

不同增温处理对巫山淫羊藿抗性生理的影响

张雪梅, 范曾丽

(西华师范大学 生命科学学院, 四川 南充 637009)

摘要:为探究淫羊藿栽培技术, 促进其生长发育, 满足市场需求, 以巫山淫羊藿为研究对象, 通过开顶式气室(OTC, open-top chambers)对移栽的巫山淫羊藿进行不同程度的温度处理, 探讨增温对巫山淫羊藿抗性生理特性的影响, 揭示其对温度的响应情况。结果表明: 在增温条件下, 巫山淫羊藿不同器官表现出不同的抗性能。随着温度升高, 所有器官中的MDA和 H_2O_2 含量基本上表现为降低趋势。增温对根、茎中POD活性影响不显著; 但对叶和花的影响显著。增温对SOD活性影响显著, 但对CAT活性影响不显著。增温对VE和VC影响显著。增温同样能显著影响羟自由基和总抗氧化能力及蛋白质含量。+2℃增温的条件下有利于巫山淫羊藿的生长, 而超过这个限度会对植物起到抑制的作用。

关键词: 巫山淫羊藿; 增温; 抗性生理

中图分类号: S567.239; Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2016)07-0080-06 **DOI:** 10.11942/j.issn1002-2767.2016.07.0080

由于工业化进程的加剧, 人类对资源的过度开发, 二氧化碳的排放量逐年增加, 再加上其它温室气体的排放(例如: 甲烷、氧化亚氮、六氟化硫等), 使20世纪全球平均气温上升了0.74℃^[1]。研究气温升高对生态系统、群落、植物种群和个体等各个水平的影响, 已经成为了植物学的研究重点之一。已有研究报道, 温度升高有利于植物对吸收光能的利用, 提高抗氧化酶的活性以及抗氧化物质的含量, 因此降低植物组织活性氧的积累^[2-4]。但是也有研究认为较低的温度更有利于植物组织抗氧化酶活性以及抗坏血酸含量的增加^[5]。为了避免活性氧在植物体的积累, 植物体内形成了一套与活性氧紧密相关的活性氧清除系统。抗氧化酶系统主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等。其中SOD是主要的活性氧清除酶, 它以活性氧和自由基为底物发生歧化反应, 将攻击能力强的超氧阴离子自由基转化为毒性较小的 O_2 和 H_2O_2 , 从而减轻 O_2 对植物的毒害作用; CAT和POD是清除 H_2O_2 的关键酶^[6]。抗氧化酶和抗氧化物质对维持植物细胞活性氧水平具有重要意义, 并且与光合和生长等植物体生理生长过程紧密联系。巫山淫羊藿作为《中国药典》收录的药用植物, 具有较高的药用价值。但是由于现阶段不合理的开发和生境的破坏, 导致淫羊藿野

生资源日益减少, 而市场对淫羊藿植物资源则供不应求, 因而对淫羊藿的扩大栽培是大势所趋。淫羊藿的生长发育受多种因素的制约, 温度是重要的因子, 它能影响原生境的淫羊藿属植物的开花物候、开花性状^[7-8]; 而温度对于淫羊藿抗性生理特性方面产生何种影响还未见相关报道。因此以巫山淫羊藿为研究对象, 通过开顶式气室(OTC, open-top chambers)进行不同程度的温度处理, 探讨了增温对巫山淫羊藿属植物抗性生理特性的影响, 了解其对温度的响应情况。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为一年生巫山淫羊藿种子(野外采集收获); 开顶式气室为北京易盛泰和建设的常规型开顶箱, 室内配有用电脑精确控制温度的装置。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 分别将一年生巫山淫羊藿种子种植于西华师范大学试验基地中。2011年10月左右, 选择长势一致的植株, 移入花盆中, 每盆2株。盆外径为28cm, 内径24cm, 深22cm, 覆土深度16~18cm。2011年12月将巫山淫羊藿放入开顶式气室(OTC)进行增温。设置室内温度分别高于室外2℃(+2℃)和5℃(+5℃), CO_2 等其它条件与室外一致。同时设置对照组(C)。每个处理6个重复, 每个重复20株, 常规管理。2012年3-5月, 在巫山淫羊藿花期进行材料的采集和测定生理生化指标。

