

NaCl胁迫对银柴胡生长及生理生化特性的影响

周丽^{1,2,3,4,5}, 郎多勇⁶, 张文晋¹, 王永明⁷, 张新慧^{1,2,3,4,5*}

1. 宁夏医科大学药学院, 宁夏 银川 750004
2. 宁夏回药现代化工程技术研究中心, 宁夏 银川 750004
3. 宁夏回医药协同创新中心, 宁夏 银川 750004
4. 回医药现代化省部共建教育部重点实验室, 宁夏 银川 750004
5. 宁夏医药研究所, 宁夏 银川 750004
6. 宁夏医科大学实验动物中心, 宁夏 银川 750004
7. 宁夏医科大学总医院 儿童急救中心, 宁夏 银川 750004

摘要: **目的** 研究 NaCl 胁迫对银柴胡生长的影响效应及生理生化机制。**方法** 通过盆栽试验, 定期采样测定不同 NaCl 胁迫下银柴胡生长指标及生理生化指标。**结果** 0.3% NaCl 胁迫对银柴胡生长没有显著影响, 而 0.4% 以上 NaCl 胁迫对银柴胡生长有显著地抑制作用, 且这种抑制作用随 NaCl 胁迫程度的增加而增强。银柴胡叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性均随 NaCl 胁迫程度的增加呈现先增加后显著下降的趋势。丙二醛(MDA)量和脯氨酸(Pro)量随着 NaCl 胁迫程度的增加呈现增加的趋势, 而膜透性和蛋白质量随 NaCl 胁迫程度的增加而呈现降低的趋势。**结论** 在适度的 NaCl 胁迫下银柴胡可以保持一定的抗渗透胁迫能力和清除活性氧的能力, 进而保持膜的稳定, 以致不会抑制银柴胡植株的生长。

关键词: 银柴胡; NaCl 胁迫; 生理生化特性; 保护酶; 膜脂过氧化

中图分类号: R282.21 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)19-2829-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.19.019

Effect of NaCl stress on growth and physiological-biochemical characteristics of *Stellaria dichotoma*

ZHOU Li^{1,2,3,4,5}, LANG Duo-yong⁶, ZHANG Wen-jin¹, WANG Yong-ming⁷, ZHANG Xin-hui^{1,2,3,4,5}

1. College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China
2. Ningxia Engineering and Technology Research Center of Hui Medicine Modernization, Yinchuan 750004, China
3. Ningxia Collaborative Innovation Center of Hui Medicine, Yinchuan 750004, China
4. Key Laboratory of Hui Medicine Modernization, Ministry of Education, Yinchuan 750004, China
5. Ningxia Medicine Research Institute, Yinchuan 750004, China
6. Laboratory Animal Center, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China
7. Children's Aid, Ningxia Medical University General Hospital, Yinchuan 750004, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of NaCl stress on growth and physiological-biochemical characteristics of *Stellaria dichotoma* and its mechanism. **Methods** In this study, one-year-old *S. dichotoma* was cultivated in pot at four NaCl levels (0.2%, 0.3%, 0.4%, and 0.5%) and the plant growth parameters and physiological-biochemical characteristics were determined. **Results** NaCl stress had no significant effect on *S. dichotoma* growth at 0.3% NaCl. However, NaCl stress significantly inhibited the growth of *S. dichotoma* at 0.4% NaCl or above, and this inhibition was greater at higher concentration. The activities of SOD, POD, and CAT increased first and then decreased as NaCl concentration increased; The content of MDA and proline significantly increased as NaCl concentration increased, while membrane permeability and soluble protein content significantly decreased as NaCl concentration increased. **Conclusion** *S. dichotoma* has osmotic stress resistance ability and reactive oxygen scavenging capacity at light NaCl stress, which causes *S. dichotoma* growth not inhibited at a certain extent NaCl stress.

