

不同抑制剂处理对 Na_2SeO_3 作用下枸杞幼苗营养物质积累和抗逆性的影响

董卫华¹, 郑信伟², 张艳芳¹

(1. 新乡医学院 生物化学与分子生物学教研室, 河南 新乡 453003;

2. 河南农业大学 资源与环境学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 采用盆栽试验, 研究了不同抑制剂处理对 Na_2SeO_3 作用下枸杞幼苗营养物质积累和抗逆性的影响。结果显示: 不同浓度的转录抑制剂放线菌素 D (AMD) 和翻译抑制剂环己亚胺 (CHM) 与 Na_2SeO_3 共同处理枸杞幼苗, 枸杞幼苗可溶性糖和可溶性蛋白质的含量与 Na_2SeO_3 组比较有所下降, 丙二醛含量和植株的电解质渗透率, 较 Na_2SeO_3 组增高, 其抗逆性与 Na_2SeO_3 组比较降低。而且 CHM 的抑制作用要大于 AMD, 提示 Na_2SeO_3 对枸杞幼苗的营养物质积累和抗逆性的促进作用在翻译水平上影响更大。

关键词: 枸杞; 亚硒酸钠; 放线菌素 D; 环己亚胺

中图分类号: S567.1⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2009)01-0088-03

Effects of Different Inhibitors on the Accumulation of Nutrient Substance and the Stress Resistance of *Lycium barbarum* Seedlings under the Function of Na_2SeO_3

DONG Wei-hua¹, ZHENG Xin-wei², ZHANG Yan-fang¹

(1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Xinxiang Medical College, Xinxiang 453003, China;

2. College of Resource and Environment Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The effects of different inhibitors on the accumulation of nutrient substance and the stress resistance of *Lycium barbarum* seedlings under the function of Na_2SeO_3 condition were studied in pot experiment. Results showed that different concentration of transcription inhibitor AMD and translation inhibitor CHM together with Na_2SeO_3 decreased the contents of soluble sugar and soluble protein and increased the content of MDA and the rates of membrane leakage of *Lycium barbarum* seedlings. So the stress resistance of *Lycium barbarum* seedlings decreased. And CHM's inhibitory function was higher than AMD's. It presented that the promoter function of Na_2SeO_3 on the accumulation of nutrient substance and the stress resistance of *Lycium barbarum* seedlings is higher in the level of translation than in transcription level.

Key words: *Lycium barbarum*; Na_2SeO_3 ; AMD; CHM

微量元素硒是植物生长所需的一种有益元素。它能够刺激植物生长发育、提高作物产量与品质、促进植物新陈代谢^[1]。枸杞是一味具有强壮滋补功效的中药, 枸杞叶具有补虚益精、清热、止渴、祛风明目的功效, 主治虚劳发热、烦渴、目赤昏痛、热毒疮肿。

前期研究显示: 硒作为生物抗氧化剂, 可以增强枸杞的抗氧化功效^[2], 提高枸杞幼苗的营养物质积累和抗逆性。不同抑制剂处理对硒作用下枸杞幼苗营养物质积累和抗逆性影响鲜有报道。为此, 以宁夏枸杞幼苗为材料, 探讨了转录抑制剂放线菌素 D (acti-

收稿日期: 2008-07-30

基金项目: 河南省医学科技攻关计划(200804050)

作者简介: 董卫华(1975-), 女, 河南扶沟人, 讲师, 硕士, 主要从事微量元素与蛋白质方面的科研和教学工作。

nomycin D, AMD)和翻译抑制剂环己亚胺(cycloheximide, CHM)处理对亚硒酸钠(Na_2SeO_3)作用下枸杞幼苗营养物质积累和抗逆性的影响,并对其机制进行了初步探讨。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试材料为优质宁夏枸杞,采用盆栽试验。选取出芽一致的幼苗60株,随机分为4组:对照组、 Na_2SeO_3 组、AMD组以及CHM组。 Na_2SeO_3 组施用0.5 mg/kg的 Na_2SeO_3 ;AMD组设置5个浓度处理:1 $\mu\text{g/kg}$, 2 $\mu\text{g/kg}$, 3 $\mu\text{g/kg}$, 4 $\mu\text{g/kg}$ 和5 $\mu\text{g/kg}$,每个处理5株,每株配合施用0.1 mg/mL的 Na_2SeO_3 ,每千克土壤喷洒5 mL。CHM组设置0.25 $\mu\text{g/kg}$, 0.5 $\mu\text{g/kg}$, 0.75 $\mu\text{g/kg}$, 1 $\mu\text{g/kg}$ 和1.5 $\mu\text{g/kg}$ 5个浓度处理,每个处理5株,配合施用 Na_2SeO_3 0.5 mg/kg。对照组无AMD,CHM和 Na_2SeO_3 。处理5 d后取植株进行各项测定。

