

甘草腺体结构及对渗透胁迫的调节作用

魏胜林

(苏州大学 金螳螂建筑与城市环境学院, 江苏 苏州 215123)

摘要: 甘草叶片上的腺体是其特殊的耐旱形态学结构,通过腺体分泌多糖调节叶肉细胞渗透势是其耐旱的重要生理特征。甘草叶片处于两面对称叶尚未展开期,部分腺体头部已分泌积累呈球状的多糖液,约占总腺体数的13.0%;部分腺体开始分泌多糖液,约占总腺体数的11.6%;75.3%的腺体尚未开始分泌多糖液,表明该期的腺体已有部分开始参与渗透调节。甘草发育成熟的功能叶上的所有腺体头部都分泌有呈球状的多糖液,表明该期所有的腺体都通过向外分泌多糖参与渗透调节。15% PEG+Hoagland 培养的渗透胁迫比Hoagland 培养的非渗透胁迫,叶内多糖增加了59.8% ($P < 0.01$)。甘草通过腺体向腺体外分泌多糖液的作用,维持叶肉细胞适合的渗透势是甘草一种主动调节过程和方式。

关键词: 甘草; 渗透胁迫; 多糖; 腺体

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)05-0640-04

Glands structure of liquorice and its regulation mechanism on osmosis stress

WEI Sheng-Lin

(Gold Mantis School of Architecture and Urban Environment, Soochow University, Suzhou 215123, China)

Abstract: Foliar glands of liquorices are special morphological structures for drought tolerance. The glandular organ regulates osmotic potential of diachyma cells by secretes polysaccharide, and it's also an important physiological characteristic of drought tolerance. During folded period, the two sides of young leaves are symmetrical, and about 13.0% of glandular organ heads start to secrete or accumulate polysaccharide liquid ball. About 11.6% glandular organ starts to secrete polysaccharide liquid. About 75.3% glandular organ doesn't secrete polysaccharide liquid. It's indicated that some glandular organ starts to take part in osmoregulation at that time. All glandular organ heads of mature leaf secrete polysaccharide liquid ball which indicate that all glandular organ participate osmoregulation by secrete polysaccharide toward outside. Compared with the control, the level of leaf polysaccharide increased 59.8% ($P < 0.01$) when osmosis regulation cultivates with 15% PEG+Hoagland. Liquorices leaf secrete polysaccharide liquid toward outside in order to keep suitable osmotic potential by glandular organ, which is an initiative adjusting process and style.

Key words: liquorice; osmosis stress; polysaccharide; gland

甘草(*Glycyrrhiza uralensis*)为多年生草本豆科植物,由于具发达的地下根和根茎,既有较强的耐旱、抗风沙能力,又是重要的中药材(王立等,1999;冯建忠等,1995;王照兰等,2002),在植被治沙工程中是一种生态效益和经济效益兼顾的草本固沙植物。何兰(2004)的研究指出甘草由于具有深而发达

的根系及根/冠比值高是其沙生耐旱特征。我们在研究中发现甘草叶片上着生有大量的能分泌水溶性多糖的腺体,这些腺体是甘草适应荒漠化干旱环境长期进化出的特殊的旱生结构,尤其是甘草的这种腺体能向腺体外分泌水溶性多糖,从而维持细胞液低的渗透势。这种低渗透势的维持正是沙漠植物的

收稿日期: 2008-07-14 修回日期: 2008-12-05

基金项目: 国家“863”新概念课题(2002AA327070)[Supported by the Chinese National“863”Project of Sand Treating Technology for Plant Improvement by Ion Beam Combined with New Material(2002AA327070)]

作者简介: 魏胜林(1958-),男,安徽巢湖人,教授,博士,主要从事植物生理生态学研究,(E-mail)slwei@suda.edu.cn.