1.2.2 测定项目及方法 丙二醛(MDA)含量采

收稿日期: 2016-06-07

第一作者简介: 张雪梅(1982-), 女, 四川省渠县人, 博士, 讲师, 从事植物系统与进化研究。E-mail: 30049812@qq.com。

用硫代巴比妥酸(TBA)法测定,过氧化氢(H_2O_2)含量测定采用刘俊^[9]的方法进行。叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性采用李忠光^[10]等的方法测定。抗坏血酸(VC)含量采用郑京平^[11]的方法测定。维生素E(VE)含量采用李英丽^[12]等方法测定。抗氧化能力采用滕中华^[13]等的方法测定。可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝法^[14]测定。

1.2.3 数据处理 所有数据利用 SPSS19.0 进行单因素方差分析(one-way ANOVA with Duncan),对不同温度处理之间进行多重比较。

2 结果与分析

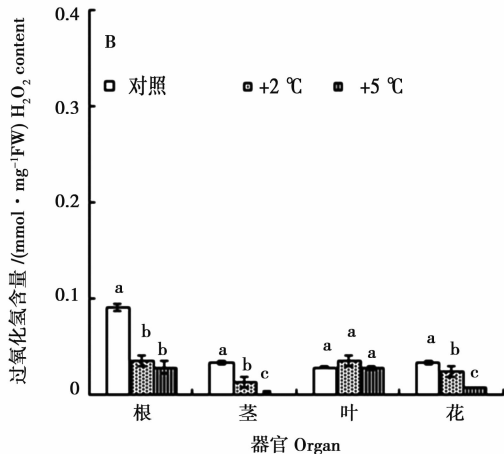
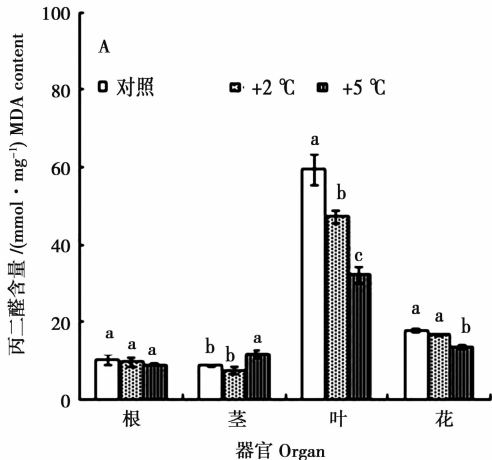
2.1 增温对巫山淫羊藿属植物丙二醛及过氧化氢含量的影响

不同器官的MDA和 H_2O_2 含量对不同增温条件表现出不同的响应(见图1A和B)。在MDA含量中,叶的含量最大,其次是花,根、茎最低;叶中的含量为对照 $C > +2\text{ }^{\circ}\text{C} > +5\text{ }^{\circ}\text{C}$,花中对照C和 $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 无显著差异,且两者显著大于

$+5\text{ }^{\circ}\text{C}$,根中三个温度处理无显著差异,茎中对照C和 $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 无显著差异,且均显著小于 $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。在 H_2O_2 含量中,根的含量高于其它器官;在不同温度处理中,根的对照C显著大于 $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$, $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 无显著差异,在茎和花中,均是对照 $C > +2\text{ }^{\circ}\text{C} > +5\text{ }^{\circ}\text{C}$,叶中无显著差异。总体上看,随着温度升高,所有器官中的MDA和 H_2O_2 含量均表现出降低趋势。

2.2 增温对巫山淫羊藿属植物抗氧化酶活性的影响

巫山淫羊藿的过氧化物酶(POD)活性在叶中最高,其次是茎和根,花最小。由图2A可知,根和茎的POD活性不同增温处理间无显著差异,叶中POD活性, $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 显著小于对照,花器官受温度影响明显,不同温度处理表现出显著的差异性,对照 $C < +2\text{ }^{\circ}\text{C} < +5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 器官受温度影响。总体来说,增温对巫山淫羊藿的根和茎的POD活性影响不显著。



不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

Different lowercases indicate significant differences at 0.05 level. The same below.

