

陈 昱,管安琴,万云龙,等. 外源 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对盐胁迫下小型西瓜幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(6): 252-255.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.070

外源 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对盐胁迫下小型西瓜幼苗抗氧化酶活性的影响

陈 昱,管安琴,万云龙,冯伟民,樊平声,卢昱宇

(江苏省农业科学院蔬菜研究所,江苏南京 210014)

摘要:以耐盐性较弱的小型西瓜品种秀丽 2 号为材料,采用营养液栽培法,研究了外源 5-氨基乙酰丙酸(ALA)对 NaCl 胁迫下西瓜幼苗叶片、根系中超氧阴离子(O_2^-)产生速率、丙二醛(MDA)含量、相对电导率和抗氧化酶活性的影响。结果表明,100 mmol/L NaCl 处理下,西瓜幼苗叶片、根系中 O_2^- 产生速率、MDA 含量和相对电导率均显著升高;而 1.25 mmol/L 外源 ALA 处理显著提高 NaCl 胁迫下西瓜幼苗叶片、根系超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)等抗氧化酶活性,显著降低了 O_2^- 产生速率、MDA 含量和相对电导率。这些结果表明,外源 ALA 处理可有效清除体内活性氧,降低膜脂过氧化伤害程度,从而缓解盐胁迫对植株生长的抑制,进而有助于增强西瓜植株对盐胁迫的耐受性。

关键词:小型西瓜;5-氨基乙酰丙酸(ALA);盐胁迫;抗氧化酶活性

中图分类号:S651.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)06-0252-04

西瓜(*Citrullus lanatus*),为葫芦科西瓜属的一年生蔓生草本植物,果瓤脆嫩,味甜多汁,含丰富的矿物盐和多种维生素,可清热解暑,还对高血压、肾病具有一定辅助疗效,是深受人们喜爱的消暑食品。西瓜是全球广泛分布的主要园艺作物,也是世界上十大重要水果之一。中国是西瓜生产大国,面积和产量均位居世界首位^[1]。近年来随着我国设施园艺的迅速发展,西瓜反季节保护地栽培面积不断扩大。由于园艺设施季节性或常年覆盖生产,土壤长期得不到雨水的淋洗,使盐分聚集,引起土壤次生盐渍化,严重影响西瓜的生长和发育。

利用外源物质提高植物幼苗的抗盐性已在多种植物上应用。外源亚精胺可以提高盐胁迫条件下黄瓜幼苗的耐盐性^[2]。外源脯氨酸处理可以通过减少盐胁迫下甜瓜植株体内丙二醛(MDA)含量,保护细胞质膜,从而减轻盐胁迫对植株的伤害^[3]。5-氨基乙酰丙酸(5-aminolevulinic acid, ALA),又名 δ -氨基乙酰丙酸,是所有卟啉类化合物生物合成的关键前体,参与许多生物体中的生物化学反应,如光合作用、维生素 B₁₂ 和血红素的合成等,并具有植物生长调节剂的作用^[4-5]。Watanabe 等在比较 12 种植物生长调节物质对棉花耐盐性影响的试验中观察到,以 1.5% NaCl 处理的植株全部死亡,而经 100~300 mg/L ALA 处理的受害率仅为 20%~

30%,且植株干质量和鲜质量与未经 NaCl 处理的差异不显著^[6]。近几年一些研究表明,ALA 可以提高多种蔬菜作物的抗逆性。周月等研究表明,0.1 mmol/L ALA 能缓解盐胁迫下豌豆幼苗的氧化损伤,显著提高 SOD 等保护酶活性^[7]。外源 ALA 处理可以显著提高樱桃番茄幼苗叶片的保护酶活性,增强樱桃番茄幼苗对盐胁迫逆境的耐受能力,减轻和缓解盐伤害^[8]。刘晖等发现,125 mmol/L NaCl 处理下添加 15~30 mg/L ALA 可以明显缓解盐胁迫对西瓜种子萌发的抑制效应^[9]。然而,目前关于 ALA 如何增强盐胁迫下西瓜幼苗耐盐性的研究尚未见报道。