一个极重要的生理特征,低渗透势能够使甘草从十分干燥的土壤夺取水分(刘家琼等,2003)。因此,甘草的腺体及通过腺体分泌多糖对叶肉细胞渗透势的调节应是甘草耐渗透胁迫的主要特殊旱生结构和生理特征之一。本试验旨在研究甘草腺体的发生、发育和结构特征及在渗透胁迫下叶片腺体、腺体分泌多糖和叶内多糖适应性变化。研究结果对甘草的人工栽植及甘草叶片多糖的提取具有参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料

试材为乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis*),种子由安徽亳州皖北中药材栽培技术研究所提供。将种子播种于 45 cm×6 cm(Φ)的树脂培养瓶中,栽培基质为珍珠岩。对照为非渗透胁迫:用 Hoagland 完全营养液培养;处理为渗透胁迫:用 15% PEG(上海浦东高南化工厂生产)+Hoagland 完全营养液培养。每隔 4 d 称重补充损失的水分。对照和处理各 15 盆,每盆 5 株,3 个重复。生长室光强 200 μmol·m⁻²·s⁻¹,RH=30%,温度 26±2 °C,昼/夜光照时间 14 h/10 h,培养时间为 2002 年 11 月 2003 年 2 月。

1.2 方法

1.2.1 多糖的测定 (1)甘草叶面腺体分泌多糖的提取和测定 取每株甘草茎顶端开始的第 4~5 片发育成熟的功能叶的 1/2(沿主脉剪开)叶片 50 mg,置 5 mL 水中于 30 °C 温箱中常温提取 24 h(镜检腺体多糖液已水溶),取 0.5 mL 该提取液加 0.5 mL 6% 苯酚,2.5 mL 浓 H₂SO₄,冷却后在 BECKMAN, DU640 核酸和蛋白质分析仪(Nucleic Acid and Protein Analyzer)的 489 nm 处测 OD 值。(2)甘草叶片多糖提取和测定 取叶面腺体多糖已提取后的甘草叶片 50 mg,研磨后水定容 10 mL,30 °C 条件下提取 24 h,过滤定容 10 mL,取 0.5 mL,加 6% 苯酚 0.5 mL,浓 H₂SO₄ 2.5 mL,冷却后在 BECKMAN, DU640 核酸和蛋白质分析仪(Nucleic Acid and Protein Analyzer)的 489 nm 处测 OD 值。(3)多糖测定标准曲线的制作和换算 标准溶液的配制和标准曲线的制作见文献(王惟杰,1994;高丽娟等,2002),得葡萄糖微克数和 OD 值回归方程为: $C = 1.142 \pm 94.612X (r = 0.9949, P < 0.01)$ 。

换算因子测定:甘草多糖由中国科学院离子束生物工程学重点实验室提取、纯化,多糖纯度为

92%。精密称取甘草多糖 25 mg 置于 100 mL 容量瓶中,加少量水溶解稀释至刻度,摇匀,作为储备液。精密吸取储备液 100 μL。照标准曲线制作项下的方法测定光密度,由回归方程式求出葡萄糖的浓度,按 $f = W/(cD)$ 计算换算因子,式中 $W/\mu\text{g}$ 为多糖含量; $c/(\mu\text{g} \cdot \text{mL})$ 为多糖溶液中葡萄糖的浓度; D 为多糖的稀释因素,测得 $f = 2.04$ 。

1.2.2 腺体形态特征观测 多糖水溶后的腺体正面、侧面,腺体分泌多糖,幼叶腺体分布及多糖分泌,成熟叶腺体分泌多糖,枯黄衰老叶腺体及多糖的观测用 OLYMPUS 解剖镜观测摄影。甘草茎尖生长点外第一片幼叶的腺体观测使用醋酸洋红染色后用 OLYMPUS 显微镜观测摄影。叶背面腺体数(甘草叶大部分腺体位于背面)的统计方法是:取每株甘草茎顶端开始的第 4~5 片发育成熟的功能叶的 1/2(沿主脉剪开),在 OLYMPUS 解剖镜下统计 5 个视野下的腺体数,然后求平均每个视野的腺体数。甘草茎顶端生长点外第一片幼叶的腺体发生和发育用激光共聚焦显微镜(CLSM;confocal laser scanning microscope,Leica Tcs sp2/0)扫描,放大倍数为 40×10×1.0,镜头型号为 HCX PL APO CS 40.0×0.85 CORR U。

1.2.3 统计与分析 差异显著性用 t 检验, $P < 0.01$ 为极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 甘草幼腺体的发育和结构特征

