

大庆地区 6 种委陵菜生长末期的生理指标变化

赵晓菊^{1,2}, 尤凤丽¹, 张晶¹, 于丽¹, 王强¹, 张美薇¹

(1. 大庆师范学院生命科学学院, 黑龙江大庆 163712; 2. 东北林业大学, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要 在自然降温过程中, 以大庆地区委陵菜、蔓委陵菜、伏委陵菜、蒿叶委陵菜、光叉委陵菜、鹅绒委陵菜为试验材料, 对叶片中的过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、硝酸还原酶(NR)的活性及丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)、可溶性糖的含量等指标进行了研究。结果表明, 随着温度的逐渐降低, 光叉委陵菜中 POD 活性最小, NR 活性波动最大。鹅绒委陵菜中可溶性糖的含量在 6 种委陵菜中波动最小, Pro 含量最低, 委陵菜中 MDA 含量波动范围最大, 蒿叶委陵菜中 CAT 活性最低, POD 活性最高。

关键词 委陵菜; 过氧化物酶; 过氧化氢酶; 丙二醛; 脯氨酸

中图分类号 S567; Q945.79 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)09-03763-05

Physiological Indexes Variation of 6 kinds of *Potentilla chinensis* at the End of Growth in Daqing Area

ZHAO Xiao-ju et al (School of Life Science, Daqing Normal College, Daqing, Heilongjiang 163712)

Abstract In the process of natural cooling, the activities of peroxidases (POD), catalase (CAT), nitrate reductase (NR), and the content of malondialdehyde (MDA), proline (Pro) and soluble sugar were studied based on 6 kinds of experimental materials such as *Potentilla chinensis*, *Potentilla flagellaris*, *Potentilla paradoxa*, *Potentilla tanacetifolia*, *Potentilla bifurca*, and *Potentilla anserina* in Daqing area. The results showed that the activities of POD in the *Potentilla bifurca* are the least while the fluctuation scope of activities of NR in the *Potentilla bifurca* is higher than others, with the temperature getting lower. Among them, the content of soluble sugar in *Potentilla anserina* fluctuates least and it has the least Pro. The fluctuation scope of content of MDA in the *Potentilla chinensis* is superior to others. The activities of CAT are minimum but that of POD operate at their most efficient.

Key words *Potentilla chinensis* Ser; Peroxidase; Catalase; Malondialdehyde; Proline

委陵菜(*Potentilla chinensis* Ser), 为蔷薇科(Rosaceae)委陵菜属(*Potentilla*)植物。该植物广泛分布于北温带, 全球共有 500 余种, 我国约有 86 种, 全国各省均有分布, 以北方和西南地区居多, 是一年生或多年生草本植物, 少数为灌木^[1], 种类多, 种群数量大, 具有很高的应用价值。大庆地区位于松嫩平原中部, 位于 45°23' ~ 47°29' N, 123°45' ~ 125°48' E, 地处中温带大陆季风气候区, 年平均风速 3.8 m/s, 每年 6 级以上大风 30 d。年平均气温 4.2 °C, 无霜期 143 d, 年平均降水量 427.5 mm。该地区是典型的西部风沙干旱区。委陵菜属植物抗逆性较强, 对温度、水分、养分及光照等条件的适应范围很宽, 能适应北方寒冷、干旱的气候环境, 有良好的涵养水源、保持水土及护坡作用^[2]。委陵菜属植物在大庆草原、市区分布广, 种群数量大, 适应当地的干旱气候、土壤沙漠化和盐碱化等不良条件, 而且具有株型低矮、绿色期长、花期较长等特点, 可成为良好的城市园林绿化资源^[3]。目前, 对委陵菜属植物的研究主要集中在资源开发利用、药用和观赏价值、引种驯化等工作^[4-7], 对其生理特性的研究甚少。委陵菜生长末期是植株进入越冬前的阶段。其生长对植物越冬及其进行某些抗性研究都值得关注。笔者以 9 ~ 10 月间大庆地区生长的 6 种委陵菜为试验材料, 对生长末期过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、硝酸还原酶(NR)的活性及丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)、可溶性糖含量变化进行比较研究, 深入了解其生长末期生理的指标变化, 为研究委陵菜的药用价值与其园林观赏性提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 在 46°38'59.86" N, 124°51'24.80" E, 海拔 148.04 m 地区, 自然条件下试验田中取长势良好的鹅绒委陵菜、蔓委陵菜、光叉委陵菜、委陵菜、伏委陵菜和蒿叶委陵菜。清洗叶片后, 取去掉叶脉的主叶片进行试验。

