



文章编号: 1000-4025(2013)10-2037-06

## 外源 5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下菘蓝种子萌发及幼苗抗氧化酶活性的影响

吕婷婷, 肖云华, 吴 群, 唐晓清\*, 王康才

(南京农业大学 园艺学院, 南京 210095)

**摘 要:** 采用砂培方式, 研究了外源 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对盐胁迫下菘蓝种子的萌发、幼苗叶片的可溶性糖含量、丙二醛(MDA)含量及其抗氧化酶活性的影响, 探讨 ALA 缓解菘蓝受盐胁迫伤害的响应机制。结果显示: (1) 菘蓝种子萌发及幼苗生长在  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 胁迫下受到明显的抑制, 种子发芽率、发芽势、发芽指数、活力指数与自然含水量均显著降低, 丙二醛含量、可溶性糖含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活性显著升高。(2) 盐胁迫下适宜浓度的 ALA 处理显著提高了种子萌发率、自然含水量及 SOD、POD 和 CAT 活性, 降低了可溶性糖和丙二醛的含量, 并以  $16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ALA 处理盐胁迫下菘蓝种子的发芽率、发芽势最大, 其幼苗的 SOD、POD、CAT 活性最强。研究表明, 盐胁迫显著抑制菘蓝种子的萌发及幼苗生长, 适宜浓度的 ALA 能够有效缓解盐胁迫对菘蓝种子萌发及幼苗生长的伤害, 提高植株的抗盐性, 并以  $16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ALA 处理效果最佳。

**关键词:** 菘蓝; 5-氨基乙酰丙酸; 盐胁迫; 种子萌发; 抗氧化酶活性

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

## Effect of Exogenous 5-aminolevulinic Acid on Seed Germination and Antioxidase Activities of *Isatis indigotica* Seedlings under Salt Stress

LÜ Tingting, XIAO Yunhua, WU Qun, TANG Xiaoqing\*, WANG Kangcai

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** We studied the effects of exogenous 5-aminolevulinic acid (5-ALA) on germination of seeds, the content of soluble sugar, malondialdehyde (MDA) and antioxidant activities in *Isatis indigotica* seedlings under salt stress with sand culture. The results showed that: (1) There were significant inhibition of seed germinating and seedling growth in  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  of NaCl stress. Germination rate, germination vigor, germination index, vigor index of seeds and water content were significantly decreased under salt stress, while malondialdehyde (MDA), content of soluble sugar, Cu-Zn superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) activities were increased significantly. (2) Under salt stress, appropriate concentration ALA could improve germination rate, water content, activities of SOD, POD and CAT, meanwhile reduce the contents of soluble sugar and malondialdehyde (MDA), in which the germination rate and germination vigor of seeds were the maximum, and the activities of SOD, POD, CAT were the maximum by the treatment of  $16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ALA. It indicated that salt stress could obviously inhibit the seed germinating and seedling growth. Appropriate concentration ALA could effectively alleviate the damage to seed germinating and seedling growth of *I. indigotica* under salt-stress and promote the salt resistance, especially the effect of  $16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ALA was the most significant.

**Key words:** *Isatis indigotica* Fort.; 5-aminolevulinic acid; salt stress; seed germination; antioxidant activities

收稿日期: 2013-06-07; 修改稿收到日期: 2013-08-31

基金项目: 国家自然科学基金(31171486)

作者简介: 吕婷婷(1990-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事药用植物栽培生理与中药质量方面的研究。E-mail: 2012104198@njau.edu.cn

\* 通信作者: 唐晓清, 博士, 副教授, 主要从事药用植物栽培与中药质量方面的研究。E-mail: xqtang@njau.edu.cn

十字花科植物菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)的干燥根入药为板蓝根,叶入药为大青叶<sup>[1]</sup>,具有清热解毒、凉血利咽的功效。板蓝根中含有喹唑酮类、吡啶类、芥子苷类、含硫类、有机酸类、氨基酸、甾醇类等化合物,其中吡啶类化合物有依靛蓝酮、靛玉红、靛蓝、羟基靛玉红等<sup>[2-4]</sup>,含硫类化合物中的(R,S)-告依春有较强抗病毒活性<sup>[5]</sup>。板蓝根临床应用广泛,主要用于治疗多种疾病如流感、腮腺炎、乙脑、肝炎,是公认的有较好抗病毒效果的中药之一<sup>[6]</sup>。目前板蓝根的研究大多集中在生药学、化学成分及药理活性、制剂及工艺等方面<sup>[7]</sup>,而在菘蓝的逆境生理研究中,水分胁迫下其体内有机酸、靛蓝、靛玉红等成分发生明显的变化<sup>[8-9]</sup>,尤其是在水分胁迫下其幼苗叶片内的保护酶活性也出现不同的变化<sup>[10]</sup>。段飞的研究表明,菘蓝幼苗受到盐胁迫处理后其体内的靛玉红含量随着处理时间的延长逐渐增加<sup>[11]</sup>,但对其体内保护酶缺乏研究。5-氨基乙酰丙酸(ALA)在自然界动植物中广泛存在,对植物的生长具有调节作用,能够提高植物对逆境的适应能力<sup>[12-13]</sup>。如添加 15~30 mg/L 外源 ALA 可以明显缓解 125 mmol/L NaCl 胁迫对西瓜种子萌发和幼苗生长的抑制效应<sup>[14]</sup>。因次,本研究考察了 ALA 对盐胁迫下菘蓝子萌发及幼苗体内酶活性的影响,探索 ALA 缓解菘蓝受盐胁迫伤害的响应机制,为解决菘蓝栽培生产中遇到盐胁迫问题提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

