

# 外源甜菜碱对盐胁迫枸杞生长及膜脂过氧化的影响<sup>\*</sup>

惠红霞<sup>1</sup>, 许 兴<sup>1</sup>, 李前荣<sup>2</sup>

(1 宁夏农业生物技术重点实验室, 宁夏 银川 750002; 2 宁夏农学院, 宁夏 永宁 750105)

**[摘 要]** 对枸杞扦插苗分别进行清水处理(CK)、盐胁迫(6 g/kg NaCl)处理和盐胁迫+ 外源甜菜碱(6 g/kg NaCl+ 1 mmol/L 甜菜碱)处理, 分别在处理后第 4, 8, 12 和 16 天测定其生理变化, 研究外源甜菜碱对盐胁迫枸杞生长及膜脂过氧化的影响。结果表明, 外源甜菜碱能显著提高枸杞叶片相对含水量和株高净增长量, 能明显促进枸杞生长; 甜菜碱能使盐胁迫枸杞的丙二醛含量降低, 使超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性升高,  $\beta$ 胡萝卜素含量明显增加。说明外源甜菜碱有利于保护细胞膜结构, 降低盐胁迫对枸杞的伤害。

**[关键词]** 甜菜碱; 盐胁迫; 枸杞; 膜脂过氧化

**[中图分类号]** S567. 1<sup>+</sup> 90 1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2004)07-0077-04

据报道<sup>[1]</sup>, 甜菜碱最早是 Husmann 和 Marnc 于 1883 年从宁夏中宁枸杞中首次分离得到的, 近年来, 甜菜碱作为一种渗透调节物质, 在盐胁迫中的作用越来越受到关注。研究发现<sup>[1~3]</sup>, 一些植物受到盐胁迫时, 甜菜碱在植物体内明显积累; 甜菜碱还能解除高盐对酶的伤害, 保护酶的活性; 甜菜碱参与细胞的渗透调节<sup>[4]</sup>, 并具有重要的“非渗透调节功能”等<sup>[5]</sup>。冯元理等<sup>[6]</sup>证明, 枸杞叶片内的甜菜碱含量比其他耐盐植物高。但迄今为止涉及枸杞抗盐性及其与甜菜碱关系的报道极少。为此, 本研究试图通过加入外源甜菜碱, 探讨盐胁迫下甜菜碱与枸杞生长、膜脂过氧化及保护酶系统之间的关系, 以期了解内源甜菜碱的作用, 并为枸杞抗盐机理研究提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

供试枸杞材料为苗龄 4 个月的宁杞一号硬枝扦插苗, 试验采用盆栽土培, 土壤基质为壤土 沙子=2:1 的风干土, 施基肥油饼屑 10 kg, 盆土重 6.5 kg, 每盆栽植 3 棵枸杞幼苗, 按常规土培法进行管理。选择株高 55 cm, 生长比较一致的幼苗进行处理。共设 3 个处理, 即 T<sub>0</sub>: 以水处理为对照; T<sub>1</sub>: 6 g/kg NaCl 处理; T<sub>2</sub>: 6 g/kg NaCl+ 1 mmol/L 甜

菜碱(Bet)溶液处理, Bet 采用叶面喷施。每处理重复 10 盆。分别在处理的第 4, 8, 12 和 16 天取植株中部叶片进行测定分析。

### 1.2 测定方法

1.2.1 株高和叶片相对含水量的测定 株高生长状况以株高净增长量表示, 即在处理前和胁迫处理后第 16 天, 随机选取 10 株, 量取株高, 两次测量之差即为株高净增长量。相对含水量测定参照沈宗英<sup>[7]</sup>的方法进行。

1.2.2 抗氧化酶活性和膜脂过氧化作用的测定 酶液提取时, 取 0.5 g 鲜叶预冻 1 h 后放入预冷的研钵中, 分次加入 4 mL 冰冷的 50 mmol/L, pH 7.8 的磷酸缓冲液(内含体积分数 1% 聚乙烯吡咯烷酮), 在冰浴中充分匀浆, 匀浆液于低温离心机上 10 000 ×g 离心 20 min, 取上清液供测定用。

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法; 过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法; 过氧化氢酶(CAT)活性测定采用紫外分光光度法; 丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸法。以上指标均参照高俊凤等<sup>[8]</sup>报道的方法测定, 每处理重复 3 次。

