

ABA对低温胁迫下黄芪幼苗氧化酶活性影响

孔婉莹 崔莹 洪瑜 李慧 李静辉*

齐齐哈尔医学院 黄芪产业研究院

DOI:10.12238/as.v5i3.2153

[摘要] 为探索黄芪幼苗的抗冷害机制,为我国黄芪幼苗低温胁迫适应性研究提供一定的理论参考和支持。本试验利用脱落酸(ABA)外源激素作为诱导剂,黄芪幼苗为试验材料,研究不同浓度ABA对4℃低温胁迫下的幼苗叶片氧化酶活性等生理生化指标随处理时间的变化。结果表明,喷施浓度为10 μmol/L ABA且经低温胁迫后,可以有效提高黄芪幼苗叶片中氧化酶活性,SOD、POD和CAT活性显著提升($P<0.05$)。研究发现,喷施适当浓度的外源激素ABA(10 μmol/L)可以增强SOD、POD和CAT的活性来维持细胞内活性氧稳态,进而提高黄芪幼苗的抗冷害能力。

[关键词] 黄芪; ABA; 低温胁迫; 氧化酶活性

中图分类号: S-1 文献标识码: A

Effect of ABA on the Oxidase Activity of Astragalus Seedlings under Low Temperature Stress

Wanying Kong Ying Cui Yu Hong Hui Li Jinghui Li*

Astragalus Industrial Research Institute of Qiqihar Medical College

[Abstract] In order to explore the mechanism of anti chilling injury of astragalus membranaceus seedlings and provide some theoretical reference and support for the study of adaptability of astragalus membranaceus seedlings to low temperature stress in China, abscisic acid (ABA) exogenous hormone was used as inducer in this experiment, and astragalus seedlings were used as experimental materials to study the changes of physiological and biochemical indexes such as oxidase activity of seedling leaves under 4℃ low temperature stress with treatment time. The results showed that the spraying concentration was 10 μmol/L ABA and low temperature stress could effectively increase the activities of oxidase, SOD, POD and CAT in the leaves of astragalus seedlings ($p<0.05$). It was found that the exogenous hormone ABA (10 μmol/l) can enhance the activities of SOD, POD and CAT to maintain the homeostasis of intracellular reactive oxygen species, and then improve the anti chilling ability of astragalus seedlings.

[Key words] astragalus; ABA; low temperature stress; oxidase activity

在低温条件下,植物体内会产生各项生理生化的变化,如细胞质的流动性、酶活性等变化,以降低植物受低温伤害的程度^[1]。作为抗寒冷基因表达的启动因素之一,植物激素在植物适应生物和非生物胁迫中起着积极的调控作用,脱落酸(Abscisic acid, ABA)的含量与植物的抗寒性密切相关。已有研究表明,植物外施适宜浓度的ABA后,可在不抑制生长的情况下提高植株抗寒力^[2]。

黄芪为我国常用传统中草药^[3],含有黄酮类、皂苷类及多糖类等多种药用活性成分,广泛应用于临床配方,药理学研究表明,黄芪具有补气升阳、固表止汗、延缓衰老、增强机体免疫力等功效^[4]。近年来,随着中药材市场对黄芪需求量的急剧增加,黄芪野生资源遭到严重破坏,目前90%以上的黄芪来源

于人工培育^[5]。关于低温胁迫下黄芪幼苗各项生理生化特性的研究鲜有报道。以当年生黄芪幼苗为试验材料,研究外源ABA对低温处理后黄芪幼苗对低温胁迫的响应,以期寻找最优的浓度,为我国黄芪幼苗低温胁迫适应性研究提供一定的理论参考和支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用膜荚黄芪种子购于国药种业。选取籽粒饱满、大小一致的种子进行实验前处理。获得的健康种子经灭菌消毒后点播在装有蛭石的育苗钵内,每个育苗袋点播2-3颗种子。种子萌发后,幼苗二叶期时定苗,选取生长健壮且形态相对一致的黄芪幼苗置于生态培养箱内进行正常生长培育。