1.2 方法

1.2.1 CAT 活性的测定方法。 取植物叶片 0.5 g, 加入 pH 7.8 的磷酸缓冲溶液, 研磨成匀浆, 定容到 5 ml, 4 000 r/min 离心 15 min, 取 50 ml 三角瓶 4 个, 向待测定瓶中加入酶液 2.5 ml, 对照中加磷酸缓冲溶液 2.5 ml, 再加入 2.5 ml 0.1 mol/L H₂O₂, 同时计时, 于 30 °C 恒温水浴中保温 20 min, 立即加入浓度 10% H₂SO₄ 2.5 ml, 用 0.1 mol/L KMnO₄ 标准溶液滴定, 至出现粉红色(在 30 s 内不消失)为终点。用标准 0.1 mol/L KMnO₄ 溶液(在酸性条件下)标定出其实际浓度。

1.2.2 NR 活性的测定方法。 绘制标准曲线, 再称取 3 份材料, 每份 1 g, 然后分别放入 3 个 50 ml 的三角瓶中, 编号 1、2、3, 向 3 个三角瓶中分别加入 0.1 mol/L pH 7.5 磷酸缓冲液 4 ml, 0.04 mol/L KNO₃ 溶液 4 ml, 1 号三角瓶中加入 1 ml 浓度 30% 三氯乙酸, 其他不加入三氯乙酸, 摇匀后将三角瓶置于真空干燥器中, 接上真空泵抽气 10 min。放气后叶片变软, 并沉入溶液。将三角瓶取出后放入恒温箱, 在 30 °C、暗条件下保温 30 min。取出后, 立即分别向 2、3 号瓶加 1 ml 浓度 30% 三氯乙酸以终止酶反应。将各瓶中的反应液离心(2 000 r/min, 10 min), 然后分别吸取上清液 2 ml 于另一试管中, 各加入 4 ml 浓度 1% 对氨基苯磺酸和 4 ml 浓度 0.2% α-萘胺, 室温显色 20 min 后测定 540 nm 波长下的光密度。用 2、3 号管溶液光密度平均值减去 1 号管溶液的光密度, 得到的值在标准曲线上查出相应的 NaNO₂ 含量。

基金项目 大庆师范学院大学生创新创业项目(CX12049)。

作者简介 赵晓菊(1978 -), 女, 黑龙江鹤岗人, 讲师, 博士, 从事植物生理生态方面的研究, E-mail: zxj_daisy@163.com。

收稿日期 2013-03-29

1.2.3 MDA 含量的测定方法。取委陵菜叶片 0.5 g, 剪碎, 加入浓度 10% 三氯乙酸(TCA) 5 ml 和少量石英砂, 研磨, 转移到离心管中, 匀浆液以 4 000 r/min 离心 10 min。吸取 2 ml 提取液, 加入 2 ml 浓度 0.6% TBA 液, 混匀, 沸水浴 15 min 后迅速冷却, 离心。取上清液在 532 和 450 nm 下测 OD 值, 以水作为对照。

1.2.4 Pro 含量的测定方法。绘制标准曲线, 再取各样叶片 0.5 g, 用浓度 3% 磺基水杨酸 5 ml 研磨提取, 匀浆移至离心管中, 在沸水浴中提取 10 min(提取过程中要不断振荡)。冷却后, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液待测。各取 2 ml 上清液, 分别加入 2 ml 冰醋酸和 2 ml 浓度 2.5% 茚三酮试剂于具塞试管中, 置沸水浴中显色 30 min, 冷却后加入 4 ml 甲苯, 盖好盖子后于旋涡混合仪上振荡 0.5 min, 静置分层, 吸取红色甲苯相, 在波长 520 nm 处测定 OD 值。最后, 从标准曲线上查得 Pro 含量。

1.2.5 POD 活性的测定方法。取 0.4~1.5 g 委陵菜于研钵中, 加入 5 ml 0.02 mol/L KH_2PO_4 溶液, 研磨, 离心(4 000 r/min, 15 min), 将上清液置于冷处保存, 残渣进行再处理, 将 2 次上清液合并。取 2 个比色皿, 向其中一个比色皿加入反应混合液 3 ml、 KH_2PO_4 1 ml, 向另一比色皿中加入反应混合液 3 ml、酶液, 在 470 nm 波长下测 OD 值。

