

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.01.018

谢英赞,何平,韦品祥,等. 外源 5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下决明幼苗生理特性的影响[J]. 广西植物,2013,33(1):102-106
Xie YZ, He P, Wei PX, et al. Effects of ALA on physiological characteristics of *Cassia obtusifolia* seedlings under salt stress[J]. Guihaia,33(1):102-106

外源 5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下 决明幼苗生理特性的影响

谢英赞^{1,2}, 何平^{1,2*}, 韦品祥^{1,2}, 刘海英^{1,2}, 段才绪^{1,2}, 胡兵^{1,2}

(1. 西南大学 生命科学学院 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400715;

2. 重庆市三峡库区 植物生态与资源重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 为寻找提升决明幼苗耐盐性的方法,测量了不同处理下决明幼苗叶片的光合色素、超氧阴离子、丙二醛的含量,以及保护酶系统中 SOD、POD、CAT 的活性。结果表明,经 150 mmol · L⁻¹ NaCl 处理,决明幼苗叶片的光合色素含量显著降低,而超氧阴离子、丙二醛的含量以及保护酶 SOD、POD、CAT 的活性显著升高。不同浓度的外源 5-氨基乙酰丙酸在不同程度上增加了决明幼苗叶片的叶绿素、类胡萝卜素含量,进一步增强了保护酶 SOD、POD、CAT 的活性,降低了超氧阴离子、丙二醛的含量。在外源 5-氨基乙酰丙酸浓度为 50 mg · L⁻¹ 时,恢复效果最为明显(80.0、196.4 和 114.1 U · g⁻¹),有效地缓解了盐胁迫对决明幼苗的伤害。

关键词: 决明; 外源 5-氨基乙酰丙酸; 盐胁迫; 生理特性

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2013)01-0102-05

Effects of ALA on physiological characteristics of *Cassia obtusifolia* seedlings under salt stress

XIE Ying-Zan^{1,2}, HE Ping^{1,2*}, WEI Pin-Xiang^{1,2},

LIU Hai-Ying^{1,2}, DUAN Cai-Xu^{1,2}, HU Bing^{1,2}

(1. Key Laboratory (Ministry of Education) of Eco-environments of Three Gorges Reservoir Region, School of

Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Chongqing Key Laboratory of Plant

Ecology and Resources Research for Three Gorges Reservoir Region, Chongqing 400715, China)

Abstract: In order to get the method to improve the salt resistance of seedlings for *Cassia obtusifolia* under salt stress, physiological characteristics of *C. obtusifolia* seedlings were studied. Several physiological indexes of *C. obtusifolia* seedlings under salt stress like photosynthetic pigment, superoxide anion(O₂⁻), malondialdehyde(MDA), superoxide(SOD), peroxidase(POD) and catalase(CAT) were measured. The rate of decrease was relieved and the content of O₂⁻, MDA decreased. The activities of three enzymes including SOD, POD and CAT were increased by the treatment of ALA, and reached the maximin(80.0 U · g⁻¹, 196.4 U · g⁻¹ and 114.1 U · g⁻¹ respectively) with the concentration of 50 mg · L⁻¹. ALA with concentration of 50 mg · L⁻¹ could significantly alleviate the damages to the seedlings of *C. obtusifolia* under salt stress, and promote the salt resistance of the seedlings.

Key words: *Cassia obtusifolia*; ALA; salt stress; physiological characteristics

* 收稿日期: 2012-05-12 修回日期: 2012-08-02

基金项目: 西南大学三峡库区生态环境教育部重点实验室项目; 国家林业公益科研专项(201004064)

作者简介: 谢英赞(1987-), 男, 江苏徐州市人, 硕士研究生, 主要从事植物生理生态学的研究, (E-mail) xieyingzan@126.com.

* 通讯作者: 何平, 教授, 博士生导师, 主要从事植物保护生物学与植物资源等研究, (E-mail) hepings196373@126.com.

