

人参对干旱胁迫的生理生化反应

张舒娜, 邵 财, 马 琳, 潘晓曦, 魏云洁, 张亚玉*

(中国农业科学院特产研究所, 吉林 长春 130112)

摘 要:以3年生人参幼苗为研究材料,采用盆栽试验设计,研究干旱胁迫时间对人参幼苗叶片相对含水量与质膜损伤状况,以及叶绿素、抗氧化物谷胱甘肽(GSH)含量和抗氧化保护酶(SOD、POD)活性的影响。结果显示:与同期对照(适宜水分处理)相比,干旱胁迫下人参叶片含水量随胁迫时间的延长显著降低;同时,叶绿素与可溶性蛋白含量也随胁迫时间的延长显著下降。丙二醛含量与电解质渗漏较对照组显著增加,并随胁迫时间的延长而升高。抗氧化酶SOD和POD活性高于对照组,随胁迫时间的延长先增加后下降;抗氧化物谷胱甘肽(GSH)含量低于对照组,随胁迫时间的延长呈现降-升-降的变化规律。研究表明,干旱胁迫会对人参幼苗造成一定伤害,但在前期能调动自身抗氧化保护酶类与抗氧化物质提高其抗旱能力,但随着胁迫时间的延长抗氧化能力降低。

关键词:人参;干旱胁迫;抗氧化保护

中图分类号:S567.5+10.1

文献标识码:A

文章编号:1003-8701(2016)05-0037-05

Physiological and Biochemical Response of *Panax ginseng* C. A. Meyer to Drought Stress

ZHANG Shuna, SHAO Cai, Ma Lin, PAN Xiaoxi, WEI Yunjie, ZHANG Yayu*

(Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, CAAS, Changchun 130112, China)

Abstract: The pot experiment was conducted to study the effects of different time of drought stress treatments on physiological and biochemical characteristics (RWC, MDA, EL, chlorophyll content, SP, SOD, POD and GSH) of 3-year-old *Panax ginseng* C. A. Meyer seedlings. Results showed that compared with control (suitable soil moisture treatment), leaf relative water content (RWC) in *Panax ginseng* C. A. Meyer seedlings decreased significantly. Chlorophyll (Chl a, Chl b, Car) and soluble protein (SP) content also decreased significantly as drought stress time prolonged. The content of MDA and EL were higher than control and increased significantly when drought stress time prolonged. The activities of SOD and POD were higher than control and first increased at first and then decreased as the time of drought stress treatments prolonged. The content of GSH was lower than control and followed a changing pattern of fall-rise-fall. The research found *Panax ginseng* C. A. Meyer seedlings was vulnerable to damage by severe drought stress. The antioxidant enzyme and metabolites was adjusted to increase its antioxidant capability, but the capability had already fall down obviously by prolonged drought stress.

Key words: *Panax ginseng* C. A. Meyer; Water stress; Anti-oxidation protection

人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer)系五加科人参属植物,是名贵的中药材,被誉为“百草之王”。具大补元气,复脉固脱,补脾益肺,生津养血,安神益智的功效。用于体虚欲脱,肢冷脉微,脾虚食少,肺虚喘咳,津伤口渴,内热消渴,久病

虚羸,惊悸失眠,阳痿宫冷;心力衰竭,心原性休克^[1]。《神农本草经》将其列为上品,谓“人参,味甘微寒。主补五脏,安精神,定魂魄,止惊悸,除邪气,明目,开心益智。久服,轻身延年”。人参主要生长在东亚地区,我国主要分布在吉林、辽宁、黑龙江等地。

植物生长发育过程中经常会受到各种逆境胁迫的影响,这其中干旱是最普遍也是最容易受到的胁迫之一。干旱严重影响植物的正常生长发育和光合作用^[2],以及引起植物产生一系列生理生化反应^[3-5]。研究表明,随土壤含水量的降低,麻疯树的株高、生物量等均呈下降趋势,蒸腾速率

收稿日期:2016-05-05

基金项目:吉林省科技发展规划项目(20140520157JH、20140204056YY)

