

干旱胁迫对黄芩幼苗保护酶活性的影响

李柳柳,葛人杰,王亚丽,郭玲玲,张 岗,颜永刚

(陕西中医药大学 药学院,陕西 咸阳 712046)

摘要:为探索陕西黄芩抵御干旱的生理机制,采用水培的方法,用不同浓度的PEG-6000模拟不同干旱胁迫,通过测定黄芩幼苗叶片保护酶(SOD、POD、CAT)的活性,研究黄芩幼苗对干旱的响应。结果表明:伴随着干旱胁迫程度的加剧,3种酶活性均呈现为先升高后降低趋势,在PEG-6000浓度为7.5%达到最高,SOD活性为82.86 U·g⁻¹,CAT活性为42.06 U·g⁻¹,POD活性为9.37 U·g⁻¹。表明适度的干旱胁迫能提高黄芩幼苗体内的保护酶活性。

关键词:PEG 胁迫;黄芩幼苗;保护酶活性

黄芩,为唇形科植物黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)的干燥根,在临床治疗中具有清热燥湿、凉血安胎、解毒的功效^[1],频繁使用于临床医疗实践中,黄芩作为典型具有耐旱特性的药材,近年来对其研究也较多,相关研究表明,干旱胁迫对于黄芩的总生物量的积累^[2]、活性成分的转化^[1,3-4],和各种生理指标^[5]具有一定影响,王兴顺^[1]的研究证实黄芩幼苗可以通过协调酶活性和提高渗透调节物质(可溶性糖、可溶性糖)增强自身的保水能力,相关研究均指出,黄芩超氧化歧物酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)对于干旱胁迫均具有不同程度的响应^[4,6],这种响应可在一定程度上反映其内在的物质存储。

黄芩具有较强的耐旱特性,主要分布于我国东北、华北等地,在大部分地区,黄芩在生长过程中会遇到阶段性的不同程度的干旱胁迫,对黄芩相关地域性的研究表明,陕西黄芩具有一定的特

异性^[7-8],为初步探索陕西黄芩对于干旱的生理响应,本研究选取长势良好的陕西黄芩,在水培的条件下研究不同浓度的PEG-6000(0、2.5%、7.5%、15.0%)胁迫下对黄芩幼苗叶片中细胞内保护酶SOD、POD和CAT活性的影响,初步探索黄芩幼苗对于干旱的响应,为寻陕产黄芩抵御干旱的生理机制提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用黄芩幼苗于2017年10月采自陕西省中医药大学药园,经陕西中医药大学中药鉴定教研室胡本祥教授鉴定为唇形科植物黄芩(*S. baicalensis* Georgi)的幼苗,选取生长状况良好,大小一致,六叶生的幼苗作为试验材料。

1.2 方法

1.2.1 预处理 采用水培的方法,将采集来的黄芩幼苗移栽于盆栽中培养,7 d后,移出并将其根及根茎反复洗净,置于Hoagland营养液中,自然光照下培养,5 h后移入含有PEG-6000(浓度分别为0、2.5%、7.5%、15.0%)的培养液中,进行根系模拟干旱胁迫处理,各组平行设置3组,每组24株,处理72 h后,分别剪取各处理植株中间部位的茎上叶片进行3种酶含量的测定。

收稿日期:2018-08-15

基金项目:陕西省科技厅资助项目(2016KTTSSF01-01-01)。
第一作者简介:李柳柳(1994-),女,在读硕士,从事中药的质量标准研究。E-mail:1570961154@qq.com。

通讯作者:颜永刚(1978-),男,博士,教授,硕导,从事中药品种、品质与资源开发研究。E-mail:yunfeng828@163.com。

evapotranspiration was 93 mm, and the evaporation was monthly. The average value was 156 mm, both of which show a downward trend. The values of evapotranspiration in spring, summer, autumn and winter were 340, 440, 238, and 104 mm, respectively. Evaporation, spring, summer, autumn and winter were 609, 659, 354, and 169 mm, respectively. The annual average of evapotranspiration was 1 110 mm, evaporation The annual average was 1 893 mm, both of which show a significant downward trend. Guan county was in the Luxi Plain, which is less affected by the topography, and the evapotranspiration and evaporation are significantly correlated.