本研究采用营养液栽培,通过外源 ALA 处理盐胁迫下小型西瓜幼苗,研究外源 ALA 对盐胁迫下西瓜幼苗叶片、根系中 O_2^- 产生速率、MDA 含量、相对电导率和抗氧化酶活性的影响,探讨外源 ALA 缓解盐胁迫对西瓜伤害的生理机制,为阐明 ALA 增强西瓜植株耐盐性机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2014 年 9—11 月在江苏省农业科学院玻璃温室内进行。选用耐盐性较弱的小型西瓜品种秀丽 2 号(安徽省农业科学院园艺研究所提供)为材料,种子经消毒、浸种后,在 30℃ 恒温培养箱中下催芽 2 d,待芽长 0.5 cm 时播于装有基质的 50 孔塑料穴盘中育苗。温室内昼温 20~30℃、夜温 13~18℃,光合有效辐射(PPFD)最大为 800 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 左右,相对湿度维持在 60%~70%,每天浇水保持基质湿润,幼苗第 1 片真叶展开后浇 1/2 剂量的 Hoagland 营养液: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 945 mg/L、 KNO_3 607 mg/L、 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 115 mg/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 493 mg/L、 H_3BO_3 2.86 mg/L、 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.13 mg/L、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22 mg/L、 $\text{CuSO}_4 \cdot$

收稿日期:2015-08-13

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(13)5014]。

作者简介:陈 昱(1982—),男,安徽颍上人,博士,助理研究员,主要从事蔬菜栽培生理与生物技术研究。Tel:(025)84391293; E-mail:chengang2891@163.com。

通信作者:冯伟民,研究员,主要从事蔬菜无公害栽培技术研究。E-mail:fweimin@126.com。

$5\text{H}_2\text{O}$ 0.08 mg/L、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.02 mg/L、 NaFe-EDTA 30 mg/L。3 叶 1 心时选取生长整齐一致的幼苗定植于装有 1/2 剂量 Hoagland 营养液的塑料水箱中(20 L),营养液 pH 值调至 6.5 ± 0.1 ,电导率(EC) $2.0 \sim 2.2$ mS/cm,并早晚各用气泵通气 30 min。ALA 为 Sigma 公司生产的分析纯药品。

1.2 试验处理

植株预培养 5 d 后,向营养液中添加 NaCl (分析纯),分 2 次加入,开始处理时营养液中 NaCl 浓度为 50 mmol/L,第 2 天使营养液中 NaCl 终浓度为 100 mmol/L,此时定为盐胁迫处理开始时间。试验设 4 个处理:(1)无盐对照(CK):正常营养液栽培;(2)无盐对照 + 1.25 mmol/L ALA;(3)盐胁迫(NaCl);(4)盐胁迫 + 1.25 mmol/L ALA($\text{NaCl} + \text{ALA}$)。待幼苗 4~5 片真叶展开开始 NaCl 处理时,当天下午 17:00 用小型喷雾器喷施 ALA(添加 0.01% Triton 作展着剂),叶面、叶背均匀喷洒,以药液附于叶面但不下滴为准,喷施量每株 3 mL。每个水箱 15 株,试验随机排列,每处理重复 3 次。开始处理 8 d 后,选生长点以下第 3 片展开真叶用液氮速冻后置于 -80°C 超低温冰箱中保存备测。本试验所采用的 NaCl 胁迫浓度(100 mmol/L)和叶面喷施的 ALA 浓度(1.25 mmol/L)均由预备试验筛选得出。

1.3 生理指标测定

O_2^- 产生速率按照王爱国等的方法^[10]测定。丙二醛(MDA)含量采用 Heath 等的方法^[11]测定。相对电导率参照 Gong 等的电导率仪法^[12]测定。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 Giannopolitis 等的方法^[13]测定,以抑制氮蓝四唑(NBT)光还原 50% 为 1 个酶活性单位(U)。过氧化物酶(POD)活性按照曾韶西等的方法^[14]测定,以 $D_{470\text{ nm}}$ 1 min 增加 0.01 为

