;U=18 kV,T=

第一作者简介:李亚娇(1990-),女,硕士研究生,研究方向为环境生物物理。E-mail:726450605@qq.com。

责任作者:郭九峰(1964-),男,博士,教授,硕士生导师,现主要从事生物物理与生物技术等研究工作。E-mail:guojf@sina.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51467014)。

收稿日期:2016-10-08

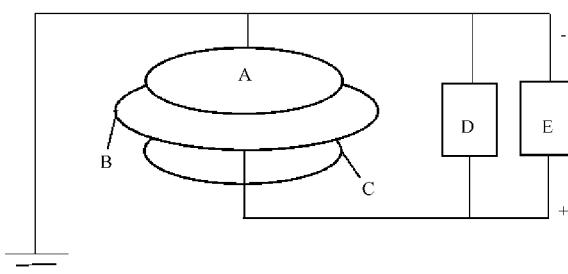


图 1 负高压静电场装置

Fig. 1 Negative high voltage electrostatic field device

25 min)的甘草种子进行水培萌发。

1.3 项目测定

1.3.1 高度、根冠比、相对含水量测定 以蛭石为基质,将对照组和电场处理组甘草种子在花盆中进行培育,每隔 15 d,从花盆内取出甘草幼苗清洗干净,用滤纸将水分吸干,测定株高、根长、根冠比和相对含水量。根冠比(%)=根鲜质量/苗鲜质量×100。然后将晾干的甘草地上部分和地下部分分开,用研钵分别研成粉末后储存,用于其它指标测量。

1.3.2 叶绿素含量测定 称取约 0.025 g 叶片干粉放入离心管中,加入 25 mL 95% 酒精溶液并摇匀,室温条件下避光放置 72 h,然后在 20 °C、50 W 超声清洗器中提取 30 min, 3 000 r·min⁻¹、10 °C 离心 10 min 后取适量提取液在 663、645 nm 处分别测定叶绿素 a、叶绿素 b 吸光度,每组重复 3 次。Arnon 法测定叶绿素含量:叶绿素 a 含量(Chla, %)=(12.7A₆₆₃-2.69A₆₄₅)×V/(W×1 000)×100;叶绿素 b 含量(Chlb, %)=(22.9A₆₆₃-4.68A₆₄₅)×V/(W×1 000)×100。式中:A₆₆₃ 为叶绿素 a 的吸光度,A₆₄₅ 为叶绿素 b 的吸光度,V 为样品体积(mL),W 为甘草叶片干质量(g)。

1.3.3 可溶性蛋白质含量测定 采用紫外分光光度法^[32],得到线性回归方程:Y=0.004 8X+0.057 1,R²=0.998 6。称取约 0.025 g 叶片干粉放入离心管中,加入 25 mL PB 缓冲液并摇匀,4 °C 放置 24 h,然后在 20 °C、40 W 超声清洗器中提取 30 min, 3 000 r·min⁻¹、10 °C 离心 10 min 后取上清液 1 mL,放入试管中,再向其中加入考马斯亮蓝 G-250 溶液 5 mL,充分混匀,2 min 后在 595 nm 波长处测定吸光度,每组重复 3 次。样品中可溶性蛋白质的含量:可溶性蛋白质含量(%)=C×V_T/(V_S×W_F×1 000)×100。式中:C 为样品中可溶性蛋白质的浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$),V_T 为提取液总体积(mL),W_F 为

样品干质量(g),V_S 为测定时加样量(mL)。

2 结果与分析

2.1 电场处理对甘草苗期株高及根长的影响

由表 1 可知,在不同电压处理下,甘草幼苗在 90 d 内株高的变化表明,3 个处理组的株高均呈升高趋势。在电场处理组中,18 kV 组高于对照组,15 kV 组也整体高于对照组,但生长速度不稳定时快时慢,总体来看电场处理组的甘草苗期的株高均长于对照组。

表 1 电场处理甘草种子对株高的影响

Table 1 Effect of electric field treatment of licorice seeds on the plant height cm