1.2 测定方法

1.2.1 可溶性糖的测定 采用蒽酮法测定^[3]。取新鲜枸杞幼苗1 g匀浆,加蒸馏水10 mL,在水浴中加盖煮沸15 min,冷却后用漏斗过滤到50 mL容量瓶中,即为待测液。620 nm波长下比色测定。

1.2.2 可溶性蛋白质的测定 采用Folin—酚法测定^[3]。称取新鲜枸杞幼苗1 g,加蒸馏水8.0 mL,匀浆、转入离心管,4000 r/min离心20 min,上清液转入50 mL容量瓶,定容至刻度。650 nm波长下比色测定。可溶性蛋白质相对含量的计算:每克幼苗中可溶性蛋白质含量查牛血清蛋白标准曲线为

100 mg时相对含量为1。

1.2.3 丙二醛(malondialdehyde, MDA)的测定 参照王爱国等的硫代巴比妥酸法测定^[4]。取幼苗叶片0.1 g,加入0.1%的三氯乙酸3 mL研磨,3000 r/min离心,取上清液1.5 mL,加入0.1%硫代巴比妥酸2.5 mL,沸水浴煮沸10 min,迅速冷却,3000 r/min离心10 min,取上清液,在532 nm和600 nm下比色测定。

1.2.4 电解质渗透率的测定 参照刘鸿先等的方法^[5]。把植株清洗干净,放置于盛有蒸馏水的大烧瓶中,隔离空气,24 h后取出植株,用电导仪测定液体的电导率。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的AMD对 Na_2SeO_3 作用下枸杞幼苗营养物质积累和抗逆性的影响

以0.5 mg/kg的 Na_2SeO_3 和不同浓度的AMD共同处理枸杞幼苗,其可溶性糖和可溶性蛋白质含量以及丙二醛含量和电解质渗透率如表1所示。随着AMD浓度的增加,枸杞幼苗可溶性糖含量和可溶性蛋白质含量逐渐下降。 Na_2SeO_3 和1~5 g/kg的AMD共同处理枸杞幼苗,其可溶性糖含量分别比单独用 Na_2SeO_3 处理降低了0.32, 0.90, 1.48, 1.57和1.66个百分点,可溶性蛋白质分别降低了5.5%, 10.2%, 14.1%, 15.6%和16.4%,但是都高于无 Na_2SeO_3 和AMD的对照。从结果可以看出,AMD浓度范围在1~3 g/kg时,随着浓度的增加,抑制效果增强比较明显;3 g/kg以后,随着浓度的增加,幼苗可溶性糖含量和可溶性蛋白质含量有所下

表1 不同浓度AMD对 Na_2SeO_3 作用下枸杞幼苗营养物质积累和抗逆性的影响

处理	可溶性糖含量(%)	可溶性蛋白质相对含量	丙二醛含量($\mu\text{mol/g}$)	电解质渗透率(%)
CK	8.92±0.055	1.01±0.006	9.31±0.103	2.10±0.015
Na_2SeO_3 0.5 mg/kg	10.92±0.061	1.28±0.008	8.23±0.095	1.82±0.010
AMD 1 $\mu\text{g/kg}$ + Na_2SeO_3	10.60±0.052	1.21±0.002	8.56±0.098	1.87±0.011
AMD 2 $\mu\text{g/kg}$ + Na_2SeO_3	10.02±0.063	1.15±0.005*	8.87±0.100	1.93±0.009
AMD 3 $\mu\text{g/kg}$ + Na_2SeO_3	9.44±0.057*	1.10±0.007*	9.09±0.097*	1.99±0.013*
AMD 4 $\mu\text{g/kg}$ + Na_2SeO_3	9.35±0.054*	1.08±0.003*	9.13±0.094*	2.01±0.010*
AMD 5 $\mu\text{g/kg}$ + Na_2SeO_3	9.26±0.051*	1.07±0.004*	9.20±0.101*	2.03±0.012*