Key words: *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge; NaCl stress; physiological-biochemical characteristics; protective enzyme; membrane lipid peroxidation

收稿日期: 2014-03-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81202868, 31260304)

作者简介: 周丽(1980—), 女, 甘肃兰州人, 讲师, 主要从事天然药物活性成分的研究。

*通信作者 张新慧(1979—), 女, 甘肃岷县人, 副教授, 博士, 主要从事药用植物资源与利用方面的研究。

Tel: (0951)6880583 E-mail: zhang2013512@163.com

银柴胡 *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge. 为石竹科繁缕属多年生草本植物, 以根入药, 具清虚热、除疳热之功效, 用于阴虚发热、骨蒸劳热、小儿疳热等症, 是我国常用中药材之一。宁夏是我国银柴胡主产区和道地药材产区。由于市场供应长期以来主要依赖于野生资源, 过度采挖已导致银柴胡野生资源严重匮乏, 使得人工栽培面积不断扩大, 目前, 宁夏、内蒙古和陕西均有人工栽培。

目前, 有关银柴胡的研究主要集中在真伪鉴别^[1-2]、药理作用^[3]、化学成分^[4]、种子生理^[5-6]等方面。野生银柴胡多分布于宁夏、内蒙古、陕西省毗邻的干旱荒漠半荒漠区, 是典型的干旱沙生植物, 具有耐干旱、贫瘠、轻微盐碱的特性^[7]。然而, 有关银柴胡的抗逆性尤其是耐盐性的研究尚未见文献报道, 因此, 本研究通过盆栽模拟试验, 研究不同程度 NaCl 胁迫对银柴胡生长及生理生化特性的影响, 以期探讨银柴胡的对 NaCl 胁迫的反应和适应机制。

1 材料与方法

1.1 材料

样品为 1 年生银柴胡幼苗, 购买自宁夏回族自治区固原市宁夏神农园中药材有限公司, 经宁夏医科大学药学院张新慧鉴定为银柴胡 *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge.。

1.2 幼苗培养

盆栽试验在宁夏医科大学校园内进行。选用直径 30 cm、高 30 cm 的塑料水桶。土壤为沙壤土, pH 值为 8.12, 有机质为 0.32%, 全氮为 0.10%, 速效磷 53.2 mg/kg, 速效钾 147.32 mg/kg, 含 0.2%NaCl。每盆装土 19 kg, 田间持水量为 22.4%。一年生银柴胡幼苗于 2013 年 3 月 31 移栽于盆中, 正常灌水。生长 2 个月后, 选取正常生长、一致的幼苗作为供试材料。

1.3 试验设计

试验采用单因素完全随机区组试验设计, 以原土为对照 (0.2%NaCl, CK), 分别设置 0.3%、0.4% 和 0.5% NaCl 溶液浇灌处理。为了保持盆内 NaCl 量, 避免浇水时 NaCl 流失, 于每一个盆下垫一塑料托盘。每处理设置 3 个重复, 开始处理后 1 个月采集样品测定各指标。

1.4 测定方法

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、过氧化物酶 (POD) 活性、过氧化氢酶 (CAT) 活性均参照文献方法^[8-9], 丙二醛 (MDA)、脯氨酸 (Pro)、可溶性

蛋白、膜透性均参照文献方法^[10]。SOD 活性单位以每分钟反应抑制 NBT 光化还原 50% 定义为 1 个酶活性单位 (U); POD 活性单位采用愈创木酚氧化法, 以在 470 nm 处吸光度 (A) 值每分钟增加 0.01 为 1 U; CAT 活性单位以每分钟 A 减少 0.01 为 1 U。