作者简介:张舒娜(1985-),女,助理研究员,硕士,研究方向:药用植物的栽培研究。

通讯作者:张亚玉,女,研究员,E-mail: zyy1966999@sina.com

和气孔导度显著降低,叶片色素含量显著升高^[6]。随干旱时间延长,油菜株高、茎粗、一次分枝数、单株产量、叶片净光合速率、气孔导度、蒸腾速率、胞间二氧化碳浓度、叶片含水量(RWC)、叶绿素含量以及RuBP羧化酶活性抗旱系数均呈下降趋势。POD、SOD、CAT活性、可溶性糖以及可溶性蛋白相对值随着干旱胁迫时间的延长先升高后下降;细胞膜透性、丙二醛(MDA)含量和脯氨酸相对值随干旱胁迫时间的延长呈上升趋势^[7]。水分胁迫下花生叶片相对含水量下降,叶片气孔开度降低,叶片*AhNCED1*基因和AhNCED1蛋白表达增强^[8]。由于我国人参种植区春旱频发,而目前对于人参的抗旱性研究还鲜见报道。为此,本试验以人参幼苗为研究对象,研究了干旱胁迫与相关生理指标之间的关系,揭示其抗旱机理,为人参干旱条件下栽培管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以2014年3月采收的3年生人参为材料,于2014年4月进行盆栽处理,栽培基质为林下暗棕壤。选择生长势一致的人参种苗240株,每盆4株。

1.2 方法

试验于2014年5~6月在中国农业科学院特产研究所进行。采用盆栽方式,盆直径25 cm,高15 cm,日光温室常规育苗,种苗分为两组:120株浇水到适宜土壤含水量(对照组),120株干旱处理(干旱胁迫组)。从控水开始每7天收集人参种苗叶片,收集6次,同时,每次取样后取控水组对应的土壤样品。试验在25℃(昼)/20℃(夜)下进行,自然光照。

1.3 测定指标与方法

1.3.1 土壤与叶片含水量的测定

叶片相对含水量(RWC)的测定:首先取各株冠中上部位的叶片1枚(5小叶),立即称量鲜重(FW),然后置于水中,在暗光下浸泡48 h至饱和状态,称量饱和鲜重(SW),最后将叶片于80℃烘干,称干重(DW),叶片含水量(RWC)的计算见公式:

$$RWC(\%) = [(FW - DW) / (SW - DW)] \times 100$$

土壤含水量(SWC)的测定:在叶片取样后收集相应的土壤样品,立即称量鲜重(FW),然后在105℃烘干48 h,称干重(DW),计算SWC见公式:

$$SWC(\%) = [(FW - DW) / DW] \times 100$$

1.3.2 丙二醛和细胞质膜透性的测定

丙二醛含量测定方法根据赵世杰《现代植物生理学实验指南》进行^[9],具体为:称取经逆境胁迫处理的植株叶片0.5 g,加入少量石英砂和10%三氯乙酸4 mL,研磨至浆,然后以4 000 r/min离心10 min,其上清液即为丙二醛提取液。取干净试管并编号,各加入1 mL的提取液,对照加1 mL蒸馏水;然后再加入2 mL 0.6%硫代巴比妥酸溶液;摇匀,将混合液在沸水浴中反应15 min,迅速冷却后低速离心(1 800 r/min);然后取上清液分别在532 nm、600 nm和450 nm波长处测定吸光度值。丙二醛(MDA)含量的计算见公式:

$$C_{MDA} = 6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450} (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$$

公式中:

A_{450} —在450 nm波长下测得的吸光度值;

A_{532} —在532 nm波长下测得的吸光度值;

A_{600} —在600 nm波长下测得的吸光度值。

细胞质膜透性(EL)的测定:在室温条件下,称取0.5 g待测样剪碎放入具塞试管中,加入10 mL蒸馏水,用振荡器振荡30 min,静置30 min后再用DDS-11A型电导仪测定初始电导率(EC1),然后将其100℃水浴30 min。冷却至室温测最终电导率(EC2),测定结果按下列公式计算:

$$EL(\%) = (EC1 / EC2) \times 100$$

1.3.3 叶绿素含量的测定

叶绿素含量测定方法根据郝再彬《植物生理实验》进行^[10],具体为:取新鲜叶片0.2 g,加入少量石英砂和碳酸钙粉及2~3 mL体积分数为95%的乙醇,研磨至浆,再加入乙醇10 mL,继续研磨至组织变白。静置3~5 min。过滤至棕色容量瓶中,用95%的乙醇定容至25 mL。叶绿素提取液分别在665 nm、649 nm和470 nm波长处测定吸光度值。叶绿素浓度采用下式计算:

$$C_a(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) = 13.95 \times A_{665} - 6.88 \times A_{649}$$

$$C_b(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) = 24.96 \times A_{649} - 7.32 \times A_{665}$$

$$C_c(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}) = (1000 \times A_{470} - 2.05 \times C_a - 114.8 \times C_b) / 245$$