供试植物材料由南京农业大学王康才教授鉴定为十字花科植物菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)的干燥成熟果实,ALA 为苏州益安生物科技有限公司提供,现配现用。取菘蓝果实,剥取种子,筛选籽粒饱满、健壮、无损伤、大小均匀的种子,置于恒温培养箱中进行培养,同时另取部分种子均匀种植于南京农业大学园艺学院中药系的塑料大棚里,盆播(塑料盆直径 34 cm,高 40 cm)期间严禁使用农药。

### 1.2 种子处理及萌发指标测定

**1.2.1 NaCl 浓度筛选** 选取饱满的菘蓝种子,经 1.0%(W/V)NaClO 消毒 10 min,用蒸馏水冲洗干净,用吸水纸吸干,置于内径为 15 cm 内衬 2 层滤纸的培养皿内,每皿 30 粒种子,各加入 0、50、100、200、400 mmol·L<sup>-1</sup>的 NaCl 溶液 20 mL,置于光照培养箱内,培养温度为(20±1)℃,光照时间为 12 h/12 h(昼/夜),光照强度为 2 000 lx。每天统计其

发芽率,于第 8 天计算其发芽势,筛选适宜于菘蓝种子的 NaCl 胁迫浓度。

**1.2.2 ALA 及 NaCl 胁迫理** 依据不同盐浓度下菘蓝种子发芽的实验结果(图 1),选择 100 mmol·L<sup>-1</sup>的 NaCl 作为菘蓝种子与幼苗盐胁迫的溶液。将菘蓝种子置于内径 15 cm 内衬 2 层滤纸的培养皿中,每皿 50 粒种子,并加入 100 mmol·L<sup>-1</sup>的 NaCl 溶液 10 mL;ALA 设置 5 个浓度水平,即 12.5、16.7、25、50、100 mg·L<sup>-1</sup>,盐胁迫的第 2 天即用不同浓度的 ALA 溶液进行处理,每一个培养皿加入 5 mL ALA,另设空白对照 CK<sub>1</sub>(0 mmol·L<sup>-1</sup>的 NaCl 和 0 mg·L<sup>-1</sup>的 ALA)和盐胁迫对照 CK<sub>2</sub>(100 mmol·L<sup>-1</sup>的 NaCl)。然后置于光照培养箱内,培养温度为(20±1)℃,光照时间为 12 h/12 h(昼/夜),光照强度为 2 000 lx。

**1.2.3 萌发指标测定** 每天定时统计萌发种子数,第 8 天计算发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数。

发芽势(Gv)=规定天数内发芽的种子/供试的所有种子数×100%

发芽率(Gr)=正常情况下发芽的种子/供试的所有种子数×100%

发芽指数(Gi)=Σ(Gt/Dt);活力指数=S×Σ(Gt/Dt)

式中,S 为平均鲜重,Gt 为 t 日内的发芽数,Dt 为相应的发芽天数。

### 1.3 幼苗处理及生理指标测定

**1.3.1 盐胁迫和 ALA 处理** 将种子播于盆中,基质由蛭石和珍珠岩按 2:1 的比例混合而成,将菘蓝幼苗培养至 6 叶期后,留下长势基本一致的菘蓝幼苗,用 100 mmol·L<sup>-1</sup>的 NaCl 进行盐胁迫处理。将处理液 20 mL 均匀浇至菘蓝的根部,以清水作为对照 CK<sub>1</sub>,1 周后进行不同浓度的 ALA 处理(其中 T<sub>5</sub> 处理由于 ALA 浓度过高,导致菘蓝幼苗死亡)。将 ALA 溶液对幼苗全株进行喷洒,叶面背面以滴水为限,为避免光照对 ALA 的效果造成影响,处理时间均为傍晚。ALA 处理浓度仍设为 12.5、16.7、25、50 和 100 mg·L<sup>-1</sup>等 5 个水平,以不喷施 ALA 的盐胁迫处理为对照 CK<sub>2</sub>。ALA 用蒸馏水稀释,现配现用,喷施前均加入 0.01%吐温-20 作展着剂。ALA 处理 1 周后采取叶片样本测量相关生理指标。

