

· 中药农业 ·

叶面喷施水杨酸对当归幼苗生理特性和保护酶活性的影响[△]李铂¹, 唐志书^{1*}, 王楠¹, 黄文静¹, 孙晓春¹, 宋忠兴¹, 王二欢², 刘峰², 王益民²

1. 陕西中医药大学 陕西省中药资源产业化协同创新中心, 陕西 咸阳 712083;

2. 陕西步长制药有限公司, 陕西 西安 710075

[摘要] 目的: 研究叶面喷施水杨酸(SA)对当归幼苗生长和保护酶活性的影响, 为当归种子种苗的生产提供科学依据。方法: 采用叶面喷施的方法, 设置不同处理浓度, 考察水杨酸对当归幼苗生物量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性的影响。结果: 叶面喷施适宜浓度的水杨酸能促进当归幼苗的生长并提高保护酶活性。其中以 0.5 mmol·L⁻¹ 水杨酸处理的当归幼苗株高和鲜质量为最高, 分别为对照组的 135.2% 和 224.6%, 超过此浓度, 植株生长受到抑制。1.0 mmol·L⁻¹ 水杨酸处理的当归幼苗, SOD、POD、CAT 酶活性分别为对照组的 149.1% (7 d)、138.2% (7 d)、194.7% (5 d)。结论: 叶面喷施 0.5 mmol·L⁻¹ 的水杨酸能够促进当归幼苗生长, 较高浓度的水杨酸对提高当归幼苗 SOD、POD、CAT 酶活性的效果较好, 但会加剧对植株生长的抑制作用。

[关键词] 当归; 水杨酸; 生理特性; 保护酶

[中图分类号] R282.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)05-0634-04

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20181014002

Effects of Foliar Spraying with Salicylic Acid on Physiological Characteristics and Antioxidase Activity of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels

LI Bo¹, TANG Zhi-shu^{1*}, WANG Nan¹, HUANG Wen-jing¹, SUN Xiao-chun¹, SONG Zhong-xing¹,
WANG Er-huan², LIU Feng², WANG Yi-min²1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal
Resources Industrialization, Xianyang 712083, China;

2. Shaanxi Buchang Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an 710075, China

[Abstract] **Objective:** The study aims at investigating the influences of exogenous salicylic acid on the growth and antioxidant activity of *Angelica sinensis* seedlings, and providing a theoretical basis for breeding. **Methods:** Foliar spraying with a series concentration of salicylic acid were applied. The length and fresh weight, superoxide dismutase, peroxidase and catalase activities of the seedlings were measured after salicylic acid treatments. **Results:** The growth and antioxidant activity of *A. sinensis* seedlings could be promoted with appropriate concentration of salicylic acid treatments. The length and fresh weight of the seedlings was increased to 135.2% and 224.6% compared with the control after 0.5 mmol·L⁻¹ salicylic acid spraying respectively. However, the growth conditions and weights of seedlings were inhibited by increasing concentration of salicylic acid. SOD, POD and CAT activities were promoted to 149.1% (7 d), 138.2% (7 d), and 194.7% (5 d) compared with controls respectively under the treatment of 1.0 mmol·L⁻¹ salicylic acid. **Conclusion:** 0.5 mmol·L⁻¹ of salicylic acid foliar spraying is benefit for growth condition of seedlings, and relatively higher salicylic acid concentration will be benefit to antioxidant activities promotion, but inhibits the growth condition of *A. sinensis* seedlings apparently.