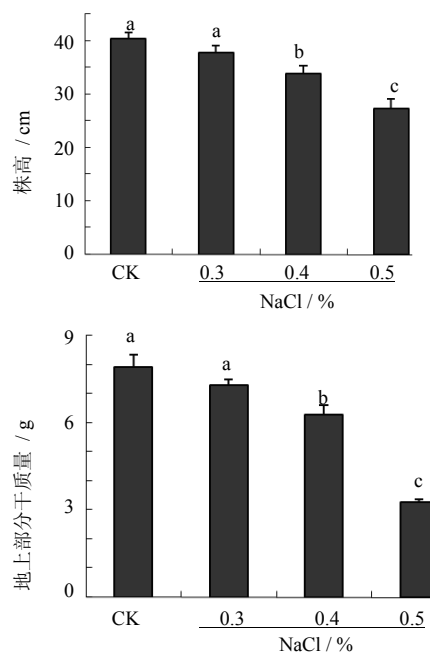
1.5 统计分析

数据均采用 DPS 软件包分析方差、计算标准误、检验差异显著性, 采用 Excel 软件制图。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对银柴胡生长特性的影响

2.1.1 对银柴胡地上部分生长的影响 由图 1 可以看出, NaCl 胁迫对银柴胡地上部分生长产生显著影响, 基本呈现出随着土壤 NaCl 量的上升而降低的趋势, 且随着 NaCl 胁迫程度的加剧这种降低趋势更明显。与对照相比, 0.4% 和 0.5% NaCl 胁迫条件下株高分别降低了 10.26% 和 27.65%, 地上部分干质量分别降低了 13.83% 和 54.85%, 且差异均达到显著水平; 而 0.3%NaCl 处理的株高和地上部分干质量均比对照略有下降, 但没有显著差异。



不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同
Different letters mean $P < 0.05$, same as below

图 1 NaCl 胁迫对银柴胡地上部分生长的影响

Fig. 1 Effect of NaCl stress on shoot growth of *S. dichotoma*

2.1.2 对地下部分生长的影响 由图 2 可以看出, NaCl 胁迫对银柴胡地下部分生长的影响与地上部一致, 即随着土壤 NaCl 量的上升而呈下降的趋势。与对照相比, 0.4% 和 0.5%NaCl 胁迫处理的根长和

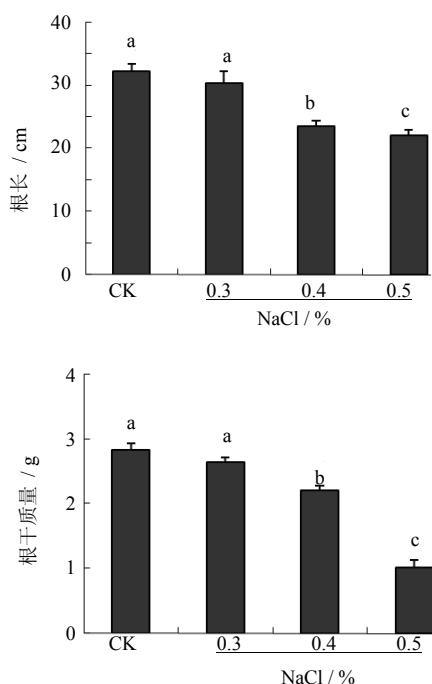


图2 NaCl胁迫对银柴胡根生长的影响

Fig. 2 Effect of NaCl stress on root growth of *S. dichotoma*

根干质量均显著降低, 根长分别降低了 22.57%和 27.13%, 根干质量分别降低了 16.16%和 61.36%, 且随着 NaCl 胁迫程度的加剧处理间差异更为明显; 而 0.3%NaCl 处理的根长和根干质量与对照没有明显差异。

2.2 NaCl胁迫对银柴胡叶片保护酶活性的影响

从图3可以看出, 银柴胡叶片 SOD、POD 和 CAT 的活性均呈现出随着 NaCl 胁迫程度的加剧呈先升高而后降低的趋势。与对照相比, 0.3%NaCl 处理的 SOD、POD 和 CAT 活性分别升高了 20.98%、12.64% 和 2.43%, 其中 SOD 和 POD 与对照差异达到显著水平; 而 0.4%和 0.5%NaCl 处理下, 3 项指标分别降低了 1.92%、3.85%、9.55%, 30.26%、26.81%、23.90%, 其中在 0.5%NaCl 处理下均与对照差异显著。