图1 增温条件下巫山淫羊藿属植物各器官MDA和 H_2O_2 含量

Fig.1 MDA and H_2O_2 contents in *E. wushanense* under warming conditions

由图2B可知,巫山淫羊藿的根、茎、叶中SOD活性均大于花中SOD活性。比较根中SOD活性发现, $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 显著大于对照和 $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。在茎中,不同增温处理的SOD无显著差异;在叶中,对照的SOD活性最小,其它处理间无显著差异。花中, $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的SOD活性显著大于对照。

由CAT活性的比较(见图2C)可知,各处理条件下,巫山淫羊藿中各器官的CAT活性均无

显著差异性。

2.3 增温对巫山淫羊藿VE、VC含量的影响

由图3A可知,营养及生殖器官的VE含量随增温程度的变化趋势不尽相同。其中,在营养器官根中,随着温度的增加其VE含量呈现逐渐下降的趋势;茎中, $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 无显著差异,而两者显著高于对照;叶中,对照 $C > +5\text{ }^{\circ}\text{C}$,且两者差异显著;生殖器官花中,VE含量呈“V”字

型显著增加。

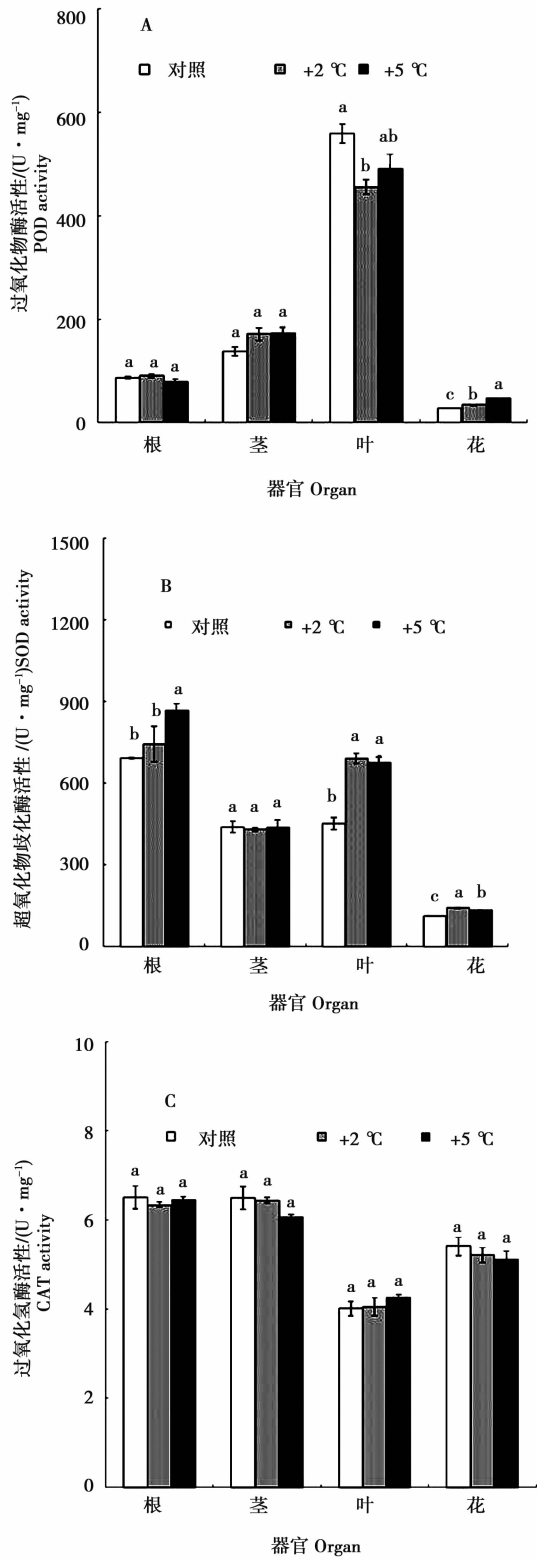