1.2.6 可溶性还原糖含量的测定方法。取委陵菜叶片 0.15 g, 磨碎, 放入 10 ml 离心管中, 加入 10 ml 浓度 80% 乙醇, 搅拌均匀后于 80~85 °C 水浴 30 min, 冷却后离心(4 000 r/min, 15 min), 将上清液倒入 50 ml 容量瓶中, 重复抽提 1 次, 弃残渣, 再用浓度 80% 乙醇定容提取液至 50 ml, 然后取 1 ml 提取液, 加入 4 ml 蒽酮试剂, 90 °C 下水浴 15 min, 冷水浴后在 620 nm 下测定 OD 值。

2 结果与分析

2.1 6 种委陵菜叶片中 Pro 含量的变化 Pro 的积累是植物响应环境胁迫, 特别是水分胁迫的重要机制之一。在自然条件下, 随着温度的降低, 委陵菜与蔓委陵菜 Pro 含量变化的趋势相同, 伏委陵菜与蒿叶委陵菜的变化趋势相同, 鹅绒委陵菜、光叉委陵菜的变化呈现出互补的趋势, 且波动较大。总体来看, 当温度降低时, 6 种委陵菜的 Pro 含量均有升高趋势, 其中鹅绒委陵菜与光叉委陵菜的总体含量偏高, 都在 10 $\mu\text{g/g}$ 左右, 且波动性较大, 说明其抗逆性较强, 而委陵菜的 Pro 含量较低, 平均在 5 $\mu\text{g/g}$, 而且波动的幅度较小, 说明其抗逆性较弱。由图 1 可知, 由于物种间的差异, 随着温度的变化, 6 种委陵菜脯氨酸含量的变化趋势不是完全一致, 但总体来看, 随着外界温度的降低, 委陵菜内脯氨酸含量均增加。

