

光照强度对盾叶薯蓣试管苗膜脂过氧化的影响

芦 婕¹, 张晓丽^{1,2}, 刘 雯¹, 刘露颖¹, 郭 婧¹,
龚玉佳¹, 李明军^{1,2*}

(1. 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007;

2. 河南省高校道地中药材保育及利用工程技术研究中心, 河南 新乡 453007)

摘要: 以盾叶薯蓣试管苗为材料, 测定不同光照强度下盾叶薯蓣叶片丙二醛(MDA)含量、 O_2^- 含量及相对电导率, 研究不同光照强度对盾叶薯蓣试管苗膜脂过氧化的影响。结果表明, 光照强度为750 lx和3 200 lx时, 盾叶薯蓣试管苗叶片MDA含量、 O_2^- 含量及相对电导率均相对较高, 而光照强度为2 000 lx时, 叶片MDA含量、 O_2^- 含量及相对电导率均相对较低。表明2 000 lx的光照强度较适宜盾叶薯蓣试管苗的生长。

关键词: 盾叶薯蓣; 光照强度; MDA含量; O_2^- 含量; 相对电导率

中图分类号: S632.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)07-0094-04

Effects of Light Intensity on Membrane Lipid Peroxidation of *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright in Vitro

LU Jie¹, ZHANG Xiao-li^{1,2}, LIU Wen¹, LIU Lu-ying¹, GUO Jing¹,
GONG Yu-jia¹, LI Ming-jun^{1,2*}

(1. College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

2. Engineering Technology Research Center of Nursing and Utilization of Genuine Chinese Crude Drugs,
University of Henan Province, Xinxiang 453007, China)

Abstract: The MDA content, O_2^- content and the relative conductivity of *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright plantlets under different light intensity were determined, and the effects of light intensity on membrane lipid peroxidation in leaf of *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright plantlets were studied. The results showed that the MDA content, O_2^- content and the relative conductivity were relatively high under the light intensity of 750 lx and 3 200 lx. While under the light intensity of 2 000 lx, the MDA content, O_2^- content and the relative conductivity were relatively low, when the plantlets of *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright grew well.

Key words: *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright; light intensity; MDA content; O_2^- content; relative conductivity

盾叶薯蓣 (*Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright) 是薯蓣科薯蓣属多年生缠绕草本植物, 又名黄姜, 主要分布在湖北、陕西、河南、四川和甘肃等地^[1], 其根茎富含的薯蓣皂素是合成甾体激素和甾体避孕药的主要原料^[2], 可用于治疗冠心病和心血

管病, 也可用于抗癌、防衰老、避孕和治疗多种疾病。因此, 盾叶薯蓣在医药界有“药用黄金”的美称。

关于盾叶薯蓣的研究主要集中在药用成分分析、提取工艺改进、组培快繁和育种等方面^[3-7], 而对其生理特性的研究则很少。光是植物生理代谢的重

收稿日期: 2013-02-19

基金项目: 河南省科技创新杰出人才计划项目(114200510013)

作者简介: 芦 婕(1988-), 女, 河南商丘人, 在读硕士研究生, 研究方向: 药用植物生物技术。E-mail: lj-3994@163.com

* 通讯作者: 李明军(1962-), 男, 河南温县人, 教授, 博士, 主要从事植物生理学教学及植物生物技术应用研究。

E-mail: limingjun2002@263.net

要影响因子之一,有研究认为,在较弱光照强度下生长的盾叶薯蓣皂素含量较高^[8],但太弱的光照强度会破坏叶片膜系统,造成光合过程酶活性改变以及叶绿体发育不良,排列紊乱,超微结构遭到破坏,叶绿体数量减少等^[9],最终导致膜脂质过氧化程度提高,光合产物减少。本研究以盾叶薯蓣试管苗为材料,对光照强度与盾叶薯蓣试管苗叶片中MDA含量、 O_2^- 含量及相对电导率的关系进行探讨,以期盾叶薯蓣的组织培养、细胞培养和大规模人工栽培时光照强度的调控提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

盾叶薯蓣试管苗,由河南师范大学“四大怀药”组织培养研究室提供。

1.2 试验处理

将大小一致的盾叶薯蓣试管苗接种到MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L培养基中进行培养,随机分成3组,每组6瓶,每瓶5株,重复3次。培养条件为(25±2)℃、光周期为14 h/d,光照强度设3个处理,分别为750 lx、2 000 lx和3 200 lx。培养30 d后进行取样,同处理不同单株混合均匀取样,选取试管苗顶部起第3~5片完全展开的叶片,用蒸馏水冲洗,滤纸吸干水分,剪取不同单株的叶片均匀混合后称取0.2 g,待测。