Keywords: evapotranspiration; evaporation; significant correlation; guanxian

1.2.2 粗酶液提取 各组收集的黄芩叶片称取0.5 g,加入少量的碳酸钙和石英砂于研钵内研磨,加入5 mL预冷却的50 mmol·L⁻¹磷酸缓冲液(1% PVP,0.1%巯基乙醇,pH 7.0),迅速转移至10 mL容量瓶并定容(研钵提前于-20 ℃下冰冻30 min),冷冻离心20 min,10 000 r·min⁻¹,所得上清液即为粗酶提取液。

1.2.3 测定项目及方法 测定方法依据相关文献并稍作修改,采用NBT光还原法测定SOD活性^[6],采用过氧化氢分解法测定CAT酶活性^[9],用愈创木酚法测定POD酶活性^[10]。

1.2.4 数据分析 采用SPSS 13.0进行数据统计分析,Excel 2010软件绘图。

2 结果与分析

2.1 SOD酶活性的测定结果

如图1所示,随着干旱胁迫程度的加剧,SOD酶活性表现为先升高后降低的趋势,2.5%和7.5%的PEG胁迫后,酶活性呈现升高趋势,当处于7.5%的PEG胁迫时,酶活性值最高达到82.86 U·g⁻¹,比对照组高58.83 U·g⁻¹。

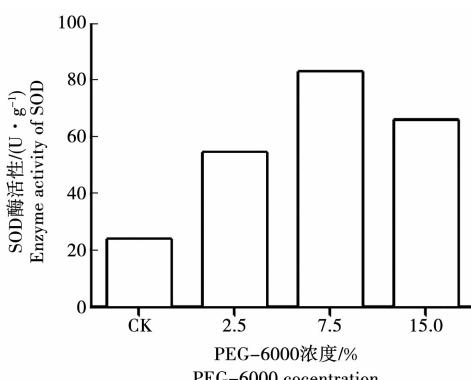


图1 PEG-6000浓度对黄芩幼苗SOD活性的影响

Fig. 1 Effects of PEG-6000 concentration on SOD activity of *S. baicalensis* seedlings

2.2 CAT酶活性的测定结果

黄芩幼苗体内的CAT酶对于干旱胁迫的响应如图2所示,随着PEG-6000浓度的增加,CAT酶的活性也呈现先升高后降低的趋势,当浓度为7.5%时,活性最高达到42.06 U·g⁻¹,比对照组高出11.48 U·g⁻¹。

2.3 POD酶活性的测定结果

黄芩幼苗体内的POD酶对干旱胁迫的响应如图3所示,在轻度(2.5%)和中度(7.5%)胁迫

时,酶活性升高,当PEG-6000的浓度为7.5%时,POD酶活性最高达到9.37 U·g⁻¹,较对照组高6.72 U·g⁻¹,随着干旱胁迫的加剧,15.0%干旱胁迫时,酶活性相较于轻度和中度胁迫下降,但仍高于对照组2.03 U·g⁻¹。

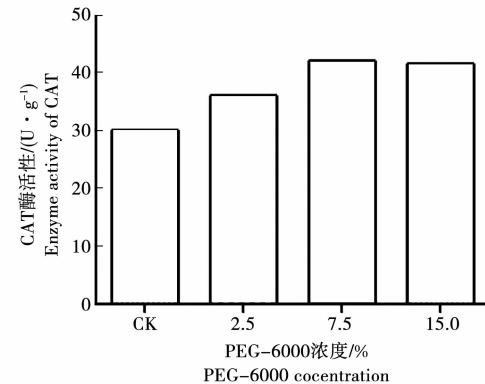


图2 PEG-6000浓度对黄芩幼苗CAT活性的影响

Fig. 2 Effects of PEG-6000 concentration on CAT activity of *S. baicalensis* seedlings

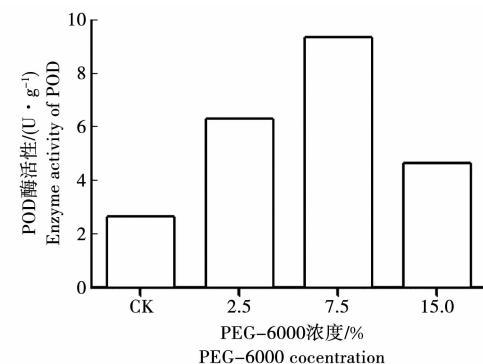


图3 PEG-6000浓度对黄芩幼苗POD活性的影响

Fig. 3 Effects of PEG-6000 concentration on POD activity of *S. baicalensis* seedlings

2.4 干旱胁迫对黄芩幼苗保护酶的影响

本次试验结果表明,随着PEG-6000浓度的增加,3种酶的活性均呈现先升后降的趋势,3种活性酶呈现相似的变化趋势,这表明,处于干旱胁迫时,黄芩的3种活性酶会产生协同作用使机体免遭损害,但当胁迫程度超出其耐受值时,机体将会出现不同程度的损伤,各酶的活性开始降低,各活性酶对短期干旱胁迫的响应存在差异,SOD酶和POD酶对于干旱胁迫较为敏感,这也与王兴顺^[1]的SOD是植物抗氧化第一道防线,POD和CAT协同发挥作用保护机体免受损害的理论相一致。