图 2 增温条件下巫山淫羊藿 POD、SOD 和 CAT 活性
Fig. 2 POD, SOD and CAT activities in *E. wushanense* under warming conditions

由图 3B 可知,巫山淫羊藿的叶中 VC 含量大于其它器官。在根中,随着温度的增加,VC 含量逐渐减少,对照 C 和 +2 °C 差异未达到显著水平, +5 °C 最低;在茎中,各温度处理间无显著差异。叶中 +2 °C 显著大于对照 C 和 +5 °C,对照 C 和 +5 °C 无显著差异。随着温度的升高,花中 VC 含量先升高后降低。

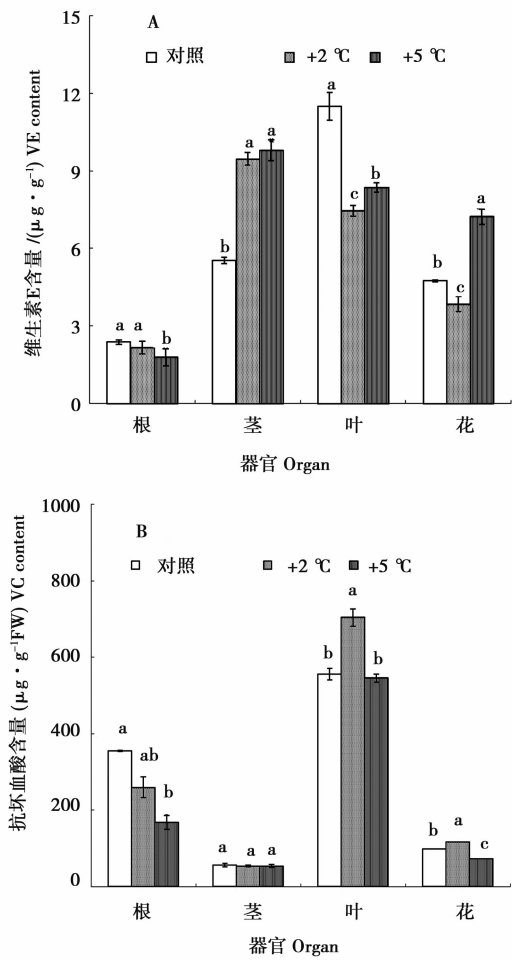


图 3 增温条件下巫山淫羊藿 VE 和 VC 含量
Fig. 3 Vitamin E and Vitamin C contents in *E. wushanense* under warming conditions

2.4 增温对巫山淫羊藿属植物抗氧化能力的影响

在抑制羟自由基能力的对比图 4A 中,茎和叶抑制羟自由基能力大于根和花,且叶中的变化表现出随着温度的增加呈现下降的规律性。根的抑制自由基能力为, +5 °C 显著大于对照和 +2 °C;茎中随着温度的增加,抑制羟自由基能力先升高后降低;在叶中,随着温度的增加,其抑制羟自由基能力显著下降;在花中, +2 °C 处理显著

大于对照和+5℃。

在总抗氧化能力(T-AOC)的对比图 4B 中, 叶中的变化较为明显,且总抗氧化能力大于根、茎和花,其表现出+2℃大于对照和+5℃的规律性;各个器官的不同处理的变化趋势不同。在根