决明(*Cassia obtusifolia*)为豆科决明属一年生草本植物。其种子叫决明子,具有清肝明目、利水通便之功效(国家药典编委会,2005)。现代研究表明,其主要含甾体化合物、大黄酚、大黄素等药用成分。大黄素、大黄酸对人体有平喘、利胆、保肝、降压功效,并有一定抗菌、消炎作用。其中大黄素葡萄糖甙、大黄素蒽酮、大黄素甲醚,具有降低血清胆固醇和强心作用。决明子素具有 α -羟基,可与金属元素合成络合物,对金属元素吸收有很大影响(Zhang *et al.*, 1996; Liu *et al.*, 2000; Hao *et al.*, 2001)。决明是我国常用中药和保健品原料之一,资源分布于四川、江苏、安徽等省区,全国各地多有栽培。

土壤盐渍化是农业栽培生产中主要障碍之一,当前我国的盐渍化土壤面积不断扩大,对我国农业生产产生了严重的制约,造成了巨大的经济损失。5-氨基乙酰丙酸(ALA)是生物化学中至关重要的化合物,它是所有卟啉化合物包括叶绿素、血红素、细胞色素等具环状四吡咯基的化合物群共同的生物合成中间体(张一宾,2006)。研究表明,它不单纯是一种植物体代谢中间产物,而且还参与植物生长发育的调节过程。作为一种新型的植物生长调节物质,经部分研究证实 ALA 可以提高作物的抗逆性,提高作物产量并改善作物品质(杨蕊等,2008)。研究证明 ALA 能够促进高盐(1.5% NaCl)条件下棉花植株的生长,其效果超过以前所报道过的所有植物激素(Watanabe *et al.*, 2003)。本研究中以决明幼苗为材料,研究外源物质 ALA 对盐胁迫下的决明若干生理生化指标的影响,找到缓解盐胁迫的调节机制,为决明在栽培生产中遇到的盐胁迫问题提供理论依据和指导方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料和地点

试验于西南大学生命科学学院三峡库区教育部重点实验室温室进行。供试的决明种子由河北安国胜利药材种子秧苗站提供,经西南大学生命科学学院何平教授鉴定为 *Cassia obtusifolia* 的干燥成熟种子。ALA 由韩国 KAIST 提供。由于 ALA 在浓度较高的水溶液中不稳定,因此,试验中溶液均为现配现用。

1.2 试验设置

选取长势一致的二叶一心期的决明幼苗作为实

验材料,移栽于上口径 12 cm,下口径 8 cm,高度 8 cm 的花盆中。每盆种植三棵,每组处理设 6 盆重复。待其长至三叶一心时,开始进行盐处理。盐处理一天后,T1-T4 组采取隔天浇 ALA 溶液 30 mL,CK1、CK2 组正常补水,15 天后测其各项生理指标。实验设计见表 1。

1.3 幼苗相关生理指标的测定

丙二醛(MDA)含量测定参照 Velikova 等的硫代巴比妥酸(TBA)检测法,以 $\mu\text{mol/g}$ 表示。用羟胺氧化反应测定 O_2^- 含量(王爱国等,1990);超氧化物歧化酶(SOD)活性:采用氮蓝四唑(NBT)光化学反应法(张以顺等,2009);过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法,过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外分光光度法,光合色素的测定采用直接浸提法(郝再彬等,2004)。

表 1 对决明幼苗的不同处理组合

Table 1 The combinations of *Cassia obtusifolia* seedlings under different treatments

处理 treatment	空白 对照 (CK1)	盐对照 (CK2)	处理 1 (T1)	处理 2 (T2)	处理 3 (T3)	处理 4 (T4)
NaCl(150 mmol · L ⁻¹)	-	+	+	+	+	+
ALA(25 mg · L ⁻¹)	-	-	+	-	-	-
ALA(50 mg · L ⁻¹)	-	-	-	+	-	-
ALA(100 mg · L ⁻¹)	-	-	-	-	+	-
ALA(200 mg · L ⁻¹)	-	-	-	-	-	+

注:“+”代表添加,“-”代表不添加。

Note:“+” represents addition;“-” represents no addition.