[Keywords] *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; salicylic acid; physiological characteristics; antioxidant

[△] **[基金项目]** 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-21); 国家中药标准化项目(ZYBZH-C-QIN-45); 2017年中医药公共卫生服务补助专项“全国中药资源普查项目”(财社[2017]66号); 陕西省科技厅重点研发计划一般项目—社会发展领域(2018SF-286); 咸阳市重大科技专项计划项目(2017k01-26)

* **[通信作者]** 唐志书, 教授, 研究方向: 中药剂型理论与新技术应用、中药资源生产与循环利用; Tel: (029)38182201, E-mail: tzs6565@163.com

当归为伞形科当归属植物 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根,是我国常用的大宗药材之一^[1]。当归又称岷归、云归、秦归,主要分布于甘肃、云南、四川、陕西等地^[2]。甘肃岷县、宕昌县等地当归栽培历史悠久,种植面积广,种植技术成熟,药材品质上乘^[3]。水杨酸(salicylic acid, SA)作为参与胁迫应答的一种信号分子,不仅可以诱导植物体内病程相关蛋白(pathogenesis-related proteins)基因表达,使机体产生抗病性,同时能提高植物对多种逆境胁迫的抗性,适度促进植物的生长^[4]。外源喷施水杨酸对植物生理特性影响的研究多见于小麦^[5]、番茄^[6]、黄瓜^[7]等农作物,也用于促进黄芪^[8]、丹参^[9]、苍术^[10]等药用植物种子萌发、植株生长和有效成分次生代谢调控等研究。植物体内由超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)等构成的保护酶系统,是植物应对逆境胁迫的重要防御体系之一,能有效地保护植物,减轻环境胁迫对植物的伤害。本研究通过采用叶面喷施 SA 处理基质栽培的当归幼苗,考察当归幼苗生长、保护酶活性对不同浓度 SA 的响应水平,为提高当归药材的品质、指导药材生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

当归种子采自甘肃省宕昌县阿坞乡麻界村陕西步长制药当归规范化种植基地。GPS 信息:104°09'41.84" E, 34°16'56.21" N, 海拔 2406 m。选取颗粒饱满、大小均一的当归种子,经除杂、消毒后,用蒸馏水冲洗三次,取出,吸干种子表面水分,备用。

取 30 cm × 25 cm 塑料盆,装入适量基质(Pindstrup, Denmark, 粒径 0~6 mm, pH 6.0),将处理好的当归种子播撒于盆中,置于人工气候箱(20 °C, 2 000 lux, 相对湿度 50%~60%);待真叶展开后,每盆留苗 20 株,每个处理 3 盆,共 15 盆。

1.2 仪器与试剂

仪器:LB-350HPY-2 型人工气候箱(上海龙跃仪器设备有限公司);Multiskan GO 全波长酶标仪(Thermo Scientific, USA);UV-2600 紫外可见分光光度计(Shimadzu, Japan)。

试剂:水杨酸(北京索莱宝科技有限公司);磷

酸二氢钠、磷酸氢二钠、无水乙醇(天津市大茂化学试剂厂);水为蒸馏水。

1.3 试验方法

1.3.1 水杨酸浓度梯度及喷施方法 配制浓度分别为 0.1、0.5、1.0、2.0 mmol·L⁻¹ 的水杨酸溶液,以蒸馏水为对照(CK, 0 mmol·L⁻¹),待基质栽培的当归幼苗生长至 60 d 时开始叶面喷施,以液滴欲滴为准,每天喷施一次;分别于处理 3、5、7 d 取样,新鲜样品用于酶活测定,第 7 天采样的同时测定幼苗长度和鲜质量。每个处理设 3 个生物学重复^[11]。

1.3.2 酶活性测定 取新鲜当归幼苗,洗净杂质,吸干水分,精确称取 0.3 g,加入 2.7 mL 磷酸缓冲液(0.05 mol·L⁻¹, pH 7.8),冰上迅速研磨成匀浆,4 °C、10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,上清液用于酶活性测定^[12]。

当归幼苗蛋白含量采用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒测定(P0010S, 上海碧云天生物技术有限公司);超氧化物歧化酶活性采用总 SOD 活性检测试剂盒测定(S0101, 上海碧云天生物技术有限公司);过氧化物酶活性采用 POD 活性检测试剂盒测定(A084-3, 南京建成生物工程研究所);过氧化氢酶活性采用 CAT 活性检测试剂盒测定(A007-1, 南京建成生物工程研究所)。酶活力单位以 U·mgprot⁻¹ 蛋白含量表示。