1.2 试验方法

膜荚黄芪幼苗正常生长55 d后开始进行试验处理。分别用水及不同浓度的ABA溶液(5、10和20 μmol/L)对黄芪幼苗进行叶面喷施,每个处理组3个重复,每个重复3株幼苗。以喷施水但未进行低温处理的幼苗为对照1(CK-1),喷施水且进行低温处理的幼苗记为对照2(CK-2)。早上8:00第1次喷施后,于次日8:00进行第2次叶面喷施。第3d早上8:00将幼苗置于4℃光照培养箱(湿度为70%)中进行冷害处理,为了消除个体差异,选择长势相近且良好的黄芪幼苗随机分为实验组和对照组。CK-2及各实验组移动至4℃环境中进行低温处理,CK-1维持在22℃培养环境,并分别于12、24和48 h时,剪取各实验组和对照组中植株叶片混合后速冻保存于-80℃。备用待测。

1.3 测定指标及方法

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑(NBT)显色法测定;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚比色法测定。过氧化氢酶(CAT)活性的测定方法为ELISA试剂盒。

1.4 统计分析

试验数据运用Excel2019进行数据处理,利用Graphpad 10.0软件进行绘图,并结合SPSS 25.0软件进行方差分析、t检验的差异分析。使用单因素方差分析检验不同处理下指标的差异显著性(P<0.05)。

2 结果与分析

2.1 ABA对低温胁迫下黄芪幼苗叶片SOD活性的影响

从图1可知,未喷施激素且经低温处理(CK-2)的黄芪幼苗叶片SOD活性在低温处理12h后显著降低,其余各处理组的黄芪幼苗叶片SOD活性显著增加。低温胁迫24h后,CK-2的幼苗叶片SOD活性急剧增加,而在低温处理48h后又急剧降低,由此可推断,黄芪幼苗叶片已受到低温的危害。经ABA喷施处理后,黄芪幼苗叶片SOD活性显著增强。其中以5 μmol/L ABA和10 μmol/L ABA处理组的幼苗叶片SOD活性在不同处理时间的活性较高。5 μmol/L ABA和10 μmol/L ABA处理组的黄芪幼苗叶片SOD活性与CK-2差异显著,由此可得,喷施ABA浓度为5和10 μmol/L时能显著提高黄芪幼苗在低温胁迫下叶片SOD活性。

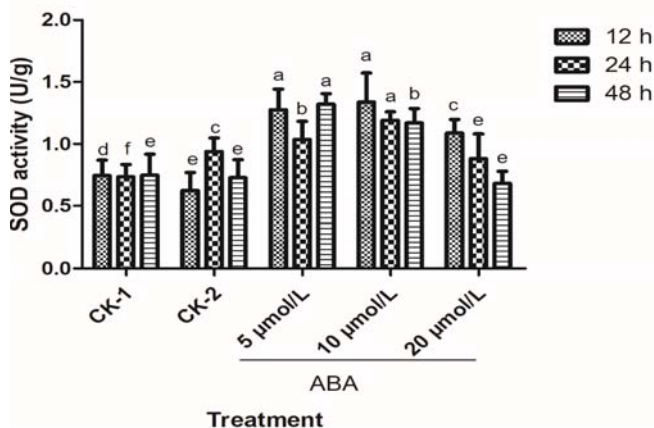


图1 低温胁迫下ABA对黄芪幼苗叶片中SOD活性的影响

2.2 ABA对低温胁迫下黄芪幼苗叶片POD活性的影响

与低温胁迫下未喷施激素处理的CK-2相比较,经ABA喷施处理后的黄芪幼苗叶片POD活性变化存在较大差异(图2)。其中,低温处理12h时,10 μmol/L ABA处理组的幼苗叶片POD活性最高,CK-2的幼苗叶片POD活性最低;喷施较低浓度ABA(5和10 μmol/L)能有效提高低温胁迫下黄芪幼苗叶片POD活性;随着低温胁迫时间的延长,喷施ABA的黄芪幼苗叶片POD活性随之降低。10 μmol/L ABA处理组与未喷施激素低温处理CK-2的幼苗叶片POD活性存在显著差异。由此可知,喷施ABA浓度为10 μmol/L时,对低温胁迫下黄芪幼苗叶片POD活性增强有显著效果。