1 个酶活性单位(U)。过氧化氢酶(CAT)活性采用 Dhindsa 等的方法^[15]测定,以 1 min 减少 0.1 个吸光度值所需酶量为 1 个活力单位(U)。

1.4 数据分析

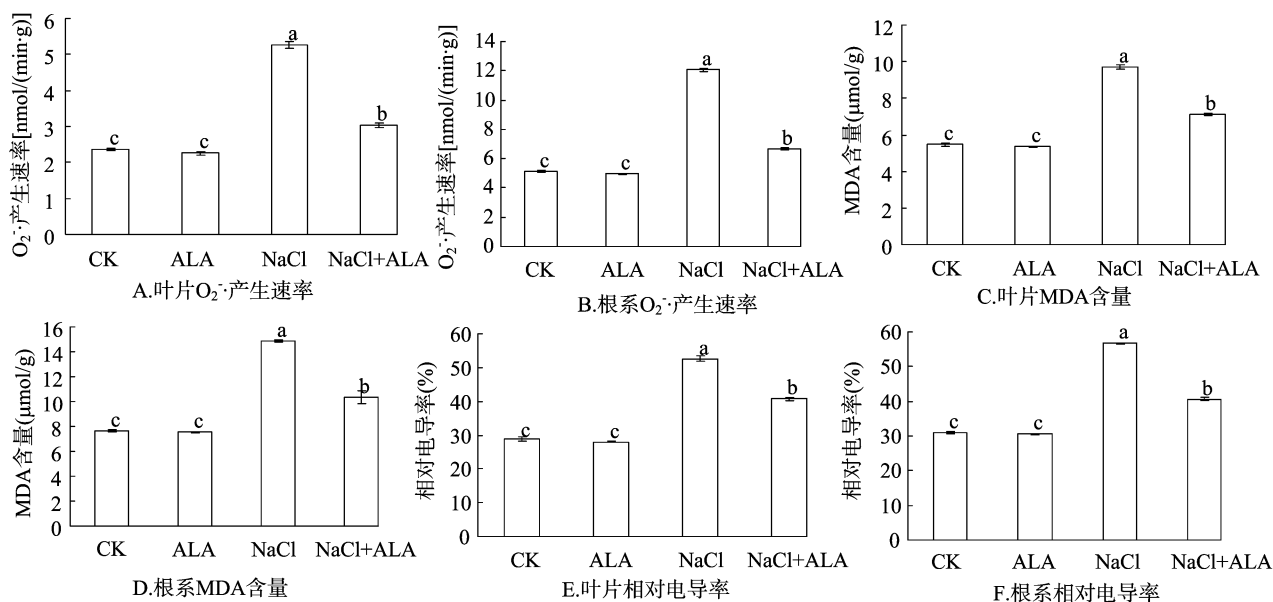
试验数据均采用 SAS 13.0 统计分析软件进行数据分析, Duncan's 多重比较法进行统计分析。

2 结果

2.1 外源 ALA 对 NaCl 胁迫下小型西瓜幼苗 O_2^- 产生速率、MDA 含量和相对电导率的影响

由图 1 可知, NaCl 胁迫处理 8 d 后,西瓜幼苗叶片和根系 O_2^- 产生速率显著提高,与无盐对照相比,分别显著提高了 122.4% 和 136.2%; NaCl 胁迫下喷施外源 ALA 可以显著降低 O_2^- 产生速率,其叶片和根系分别显著降低了 42.5% 和 44.7%,说明外源 ALA 能有效降低 NaCl 胁迫引起的 O_2^- 产生速率的增加,从而降低由活性氧引起的伤害;无盐条件下,施用外源 ALA 对西瓜幼苗叶片和根系 O_2^- 产生速率无明显影响。

