

ABA对低温胁迫下黄芪幼苗叶片膜系统影响

孔婉莹 马德志 张可勇 刘吉成 李静辉*

齐齐哈尔医学院 黄芪产业研究院 黑龙江齐齐哈尔 161006

摘要: 为探索黄芪幼苗的抗冷害机制, 为我国黄芪幼苗低温胁迫适应性研究提供一定的理论参考和支持。本试验利用脱落酸(ABA)外源激素作为诱导剂, 黄芪幼苗为试验材料, 研究不同浓度ABA对4℃低温胁迫下的幼苗叶片膜系统、渗透调节物质等生理生化指标随处理时间的变化。结果表明, 喷施浓度为10 μmol/L ABA且经低温胁迫后, 对黄芪幼苗叶片膜系统有显著影响, 可以使REC和MDA含量显著降低($P < 0.05$); 可以显著提升黄芪幼苗叶片中渗透调节物质含量, SP和SS含量显著升高($P < 0.05$); 研究发现, 喷施适当浓度的外源激素ABA(10 μmol/L)可以降低叶片当中REC和MDA含量, 提高SP和SS含量来维持细胞内活性氧稳态, 进而提高黄芪幼苗的抗冷害能力。

关键词: 黄芪; 外源激素; ABA; 低温胁迫

Effect of ABA on the leaf membrane system of Astragalus seedlings under cold stress

Wanying Kong, Dezhi Ma, Keyong Zhang, Jicheng Liu, Jinghui Li*

Astragalus Industrial Research Institute of Qiqihar Medical College, Qiqihar, Heilongjiang, 161006

Abstract: To explore the mechanism of cold resistance and provide theoretical reference and support for the adaptability of cold stress in China. In this experiment, abscisic acid (ABA) exogenous hormone was used as inducer and astragalus seedlings were used as test material to study the changes of physiological and biochemical indexes such as leaf membrane system and osmotic substances under cold stress with different concentrations of ABA at 4℃ with treatment time. The results showed that the spray concentration of 10 μmol/L ABA reduced the content of REC and MDA ($P < 0.05$), SP and SS content ($P < 0.05$), and exogenous hormone ABA (10 μmol/L) can reduce REC and MDA content and SP and SS and improve the cooling resistance of Astragalus seedlings.

Keywords: astragalus; exogenous hormone; ABA; low temperature stress

温度是重要的环境因子之一, 对植物生长发育的某些过程起决定性作用^[1]。在低温条件下, 植物体内会产生各项生理生化变化, 如生物膜的渗透性、酶活性等变化, 以降低植物受低温伤害的程度^[2]。作为抗寒冷基因表达的启动因素之一, 植物激素在植物适应生物和非生物胁迫中起着积极的调控作用, 研究表明, 脱落酸(Abscisic acid, ABA)的含量与植物的抗寒性密切相关^[3]。已有研究表明, 植物外施适宜浓度的ABA后, 可在不抑制生长的情况下提高植株抗寒能力^[4]。

黄芪为我国常用传统中草药^[5], 含有黄酮类、皂苷类及多糖类等多种药用活性成分, 广泛应用于临床, 研

究表明, 黄芪具有补气升阳、固表止汗、延缓衰老、增强机体免疫力等功效^[6]。近年来, 随着中药材市场对黄芪需求量的急剧增加, 黄芪野生资源遭到严重破坏, 目前90%以上的黄芪来源于人工培育, 目前主要分布于我国北部地区黑龙江、吉林、辽宁、河北、内蒙古等地, 其他部分地区有少量种植^[7]。关于低温胁迫下黄芪幼苗各项生理生化特性的研究鲜有报道。以当年生黄芪幼苗为试验材料, 研究外源ABA对低温处理后黄芪幼苗对低温胁迫的响应, 以期寻找最优的浓度, 为我国黄芪幼苗低温胁迫适应性研究提供一定的理论参考和支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用膜荚黄芪种子购于国药种业。选取籽粒饱满、