2.3 NaCl胁迫对银柴胡膜脂过氧化作用的影响

细胞质膜相对透性反映了膜的稳定性。膜质过氧化程度用 MDA 量来表示, MDA 是生物膜氧化的产物, 具有很强的细胞毒性, 它的量可以作为植物受到胁迫的伤害程度的重要指标。由图4可以看出, 随着 NaCl 胁迫程度的加剧 MDA 量逐渐增加, 与对照相比, 0.3%、0.4%和 0.5%NaCl 处理的 MDA 量分别上升了 10.90%、35.81%和 81.82%, 其中后两者与对照比较差异显著。膜透性随着 NaCl 胁迫程

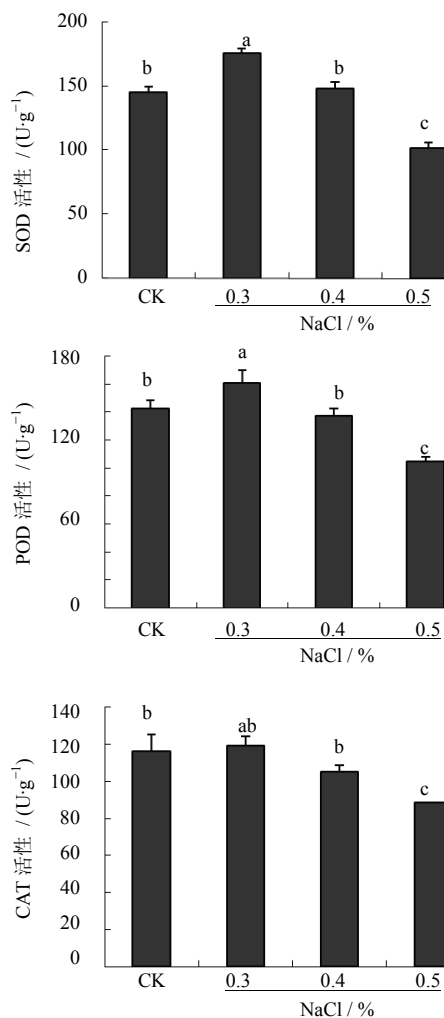


图3 NaCl胁迫对银柴胡叶片保护酶活性的影响

Fig. 3 Effect of NaCl stress on protective enzymes activity in leaves of *S. dichotoma*

度的加剧而逐渐降低, 与对照相比, 0.3%、0.4%和 0.5%NaCl 处理的膜透性分别降低了 1.44%、11.95% 和 18.47%, 其中后两者与对照差异达到显著水平。

2.4 NaCl胁迫对银柴胡叶片渗透调节物质的影响

由图5可见, 银柴胡叶片中 Pro 量随着 NaCl 胁迫程度的增加而增大, 在 0.3%NaCl 胁迫下, Pro 量与对照差异不显著, 当 NaCl 浓度达到 0.4%时, Pro 量显著增加, 以调节减轻 NaCl 胁迫对细胞的毒害作用。可溶性蛋白量随着 NaCl 胁迫程度的增加而逐渐减小, 在 0.3%时, 可溶性蛋白量与对照差异不明显, 当 NaCl 胁迫程度达到 0.4%时, 可溶性蛋白量显著降低, 说明当 NaCl 胁迫程度达到 0.4%时, 加速银柴胡体内蛋白质的分解, 合成受阻。