2.2 6 种委陵菜叶片中 CAT 活性的变化 CAT 能清除植

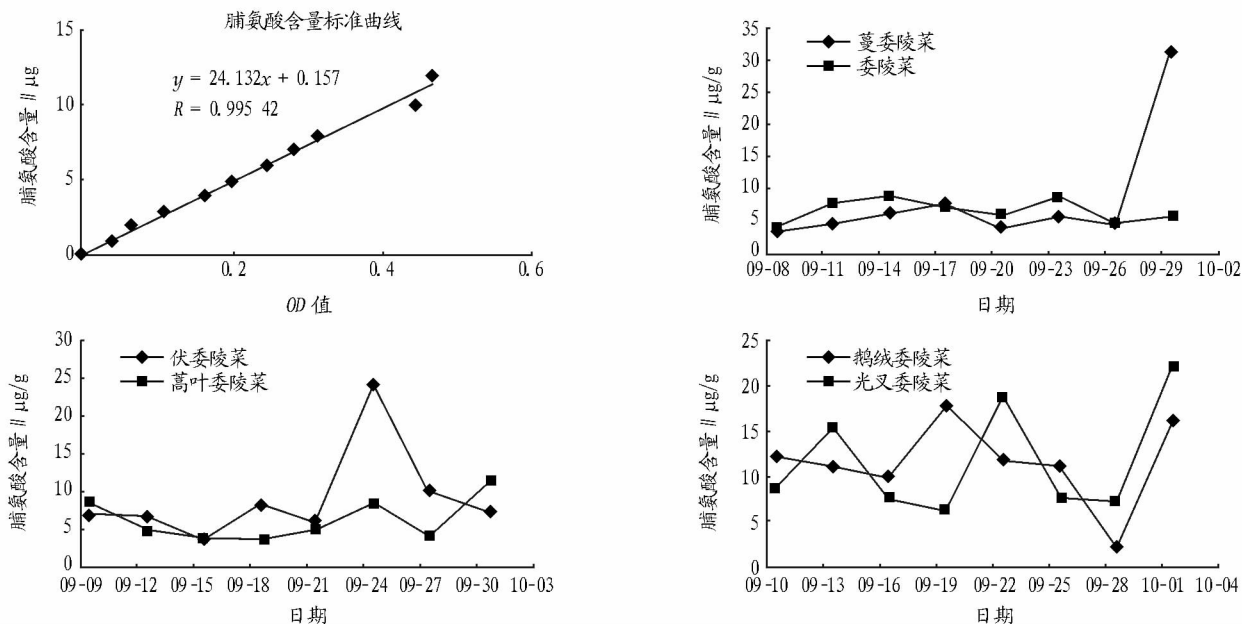


图 1 6 种委陵菜脯氨酸含量的变化

物体内由光呼吸形成的 H_2O_2 , 以维持植物体内的 H_2O_2 处于一个低浓度的水平。CAT 的主要作用是分解 H_2O_2 , 与 SOD 和 POD 协同作用, 降低自由基的浓度以减少植物受到伤害^[7]。由图 2 可知, 由于物种间的差异, 随着温度的变化, 6 种委陵菜中 CAT 的活性变化趋势不完全一致, 在最后一天这 6 种委陵菜活性最高, 其中蒿叶委陵菜中 CAT 活性最低, 波动最小。而蔓委陵菜波动最大, 但总体来说, 当温度逐渐降低时 CAT 活性均增加, 只有鹅绒委陵菜的趋势下降。通过比较, 发现除了鹅绒委陵菜, 其他委陵菜之间的 CAT 活性

差异并不显著。

2.3 6 种委陵菜叶片中 POD 活性的变化 POD 是植物对膜脂过氧化的酶促防御系统中的一种重要保护酶。在低温胁迫下, 委陵菜 POD 活性增加, 以降低活性自由基的积累。由图 3 可知, 随着温度的降低, 6 种委陵菜中 POD 活性的变化都很明显, 而且活性相差很大, 都呈上升趋势, 其中光叉委陵菜变化最小, 活性也最小, 而蒿叶委陵菜变化最大, 活性最高。在后期, 鹅绒委陵菜、光叉委陵菜、委陵菜 POD 活性呈上升趋势, 蔓委陵菜、伏委陵菜、蒿叶委陵菜呈下降趋势。由