基金项目: 齐齐哈尔市科技计划联合引导项目(LHYD-2021013)。

大小一致的种子处理后, 清水冲洗 30 min 后, 用 2% 次氯酸钠消毒 5 min, 蒸馏水冲洗干净。获得的健康种子经灭菌消毒后点播在装有蛭石的育苗钵内, 每个育苗袋点播 2-3 颗种子。种子萌发后, 幼苗二叶期时定苗, 选取生长健壮且形态相对一致的黄芪幼苗置于生态培养箱内进行正常生长培育。

1.2 试验方法

膜荚黄芪幼苗正常生长 55 d 后开始进行试验处理。分别用水及不同浓度的 ABA 溶液 (5、10 和 20 $\mu\text{mol/L}$) 对黄芪幼苗进行叶面喷施, 每个处理组 3 个重复, 每个重复 3 株幼苗。以喷施水但未进行低温处理的幼苗为对照 1 (CK-1), 喷施水且进行低温处理的幼苗记为对照 2 (CK-2)。早上 8:00 第 1 次喷施后, 于次日 8:00 进行第 2 次叶面喷施。第 3 d 早上 8:00 将幼苗置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 光照培养箱 (湿度为 70%) 中进行冷害处理, 为了消除个体差异, 选择长势相近且良好的黄芪幼苗随机分为实验组和对照组。CK-2 及各实验组移动至 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境中进行低温处理, CK-1 维持在 22 $^{\circ}\text{C}$ 培养环境, 并分别于 12、24 和 48 h 时, 剪取各实验组和对照组中植株叶片混合后速冻保存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 。备用待测。

1.3 测定指标及方法

相对电导率 (REC) 采用电导法测定; 丙二醛 (MDA) 含量采用硫代巴比妥酸法 (TBA) 法测定; 可溶性蛋白 (SP) 含量采用考马斯亮蓝法测定; 可溶性糖 (SS) 含量采用蒽酮法测定。

1.4 统计分析

试验数据运用 Excel 2019 进行数据处理, 利用 Graphpad 10.0 软件进行绘图, 并结合 SPSS 25.0 软件进行方差分析、t 检验的差异分析。使用单因素方差分析检验不同处理下指标的差异显著性 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 ABA 对低温胁迫下黄芪幼苗叶片膜系统的影响

由图 1 可知, 经低温处理后, 黄芪幼苗叶片 REC 显著升高。CK-2 组受低温伤害明显, 其 REC 在低温处理 24 h 时达最大值。10 $\mu\text{mol/L}$ ABA 处理组的幼苗叶片 REC 较其他处理低, 且 ABA 处理组整体 REC 低于处理组, 即幼苗叶片的细胞内液渗出更少, 能有效降低低温对黄芪幼苗的伤害, 说明 ABA 对降低 REC 有明显效果。以 10 $\mu\text{mol/L}$ ABA 处理组对黄芪幼苗叶片 REC 的降低更显著, 幼苗叶片的细胞内液更稳定。

根据 MDA 含量与 ABA 浓度的变化可知, 喷施一定浓度的 ABA 可降低叶片 MDA 含量, 其中, ABA 的浓度越高, 叶片 MDA 含量越低, 即在适宜的范围内, 提高 ABA 的浓度能有效降低 MDA 含量, 提高黄芪幼苗的抗冷害能力。由此可推断, 喷施浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ ABA 更能有效