1.3 测定项目及方法

丙二醛(MDA)含量测定参照李合生^[10]的方法;超氧阴离子自由基(O_2^-)含量测定参照李忠光等^[11]的方法;相对电导率测定参照郝再彬^[12]的方法。

1.4 数据处理

试验数据用SPSS数据统计分析软件和Excel软件处理。不同光照强度处理下的叶片生理指标差异通过最小差异法(LSD)在0.05水平检验,用小写字母在图中表示。

2 结果与分析

2.1 光照强度对盾叶薯蓣试管苗叶片MDA含量的影响

细胞膜脂质过氧化的次生产物MDA是长期以来用于检测细胞膜脂质过氧化程度的通用指标。由图1可知,盾叶薯蓣试管苗叶片中MDA含量在光照强度为3 200 lx时最高,750 lx时次之,2 000 lx

时最低,且3种光照强度下差异显著。说明在750 lx和3 200 lx的光照强度下,试管苗细胞膜脂质过氧化程度增大,且光照强度3 200 lx较750 lx时试管苗的MDA含量增加更多,表明较高的光照强度对盾叶薯蓣试管苗造成的伤害程度更大。

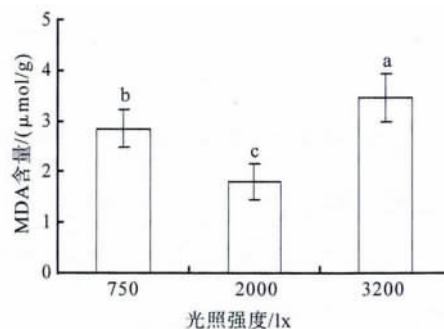


图1 不同光照强度下盾叶薯蓣试管苗叶片的MDA含量

2.2 光照强度对盾叶薯蓣试管苗叶片 O_2^- 含量的影响

O_2^- 的生成速率常常作为衡量植物在逆境下受损程度的指标。由图2可知,盾叶薯蓣试管苗 O_2^- 含量在3种光照强度下存在显著差异。当光照强度为2 000 lx时, O_2^- 含量最低,活性氧代谢基本处于平衡状态;在光照强度为3 200 lx时 O_2^- 含量最高,750 lx时次之,此时,活性氧代谢平衡被打破, O_2^- 含量增加,破坏了细胞膜系统从而使膜脂质过氧化。

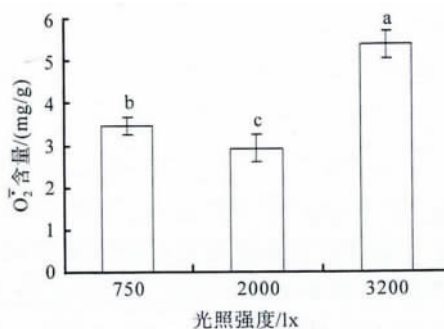


图2 不同光照强度下盾叶薯蓣试管苗叶片的 O_2^- 含量

2.3 光照强度对盾叶薯蓣试管苗叶片细胞膜透性的影响

相对电导率可直观地反映出细胞膜透性的改变以及细胞被破坏的情况。由图3可知,盾叶薯蓣试管苗叶片相对电导率在光照强度为3 200 lx时最高,750 lx时次之,2 000 lx时最低。光照强度为750 lx和2 000 lx时,盾叶薯蓣试管苗的相对电导率差异不显著,但都显著低于3 200 lx时的相对电导率。这表明,光照强度为3 200 lx时,细胞膜的受损程度最大,光照强度为2 000 lx时,细胞膜的受损程度最小。

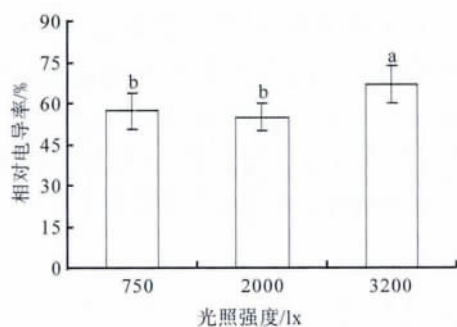


图 3 不同光照强度下盾叶薯蓣试管苗叶片的相对电导率

3 结论与讨论

膜脂过氧化是指在生物膜的不饱和脂肪酸中发生的一系列自由基反应。主要由植物受外界因子胁迫引起,并产生一种高活性的膜脂过氧化产物 MDA。MDA 具有很强的细胞毒性,它可与蛋白质或核酸反应,抑制蛋白质的合成,也可与酶反应,使其丧失活性。由于它会严重损伤生物膜的结构和功能,其含量高低也成为评价膜脂过氧化强弱和质膜破坏程度的重要指标^[13]。黄卫东等^[14]研究发现,随着光照强度的减弱,樱桃叶片中的 MDA 含量上升。周传凤等^[15]在研究强光胁迫对牡丹叶片抗氧化系统的影响时发现,牡丹叶片遭受强光胁迫后 MDA 含量明显增加,细胞膜脂过氧化程度加剧。