此可知,蒿叶委陵菜的 POD 活性在整个过程中一直最高,蔓委陵菜次之,委陵菜、伏委陵菜、鹅绒委陵菜、光又委陵菜最

小,即体内 POD 活性从大到小依次为蒿叶委陵菜 > 蔓委陵菜 > 委陵菜 > 伏委陵菜 > 鹅绒委陵菜 > 光又委陵菜。

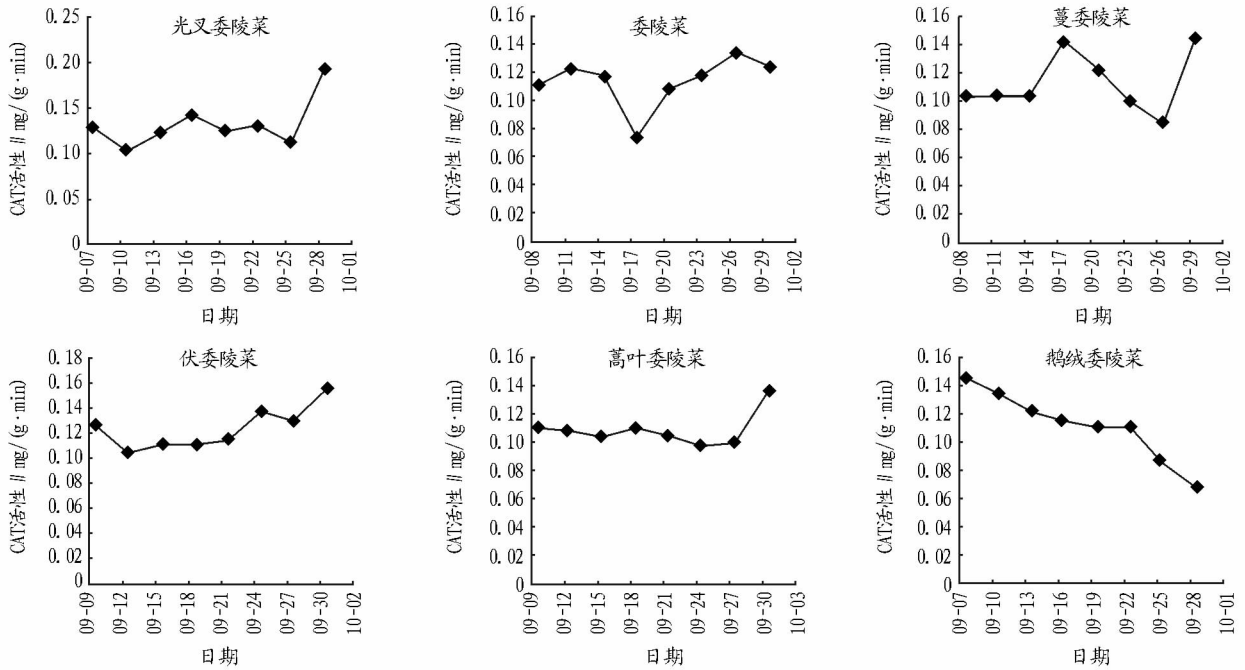


图 2 6 种委陵菜 CAT 活性的变化

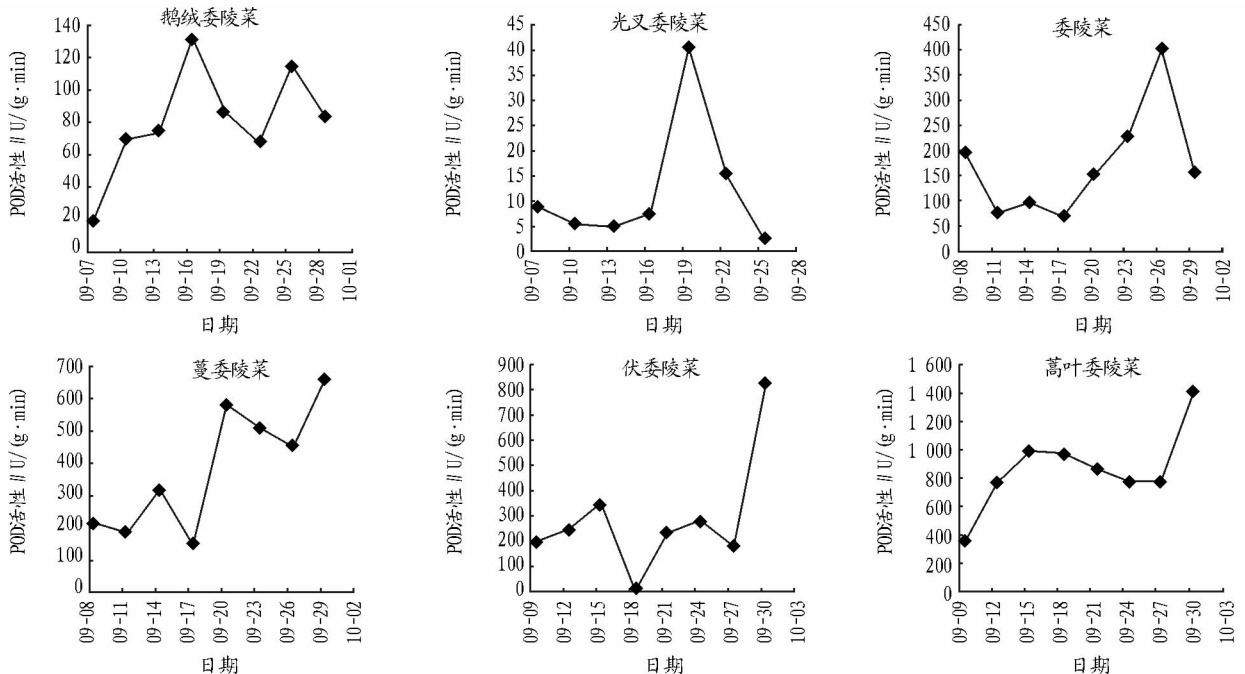


图 3 6 种委陵菜 POD 活性的变化

2.4 6 种委陵菜叶片中 MDA 含量的变化 MDA 是膜质过氧化物的产物。它的多少反映了植物受低温危害的程度。由图 4 可知,大部分委陵菜中 MDA 含量都是越接近衰败期,含量越少,只有蔓委陵菜和伏委陵菜呈现上升趋势。6 种委陵菜中 MDA 含量的波动范围不大,并且含量很低,天气变化不是很明显,可以保持委陵菜体内 MDA 含量的相对稳定。通过对各种委陵菜数据的分析,可以看出 MDA 在委陵菜体

内前后变化不是很大,趋势比较平稳。在取样这段时间内,委陵菜的生长环境条件比较温和,没有太强烈的外界刺激。同时,只有蔓委陵菜和伏委陵菜体内的含量随着时间的推移而增加,伏委陵菜中 MDA 含量波动的范围比蔓委陵菜的小。鹅绒委陵菜、光又委陵菜、委陵菜和蔓委陵菜体内的 MDA 含量随着时间的推移而减少,其中蒿叶委陵菜中 MDA 的含量波动范围最小,委陵菜中 MDA 的含量波动范围最大。

