

外源性 5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下颠茄生理特性及次生代谢产物含量的影响^①

卢克欢, 郭双, 韦悦, 张翠平, 吴能表

西南大学 生命科学学院/三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400715

摘要: 通过对颠茄幼苗生理特性及生物碱含量的研究, 寻找提高颠茄在盐胁迫条件下的抗性能力以及提高生物碱含量的途径. 采用 100 mmol/L NaCl 溶液和不同质量浓度 5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)溶液处理颠茄幼苗, 对颠茄叶片的叶绿素含量、叶绿素荧光参数、可溶性蛋白含量、可溶性糖含量、游离脯氨酸含量、丙二醛(MDA)含量、抗氧化酶(SOD, POD)活性及莨菪碱、东莨菪碱含量进行测定. 结果表明: 叶面喷施 5-ALA 可显著($p > 0.05$)提高抗氧化酶活性及叶绿素含量、渗透调节物质含量, 降低盐胁迫对细胞质膜过氧化程度和 PS II 的损伤程度, 同时可提高盐胁迫下颠茄中东莨菪碱的产量, 但是对莨菪碱产量的作用不明显. 外源 5-ALA 可有效缓解盐胁迫对颠茄生长的抑制, 提高其抗盐能力.

关键词: 颠茄; 盐胁迫; 生理特性; 次生代谢

中图分类号: S567

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2018)09-0013-08

托品烷类生物碱(Tropane Alkaloids, TAs)包括莨菪碱和东莨菪碱, 是一类重要的抗胆碱药物, 提取自茄科植物的次生代谢产物, 具有多方面的药用价值, 广泛用于麻醉、镇痛、止咳、平喘、抗晕动病, 也可用于控制帕金森病的僵直和震颤^[1-2]. 颠茄(*Atropa belladonna* L.)为茄科颠茄属多年生草本植物, 是莨菪碱、东莨菪碱最主要的商业栽培药源, 也是我国药典规定的 TAs 药源植物^[3]. 颠茄全草可入药, 叶和根含有莨菪碱和微量东莨菪碱, 可制成浸膏和配剂^[4]. 颠茄中的托品烷类生物碱含量极低, 但市场需求量巨大, 因此培育 TAs 高产的颠茄植株是该领域一直追求的目标.

近来, 土壤盐渍化已经愈发明显, 对植物的正常生长影响严重, 尤其是对农业栽培生产更是造成巨大损失. 颠茄作为一种重要的托品烷类生物碱药源植物, 也将面临这一严峻问题. ALA 是植物体代谢过程中的一种中间产物, 是合成其他重要物质的原料, 能够起到提高作物在逆境条件下的抗性作用^[5]. 为了使颠茄得到大面积种植, 抵御土壤盐渍化影响, 本研究以颠茄幼苗为试验材料, 在 100 mmol/L 盐胁迫下, 探究外施不同浓度 ALA 对颠茄生理指标及托品烷类生物碱含量的影响, 寻求缓解盐胁迫的方法, 为今后解决颠茄批量栽培中可能遇到的盐胁迫问题提供理论依据.

1 材料

颠茄种子购自湖南永州, 经西南大学生命科学学院吴能表教授鉴定为颠茄(*Atropa belladonna* L.). 将颠茄种子浸泡于 50 mmol/L 赤霉素溶液中, 浸泡 2 d 后置于湿润滤纸上萌发, 保持 25 °C, 待萌发后移栽到盛有混匀介质(泥炭土: 珍珠岩: 蛭石=3: 1: 1)的营养盆(12 cm×13 cm)中, 每盆 4 株, 共 200 盆, 于温

^① 收稿日期: 2017-05-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(30500041); 重庆市科技攻关项目(cstc2012gg-yyjs80013).

作者简介: 卢克欢(1992-), 男, 硕士研究生, 主要从事药用植物生化工程研究.

通信作者: 吴能表, 教授.

室内培养 3 个月, 挑选 100 盆长势一致的颠茄幼苗, 开始实验处理. 以颠茄叶片 MDA 含量和叶绿素含量为标准, 经预实验后最终确定盐胁迫所用的 NaCl 浓度为 100 mmol/L, 并选取 4 个 ALA 质量浓度梯度, 进行叶片喷施处理, 见表 1. 连续处理 15 d 后进行采样, 样品于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冻存, 用于各项指标测定; 另采样于烘箱中烘干至恒定质量用于托品烷类生物碱含量的测定. 每个处理组设置 3 个重复.