2 结果与分析

2.1 ALA 对盐胁迫下决明幼苗叶片光合色素的影响

由表 2 可知,NaCl 处理 15 d 后的决明幼苗叶片叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量、类胡萝卜素含量较空白对照降低显著,经不同浓度的 ALA 同时处理后的决明幼苗叶片叶绿素含量较单一 NaCl 处理组都有不同程度的回升,其中 50 mg · L⁻¹ 的 ALA (T2)处理下,叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量及类胡萝卜素含量升高较单一 NaCl 处理组回升均达到显著程度,甚至超过了空白对照组。同时,根据计算,经过 ALA 处理的盐胁迫下的幼苗叶片叶绿素 a/叶绿素 b 的值也有不同程度的升高,其中,50 mg · L⁻¹ 的 ALA 处理后,比值达到最大值(2.751)。这说明 50 mg · L⁻¹ 浓度的 ALA 不仅能够很好地缓解盐胁迫导致的决明幼苗光合色素含量的降低,保护

决明幼苗在盐胁迫下的正常生长,还能在一定程度上提高叶绿素 a 的含量,提高光合效率。

2.2 ALA 对盐胁迫下决明幼苗叶片丙二醛含量的影响

由图 1 可知,150 mmol · L⁻¹ NaCl 处理 15 d 后,决明幼苗叶片丙二醛含量较空白对照升高极显著,增加了 2.12 倍。经过与不同浓度的 ALA 同时处理下的决明幼苗叶片丙二醛含量与单一 NaCl 处理的对照组比较,丙二醛含量均有不同程度的降低,其中 50 mg · L⁻¹ 的 ALA(T2)浓度处理后,MDA 含

量较单一 NaCl 处理的对照组降低极显著,25 mg · L⁻¹ 的 ALA(T1)浓度处理后,MDA 含量较单一 NaCl 处理的对照组降低也达到了显著程度。100 mg · L⁻¹、200 mg · L⁻¹ 的 ALA(T3、T4)浓度处理后,MDA 含量虽未达到显著性降低,但在一定程度上也降低了决明幼苗叶片丙二醛含量。实验结果说明了外源 ALA 处理能有效地缓解 NaCl 胁迫下 MDA 升高的趋势,并且在 50 mg · L⁻¹ 浓度处理效果最为显著。

表 2 不同处理下决明幼苗各光合色素的含量

Table 2 The concentrations of photosynthetic pigments *C. obtusifolia* seedlings under different treatments

处理 Treatment	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a	叶绿素 b 含量 Chlorophyll b	叶绿素总量 Total chlorophyll	类胡萝卜素含量 Carotenoids
CK1	3.010±0.235b	1.098±0.111b	4.108±0.343b	0.638±0.037b
CK2	2.276±0.155a	0.821±0.062a	3.098±0.216a	0.504±0.015a
T1	2.692±0.135ab	0.984±0.040ab	3.676±0.175ab	0.625±0.019ab
T2	3.084±0.161b	1.121±0.059b	4.205±0.219b	0.641±0.021b
T3	2.739±0.108ab	0.994±0.036ab	3.734±0.143ab	0.582±0.028ab
T4	2.667±0.133ab	0.960±0.050ab	3.627±0.182ab	0.587±0.023ab

注:同一列不同字母表示差异达到显著程度($P < 0.05$)。下同。

Note: Different letters mean the significant difference ($P < 0.05$). The same below.