从图 1 可以看出, NaCl 胁迫处理 8 d 后,西瓜幼苗叶片和根系 MDA 含量显著增加,与无盐对照相比,分别显著增加了 77.7% 和 94.6%; NaCl 胁迫下喷施外源 ALA 可以显著降低 MDA 含量,其叶片和根系分别降低了 26.7% 和 30.3%。无盐条件下,施用外源 ALA 对西瓜幼苗叶片和根系 MDA 含量无明显影响。MDA 是植物在逆境条件下膜脂氧化的最终分解产物,其含量可以用来衡量植物遭受逆境伤害的程度,此结果说明外源 ALA 能有效降低 NaCl 胁迫引起的 MDA 含量的增加,进而缓解膜脂过氧化损伤,降低细胞膜的受损程度。



处理CK、ALA、 NaCl 、 $\text{NaCl} + \text{ALA}$ 分别表示正常营养液(1/2 剂量Hoagland营养液)培养、1/2 剂量Hoagland营养液+1.25 mmol/L ALA、1/2 剂量Hoagland营养液+100 mmol/L氯化钠和1/2 剂量Hoagland营养液+ 1.25 mmol/L ALA +100 mmol/L氯化钠。不同小写字母表示处理间差异达到0.05显著水平。图 2 同

图1 外源 ALA 对 NaCl 胁迫下小型西瓜幼苗叶片和根系 O_2^- 产生速率、MDA 含量和相对电导率的影响

由图 1 可见, NaCl 胁迫处理 8 d 后,小型西瓜幼苗叶片和根系的相对电导率显著增加,与无盐对照相比,分别显著增加

了 82.7% 和 83.2%, NaCl 胁迫下喷施外源 ALA 可以显著降低相对电导率,其降低程度分别为 22.5% 和 28.3%;无盐条

件下,喷施外源 ALA 对西瓜幼苗叶片和根系相对电导率无明显影响。叶片和根系相对电导率是反映细胞膜受损程度的重要指标之一,此结果表明 NaCl 胁迫破坏了西瓜幼苗细胞膜的稳定性,使膜结构受到损伤,造成细胞内电解质渗漏加剧,而喷施外源 ALA 可以有效减轻 NaCl 胁迫对西瓜幼苗细胞膜伤害的程度。

以上结果说明,NaCl 胁迫下西瓜植株体内 O_2^- 产生速率、MDA 含量和相对电导率增加,导致幼苗活性氧伤害和膜脂过氧化,特别是根系直接处于 NaCl 胁迫的环境中,受到的伤害程度大于叶片;而喷施外源 ALA 可以降低 O_2^- 产生速率、MDA 含量和相对电导率,从而减缓活性氧对幼苗的伤害,降低膜脂过氧化作用,减轻 NaCl 胁迫对西瓜细胞膜的伤害。

2.2 外源 ALA 对 NaCl 胁迫下小型西瓜幼苗超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性的影响