表 1 颠茄幼苗的不同处理组合

处理	ddH ₂ O	NaCl/(mmol · L ⁻¹)	ALA/(mg · L ⁻¹)
CK1	+	0	0
CK2	-	100	0
T1	-	100	25
T2	-	100	50
T3	-	100	75
T4	-	100	100

注: “+”代表加 ddH₂O, “-”代表不加 ddH₂O.

仪器与试剂: 十万分之一电子分析天平(METTLER TO-LEDO, 瑞士), PAM-2100 荧光仪(Walz, 德国), 岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪, 岛津 UV-255 紫外分光光度计, 莨菪碱标准品(Sigma-Aldrich 公司, 货号 37021), 东莨菪碱标准品(Sigma-Aldrich 公司, 货号 37022), 超声波清洗仪(北京医疗设备二厂)等.

2 方 法

2.1 叶绿素含量的测定

参照张宪政的方法^[6], 称取 0.2 g 新鲜的颠茄叶片, 擦净、剪碎、去中脉, 在避光条件下用 20 mL 丙酮乙醇混合液(1:1)浸泡 72 h 至白色. 取上清液 3 mL 于比色皿中, 测吸光值 A_{663} , A_{645} , 计算叶绿素含量.

2.2 叶绿素荧光参数的测定

使用叶绿素荧光仪 PAM-2100 预先编好的程序 Run 3 进行测定, 将待测样品于黑暗环境下处理 2 h, 测定初始荧光(F_0)、最大光化学效率(F_v/F_m)、非光化学猝灭系数(NPQ)及光化学猝灭系数(qP), 分别取 3 次数据的平均值进行分析.

2.3 渗透调节物质和 MDA 量的测定

可溶性糖含量的测定参照李合生^[7]的方法, 糖类与蒽酮反应生成有色物质, 在可见光区的吸收峰为 630 nm, 可在此波长下进行比色. 可溶性蛋白含量与游离脯氨酸含量的测定参照高俊凤的方法^[8], 考马斯亮蓝 G-250 可以与蛋白质结合, 其结合物在 595 nm 波长下的吸光值与蛋白质含量成正比, 可通过检测其结合物的 A_{595} , 以此来测定可溶性蛋白含量; 在酸性条件下, 通过检测脯氨酸和茚三酮反应产物的 A_{520} , 以此测定出游离脯氨酸含量. MDA 含量的测定参照 Velikova 等^[9]的硫代巴比妥酸(TBA)法.

2.4 抗氧化酶活性的测定

超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定, 参照 Giannopolitis 等^[10]的方法, 通过观察 NBT 的光还原抑制程度, 将能够抑制反应酶量的 50% 定义为 1 个 SOD 活力单位(U); 过氧化物酶(POD)活性的测定根据张志良等^[11]的方法, 将每分钟 A_{470} 值升高 0.01 定义为 1 个酶活力单位(U).

2.5 莨菪碱和东莨菪碱含量的测定

颠茄叶片中莨菪碱和东莨菪碱的提取, 参照 Zárate 等^[12]的提取方法, 略有改动; 莨菪碱、东莨菪碱含量均采用 HPLC 测定, 色谱仪: 日本岛津(Shimadzu)LC-60A 高效液相色谱仪(泵: LC-20AD, 控制器: SPD-20A, 柱温箱: CTO-10AS vp); 色谱柱为 Ultimate XB-C18 液相色谱柱(5 μm , 4.6 \times 250 mm); 流动相为甲醇: 醋酸缓冲液(20 mmol/L 醋酸铵, 0.1% 甲酸, pH 值为 4.0) = 1:4. 检测波长 226 nm. 流速 1.0 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 10 μL .