2.3 ALA 对盐胁迫下决明幼苗叶片 O₂⁻ 含量的影响

由图 2 可知,经 NaCl 处理 15 d 后,决明幼苗叶片超氧阴离子含量较空白对照增高极显著,为空白对照组的 150%。经过与不同浓度的 5-氨基乙酰丙胺(ALA)同时处理下的决明幼苗叶片 O₂⁻ 含量较单一 NaCl 处理组都有不同程度的降低。除 200 mg · L⁻¹ 的 ALA(T4)处理外,经 25 mg · L⁻¹、50 mg · L⁻¹、100 mg · L⁻¹ (T1、T2、T3) 的 ALA 同时处理后的决明幼苗叶片 O₂⁻ 含量较单一 NaCl 处理组降低显著,其中 50 mg · L⁻¹、100 mg · L⁻¹ (T2、T3) 的 5-氨基乙酰丙胺同时处理后的决明幼苗叶片 O₂⁻ 含量较单一 NaCl 处理组降低甚至达到了极显著程度。200 mg · L⁻¹ 的 5-氨基乙酰丙胺(T4)处理后的决明幼苗叶片 O₂⁻ 含量较单一 NaCl 处理组也有一定程度的降低。实验结果说明了外源 ALA 处理能有效地缓解 NaCl 胁迫下 O₂⁻ 升高的趋势,且在 50 mg · L⁻¹ 浓度处理效果最为显著。

2.4 ALA 对盐胁迫下决明幼苗叶片保护酶含量的影响

2.4.1 ALA 对盐胁迫下决明幼苗叶片 SOD 活性的影响 NaCl 处理 15 d 后的决明幼苗叶片 SOD 活性较空白对照增高,达到了极显著程度,为空白对照组的 1.95 倍(图 3)。经不同浓度的 5-氨基乙酰丙胺同时处理后的决明幼苗叶片 SOD 活性较单一

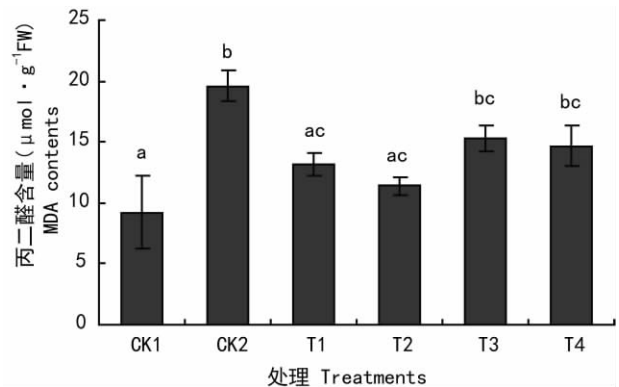


图 1 决明幼苗叶片丙二醛含量
Fig. 1 Contents of malondialdehyde in *C. obtusifolia* seedling leaves

NaCl 处理组又有进一步的增高,且在 ALA 浓度为 50 mg · L⁻¹ 的条件下,SOD 的活性达到最大值,为空白对照组的 2.7 倍,与 NaCl 处理组(CK2)相比显著,为其 1.4 倍。其他各浓度梯度的 ALA 处理下,SOD 活性均有提高,但幅度不显著。实验结果说明,适宜浓度(50 mg · L⁻¹)的 ALA 可以进一步提高 SOD 酶活性,提高决明幼苗的抗逆性,保护其在盐胁迫下生长。

2.4.2 ALA 对盐胁迫下决明幼苗叶片 POD 活性的影响 由图 4 可知,NaCl 处理 15 d 后的决明幼苗

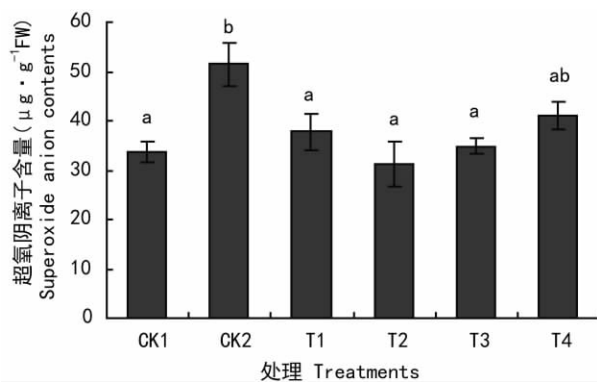


图 2 决明幼苗叶片超氧阴离子含量
Fig.2 Contents of superoxide anion in *C. obtusifolia* seedling leaves

