

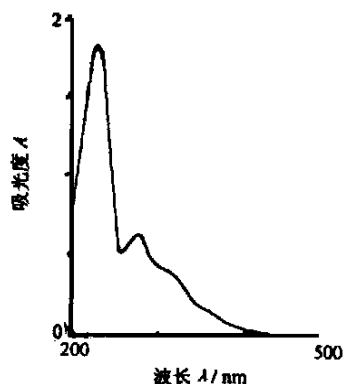


图 7 胡芦茶紫外光谱图

到类圆形,纤维束从环状到断续成环,叶的主脉维管

束从 7 个转变成 3 个维管束。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [2] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编 (上册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975.
- [3] 广西卫生局. 广西本草汇编 [M]. 南宁: 广西人民出版社, 1974.
- [4] 谢 蕾, 陈思东, 张冠群. 胡芦茶对 Hbs Ag 破坏的检测报告 [J]. 广东医学院学报, 1986, 2 (1): 78-79.
- [5] 南京药学院中华药学编写组. 中草药学 (中册) [M]. 南京: 江苏人民出版社, 1976.
- [6] 文东旭, 郑学忠, 史剑侠, 等. 胡芦茶化学成分的研究 (I) [J]. 中草药, 1999, 30 (4): 252-253.
- [7] 文东旭, 陆敏仪, 唐人九, 等. 胡芦茶化学成分的研究 (II) [J]. 中草药, 2000, 31 (1): 3-5.
- [8] 文东旭, 陆敏仪, 唐人九, 等. 胡芦茶的薄层色谱鉴别 [J]. 中草药, 2001, 32 (5): 451-452.

干旱胁迫对箭叶淫羊藿的影响

石进校, 尹江龙, 刘应迪, 陈 军, 张可红^{*}
(吉首大学生命科学与化学学院, 湖南 吉首 416000)

摘 要: 目的 研究干旱胁迫对箭叶淫羊藿的影响及其抗旱性. 方法 采用分光光度法测定干旱胁迫中植物叶内过氧化物酶 (POD), 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和丙二醛 (MDA) 含量. 结果 随干旱胁迫的增强, 叶内 POD 活性和 MDA 含量上升, 而 SOD 活性在 12 d 内上升, 12 d 后活性下降. 结论 箭叶淫羊藿具有一定的抗旱性, 栽培一年以上的植株较当年栽培植株抗旱性强.

关键词: 干旱胁迫; 箭叶淫羊藿; POD; SOD; MDA

中图分类号: R282.21 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)06-0554-04

Affecting of drought stress in *Epimedium sagittatum*

SHI Jin-xiao, YIN Jiang-long, LIU Ying-di, CHEN Jun, ZHANG Ke-hong

(College of Life Sciences and Chemistry, Jishou University, Jishou Hunan 416000, China)

Key words drought stress; *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.; POD; SOD; MDA

箭叶淫羊藿为小檗科淫羊藿属植物, 是我国传统补益类中药, 具有补肾壮阳, 祛风除湿之功效. 现代医学研究证明, 淫羊藿能增加冠脉血流量, 促进 DNA 合成率, 影响核酸代谢, 提高体外骨髓细胞培养的增殖率, 并有促进肾上腺皮质功能的作用, 对脊髓灰质炎病毒有显著的抑制作用. 临床上主要用于治疗冠心病, 慢性气管炎, 神经衰弱, 小儿麻痹等病^[1]. 因此对淫羊藿的研究已成为热点, 近年来有关淫羊藿的报道越来越多, 但大多数局限于对淫羊藿的分类、化学成分、药理作用以及新药开发等方面^[2], 而在生理上对淫羊藿的研究报道极少^[3]. 我国

是淫羊藿属药用植物的分布中心, 种类多, 分布广, 但随着医药科学的飞速发展和对淫羊藿的大力开发利用, 野生资源已不能满足需要, 为了探讨淫羊藿对环境因子的要求, 扩大人工栽培的数量, 提高生产质量, 本文在不同干旱条件下, 对两个不同种植时期的淫羊藿叶内的丙二醛 (MDA) 的含量, 过氧化物酶 (POD) 活性以及超氧化物酶 (SOD) 活性进行了测定, 分析了不同干旱胁迫对淫羊藿叶内 MDA 含量 POD 活性和 SOD 活性的影响, 比较两个不同栽培时期淫羊藿叶内三者的差异, 试图说明不同栽培时期植株的耐旱性特点, 为淫羊藿的人工栽培提供理

^{*} 收稿日期: 2001-09-10

基金项目: 湖南省教育厅自然科学基金资助课题 (01C307)

