

# 低温胁迫下鹿蹄草内源激素的变化分析

刘琦<sup>1</sup>, 孙彩玉<sup>2\*</sup>

(1. 东北林业大学生实验室与设备管理处(分析测试中心), 黑龙江哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学生态研究中心, 黑龙江哈尔滨 150040)

**摘要** 以鹿蹄草叶片为材料, 进行 4 ℃ 低温胁迫, 研究了鹿蹄草内源激素变化规律。结果显示, 在低温胁迫过程中, 鹿蹄草体内 ABA 含量随低温胁迫时间延长大幅度上升, 胁迫时间 6 d 时, ABA 含量达到最高, 为初始含量的 481%, 表现为极度敏感; 鹿蹄草体内 GA 含量随胁迫时间延长整体呈现上升趋势, 但上升幅度较为缓慢, 在胁迫时间 4 d 时鹿蹄草体内 GA 含量达到最高, 为初始含量的 159%; IAA 含量则随胁迫时间延长呈现缓慢下降趋势, 胁迫时间 10 d 时鹿蹄草体内 IAA 含量最低, 为初始含量的 54%。同时分析了各激素的含量配比, 结果显示, 在低温胁迫过程中, 激素间的含量配比呈现一定的关系。

**关键词** 鹿蹄草; 低温胁迫; 内源激素

**中图分类号** S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)34-13330-02

## *Pyrola* Changes in Endogenous Hormone under Low Temperature Stress

LIU Qi et al (Laboratory and Equipment Management Office (Analysis and Testing Center) Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

**Abstract** 4 ℃ low temperature stress was conducted on *Pyrola* leaves. The variation law of endogenous hormones was studied. The results showed that in the process of low temperature stress, ABA content increased significantly with cold stress prolonged, when the stress time to 6 d, ABA content reached the highest initial levels of 481 percent, showing extremely sensitive; GA content in the overall upward trend but rise more slowly, when the stress time to reach 4 d highest content of GA, the initial content of 159%; IAA content is decreasing slowly, when the stress time reach the 10 d IAA content showed the lowest initial concentration of 54%. The content of the hormone ratio were analyzed, in the process of low temperature stress, hormones ratio showed a certain relationship.

**Key words** *Pyrola*; Low temperature stress; Endogenous hormone

鹿蹄草 (*Pyrola calliantha* H. Andr), 又称鹿寿草, 鹿衔草, 属于鹿蹄草科 (Pyrolaceae) 鹿蹄草属 (*Pyrola* L.)。鹿蹄草属植物全世界约有 30 余种, 主要分布于北半球的温带和寒温带地区, 我国是其主要分布区, 并且种类繁多, 共有 27 种 3 变种, 集中分布在西南的四川、云南、贵州、西藏等省和东北的黑龙江大、小兴安岭, 吉林长白山地区等<sup>[1]</sup>。对于鹿蹄草的研究, 已有悠久的历史。在我国民间, 鹿蹄草作为一种中草药有极其广泛的应用, 并且其在苗药、藏药中也有非常重要的地位。植物的内源激素控制着植物代谢的很多方面。近年来关于植物对环境抗逆性和适应能力的研究已成为植物生物学研究的重要方向。植物在不利环境胁迫下 (例如冻害、高温、盐分过多等), 一定范围内能够生存<sup>[2]</sup>。植物对不同环境的适应能力表现不同, 在自然界植物很少遭受单一的环境胁迫, 多为同时或相继经受多种环境胁迫, 呈交叉适应的现象, 即植物在某种非致死胁迫条件下, 可增强对一种或多种胁迫的抗性, 这种交叉适应现象甚至在 2 种相对立的胁迫之间存在<sup>[3]</sup>。笔者对低温胁迫下鹿蹄草内源激素的相应变化进行分析研究, 以期为进一步探寻鹿蹄草的独特抗寒机制提供依据。

## 1 材料与与方法

**1.1 试验材料及其处理** 试验材料为鹿蹄草植株。采自五大连池老黑山地区。移栽入盆, 用营养土进行培养, 后取长势相同植株移入 4 ℃ 人工气候箱进行低温胁迫处理。试验设置的低温为 4 ℃ 连续梯度时间低温胁迫。胁迫时间为 0、

2、4、6、8、10 d 6 个梯度。分别取长势一致并无虫害的叶片, 用清水洗去表面残留泥土, 再用去离子水冲洗 2 遍。将叶片表面残留水分吸干, 将叶片切成约 0.5 cm<sup>2</sup> 小块, 存于锡纸包内, 每包 1.0 g, 液氮冷冻, 置于 -80 ℃ 冰箱中保存备用。

