

水杨酸对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系活力及抗氧化酶活性的影响

陈明辉, 程世平, 佟伟霜, 张志录

(平顶山学院 低山丘陵区生态修复重点实验室, 河南 平顶山 467000)

摘 要:以铁皮石斛为试材,采用叶面喷施水杨酸(SA)的方法,测定了铁皮石斛经 SA 预处理后在低温胁迫下根系活力和保护酶活性的变化,探讨了水杨酸对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系的影响。结果表明:铁皮石斛幼苗根系活力在低温胁迫第 10 天时较对照显著降低了 $23.05 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)和过氧化氢酶(CAT)的活性在低温胁迫第 7 天时较对照分别显著提高了 $28.10 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, 140.65 、 75.05 、 $48.21 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。铁皮石斛幼苗经 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA 预处理后,在低温胁迫第 7 天时根系活力提高了 $18.20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,SOD、POD、APX、CAT 活性分别提高了 $22.54 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, 59.00 、 64.57 、 $21.81 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。这表明适宜浓度的外源 SA 能够有效缓解低温胁迫对铁皮石斛的伤害,提高其耐低温的能力。

关键词:铁皮石斛;低温胁迫;水杨酸;根系活力;保护酶

中图分类号:S 567.23 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)22-0083-05

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)是传统名贵珍稀中药材,具有益胃生津、滋阴清热、延缓衰老等功效^[1]。低温抑制铁皮石斛幼苗的成活和生长,是影响其生存与分布的主要因素^[2]。低温胁迫下,植物可以通过感知刺激和信号传导,进而启动生理生化反应如保护性酶的活性来响应和适应低温^[3]。系统开展铁皮石斛对低温环境因子的抗性研究,寻找缓解低温胁迫的有效途径,是铁皮石斛栽培生产中亟需解决的问题,对其在北方的扩大种植有着十分重要的现

实价值和意义。

水杨酸(Salicy acid, SA)是一种具有信号传递功能的小分子酚类物质,是植物体内普遍存在的内源信号分子之一^[4]。水杨酸不仅可以调节植物的生长发育,还能诱导植物产生抗逆性,抵抗不良因素对植株造成的伤害^[5]。有研究表明,水杨酸能够调控低温胁迫下植物的抗氧化代谢,进而调控植物的抗寒性^[6-7]。但 SA 能否缓解低温对铁皮石斛的伤害,相关报道甚少。现以 2 年生铁皮石斛组培苗为试验材料,研究 SA 对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系活力及保护酶活性的影响,以为铁皮石斛在北方的引进及推广应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为 2 年生铁皮石斛组培苗,由平顶山学院低山丘陵区生态修复重点实验室组织培养室提供。

第一作者简介:陈明辉(1974-),男,博士,讲师,研究方向为药用植物资源利用与创新。E-mail: cmh_abc@126.com.

责任作者:张志录(1967-),男,博士,副教授,研究方向为植物化学。E-mail: zzl1111@foxmail.com.

基金项目:河南省科技厅科学攻关计划资助项目(152102110007);平顶山学院高层次人才科研启动经费资助项目(PXY-BSQD-2014007)。

收稿日期:2017-07-06

1.2 试验方法

试验于2016年在平顶山学院低山丘陵区生态修复重点实验室进行。选取生长健壮、整齐一致的铁皮石斛组培苗,共60盆,分为3组,每组为1个处理。其中2组在0℃低温处理24 h后,一组喷施0.5 mmol·L⁻¹ SA,另一组喷施去离子水。第3组为对照(CK),在室温下正常管理,同时期喷施去离子水。采用幼苗叶面喷施方法,至叶面湿透无水滴下落为止。喷施后将2组处理置于0℃,光照强度为250~300 μmol·m⁻²·s⁻¹,12 h光照,相对湿度60%~70%的低温培养室内培养。各组处理1、3、5、7、10 d后取样,测定根系活力及POD、SOD、CAT、APX活性等生理生化指标。

1.3 项目测定

采用2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)比色法测定根系活力^[8]。参照PARIDA等^[9]的方法测定POD、SOD、CAT、APX活性。