造成植物在逆境中发生过氧化作用的因素还有活性氧在体内积累。活性氧是一类化学性质活泼、氧化能力极强的含氧物质,如 O_2^- 、过氧化氢 (H_2O_2)、羟自由基 ($\cdot OH$) 等。其中 O_2^- 在植物代谢中起着非常重要的作用,它可阻断电子传递,在水溶液中可通过质子化作用转化为羟基自由基,且其产生速率会随着植物受逆境胁迫的加强而提高^[16]。在正常情况下,植物体产生的自由基不会使植物受到伤害,这是因为植物体内有一套完善的抗氧化防御系统,该系统有清除活性氧的能力。但在逆境条件下,随着胁迫程度的加剧,活性氧的产生与清除系统之间平衡就会被打破,造成活性氧过度积累,进而攻击生物膜,最终造成膜脂过氧化加剧。因此,可以用 O_2^- 产生速率来评价植物膜脂过氧化的程度。闫秋艳等^[17]在研究遮阳网覆盖对菜心产量及抗氧化特性的影响时发现,夏季高温强光照射下,不覆盖处理菜心叶片及茎内 O_2^- 的生成速率高于遮阳网覆盖处理,适度的遮阳可以减小膜脂过氧化作用。

质膜相对透性是衡量质膜破坏程度的重要指标,而膜脂过氧化是引起质膜相对透性增加的主要原因。相对电导率的大小可以反映植物叶片的细胞

膜透性。相对电导率越小,说明细胞液外渗较少,细胞膜透性较小。郁继华等^[18]研究发现,随着低温弱光胁迫程度和时间的延长,辣椒幼苗叶片的细胞膜透性增大。芦站根等^[19]在研究光强对曼地亚红豆杉膜代谢及保护系统的影响时发现,适度遮荫(50%的透光率)条件下,叶片的 O_2^- 产生速率、MDA 含量和细胞膜相对透性均维持在较低水平。而过度遮荫(12.5%的透光率)或者是自然光照(100%的透光率)条件下,叶片的 O_2^- 产生速率、MDA 含量上升,细胞膜相对透性有所增加。

本研究也得到了与上述研究相一致的结论:盾叶薯蓣试管苗 MDA 含量、 O_2^- 含量及相对电导率在光照强度为 3 200 lx 或 750 lx 时,均有不同程度的增加。说明在较强或较弱的光照条件下,细胞膜脂过氧化程度均较大,细胞受损较为严重,代谢系统逐渐失调,生境趋于逆境。光照强度为 2 000 lx 时,MDA 含量、 O_2^- 含量和相对电导率均较低,代谢基本处于平衡状态,较有利于盾叶薯蓣试管苗的生长。

参考文献:

- [1] 张晓丽,郭婧,龚玉佳,等.盾叶薯蓣顶芽快繁技术研究[J].河南农业科学,2012,41(4):128-131.
- [2] Sautour M, Mitaine A C, Lacaille M A. The Dioscorea genus: a review of bioactive steroid saponins[J]. J Nat Med, 2007, 61(2): 91-101.
- [3] 杨如同,徐德平,唐世蓉,等.盾叶薯蓣鲜根茎中甾体皂苷的分离鉴定[J].中草药,2008,39(4):493-496.
- [4] 王光忠,张明,刘焱文. HPLC-ELSD 法测定盾叶薯蓣中薯蓣皂苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(12): 1906-1908.
- [5] 张黎明,赵希. 超声波辅助提取盾叶薯蓣皂苷元的工艺研究[J]. 林产化学与工业, 2008, 28(4): 103-107.
- [6] 刘贵周,谢世清. 盾叶薯蓣良种离体快繁关键技术研究[J]. 中国种业, 2005(6): 36-37.
- [7] 莫英,兰利琼,卿人韦,等. 盾叶薯蓣种子萌发条件及诱导外植体愈伤的研究[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2004, 41(4): 837-841.
- [8] 孙晶,李向民,张晶. 光强对盾叶薯蓣生长发育及皂素含量的影响[J]. 西北植物学报, 2011, 31(3): 536-542.
- [9] 沈文云,马德华,侯锋,等. 弱光处理对黄瓜叶绿体超微结构的影响[J]. 园艺学报, 1995, 22(4): 397-398.
- [10] 李合生. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社, 2004.
- [11] 李忠光,龚明. 植物中超氧阴离子自由基测定方法的改进[J]. 云南植物研究, 2005, 27(2): 211-216.
- [12] 郝再彬. 植物生理实验[M]. 哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社, 2004.