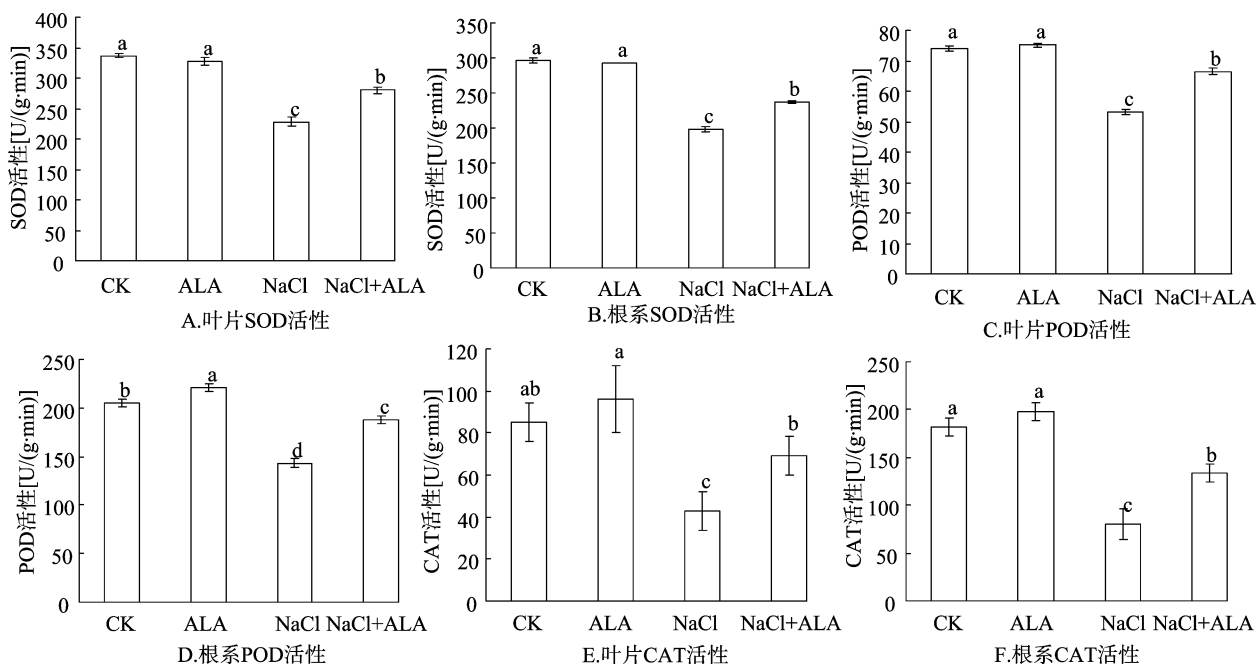


图2 外源 ALA 对 NaCl 胁迫下小型西瓜幼苗叶片和根系 SOD、POD 和 CAT 活性的影响

3 讨论

植物自身的抗氧化酶和抗氧化剂防御系统能使体内活性氧的产生与清除之间维持在一个动态平衡之中。非生物逆境诱导植物体内活性氧(ROS)积累增多,过量的 ROS 攻击植物体内蛋白质、脂质、碳水化合物和 DNA,最终导致氧化胁迫抑制植物的生长^[16]。Parida 等指出,盐胁迫加快了植物体内膜脂过氧化作用的进程,植物体内 ROS 代谢平衡被打破,ROS 含量增加,细胞膜脂过氧化和脱脂化,细胞膜结构和完整性被破坏,引起膜流动性降低,使质膜透性增加,植物细胞生理代谢发生紊乱,而导致细胞的伤害或死亡,抑制植物生长^[17]。本试验中,NaCl 胁迫处理 8 d 后,西瓜幼苗叶片和根系 O_2^- 产生速率加快,SOD、POD 和 CAT 活性降低,对 ROS 的清除能力降低,来不及清除大量的 ROS,导致了西瓜幼苗膜脂过氧化伤害,进一步抑制了植株的生长。

细胞膜是受逆境胁迫最敏感的部位之一。环境胁迫会使

由图 2 可见,NaCl 胁迫处理 8 d 后,显著降低了西瓜叶片和根系中 SOD、POD、CAT 保护酶的活性,其叶片 3 种酶活性分别降低了 32.2%、28.2%、50.0%,而根系 3 种酶活性分别降低了 33.3%、30.2%、55.9%;叶面喷施外源 ALA 能够显著提高 NaCl 胁迫下西瓜叶片和根系中 SOD、POD、CAT 活性,与 NaCl 胁迫处理相比叶片 3 种酶活性分别升高了 22.5%、25.1%、62.5%,而根系 3 种酶活性分别升高了 19.8%、31.0%、66.7%;无盐条件下,外源 ALA 对西瓜幼苗叶片和根系中 SOD、CAT 活性无明显影响;而无盐条件下,外源 ALA 提高西瓜幼苗根系中 POD 活性,升高了 7.8%。上述结果表明,NaCl 胁迫处理 8 d 后,西瓜幼苗自身的调节能力减弱,内源抗氧化酶系统清除活性氧、防止膜脂过氧化作用的能力下降,幼苗会受到伤害;叶面喷施外源 ALA 可以提高 NaCl 胁迫下西瓜幼苗体内抗氧化酶的活性,增强植株对体内活性氧的清除能力,有效降低氧化损伤,从而提高植株的抗盐性。