中,巫山淫羊藿的 T-AOC 随着温度的升高呈现下降的趋势;在茎中,对照最高并且显著大于+2℃和+5℃,增温处理间无显著差异;在叶中,+2℃最高,其次是+5℃,最低为对照 C;花中,各处理间无显著差异。

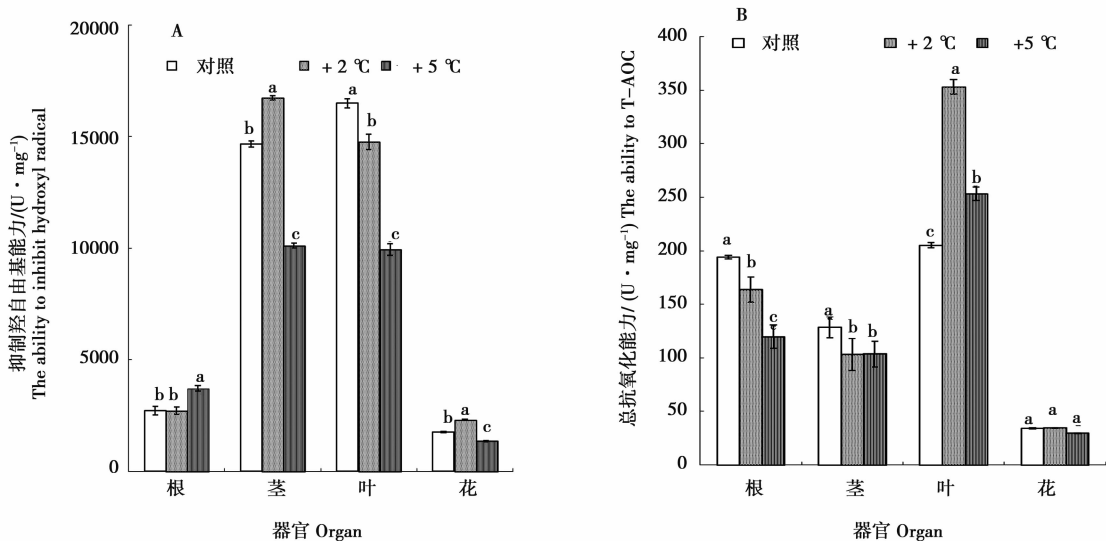


图 4 增温条件下巫山淫羊藿抑制羟自由基和总抗氧化能力

Fig. 4 The ability to inhibit hydroxyl radical and total antioxidant capacity in *E. wushanense* under warming conditions

2.5 增温对巫山淫羊藿属植物可溶性蛋白质含量的影响

由图 5 可知,两种淫羊藿属植物的营养及生殖器官的可溶性蛋白含量随增温程度的变化趋势不尽相同。其中,在营养器官根中,+2℃和对照无显著差异,+5℃最低。营养器官茎中,温度对巫山淫羊藿的可溶性蛋白含量无显著影响。叶中,+2℃的可溶性蛋白含量比+5℃和对照高。生殖器官花中,+2℃和对照无显著差异,且显著

大于+5℃。在各器官的对比中,叶中的可溶性蛋白含量变化最为明显,说明对同一物种而言,植物不同器官的适宜温度不相同,叶片生长对温度的反应最为明显。

3 讨论

3.1 增温与巫山淫羊藿丙二醛及过氧化氢含量的关系

当植物在遭受不良环境时(如高温、低温、水涝、干旱以及盐分胁迫等),植物体内都会产生大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)。活性氧是植物细胞在正常的代谢过程中所产生的,包括超氧化物自由基(O₂⁻)、羟自由基(-OH)、过氧化氢(H₂O₂)等,活性氧具有很强大的氧化能力,积累到一定水平就会对植物组织产生危害,从而给植物的生长带来严重影响^[15]。当植物在遭受环境胁迫时,体内细胞中产生的超氧化物自由基诱导膜质中的不饱和脂肪酸发生膜质过氧化作用,使植物细胞膜系统受到伤害^[16]。江福英对植物的低温胁迫及抗性研究结果表明,植物在低温条件下,叶片中 MDA 含量增加,同时伴随着其它一些抗氧化物质(抗坏血酸)或保护性色素含量(类胡萝卜素)增加;而适度的增温导致植物体