注: *表示与 Na_2SeO_3 组比较差异显著($P<0.05$),下同

降,但是下降的幅度较小。

AMD不仅表现为抑制枸杞幼苗营养物质积累,而且还能够降低枸杞幼苗的抗性。从表1可以看出,随着AMD浓度的增大,枸杞幼苗丙二醛含量和电解质渗透率逐渐上升。 Na_2SeO_3 和AMD共同处理枸杞幼苗丙二醛含量分别比单独用 Na_2SeO_3 处理提高了4.0%, 7.8%, 10.5%, 10.9%和11.8%,电解质渗透率分别提高了0.05, 0.11, 0.17, 0.19和

0.21个百分点。说明AMD能够降低枸杞幼苗的抗逆性,而且随着浓度的增加,枸杞的抗逆性逐渐降低,3 g/kg以后降低的趋势减弱。

2.2 不同浓度的CHM对 Na_2SeO_3 作用下枸杞幼苗营养物质积累和抗逆性的影响

表2结果显示,以0.5 mg/kg的 Na_2SeO_3 和不同浓度的CHM共同处理枸杞幼苗后,枸杞幼苗可溶性糖和可溶性蛋白质含量随着CHM浓度的增加

而逐渐下降, 分别比单独用 Na_2SeO_3 处理时降低了 0.45, 0.97, 1.61, 1.68, 1.72 个百分点和 6.3%, 11.7%, 16.4%, 18.7%, 20.3%。从结果可以看出, CHM 对可溶性蛋白质的影响与可溶性糖相似, 而且对蛋白质的影响要大于对糖的影响。这可能是因为 CHM 对糖和蛋白质合成过程都同样具有抑制作用, 而且 CHM 作为蛋白质合成抑制剂对蛋白质合成的影响是直接的而对糖含量的影响是间接的, 主要是抑制了糖合成过程中关键酶的活性。

CHM 还可以通过提高枸杞幼苗中丙二醛含量

和电解质渗透率而降低枸杞幼苗的抗逆性。表 2 结果显示, 随着 CHM 浓度的增加, 枸杞幼苗中丙二醛含量和电解质渗透率逐渐增加。0.25 ~ 1.5 $\mu\text{g/kg}$ 的 CHM 与 Na_2SeO_3 配合施用与单独施 Na_2SeO_3 相比, 丙二醛含量提高了 6.2%, 8.4%, 10.7%, 11.8% 和 12.2%, 电解质渗透率提高了 0.04, 0.12, 0.18, 0.21 和 0.22 个百分点。不同浓度的 CHM 与 Na_2SeO_3 共同处理幼苗后, 无论是丙二醛含量还是电解质渗透率都要低于无 Na_2SeO_3 和 AMD 的对照。

表 2 不同浓度 CHM 对 Na_2SeO_3 作用下枸杞幼苗营养物质积累和抗逆性的影响

处理	可溶性糖含量(%)	可溶性蛋白质相对含量	丙二醛含量($\mu\text{mol/g}$)	电解质渗透率(%)
CK	8.92±0.055	1.01±0.006	9.31±0.103	2.10±0.015
Na_2SeO_3 0.5mg/kg	10.92±0.061	1.28±0.008	8.23±0.095	1.85±0.009
CHM 0.25 $\mu\text{g/kg}$ + Na_2SeO_3	10.47±0.059	1.20±0.006	8.74±0.098	1.89±0.014
CHM 0.5 $\mu\text{g/kg}$ + Na_2SeO_3	9.95±0.063	1.13±0.007*	8.92±0.101	1.97±0.010
CHM 0.75 $\mu\text{g/kg}$ + Na_2SeO_3	9.31±0.047*	1.07±0.004*	9.11±0.097*	2.03±0.012*
CHM 1 $\mu\text{g/kg}$ + Na_2SeO_3	9.24±0.060*	1.04±0.003*	9.20±0.095*	2.06±0.017*
CHM 1.5 $\mu\text{g/kg}$ + Na_2SeO_3	9.20±0.052*	1.02±0.007*	9.23±0.099*	2.07±0.013*