1.2.3  $\beta$ 胡萝卜素含量的测定  $\beta$ 胡萝卜素的提取和测定参照李忠等<sup>[9]</sup>报道的方法进行, 用非反相液相色谱法检测  $\beta$ 胡萝卜素, 每处理重复 5 次。

\* [收稿日期] 2003-03-06

[基金项目] 国家重点基础研究发展规划项目(G1999011700)

[作者简介] 惠红霞(1970-), 女, 陕西富平人, 助理研究员, 主要从事植物抗性生理研究。

## 2 结果与分析

### 2.1 盐胁迫下外源甜菜碱对枸杞株高生长和叶片相对含水量的影响

由表 1 可见, 盐胁迫明显抑制了枸杞的生长。加

入甜菜碱后, 其抑制作用明显减缓, 此时其株高净增长量与对照相比无显著差异; 盐胁迫下枸杞叶片相对含水量也明显下降, 加入外源甜菜碱后, 相对含水量显著提高, 说明甜菜碱可以改善盐胁迫枸杞幼苗的水分状况。

表 1 甜菜碱对盐胁迫下枸杞株高净增长量和叶片相对含水量的影响

Table 1 Effects of exogenous betaine on plant height and relative water content in *Lycium barbarum* under salt stress

| 处理<br>Treatment | 株高净增长量/cm<br>Growth of plant height | 叶片相对含水量/%<br>Leaf of relative water content |
|-----------------|-------------------------------------|---------------------------------------------|
| CK              | 13.7 ± 1.04 a                       | 84.59 ± 1.78 a                              |
| T <sub>1</sub>  | 6.65 ± 0.51 b                       | 75.32 ± 1.53 b                              |
| T <sub>2</sub>  | 11.8 ± 0.72 a                       | 82.26 ± 2.12 a                              |

注: 表中各列字母相同者表示数据间的差异不显著 ( $P = 0.05$ )。

Note: Difference between data in each column followed by the same letter is not significant at  $P = 0.05$

### 2.2 盐胁迫下外源甜菜碱对枸杞叶片丙二醛含量的影响

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的主要产物之一, 是反映膜脂过氧化程度最为直接的指标。图 1 结果显示, 随着处理时间延长, 枸杞各处理的MDA含量均呈增加的趋势。T<sub>1</sub>处理下MDA含量在处理4 d和CK相比略有降低, 而在处理后8, 12和16 d均呈上升趋势; T<sub>2</sub>处理4, 8, 12和16 dMDA含量和T<sub>1</sub>相比均明显降低。这一结果表明, 甜菜碱能够降低膜脂过氧化作用的水平, 缓解盐分胁迫对植物细胞膜系统的伤害, 增强其对盐逆境的适应性。

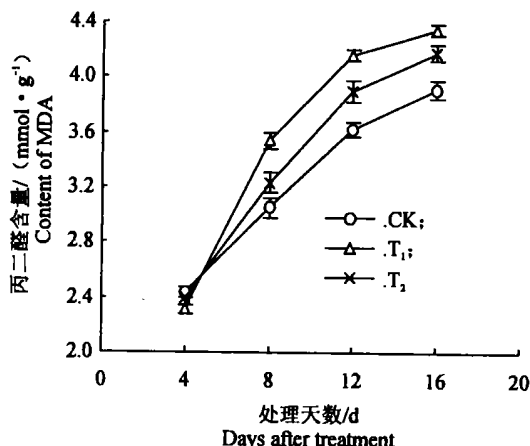


图 1 盐胁迫下甜菜碱对枸杞叶片 MDA 含量的影响

Fig. 1 Effect of betaine on content of MDA of *Lycium barbarum* seedling leaves under salt stress

### 2.4 盐胁迫下外源甜菜碱对 POD 活性的影响

POD 也是细胞内清除活性氧酶系统的重要酶, 其可减轻过氧化氢积累的伤害。图 3 表明, 枸杞叶片 POD 活性因处理及处理时间的不同而有一定差异。T<sub>1</sub>处理后, POD 活性在第 4 天和 CK 相比有所升