**1.2 仪器** 4 ℃ 人工气候箱, 研钵, 冷冻离心机, 台式快速离心浓缩干燥器或氮气吹干装置, 酶联免疫分光光度计, 吸水纸, 恒温箱, 冰箱, 酶标板 (40 孔或 96 孔), 可调微量液体加样器 (10、40、200、1 000 μl), 带盖瓷盘 (内铺湿纱布) 等。

**1.3 试验地点** 鹿蹄草材料的低温处理在东北农业大学生命中心实验室 4 ℃ 人工气候培养箱中进行; 激素的测定在东北农业大学生命学院植物生理实验室完成。

**1.4 内源激素的提取与测定方法** 植物内源激素的提取参照 Xu 等<sup>[4]</sup>的方法。并在该基础上稍加改进。称取 1.0 g 叶片 (即一个锡纸包), 加入 3 ml 80% 内含 1 mmol/L BHT (二叔丁基对甲苯酚) 的甲醇水溶液和 100 mg PVP (聚乙烯吡咯烷酮), 冰浴研磨, 匀浆转入 10 ml 试管, 摇匀后置于 4 ℃ 下提取 4 h。2 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 过 C18 柱纯化 2 次。滤出液定容至 1.5 ml。样品叶片中的 ABA、IAA 和 GA 的含量测定参照王保民等<sup>[5]</sup>酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定, 3 次重复, 剔除异常。样品 ABA、GA 和 IAA 含量以 ng/(g·FW) 表示。

**1.5 数据处理与统计分析** 采用 Microsoft Excel 2003 进行数据计算, SPSS17.0 软件进行分析。

## 2 结果与分析

**2.1 低温胁迫与 ABA 的关系** 图 1 表明, 鹿蹄草在低温胁迫过程中, ABA 含量在胁迫的 0~2 d 呈现略微下降的趋势, 之后随胁迫天数延长鹿蹄草体内 ABA 大幅度上升, 胁迫 4、6、8、10 d 分别为初始 ABA 含量的 454%、481%、294% 和

**基金项目** 中央高校基本科研业务费专项资金(2572014AB09)资助。  
**作者简介** 刘琦(1987-), 男, 吉林辉南人, 助理工程师, 硕士, 从事分析测试学研究。\* 通讯作者, 博士, 从事生态环境学研究。  
**收稿日期** 2013-11-03

288%。胁迫时间 6 d 时,ABA 含量达到最高值,比低温胁迫 0 d 的含量平均增高了 481%;随后随着低温胁迫时间延长,含量下降,比 ABA 含量的最高水平 ABA 分别下降 61% 和 59%。

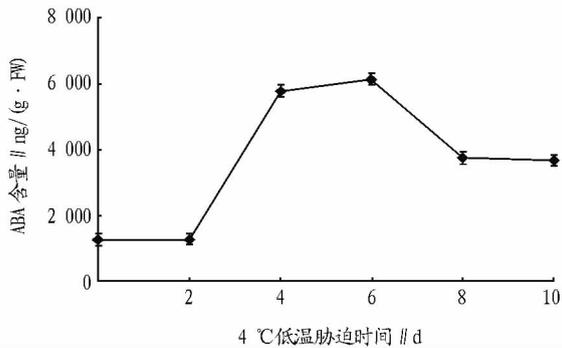


图1 4 °C低温胁迫过程中鹿蹄草叶片 ABA 含量的变化

**2.2 低温胁迫与 GA 的关系** 图 2 显示,鹿蹄草在低温胁迫过程中,GA 含量整体呈上升趋势,但上升幅度较为缓慢,在整个胁迫过程中,低温胁迫 2、4、6、8 和 10 d 向鹿蹄草体内 GA 含量分别为初始含量的 132%、159%、138%、127% 和 110%。在胁迫时间达到 4 d 时鹿蹄草体内的 GA 含量达到最高水平,其含量约为胁迫 0 d 含量的 159%,随着胁迫时间延长,鹿蹄草体内的 GA 含量又呈现下降趋势。当胁迫时间增至 10 d 时,鹿蹄草体内 GA 含量为胁迫 4 d 时的 69%。