**1.3.2 生理指标的测定** (1)自然含水量 测量不同处理下幼苗叶片的鲜重,将叶片装至信封袋中,105℃杀青 3 min,80℃下烘干至恒定质量后称量,重复 3 次。计算叶片自然含水量=(鲜质量-干质

量)/鲜质量 $\times 100\%$ 。

(2)丙二醛(MDA)含量 测定参照硫代巴比妥酸(TBA)检测法<sup>[15]</sup>,单位以 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 表示。

(3)保护酶活性 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 NBT 法<sup>[16]</sup>测定,以每分钟抑制 NBT 光化还原 50%所需的酶量为 1 个酶活力单位(U),酶活力以 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 来表示;过氧化物酶(POD)采用愈创木酚法<sup>[17]</sup>测定,以每分钟吸光度 $A_{470}$ 减少 0.01 定义为 1 个酶活力单位(U),表示为 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ;过氧化氢酶(CAT)采用紫外吸收法测定<sup>[15]</sup>,以每分钟吸光度 $A_{240}$ 减少 0.1 定义为一个酶活力单位(U),表示为 $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

(4)可溶性糖含量 以蔗糖为对照品,采用蒽酮比色法进行测定<sup>[15]</sup>。先得到蔗糖的标准曲线: $y=0.0059x+0.0118$ , $r=0.9993$ ( $n=3$ )。再取新鲜的菘蓝叶片,剪碎混匀,称取 0.20 g,放入试管中,加水 10 mL,封口,于沸水浴 30 min,过滤后再提取 1 次,合并滤液,定容至 25 mL 即为可溶性糖的样品溶液。吸取样品液 1.0 mL 于试管中,加蒸馏水 1.0 mL,测定样品的吸光度,计算可溶性糖的含量。

#### 1.4 数据统计分析

用 Excel 与 SPSS 17.0 进行统计分析,以 Duncan's 新复级差法比较不同处理间的差异性。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度 NaCl 胁迫对菘蓝种子萌发的影响

不同浓度的 NaCl 处理对菘蓝种子的萌发有不同程度的抑制作用,且浓度越高抑制作用越强,直至完全失去萌发能力(图 1)。其中,与对照的发芽势(66.25%)和发芽率(75.00%)比较,50 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl 处理的菘蓝种子发芽势(63.33%)和发芽率(70.00%)虽然降低,但未达到显著水平;而 100 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl 处理后的菘蓝种子发芽势(48.33%)和发芽率(51.67%)均显著低于对照,说明该浓度下菘蓝种子的萌发已经受到了显著的抑制;200 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl 处理后的发芽势(9.50%)和发芽率(10.33%)虽也显著低于对照,但其种子的萌发受到了严重的影响;在 400 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl 处理后种子的发芽率为 0,菘蓝种子完全失去萌发能力。由此,将 100 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl 作为后续菘蓝种子 and 幼苗盐胁迫研究的适宜浓度。

### 2.2 ALA 对盐胁迫下菘蓝种子萌发的影响

表 1 结果显示,单独盐胁迫(CK<sub>2</sub>)处理后菘蓝种子的发芽率显著低于对照(CK<sub>1</sub>);不同浓度的

ALA 处理后,种子发芽率随着 ALA 浓度的增加呈现出先增加后下降的趋势,并以 T<sub>2</sub> 处理的发芽率为最高(85.33%),且与 CK<sub>1</sub> 无显著性差异,但 T<sub>4</sub> 和 T<sub>5</sub> 处理的发芽率显著降低,甚至低于盐胁迫处理组 CK<sub>2</sub>。各处理菘蓝种子发芽势的变化与发芽率近似,经盐胁迫处理(CK<sub>2</sub>)后的发芽势显著低于对照 CK<sub>1</sub>;菘蓝种子的发芽势随着 ALA 浓度的增加呈现先升高后降低的趋势,也以 T<sub>2</sub> 处理的发芽势最高(85.00%),与对照 CK<sub>1</sub> 接近,而显著高于 CK<sub>2</sub>;而相对高浓度 ALA 处理(T<sub>4</sub> 和 T<sub>5</sub>)的发芽势则显著低于 CK<sub>1</sub>,却与 CK<sub>2</sub> 无显著差异。说明适宜浓度的 ALA 可以有效缓解盐胁迫对菘蓝种子萌发的抑制作用,而高浓度的 ALA 不仅不能缓解盐胁迫影响,反而更严重抑制了种子的萌发。