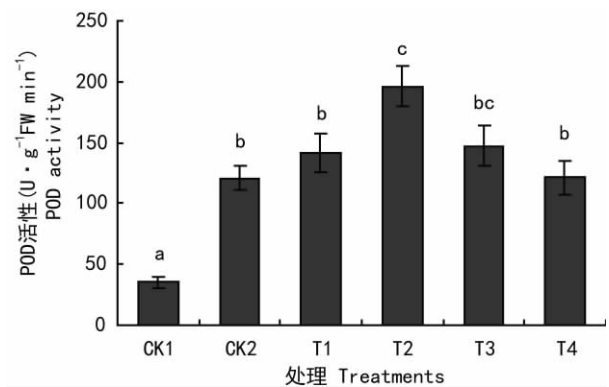


图 4 决明幼苗叶片过氧化物酶含量
Fig. 4 Contents of peroxidase in *C. obtusifolia* seedling leaves

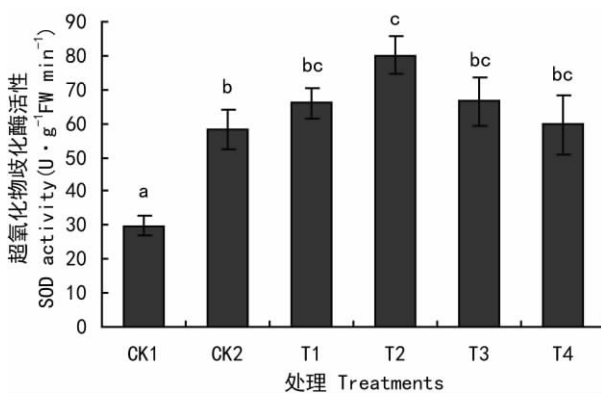


图 3 决明幼苗叶片超氧化物歧化酶含量
Fig. 3 Contents of SOD in *C. obtusifolia* seedling leaves

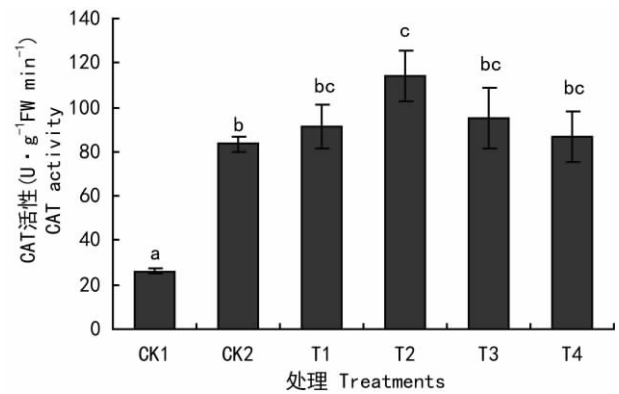


图 5 决明幼苗叶片过氧化氢酶含量
Fig. 5 Contents of catalase in *C. obtusifolia* seedling leaves

叶片 POD 活性较空白对照显著增高。不同浓度的 5-氨基乙酰丙胺同时处理后的决明幼苗叶片 POD 活性较单一 NaCl 处理组又有进一步的增高。其中 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ALA 处理下, POD 活性较单一 NaCl 处理组增高显著。这表明施加合适浓度的外源 ALA 能够提高盐胁迫下决明幼苗的抗逆性, 保障幼苗的生长。

2.4.3 ALA 对盐胁迫下决明幼苗叶片 CAT 活性的影响 由图 5 可知, 在 NaCl 处理 15 d 后的决明幼苗叶片 CAT 活性较空白对照增高极显著, 为空白对照组的 3.19 倍。不同浓度的 5-氨基乙酰丙胺处理后的决明幼苗叶片 CAT 活性较单一 NaCl 处理组又有进一步的增高。其中, $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 5-氨基乙酰丙胺处理下的决明幼苗叶片 CAT 活性较单一 NaCl 处理组增高达到显著水平, 清除活性氧的能力大大提高。实验结果说明, 施加适宜浓度的外源 ALA, 可以有效地提高决明幼苗对盐胁迫伤害的缓