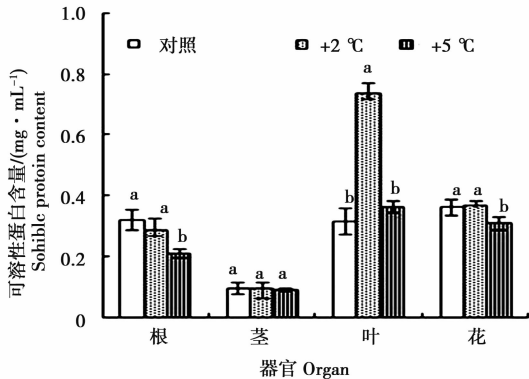


图 5 增温条件下巫山淫羊藿可溶性蛋白含量

Fig. 5 Soluble protein contents in *E. wushanense* under warming conditions

内膜脂过氧化作用降低,从而使MDA含量减少^[17]。巫山淫羊藿叶片的MDA含量高于其它器官,证明叶片的膜脂过氧化程度比其余器官高。此外,在逆境条件下,植物体内往往会大量积累抗氧化物质,一般认为抗氧化物质含量的增加有利于保持细胞与环境渗透平衡,防止植物体内水分散失,并直接影响植物体内大分子物质的稳定性。本研究中,叶片的MDA含量在+2℃下显著低于对照,而最低为+5℃。

3.2 增温与巫山淫羊藿抗氧化酶活性的关系

植物体内活性氧的过度积累会破坏膜系统、蛋白质以及DNA等产生伤害。从总体上看,增温使巫山淫羊藿各器官的抗氧化酶活性都明显提高,但不同种类的抗氧化酶对温度的响应存在差异。+2℃使巫山淫羊藿活性氧含量及膜脂过氧化程度降低,从而在一定程度上减轻了对植物生长的消极影响,表明增温+2℃在一定程度上增强了巫山淫羊藿属植物酶促防御系统的抗氧化能力,从而有利于维持活性氧代谢平衡。与对照C相比,+2℃降低了巫山淫羊藿属植物活性氧含量,推测适度增温可能给植物生长提供了一个更优的环境温度,能够有利于植物生长,适度增温将促进巫山淫羊藿的植株高度、叶片等的生长发育。已有研究报道^[18]温度的增高可以提高植物的光合器官的光反应和暗反应并能降低这些组织的氧化还原能力,从而降低O₂产生速率和H₂O₂的含量。与这些研究相似,本研究也发现温度有利于叶片抗氧化活性的升高。

3.3 增温与巫山淫羊藿VE和VC含量的关系

温度是影响植物抗氧化酶活性和非酶促反应氧化物质的重要环境因素,为了平衡和消除活性氧的增加,植物体内酶促系统和非酶促系统会发生相应的变化。Schonhof发现增温可以提高椰菜组织中的抗坏血酸VC的含量^[19],而在Öncel I对小麦幼苗的研究中发现高温降低了小麦叶片中的脯氨酸含量^[20]。本研究中,经过增温处理后,巫山淫羊藿的VE和VC含量都发生了显著变化,不同的器官表现不同。原因是在增温的条件下植物在一定程度上受到水分胁迫的缘故,而适度的胁迫条件下植物通过提高体内的保护性物质含量从而提高对外界环境的适应能力。