作者简介: 石进校 (1964-), 男, 湖南汉寿县人, 学士, 湖南吉首大学生化学院讲师, 主要从事植物生理和山区特种经济植物开发研究

论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料:箭叶淫羊藿,采至湘西德夯,材料 1 为栽培 1 年的植株,材料 2 为新栽培的植株,两植株在充足水分供应条件下生长良好,于 4 月 15 日对两植株浇足水后停止供水进行干旱处理,置于自然条件下培养,以后每两天测量 1 次土壤含水量及相对应的淫羊藿叶内 MDA 含量,POD 活性和 SOD 活性。以栽培 1 年的植株作不受干旱胁迫对照

1.2 土壤含水量的测定:土壤含水量的测量采用烘干法,用小刀除去表层约 0.5 cm 厚的土壤,然后用打孔器取同样深度有代表性的土壤装入重量为 W_0 称量瓶中,称重 (W_1) 后放入 40℃ 恒温干燥箱中烘干至恒重,并称量烘干后的土样与容器的重量 (W_2),土壤含水量根据下式计算得到:

$$W(\%) = (W_1 - W_2) / (W_1 - W_0) \times 100\%$$

1.3 酶液的制备:称 0.5 g 叶样,分次加入 5 mL 62.5 mmol/L pH 7.8 PBS 在冰浴上匀浆,4 000 r/min 4℃。

1.4 MDA 含量的测定:取上述上清液 2.0 mL,加入 2.0 mL 10% TCA (含 0.5% TBA) 混匀塞上纸塞,水浴煮沸 15 min,快速冷却,4 000 r/min 离心 20 min,以 10% TCA 为参照,上清液在 532 nm 和 600 nm 处测定 A 值,重复 5 次求平均,MDA 含量计算公式^[4]:

$$\text{MDA (mmol/g FW)} = A \times N / 155 \times \text{gFW}$$

$$A = A_{532} - A_{600}$$

N 为上清液总体积 (L)

155 为 1 mmol 三甲川在 532 nm 的吸光系数,d 为比色杯光程 (d=1 cm 即 0.01 m)

W 为称取植物材料的鲜重 (g)

1.5 POD 和 SOD 活性的测定:参照《植物抗性生理学》^[4],POD 活性以每分钟 $A_{470\text{nm}}$ 增加 0.01 为一个酶活单位 (以 n 表示,1n 既 1 个酶活单位)。SOD 活性以 A 值表示,A 值越小,活性越大。

2 实验结果分析

2.1 土壤含水量变化:图 1 表明,随着处理时间的不断延长,两种材料的土壤含水量都呈现出下降趋势,在浇水的第一天水分含量最大,材料 1 为 23.6%,材料 2 为 21.5%,但两者变化速率又存在差别,材料 1 始终保持很快的速率减小,从 23.6% 迅速降到 6%,在 0~16 d 里材料 2 土壤含水量变化缓慢,仅由 21.5% 下降为 16.5%,16~20 d 中土

壤水分含量急剧下降近一半,从 16.5% 变为 8.5%,而在 20 d 以后含水量变化又较慢,到 30 d 时下降幅度只有 1.4%。

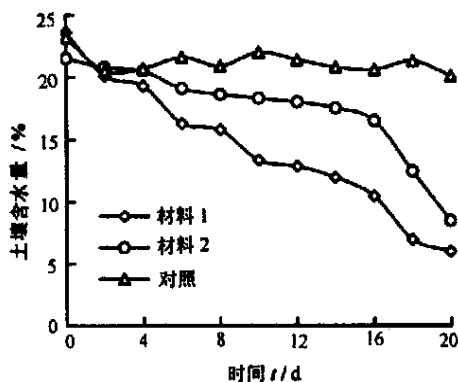


图 1 土壤含水量变化

2.2 干旱对 MDA 含量的影响:结合图 1 和图 2,我们可以看出随着干旱处理的时间不断延长和干旱程度的增加,淫羊藿叶内 MDA 含量都逐渐上升,在干旱处理的第 4 天,MDA 含量最少,材料 1 为 4.0×10^6 mmol/g FW,材料 2 为 5.0×10^6 mmol/g FW,以后 MDA 含量不断升高,但两种材料的变化速率又不是完全一致的,但有相似的变化趋势,干旱胁迫促进 MDA 的生成,且随干旱时间的延长,MDA 会在植物体内积累。从干旱处理的第 4 天到第 18 天中,材料 1 叶中 MDA 含量从 4.0×10^6 mmol/g FW 以近似直线上升到 9.9×10^6 mmol/g FW,而材料 2 则先急剧上升,处理 12 d 时出现缓慢上升的趋势,到处理 18 d 时 MDA 含量只增加了 0.9×10^6 mmol/g FW,之后又快速增加,在处理 20 d 时达到了 12.4×10^6 mmol/g FW。另外比较材料 1 和材料 2 在相同的处理时间里土壤含水量和 MDA 含量,可知材料 1 的叶内 MDA 含量较材料 2 的要低,而材料 1 的土壤含水量也小于材料 2 的土壤含水量。对照组 MDA 含量在 $3.2 \sim 3.6 \times 10^6$ mmol/g FW 之间,无显著变化。