公式中:

A_{665} —在665 nm波长下测得的吸光度值;

A_{649} —在649 nm波长下测得的吸光度值;

A_{470} —在470 nm波长下测得的吸光度值。

C_a 、 C_b 、 C_c 分别是反应混合液中叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素的浓度。

1.3.4 SOD、POD活性及可溶性蛋白、GSH含量的测定

SOD活性、POD活性、可溶性蛋白含量、GSH含量的测定采用南京建成生物工程研究所提供的

试剂盒。

1.4 数据分析

干旱胁迫与适宜水分处理间各指标差异显著性分析通过SAS软件ANOVA程序完成。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下土壤与叶片含水量的变化

在35天的干旱胁迫处理中,土壤含水量持续降低,由最初的51.31%下降到实验结束时的18.53%(图1)。人参叶片含水量在干旱胁迫前14天中变化不大,在干旱胁迫21天后人参叶片含水

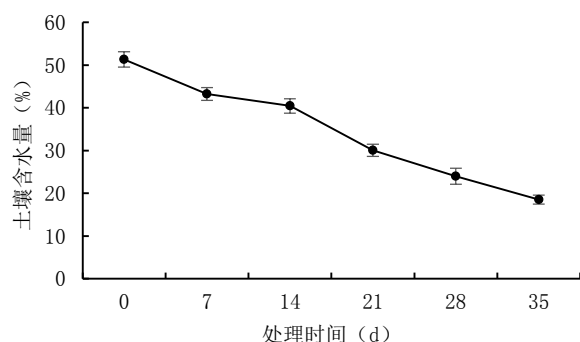


图1 人参幼苗干旱胁迫过程中土壤含水量的变化

注:数据为平均值±标准误,不同小写字母表示同期处理间差异达0.05显著水平,下同

量开始显著降低。在干旱胁迫21天、28天和35天后,人参叶片含水量由最初的88.91%分别下降到84.41%(21天)、77.84%(28天)和64.93%(35天)(图2)。

2.2 干旱胁迫对脂质过氧化和质膜透性的影响

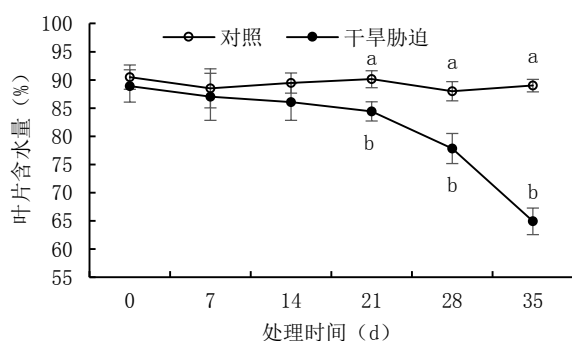


图2 人参幼苗干旱胁迫过程中叶片含水量的变化

在干旱胁迫处理中,丙二醛(MDA)含量在胁迫的第14天开始显著增加,从最初的 $7.237 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 $9.461 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$,并在干旱胁迫过程中持续增加,直到第35天试验终期达到 $12.358 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ (图3)。同样,电导率(EL)在胁迫的第14天开始显著增加,从最初的19.95%增加到28.80%,并在