图 1:A 是甘草茎顶端生长点外第一片幼叶,其上已着生许多甘草“幼腺体”,但并没有开始分泌多糖液,并且在非渗透胁迫和渗透胁迫培养下均有同样特征。图 1:B 是甘草茎顶端生长点外第一片幼叶叶片上腺体发生发育及处于该发育期甘草腺体的完整形态结构。从图 1:B 看出,该期完整的甘草腺体包括一个“头部(a)”和“稍细长的颈部(b)”及“基部(c)”,头部由 8~10 个细胞径向排列,颈部径向切面宽度约有 4 个细胞构成,纵向切面长度约有 5~7 个细胞构成,细长的“颈部”下紧贴叶面有一个“基部”。甘草处于该发育期的腺体发生发育应是先从叶面适当的位点生长发育出“头部”,再进行“颈部”伸长发育。图 1:C 是甘草幼腺体头部正面观平面结构。从图 1:C 看出,甘草幼腺体“头部”圆周约有 21 个细胞,中央约有 29 个细胞构成。

2.2 甘草功能腺体的结构特征

图 2:A 是甘草功能叶上一个完整的腺体及其分泌多糖液的正面观形态,腺体分泌的多糖液于腺体头部呈透明“球状”。图 2:B 和图 2:C 分别是腺

体多糖液水溶后腺体的正面和侧面观形态特征,从外观上看甘草具有分泌功能的腺体形态结构近似一个“高脚酒杯”,“酒杯”的“盛酒凹部”是由“幼腺体头部”发育而来。甘草腺体在叶发育的适当进程开始从

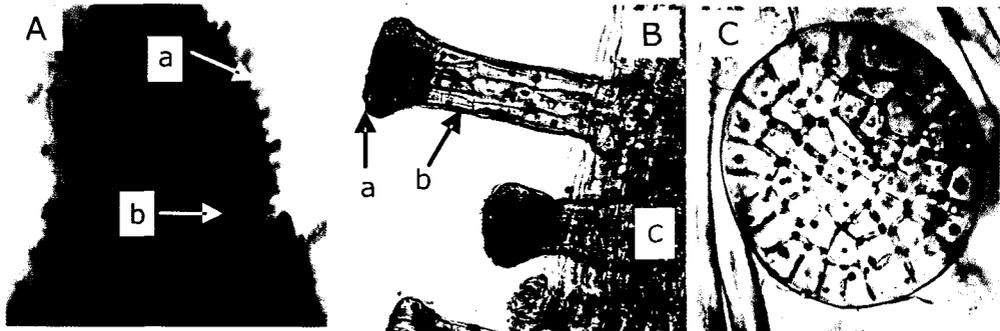


图 1 甘草茎顶端生长点第一片幼叶和“幼腺体”发生发育及结构
Fig. 1 The initiation and development and structure of young glands in the first young leaf of licorice

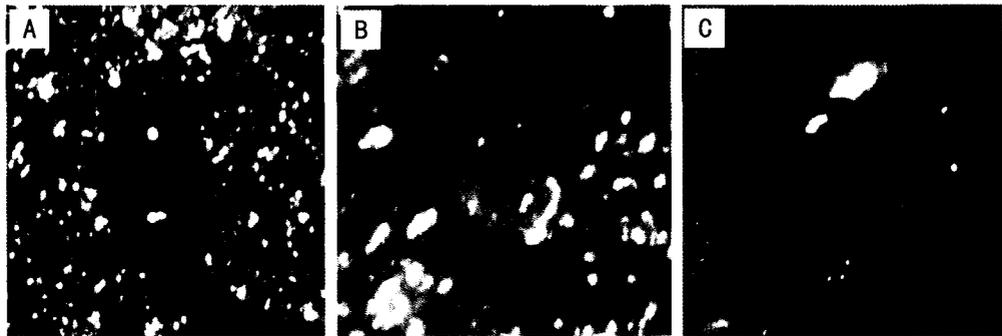


图 2 甘草分泌多糖和腺体形态结构特征
Fig. 2 Secretion of polysaccharide and morphological structure of glands in licorice



图 3 甘草幼叶和功能叶及衰老叶腺体分泌多糖的特征
Fig. 3 Secretion of polysaccharide from glands in young, function and withered leaves of licorice

腺体顶部的凹陷部位分泌多糖液累积于头部呈球状。

2.3 甘草幼腺体和功能腺体及衰老腺体分泌多糖的特征

图 3:A 是甘草尚未展开的两面对称叶期的幼叶上的腺体和分泌多糖特征。从图 3:A 看出,甘草处于尚未展开的幼叶上的部分腺体头部已分泌并积累呈球状的多糖液,约占总腺体数的 13.0%;部分腺体开始分泌多糖液,约占总腺体数的 11.6%;