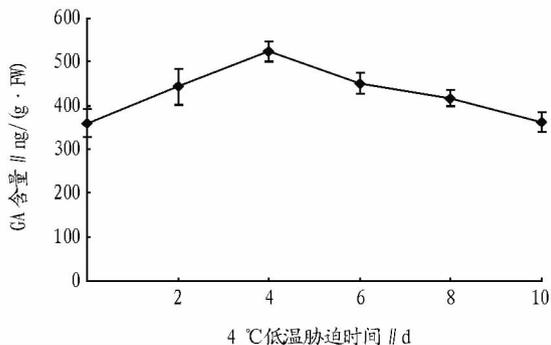


图2 4 °C低温胁迫过程中鹿蹄草叶片 GA 含量的变化

**2.3 低温胁迫与 IAA 的关系** 图 3 表明,鹿蹄草体内 IAA 含量随着低温胁迫时间延长而呈现下降趋势。在低温胁迫 2、4、6、8 和 10 d 鹿蹄草体内 IAA 含量分别为初始 IAA 含量的 94%、81%、69%、57% 和 54%。低温胁迫时间达 10 d 时鹿蹄草体内 IAA 含量最低,为初始 IAA 含量的 54%。低温胁迫 8 d 与胁迫 10 d 的叶片 IAA 含量变化幅度较小。

**2.4 低温胁迫过程中各种内源激素的配比** 表 1 表明,在低温胁迫过程中各激素的浓度配比 ABA/GA 的比值随着胁迫时间延长呈现先上升趋势后下降的趋势,但上升趋势大于下降的趋势,最大比值达 13.60,为初始比值的 372.6%。ABA/IAA 的比值和 ABA/GA 比值的变化趋势基本相同,随着胁迫时间延长呈现先上升后下降的趋势,最高比值为初始比值的 663.9%;GA/IAA 的比值则随着胁迫时间延长而呈现稳定的上升趋势,最高比值为初始比值的 198.2%。

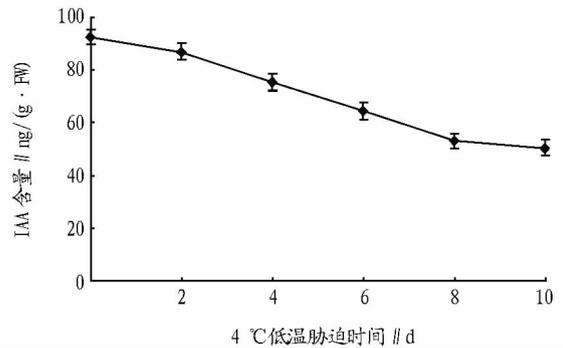


图3 4 °C低温胁迫过程中鹿蹄草叶片 IAA 含量的变化

表1 4 °C低温胁迫过程中不同激素的含量配比

| 低温胁迫时间//d | ABA/GA | ABA/IAA | GA/IAA |
|-----------|--------|---------|--------|
| 0         | 3.53   | 13.78   | 3.93   |
| 2         | 2.88   | 14.68   | 5.09   |
| 4         | 11.09  | 75.95   | 6.93   |
| 6         | 13.60  | 95.27   | 7.00   |
| 8         | 8.99   | 70.27   | 7.87   |
| 10        | 10.74  | 71.44   | 6.78   |

### 3 讨论

植物激素是控制植物生长发育的一类最重要物质,它们影响植物的一切关键生物过程,如胚胎、根、花的发育、维管分化、顶端优势、向性反应等<sup>[6]</sup>。植物对干旱、低温、盐渍、高温、营养胁迫等逆境的适应受遗传性和内源激素控制,近年来,植物内源激素与植物抗逆关系的研究也逐渐增多。多种内源激素的相对含量对植物的抗逆性研究更为重要<sup>[7]</sup>。