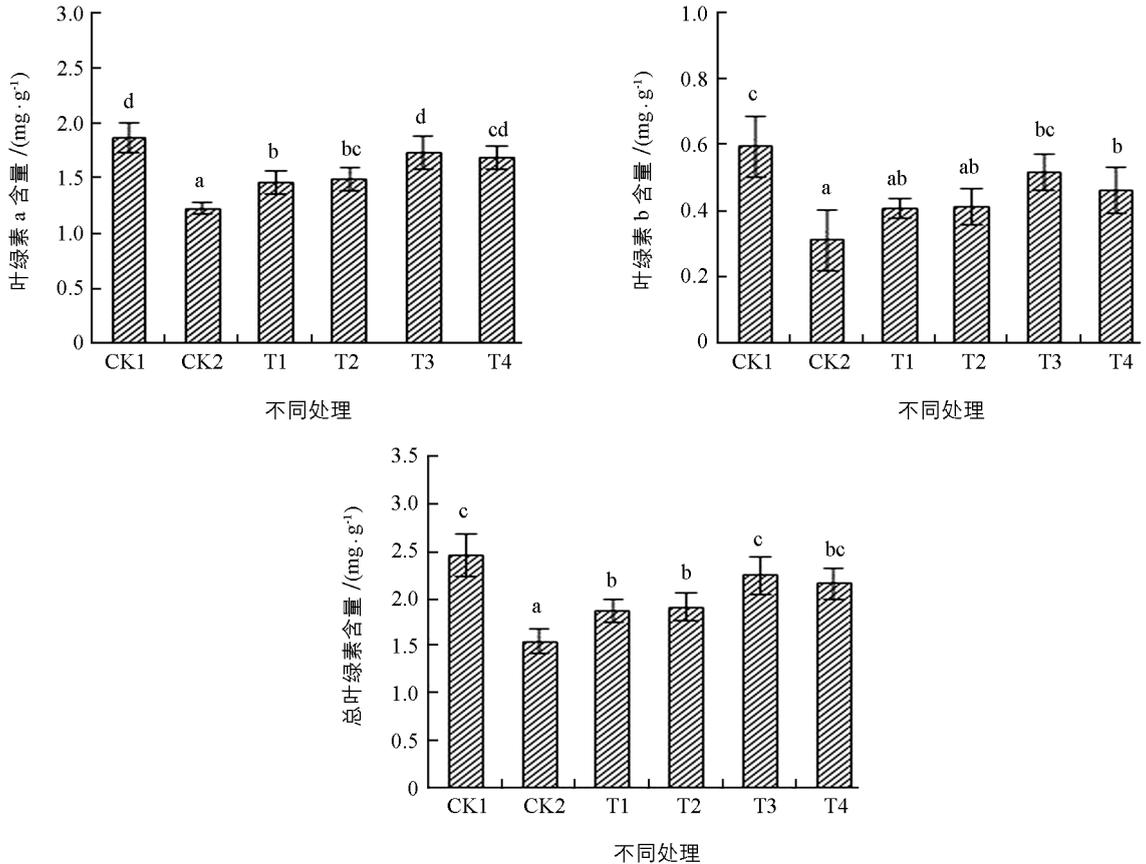
2.6 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 和 Spss 22.0 对数据进行分析 and 方差检验, 数据均以 $x \pm s$ 表示, $p < 0.05$.

3 结果与分析

3.1 不同质量浓度 ALA 对盐胁迫下颠茄叶片叶绿素含量的影响

在植物叶片中, 叶绿素含量是表征植物体光合能力的重要指标之一. 如图 1 所示, 经过单一的 100 mmol/L NaCl 胁迫处理后, 与对照组 CK1 相比, 叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量显著降低. 经过喷施不同质量浓度 ALA 溶液处理后, 叶绿素 a、叶绿素 b 及总叶绿素含量均表现出升高的趋势, 当 ALA 质量浓度为 100 mg/L 时, 色素含量开始下降. 其中, 当 ALA 质量浓度为 75 mg/L 时, 较对照组 CK2, 其叶绿素含量回升最为显著. 叶绿素含量的升高, 有利于颠茄在盐胁迫下其光合作用的协调性.



不同小写字母表示不同质量浓度 ALA 处理间差异具有统计学意义 ($p < 0.05$, 下同).