### 2.3 盐胁迫下外源甜菜碱对 SOD 活性的影响

SOD 是酶系统中清除细胞内活性氧的极重要酶, SOD 存在于细胞内的各个部位, 其可以有效地清除细胞内氧化还原反应中的超氧阴离子。从图 2 可以看出, 随处理和时间的不同, 枸杞叶片 SOD 活性变化趋势有所差异。与 CK 相比, T<sub>1</sub>处理下的枸杞 SOD 活性在处理 4, 8, 12 和 16 d 均降低; 加入甜菜碱后, T<sub>2</sub>处理的 SOD 活性比 T<sub>1</sub>处理明显升高。随处理时间的延长, 各处理 SOD 活性的变化趋势基本一致: 均是在处理后第 8 天上升幅度最大, 之后 SOD 活性均呈下降趋势。

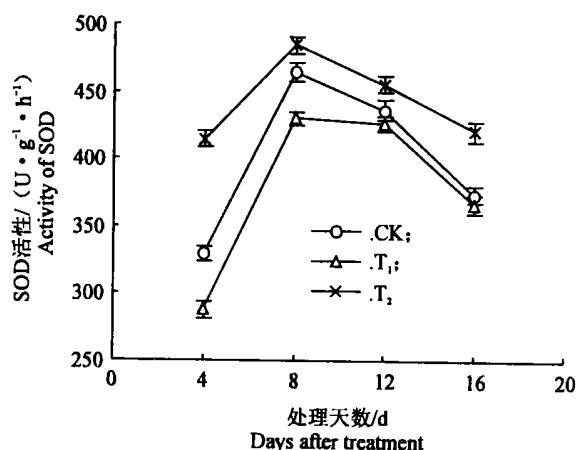


图 2 盐胁迫下甜菜碱对枸杞叶片 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effect of betaine on SOD activity of *Lycium barbarum* seedling leaves under salt stress

高, 在处理 8, 12 和 16 d 均呈降低趋势; T<sub>2</sub>处理后各个时期 POD 活性均较 T<sub>1</sub> 高。随处理时间的延长, 枸杞各处理 POD 活性均在处理第 4 天后较高, 处理 8 d 后则迅速下降, 之后, POD 活性又缓慢回升。

## 2.5 盐胁迫下外源甜菜碱对CAT活性的影响

CAT也是活性氧清除的重要酶之一。由图4可见, 因处理及处理时间的不同, 枸杞叶片CAT活性也不同。T<sub>1</sub>处理下, 枸杞CAT活性在处理第4天和CK相比略有升高, 在处理8, 12和16 d均明

显降低; T<sub>2</sub>处理同T<sub>1</sub>相比, 在处理各个时期, CAT活性均明显升高。随着处理时间的延长, CK和T<sub>2</sub>处理的枸杞CAT活性在处理第8天有所升高, 之后均呈下降趋势; 而T<sub>1</sub>处理在处理4~16 d均呈降低趋势。

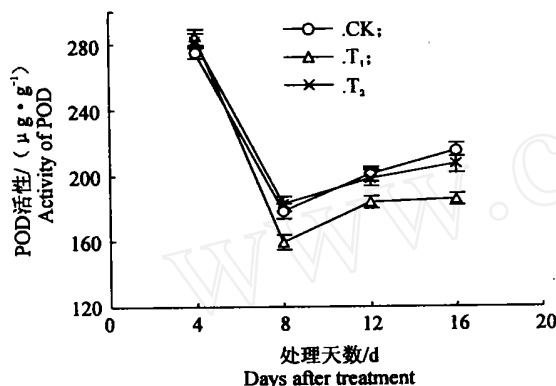


图3 盐胁迫下甜菜碱对枸杞叶片POD活性的影响

Fig. 3 Effect of betaine on POD activity of *Lycium barbarum* seedling leaves under salt stress

## 2.6 盐胁迫下外源甜菜碱对β胡萝卜素含量的影响

β胡萝卜素被认为是植物体内具有抗氧化作用的非酶抗氧化物<sup>[10]</sup>。测定结果(图5)表明, 处理和处

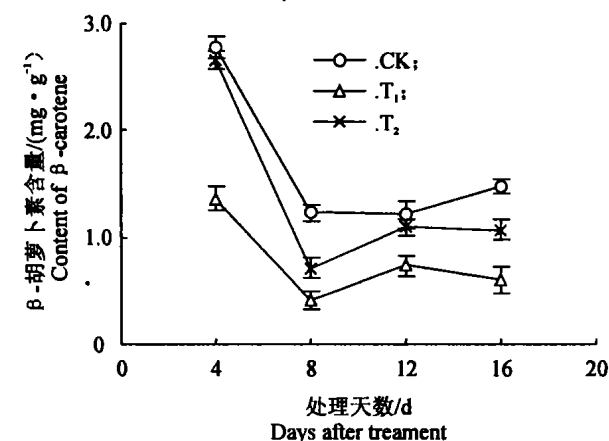


图5 盐胁迫下甜菜碱对枸杞叶片β胡萝卜素含量的影响

Fig. 5 Effect of betaine on content of β-carotene of *Lycium barbarum* seedling leaves under salt stress