3 讨论

硒具有多重生物学功能, 是环境中重要的生命元素。首先它是生物体内重要的抗氧化物质, 存在于体内重要的抗氧化酶——谷胱甘肽过氧化物酶的活性中心, 可以降低或消除脂质过氧化物所产生的自由基对膜的攻击, 使脂膜不致发生过氧化作用而得到保护。硒不只是重要的抗氧化剂, 而且还是植物生长的一种有益元素, 我们前期的研究表明, 硒在一定的浓度范围内可以促进枸杞幼苗的营养物质积累并提高抗逆性^[9]。

AMD 作为转录抑制剂, 可以抑制 RNA 的生物合成, 从而抑制基因组 DNA 的表达。本研究结果显示, AMD 和 Na_2SeO_3 共同处理幼苗后, 幼苗可溶性糖、可溶性蛋白质含量和抗逆性较 Na_2SeO_3 组降低。说明 AMD 可以抑制硒对枸杞促进营养物质积累和抗逆性的作用, 而且随着 AMD 浓度的增加, 抑制作用加强。可能是 AMD 抑制了相关基因的表达, 从而削弱了硒的这种促进植株生长和提高其抗氧化的作用。但是 AMD 的抑制作用要小于 Na_2SeO_3 的促进作用, 所以二者共同作用于枸杞幼苗时, 显示幼苗中可溶性糖和可溶性蛋白质的含量高于无 Na_2SeO_3 和 AMD 的对照。

CHM 是一种翻译抑制剂, 能够抑制蛋白质的生物合成过程。本研究结果显示, CHM 同样能够抑制硒对枸杞幼苗的营养物质积累和抗逆性的促进作用, 可能是因为 CHM 抑制了一些关键酶的活性, 从而降低了硒的生物学功能。但是 Na_2SeO_3 的促

进作用要大于 CHM 的抑制作用, 所以 Na_2SeO_3 和 CHM 共同作用时, 幼苗总体呈现生长和抗逆性增强的趋势。

AMD 和 CHM 作为不同的抑制剂, 都能抑制硒对枸杞幼苗的营养物质积累和抗逆性的促进作用。说明硒对枸杞幼苗的营养物质积累和抗逆性的促进作用的发生需要新的 mRNA 和蛋白质的连续合成。可以推测, 可能有新的、与硒的生物学作用相关的酶的合成。而且 CHM 的抑制作用大于 AMD 的作用, 可见某些蛋白质的合成是硒对枸杞幼苗的营养物质积累和抗逆性的促进作用发生所必需的, 提示 Na_2SeO_3 对枸杞幼苗的营养物质积累和抗逆性的促进作用在翻译水平上影响更大。相关的其他机理有待进一步研究。

参考文献:

[1] 刘大会, 周文兵, 朱端卫, 等. 硒在植物中生理功能的研究进展[J]. 山地农业生物学报, 2005, 24(3): 253—259.

[2] 董卫华, 赵长安, 咎玉玺. 微量元素硒对宁夏枸杞抗氧化系统的影响[J]. 新乡医学院学报, 2007, 24(4): 355—357.

[3] 朱利泉. 基础生物化学实验原理与方法[M]. 成都: 成都科技大学出版社, 1996: 55—56, 62—63.

[4] 王爱国, 邵从本, 罗广华. 丙二醛作为植物脂质过氧化指标的探讨[J]. 植物生理学通讯, 1986, 22(2): 55—57.

[5] 刘奕清, 朱建勇, 陈泽雄. 低温胁迫对尾巨桉幼苗细胞膜透性的影响[J]. 林业科技, 2007, 32(4): 3—5.

[6] 董卫华, 咎玉玺, 赵长安. 微量元素硒对宁夏枸杞幼苗营养物质积累和抗逆性的影响[J]. 新乡医学院学报, 2008, 25(2): 127—129.