植物体内活性氧自由基大量积累,而积累的活性氧自由基会导致膜脂肪酸中的不饱和键被过氧化形成 MDA。活性氧自由基诱导的膜脂过氧化是胁迫造成的细胞水平上的伤害,膜脂过氧化过程中产生的 MDA 含量的高低和相对电导率的大小都是反映细胞膜脂过氧化作用强弱和质膜破坏程度的重要指标^[18]。MDA 积累多,说明 O_2^- 与羟自由基($\cdot OH$)可能是高水平。本研究发现,西瓜幼苗受到 NaCl 胁迫后,其 MDA 含量和组织相对电导率显著升高,说明细胞质膜发生了过氧化作用,引起质膜正常生理功能发生紊乱;但当用外源 ALA 处理以后,其 MDA 含量和组织相对电导率显著降低,说明 ALA 对减缓盐胁迫所造成的过氧化伤害具有积极的缓解作用,并以 1.25 mmol/L 的 ALA 处理效果最好。

盐胁迫逆境会提高细胞 ROS 水平,而造成氧化损伤的 ROS 主要包括 O_2^- 和 H_2O_2 ,其中 O_2^- 对植物体的伤害更重。植物抗氧化酶系统的 SOD、POD 和 CAT 酶在维持膜结构完整性、清除 ROS 自由基、缓解膜脂过氧化伤害方面发挥着

重要作用,可有效提高植物对逆境胁迫的适应性^[19]。SOD 主要存在于细胞质、叶绿体和线粒体内,是植物体内抵御氧化胁迫的第一道防线。当植物受胁迫、活性氧增加时,SOD 的合成表达便会增强, O_2^- 在SOD的催化作用下发生歧化反应,生成 H_2O_2 和 O_2 。同时POD、CAT在植物组织中广泛存在,POD能够催化以 H_2O_2 为氧化剂的氧化还原反应,将 H_2O_2 还原为 H_2O ;CAT可将代谢中产生的 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 。这3种抗氧化酶协同作用可以有效降低植株体内自由基的水平,保护细胞膜结构,从而防止自由基对植物的伤害^[20]。本研究中,NaCl胁迫下施用ALA处理能显著提高西瓜幼苗叶片和根系SOD、POD和CAT酶活性,而 O_2^- 产生速率、MDA含量和相对电导率显著降低。说明施用ALA后高活性的SOD、POD和CAT酶能协同作用,提高了西瓜幼苗叶片和根系的抗氧化能力,减少细胞中ROS的含量,降低膜脂过氧化,使得膜脂过氧化产物MDA含量和相对电导率显著降低。

外源喷施适宜浓度的ALA能够刺激诱导抗氧化酶的活性,加速ROS的清除^[21],这可能是ALA提高胁迫条件下植物抗性的一种作用机制。ALA是亚铁血红素(Heme)的合成前体,而Heme作为辅基普遍存在于POD和CAT中,因此推测作为四吡咯类化合物合成的关键前体,外源ALA可能通过转化为Heme进而导致POD活性增加,从而提高抗氧化胁迫能力^[4,22],并认为ALA可能是促进NaCl胁迫下西瓜种子萌发的原因之一^[9]。在豌豆、樱桃番茄等多种蔬菜作物上发现,ALA提高抗性总是伴随着抗氧化酶活性的增加,因此推测ALA诱导SOD、POD、CAT等抗氧化酶活性上升是其增强植物抗逆性的主要原因^[7-8,23-24]。

综上所述,盐胁迫显著抑制小型西瓜幼苗生长,施用1.25 mmol/L ALA能有效缓解盐胁迫诱导的生长抑制,ALA通过提高盐胁迫下西瓜幼苗的抗氧化酶活性,加强清除活性氧能力,降低了膜脂过氧化程度,维持了细胞膜的稳定性,从而缓解西瓜幼苗所受的氧化损伤,增强植株对盐胁迫的抗性。