干旱胁迫过程中持续增加,直到第35天达到32.71%(图4)。

2.3 干旱胁迫对叶绿素和可溶性蛋白含量的影响

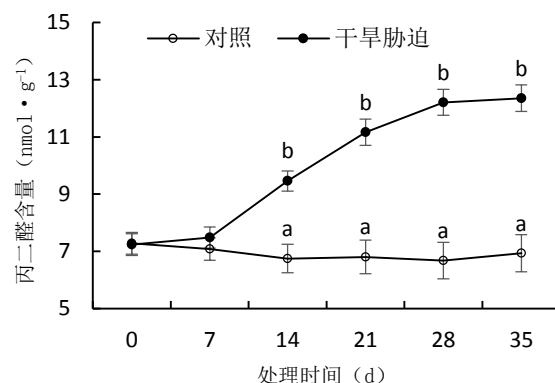


图3 人参幼苗干旱胁迫过程中丙二醛含量的变化

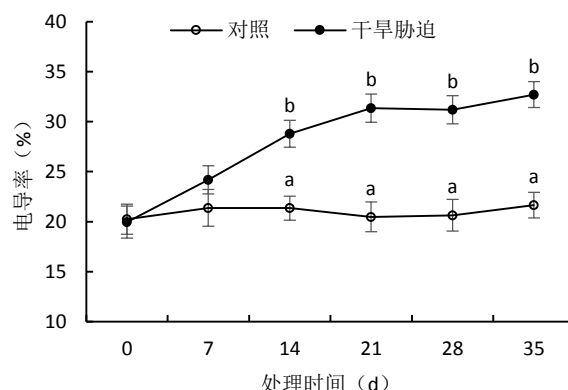


图4 人参幼苗干旱胁迫过程中电导率的变化

在干旱胁迫处理35天中,叶绿素a值从 $2.177 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 迅速下降到 $1.825 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (叶绿素a),叶绿素b值从 $0.913 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 迅速下降到 $0.745 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (图5),类胡萝卜素从 $0.306 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 迅速下降到 $0.203 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。同样,可溶性蛋白含量在干旱胁迫21天开始迅速下降,由最初的 $0.035 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 降低到 $0.026 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (28天), $0.024 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (35天)(图6)。

2.4 干旱胁迫对抗氧化酶活性与抗氧化物含量的影响

在干旱胁迫21天后,SOD和POD活性迅速增加,SOD和POD分别达到了 117.4 U/mg prot 和 19.66 U/mg prot 。第28天最大值 145.5 U/mg prot 和 26.03 U/mg prot 。SOD和POD活性之后显著下降,但仍比对照值高(图7)。谷胱甘肽(GSH)含量在整个干旱胁迫处理过程中均较对照低,在干旱胁迫最初的21天中GSH含量在不断降低,之后在胁迫的28天迅速增加到对照值 3.846 mg/g prot ,之后降低到 3.631 mg/g prot (图8)。