1.4 数据分析

采用SPSS 19.0软件进行数据方差分析,其中采用LSD检验($P \leq 0.05$)进行差异显著性分析,用Excel 2007软件进行数据计算和作图。

2 结果与分析

2.1 SA处理对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系活力的影响

从图1可以看出,低温胁迫对铁皮石斛幼苗根系活力造成了一定的影响,随低温处理时间的延长,其根系TTF呈现下降的趋势。当低温胁迫第5、7、10天时,低温处理幼苗根系TTF显著低于对照,分别降低了17.07、21.43、23.05 μg·g⁻¹·h⁻¹,差异显著。水杨酸处理显著提高了低温胁迫第5、7、10天时铁皮石斛幼苗根系TTF,比低温处理分别提高了14.08、18.20、17.72 μg·g⁻¹·h⁻¹,差异显著。SA预处理可提高铁皮石斛幼苗根系活力,增强其耐低温的能力。

2.2 SA处理对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

从图2可以看出,与对照相比,低温胁迫第5、7、10天时铁皮石斛幼苗根系SOD活性显著增加,在第7天达到最大值,随后开始缓慢下降,但

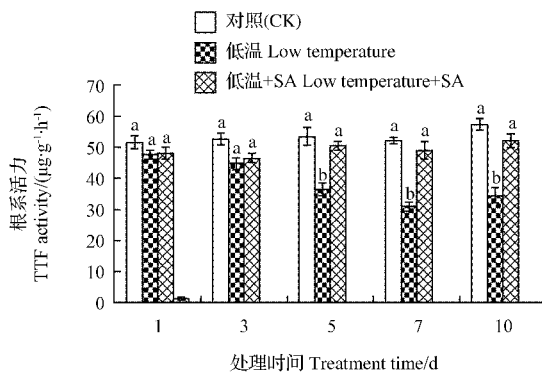


图1 SA处理对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系活力的影响

Fig. 1 Effects of SA treatment on root activity of *D. officinale* seedlings under low temperature stress

仍显著高于对照。当低温胁迫第5、7、10天时,低温处理下铁皮石斛幼苗根系SOD活性显著高于对照,分别提高16.17、28.10、10.30 U·g⁻¹,差异显著。与低温处理相比,水杨酸处理显著提高了低温胁迫第5、7、10天时的铁皮石斛幼苗的根系SOD活性,分别提高了13.80、22.54、18.83 U·g⁻¹,差异显著。说明幼苗根系SOD活性的增强是对低温逆境的适应性反应,从而增强其清除超氧化物阴离子自由基的能力,水杨酸可以通过增强根系SOD活性进而增加铁皮石斛抗低温的能力。

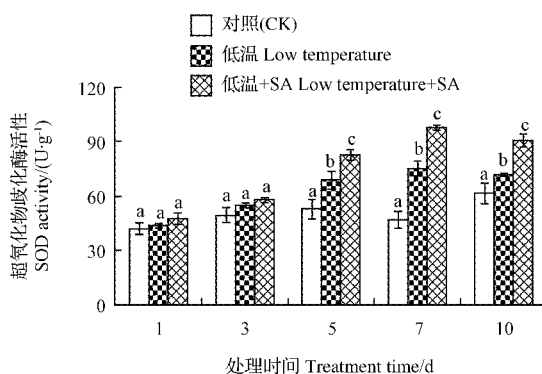


图2 SA处理对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系超氧化物歧化酶活性的影响

Fig. 2 Effects of SA treatment on SOD activity of *D. officinale* seedlings under low temperature stress

2.3 SA处理对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系过氧化物酶(POD)活性的影响

从图3可以看出,与对照相比,低温胁迫处理

可以明显增加铁皮石斛幼苗根系 POD 活性,当低温胁迫第 5、7、10 天时,铁皮石斛幼苗根系 POD 活性显著高于对照,分别提高 77.55、140.65、149.00 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。与低温处理相比,水杨酸处理显著提高了低温胁迫第 5、7、10 天时的铁皮石斛幼苗的根系 POD 活性,分别比低温处理提高了 61.23、59.00、74.40 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,差异显著。说明水杨酸可以通过增强根系 POD 活性进而提高铁皮石斛幼苗根系的抗氧化能力,缓解低温逆境的伤害。