参考文献:

- [1] 别之龙. 我国西瓜甜瓜嫁接育苗产业发展现状和对策[J]. 中国瓜菜,2011,24(2):68-71.
- [2] 李斌,郭世荣,孙锦,等. 外源Spd对盐胁迫下黄瓜幼苗生长和活性氧代谢的影响[J]. 江苏农业学报,2012,28(1):152-157.
- [3] 颜志明,孙锦,郭世荣. 外源脯氨酸对NaCl胁迫下甜瓜幼苗生长和活性氧物质代谢的影响[J]. 江苏农业学报,2011,27(1):141-145.
- [4] 汪良驹,姜卫兵,章镇,等. 5-氨基乙酰丙酸的生物合成和生理活性及其在农业中的潜在应用[J]. 植物生理学通讯,2003,39(3):185-192.
- [5] Akram N A, Ashraf M. Regulation in plant stress tolerance by a potential plant growth regulator,5-aminolevulinic acid[J]. Journal of Plant Growth Regulation,2013,32(3):663-679.
- [6] Watanabe K, Tanaka T, Hotta Y, et al. Improving salt tolerance of cotton seedlings with 5-aminolevulinic acid[J]. Plant Growth Regulation,2000,32(1):97-101.
- [7] 周月,徐亮,杨立,等. 外源ALA对盐胁迫下豌豆幼苗生理特性的影响[J]. 西南师范大学学报:自然科学版,2012,37(8):111-115.
- [8] 孟长军,邹志荣. 外源ALA对樱桃番茄幼苗盐伤害的缓解效应[J]. 江苏农业学报,2011,27(2):378-381.
- [9] 刘晖,康琅,汪良驹. ALA对盐胁迫下西瓜种子萌发的促进效应[J]. 果树学报,2006,23(6):854-859.
- [10] 王爱国,罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯,1990,26(6):55-57.
- [11] Heath R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics,1968,125(1):189-198.
- [12] Gong M, Li Y J, Chen S Z. Abscissic acid-induced thermotolerance in maize seedlings is mediated by calcium and associated with antioxidant systems[J]. Journal of Plant Physiology,1998,153(3/4):488-496.
- [13] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases: II. purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings[J]. Plant Physiology,1977,59(2):315-318.
- [14] 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.
- [15] Dhindsa R S, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase[J]. Journal of Experimental Botany,1981,32(1):93-101.
- [16] Gill S S, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2010,48(12):909-930.
- [17] Parida A K, Das A B. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety,2005,60(3):324-349.
- [18] 张春平,何平,韦品祥,等. 外源5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下紫苏种子萌发及幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 中草药,2011,42(6):1194-1200.
- [19] 刘志媛,朱祝军,钱亚榕,等. 等渗 $Ca(NO_3)_2$ 和NaCl对番茄幼苗生长的影响[J]. 园艺学报,2001,28(1):31-35.
- [20] 王丽萍,孙锦,郭世荣,等. 等渗 $Ca(NO_3)_2$ 和NaCl胁迫对黄瓜砧用南瓜幼苗生长和活性氧代谢的影响[J]. 西北植物学报,2011,31(10):2045-2051.
- [21] Liu D, Wu L T, Naem M S, et al. 5-aminolevulinic acid enhances photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and antioxidant system in oilseed rape under drought stress[J]. Acta Physiologiae Plantarum,2013,35(9):2747-2759.
- [22] Hunter G A, Rivera E, Ferreira G C. Supraphysiological concentrations of 5-aminolevulinic acid dimerize in solution to produce superoxide radical anions via a protonated dihydropyrazine intermediate[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics,2005,437(2):128-137.
- [23] 张治平,於丙军,汪良驹,等. 低温下ALA对番茄光合色素和抗氧化酶活性的影响[J]. 江苏农业学报,2014,30(1):222-224.
- [24] 张治平,张丽丽. 5-氨基乙酰丙酸对油菜幼苗抗冷性和抗氧化系统的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(2):52-55.