

# NaCl 胁迫对胡卢巴幼苗抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响

李 慧<sup>1</sup>, 王妙媛<sup>2</sup>, 彭立新<sup>1</sup>, 林木强<sup>3</sup>, 阎国荣<sup>1</sup>

(1. 天津农学院 园艺系, 天津 300384; 2. 湖南农业大学 园艺园林学院, 湖南 长沙 410128;

3. 天津市静海县良王庄乡政府, 天津 301601)

**摘要:**以胡卢巴幼苗为试验材料, 研究 NaCl 胁迫下胡卢巴幼苗叶和根中抗氧化酶 SOD、POD、CAT 活性及丙二醛 (MDA) 含量的变化。结果表明: 随着 NaCl 处理浓度的升高, SOD、POD、CAT 活性总体呈现先上升后下降的趋势, MDA 含量则呈上升趋势。叶片中抗氧化酶活性在 NaCl 浓度为 1.0% 时达到峰值, 根中抗氧化酶活性在 NaCl 浓度为 0.5% 时达到峰值。在 0.5% 的 NaCl 浓度处理下, 随着处理时间的延长, 3 种抗氧化酶协同作用, 使 MDA 含量减少并控制在较稳定的阶段。可见, 盐胁迫下胡卢巴幼苗可通过提高抗氧化酶活性, 降低膜质过氧化水平, 减缓盐胁迫对植株的伤害, 从而增强其耐盐性。

**关键词:** 胡卢巴; NaCl 胁迫; 抗氧化酶; 丙二醛

中图分类号: Q945.78; S567.21+9 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)02-0185-04

## Effects of NaCl Stress on Activities of Antioxidant Enzymes and MDA Content in *Trigonella foenum-graecum* L. Seedlings

LI Hui<sup>1</sup>, WANG Miao-yuan<sup>2</sup>, PENG Li-xin<sup>1</sup>, LIN Mu-qiang, YAN Guo-rong<sup>1</sup>

(1. Department of Horticultural, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 2. College of Horticulture and Gardening, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 3. Government of the Liang Wang Zhuang Village, Tianjin 301601, China)

**Abstract:** The activities of SOD, POD, CAT and the content of MDA in *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings were studied under NaCl stress. The results showed that as the NaCl concentration increasing, the activities of SOD, POD, CAT increased at first and then decreased, and the content of MDA showed an increasing trend. Among all treatments, the activities of SOD, POD, CAT got the peak when NaCl concentration was 1.0% in the leaves and 0.5% in the roots. In the treatment of 0.5% NaCl concentration, three antioxidant enzymes worked together to resist the injury from NaCl stress. The results indicated that the seedlings of *Trigonella foenum-graecum* L. could raise the activities of antioxidant enzymes and decrease the membrane lipid peroxidation under salt stress, which could alleviate the damage of salt stress and improve the salt tolerance.

**Key words:** *Trigonella foenum-graecum* L.; NaCl stress; Antioxidant enzymes; MDA

胡卢巴 (*Trigonella foenum-graecum* L.) , 又名香豆子、香苜蓿、卢巴子, 为豆科蝶形花亚科胡卢巴属一年生草本植物, 全株有香气, 是一种使用历史十分悠久的传统药材<sup>[1]</sup>。其叶<sup>[2]</sup>作香料, 种子具有温肾、散寒、止痛作用, 在国外多用作强壮、催乳、止咳、降胆固醇、降血糖等药剂, 也可作化妆品。胡卢巴根

系发达, 在干旱地区可以用于保持水土、改良土壤等。从胡卢巴种子中提取的胡卢巴胶, 可替代进口的瓜儿胶, 是国内石油行业最理想的压裂稠化剂之一<sup>[2]</sup>。胡卢巴耐旱性较强, 有一定的耐寒能力, 对土壤、气候的适应性比较强, 因此, 在我国“三北”地区和中南地区都有栽培<sup>[3]</sup>。李慧等<sup>[4]</sup>研究表明, 胡