同时,盐胁迫处理(CK<sub>2</sub>)后的活力指数和发芽指数也显著低于对照 CK<sub>1</sub>。不同浓度 ALA 处理对盐胁迫种子发芽指数与活力指数的影响存在差异,但各 ALA 处理的发芽指数和活力指数均显著低于 CK<sub>1</sub> 的水平,而 T<sub>1</sub>~T<sub>3</sub> 处理高于或者显著高于 CK<sub>2</sub>,T<sub>4</sub> 和 T<sub>5</sub> 处理显著低于 CK<sub>2</sub>。其中,T<sub>1</sub>~T<sub>6</sub> 处理的发芽指数与活力指数均以 T<sub>1</sub> 处理最高,T<sub>1</sub> 的发芽指数与活力指数分别比 CK<sub>1</sub> 显著降低 13.25%和 25.86%,而比 CK<sub>2</sub> 分别提高了 28.83%和 17.51%;而 T<sub>5</sub> 处理的发芽指数与活力指数在各 ALA 处理中最低,分别显著低于 CK 162.61%和 84.34%,显著低于 CK 244.48%和 75.17%。可见,适宜浓度的 ALA 能显著提高盐胁迫下菘蓝种子的发芽指数与活力指数,但过高浓度的 ALA 更增加

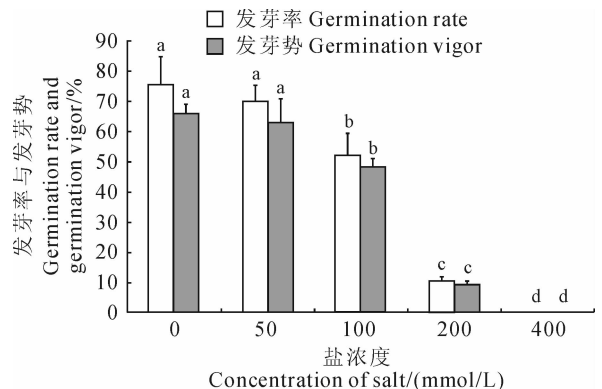


图 1 不同浓度 NaCl 处理下菘蓝种子的发芽率及发芽势不同小写字母表示处理间在 0.05 水平有显著差异

Fig. 1 The seed germination rate and germination vigor of *I. indigotica* under different concentrations of NaCl. The different normal letters mean significant differences among treatment at 0.05 level

表 1 ALA 对盐胁迫下菘蓝种子的发芽率、发芽势、发芽指数及活力指数的影响

Table 1 Effect of ALA on germination vigor, germination rate, germination indexes and vigor indexes of *I. indigotica* seeds

处理 Treatment	发芽率 Germination rate/%	发芽势 Germination vigor/%	发芽指数 Germination index	活力指数 Vigor index
CK <sub>1</sub>	88.00±0.02a	86.00±0.04a	70.05±2.70a	2.6546±0.2350a
CK <sub>2</sub>	68.00±0.03c	62.00±0.05c	47.17±4.68c	1.6747±0.3697b
T <sub>1</sub>	84.67±0.03ab	82.67±0.01ab	60.77±1.96b	1.9680±0.2009b
T <sub>2</sub>	85.33±0.06ab	85.00±0.04ab	57.43±4.20b	1.8343±0.0719b
T <sub>3</sub>	83.33±0.04ab	76.67±0.08b	60.20±3.77b	1.7690±0.2028b
T <sub>4</sub>	65.33±0.06c	61.00±0.10c	37.81±4.96d	0.7738±0.1120c
T <sub>5</sub>	56.67±0.01d	55.33±0.03c	26.19±1.85e	0.4158±0.0838c

注:CK<sub>1</sub>. 无 NaCl 和 ALA 处理;CK<sub>2</sub>. 盐胁迫对照(100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl);T<sub>1</sub>~T<sub>5</sub> 表示在 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl 胁迫的基础上分别喷施 12.5、16.7、25、50 和 100 mg·L<sup>-1</sup> 的 ALA 处理;同列不同小写字母表示处理间在 0.05 水平有显著差异;下同。

Note:CK<sub>1</sub> was control without NaCl and ALA treatment, and CK<sub>2</sub> was treatment with 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl only; Treatments T<sub>1</sub> to T<sub>5</sub> were treated by 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCl first, then spraying with 12.5, 16.7, 25, 50 and 100 mg·L<sup>-1</sup> ALA, respectively. The different normal letters within rows mean significant differences among treatments at 0.05 level. The same as below.