75.3%的腺体尚未开始分泌多糖液。图 3:B 是甘草发育成熟的功能叶上的腺体和分泌多糖液特征,其上的所有腺体都分泌有呈球状的多糖液。图 3:C 是枯黄衰老叶上的腺体和多糖分泌特征,有趣的是甘草的枯黄衰老叶上的腺体多糖液从表观看并没有减少。

2.4 渗透胁迫对甘草株高、叶片腺体数的影响

甘草虽然是耐旱植物,但在 15% PEG + Hoag-

land 营养液培养的渗透胁迫下甘草株高生长比 Hoagland 营养液培养的非渗透胁迫下降了 27.0% ($P < 0.01$),而在渗透胁迫下甘草叶背面腺体数增加了 60.73% ($P < 0.01$) (图 4; A, B)。这表明甘草株高生长受渗透胁迫抑制及叶背面腺体的发生发育受渗透胁迫诱导。

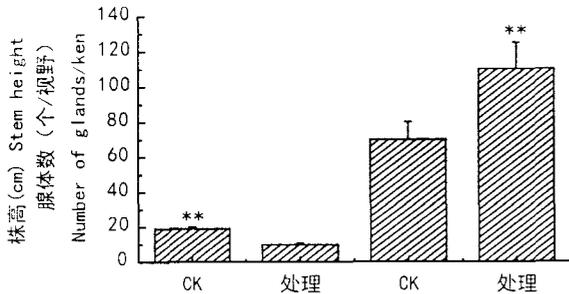


图 4 渗透胁迫对甘草株高生长 (n=75) 和叶背面腺体数 (n=225) 的影响

Fig. 4 The effect of osmosis stress on stem height growth (n=75) and gland number in back leaves of liquorice (n=225)

2.5 渗透胁迫对甘草腺体分泌多糖及叶内多糖含量的影响

15% PEG + Hoagland 营养液培养的渗透胁迫比 Hoagland 营养液培养的非渗透胁迫甘草腺体分泌多糖增加了 44.1% ($P < 0.01$),叶内多糖增加了 59.8% ($P < 0.01$),但甘草腺体分泌多糖在非渗透胁迫条件下占叶内多糖的 31.4%,在渗透胁迫条件下腺体分泌多糖仅占叶内多糖的 28.3% (图 5; A, B),这表明在渗透胁迫条件下有更多的多糖参与叶肉细胞的渗透调节。

3 讨论

适应能使植物通过多种途径增加基本生存的可能,是任何生物都具有的一种本能,且是可以遗传的特征。甘草生长点外第一片幼叶上着生许多“幼腺体”,这表明甘草叶片腺体的发生发育具有遗传特征,而且渗透胁迫能显著地诱导腺体数的增加。甘草是典型的沙生耐旱植物,有机体要想生存就必须给后代传递足够信息以使它们能适应不断变化的环境。抗旱就是一种适应方式,植物对干旱环境的适应包括在形态特征方面表现出有利于它在干旱环境中生存的特征及其对干旱环境生态因子变化的调节

能力(朱志梅等,2003)。渗透胁迫诱导腺体的增加是甘草在形态上适应渗透胁迫的一种响应。甘草叶发育处于对称两面叶尚未展开期,其上已有部分腺体通过分泌多糖液开始参与渗透调节,随着幼叶

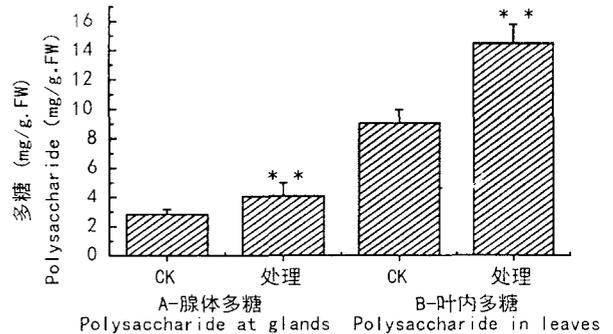


图 5 渗透胁迫对甘草腺体多糖和叶内多糖的影响 (n=15)
Fig. 5 The effect of osmosis stress on polysaccharide at glands and leaves of liquorice (n=15)