苗龄 Seedling age/d	电场处理 Electric field treatment/kV		
	0(0 min)	18(25 min)	15(15 min)
15	4.96	5.90	7.63
30	9.00	8.67	10.40
45	10.06	12.33	11.33
60	11.38	15.57	16.22
75	12.57	16.85	16.31
90	14.75	19.03	17.56

由表 2 可以看出,在不同电压处理下,甘草幼苗在 90 d 内根长的变化表明,3 个处理组的根长均呈升高趋势。在电场处理组中,18 kV 组整体略高于对照组,而 15 kV 组则明显高于对照组,且表现出根长一直最长,总体来看电场处理组的甘草幼苗根长均长于对照组。

表 2 电场处理甘草种子对根长的影响

Table 2 Effect of electric field treatment of licorice seeds on the root length cm

苗龄 Seedling age/d	电场处理 Electric field treatment/kV		
	0(0 min)	18(25 min)	15(15 min)
15	11.87	13.10	14.03
30	14.43	15.23	16.00
45	17.25	18.67	19.00
60	21.27	22.97	30.00
75	27.70	28.10	31.87
90	32.27	31.77	35.40

2.2 电场处理对甘草苗期根冠比及相对含水量的影响

由表 3 可知,在不同电压处理下,甘草在 90 d 内根冠比变化表明,3 个处理组的根冠比均呈现上升趋势,电场处理组的根冠比高于对照组,其中 18 kV 组略高于对照组,其值先降低后缓慢上升,而 15 kV 组则先上升到 75 d 后略有下降,表明电场处理对甘草幼苗根冠比产生影响,即提高了根部生物量的分配,改变了甘草幼苗地下和地上部分生物量。

表 3 电场处理甘草种子对根冠比的影响

苗龄 Seedling age/d	电场处理 Electric field treatment/kV		
	0(0 min)	18(25 min)	15(15 min)
15	0.42	0.46	0.30
30	0.17	0.24	0.49
45	0.20	0.41	1.15
60	0.33	0.50	1.59
75	0.74	0.79	2.78
90	1.24	1.23	2.27

由表 4 可知,在不同电压处理下,甘草在 90 d 内相对含水量的变化表明,3 个处理组的相对含水量均呈现下降趋势。电场处理组的相对含水量整体低于对照组,总体来看电场处理组的甘草幼苗的相对含水量低于对照组,表明电场处理降低了甘草幼苗的相对含水量,降低了幼苗期的持水力。

表 4 电场处理甘草种子对相对含水量的影响

苗龄 Seedling age/d	电场处理 Electric field treatment/kV		
	0(0 min)	18(25 min)	15(15 min)
15	91.46	91.26	88.87
30	88.23	87.85	82.53
45	81.80	82.87	75.54
60	79.10	76.27	75.54
75	79.10	76.27	59.66
90	70.28	63.91	58.15

2.3 电场处理对甘草苗期叶绿素含量的影响

由表 5 可知,在不同电压处理下,甘草在 90 d 内叶绿素 a 含量的变化表明,18 kV 组叶绿素 a 含量整体高于对照组,主要在 30~60 d 高于对照组,但在 75 d 后低于对照组,有下降趋势,而 15 kV 组则一直低于对照组,生长到 15~45 d 缓慢升高,45~60 d 明显降低,之后略有降低。表明随着苗龄的增加,15 kV 组甘草光合作用弱于对照组。

表 5 电场处理甘草种子对苗期叶绿素 a 含量的影响

苗龄 Seedling age/d	电场处理 Electric field treatment/kV		
	0(0 min)	18(25 min)	15(15 min)
15	9.86	8.25	9.55
30	11.44	13.53	9.42
45	13.14	14.54	11.54
60	12.84	15.30	4.90
75	17.55	15.82	3.72
90	12.63	12.21	3.65

由表 6 可知,在不同电压处理下,甘草在 90 d 内叶绿素 b 含量的变化表明,18 kV 组在 45 d 前叶绿素 b 含量高于对照组,45 d 后低于对照组且与对照组的变化趋势相同。而 15 kV 组含量一直低于对照组,且时高时低,到 75 d 达到最低后基本保持不变,表明随着苗龄的增加,15 kV 组甘草光合作用弱于对照组。