了盐胁迫菘蓝种子活力的降低幅度,且 ALA 只能缓解但不能完全解除盐胁迫的伤害。

### 2.3 ALA 对盐胁迫菘蓝幼苗自然含水量的影响

由于过高浓度(T<sub>5</sub>, 100 mg·L<sup>-1</sup>)的 ALA 处理使菘蓝幼苗全部死亡,故幼苗的自然含水量、可溶性糖含量、丙二醛含量与保护酶活性只测定了 T<sub>1</sub>~T<sub>4</sub> 处理。从图 2, A 可以看出,菘蓝幼苗受到盐胁迫(CK<sub>2</sub>)后自然含水量(84.54%)比对照 CK<sub>1</sub>(88.14%)显著降低了 4.08%,表现出对盐胁迫伤害的响应。不同浓度的 ALA 处理均能有效地提高盐胁迫后菘蓝幼苗的自然含水量,并均恢复到接近 CK<sub>1</sub> 的水平,且都显著高于 CK<sub>2</sub>;随着 ALA 浓度施用的增加,各处理幼苗自然含水量呈现出先升高后降低的趋势,并以 T<sub>2</sub> 处理的自然含水量最高(88.36%),比 CK<sub>2</sub> 显著高出 3.82%,而与对照 CK<sub>1</sub> 间无显著性差异。高浓度的 ALA 处理后幼苗自然含水量略低于对照 CK<sub>1</sub>,但与 CK<sub>1</sub> 间无显著性差异。这说明 ALA 可以有效缓解盐胁迫下菘蓝叶片失水的伤害,而与本试验中的 ALA 浓度没有太大关系。

### 2.4 ALA 对盐胁迫下菘蓝幼苗可溶性糖与丙二醛含量的影响

图 2, B 显示,盐胁迫处理(CK<sub>2</sub>)后菘蓝叶内丙二醛含量(0.035 3 μmol·g<sup>-1</sup>)比正常生长下(CK<sub>1</sub>)菘蓝幼苗叶片 MDA 含量(0.031 0 μmol·g<sup>-1</sup>)显著增加 13.87%;叶面喷施 ALA 处理使菘蓝叶片 MDA 含量不同程度地降低,并随 ALA 浓度增加表现出先降后升的变化趋势,并以 T<sub>2</sub> 处理菘蓝幼苗叶片 MDA 含量为最低(0.025 2 μmol·g<sup>-1</sup>),比 CK<sub>2</sub> 和 CK<sub>1</sub> 分别显著降低了 28.61%和 18.71%。即不同浓度的 ALA 处理均有效缓解了 MDA 上升的趋

势,但随着 ALA 浓度的提高缓解效果逐渐下降。

同时,盐胁迫处理后菘蓝幼苗叶片可溶性糖含量有显著上升,不同浓度 ALA 处理均使盐胁迫幼苗的可溶性糖含量显著降低,且处理间存在显著性差异。其中,盐胁迫处理(CK<sub>2</sub>)后菘蓝叶片内可溶性糖含量比 CK<sub>1</sub> 显著提高 10.68%(P<0.05);ALA 处理菘蓝幼苗叶片的可溶性糖含量随着 ALA 浓度

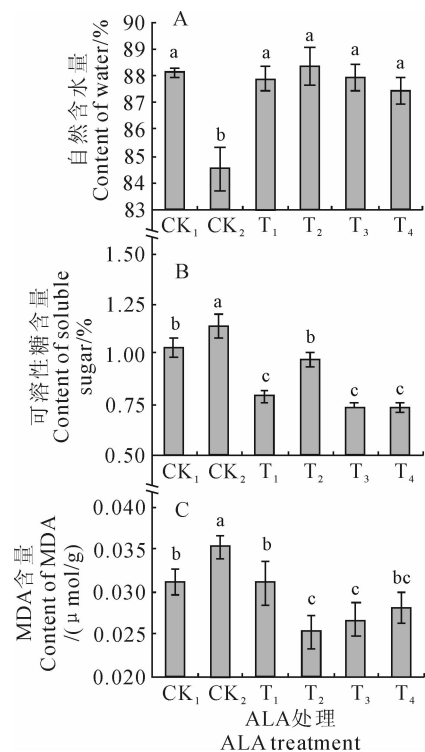


图 2 ALA 对盐胁迫下菘蓝幼苗的自然含水量(A)、可溶性糖(B)和丙二醛含量(C)的影响

Fig. 2 Effect of different ALA concentration on content of water (A), content of soluble sugar (B), and content of MDA (C) of *I. indigotica* seedlings