收稿日期: 2011-04-07

基金项目: 天津市农业科技成果转化与推广项目 (0802210)

作者简介: 李 慧 (1981-), 女, 河北廊坊人, 讲师, 硕士, 主要从事植物生理生态学研究。

通讯作者: 阎国荣 (1957-), 男, 新疆哈密人, 研究员, 博士, 主要从事植物生理生态学研究。

卢巴具有一定的耐盐性,具备在盐碱化程度较高的土地上栽培、种植的可能性。

本试验以胡卢巴幼苗为试材,研究不同浓度及相同浓度不同时间的 NaCl 胁迫条件下,胡卢巴叶片和根中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性和丙二醛(MDA)含量的变化,以探究盐胁迫下胡卢巴幼苗抗氧化酶系统的响应机制与膜质过氧化反应的相关性,为研究其耐盐机理奠定理论基础,为胡卢巴在盐碱地区的推广提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

胡卢巴种子采收于天津市大港区,在温室内进行播种育苗,待其长至 6~9 片真叶时,选取生长状况一致、无病虫害的植株进行试验。

### 1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 试验共分 2 组:第 1 组:相同时间不同浓度 NaCl 溶液处理胡卢巴幼苗,处理时间为 4 h,NaCl 溶液浓度分别为 0.2%、0.5%、1.0%、2.0%、4.0% (以蒸馏水为对照),每个处理 3 个重复。第 2 组:相同浓度 NaCl 溶液处理不同时间,NaCl 溶液浓度为 0.5%,处理时间分别为 2、4、8、12、24 h (以处理 0 h 为对照);每个处理 3 个重复。

1.2.2 测定方法 每个处理称取 2 个 1 g 的叶片和 2 个 1 g 的根,分别放在 4 个自封袋里,用液氮使其迅速冷冻 15 min,放入 -20℃ 冰箱内保存备用。

SOD 活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法;POD 活性测定采用愈创木酚显色法;CAT 活性测定采用紫外吸收法;MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法<sup>[5-7]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 盐胁迫对胡卢巴幼苗叶中 SOD、POD 及 CAT 活性的影响

随着 NaCl 处理浓度的增加,胡卢巴幼苗叶片中 SOD、POD 和 CAT 活性(以鲜质量计)总体呈现先升后降的趋势。三种抗氧化酶在 NaCl 浓度为 1.0% 时达到峰值;随着盐胁迫浓度的增加,SOD、POD 和 CAT 活性下降,并在 4.0% 的 NaCl 浓度下,降到正常水平之下(图 1~3)。在 NaCl 胁迫浓度为 0.5% 时,随着胁迫时间的延长,胡卢巴幼苗叶片中 SOD 活性呈现先升后降的趋势,在处理 12 h 时达到峰值,之后迅速下降(图 4);POD 活性呈现上升趋势(图 5);而 CAT 活性则呈现先升后降的趋势,在处

理 4 h 时达到峰值,之后迅速下降(图 6)。

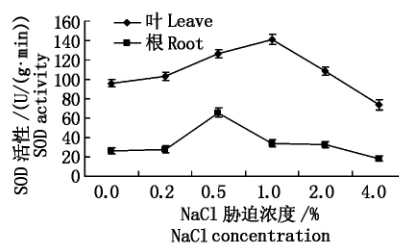


图 1 不同浓度盐胁迫对胡卢巴幼苗 SOD 活性的影响

Fig. 1 The effects of different concentrations of NaCl stress on activities of SOD in *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings

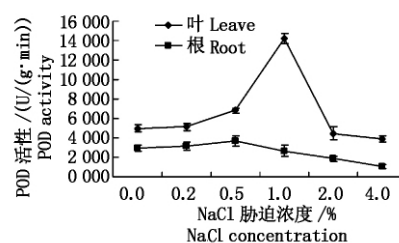


图 2 不同浓度盐胁迫对胡卢巴幼苗 POD 活性的影响

Fig. 2 The effects of different concentrations of NaCl stress on activities of POD in *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings

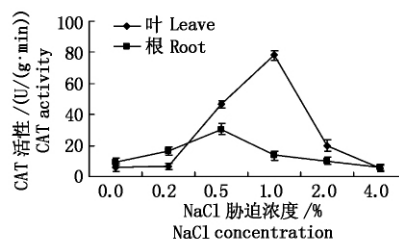


图 3 不同浓度盐胁迫对胡卢巴幼苗 CAT 活性的影响

Fig. 3 The effects of different concentrations of NaCl stress on activities of CAT in *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings

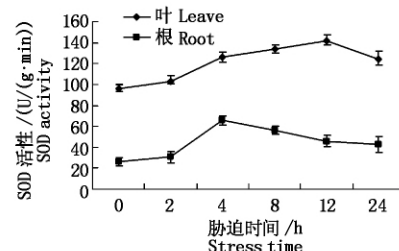


图 4 不同胁迫时间对胡卢巴幼苗 SOD 活性的影响

Fig. 4 The effects of different stress time on activities of SOD in *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings

### 2.2 盐胁迫对胡卢巴幼苗根中 SOD、POD 及 CAT 活性的影响

随着 NaCl 处理浓度的增大,胡卢巴幼苗根中 SOD、POD 和 CAT 活性(以鲜质量计)与叶中相似,总体呈现先升后降的趋势,但酶活性和变化幅度均

小于叶。三种抗氧化酶在 NaCl 浓度为 0.5% 时达到峰值;随着盐胁迫浓度的增加,SOD、POD 和 CAT 活性下降,并在 4.0% 的 NaCl 浓度下,降到正常水平之下(图 1~3)。在 NaCl 胁迫浓度为 0.5% 时,随着胁迫处理时间的延长,胡卢巴幼苗叶片中 SOD 和 CAT 活性均呈现先升后降的趋势,在处理 4 h 时达到峰值;POD 活性在处理初期表现为缓慢上升,在处理 8 h 时急剧上升达到一个较为稳定的水平。(图 4~6)。

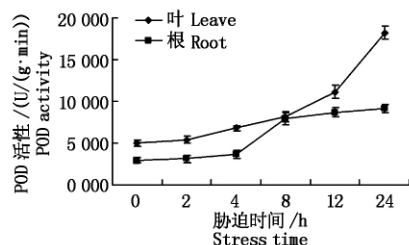


图 5 不同胁迫时间对胡卢巴幼苗 POD 活性的影响

Fig. 5 The effects of different stress time on activities of POD in *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings

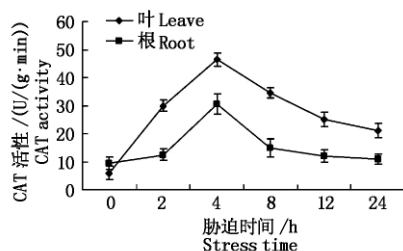


图 6 不同胁迫时间对胡卢巴幼苗 CAT 活性的影响

Fig. 6 The effects of different stress time on activities of CAT in *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings

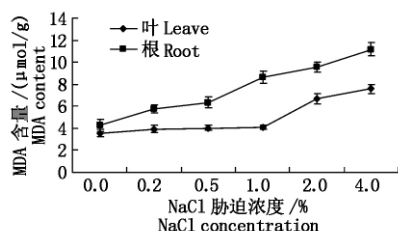


图 7 不同浓度盐胁迫对胡卢巴幼苗 MDA 含量的影响

Fig. 7 The effects of different concentrations of NaCl stress on MDA contents in *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings

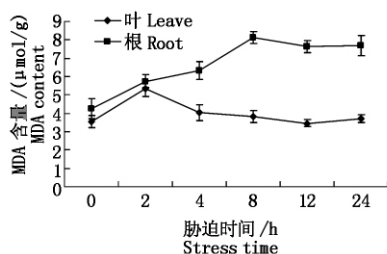


图 8 不同胁迫时间对胡卢巴幼苗 MDA 含量的影响

Fig. 8 The effects of different stress time on MDA contents in *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings

## 2.3 盐胁迫对胡卢巴幼苗叶和根 MDA 含量的影响

随着 NaCl 处理浓度的增大,胡卢巴幼苗叶和根中 MDA 的含量总体呈上升趋势,叶中 MDA 含量和上升幅度均小于根中(图 7)。在 NaCl 胁迫浓度为 0.5% 时,随着胁迫时间的延长,胡卢巴幼苗叶片中的 MDA 含量在处理 2 h 时迅速上升达到峰值,之后下降,并且较稳定维持在正常值之上。根中的 MDA 含量变化呈波动性上升趋势,在处理 8 h 时达到峰值,随后略有下降(图 8)。

## 3 讨论

在植物的正常代谢中,细胞内氧自由基的产生和清除处于动态的平衡状态,因此不会对细胞产生伤害<sup>[8]</sup>。但是盐碱等不良环境会导致过量的氧自由基和羟自由基的产生,导致膜脂过氧化。丙二醛是其最终产物,会严重损害生物膜。因此,通常将其作为膜脂过氧化程度的指标,用于表示细胞膜脂过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱<sup>[9]</sup>。逆境下植物通常表现出复杂的抗氧化防御能力,即抗氧化酶系的大量表达。这些抗氧化酶,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等在协调自由基的清除中起着重要作用<sup>[10-11]</sup>。在活性氧消除系统中,SOD 是催化超氧阴离子自由基发生歧化反应,生成分子态氧和  $H_2O_2$  的关键酶<sup>[12]</sup>。POD 是植物体内担负清除  $H_2O_2$  的主要酶之一,能够催化过氧化氢氧化其他底物后产生  $H_2O$ <sup>[13]</sup>。CAT 也是植物体内极为重要的抗氧化酶,它能够清除细胞内过多的  $H_2O_2$ 。本研究结果表明,胡卢巴幼苗叶中 SOD、POD 和 CAT 活性随着 NaCl 处理浓度的升高都表现出先升后降的趋势。在低浓度的 NaCl 处理时,随着胁迫浓度的升高,3 种抗氧化酶都做出了积极的响应,从而可以将体内产生的多余自由基清除。但当 NaCl 浓度在 1.0% 以上时,抗氧化酶系统活性开始下降,此时叶中 MDA 含量明显增加。这表明在高浓度盐胁迫下,虽然胡卢巴幼苗抗氧化酶系统功能加强(高于正常水平),但其调节能力也是有限的。尤其是当 NaCl 处理浓度超出 4.0% 时,胡卢巴幼苗叶的抗氧化酶系统开始遭到破坏,MDA 含量达到最大值。胡卢巴幼苗根的抗氧化酶系统的响应方式与叶类似,但 NaCl 浓度在 0.5% 以上时根抗氧化酶系统的活性就开始下降,MDA 含量明显增加,说明根的抗氧化酶系统对盐胁迫的响应比叶弱。