表 6 电场处理甘草种子对苗期叶绿素 b 含量的影响

苗龄 Seedling age/d	电场处理 Electric field treatment/kV		
	0(0 min)	18(25 min)	15(15 min)
15	6.97	8.02	5.67
30	6.26	8.95	3.40
45	8.88	9.03	7.70
60	8.19	7.09	2.48
75	11.74	9.63	2.05
90	9.25	7.21	2.31

2.4 电场处理对甘草苗期可溶性蛋白质含量的影响

由表 7 可知,在不同电压处理下,甘草在 90 d 内可溶性蛋白质含量的变化表明,甘草幼苗在 0~30 d 内,各处理组的可溶性蛋白质含量下降趋势明显,这是因为甘草在幼苗初期,短时间内将甘草种子中的大分子蛋白质分解为可溶性蛋白质,随着苗龄增加,可溶性蛋白质又逐渐被分解为小分子氨基酸供生长发育,所以可溶性蛋白质含量不断地减少。随着甘草苗龄的增加,在 30~75 d 电场处理组可溶性蛋白质的含量低于对照组,75~90 d 电场处理组高于对照组。

表 7 电场处理甘草种子对苗期可溶性蛋白质含量的影响

苗龄 Seedling age/d	电场处理 Electric field treatment/kV		
	0(0 min)	18(25 min)	15(15 min)
15	11.96	9.54	5.38
30	5.89	4.69	2.43
45	6.27	4.25	4.38
60	5.88	4.26	4.05
75	5.17	4.16	4.77
90	3.46	3.82	4.02

3 结论

用高压静电场处理甘草种子,研究电场处理对甘草苗期几项生理生化指标的影响,试验结果表明,电场处理降低了苗期的相对含水量、提高了苗期的

根冠比、根长和株高；随着甘草苗龄的增加，整体上叶绿素 a 含量 18 kV 组高于对照组，15 kV 组低于对照组，整体上叶绿素 b 含量 18 kV 组在前 45 d 高于对照组，45~90 d 低于对照组，而 15 kV 组一直低于对照组；电场处理组的可溶性蛋白质含量在 30~75 d 低于对照组，75~90 d 后整体略高于对照组。