图 1 不同质量浓度 ALA 对盐胁迫下颠茄叶片叶绿素含量的影响

3.2 不同质量浓度 ALA 对盐胁迫下颠茄叶绿素荧光参数的影响

叶绿素荧光参数可以较为灵敏地反映光合作用的变化情况, 被称为研究植物光合功能的快速、无损探测针^[13]. 初始荧光 F_0 表示 PS II 反应中心处于完全开放时的荧光产量. 如图 2A 所示, 在盐胁迫处理下, CK2 的 F_0 较 CK1 大幅升高, 喷施不同质量浓度 ALA 处理后, 不同处理组较 CK2 有不同程度的回落现象, 且当 ALA 质量浓度为 50 mg/L 时最为显著.

F_v/F_m 代表 PS II 的最大光化学效率, 是较为常用的叶绿素荧光指标之一, 此指标在胁迫条件下先通常会降低^[14-15], 同时也可以表明 PS II 遭受到破坏^[16]. 如图 2B 所示, CK2 的 F_v/F_m 较 CK1 显著降低, 经不同质量浓度 ALA 处理后, 呈现出先升高后降低的趋势, 当 ALA 质量浓度为 50 mg/L 时, 与 CK2 相比显著提高, 且效果最为明显.

NPQ 为非光化学猝灭系数, 是 PS II 天线色素吸收的不能用于光合电子传递而以热能形式耗散掉的光能部分, 反映光系统对过剩光能的耗散能力^[17]. 如图 2C 所示, CK2 的 NPQ 较 CK1 显著上升, 经 ALA 处理后, 各处理组有不同程度的下降趋势, 当 ALA 质量浓度为 75 mg/L 时, 与 CK2 相比其 NPQ 下降最为显著.

qP 是光化学猝灭系数, 即由于光化学反应所引起的荧光猝灭, 可以反映 PS II 原初电子受体 Q_A 的氧化还

原状态和 PSII 开放中心的数目, 其值越大, 说明 PSII 的电子传递活性越大^[17]. 如图 2D 所示, 在盐胁迫处理下, CK2 的 qP 显著降低, 不同质量浓度的 ALA 处理后, 其光化学猝灭系数呈先升高后降低的趋势.