由图5可以看出, 盐胁迫条件下, 枸杞叶片的β胡萝卜素含量在胁迫后各个时期均明显下降; 加入外源甜菜碱(T<sub>2</sub>处理)后, β胡萝卜素含量较T<sub>1</sub>处理明显升高。随处理时间的延长, 各处理β胡萝卜素含量均呈降低趋势, 而且各处理均在处理后第8天

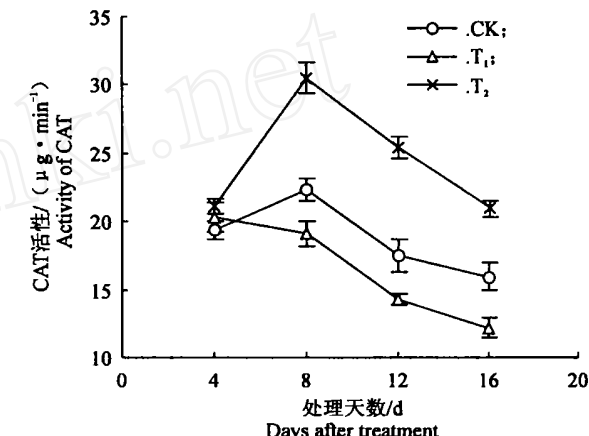


图4 盐胁迫下甜菜碱对枸杞叶片CAT活性的影响

Fig. 4 Effect of betaine on CAT activity of *Lycium barbarum* seedling leaves under salt stress

下降幅度最大, 之后变化比较平稳, 并且略有回升。

## 3 讨论

甜菜碱是盐分胁迫条件下植物细胞最重要的渗透调节剂。在高等植物中, 单加氧化酶可将胆碱氧化成甜菜碱醛, 甜菜碱醛再经甜菜碱醛脱氢酶氧化而成甜菜碱。有研究<sup>[11]</sup>表明, 甜菜碱合成后, 其在植物体内几乎不再被进一步代谢, 属于永久性或半永久性渗透调节剂。目前, 人们对甜菜碱醛脱氢酶的活性和转甜菜碱醛脱氢酶基因植物的研究取得了一定进展<sup>[5, 12]</sup>。本研究从另一角度出发, 直接施加甜菜碱以分析其对盐胁迫枸杞生长的影响, 结果发现, 在盐胁迫条件下, 枸杞株高增长缓慢, 生长受到明显抑制, 叶片相对含水量也显著降低, 说明枸杞幼苗根部可能由于渗透胁迫及离子伤害作用而吸收不到足够的水分, 致使细胞的结构遭到一定程度的破坏, 引起代谢紊乱, 物质运输受阻, 使植物的生长受到明显抑制; 而在盐胁迫条件下加入外源甜菜碱后, 这种受抑制状况明显得到改善, 表现为株高增长明显加快, 叶片相对含水量显著增加。可见, 甜菜碱能明显提高枸杞幼苗的抗盐性, 增强细胞的保水能力, 缓解盐胁迫的伤害, 这可能是由于甜菜碱提高了枸杞的渗透调节能力, 增加了其根系吸收水分和向上运输的效率, 从而促进了枸杞的生长。

本研究还发现,短期(4 d)盐胁迫下,枸杞叶片的MDA含量下降,SOD,POD和CAT活性均升高,这可能是枸杞自身对外界环境的一种暂时的保护性反应,之后,随胁迫时间延长至8,12和16 d,MDA含量明显增加,枸杞体内保护酶SOD,POD和CAT活性以及非酶类抗氧化物质 $\beta$ 胡萝卜素含量均显著降低,表明随胁迫时间的延长,这一时期枸杞膜脂过氧化程度逐渐加剧,保护酶系统的动态平衡也逐渐受到破坏。加入外源甜菜碱后,枸杞体内的MDA含量明显降低,SOD,POD和CAT活性显著提高, $\beta$ 胡萝卜素含量也大量增加,表明外源甜菜碱能够降低膜脂过氧化的作用水平,提高枸杞细胞内SOD,POD和CAT等细胞保护酶的活性,增加非酶类抗氧化物 $\beta$ 胡萝卜素的含量,从而提高盐胁迫下枸杞对活性氧的清除能力,降低活性氧对细胞膜的伤害,维持细胞膜的稳定性和完整性<sup>[13]</sup>,最终缓解盐胁迫对枸杞幼苗生长的抑制。这可能是由于外源甜菜碱被枸杞根系吸收进入体内后,提高了细胞内