的展开和发育成熟,叶上的腺体通过向腺体外分泌可溶性多糖,全面参与调节叶内的渗透势。甘草枯黄衰老叶上的腺体仍具有完整的球状多糖液,这表明甘草通过腺体向叶外分泌可溶性多糖液维持适当的叶内渗透势是“单向不可逆”过程,腺体是甘草特有的外分泌腺,是将叶内多糖向腺体外分泌的通道。

渗透胁迫虽然都能极显著地提高甘草腺体分泌多糖和叶内多糖的含量,但甘草腺体分泌多糖在非渗透胁迫条件下占叶内多糖的 31.4%,在渗透胁迫条件下腺体分泌多糖仅占叶内多糖的 28.3%,而且通过腺体向腺体外分泌多糖液在从成熟的功能叶向衰老枯黄叶的发育进程中又是一个“单向不可逆”过程。因此,甘草叶内多糖应是参与甘草在渗透胁迫下调节渗透的主要渗透调节物质,腺体多糖并不是参与甘草渗透调节的主要物质。我们在其他相关研究中也得出在渗透胁迫下甘草株高生长和叶内多糖含量呈极显著的正相关 ($r = 0.7166, P < 0.01$) (魏胜林等,2007)。通过腺体向腺体外分泌多糖液使甘草适应干旱环境水分胁迫,维持叶肉细胞合适的多糖含量,从而保持叶肉细胞适合的渗透势是甘草一种主动自我调节过程和作用。甘草多糖具有较好的水溶性,能降低叶片和根系的渗透势,另外多糖虽然具有复杂的结构和种类,但在其分子结构中都含有大量的 -OH,能通过氢键和细胞液中的水分子形成大量的束缚水,而束缚水对提高植物耐旱性具有重要的作用 (Franca 等,2000; Garg 等,2001; Vanrens- (下转第 693 页 Continue on page 693)

- Huang PX(黄品鲜), Li PY(李飘英), Li WG(李伟光). 1998. Extraction and separation of *Malania oleifera* Chum oil by organic solvent(有机溶剂萃取分离蒜头果油的研究)[J]. *Guangxi Chemical Industry*(广西化工), **27**(3):1-3
- Li C, Bai J, Cai Z, et al. 2002. Optimization of cultural medium for bacteriocin production by *Lactococcus lactis* using response surface methodology[J]. *Biotechnology*, **93**:27-34
- Liu XM(刘雄民), Shen F(沈芳), Liang JJ(梁静娟), et al. 2004. Study on screening of lactonizing lipase and effect of activity on yield of cyclopentadecanolide(合成环十五内酯脂肪酶产生菌的筛选及酶活对转化的影响)[J]. *J Guangxi Univ*(广西大学学报), **29**(4):274-277
- Niu DY(牛冬云), Zhang YZ(张义正). 2003. Selection of an alkaline lipase-producing strains and optimalization of its fermentation conditions(碱性脂肪酶产生菌的筛选及产酶条件的优化)[J]. *Food and Fermentation Industries*(食品与发酵工业), **29**(5):28-31
- Shen F(沈芳), Liang JJ(梁静娟), Liu XM(刘雄民). Lipase catalyzed synthesis of cyclopentadecanolide from methyl hydroxyl pentadecanate(脂肪酶催化 ω -羟基十五烷酸甲酯合成环十五内酯)[J]. *Chin J Appl Chem*(应用化学), **24**(2):63-66
- Wu SH(伍时华), Xu YF(徐雅飞), Zhang J(张健), et al. 2006. Study on medium optimization of L-leucine fermentation(L-亮氨酸发酵培养基优化试验)[J]. *Guihaia*(广西植物), **26**(6):692-696
- Zhang B(张搏), Yang JK(杨江科), Su HW(苏华武), et al. 2007. Screening identification of lipase production bacteria and optimization of the lipase production(脂肪酶产生菌的筛选、鉴定及其产酶条件优化)[J]. *Biotechnology*(生物技术), **17**(1):23-26
- Zheng Y, Das PK. 2000. Improved response surface method and its application to stiffened plate reliability analysis[J]. *Engineering Structures*, **22**:544-551
- Zhou YH(周永红), Li WG(李伟光), Yi FP(易封萍), et al. 2001. Determination of fatty acids in *Malania oleifera* oil by gas chromatography-mass spectrometry(气相色谱-质谱法测定蒜头果油中的脂肪酸)[J]. *Chin J Chromatography*(色谱), **19**(2):147-148