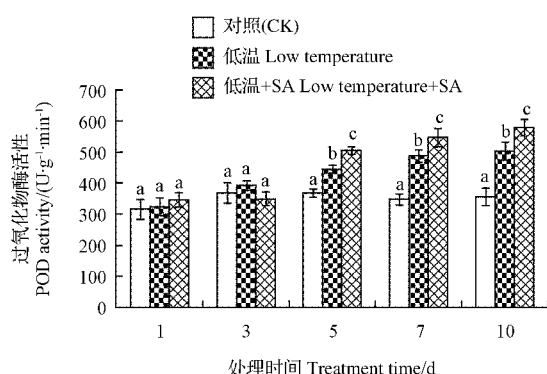


图 3 SA 处理对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系过氧化物酶活性的影响

Fig. 3 Effects of SA treatment on POD activity of *D. officinale* seedlings under low temperature stress

2.4 SA 处理对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的影响

从图 4 可以看出,低温胁迫下,铁皮石斛幼苗根系 APX 活性在第 3 天开始显著上升,第 7 天达到最大值,第 10 天有所下降,但显著高于对照。与对照相比,低温胁迫处理可以显著增加铁皮石斛幼苗根系 APX 活性,当低温胁迫第 3、5、7 天时,铁皮石斛幼苗根系 APX 活性显著高于对照,分别提高 35.15、74.83、75.05 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。与低温处理相比,水杨酸处理显著提高了低温胁迫第 3、5、7 天时的铁皮石斛幼苗的根系 APX 活性,分别比低温处理提高了 37.79、31.03、64.57 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,差异显著。这说明水杨酸能通过增强根系 APX 活性进而增强清除 H_2O_2 的能力,进而缓解低温胁迫对植株造成的过氧化作用,提高其抵抗低温能力。

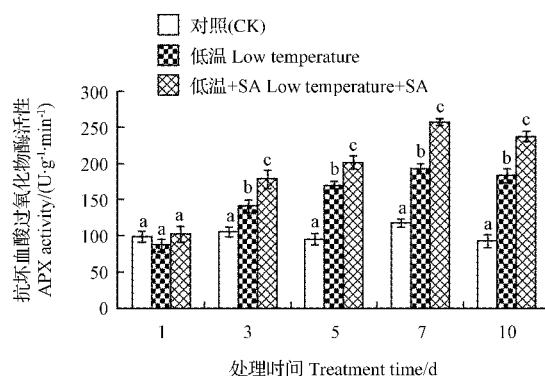


图 4 SA 处理对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系抗坏血酸过氧化物酶活性的影响

Fig. 4 Effects of SA treatment on APX activity of *D. officinale* seedlings under low temperature stress

2.5 SA 处理对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系过氧化氢酶(CAT)活性的影响

由图 5 可知,低温胁迫下,铁皮石斛幼苗根系 CAT 活性在第 3 天开始上升,第 7 天达到最大值,第 10 天有所下降,但仍高于对照,达差异显著水平。与对照相比,当低温胁迫第 3、5、7 天时,铁皮石斛幼苗根系 CAT 活性显著高于对照,分别提高 19.86、14.39、48.21 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。与低温处理相比,水杨酸处理显著提高了低温胁迫第 3、5、7 天时的铁皮石斛幼苗的根系 CAT 活性,分别比低温处理提高了 18.16、30.78、21.81 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,差异显著。这说明水杨酸能通过增强根系 CAT 活性进而增强清除 H_2O_2 的能力,提高其低温能力。

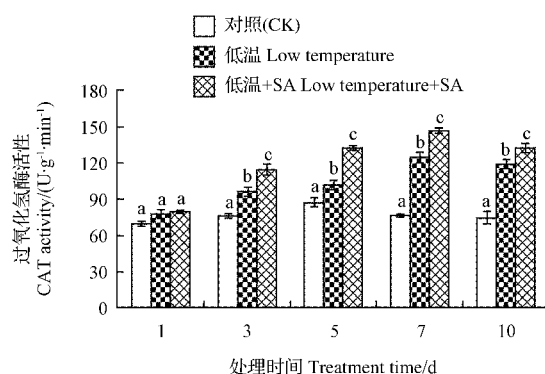


图 5 SA 处理对低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系过氧化氢酶活性的影响

Fig. 5 Effects of SA treatment on CAT activity of *D. officinale* seedlings under low temperature stress