甜菜碱的含量,同时外源甜菜碱还能够诱导枸杞体内游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白等渗透调节物质含量的增加,提高细胞渗透调节能力,从而降低渗透失水对细胞内大分子蛋白(包括酶类)结构和功能的伤害<sup>[14~16]</sup>。另外,在NaCl胁迫下,外源甜菜碱一定程度上能够限制植株对外界 $\text{Na}^+$ , $\text{Cl}^-$ 的吸收及向上运输,缓解因盐离子大量进入植物体内造成的离子失衡和由此产生其他次生伤害<sup>[11,16]</sup>;还可能与外源甜菜碱提高了NaCl胁迫下枸杞体内的ATP和叶绿素含量,维持了植物体正常的物质和能量代谢有关<sup>[17]</sup>。

综上所述,在甜菜碱明显缓解枸杞幼苗盐抑制生长的同时,株高生长加速,幼苗相对含水量提高, $\beta$ 胡萝卜素含量增加,同时因SOD,POD和CAT活性增强,致使叶片中膜脂过氧化水平降低,表明甜菜碱和上述生理生化变化之间存在着密切关系,证明甜菜碱是通过影响上述生理生化变化而缓解盐抑制的。

### [参考文献]

- [1] 梁 峥, 骆爱玲. 甜菜碱和甜菜碱合成酶[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(1): 1- 8
- [2] Pollard A, Wyn Jones R G. Enzyme activities in concentrated solutions of glycinebetaine and other solutes[J]. Planta, 1979, 144: 291- 298
- [3] 梁 峥, 赵 原, 汤 兰, 等. 甜菜碱对呼吸酶的保护性影响[J]. 植物学报, 1994, (12): 947- 951
- [4] Robinson S P, Jones G P. Accumulation of glycine betaine in chloroplasts provides osmotic adjustment during salt stress[J]. Aust J Plant Physiol, 1986, 13: 659
- [5] 梁 峥, 骆爱玲, 赵 原, 等. 干旱和盐胁迫诱导甜菜叶片中甜菜碱醛脱酶的积累[J]. 植物生理学报, 1996, 22(2): 161- 164
- [6] 冯元理, 陈玉书, 安宪立. 枸杞果、柄、叶中甜菜碱含量的分光光度法[A]. 白寿宁. 宁夏枸杞研究[C]. 宁夏银川: 宁夏人民出版社, 1999 395- 398
- [7] 沈宗英. 组织含水量测定[A]. 张志良. 植物生理学实验指导[C]. 北京: 高等教育出版社, 1990 2- 3
- [8] 高俊凤, 孙 群. 植物生理学实验指导[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1986
- [9] 李 忠, 彭光华, 陈 露, 等. 非反相液相色谱法测定枸杞子中 $\beta$ 胡萝卜素含量[A]. 白寿宁. 宁夏枸杞研究[C]. 宁夏银川: 宁夏人民出版社, 1999 511- 513
- [10] Droillard M J, Paulin A, Massot J C. Free radical production, catalase and superoxide dismutase activities and membrane integrity during senescence of petals of cut carnations (*Dianthus caryophyllus*) [J]. Physiol Plant, 1987, 71: 197- 202
- [11] 张士功, 高吉寅, 宋景芝. 甜菜碱对NaCl胁迫下小麦细胞保护酶活性的影响[J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 429- 432
- [12] 李永华, 邹 琦. 植物体内甜菜碱合成相关酶的基因工程[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(5): 500- 504
- [13] Monroy A F, Sarhan F, Dhindsa R S. Cold-induced changes in freezing tolerance, protein phosphorylation, and gene expression evidence for a role of calcium [J]. Plant Physiol, 1993, 102: 1227- 1234
- [14] Hand S C, Somero G M. Urea and methylamine effects on rabbit muscle phosphofructokinase[J]. J Biochem Biophys, 1982, 257: 734- 741
- [15] Pollard A, Wyn Jones R G. Enzyme activities in concentrated solutions of glycinebetaine and solutes[J]. Planta, 1979, 144: 291- 298
- [16] 许 雯, 孙梅好, 朱亚芳, 等. 甘氨酸甜菜碱增强青菜抗盐的作用[J]. 植物学报, 2001, 43(8): 809- 814
- [17] 侯彩霞, 徐春和, 汤章城, 等. 甜菜碱对PS II放氧中心结构的选择性保护[J]. 科学通报, 1997, 42(17): 1857- 1859