1.4 数据处理与分析

采用 Excel 2013 和 SPSS 22.0 软件进行数据分析,运用单因素方差分析结合多重比较进行多组样本间差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 水杨酸处理对当归幼苗生长的影响

低浓度的 SA 可以促进当归幼苗的生长,株高、鲜质量增加明显,叶片呈现深绿色(图 1)。0.5 mmol·L⁻¹ SA 处理当归幼苗 7 d,株高为 12.40 cm,是对照组的 135.2%,此时鲜质量为 0.193 4 g,是对照组的 224.6%,差异具有统计学意义($P < 0.05$, 图 2)。随着 SA 处理浓度增加,株高逐渐下降,叶片发黄,当归幼苗生长受到明显抑制。当浓度达到 2.0 mmol·L⁻¹ 时(处理 7 d),当归幼苗叶片发生卷曲,植株弱小,此时鲜质量仅为对照组的 72.7%。

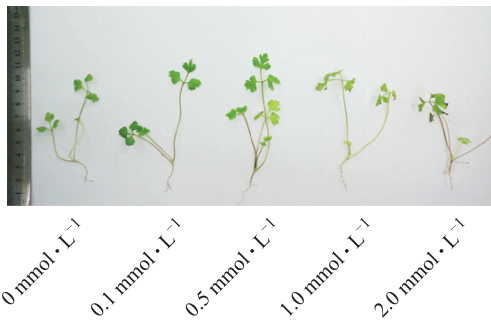


图1 不同浓度水杨酸处理的当归幼苗形态变化(7 d)

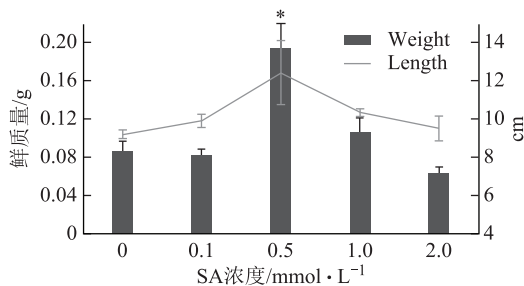
注: * $P < 0.05$ 。

图2 不同浓度水杨酸处理的当归幼苗生长指标比较(7 d)

2.2 水杨酸处理对当归幼苗保护酶活性的影响

2.2.1 超氧化物歧化酶(SOD)活性变化 不同浓度SA处理当归幼苗3、5 d后,各处理组之间SOD活性相比对照组略有增加,不同组别间差异不明显。随着外源SA处理时间的延长和处理浓度的增加,SOD活性表现出逐渐升高的趋势,处理后期(7 d)增加幅度明显。1.0、2.0 mmol·L⁻¹ SA喷施当归幼苗7 d后,SOD活性增加显著,分别达到1.192 U·mgprot⁻¹和1.092 U·mgprot⁻¹,分别为对照组的149.1% ($P < 0.01$)和136.6% ($P < 0.05$) (图3)。说明1.0 mmol·L⁻¹的水杨酸为提高当归幼苗SOD活性的最佳浓度。

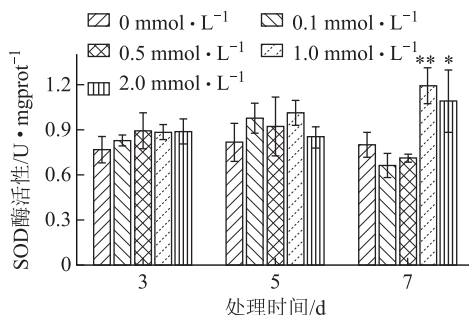
注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图3 不同浓度水杨酸处理当归幼苗SOD酶活性比较