(下转第 102 页)

安^[10]等的杏树小麦间作系统中杏树根系分布存在一定差异,这与果树树种有关,核桃、杏树属于深根系树种,而红枣是浅根系树种^[12];张劲松等^[13]研究表明,石榴根系水平方向分布距离、竖直方向分布深度均小于红枣,这除了是因为红枣和石榴样地土质条件不同之外(石榴试验区土壤以石灰岩风化母质淋溶性褐土为主,土层厚度 50~80 cm,而红枣试验地表土 60 cm 以内为砂壤土,60 cm 以下为砂土),还因为石榴属于灌木,而红枣属于乔木,乔木根系比灌木发达。由于试验地地下水位较高,本试验挖根深度达到 1.6 m 见水,停止下挖,建议后续试验选择样地地下水位低一点的样地,这样才能保证竖直方向挖到没有根的位置。

参考文献:

- [1] 曲泽洲. 我国古代的枣树栽培[J]. 河北农业大学学报, 1963, 2(2): 2-3.
- [2] 刘孟军. 枣属植物分类学研究进展[J]. 园艺学报, 1999, 26(5): 302-308.
- [3] 漆联全. 新疆红枣高产栽培技术[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2004: 12.
- [4] 云雷, 毕华兴, 马雯静. 晋西黄土区核桃花生复合系统核桃根系空间分布特征[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(7): 67-70.
- [5] Brenda B C, Robert B J. Plant competition underground [J]. Annual Reviews of Ecology and Systematics, 1997, 28: 545-570.
- [6] 王玉柱. 杏树根系分布的观察[J]. 华北农学报, 1993, 8(4): 83-86.
- [7] 张劲松, 孟平. 石榴树吸水根根系空间分布特征[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2004, 28(4): 89-91.
- [8] 赵领军, 张丽军, 赵善仓. 果树根系与水分关系[J]. 河北果树, 2007(1): 1-4.
- [9] 史彦江, 俞涛, 哈地尔·依沙克, 等. 枣粮(棉)间作系统枣树根系空间分布特征[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(10): 59-60.
- [10] 陈高安, 潘存德, 王世伟. 间作条件下杏树吸收根空间分布特征[J]. 新疆农业科学, 2011, 48(5): 821-825.
- [11] 王世伟. 环塔里木盆地核桃与粮棉间作系统的光环境和根系分布特征研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2010.
- [12] 王文全, 贾渝彬, 臀丽敏. 毛白杨根系分布的研究[J]. 河北农业大学学报, 1999, 20(1): 25-26.
- [13] 张劲松, 孟平, 尹昌君. 果农复合系统中果树根系空间分布特征[J]. 林业科学, 2002, 15(5): 537-541.
- [14] 姚秋菊, 张晓伟, 赵小忠, 等. 硅对盐胁迫下不同基因型黄瓜幼苗生长和生理代谢的影响[J]. 河南农业科学, 2008(1): 79-83.
- [15] HUANG Wei-Dong, WU Lan-Kun, ZHAN Ji-Cheng. Effect of weak light on the peroxidation of membrane-lipid of cherry leaves[J]. Acta Botanica Sinica, 2002, 44(8): 920-924.
- [16] 周传凤, 郑国生, 张玉喜, 等. 强光胁迫对牡丹叶片抗氧化系统的影响[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(3): 232-233.
- [17] 闫秋艳, 陈日远, 董飞, 等. 遮阳网覆盖对菜心产量及抗氧化特性的影响[J]. 华南农业大学学报, 2011, 32(4): 6-9.
- [18] 郁继华, 张国斌, 冯致, 等. 低温弱光对辣椒幼苗抗氧化酶活性与质膜透性的影响[J]. 西北植物学报, 2005, 25(12): 2478-2483.
- [19] 芦站根, 赵昌琼, 周文杰, 等. 光强对曼地亚红豆杉膜代谢及保护系统的影响[J]. 重庆大学学报, 2003, 26(8): 89-92.
- [20] Eva V, Dirk I, Frank V B. Signal transduction during oxidative stress[J]. Journal of Experimental Botany, 2002(53): 1227-1236.

(上接第 96 页)