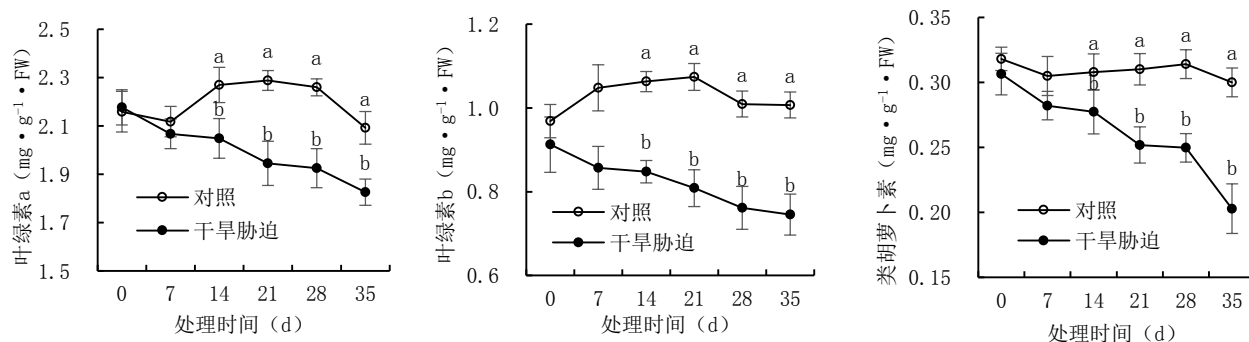


图5 人参幼苗干旱胁迫过程中光合色素的变化

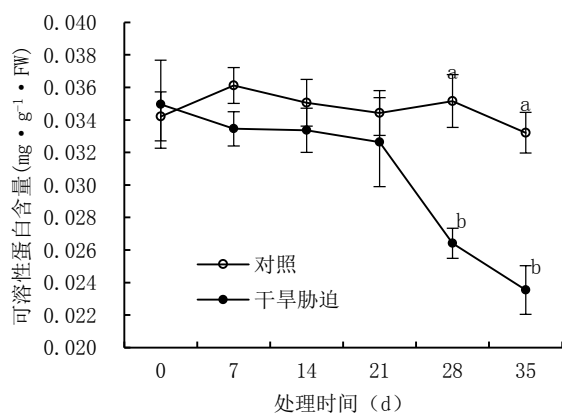


图6 人参幼苗干旱胁迫过程中可溶性蛋白含量的变化

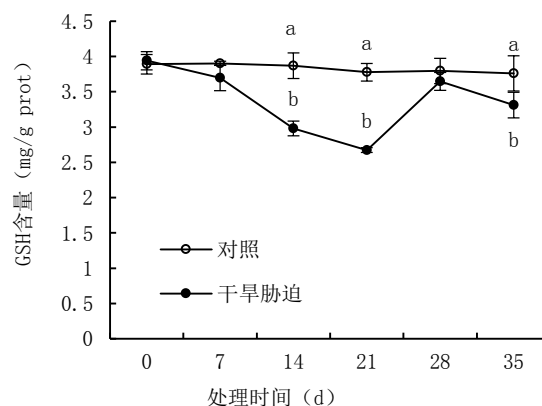


图8 人参幼苗干旱胁迫过程中GSH含量的变化

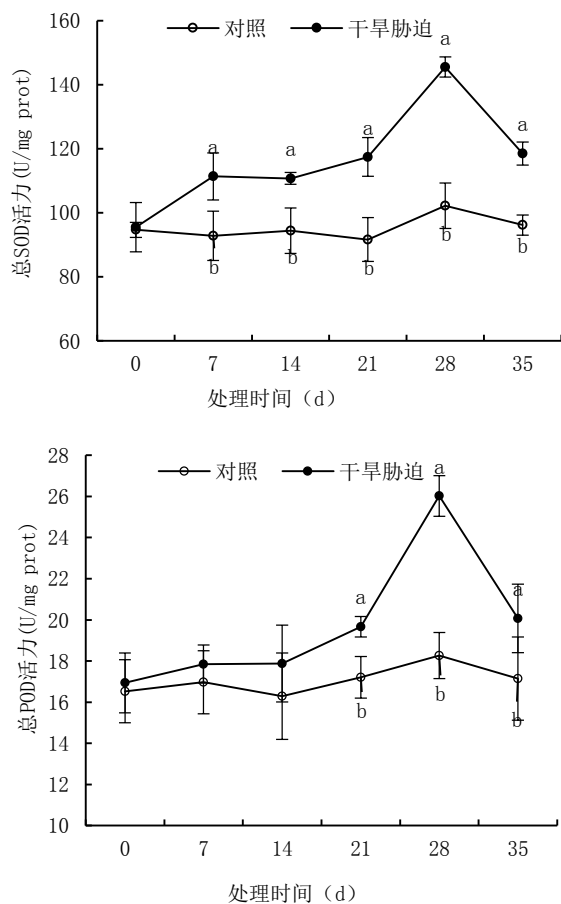


图7 人参幼苗干旱胁迫过程中抗氧化酶活性的变化

3 讨论与结论

植物叶绿素含量的高低影响着植物光合作用的速率和光合产物的形成,是反映植物光合能力的重要指标之一,因此,叶绿素含量可在一定程度上反映植物在干旱胁迫下光合作用的变化。通常认为水分胁迫会降低叶绿素含量^[11],但也有研究表明叶绿素含量在中度胁迫时含量高,而轻度与重度胁迫下含量低^[12]。本研究表明,干旱胁迫下人参幼苗的叶绿素含量均低于适宜水分处理,并随着干旱时间的延长叶绿素含量在不断降低。干旱胁迫导致植物叶片中叶绿素含量的降低,因为干旱胁迫不仅影响叶绿素的生物合成,而且加快已经合成的叶绿素的分解^[13]。