2.2.2 过氧化物酶(POD)活性变化 由图4可知,

POD活性随水杨酸处理浓度和处理时间的增加,呈现逐渐增高的趋势。不同浓度SA处理当归幼苗3 d, POD活性以0.5 mmol·L⁻¹处理的提高幅度为最大,达到26.26 U·mgprot⁻¹,是对照组的116.5%。1.0 mmol·L⁻¹和2.0 mmol·L⁻¹水杨酸处理当归幼苗5 d, POD活性增加幅度明显,分别达到26.47 U·mgprot⁻¹和28.33 U·mgprot⁻¹,相比对照组分别提高35.54%和45.06%,达到显著差异水平($P < 0.01$)。低浓度SA处理7 d, POD活性相比对照组有所下降,1.0 mmol·L⁻¹和2.0 mmol·L⁻¹水杨酸处理的当归幼苗, POD活性显著增加,分别为对照组的138.2% ($P < 0.01$)和146.6% ($P < 0.01$),但高浓度的水杨酸处理对当归幼苗生长的抑制作用明显(图1)。综合多项指标,喷施1.0 mmol·L⁻¹水杨酸为提高当归幼苗体内过氧化物酶活性的适宜处理方式。

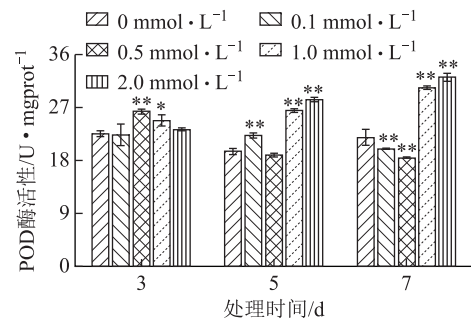
注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图4 不同浓度水杨酸处理当归幼苗POD酶活性比较

2.2.3 过氧化氢酶(CAT)活性变化 外源SA处理当归幼苗,对照组和处理组CAT活性保持总体下降的趋势(图5)。1.0 mmol·L⁻¹水杨酸处理当归幼苗,CAT活性在处理3 d时达到最高15.46 U·mgprot⁻¹,相比对照组提高45.6%。不同浓度水杨酸处理5 d时,当归幼苗中CAT活性在7.75~10.88 U·mgprot⁻¹之间,均显著高于对照组(5.42 U·mgprot⁻¹);喷施

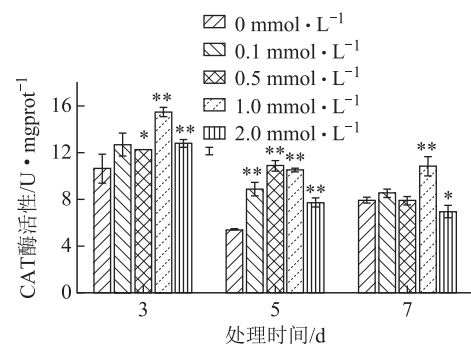
注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图5 不同浓度水杨酸处理当归幼苗CAT酶活性比较

1.0 mmol·L⁻¹水杨酸5 d, CAT活性亦增加显著,为对照组的194.7%。SA处理后期,当归幼苗中CAT活性增加不明显,仅1.0 mmol·L⁻¹水杨酸处理7 d时,CAT活性为10.84 U·mgprot⁻¹,相比对照组提高36.35% ($P < 0.01$)。由此可看出,1.0 mmol·L⁻¹水杨酸处理当归幼苗,能够显著增加CAT活性。