(下转第 84 页)

的差异等也会影响国标方法的重复性。而本文采用 全部浓缩, 因此, 溶剂的挥发对结果影响不大。 的测定方法将提取液及残渣用稍过量的溶剂冲洗后

### [参考文献]

- [1] 张荣全, 李彦. 我国蔬菜中农药残留污染的现状、原因及对策[J]. 蔬菜, 2001, (6): 4- 5
- [2] 葛晓光, 张智敏. 绿色蔬菜生产[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997. 54
- [3] 汪雅谷, 张四荣. 无污染蔬菜生产的理论与实践[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001
- [4] 潘灿平, 王丽敏, 孔祥雨, 等. 凝胶色谱净化-毛细管气相色谱测定黄瓜、番茄和青椒中 15 种有机磷农药[J]. 色谱, 2002, 20(6): 565- 568
- [5] 中华人民共和国进出口商品检验局. 食品分析大全[M]. 北京: 高等教育出版社, 1997. 101
- [6] 食品中有机磷农药残留量的测定方法, GB/T 5009. 20- 1996

## Detem ination and study of organophosphorus pesticides in vegetables

ZHAO Suo-lao, YANG Jìng-long, L IU La-píng,

(Testing Center, Northw est Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** A method of detemining organophosphorus pesticide residues in vegetables was studied. The pesticides were extracted by the solvent from the vegetables. The solution and remnents were washed and filtered under low pressure. The pesticides of methamidophos, dichlorvos, acephate, omethoate, phorate, dimethoate, alathion, parathion in the filtered solution were tested by GC after being concentrated to a certain volume. The testing results indicated that the pesticides were separated effectively, the recovery and accuracy of the method were good and there were no strong interference factors. The recoveries of methamidophos, dichlorvos, acephate, omethoate, phorate, dimethoate, alathion, parathion was 99.0%, 96.0%, 103.4%, 101.3%, 95.9%, 99.4%, 92.4%, 91.0% respectively. The coefficients of variation of integral areas was 6.91%, 6.09%, 9.23%, 9.63%, 9.18%, 7.01%, 6.82%, 7.50% respectively. It was a quick and efficient method to detemining organophosphorus pesticide residues in vegetables.

**Key words:** vegetables; organophosphorus pesticide; pesticide residue detemination

(上接第 80 页)

## Effect of exogenous betaine on the grow th and m em brane lip id peroxidation in *Lycium barbarum* under salt stress

HUI Hong-xi<sup>1</sup>, XU Xíng<sup>1</sup>, L I Qián-rong<sup>2</sup>

(1 Ningxia Agricultural Bio-Technology Key Laboratory, Yinchuan, Ningxia 750002, China;

2 Ningxia Agricultural College, Yongning, Ningxia 750105, China)

**Abstract:** Using water (CK) and solution of NaCl (6 g/kg) to treat *Lycium barbarum* seedling as control, we add betaine to solution of NaCl (6 g/kg) to treat *Lycium barbarum* seedling for spans of 4, 8, 12 and 16 days, and detemine the physiological changes in leaves of *Lycium barbarum* seedling. Effect of exogenous betaine on the grow th and m em brane lip id peroxidation in *Lycium barbarum* under salt stress was studied. The results indicated that exogenous betaine could increase the relative water content and height of plants, improve the grow th, decrease the content of MDA, increase the activities of SOD, POD and CAT and the content of  $\beta$ -carotens of *Lycium barbarum* seedling under salt stress. The results suggested that exogenous betaine would be useful to protect cell membrane structure, therefore the grow th inhibition caused by salt stress were mitigated by exogenous betaine in *Lycium barbarum*.

**Key words:** betaine; salt stress; *Lycium barbarum*; m em brane lip id peroxide