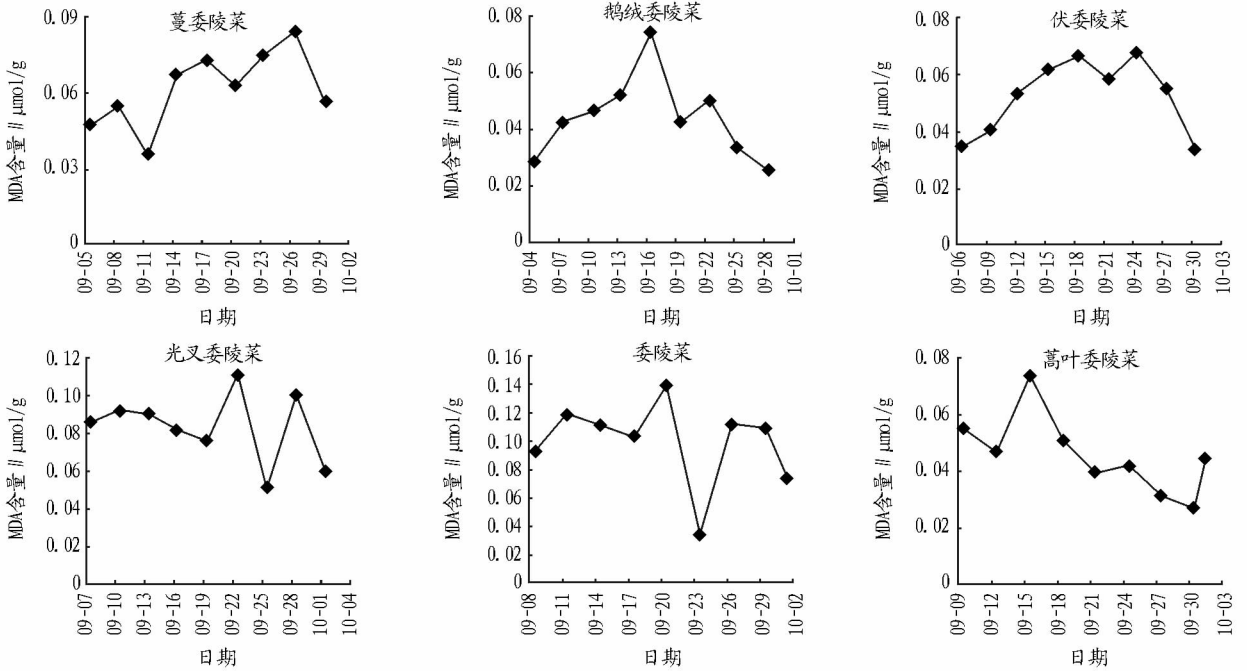


图4 6种委陵菜MDA含量的变化

2.5 6种委陵菜叶片中可溶性糖含量的变化 可溶性糖是冻害条件下的保护物质。其含量的变化是植物体内碳水化合物代谢的重要标志。它既可反映碳水化合物的合成情况,又可说明碳水化合物在植物体内的运输情况。同时,碳水化合物的含量变化可反映出环境对植物生长发育造成的影响。其含量多数与植物的抗冷性呈正相关。低温胁迫可以促进糖类的合成。植物体内积累的可溶性糖越多,其抗逆性就越强。

由图5可知,在自然状态下,随着气温的降低,除光叉委

陵菜的可溶性糖含量总体呈下降趋势,其余5种均呈上升趋势。蔓委陵菜、伏委陵菜、委陵菜的可溶性糖含量总体呈上升的趋势,鹅绒委陵菜、蒿叶委陵菜其含量总体呈上升的趋势较小,几乎处于平稳状态。在观察前10 d内,天气温度变化不明显,委陵菜体内可溶性糖含量相对稳定,除光叉委陵菜外,其余5种委陵菜均处于平稳上升趋势,波动范围不大。在之后十几天内,天气温度变化较大,6种委陵菜的可溶性糖含量均有变化,伏委陵菜、鹅绒委陵菜、光叉委陵菜其含量波动较小,蔓委陵菜、委陵菜其含量波动较大。