3 讨论

水杨酸作为一种植物生长调节剂和信号分子,能够促进植物细胞分裂和伸长,诱导一系列与抗逆有关的基因表达,提高植物体内保护酶活性,以缓解环境胁迫对植物造成的伤害。叶面喷施是促进植物生长和次生代谢物积累的有效手段。薛建平等^[13]利用0.5 mmol·L⁻¹ SA喷施半夏植株,叶绿素含量和胞间CO₂浓度显著增加,使得半夏同化更多的有机物,表现为块茎鲜质量的增加;同时,SA处理后植株MDA含量降低,SOD保护酶活性提高。Giménez等^[11]利用0.5 mmol·L⁻¹水杨酸对采收期甜樱桃进行处理,果实的色泽、硬度、可溶性固形物、总酚酸含量,以及保护酶活性显著提高。韩凤等^[14]对管萼山豆根进行叶面施肥,植株的年生长高度及年增长率显著提高。说明合理浓度范围的SA处理对药用植物的生长具有一定的促进作用。本研究中,喷施0.5 mmol·L⁻¹ SA对当归幼苗株高和鲜质量的增加具有促进作用,而较高浓度的水杨酸明显抑制了当归幼苗的生长,表现出轻微的毒害作用,这与前人的研究报道基本一致。

同时,叶面持续喷施1.0 mmol·L⁻¹的水杨酸能够适度提高当归幼苗SOD、POD、CAT活性,且酶活性的最大值多出现于处理的中后期,即当归幼苗对水杨酸的响应存在明显的浓度依赖性和滞后性。这可能是由于叶面喷施水杨酸处理当归幼苗后,植物体内防御机制被启动,导致参与防御反应的相关酶活性升高。

本研究以当归这一传统大宗药材作为研究材料,采用叶面喷施的手段,考察基质栽培的当归幼苗生理特性和保护酶活性对外源水杨酸的响应情况,并在此基础上筛选出适宜的水杨酸处理浓度,对当归种子种苗选育和大田生产具有一定的指导意义,可

为提升当归药材产量和品质提供参考。在此研究基础上,后续将进一步开展外源喷施水杨酸对当归有效成分积累和次生代谢途径关键基因表达调控等研究,结合生理生化指标的变化,以期SA在当归生产中的合理应用提供一定的理论和实践依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:133-134.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1992,55(3):41-43.
- [3] 武延安,陈秀实. 古本草中当归产地的商榷与新考[J]. 中国现代中药,2016,18(10):1354-1358.
- [4] 尹玲莉,侯晓杰. 植物抗性信号分子—水杨酸研究进展[J]. 中国农学通报,2007,23(1):338-342.
- [5] CHEN Y E, CUI J M, LI G X, et al. Effect of salicylic acid on the antioxidant system and photosystem II in wheat seedlings[J]. Biol Plant, 2016, 60(1):139-147.
- [6] 李天来,李森,孙周平. 钙和水杨酸对亚高温胁迫下番茄叶片保护酶活性的调控作用[J]. 应用生态学报,2009,20(3):586-590.
- [7] 宋士清,郭世荣,尚庆茂,等. 外源SA对盐胁迫下黄瓜幼苗的生理效应[J]. 园艺学报,2006,33(1):68-72.
- [8] 王楠,高静,黄文静,等. 早、盐胁迫下黄芪种子萌发及其对水杨酸的响应[J]. 草业科学,2018,35(1):106-114.
- [9] 王春丽,梁宗锁,李殿荣,等. 茉莉酸甲酯和水杨酸对丹参幼苗中蔗糖代谢和酚酸类物质积累的影响[J]. 西北植物学报,2011,31(7):1405-1410.
- [10] WANG X M, YANG B, REN C G, et al. Involvement of abscisic acid and salicylic acid in signal cascade regulating bacterial endophyte-induced volatile oil biosynthesis in plantlets of *Atractylodes lancea* [J]. Physiol Plant, 2015, 153(1):30-42.
- [11] GIMÉNEZ M J, SERRANO M, VALVERDE J M, et al. Pre-harvest salicylic acid and acetylsalicylic acid treatments preserve quality and enhance antioxidant systems during postharvest storage of sweet cherry cultivars[J]. J Sci Food Agric, 2017, 97(4):1220-1228.
- [12] YIN Y Q, QI F, GAO L, et al. iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of dark-germinated soybeans in response to salt stress[J]. RSC Adv, 2018, 8(32):17905-17913.

(收稿日期:2018-10-14 编辑:姚霞)