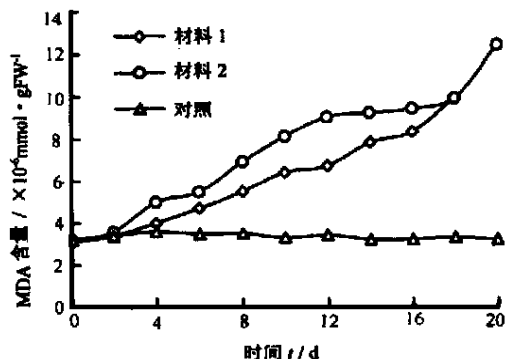


图 2 干旱处理对淫羊藿 MDA 含量的影响

2.3 干旱对 POD活性的影响: 材料 1和材料 2对干旱胁迫都作出了反应,其叶内 POD活性是随干旱处理的延续和程度的增强而增加的(图 3),在干旱处理的第 4天两者的 POD活性都较低,材料 1在干旱胁迫下 POD活性增强较快,增强的幅度也较大,从第 4天的 $1.84 \times 10^3 \text{ n}^\circ \text{ min}^{-1} \cdot \text{g FW}^{-1}$ 急剧上升到 $8.18 \times 10^3 \text{ n}^\circ \text{ min}^{-1} \cdot \text{g FW}^{-1}$,材料 2在第 4天到第 12天之间,POD活性没多大变化,干旱处理 12 d后显著提高,到第 18天已经由 $1 \times 10^3 \text{ n}^\circ \text{ min}^{-1} \cdot \text{g FW}^{-1}$ 上升为 $3.5 \times 10^3 \text{ n}^\circ \text{ min}^{-1} \cdot \text{g FW}^{-1}$,随后又趋于平缓。比较材料 1和材料 2叶内 POD活性的变化快慢和变化幅度,我们可以看出材料 2叶内 POD活性的增强较材料 1的增强要滞后,变化幅度也要小。对照组 POD活性在 $7.2 \sim 6.3 \times 10^3 \text{ n}^\circ \text{ min}^{-1} \cdot \text{g FW}^{-1}$ 之间,无显著变化。

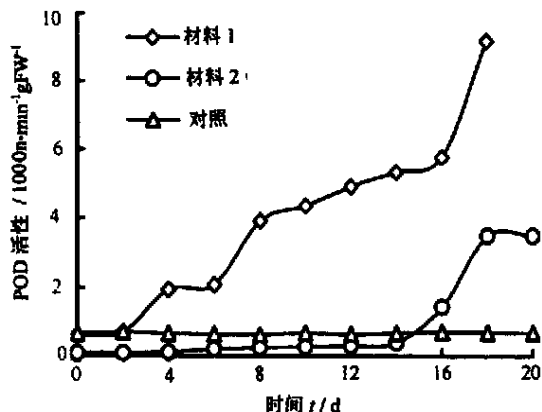


图 3 干旱处理对淫羊藿 POD活性的影响

2.4 干旱处理对 SOD活性的影响: 干旱处理对 SOD的活性也有显著的影响,随着干旱胁迫的延续和干旱程度增强,SOD在 560 nm处的吸光度(A)表现出“V”字形(图 4),在干旱处理初期 SOD的 A值较高,活性较低;材料 1和材料 2在处理第 4天时 SOD的 A值基本相同,材料 1为 0.059,材料 2为 0.060,随着干旱处理的时间推移,材料 1材料 2的 SOD的 A值逐渐减小,活性增强;但材料 1减小的速度要较材料 2快,减小的幅度也较大,在处理第 10天时材料 1达到最小值 0.018,然后又大幅度上升;到 18 d时 A值提升为 0.065,材料 2在第 12天时达到最小 0.025,之后又缓慢上升到 30 d时才达到 0.041。根据吸光度与酶活性呈负相关,所以 SOD活性应是先升高,到一定程度后又下降,在处理 10 d时材料 1 SOD活性最强,随干旱的增强 SOD活性又迅速下降,材料 2在处理 12 d时 SOD活性最强,之后又缓慢降低,降低的速度和幅度都比材料 1小。对照组 SOD活性(A值)在 0.058~