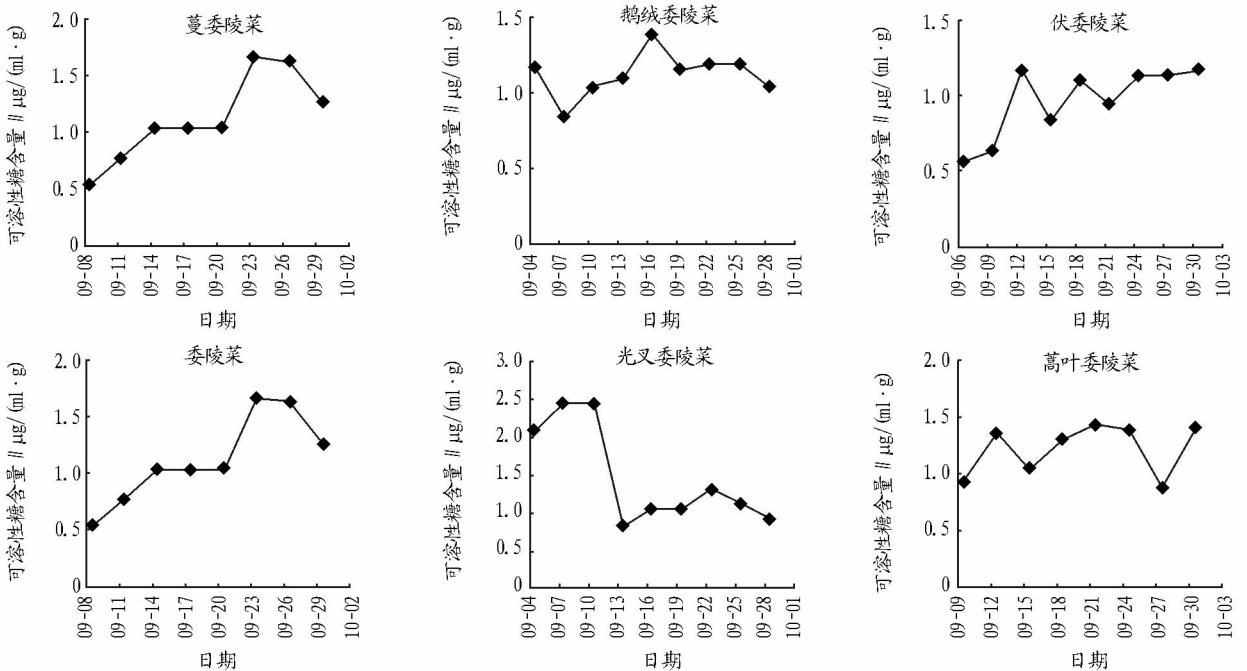


图5 6种委陵菜可溶性糖含量的变化

2.6 6种委陵菜NR活性的变化 NR是硝酸盐同化中的限速酶,在植物生长发育中具有重要作用。植物中NR活性直

接影响着氮素代谢的各个环节,也影响着植物或作物的质量,被作为重要的生化指标。由图 6 可知,在自然状态下,随着天气温度的降低,6 种委陵菜的 NR 活性总体呈上升趋势。在观察的 7 d 内,气温变化不明显,鹅绒委陵菜、蒿叶委陵菜、委陵菜 NR 活性处于平稳状态,蔓委陵菜有略微的下降趋势,光又委陵菜含量波动较大,上升幅度也较大。在之后的

10 d 天内,气温显著下降,鹅绒委陵菜、蔓委陵菜、蒿叶委陵菜、伏委陵菜、委陵菜 NR 活性明显变大,蒿叶委陵菜、伏委陵菜在最后 2 d 内活性明显减小,光又委陵菜期间有 1 处显著减小,之后快速变大,并保持平稳状态。由此可知,鹅绒委陵菜的 NR 活性波动最小,光又委陵菜的 NR 活性波动最大,其余几种委陵菜的活性均呈显著上升趋势。