降低低温胁迫下黄芪幼苗叶片的 MDA 含量。

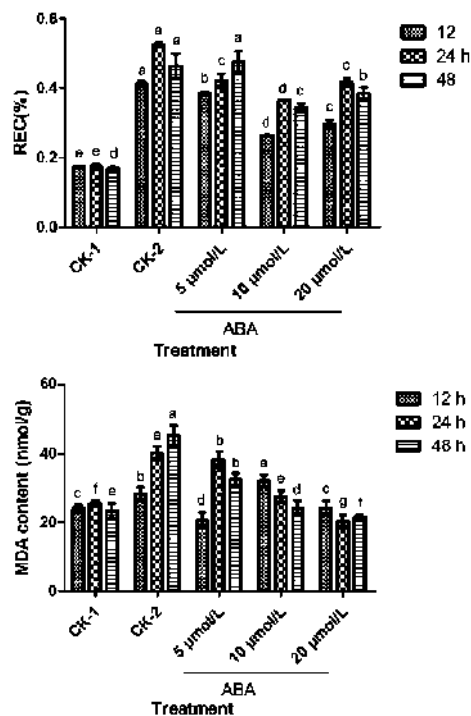


图 1 低温胁迫下 ABA 对黄芪幼苗叶片 REC 和 MDA 的影响

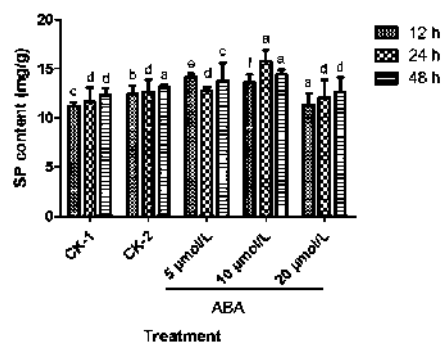
Fig.1 Effect of ABA on leaf REC and MDA of Astragalus seedlings under low temperature stress

注: 相同时间处理下, 不同小写字母表示各处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同

Note: Under the same treatment time, different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$). The same below.

2.2 ABA 对低温胁迫下黄芪幼苗叶片渗透调节物质的影响

由图 2 可知, ABA 喷施浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 黄芪幼苗叶片 SP 含量在低温处理 24 和 48 h 均为最高, 且高于其他处理组。由此表明, 喷施适宜浓度的 ABA (10 $\mu\text{mol/L}$) 能显著提高黄芪幼苗叶片 SP 含量, 增强其抗低温能力。由此可知, 喷施 10 $\mu\text{mol/L}$ ABA 能显著提高受到低温胁迫的黄芪幼苗叶片 SP 含量。



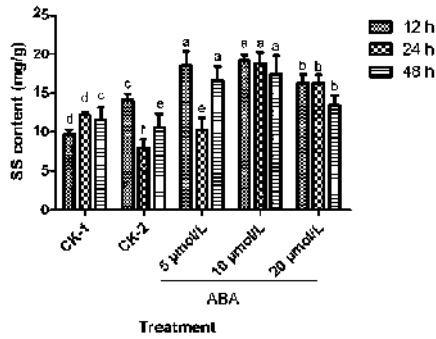


图2 低温胁迫下ABA对黄芪幼苗叶片SP、SS含量的影响

Fig.2 Effect of ABA on SP and SS content in leaves of Astragalus seedlings under low temperature stress

经ABA处理的黄芪幼苗叶片SS含量有所增加,其中以喷施10 μmol/L ABA处理组的黄芪幼苗叶片SS含量最高。同时,除5 μmol/L ABA外各处理组的幼苗叶片SS含量均呈下降趋势,仍以10 μmol/L ABA处理组幼苗叶片SS含量最高,由此说明,喷施浓度为10 μmol/L ABA能有效增加低温胁迫下黄芪幼苗叶片SS含量。