0.066之间,无显著变化。

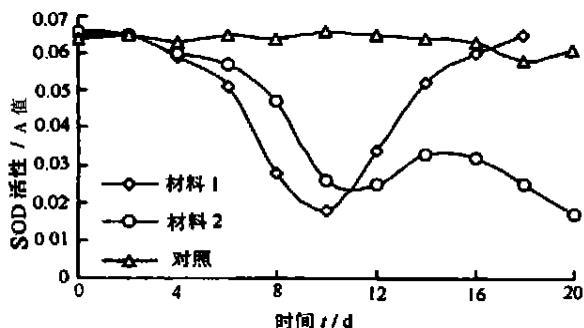


图 4 干旱处理对淫羊藿 SOD活性的影响

2.5 干旱胁迫下淫羊藿 MDA含量和 POD SOD活性: 见表 1

3 实验结果

植物器官在衰老时或逆境条件下往往发生膜脂过氧化作用,认为膜脂过氧化是造成膜损伤的关键因素^[5],MDA是其产物之一,通常利用它作为脂质过氧化指标,表示细胞膜过氧化程度和植物对逆境条件反应的强弱^[6],结果表明,在相同处理时间里材料 1受干旱胁迫的程度强,但其叶内 MDA含量反而较低,说明了材料 1受干旱胁迫的伤害较材料 2小,因此,我们可以说栽培 1年的植株较新栽培的植株耐旱能力强。在通常情况下,植物膜脂过氧化过程需要氧生物分子单电子还原过程,许多酶反应和某些低分子化合物的自动氧化会产生 O_2^- 、 H_2O_2 、 ^-OH 及 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 等活性氧,对生物体具有毒害作用,能诱发脂质过氧化^[7],一般认为干旱能增加植物体的活性氧含量^[8],因此,干旱胁迫能促使膜脂过氧化,本次实验也说明这一点。植物体内活性氧随干旱时间的延长和干旱程度的增强而不断增加,又不断被清除,起主要作用的是 SOD和 POD等保护酶类^[7],SOD是一种诱导酶,受底物浓度的诱导,能消除逆境中生成的氧自由基^[8],干旱使 SOD活性增加,说明了干旱胁迫促进了淫羊藿叶内中 O_2^- 的生成,这样由 O_2^- 歧化产生的 H_2O_2 也必然会相应增加,在干旱初期 SOD活性不同程度的增加,可能是细胞为了适应 H_2O_2 生成的一种调节性反应,以保护机体免受伤害。MDA对 SOD活性有抑制作用,抑制效应随浓度增大而增强^[9],在干旱胁迫时 MDA不断积累,它能不可逆地抑制 SOD活性,而 SOD活性的逐步减弱又导致 MDA进一步增多,这也是 MDA含量急剧增高的原因。当 MDA含量达到和超过某一范围时,它的抑制效应就超过了细胞的调节能力。这时总体上 SOD活性就表现为下降,所以

表 1 干旱胁迫下淫羊藿 MDA 含量和 POD SOD 活性

时间 (d)	土壤含水量 (%)			MDA ($10^6 \text{ mmol} \cdot \text{g FW}^{-1}$)			SOD (A 值)			POD ($100 \text{ nmol} \cdot \text{g FW}^{-1}$)		
	材料 1	材料 2	对照	材料 1	材料 2	对照	材料 1	材料 2	对照	材料 1	材料 2	对照
0	23.6	21.5	23.2	3.1	3.2	3.2	0.0657	0.0661	0.064	6.32	0.89	6.64
2	20.1	20.8	20.5	3.4	3.6	3.4	0.0650	0.0654	0.065	7.1	0.94	7.2
4	19.3	20.5	20.7	4.0	5.0	3.6	0.059	0.06	0.063	19.4	1	6.70
6	16.3	19.1	21.6	4.7	5.5	3.5	0.051	0.057	0.064	20.8	2	6.52
8	15.8	18.6	20.9	5.5	6.9	3.5	0.028	0.047	0.065	39.1	2.5	6.34
10	13.4	18.3	22.0	6.4	8.1	3.3	0.018	0.026	0.066	43.5	2.8	6.85
12	12.9	18	21.4	6.7	9	3.4	0.034	0.025	0.065	49.2	3.1	6.49
14	12	17.5	20.8	7.8	9.2	3.2	0.052	0.033	0.064	53.4	10	6.90
16	10.5	16.5	20.6	8.3	9.4	3.2	0.06	0.032	0.063	57.8	14.4	7.20
18	7	12.5	21.3	9.9	9.9	3.3	0.065	0.025	0.058	91.8	35	7.1
20	6	8.5	20.1	-	12.4	3.2	-	0.017	0.061	-	35	7.0