3 结论与讨论

关于氧自由基对植物膜的伤害^[11-15]的研究表明,植物自身所含的活性酶体系会依据外界环境的变化进行动态调节,水分正常供给的情况下,植株内活性氧 ROS 的生成和消除处于动态平衡^[16-20],当遭受干旱胁迫时,平衡被打破,植物体自身产生氧化胁迫,导致许多非脂性的超氧化物自由基的产生,损伤细胞的结构,杨兆春等^[6]的研究表明,适度的 PEG 胁迫可使黄芩黄酮类含量升高,本研究表明,适度的干旱胁迫会显著升高 3 种酶的活性,对于黄芩是否通过氧化酶活性的升高达到植株体内黄酮类成分的积累,还需进行深入研究。

参考文献:

- [1] 王兴顺. 黄芩(*Scutellaria baicalensis*)幼苗对干旱胁迫的生理适应性反应[J]. 西北林学院学报, 2014, 29(1): 55-59.
- [2] 张榕. 干旱胁迫对黄芩黄酮类成分含量的影响、机制及其应用[D]. 上海: 复旦大学, 2010.
- [3] 姜雪. 水因子对黄芩黄酮类代谢影响研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2013.
- [4] 赵胜楠. 水因子对黄芩药材质量及产量的影响研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2013.
- [5] 张永刚, 赵胜楠, 李亚芹, 等. 短期干旱复水对不同施水黄芩药材质量的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2013, 35(4): 433-437.
- [6] 杨兆春, 袁媛, 陈敏. PEG 胁迫对黄芩黄酮类有效成分积累及相关基因表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2011(16): 9-13.
- [7] 郭玲玲, 刘毅, 禄梦杰, 等. HPLC 法同时测定陕西产不同生长期野生和栽培黄芩中 9 种化学成分的含量[J]. 中草药, 2018, 49(4): 935-940.
- [8] 潘燕, 孟庆刚, 高明, 等. 不同种源黄芩的质量比较研究[J]. 辽宁中医杂志, 2012, 39(4): 717-718.
- [9] 龚子端, 李高阳. PEG 干旱胁迫对植物的影响[J]. 河南林业, 2006(3): 23-25.
- [10] 曹慧, 王孝威. 水分胁迫下新红星苹果超氧化自由基累积和膜脂过氧化作用[J]. 果树学报, 2001, 18(4): 196-199.
- [11] 袁媛, 李娜, 邵爱娟, 等. PEG-6000 处理对黄芩种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 中草药, 2008, 39(2): 269-272.
- [12] 陈立松, 刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片糖代谢的影响及其与抗旱性的关系[J]. 热带作物学报, 1999(2): 31-36.
- [13] 谢亚军, 王兵, 梁新华, 等. 干旱胁迫对甘草幼苗活性氧代谢及保护酶活性的影响[J]. 农业科学学报, 2008, 29(4): 19-22.
- [14] 王翠花, 孙志刚, 杨晓松, 等. PEG 处理对大豆叶片抗氧化酶活性的影响[J]. 内蒙古民族大学学报, 2005, 20(5): 523-526.
- [15] 闫秀峰, 李晶, 祖元刚, 等. 干旱胁迫对红松幼苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 生态学报, 1999, 19(6): 850-854.
- [16] 陈晓亚, 薛红卫. 植物生理与分子生物学[M]. 4 版. 北京: 科学出版社, 2012: 629.
- [17] 袁梦雅. 干旱胁迫对植物保护酶的影响[J]. 科技信息, 2011(14): 105.
- [18] 严子柱, 李得禄, 满多清, 等. PEG-6000 模拟干旱胁迫对铃铛刺和披针叶野决明种子萌发的影响[J]. 干旱区研究, 2017, 34(1): 88-94.
- [19] 裴宗平, 余莉琳, 汪云甲, 等. 4 种干旱区生态修复植物的苗期抗旱性研究[J]. 干旱区资源与环境, 2014, 28(3): 204-208.
- [20] 王琰, 陈建文, 狄晓艳. 水分胁迫下不同油松种源 SOD、POD、MDA 及可溶性蛋白比较研究[J]. 生态环境学报, 2011, 20(10): 1449-1453.

Effects of Drought Stress on Protective Enzymes Activities of *Scutellaria baicalensis* Seedlings

LI Liu-liu, GE Ren-jie, WANG Ya-li, GUO Ling-ling, ZHANG Gang, YAN Yong-gang

(College of Pharmacy, Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

Abstract: In order to explore the physiological mechanism of *Scutellaria* to resist drought, in this study, the response of *Scutellaria baicalensis* seedlings to drought was studied by using different concentrations of PEG-6000 to simulate different drought stress and to determine the activities of SOD, POD and CAT in the leaves of *S. baicalensis* seedlings. The results showed that with the intensification of drought stress, the activities of the three enzymes increased first and then decreased, the concentration of PEG-6000 was 7.5%, the activity of SOD was $82.86 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, the activity of CAT was $42.06 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, and POD activity was $9.37 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$. Therefore, moderate drought stress could enhance the activities of protective enzymes in *S. baicalensis* seedlings.

Keywords: PEG stress; seedling of *S. baicalensis*; protective enzyme activity