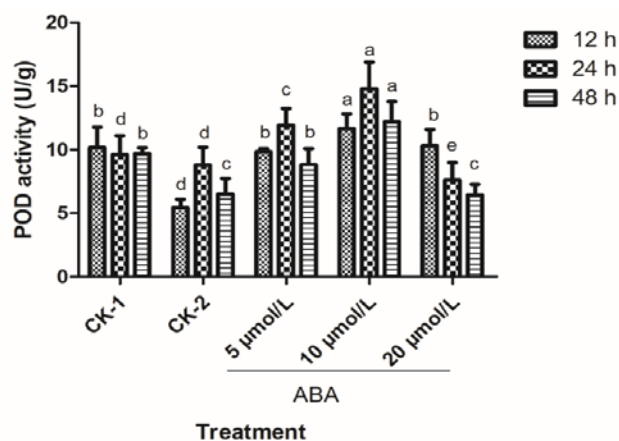


图2 低温下ABA对黄芪幼苗叶片中POD活性的影响

2.3 ABA对低温胁迫下黄芪幼苗叶片CAT活性的影响

由图3可知,不同低温胁迫时间下各处理组的黄芪幼苗叶片CAT活性存在差异,其中,10 μmol/L ABA处理组幼苗叶片在低温胁迫下24和48h时CAT活性均最高,且与其他处理组差异显著。由此可推断,经ABA喷施处理后,黄芪幼苗叶片CAT活性增强,可在一定程度上增加黄芪幼苗抵抗冷害的能力,以10 μmol/L ABA处理组幼苗叶片CAT活性增强最稳定。10 μmol/L ABA处理组与CK-2呈极显著差异,说明在低温胁迫下,喷施ABA浓度为10 μmol/L时黄芪幼苗叶片CAT活性的提高达到显著效果。

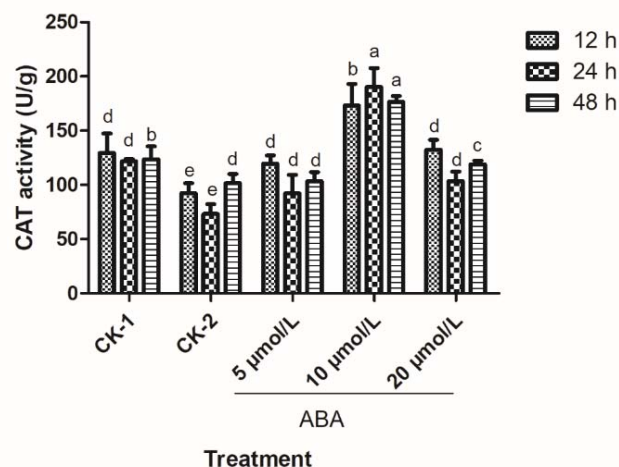


图3 低温胁迫下ABA对黄芪幼苗叶片中CAT活性的影响

3 讨论

在植物的苗期生活中,不利环境的胁迫如盐害、低温、干旱、病原物侵袭等持续存在,其中低温是影响植物幼苗生长发育的主要限制因子^[6]。黄芪作为一种具有较大经济发展前景的药用植物,在我国的种植和相关产品产业均处于起步阶段,如何提高黄芪在不同逆境下的适应能力是亟待解决的关键问题。植物激素是一种调节植物生长发育和逆境胁迫的信号物质,叶面喷施外源激素可作为调控植物幼苗期抗冷性的有效途径之一^[7]。