3.4 增温与巫山淫羊藿抗氧化能力的关系

增温对抑制羟自由基能力的影响与各器官的抗氧化酶含量有关,增温对茎和叶的抗氧化酶活

性的影响效果更明显,因此对其抑制羟自由基能力的影响效果也非常明显。同时,增温对巫山淫羊藿叶中的抗氧化酶的影响明显大于其它器官,这进一步从生理生化层面上佐证了增温对不同器官的影响具有不同的效果。在总抗氧化能力的对比上,叶片在+2℃条件下总抗氧化能力显著高于对照和+5℃。这些结果表明不同植物种类的抗氧化酶系统对外界温度的升高会产生不同的响应,不同器官耐受能力不同。

3.5 增温与巫山淫羊藿可溶性蛋白质的关系

张磊等人研究高温加速叶子可溶性蛋白质向其它部位转移,致使叶中的可溶性蛋白质比适温的要低^[21]。武敬亮等研究温度胁迫下黄连的生理变化,发现高温(35℃)胁迫下,可溶性蛋白质含量降低。这些与本研究结果一致^[22]。巫山淫羊藿叶中的可溶性蛋白含量在不同温度处理下,温度越高呈现下降的趋势。也与王小丽等人、李文峰等人研究了低温胁迫下更利于植物的可溶性蛋白含量的增加,而高温会使含量减少的结论一致^[23-24]。

4 结论

综上所述,增温显著影响抗性生理。不同植物抗性能力不同,同一植物不同器官抗性能力也不相同。从总体上看,随着温度升高,所有器官中的MDA和H₂O₂含量基本上表现为降低趋势。增温对巫山淫羊藿的根和茎中POD活性影响不显著;但对叶和花影响显著。增温对SOD活性影响显著,但对CAT活性影响不显著。增温对VE和VC影响显著。增温同样能显著影响羟自由基和总抗氧化能力及蛋白质含量。

参考文献:

- [1] Metz B, Davidson O R, Bosch P R, et al. Climate Change in 2007: Mitigation[M]. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2007.
- [2] Foyer C H, Vanacker H, Gómez L D, et al. Regulation of photosynthesis and antioxidant metabolism in maize leaves at optimal and chilling temperatures: review[J]. Plant Physiol. Biochem. 2002, 40: 659-668.
- [3] Schonhof I, Kläring H P, Krumbein A, et al. Schreiner M. Effect of temperature increase under low radiation conditions on phytochemicals and ascorbic acid in greenhouse grown broccoli[J]. Agr. Ecosyst. Environ. 2007, 119: 103-111.
- [4] Tegelberg R, Julkunen-Tiitto R, Vartiainen M, et al. Exposures to elevated CO₂, elevated temperature and enhanced UV-B radiation modify activities of polyphenol oxidase and