参考文献

- [1] 安文芝, 蔺海明. 甘草标准化生产技术 [M]. 北京: 金盾出版社, 2008.
- [2] WEI S L, WANG W Q, WANG H. Study on licorice resources and their sustainable utilization in central and western area of China [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(3): 202-206.
- [3] WANG J Y, LIU C S, WANG W Q. The investigation of the licorice resources in northeast China [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(4): 308-312.
- [4] 刘育辰, 陈有根, 王丹, 等. 甘草化学成分研究 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(7): 1251-1255.
- [5] 王青, 苗文娟, 向诚, 等. 乌拉尔甘草化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 1886-1890.
- [6] 刘洋洋, 刘春生, 曾斌芳, 等. 甘草种质资源研究进展 [J]. 中草药, 2013, 44(24): 3593-3598.
- [7] 李明. 甘草的研究概况 [J]. 甘肃中医学院学报, 2009, 17(3): 59-63.
- [8] LIU H L, TAN Y, MONIKA N, et al. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization of *Glycyrrhiza glabra* roots enhances plant biomass, phosphorus uptake and concentration of root secondary metabolites [J]. J Arid Land, 2014, 6(2): 186-194.
- [9] 李昂, 张鸣, 蔺海明, 等. 西北风蚀区种植甘草对地表微环境和土壤物理性状的影响 [J]. 干旱区资源与环境, 2014, 28(10): 128-132.
- [10] 李昂, 张鸣, 蔺海明, 等. 种植甘草预防土壤风蚀效应 [J]. 草业科学, 2014, 31(5): 839-843.
- [11] KATARZYNA D, PETR D, VALENTINA P, et al. Effect of pulsed electric field on the germination of barley seeds [J]. LWT-Food Science and Technology, 2012, 47(1): 161-166.
- [12] MURR L E. Mechanism of plant cell damage in an electrostatic field [J]. Nature, 1964, 4926: 1305-1306.
- [13] 杨体强, 朱海英, 袁德政, 等. 电场对油葵种子萌发影响的有效时间 [J]. 核农学报, 2013, 27(6): 879-883.
- [14] 方晶. 高压电场对干旱胁迫下黄瓜种子萌发的影响 [J]. 北方园艺, 2014(13): 41-43.
- [15] 高雪红. 高压静电场预处理黄豆对其幼芽生物成份的影响 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2008.
- [16] 张刚. 静电场对菜豆、青椒和茄子冷害的作用及生理生化影响 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [17] SIDAWAY. Influence of electric field on seed germination [J]. Nature, 1966, 5045: 303-305.
- [18] 黄洪云. 高压静电场对小麦种子生物学效应的物理机理的研究 [J]. 种子, 2015, 34(6): 99-101.
- [19] 李美清, 吴沿友, 李青林. 高压静电场对水培番茄生理指标与产量的影响 [J]. 农业机械学报, 2015, 46(11): 145-150.
- [20] 赵瑞平, 孙丰梅, 白殿海, 等. 高压静电场处理对番茄果实硬度变化的影响 [J]. 北方园艺, 2015(15): 32-36.
- [21] CHRISTIAN J E, SIMONE B, MICHAEL P, et al. Effects of nanosecond pulsed electric field exposure on *Arabidopsis thaliana* [J]. IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation, 2009, 16(5): 1322-1328.
- [22] EVELINA C. The influence of an electric field on the growth of soy seedlings [J]. Journal of Electrostatics, 2008, 66: 417-420.
- [23] 王清元, 卢贵忠, 赵玉清. 高压静电场对水稻种子萌发的试验研究 [J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(1): 147-150.
- [24] 陈花, 吴俊林, 李晓军, 等. 电场处理荞麦种子对其幼苗抗旱性的影响 [J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2009, 37(1): 78-82.
- [25] 李亚娇, 郭九峰, 王淑研, 等. 负高压静电场对甘草种子萌发的影响 [J]. 种子, 2015, 34(11): 19-22.
- [26] 叶菊, 蔺海明, 邱黛玉, 等. 几种甘草 (*Glycyrrhiza*) 光合特性、形态特征及生物量比较 [J]. 中国沙漠, 2014, 34(2): 456-464.
- [27] 刘遵春, 冯爱英, 廖惠灵. 柿树叶片叶绿素含量测定方法比较研究 [J]. 河南科技学院学报(自然科学版), 2014, 42(3): 12-15.
- [28] 刘彩云. 白肋烟叶片低叶绿素含量的生理生化分析 [J]. 烟草科技, 2014(5): 75-77.
- [29] 张梦莹, 赵玉娟, 李倩竹, 等. 梅花鹿茸可溶性蛋白提取工艺及免疫活性 [J]. 东北林业大学学报, 2014, 42(9): 158-163.
- [30] 赵艳, 李燕燕. 利用 PTN 系统快速解析转基因水稻种子可溶性蛋白非预期变异的来源 [J]. 中国农业科学, 2015, 48(22): 4397-4407.
- [31] 李晓忱, 依艳丽. 磁场对根瘤菌可溶性蛋白和粗蛋白含量的影响 [J]. 水土保持学报, 2014, 28(2): 302-312.
- [32] 姜沅彤, 赵岩, 蔡恩博, 等. 灵芝水溶性蛋白提取工艺优化 [J]. 食品安全质量检测报告, 2014, 5(5): 1340-1348.

Influence of High Voltage Electrostatic on Physiological and Biochemical Indexes of Licorice During Seedling Stage

LI Yajiao, GUO Jiufeng, LIU Xiaoting, WANG Shuyan, NA Ri

(College of Physical Science and Technology, Inner Mongolia University/Key Laboratory of Ion Beam Bioengineering of Inner Mongolia, Hohhot, Inner Mongolia 010021)

Abstract: Taking licorice as test material by high voltage electrostatic field, physiological and biochemical indexes which influenced by different voltage and processing time during licorice seedling stage were studied. The results

不同栽培温度对蛹虫草主要活性成分的影响

李居宁¹, 方华舟²

(1. 荆楚理工学院 科研处, 湖北 荆门 448000; 2. 荆楚理工学院 生物工程学院, 湖北 荆门 448000)