在干旱处理后期 SOD 的活性又出现了下降的趋势,这也是符合在一定干旱胁迫限度内, SOD 活性随干旱胁迫的增强而增加,超过一定胁迫程度后就下降^[10]。联系图 2 图 3 很容易看出在过度干旱下 SOD 与丙二醛含量呈负相关性,这意味着干旱胁迫造成的膜伤害包括一个自由基伤害过程,干旱胁迫提高 POD 和 SOD 活性,因而较能有效地清除自由基,降低膜脂过氧化水平,因此,虽然材料 1 中土壤含水量较低,也就是说受干旱胁迫的程度强,但其叶内 MDA 含量却较材料 2 低,所受干旱胁迫的伤害小,植物在不同生长时期抗旱能力不同,植物的抗旱能力与干旱条件下 SOD 活性下降程度呈负相关^[10],对比材料 1 和材料 2 SOD 活性的变化,我们发现材料 1 SOD 活性增强幅度要比材料 2 的 SOD 活性增强幅度大,因此,材料 1 的抗旱能力要比材料 2 的强。POD 在植物体内是调节 IAA 水平的关键酶^[11],当干旱胁迫时,植物就要分解体内的 IAA,生长受抑制,以减少胁迫的不良影响,因此, POD 活性随干旱程度的加强而不断上升,这也是植物细胞适应性调节的一种方式。POD 活性越高,其分解体内 IAA 的能力越强,因此,耐旱能力也越强,比较两种材料的 POD 活性,材料 1 中 POD 活性始终高于材料 2,其变化也较快、较强,也就是说材料 1 对干旱胁迫敏感性高,它能迅速提高 POD 活性来适应

这种胁迫。对照组因为土壤含水量相对稳定,MDA 含量、POD 和 SOD 活性都无显著变化,进一步说明,干旱胁迫对淫羊藿生理代谢有显著影响,对淫羊藿苷的影响有待进一步研究。

综上所述,栽培多年的植株较新栽培植株的抗旱能力强,POD 和 SOD 活性以及 MDA 含量可做为淫羊藿干旱生理的依据。

参考文献:

- [1] 王昌利,宋小妹.淫羊藿总黄酮提取分离工艺研究[J].中成药,1996,18(5):1-3.
- [2] 孙国华.淫羊藿的综合研究与开发利用[J].中国中医药信息杂志,1997,4(4):13.
- [3] 石进校,李鹤鸣,刘应迪,等.淫羊藿生理生态学研究进展[J].吉首大学学报(自然科学版),2000,21(1):84-85.
- [4] 刘祖祺,张石城.植物抗性生理学[M].北京:北京农业出版社,1994.
- [5] 王邦锡,郭绍川,张学明.渗透胁迫引起的膜损伤与膜脂过氧化和某些自由基的关系[J].中国科学(B辑),1992,21(4):364-368.
- [6] 陈贵,胡文玉,谢甫绶,等.提取植物体内MDA的溶剂及MDA做为衰老指标的探讨[J].植物生理学通讯,1991,27(1):44-46.
- [7] 蒋明义,郭绍川,张学明.渗透胁迫对水稻幼苗膜脂氧化体内保护系统影响[J].植物生理学报,1991,17(1):80-84.
- [8] 王建华,刘鸿先,徐同.超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用[J].植物生理学通讯,1989(1):1-7.
- [9] 伍泽堂,张刚元.脱落酸、细胞分裂素和丙二醛对超氧化物歧化酶活性的影响[J].植物生理学通讯,1990,(4):30-32.
- [10] 王宝山.中国植物生理学会第四次全国会议论文摘要汇编[C].上海:中国植物生理学会秘书处编印,1986.
- [11] 袁朝兴,丁静.水分胁迫对棉花叶片中IAA含量、IAA氧化酶活性的影响[J].植物生理学报,1990,6(2):179-183.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本,包括:1974-1975年,1976年,1979年,1985-1994年(80元/年);1995-1997年(110元/年);1998年(135元);2000年(180元);2001年(200元);1996年增刊(50元);1997年增刊(45元);1998年增刊(70元);2000年增刊(70元);2001年增刊(70元)。欢迎来函来电订购,电话:022-27474913;022-23006821(传真)。