3 结论与讨论

植物根系是活跃的吸器官和合成器官,根的生长情况和活力水平直接影响地上部的营养状况及产量水平。温度是影响植物生理生化过程的重要环境因素,在植物的生长发育过程中起到重要作用,根际温度影响着根系自身的各种代谢过程和生长发育状况。和红云等^[10]研究表明,低温胁迫条件下,甜瓜在各温度下幼苗根系活力随时间延长呈先升后降的趋势,同一时期各温度条件下,“伊丽莎白”的根系活力均高于“早金”。康俊梅等^[11]研究表明,低温胁迫对野牛草幼苗根系活力的影响较显著,随着低温胁迫时间的延长,根系活力急剧降低。该研究结果表明,低温胁迫抑制了根系的生长,根系活力急剧下降。在逆境下,SA在过氧化氢(H₂O₂)的参与下通过减轻植物细胞的结构变化与调节抗氧化酶活性和质外体蛋白的含量提高植物的抗寒性^[12-13]。SA处理后铁皮石斛幼苗根系活力一直高于低温处理,与对照的相差不大,说明外施SA能够缓解低温的危害,使铁皮石斛幼苗根系受到的伤害相对较小,对低温有更强的耐受性。辛慧慧等^[14]研究表明,水杨酸预处理可以过提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的活性来适应低温环境。蔡汉等^[15]也发现SA可通过减少活性氧积累,提高保护酶活性,有效缓解低温胁迫对茉莉幼苗的伤害。该研究中,在低温胁迫下,铁皮石斛幼苗根系SOD、POD、CAT、APX活性随胁迫时间的延长总体上呈上升趋势,SA预处理又显著提高了铁皮石斛幼苗根系的SOD、POD、APX、CAT活性,说明SA预处理可显著增强铁皮石斛酶促防御系统的抗氧化能力,保持活性氧代谢的平衡,维持细胞膜稳定性,从而促进了铁皮石斛耐寒性的有效提高。这与常云霞等^[16]、康国章等^[17]、尚庆茂等^[18]和李艳军等^[19]的结果一致。

SA处理显著提高了低温胁迫下铁皮石斛幼苗根系SOD、POD、APX、CAT活性,这对于提高铁皮石斛幼苗在低温下的存活率,缓解铁皮石斛幼苗的低温伤害具有重要作用。SA发挥作用的机制可能是其先诱导植物进行轻度胁迫锻炼,提高保护酶活性,有利于植物体内活性氧的淬灭,减少膜脂过氧化产物和原生质膜的渗透,增强植株对随后长时间低温胁迫的抵抗能力。