3 讨论

在植物苗期,生物胁迫如盐碱、低温、干旱等持续存在,其中低温是影响植物幼苗生长发育的主要限制因子^[8]。黄芪作为一种具有较大经济发展前景的药用植物,在我国的种植和相关产品产业均处于起步阶段,如何提高黄芪在不同逆境下的适应能力是亟待解决的关键问题。植物激素是一种调节植物生长发育和逆境胁迫的信号物质,叶面喷施外源激素可作为调控植物幼苗期抗冷性的有效途径之一^[9]。ABA是抗寒基因表达的启动因素,能够调控植物的抗寒力^[16]。细胞膜结构的破坏程度可通过细胞内电解质外渗率的大小来反映,是一种间接评价植物应对低温胁迫能力的有效途径^[17]。本研究中,CK-2在经低温处理后,REC显著增加;而喷施ABA的处理组中,REC明显降低,且与CK-2达显著差异水平。MDA是由低温胁迫引发的细胞膜脂质氧化的最终产物,会破坏体内的多种反应,破坏膜结构,影响膜功能,甚至导致细胞死亡,是膜系统受害的重要标志之一^[10]。本研究中,MDA的含量与ABA的浓度呈负相关关系,即随着ABA浓度的增加,MDA含量降低。由此表明,ABA作为胁迫响应激素在感受温度胁迫信号及提高黄芪幼苗在低温胁迫下膜系统的稳定中起着重要作用。相关研究表明,SP和SS含量能够有效增加植物细胞内溶质的浓度,降低植物细胞冰点,以防止植物细胞过度脱水,从而降低对植物细胞的伤害^[19],因此,SP和SS的积累能够提高植物的抗寒能力。本研究中,SP和SS在经ABA喷施处理后,与对照组相比,浓度为10

μmol/L时,黄芪幼苗叶片SP和SS含量均达最大值,即ABA浓度为10 μmol/L时,黄芪幼苗叶片中可渗透调节物质增加,细胞内液浓度增加,增强了黄芪幼苗的抗冷害能力。

综上所述,本研究对低温胁迫下黄芪叶片各项生理生化测定结果显示,喷施ABA浓度为10 μmol/L能有效提高黄芪的抗冷害能力,与其他学者研究认为喷施外源ABA可提高植物幼苗抗冷害能力的结论基本一致^[11]。

4 结论

外源喷施10 μmol/L ABA可通过增强叶片膜系统的稳定性,增加渗透物质SP和SS含量来维持细胞内活性氧稳态,进而缓解低温胁迫对黄芪幼苗的伤害,从而提高黄芪幼苗抵抗低温的能力。对黄芪幼苗抵抗冷害能力有积极的作用。

参考文献:

- [1]梁洲瑞,刘福利,袁艳敏,等.不同温度对极北海带幼苗生长及光合特性的影响[J].海洋科学,2018,42(4):71-78.
- [2]任延靖,任延靖,郭怡婷,等.植物应答低温胁迫的研究进展[J].《分子植物育种》印刷版,2020,18(14).
- [3]代宇佳,罗晓峰,周文冠,等.生物和非生物逆境胁迫下的植物系统信号[J].植物学报,2019,54(2):255.
- [4]洪林,杨蕾,杨海健,等.AP2/ERF转录因子调控植物非生物胁迫响应研究进展[J].植物学报,2020,55(4):481.
- [5]胡艳改,杜宇忠,郝磊,等.中药材蒙古黄芪与膜荚黄芪优质种源的研究[J].山西农业科学,2017,45(10):1662-1666.
- [6]聂娟,谢丽华,马港圆,等.中药黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J].湖南中医杂志,2018,34(7):228-231.
- [7]郭淑红,田洪岭,吴昌娟,等.中草药黄芪栽培技术分析[J].农业与技术,2018,38(18):130-130.
- [8]王翠花,刘沙,张瑞富,等.植物抗寒分子生物学研究概况及展望[J].辽宁农业科学,2014(1):45-48.
- [9]丁红映,王明,谢洁,等.植物低温胁迫响应及研究方法进展[J].江苏农业科学,2019,47(14):31-36.
- [10]Lim C W, Lee S C. ABA-dependent and ABA-independent functions of RCAR5/PYL11 in response to cold stress[J]. Frontiers in plant science, 2020, 11: 1487.
- [11]Ritonga F N, Chen S. Physiological and molecular mechanism involved in cold stress tolerance in plants[J]. Plants, 2020, 9(5): 560.