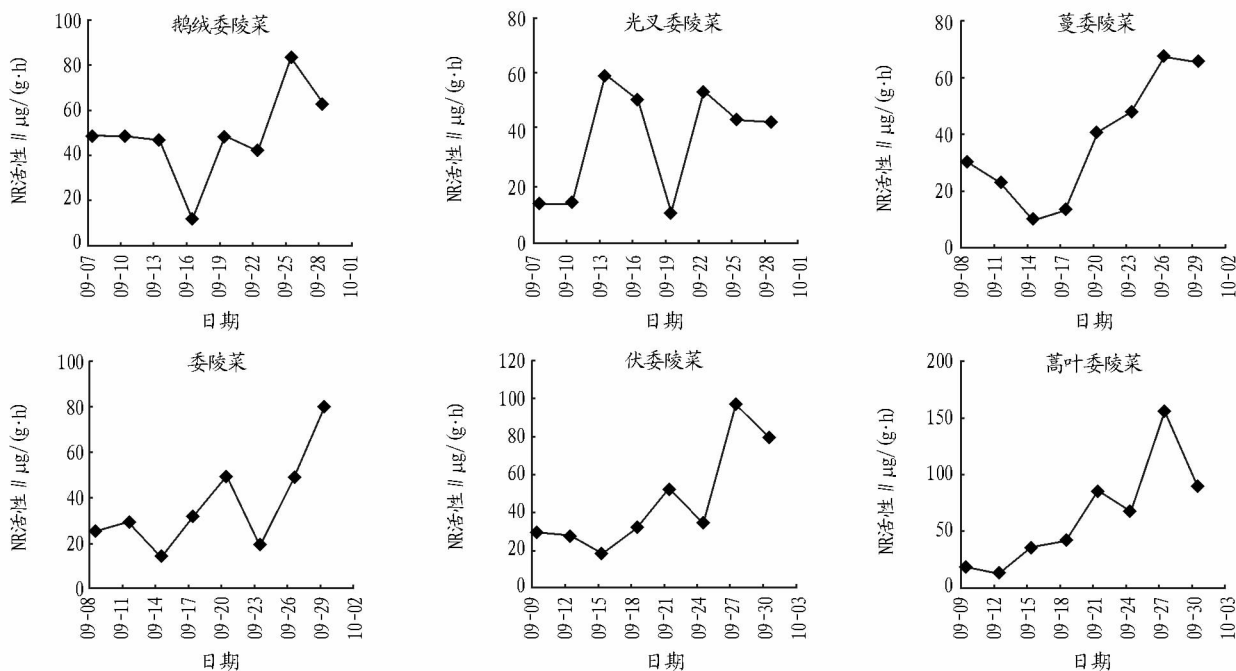


图 6 6 种委陵菜硝酸还原酶活性的变化

3 结论与讨论

对 9~10 月生长末期 6 种自然生长的委陵菜几种生理指标进行研究,发现随着温度的逐渐降低,6 种委陵菜的可溶性糖含量呈上升趋势,MDA 含量呈先上升后下降的趋势。其原因可能是 MDA 对低温反应更为敏感,可溶性糖变化较缓慢。脯氨酸、过氧化氢酶、过氧化物酶、硝酸还原酶的变化规律性不强,其中光又委陵菜的 POD 活性最小,只有其可溶性糖含量呈下降趋势,并且 NR 活性波动最大。鹅绒委陵菜的脯氨酸含量较低,在 10 $\mu\text{g/g}$ 水平,波动比较小,CAT 活性呈下降趋势,可溶性糖含量在 6 种委陵菜中波动是最小的。蒿叶委陵菜 CAT 活性最低,POD 活性最高。委陵菜 MDA 含量的波动范围最大,为 0.02~0.16 $\mu\text{mol/g}$,其脯氨酸含量最低,在 10 $\mu\text{g/g}$ 以下,且波动性最平稳的。

生理指标的变化是植物体对外界环境条件变化做出的应答反应。在自然条件下,生理指标的变化受温度、光照、湿

度、机械损伤等多种因素的控制。自然条件下委陵菜生理指标的变化只能为特种目的品种的选取提供一个参考方向。委陵菜各种指标之间的平衡关系及如何达到这种平衡仍需要开展进一步的研究。

参考文献

- [1] 中国植物志编委会. 中国植物志(第三十七卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 223-331.
- [2] 吴建慧, 郭瑶, 崔艳桃. 水分胁迫对绢毛委陵菜叶绿体超微结构及光合生理因子的影响[J]. 草业科学, 2012, 29(3): 434-439.
- [3] 尤凤丽, 曲丽娜, 赵晓菊, 等. 大庆地区委陵菜属植物园林应用评价[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(21): 12974-12976.
- [4] 张曼曼, 努尔买买提·莫明, 王虹, 等. 委陵菜属圆锥状花柱组植物叶表皮微形态特征的研究[J]. 植物研究, 2013, 33(1): 7-17.
- [5] 刘普, 殷宏泉, 潘勤, 等. 委陵菜三萜成分研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(22): 1875-1879.
- [6] 田丽, 周新宗, 孙航. 7 种委陵菜属植物叶表皮微形态的研究[J]. 草业科学, 2009, 26(2): 53-56.
- [7] 宋新华, 赵凤云. 植物体内过氧化氢酶研究进展[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(31): 9824-9827.