的上升呈现出先上升后下降的趋势,但均低于 CK<sub>1</sub> 和 CK<sub>2</sub>,并以 T<sub>2</sub> 处理可溶性糖含量最高,且与对照 CK<sub>1</sub> 间无显著性差异( $P>0.05$ ),而 T<sub>1</sub>、T<sub>3</sub> 与 T<sub>4</sub> 的可溶性糖含量下降幅度较大。由此可知 ALA 有可能通过降低菘蓝幼苗叶片可溶性糖含量来提高植物的耐盐性,但还需要结合其他与细胞渗透调节相关的生理指标进行验证。

## 2.5 ALA 对盐胁迫下菘蓝保护酶活性的影响

**2.5.1 超氧化物歧化酶** 由表 2 可知,菘蓝幼苗受到盐胁迫(CK<sub>2</sub>)后其体内的超氧化物歧化酶(SOD)活性显著升高;各 ALA 处理的盐胁迫菘蓝幼苗叶片内 SOD 活性随 ALA 浓度升高呈先升高后降低的变化趋势,并以 T<sub>2</sub> 和 T<sub>3</sub> 处理活性较高,且显著高于对照(CK<sub>1</sub>、CK<sub>2</sub>)和其他 ALA 处理,T<sub>1</sub> 处理的 SOD 活性显著高于 CK<sub>1</sub> 而与 CK<sub>2</sub> 间无显著性差异,但高浓度的 T<sub>4</sub> 处理的 SOD 活性最低并与其余处理差异显著。说明菘蓝幼苗受到盐胁迫的伤害时,叶面喷施适宜浓度的 ALA 可有效诱导其体内的 SOD 活性升高,从而有利于其缓解盐胁迫的伤害。

**2.5.2 过氧化物酶** 与 SOD 活性表现相似,菘蓝幼苗受到盐胁迫(CK<sub>2</sub>)后其体内的过氧化物酶(POD)活性显著升高(表 2);在喷施不同浓度 ALA 处理后,幼苗叶片 POD 活性均显著高于对照 CK<sub>1</sub>,T<sub>1</sub>~T<sub>3</sub> 处理的活性还显著高于对照 CK<sub>2</sub>,并以 T<sub>2</sub> 处理后的 POD 活性最高,显著高于其余处理和对照,它分别是 CK<sub>1</sub> 和 CK<sub>2</sub> 的 4.19 倍和 2.21 倍;T<sub>4</sub> 处理的 POD 活性比 CK<sub>2</sub> 显著降低 14.05%,但却显著高于 CK<sub>1</sub> 62.70%。表明菘蓝受到盐胁迫和 ALA 处理后其体内过氧化物酶活性均大幅度升高,适宜浓度 ALA 处理有利于盐胁迫幼苗 POD 活性增加,使其所受盐胁迫伤害得到有效缓解。

**2.5.3 过氧化氢酶** 与 SOD 和 POD 活性表现有所不同,菘蓝幼苗受到盐胁迫(CK<sub>2</sub>)后其叶片内的过氧化氢酶(CAT)活性比对照(CK<sub>1</sub>)显著降低(表

2),而不同浓度的 ALA 处理的菘蓝叶片 CAT 活性均比 CK<sub>2</sub> 显著升高,其中的 T<sub>1</sub> 和 T<sub>2</sub> 处理还显著高于 CK<sub>1</sub>,T<sub>3</sub> 和 T<sub>4</sub> 处理也均高于 CK<sub>1</sub>,但未达到显著水平。其中,T<sub>2</sub> 处理叶片的 CAT 活性最高,它分别比 CK<sub>1</sub> 和 CK<sub>2</sub> 显著升高 36.16%和 88.79%。说明菘蓝幼苗受到盐胁迫后 CAT 活性有所降低,而 ALA 处理能有效诱导其 CAT 活性升高,有利于缓解菘蓝幼苗受到的盐胁迫伤害。

## 3 讨论

农业生产中播种后种子能否迅速萌发,达到早苗、全苗和壮苗,这关系到能否为作物的丰产打下良好的基础<sup>[18]</sup>。而作为一种广泛存在于动植物体内的化合物,5-氨基乙酰丙酸(ALA)具有多种生理活性,外源性 ALA 处理显著提高了盐胁迫下决明子的发芽势、发芽率、发芽指数和活力指数<sup>[19]</sup>,有效地减缓了盐胁迫对决明子及幼苗产生的伤害,提高种子及幼苗的抗盐能力。适宜浓度的 ALA 可以缓解 NaCl 对桔梗种子的胁迫伤害,提高种子的抗盐能力<sup>[20]</sup>。本研究表明,适宜浓度的 ALA 能有效提高菘蓝种子在盐胁迫下的萌发能力,且最适宜的 ALA 浓度为 16.7 mg·L<sup>-1</sup>。