解能力, 提高植物的耐盐性, 保护幼苗的生长。

3 结论与讨论

植物幼苗期生长阶段是植物生活史中比较重要的阶段, 此阶段植物生长状况的优劣严重影响到植物体后期的生长发育和形态建成, 从而影响到产量的形成。因此, 植物幼苗能否正常生长, 怎样提高幼苗的抗逆性是保证获得高产、稳产的前提。研究表明, 盐胁迫对决明幼苗生长造成了严重伤害, 制约了其正常的生长发育。施加外源 ALA 增加了盐胁迫下决明幼苗光和色素的含量, 延缓了叶绿素的降解, 提高了植株抗氧化能力, 降低了盐胁迫导致的决明叶片 MDA 含量的上升, 施加适宜浓度的外源 ALA ($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 能提高决明幼苗的耐盐性, 保护盐胁迫下幼苗的正常生长。

叶绿素是参与光合作用光能吸收、传递和转化

的重要色素(周云龙,1999),叶绿素含量的多少直接影响植物的生长。植物受到盐胁迫之后,各种生理过程受到干扰,膜系统结构被破坏,有害物质积累,蛋白质合成下降,直接或间接地影响了叶绿素的含量(徐晓洁等,2008)。而 ALA 作为叶绿素生物合成的前体已有报道(Castelfranco *et al.*,1983)。本研究也证明,盐胁迫下决明叶绿素分解,光合色素含量下降。而 ALA 有助于保护叶绿体膜,保持其结构的完整性,提高盐胁迫下决明叶片叶绿素含量,维持决明的光合速率。究其原因,目前尚不十分明确,但应该与其卟啉化合物前体的性质有关,推测是 ALA 提供了叶绿素等合成所需的前提物质所致。

植物细胞膜由于盐胁迫引发活性氧自由基(O_2^- 、 $\cdot OH$ 、 1O_2 、 H_2O_2 等)含量上升,诱发膜脂不饱和脂肪酸连锁的过氧化反应,造成膜脂过氧化,过量积累 MDA。外源 ALA 能减少 O_2^- 的积累,抑制膜脂在盐胁迫下植物 MDA 的积累,即抑制膜脂过氧化作用,减轻膜脂过氧化对细胞的伤害(刘晖等,2006)。经过施加 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的外源 ALA,盐胁迫下的决明幼苗叶片 SOD、POD、CAT 活性都有较大提高。SOD、POD、CAT 是细胞膜保护系统的组成部分,能在逆境胁迫中清除植物体内(O_2^- 、 $\cdot OH$ 、 1O_2 、 H_2O_2 等)等活性氧减少 $\cdot OH$ 的形成,维持体内的活性氧代谢平衡,保护膜结构,减轻 NaCl 对活细胞的伤害,从而使植物在一定程度上免受或少受活性氧的伤害(张春平等,2011)。本研究结果表明,ALA 可通过提高决明 SOD、POD、CAT 活性来增强其耐盐性,这对通过提供外源物质来增强植物的抗逆性的可行性提供了新的证据。SOD 是膜脂过氧化防御系统的主要保护酶之一,它能催化活性氧进行歧化反应产生无毒的分子氧和过氧化氢,避免植物遭受伤害(秦丽凤等,2010),这就是外源 ALA 抑制膜脂在盐胁迫下植物 MDA 积累的原因之一。推测可能与其转化为亚铁血红素有关。ALA 处理促进了亚铁血红素的合成,并以辅基的形式,导致过氧化物酶活性增加,从而提高抗氧化胁迫能力。试验研究发现,适宜质量浓度($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的 ALA 处理盐胁迫下的决明幼苗,能提高其保护性酶 SOD、POD 和 CAT 的活性,为清除细胞内的 ROS 提供条件,保障幼苗在盐胁迫环境下正常生长。