(上接第 643 页 Continue from page 643)

burg, 1994; Rascio 等, 1998)。通常把束缚水当作抗旱重要因素, 植物保水力与束缚水含量有关, 束缚水多干旱时植物体内保持的水量也就多, 从而不易受旱害。渗透调节是植物在逆境条件下降低渗透势, 抵抗逆境胁迫的一种重要方式, 在一定胁迫范围内, 某些植物通过自身的渗透调节作用表现出抗外界胁迫的能力, 它是植物重要的抗逆生理机制(朱志梅等, 2003; Levitt, 1980)。甘草是典型的耐旱沙生植物, 耐旱机理除已有的研究指出其具有发达的根系能吸收沙地、沙漠深层水分外, 本研究发现可溶性多糖是甘草重要的渗透调节物质, 并且叶片专门分化出具有遗传特征和生物活性的能分泌多糖的外分泌腺, 通过腺体向外分泌多余的多糖来维持叶片内部一定的多糖含量和渗透势, 在一定范围内主动调节自身和干旱环境的适应性也是甘草在形态和生理上特有的重要耐旱特征和作用。

参考文献:

- 何兰. 2004. 枸杞甘草[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 152-161
- 刘家琼, 丘明新, 刘金祥. 2003. 大漠之绿[M]. 北京: 化学工业出版社, 45-53
- 王惟杰. 1994. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 16
- Feng JZ(冯建忠), Lu XZ(陆行舟), Lv JM(吕建民), et al. 1995. A study on development of animal husbandry by using *Glycyrrhiza uralensis* resources(利用甘草资源发展畜牧业生产的探讨)[J]. *J Arid L Res Environ*(干旱区资源与环境), **9**(2):84-89
- Franca MGC, Thi ATP, Pimentel C, et al. 2000. Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress[J]. *Environ Experimental Bot*, **43**(3):227-237
- Gao LJ(高丽娟), Tian XY(田晓燕). 2002. Determination of polysaccharides in residues of *glycyrrhiza* with spectrophotometry(甘草残渣中多糖含量的分光光度法测定)[J]. *J Ningxia Univ(Nat Sci Edi)*(宁夏大学学报), **23**(2):182-184
- Garg BK, Kathtu S, Burman U. 2001. Influence of water stress on water relations, photosynthetic parameters and nitrogen metabolism of moth bean genotypes[J]. *Biologia Plantarum*, **44**(2):289-292
- Levitt J. 1980. Responses of plants to Environmental Stress[M]. Second Edition New, London, Academ icpress II:5-6
- Rascio A, Russo M, Patani C, et al. 1998. Drought intensity effects on genotypic differences in tissue affinity for strongly bound water[J]. *Plant Sci*, (132):121-126
- Vanrensburg L. 1994. Osmoregulation. Monitored by pressure-volume tissue water component analysis, in cultivars of *nicotiana tabacum-l* of different drought tolerance[J]. *South Africal J Bot*, **60**(3):139-144
- Wang ZL(王照兰), Du JC(杜建材), Yu LQ(于林清), et al. 2002. The utilization value, current research and problems of *Glycyrrhiza*(甘草的利用价值、研究现状及存在的问题)[J]. *Grass-land of China*(中国草地), **24**(1):73-76
- Wang L(王立), Li JH(李家恒). 1999. Technical system of artificial cultivating *Glycyrrhiza uralensis* fisch innorthwest region(西北地区甘草人工栽培技术体系研究)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学), **35**(1):129-133
- Wei SL(魏胜利), Wu LJ(吴李君), Yu ZL(余增亮). 2007. Effects of N^+ implantation on polysaccharide and osmosis stress resistance of liquorice(N^+ 注入对甘草多糖及耐渗透胁迫的影响)[J]. *J Radiat Res Radiat Process*(辐射研究与辐射工艺学报), **25**(5):271-274
- Zhu ZM(朱志梅), Yang C(扬持). 2003. Research summarizing of plant's change and adapation in sandy desertification process(沙漠化过程中植物的变化和适应机理研究概述)[J]. *Acta Sci Nat Univ Nei Mongol*(内蒙古大学学报), **34**(1):103-114