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的主要产物之一,其高低与质膜透性的大小都是膜脂过氧化强弱和质膜受破坏程度的重要指标<sup>[21]</sup>。本实验中菘蓝幼苗受到盐胁迫后,其 MDA 含量显著升高,说明细胞质膜发生了过氧化作用,引起质膜正常生理功能发生紊乱;但当用不同浓度的外源 ALA 处理以后,其 MDA 含量显著降低,说明 ALA 对减缓盐胁迫所造成过氧化伤害具有积极的缓解作用,并以 16.7 mg·L<sup>-1</sup> 的 ALA 处理效果最好。

可溶性糖既是渗透调节剂,也是合成其他有机溶质的碳架和能量的来源,还可在细胞内无机离子浓度高时起保护酶类的作用<sup>[22]</sup>,在盐逆境中其量的增加对于植物提高细胞汁液浓度、降低细胞水势、增强吸水等功能起着重要促进作用<sup>[23]</sup>。本研究表明,当菘蓝幼苗受到盐胁迫后其可溶性糖含量增加,而再用 ALA 处理后其含量出现下降趋势,且 16.7 mg·L<sup>-1</sup> 的 ALA 处理后其可溶性糖含量与未经盐胁迫处理的对照近似,说明该浓度 ALA 处理后能将菘蓝受到的盐胁迫伤害恢复到对照水平。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)植物体内保护酶系统的主要成员,特别是 SOD 和 POD 是防御活性氧及其他自由

表 2 ALA 对盐胁迫下菘蓝幼苗叶内酶活性的影响

Table 2 Effect of ALA on enzyme activities in leaves of *I. indigotica* seedlings/(U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>)

处理 Treatment	超氧化物歧化酶活性 SOD activity	过氧化物酶活性 POD activity	过氧化氢酶活性 CAT activity
CK <sub>1</sub>	77.769±7.612c	6.333±0.354f	12.113±1.278c
CK <sub>2</sub>	102.789±1.548b	11.989±0.472d	8.736±0.487d
T <sub>1</sub>	100.391±7.641b	18.572±0.684b	16.019±3.895ab
T <sub>2</sub>	143.550±2.875a	26.543±0.668a	16.493±4.633a
T <sub>3</sub>	135.001±4.246a	15.450±1.479c	14.134±2.912bc
T <sub>4</sub>	68.908±9.951c	10.304±0.461e	14.266±3.248c

基对细胞膜系统伤害的最重要的酶<sup>[24]</sup>。当植物受到盐胁迫后,其膜系统即被破坏,而膜系统的修复与SOD、POD和CAT酶活性的升高密不可分。如50 mg·L<sup>-1</sup>的ALA能显著提高紫苏叶的SOD、POD、CAT活性<sup>[25]</sup>。本实验中单纯用100 mmol·L<sup>-1</sup>的NaCl(CK<sub>2</sub>)处理后,菘蓝叶片的POD和SOD活性上升而CAT活性下降,这可能是因为NaCl对CAT的影响程度比对POD和SOD的影响更大;而适宜浓度的ALA均能诱导盐胁迫下菘蓝幼苗叶片的SOD、POD与CAT的活性明显增强,通过缓解

幼苗受到的盐胁迫伤害来提高其抗逆性,尤其以16.7 mg·L<sup>-1</sup>的ALA最为有效;同时,3种保护酶相比,POD活性在处理过程中的变化幅度最大,可能在缓解盐胁迫伤害中起主要作用。