一般认为,ABA 是一种胁迫激素,它调节植物对胁迫环境的适应,ABA 的生物合成受到环境的调控,低温胁迫会刺激 ABA 的迅速积累,特别是使保卫细胞内的 ABA 含量急剧增加,引起气孔关闭以及蒸腾速率降低,是植物自我保护的重要手段之一。该研究结果表明,ABA 含量的增加与前人研究一致。但鹿蹄草的低温胁迫过程中,ABA 含量在胁迫 4~6 d 时表现为极度敏感增加,随后又随时间的延长而降低,与前人研究结果稍有不同,这有可能与物种本身以及胁迫时间有关。多数研究结果认为,植物体内 GA 含量高的抗寒性较弱<sup>[8]</sup>。该试验中,鹿蹄草叶片 GA 含量在低温胁迫过程中呈先上升后下降的趋势,但整体变化幅度不大。没有呈现出与 ABA 相似的敏感性变化。一般认为,逆境下引起 GA 含量下降一方面抑制生长;另一方面,可以调节植物的生理生化效应,如改变植物体内水分的利用,促进气孔关闭,减少蒸腾,增强并维持叶绿素、蛋白质和核酸含量等。生长素 IAA 是最早(1940 年)用来控制植物抗寒性的植物生长调节剂,现在人们认为,生长素代谢也是植物抗寒性调控系统的一部分。许多证据表明,外源生长素是降低植物抗寒性的因素<sup>[9]</sup>。该试验发现,鹿蹄草叶片的 IAA 含量随低温胁迫时间延长而降低,其 IAA 含量变化是因为生长素促进植物的生长,而植物生长旺盛时期其抗逆性相对较弱,所以鹿蹄草在低温胁迫下,随胁迫时间延长,其 IAA 合成减少,以此提高抗寒性。

时的碳氮源浓度、温度、pH 等各项指标。以实际染料废水作为试验对象,筛选培养出针对混合染料可投入实际应用的优秀菌株,将白腐菌处理染料废水技术早日应用于生产当中去,为我国工业染料废水处理作出贡献。

### 参考文献

- [1] PALMIERI G, CENNAMO G, SANNIA G. Remazol Brilliant R decolorisation by the fungi *Pleurotus ostreatus* and its oxidative enzymatic system[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2005, 36: 17–27.
- [2] ASGHER M, NOREEN S, BHATTI H N. Decolorization of dye-containing textile industry effluents using *Ganoderma lucidum* IBL-05 in still cultures[J]. *Water Environment Research*, 2010, 82(4): 357–361.
- [3] KIRK T K, SHIMADA M. Lignin biodegradation: the microorganisms involved and the physiology and biochemistry of degradation by white rot fungi[J]. *Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components*, 1985, 3(1): 579–605.
- [4] 李慧蓉. 白腐真菌在碳素循环中的地位和作用[J]. *微生物学通报*, 1996, 23(2): 105–109.
- [5] CRIPPS C, BUMPUS J A, AUST S D. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56(4): 1114–1118.
- [6] BUMPUS J A, BROCK B J. Biodegradation of crystal violet by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1988, 54(5): 1143–1150.
- [7] GLENN J K, GOLD M H. Decolorization of several polymeric dyes by the lignin-degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *Appl Environ Microb*, 1983, 45(6): 1741–1747.
- [8] BUMPUS J A, BROCK B J. Biodegradation of crystal violet by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *Appl Environ Microb*, 1988, 54(5): 1143–1150.
- [9] CRIPPS C, BUMPUS J A, AUST S D. Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *Appl Environ Microb*, 1990, 56(4): 1114–1118.
- [10] JEBAPRIYA G R, GNANADOSS J J. Bioremediation of textile dye using

white rot fungi: A review[J]. *Int J Cur Res Rev*, 2013, 5(3): 1–13.