3 讨论

NaCl 胁迫对植物的影响主要表现在离子胁迫

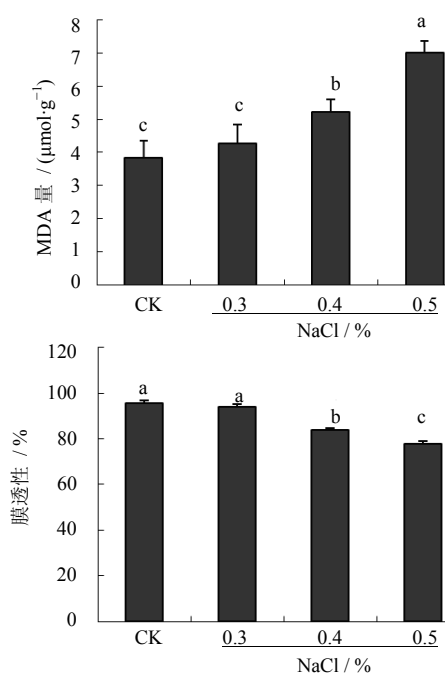


图4 NaCl胁迫对银柴胡叶片MDA量和膜透性的影响

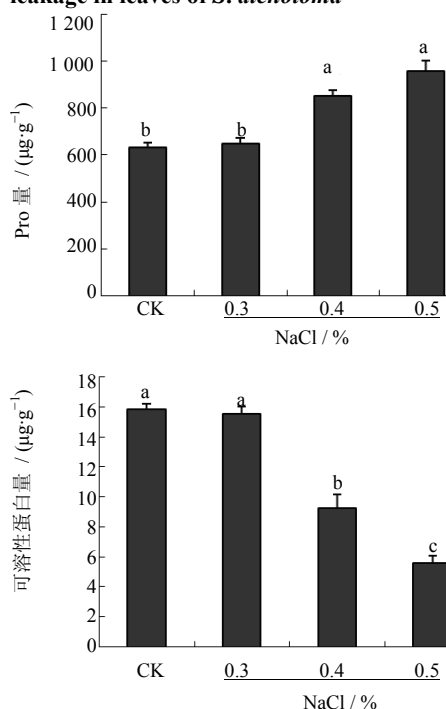
Fig. 4 Effect of NaCl stress on MDA content and electrolyte leakage in leaves of *S. dichotoma*

图5 NaCl胁迫对银柴胡叶片Pro和可溶性蛋白量的影响

Fig. 5 Effect of NaCl stress on contents of pro and soluble protein in leaves of *S. dichotoma*

和渗透胁迫,植物对NaCl胁迫的不同表现,是一系列生理生化过程在植物体内综合作用的结果^[11]。NaCl对植物个体形态发育具有显著的影响,不同浓度NaCl胁迫对植物最普遍和最显著的效应就是抑

制生长^[12-13]。因此,生长抑制是植物对NaCl胁迫响应最敏感的过程。本实验结果表明,NaCl胁迫对银柴胡的生长影响明显。在0.3% NaCl胁迫下,银柴胡的株高、地上部分干质量、根长及根干质量均与对照没有显著差异,而当NaCl胁迫程度达到0.4%时,银柴胡株高、地上部分干质量、根长及根干质量均受到不同程度的抑制,且随着NaCl胁迫程度的提高,这种抑制作用增强。说明轻度的NaCl胁迫并没有抑制银柴胡植株生长,但严重NaCl胁迫下银柴胡植株生长受到了明显抑制。

NaCl胁迫引起的伤害与活性氧的产生与积累有关,过多的活性氧导致膜脂过氧化、膜的选择通透性丧失。MDA是植物膜脂氧化的最终产物,是检测植物膜伤害的一个重要指标,其量可以表示质膜过氧化的程度^[14]。本实验结果表明,银柴胡在0.3% NaCl浓度下MDA量较低,而膜透性较高,与对照没有明显差异;而当NaCl胁迫程度达到0.4%时,MDA量显著增加,膜透性显著降低。说明在低NaCl胁迫下银柴胡叶细胞膜系统没有受到胁迫的伤害,银柴胡细胞膜的稳定性强,能适应一定的NaCl胁迫环境。