ABA是抗寒基因表达的启动因素,能够调控植物的抗寒力。当植物受到逆境胁迫时,活性氧自由基不断累积,细胞内一些保护酶系统活性将增强,以清除过多的活性氧自由基,从而增强植物的抗逆性^[8]。本研究从SOD、POD和CAT 3种氧化酶的活性在不同浓度ABA处理组中的变化情况可知,经ABA喷施处理的黄芪幼苗在低温胁迫下,3种氧化酶的活性均有不同程度的增强,其中以SOD活性变化最显著。不同浓度ABA的处理组间,SOD的活性变化差异显著,其中5 $\mu\text{mol/LABA}$ 与20 $\mu\text{mol/LABA}$ 处理组、10 $\mu\text{mol/LABA}$ 与20 $\mu\text{mol/LABA}$ 处理组的幼苗叶片SOD活性均达显著差异水平。幼苗叶片POD活性在ABA浓度为10 $\mu\text{mol/L}$ 时更高,且与CK-2存在显著差异,但与未喷施激素且未低温处理的CK-1相比,其活性变化差异不显著。幼苗叶片CAT活性在喷施ABA浓度为10 $\mu\text{mol/L}$ 时,24和48h低温处理下均达最大值,即该浓度幼苗叶片中CAT清除自由基的速度在24h后最大。表明通过最大程度减少低温对黄芪幼苗的不良影响来增强其抵抗冷害的能力。

综上所述,本研究对低温胁迫下黄芪叶片各项生理生化测定结果显示,喷施ABA浓度为10 $\mu\text{mol/L}$ 能有效提高黄芪的抗冷害能力,与其他学者研究认为喷施外源ABA可提高植物幼苗抗冷害能力的结论基本一致^[9]。

4 结论

外源喷施10 $\mu\text{mol/LABA}$ 可通过增强叶片膜系统的稳定性,增加渗透物质SP和SS含量以及提高氧化酶SOD、POD和CAT活性来维持细胞内活性氧稳态,进而缓解低温胁迫对黄芪幼苗的伤害,从而提高黄芪幼苗抵抗低温的能力。对黄芪幼苗抵抗冷害能力有积极的作用。

[基金项目]

齐齐哈尔市科技计划联合引导项目(LHYD-2021013)。

[参考文献]

- [1]梁洲瑞,刘福利,袁艳敏,等.不同温度对极北海带幼苗生长及光合特性的影响[J].海洋科学,2018,42(4):71-78.
- [2]代宇佳,罗晓峰,周文冠,等.生物和非生物逆境胁迫下的植物系统信号[J].植物学报,2019,54(2):255.
- [3]胡艳改,杜宇忠,郝磊,等.中药材蒙古黄芪与膜荚黄芪优质种源的研究[J].山西农业科学,2017,45(10):1662-1666.
- [4]聂娟,谢丽华,马港圆,等.中药黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J].湖南中医杂志,2018,34(7):228-231.
- [5]郭淑红,田洪岭,吴昌娟,等.中草药黄芪栽培技术分析[J].农业与技术,2018,38(18):130-130.
- [6]王翠花,刘沙,张瑞富,等.植物抗寒分子生物学研究概况及展望[J].辽宁农业科学,2014,(1):45-48.
- [7]丁红映,王明,谢洁,等.植物低温胁迫响应及研究方法进展[J].江苏农业科学,2019,47(14):31-36.
- [8] Lim C W, Lee S C. ABA-dependent and ABA-independent functions of RCAR5/PYL11 in response to cold stress[J]. Frontiers in plant science,2020,11:1487.
- [9] Ashraf M, Mao Q, Hong J, et al. HSP70 - 16 and VDAC3 jointly inhibit seed germination under cold stress in Arabidopsis[J]. Plant, Cell & Environment,2021,44(11):3616-3627.