在同一低盐胁迫浓度不同胁迫时间处理下,胡

卢巴幼苗叶中 CAT 活性迅速上升并于 4 h 处出现峰值,此时 SOD 活性保持上升态势,POD 活性基本处于正常水平。即在短时间胁迫中,胡卢巴幼苗通过 SOD、CAT 活性的提高来降低自由基和  $H_2O_2$  含量,使其保持正常水平,避免  $H_2O_2$  过量积累产生破坏性更大的  $\cdot OH$ 。随着胁迫时间的延长,CAT 活性下降,但到 24 h 时 CAT 活性仍然高于正常水平,说明 CAT 对盐胁迫仍然有积极的响应。当胁迫时间超过 8 h 后,胡卢巴幼苗又通过 SOD、POD 活性的快速提高来降低自由基和  $H_2O_2$  的含量,减少对植物的危害,增加抗氧化能力。膜脂过氧化终产物 MDA 的含量在根和叶中胁迫初期(处理 2 h)时表现为迅速增长趋势,而后由于 3 种抗氧化酶的协同作用使其含量减少并控制在较稳定的水平。可见,胡卢巴幼苗中所生成的  $H_2O_2$  的清除需要依赖 CAT、POD 双重抗氧化酶的共同作用。胁迫初期, $H_2O_2$  主要通过 CAT 清除,使  $H_2O_2$  控制在较低水平;而胁迫后期  $H_2O_2$  主要靠 POD 在氧化相应基质时被消化。只有 SOD、POD、CAT 三者协调一致,才能使植物体内活性氧自由基维持在较低的水平,使植物进行正常的生长代谢。胡卢巴幼苗根中的抗氧化酶调节方式与叶相似,但根的抗氧化酶系统对盐胁迫的响应比叶弱。

前期研究结果表明,0.5% NaCl 为影响胡卢巴种子萌发及幼苗生长的一个标志性浓度,高于此浓度则表现出明显的盐害特征<sup>[4]</sup>。本研究结果进一步证明和解释了前期的研究结果。在 0.5% NaCl 溶液处理的 24 h 内,叶和根中 MDA 含量虽有所上升但是仍能在 3 种抗氧化酶作用下控制在一个较低的水平。而当 NaCl 胁迫浓度高于 0.5% 时,根中 3 种抗氧化酶活性迅速下降,而 MDA 含量则迅速上升,表明根系细胞已经受到较大程度的损伤;而叶中细胞为了维持叶绿体等细胞器的正常功能,抗氧化酶活性仍保持在较高水平,在 1.0% 的 NaCl 溶液处理时达到最大值。之后随着 NaCl 胁迫程度的加重,

各种抗氧化酶活性均急剧下降,细胞膜脂过氧化程度严重,超过了胡卢巴的承受度。由此表明,胡卢巴具有一定的耐盐性,具备在盐碱化程度较高的土地上栽培、种植的可能性。

#### 参考文献:

- [1] 中国医学科学院药用资源开发研究所. 中国药用植物栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1991: 876.
- [2] 王盾, 张红燕, 朱华, 等. 国内外胡芦巴研究开发现状[J]. 宁夏农林科技, 2001(6): 42-44.
- [3] 吴大椿, 李俊. 荆州引种葫芦巴的初步研究[J]. 湖北农学院学报, 2003, 23(6): 408-410.
- [4] 李慧, 张璐, 彭立新, 等. NaCl 胁迫对胡芦巴种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 天津农学院学报, 2008, 15(2): 24-26.
- [5] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 121-123.
- [6] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 274-276.
- [7] 朱广廉, 钟诤文, 张爱琴, 等. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990: 245-248.
- [8] 廖祥儒, 朱新产. 活性氧代谢和植物抗盐性[J]. 生命的化学, 1996, 16(6): 19-22.
- [9] 万贤崇, 宋永俊. 盐胁迫及其钙调节对竹子根系活力和丙二醛含量的影响[J]. 南京林业大学学报, 1995, 19(3): 16-20.
- [10] Harris M J, Outlaw W H. Rapid adjustment of guard-cell abscisic acid levels to current leaf-water Status[J]. Plant Physiol, 1991, 95: 171-173.
- [11] 谢文华. 盐胁迫下梭梭幼苗生理生态响应机制的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2007.
- [12] 邹晓云, 向华, 于晓英.  $Cu^{2+}$  胁迫对香菇草生长和生理生化特性的影响[J]. 天津农业科学, 2011, 17(1): 22-24.
- [13] 苏俊, 姚延椿. 干旱胁迫对毛白杨幼苗的生理影响[J]. 天津农业科学, 2011, 17(3): 18-20.