植物在遭受逆境伤害时往往发生膜脂过氧化作用^[14],MDA是膜脂氧化的最终分解产物之一,其含量可以反映植物遭受伤害的程度。植物遭受干旱时由于膜的功能受损或结构破坏,而使其透性增大,细胞内的盐类或有机物将有不同程度渗出,伤害越重,外渗越多,电导率的增加也越大。本研究表明,干旱胁迫下人参幼苗的MDA含量和电导率(EL)均高于适宜水分处理,并随着干旱时间的延长MDA含量和EL在不断升高。这表

明人参幼苗在干旱胁迫下膜脂过氧化反应持续加重,细胞原生质膜破坏程度增强。

正常情况下植物体内自由基活性氧的产生和清除处于动态平衡状态,干旱胁迫下这种动态平衡被破坏,会产生对植物起毒害作用的活性氧离子,如 H_2O_2 等。植物在进化过程中形成了包括 SOD、POD 和 CAT 在内的抗氧化酶防御系统,可清除体内的活性氧^[15]。本研究表明,干旱胁迫下,人参叶片 SOD、POD 活性先升高后降低。而细胞膜透性及 MDA 含量一直升高,说明短期干旱胁迫能使保护酶活性提升,而干旱胁迫时间过长时,可能是有害物质的积累超过了保护酶的清除能力,使 3 种酶活性受到抑制。

本研究表明,干旱胁迫会对人参幼苗造成一定伤害,干旱胁迫下叶片水分含量降低,质膜损伤,光合能力降低。人参幼苗可以通过增加体内的抗氧化酶活性及抗氧化物含量提高其抗旱能力。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 212.
- [2] 尹贇鹏, 刘雪梅, 商志伟, 等. 不同干旱胁迫下欧李光合及叶绿素荧光参数的响应[J]. 植物生理学报, 2011, 47(5): 452-458.
- [3] 朱广龙, 韩 蕾, 陈 婧, 等. 酸枣生理生化特性对干旱胁迫的响应[J]. 中国野生植物资源, 2013, 32(1): 33-44.
- [4] 孙存华, 李 扬, 贺鸿雁, 等. 藜对干旱胁迫的生理生化反应[J]. 生态学报, 2005, 25(10): 2556-2561.
- [5] 黄彩变, 曾凡江, 雷加强. 极端干旱区头状沙拐枣对水分条件变化的生理生态响应[J]. 植物研究, 2015, 35(2): 225-232.
- [6] 焦娟玉, 陈 珂, 尹春英. 土壤含水量对麻疯树幼苗生长及其生理生化特征的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(16): 4460-4466.
- [7] 白 鹏, 冉春艳, 谢小玉. 干旱胁迫对油菜薹薹期生理特性及农艺性状的影响[J]. 中国农业科学, 2014, 47(18): 3566-3576.
- [8] 胡 博, 吕 滢, 肖素妮, 等. 水分胁迫下花生叶片 AhN-CED1 蛋白表达与气孔开度的变化[J]. 植物生理学报, 2012, 48(8): 815-820.
- [9] 赵世杰. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 106-107.
- [10] 郝再彬, 苍 晶, 徐 仲. 植物生理实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004: 46-48.
- [11] 吴 顺, 张雪芹, 蔡 燕. 干旱胁迫对黄瓜幼苗叶绿素含量和光合特性的影响[J]. 中国农学通报, 2014, 30(1): 133-137.
- [12] 王红梅, 包维楷, 李芳兰. 不同干旱胁迫强度下白刺花幼苗叶片的生理生化反应[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(6): 757-762.
- [13] 沈 艳, 谢应忠. 干旱对紫花苜蓿叶绿素含量与水分饱和和亏缺的影响[J]. 宁夏农学院学报, 2011, 25(2): 25-28.
- [14] 葛体达, 隋方功, 白莉萍, 等. 水分胁迫下夏玉米根叶保护酶活性变化及其对膜脂过氧化作用的影响[J]. 中国农业科学, 2005, 38(5): 922-928.
- [15] 钱永强, 孙振元, 韩 蕾, 等. 野牛草叶片活性氧及其清除系统对水分胁迫的响应[J]. 生态学报, 2010, 30(7): 1920-1926.

(责任编辑: 姜晓莉)