- [11] ASGHER M, AZIM N, BHATTI H N. Decolorization of practical textile industry effluents by white rot fungus *Coriolus versicolor* IBL-04[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2009, 47(1): 61–65.
- [12] SUMATHI S, MANJU B S. Uptake of reactive textile dyes by *Aspergillus foetidus*[J]. *Enzyme & Microb Technol*, 2000, 7: 347–355.
- [13] BAYRAMOĞLU G, ÇELİK G, ARICA M Y. Biosorption of reactive blue 4 dye by native and treated fungus *Phanerochaete chrysosporium*: Batch and continuous flow system studies[J]. *J Hazardous Mat*, 2006, 137: 1689–1697.
- [14] ASSADI M M, ROSTAMI K, SHAHVALI M, et al. Decolorization of textile wastewater by *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *Desalination*, 2001, 141: 331–336.
- [15] 李华钟, 章燕芳. 白腐菌与染料废水的处理[J]. *工业水处理*, 2001, 21(5): 1–5.
- [16] INUI H, UEYAMA Y, SHIOTA N, et al. Herbicide metabolism and cross-tolerance in transgenic potato plants expressing human CYP1A1[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 1999, 64(1): 33–46.
- [17] DOTY S L, SHANG T Q, WILSON A M, et al. Enhanced metabolism of halo-generated hydrocarbons in transgenic plants containing mammalian cytochrome P450 2E1[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(12): 6287–6291.
- [18] ASGHER M, YASMEEN Q, IQBAL H M N. Enhanced Decolorization of Solar Brilliant Red 80 textile dye by an indigenous White rot fungus *Schizophyllum commune* IBL-06[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2013, 20(4): 347–352.
- [19] INUI H, SHIOTA N, MOTOI Y, et al. Metabolism of herbicides and other chemicals in human cytochrome P450 species and in transgenic potato plants co-expressing human CYP1A1, CYP2B6 and CYP2C19[J]. *J Pestic Sci*, 2001, 26(1): 28–40.
- [20] KAWAHIGASHI H, HIROSE S, HAYASHI E, et al. Phytotoxicity and metabolism of ethofumesate in transgenic rice plants expressing the human CYP2B6 gene[J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2002, 4(3): 139–147.
- [21] 谭国民, 柳荣展, 李群. 白腐菌对染料脱色及降解的影响因素[J]. *中国造纸学报*, 2003, 18(1): 131–134.

(上接第 13331 页)

在各个激素的含量配比中,三者呈现密切关系,ABA 和 GA 是从甲羟戊酸通过光敏素系统转化而成,在长日照下产生 GA,在短日照下则产生 ABA,虽然两者的生理作用完全不同,但却存在内在联系。Irving<sup>[10]</sup>等最早发现在短日照(SD)下木岑叶槭叶片内源 ABA 类物质含量增加,而 GA 含量下降,抗寒性随之增强;在长日照(LD)和日温 25℃、夜温 5℃条件下,叶片内 ABA 类物质含量变化不大,而 GA 类物质含量降低很多,抗寒性也大大增强,但不同品种或同种不同生境下 ABA、GA 的贡献率不同。植物激素在植物抗寒力调控中起重要作用,植物激素可能通过某种平衡状态(如 ABA/GA 高或 GA/ABA 低时)启动抗寒基因表达或(和)对维持膜结构功能起作用。这与该研究结果一致。ABA/IAA 比值先升高后降低,GA/IAA 则随着低温胁迫时间延长呈上升趋势,暗示激素的比值更能清楚描述鹿蹄草在适应低温过程中的作用。暗示对低温适应起作用的并非某一类激素,而是不同激素间的平衡。

综合以上分析,叶片内源激素含量可以作为鹿蹄草抗寒能力的评价指标,不同种内源激素在鹿蹄草抗寒过程中呈现出不同的变化趋势。在植物低温逆境胁迫过程中,环境条件

的变化(温度降低、日照渐短等)或发育的内生节奏的改变导致植物体内内源激素平衡状况发生变化,从而启动抗寒基因表达,改变代谢途径,合成和积累抗寒物质,促进植物抗寒性的增强。

### 参考文献

- [1] 胡文光, 胡琳贞. 中国植物志. 第 56 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1990: 158–193.
- [2] 王学臣, 李颖章. 植物医学的抗逆生物学基础[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1996.
- [3] 曾韶西, 王以柔, 李美如. 不同胁迫预处理提高水稻幼苗抗寒性期间膜保护系统的变化比较[J]. *植物学报*, 1997, 39(4): 308–314.
- [4] XU X, LAMMEREN A A M, VERMEER E, et al. The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation in vitro[J]. *Plant Physiology*, 1993, 72: 249–254.
- [5] 王保民. 植物激素的酶联免疫吸附测定法[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.
- [6] 葛辛. 高级植物分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 123–145.
- [7] 刘祖祺, 张石诚. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1994: 50–66.
- [8] 赵春江, 康书江, 王纪华, 等. 植物内源激素与不同基因型小麦抗寒性关系的研究[J]. *华北农学报*, 2000, 15(3): 51–54.
- [9] HOWELL G S, DENNIS F G. In Olien CR, Smith MN. Analysis and improvement of Plant Cold Hardness[M]. NY: CRC Press, 1981.
- [10] 罗正荣. 植物激素与抗寒力的关系[J]. *植物生理学通讯*, 1989(3): 1–5.