摘要:以优质蛹虫草菌株为试材, 分别以 12、16、20、24、28 ℃ 5 种不同温度进行单因子对照试验, 比较不同温度处理后蛹虫草蛋白质、多糖、虫草素、虫草酸含量等的变化, 探索不同温度处理对蛹虫草主要活性成分的影响及规律。结果表明: 蛹虫草发菌、转色、原基分化、子实体生长等主要生长阶段的培养温度分别为约 20、24、24、16 ℃ 时, 蛹虫草主要活性成分含量相对较高; 栽培实际以约 16~20、20~24、20~24、16~20 ℃ 为宜。说明实行变温管理是提高蛹虫草主要活性成分及产品质量的重要措施之一。

关键词:蛹虫草; 温度; 蛋白质; 多糖; 虫草素; 虫草酸; 含量

中图分类号:S 567.3⁺⁵ **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2017)02—0157—05

蛹虫草 (*Cordyceps militaris* Link) 属真菌界 (Fungi)、双核菌亚界 (Bikarya)、子囊菌门 (Ascomycota)、子囊菌纲 (Ascomycetes)、粪壳菌亚纲 (Sordariomycetidae)、肉座菌目 (Hypocreales)、麦角菌科 (Clavicipitaceae)、虫草属 (*Cordyceps* Link) 模式种, 又名北冬虫夏草、北虫草, 是我国宝贵的重要虫草资源^[1]。大量研究证实蛹虫草主要活性成分及医疗保健功效与著名冬虫夏草相类似, 甚至虫草素等活性成分明显高于冬虫夏草, 被认为是冬虫夏草的理想替代品及药用真菌的后起之秀^[2~3], 因而引起人们的广泛重视。研究证实, 蛹虫草含有充足的虫草类主

第一作者简介:李居宁(1969-), 女, 湖北荆门人, 硕士, 讲师, 研究方向为生物技术及应用。E-mail:lijuning613@163.com。

责任作者:方华舟(1965-), 男, 湖北罗田人, 本科, 教授, 现主要从事食用菌与农业微生物学等研究工作。E-mail:434761170@qq.com。

基金项目:湖北省教育厅重点科研资助项目(D20126101)。

收稿日期:2016—09—27

showed that the high voltage electrostatic field reduced relative water content and increased root shoot ratio and root length and plant height of seedling stage licorice; with the increase of licorice seedling age, the content of chlorophyll a increased first and then decreased. The 18 kV group was higher than the control group while the 15 kV group was inverse. And the content of chlorophyll b in the 18 kV group was higher than control group at the first 45 days then lower than the control group during 45—90 days, while the 15 kV group was always lower than the control group; the content of soluble protein in high voltage electrostatic field treated group was lower than control group during 30—75 days but higher than control group during 75—90 days.

Keywords: high voltage electrostatic field; licorice; physiological and biochemical index

要活性物质如虫草素、虫草酸、虫草多糖、蛋白质、必需氨基酸以及中微量元素、多种维生素等成分, 具有滋补营养、增强免疫及抗肿瘤、抑制病毒、抵抗辐射、抗菌消炎等多种营养、保健及药用功能^[2], 已在东亚地区被广泛用作进补滋补及药用保健佳品, 我国也于 2009 年批准为新资源食品(现名新食品原料)^[3]。自我国在国际上第一个以昆虫蛹人工培育蛹虫草获得成功以来, 我国蛹虫草人工种植技术快速发展, 现已广泛实现人工栽培并已基本实现产业化, 年产值可达 100 亿人民币以上^[3]。近年来尽管人们对蛹虫草优良菌种制备、栽培原料选择及优化、生长条件控制等取得重大成绩并实现高产稳产, 但提高和保持其主要活性成分含量并实现优质高产是蛹虫草产业更进一步发展所面临的又一重大课题^[4~6]。温度等是蛹虫草正常生长与发育的最重要基本条件之一, 无疑对蛹虫草主要成分的合成、代谢和积累产生重要影响。比较并系统研究不同栽培温度对蛹虫草主要活性物质的影响及规律有重要现实意义, 但少见