- guaiacol peroxidase and concentrations of chlorophylls, polyamines and soluble proteins in the leaves of *Betula pendula* seedlings[J]. *Environ. Exp. Bot.*, 2008, 62: 308-315.
- [5] Xin Z, Browse J. Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures[J]. *Plant Cell and Environment*, 2000, 23: 893-902.
- [6] Nakano Y, Asada K. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts, its inactivation in ascorbate depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical V[J]. *Plant Cell Physiology*, 1987, 28: 131-140.
- [7] 高泽梅, 权秋梅, 肖娟, 等. 金城山柔毛淫羊藿的开花物候与生殖特性[J]. *广西植物*, 2014(1): 009.
- [8] 权秋梅, 高泽梅, 黎云祥. 不同生境中柔毛淫羊藿形态特征及其有效成分差异分析[J]. *广西植物*, 2012, 32(33): 350-354.
- [9] 刘俊, 吕波, 徐朗来. 植物叶片中过氧化氢含量测定方法的改进[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2000, 27(5): 548-551.
- [10] 李忠光, 李江鸿, 杜朝昆, 等. 在单一提取系统中同时测定五种植物抗氧化酶[J]. *云南师范大学学报: 自然科学版*, 2002, 22(6): 44-48.
- [11] 郑京平. 水果、蔬菜中维生素 C 含量的测定——紫外分光光度快速测定方法探讨[J]. *光谱实验室*, 2006, 23(4): 731-735.
- [12] 李英丽, 邓连琴, 果秀敏, 等. 同步荧光法测定蔬菜中维生素 E 含量[J]. *河北大学学报: 自然科学版*, 2009, 29(4): 412-415.
- [13] 滕中华, 智丽, 宗学风, 等. 高温胁迫对水稻灌浆结实期叶绿素荧光、抗活性氧活力和稻米品质的影响[J]. *作物学报*, 2008, 34(9): 1662-1666.
- [14] 王孝平, 邢树礼. 考马斯亮蓝法测定蛋白含量的研究[J]. *天津化工*, 2009, 23(3): 40-41.
- [15] 杨淑慎, 高俊凤. 活性氧、自由基与植物的衰老[J]. *西北植物学报*, 2001, 21(2): 215-220.
- [16] Jones D L, Kochian L V. Aluminum interaction with plasma membrane lipids and enzyme metal binding sites and its potential role in cytotoxicity [J]. *Febs letters*, 1997, 400(1): 51-57.
- [17] 江福英, 李延, 翁伯琦. 植物低温胁迫及其抗性生理[J]. *福建农业学报*, 2002, 17(3): 190-195.
- [18] 肖凯, 张荣铨, 钱维朴. 氮素营养调控小麦旗叶衰老和光合功能衰退的生理机制[J]. *植物营养与肥料学报*, 1998(4): 371-378.
- [19] Schonhof I, Kläring H P, Krumbein A, et al. Schreiner M. Effect of temperature increase under low radiation conditions on phytochemicals and ascorbic acid in greenhouse grown broccoli [J]. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 2007, 119: 103-111.
- [20] Öncel I, Keles Y, Üstün A S. Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings[J]. *Environ. Pollut*, 2000, 107: 315-320.
- [21] 张磊, 吴冬云, 朱碧岩, 等. 灌浆期不同温光对水稻叶、籽粒可溶性蛋白质及可溶性糖动态变化的影响[J]. *华南师范大学学报: 自然科学版*, 2002(2): 98-101.
- [22] 武敬亮, 苏智先, 田桂香, 等. 淫羊藿研究新进展[J]. *中医药学报*, 2004, 39(3): 69-72, 84.
- [23] 王小丽, 裴玉贺, 张恩盈, 等. 低温胁迫下玉米幼苗的几种生理生化指标的变化[J]. *植物生理学通讯*, 2009, 49(5): 487-490.
- [24] 李文峰, 孟亚利, 陈兵林, 等. 气象因子对棉籽脂肪和蛋白质含量的影响[J]. *生态学报*, 2009(4): 1832-1839.

Effect of Simulated Warming on Physiology Resistance of *Epimedium wushanense*

ZHANG Xue-mei, FAN Zeng-li

(College of Life Sciences, China West Normal University, Nanchong, Sichuan 637009)

Abstract: In order to study the cultivation techniques of *Epimedium wushanense*, promote the growth and satisfy the market demand, taking *Epimedium wushanense* as materials, an open top chamber (OTC) warming system was established to study the impact of simulated warming on physiology resistance of *Epimedium wushanense*. The results showed that different organs of *Epimedium wushanense* showed different resistant ability in warming condition. The content of MDA and H_2O_2 in all organs were significantly decreased with the rise in temperature. The effect of warming on the POD activity of root and stem was not significant except the leaf and flower. The effect of warming on the SOD activity, the content of VC and VE, hydroxy free radical ability and T-AOC was significant in all organs, but on the CAT was not significant. In conclusion the condition of $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ warming is conducive to the growth of *Epimedium wushanense*.

Keywords: *Epimedium wushanense*; simulated warming; physiology resistance