在正常条件下,细胞活性氧的产生与清除处于动态平衡状态。在NaCl胁迫下,该平衡被打破^[15]。因此,植物在逆境胁迫下会在一定程度上提高其自身的抗氧化能力,从而提高植物对逆境的适应性。本实验结果表明,在较低浓度NaCl胁迫(0.3% NaCl)下,银柴胡对胁迫产生一定的适应性,SOD、POD和CAT活性均不同程度地升高,这些保护酶系统在发挥其保护作用,但当NaCl胁迫超过0.4%时,这些保护酶的活性反而下降,说明NaCl胁迫已超过银柴胡的适应能力,从而对银柴胡生长产生伤害。

综上所述,在轻度的NaCl胁迫(0.3% NaCl)情况下,银柴胡植物能通过调节自身生长和保护酶系统、渗透物质和MDA量等来抵抗NaCl胁迫的伤害,表现出一定的耐NaCl性,但当NaCl胁迫程度超过0.4% NaCl以后,NaCl胁迫明显抑制银柴胡的生长。这对于银柴胡在轻度盐渍地的栽培和推广具有一定的借鉴依据。

参考文献

- [1] 周新蓓, 欧阳荣. 中药饮片银柴胡与混伪品的对比辨识[J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(2): 43-45.
- [2] 张晶, 聂晶. 银柴胡药材品种的鉴别[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(1): 43.

- [3] Sun B, Morikawa T, Matsuda H, *et al.* Structures of new beta-carboline-type alkaloids with antiallergic effects from *Stellaria dichotoma* (1, 2) [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(9): 1464-1469.
- [4] Morita H, Hzuka T, Cheeyan C, *et al.* Dichotomins J and K, vasodilator cyclic peptides from *Stellaria dichotoma* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68 (11): 1686-1688.
- [5] 彭 励, 吴晓玲, 鲍 瑞, 等. 银柴胡种子形态结构与发芽的研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2006, 8(1): 121-123.
- [6] 刘志新, 王博妍, 权洪峰. 宁夏道地药材银柴胡种子生活力等指标的测定 [J]. 黑龙江医药, 2010, 23(5): 711-713.
- [7] 鲍 瑞, 韦 红, 邢世瑞. 宁夏人工种植银柴胡不同区域适应性研究 [J]. 农业科学研究, 2006, 27(3): 49-53.
- [8] Manoranjan K, Dinabandhu M. Catalase, peroxidase, and poly-phenoloxidase activities during rice leaf senescence [J]. *Plant Physiol*, 1976, 57: 315-319.
- [9] Garcia-Limones C, Hervas A, Navas-Cortes J A, *et al.* Induction of an antioxidant enzyme system and other oxidative stress markers associated with compatible and incompatible interactions between chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Fusarium oxysporum*. f sp. ciceris [J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 2002, 61: 325-337.
- [10] Bird B R. Determination of malondialdehyde in biological materials by high-pressure liquid chromatography [J]. *Analy Bioch*, 1983, 128: 240-244.
- [11] 赵可夫, 李法曾, 樊守金, 等. 中国的盐生植物 [J]. 植物学通报, 1999, 16(3): 201-207.
- [12] 张新慧, 郎多勇, 白长财, 等. 外源硅对不同程度盐胁迫下甘草种子萌发和幼苗生长发育的影响 [J]. 中草药, 2014, 45(14): 2075-2079.
- [13] 秦 伟, 韩 晶, 克热木·伊力. 盐胁迫对椴栉组培苗生长及其生理特征的影响 [J]. 西北植物学报, 2008, 28(12): 467-471.
- [14] 刘爱荣, 张远兵, 陈登科. 盐处理对盐芥(*Thellungiella halophila*) 生长和抗氧化酶活性的影响 [J]. 植物研究, 2006, 26(2): 216-220.
- [15] 於丙军, 刘友良. 盐处理对一年生盐生野大豆幼苗活性氧代谢的影响 [J]. 西北植物学报, 2003, 23(1): 18-22.