综上所述,通过ALA处理能明显提高盐胁迫下菘蓝种子的萌发能力,提高菘蓝幼苗叶片的3种抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性,缓解盐胁迫对保护酶防御系统的破坏,有效降低MDA的含量,减轻MDA对植物细胞膜的氧化伤害。但ALA对菘蓝种子萌发及幼苗抗盐性的分子机制有待进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 国家药典委员会,中华人民共和国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2010:191-192.
- [2] WU X Y, QIN G W, CHEUNG K K, *et al.* New alkaloids from *Isatis indigotica* [J]. *Tetrahedron*, 1997, **53**(39): 13 323-13 328.
- [3] LIU Y H(刘云海), QIN G W(秦国伟), DING SH P(丁水平), *et al.* Studies on chemical constituents from root of *Isatis indigotica* [J]. *Chines Traditional and Herbal Drugs*(中草药), 2001, **32**(12): 1 057-1 060(in Chinese).
- [4] WU Y X, ZHANG ZH X, HU H, *et al.* Novel indole C-glycosides from *Isatis indigotica* and their potential cytotoxic activity[J]. *Fitoterapia*, 2011, **82**: 288-292.
- [5] XU L H(徐丽华), HUANG F(黄芳), CHEN T(陈婷), *et al.* Antivirus constituents of Radix of *Isatis indigotica* [J]. *Chin. J. Nat. Med.* (中国天然药物), 2005, **11**(3): 359-360(in Chinese).
- [6] ZHANG R ZH(张润珍), ZHANG Y W(张玉文). Research progress of *Isatis Radix* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), 2000, **31**(6): 474-476(in Chinese).
- [7] XU H(徐晗), FANG J G(方建国), LIU Y H(刘云海). The newest research progress of *Isatis Radix* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), 2003, **34**(4): 附10-11(in Chinese).
- [8] CHEN X(陈暄), ZHOU J L(周家乐), *et al.* Effect of water stress on content of four organic acids in different cultivated populations of *Isatis indigotica* [J]. *China J. Chinese Materia Medica* (中国中药杂志), 2009, **34**(24): 3 195-3 198(in Chinese).
- [9] TANG X Q(唐晓清), WANG K C(王康才), WEN J Y(温建云). Effect on active components by waterlog of roots of *Isatis indigotica* [J]. *Nat. Prod Res. Dev.* (天然产物研究与开发), 2009, **21**: 832-836(in Chinese).
- [10] WANG ZH CH(王竹承), LIANG Z S(梁宗锁), DING Y H(丁永华). Effect of water stress on growth and physiological characteristics of *Isatis indigotica* root [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica* (西北农业学报), 2010, **19**(12): 98-103(in Chinese).
- [11] 段飞. 逆境胁迫对菘蓝有效成分和耐逆基因的影响[D]. 西安: 陕西师范大学, 2006: 29-34.
- [12] AHMET K, YAKUP K, ALI R D. Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedlings by exogenous application of 5-aminolevulinic acid [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, **67**: 495-501.
- [13] EIJI N, KENSUKE K, MOHAMMAD M P, *et al.* Role of 5-aminolevulinic acid (ALA) on active oxygen-scavenging system in NaCl treated spinach (*Spinacia oleracea*) [J]. *J. Plant Physiol.*, 2003, **160**: 1 085-1 091.
- [14] LIU H(刘晖), KANG L(康琅), WANG L J(汪良驹). Promotion of 5-aminolevulinic acid on seed germination of watermelon (*Citrullus lanatus*) under salt stress [J]. *Journal of Fruit Science* (果树学报), 2006, **23**(6): 854-859(in Chinese).
- [15] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术(2版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 169-170; 202-204; 280-281.
- [16] 张蜀秋, 李云. 植物生理学实验技术教程[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 191-193.
- [17] 刘萍, 李明军. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 123-124.
- [18] 蔡庆生. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2011: 257-261.
- [19] ZHANG CH P(张春平), HE P(何平), *et al.* Effects of exogenous 5-aminolevulinic acid on seed germination and physiological characteristics of *Cassia obtusifolia* seedlings under NaCl stress [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), 2012, **43**(4): 778-786(in Chinese).
- [20] DU D D(杜丹丹), HE P(何平), ZHANG CH P(张春平), *et al.* Effect of exogenous SNP and Spd on seed germination characteristics of *Platycodon grandiflorum* under NaCl stress [J]. *Guihaia*(广西植物), 2011, **31**(6): 801-805(in Chinese).
- [21] HAN R L(韩蕊莲), LI L X(李丽霞), LIANG Z S(梁宗锁), *et al.* Seabuckthorn membrane-lipid peroxidation system under drought stress [J]. *J. Northwest Forestry University* (西北林学院学报), 2002, **17**(4): 1-5(in Chinese).
- [22] BI H T(毕会涛), HUANG F Q(黄付强). Influence of drought stress on protective enzyme activity and membrane lipid peroxidation in Jujube [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin* (中国农学通报), 2007, **23**(2): 151-155(in Chinese).
- [23] 张玉鑫. NaCl胁迫对甜瓜种子萌发及幼苗生理生化特性的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2005: 38.
- [24] LUO G H(罗广华), WANG A G(王爱国), SHAO C B(邵从本), *et al.* The intramitochondrial localization of superoxide dismutase from hypocotyls of etiolated soybean seedlings [J]. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 1987, **29**(2): 171-177(in Chinese).
- [25] ZHANG CH P(张春平), HE P(何平), *et al.* Effect of exogenous 5-aminolevulinic acid on seed germination and antioxidant activities of *Perilla frutescens* seedlings under NaCl stress [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), 2011, **42**(6): 1 194-1 200(in Chinese).