参考文献

- [1] 邵华,张玲琪,李俊梅,等.铁皮石斛研究进展[J].中草药,2004,35(1):109-112.
- [2] 彭锐,范俊安,张艳.石斛属药用植物种质资源研究进展[J].时珍国医国药,2001,12(3):273-274.
- [3] 艾娟,严宁,胡虹,等.温度对铁皮石斛生长及生理特性的影响[J].云南植物研究,2010,32(5):420-426.
- [4] 孟雪娇,邸昆,丁国华.水杨酸在植物体内的生理作用研究进展[J].中国农学通报,2010,26(15):207-214.
- [5] 初敏,王秀峰,王淑芬,等.外源SA预处理对低温胁迫下萝卜幼苗的生理效应[J].西北农业学报,2012,21(2):142-145,183.
- [6] KANG G Z, WANG C H, SUN G C, et al. Salicylic acid changes activities of H₂O₂-metabolizing enzymes and increase the chilling tolerance of banana seedlings [J]. Environmental and Experimental Botany, 2003, 50(1): 9-15.
- [7] 张蕊,高志明,吕俊,等.水杨酸对低温胁迫下大豆幼苗生长抑制的缓解作用[J].江苏农业科学,2012,40(6):62-65.
- [8] 刘萍,李明军.植物生理学实验技术[M].北京:科学出版社,2008.
- [9] PARIDA A K, DAS A B, MOHANTY P. Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: Differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes [J]. J Plant Physiol, 2004, 161: 531-542.
- [10] 和红云,薛琳,田丽萍,等.低温胁迫对甜瓜幼苗根系活力及渗透调节物质的影响[J].石河子大学学报(自然科学版),2008,26(5):583-586.
- [11] 康俊梅,李燕,沈静,等.低温胁迫对野牛草幼苗渗透调节物与根系活力的影响[J].动物营养与饲料科学,2010,37(12):18-22.
- [12] 刘伟,艾希珍,梁文娟,等.低温弱光下水杨酸对黄瓜幼苗光合作用及抗氧化酶活性的影响[J].应用生态学报,2009,20(2):441-445.
- [13] 王志斌,葛云霞,王建民,等.水杨酸和赤霉素复配剂对低温下玉米光合特性的影响[J].玉米科学,2010,18(6):43-45.
- [14] 辛慧慧,李防洲,侯振安,等.低温胁迫下棉花幼苗对外源水杨酸的生理响应[J].植物生理学报,2014,50(5):660-664.
- [15] 蔡汉,李卫东,熊作明,等.低温胁迫下水杨酸预处理对茉莉幼苗活性氧及保护酶的影响[J].植物生理科学,2007,23(7):290-294.
- [16] 常云霞,徐克东,陈臻,等.水杨酸对低温胁迫下黄瓜幼苗叶片抗寒生理指标的影响[J].北方园艺,2013(12):1-4.
- [17] 康国章,欧志英,王正询,等.水杨酸诱导提高香蕉幼苗耐寒性的机制研究[J].园艺学报,2003,30(2):141-146.
- [18] 尚庆茂,宋士清,张志刚,等.水杨酸增强黄瓜幼苗耐盐性的生理机制[J].中国农业科学,2007,40(1):147-152.
- [19] 李艳军,工丽丽,蒋欣梅,等.外源水杨酸诱导对番茄幼苗抗冷性的影响[J].东北农业大学学报,2006,37(4):463-467.

Effects of SA on Root Activity and Antioxidant Enzyme Activity of *Dendrobium officinale* Seedlings Under Low Temperature Stress

CHEN Minghui, CHENG Shiping, TONG Weishuang, ZHANG Zhilu

(Key Laboratory of Ecological Restoration in Low Mountain and Hilly Areas, Pingdingshan University, Pingdingshan, Henan 467000)

Abstract: *Dendrobium officinale* Kimura et Migo seedling was used as material, SA (Salicylic acid) was sprayed to *D. officinale* leaves, changes of root activity and antioxidant enzyme of *D. officinale* under low temperature stress were observed. To study the effects of SA pretreatment on *D. officinale* seedlings root under low temperature stress. The results showed that, at the tenth day of cold stress, the root activity in *D. officinale* seedlings was significantly decreased by $23.05 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. A and the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT) were significantly increased by $28.10 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, $140.65 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $75.05 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $48.21 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ at the seventh day of low temperature stress, respectively. Pretreatment with $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA, *D. officinale* seedlings root activity significantly increased by $18.20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, and the activities of SOD, POD, APX and CAT were significantly increased by $22.54 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, $59.00 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $64.57 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, $21.81 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ at the seventh day of low temperature stress, respectively. It had been concluded that SA in appropriate can slow down the hurt of low temperature and enhance cold tolerance of *D. officinale*.

Keywords: *Dendrobium officinale*; low temperature stress; salicylic acid; root activity; antioxidant enzyme

《作物杂志》征订启事

《作物杂志》是中国作物学会和中国农业科学院作物科学研究所主办的有关作物科学的学术类期刊。曾荣获第三届/第四届/第五届全国优秀农业科技期刊奖、中国科协优秀科技期刊奖。连续入选全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国农业核心期刊、中国科学引文数据库(CSCD)源期刊、中国科技期刊引证报告(CJCR)源期刊。入选中国知识源总库中国科技期刊精品数据库。

本刊设有专题综述、遗传育种·种质资源·生物技术、生理生化·植物营养·栽培耕作、植物保护、种子科技、研究简报等栏目。

读者对象为农业科研人员、农业院校师生、农业技术推广工作者等。本刊为双月刊,大16开,172页。定价15元,全年90元,全国各地邮局均可订阅,邮发代号:82-220。

地址:北京市海淀区中关村南大街12号中国农业科学院作物科学研究所

邮编:100081

电子信箱:zwzz304@caas.cn

电话:(010)82108790

过刊免费下载:<http://www.chinacrops.org/magas.asp?menuid=22>