参考文献:

国家药典编委会. 2005. 中国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社:98

- 张以顺,黄霞,陈云凤. 2009. 植物生理学实验教程[M]. 北京:高等教育出版社:136—142
- 周云龙. 1999. 植物生物学[M]. 北京:高等教育出版社:180—195
- 郝再彬,苍晶,徐仲. 2004. 植物生理实验[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社:115—116
- Castelfranco PA, Beale BI. 1983. Chlorophyll biosynthesis: recent advances and areas of current interest[J]. *Annu Rev Plant Physiol*, **34**:241—278
- Hao YJ(郝延军), Sang YL(桑育黎), Zhao YQ(赵余庆). 2001. Progress in study of semen *Cassia*(决明研究进展)[J]. *Chin Trad & Herb Drug*(中草药), **32**(9):858—859
- Liu H(刘晖), Kang L(康琅), Wang LJ(汪良驹). 2006. Promotion of 5-aminolevulinic acid on seed germination of watermelon(*Citrullus lanatus*) under salt stress ALA(对盐胁迫下西瓜种子萌发的促进效应)[J]. *J Fruit Sci*(果树学报), **23**(6):854—859
- Liu XH(刘训红), Wang YX(王玉玺). 2000. Analysis of nutritious constituents from semen *Cassia*(决明子中营养成分分析)[J]. *Li Shizhen Med & Med Res*(时珍国医国药), **11**(10):865—86
- Qin LF(秦丽凤), Shi GY(石贵玉), Li JM(李佳枚), *et al.* 2010. Effects of salt stress on some physiological characteristics of *Spartina anglica* seedling(盐胁迫对大米草幼苗某些生理指标的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物), **30**(2):265—268
- Wang AG(王爱国), Luo GH(罗广华). 1990. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants(植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系)[J]. *Plant Physiol Comm*(植物生理学通讯), **26**(6):55
- Watanabe K, Tanaka T, Hotta Y, *et al.* 2000. Improving salt tolerance of cotton seedlings with 5-aminolevulinic acid[J]. *Plant Growth Regul*, **32**:99—103
- Xu XJ(徐晓洁), Zou ZR(邹志荣), Qiao F(乔飞). 2008. Effects of ALA on tomato in photosynthesis, activity of protective enzymes and yield under NaCl stress(ALA 对 NaCl 胁迫下不同品种番茄植株光合作用、保护酶活性及果实产量的影响)[J]. *Agric Res Arid Areas*(干旱地区农业研究), **26**(4):131—135
- Yang R(杨蕊), Zou ZR(邹志荣), Qi XL(祁向玲), *et al.* 2008. The effects of ALA and $CaCl_2$ on cucumbers during initial bloom and fruit bearing(*Cucumis sativus*) under salt stress(ALA 和 $CaCl_2$ 处理对黄瓜植株初花期、结果期盐胁迫的缓解效应)[J]. *Agric Res Arid Areas*(干旱地区农业研究), **26**(4):136—140
- Zhang CP(张春平), He P(何平), Yu ZL(喻泽莉), *et al.* 2011. Effect of spermidine on seed germination and physiological characteristics of *Perilla frutescens* seedlings under NaCl stress(亚精胺对盐胁迫下紫苏种子萌发和幼苗生理特性的影响)[J]. *Chin Trad & Herb Drugs*(中草药), **42**(7):1 407—1 412
- Zhang QW(张启伟), Zhou ZM(周钟鸣), Yin J(阴健), *et al.* 1996. Influence of temperature on the chemical constituents and pharmacological effects of *Semen Cassiae*(温度对决明子化学成分和药理作用的影响)[J]. *Chin J Chin Mat Med*(中国中药杂志), **21**(11):663—665
- Zhang YB(张一宾). 2006. The progression of 5-aminolevulinic acid(ALA) and its development(5-氨基乙酰丙酸(ALA)的功能与展开)[J]. *World Pestic*(世界农药), **28**(4):14—17