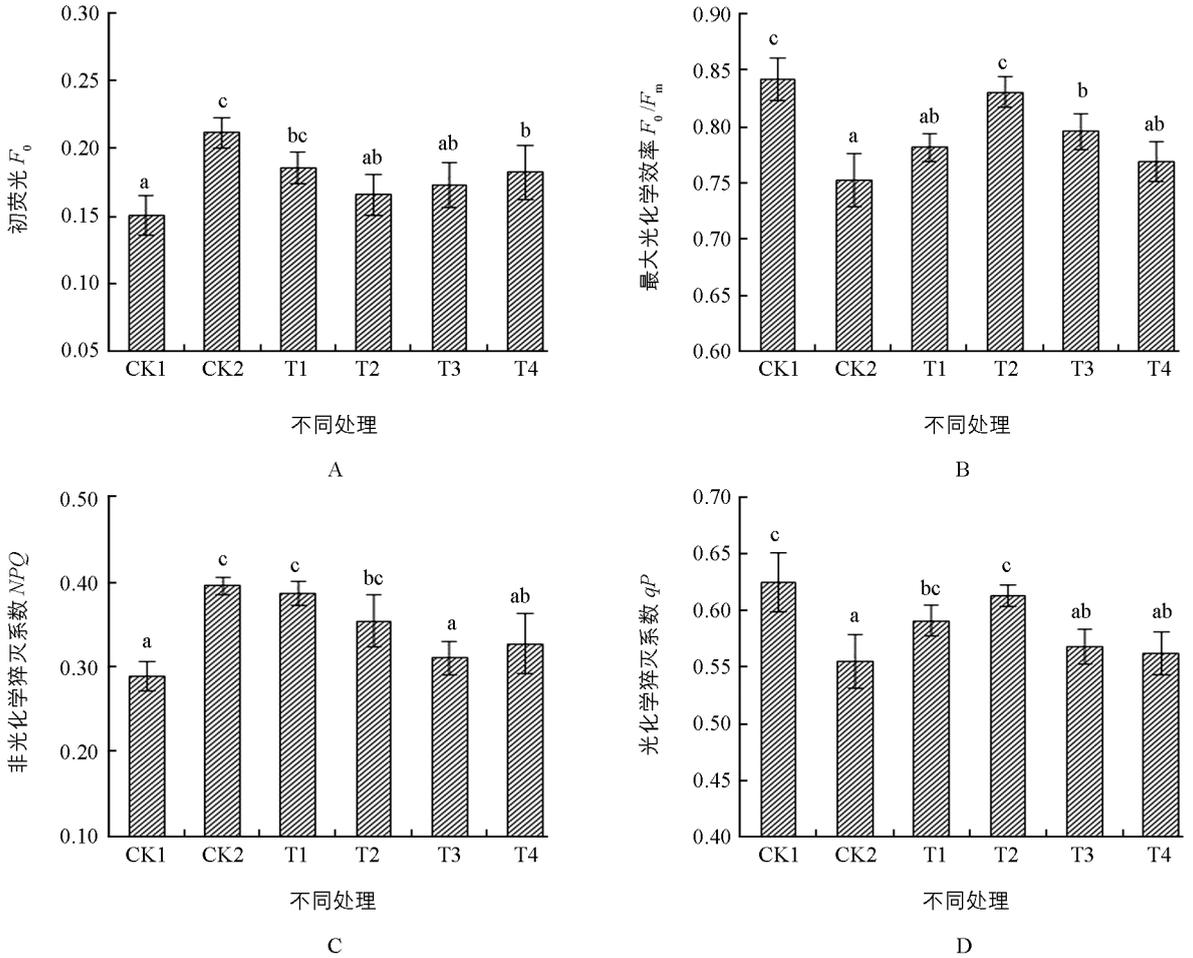


图 2 不同质量浓度 ALA 对盐胁迫下颠茄叶片叶绿素荧光参数的影响

3.3 不同质量浓度 ALA 对盐胁迫下颠茄叶片渗透调节物质和 MDA 含量的影响

图 3 所示为盐胁迫与不同质量浓度 ALA 处理下颠茄幼苗叶片渗透调节物质与 MDA 含量的变化情况. 图 3A 所示为颠茄叶片可溶性糖含量的变化趋势, 经盐处理后 CK2 较 CK1 显著升高, 经过 ALA 处理后, 与 CK2 相比, 随着 ALA 质量浓度升高, 叶片中可溶性糖含量先增加后降低. 当 ALA 质量浓度为 50 mg/L 时, 可溶性糖含量升高最显著.

如图 3B 所示为颠茄叶片可溶性蛋白含量的变化趋势, 盐处理后 CK2 显著降低, 经 ALA 处理后, 其含量呈先升高后降低的变化趋势, 当 ALA 质量浓度为 75 mg/L 时达到最高值, 且高于对照组 CK1, 可见 ALA 可有效减缓由盐胁迫导致的可溶性蛋白大幅减少.

如图 3C 所示为颠茄叶片游离脯氨酸含量的变化趋势, 在盐处理条件下, CK2 较 CK1 显著升高, 不同质量浓度 ALA 处理后, 再次呈现出不同程度的升高趋势, 与可溶性糖含量的变化趋势相类似.

如图 3D 所示为颠茄叶片 MDA 含量的变化趋势, 经盐处理后叶片中的 MDA 含量显著升高, 与 CK1 相比, CK2 升高了 39.24%, 经 ALA 处理后, 有了不同程度的回落, 其中当 ALA 质量浓度为 50 mg/L 时最为显著, T2 与 CK1 含量基本持平.

3.4 不同质量浓度 ALA 对盐胁迫下颠茄叶片抗氧化酶活性的影响

植物体中抗氧化酶活性的变化在一定程度上可以反映出植物体抗盐性的强弱^[18], 图 4 所示为颠茄叶片中 SOD 和 POD 两种抗氧化酶活性的变化趋势, 两者的变化基本一致, 均为先升后降的趋势. 如图 4A 所示, 盐胁迫处理后, SOD 活性显著升高, 经质量浓度为 50 mg/L 的 ALA 处理后其活性相比 CK2 变化显著, 提高了 26.34%, 其他处理组均不显著. 如图 4B 所示, 盐胁迫处理后, POD 活性较对照组 CK1 仅升高

了 9.01%, 经不同质量浓度 ALA 处理后, POD 活性均显著提高, 其中 T2 处理组最显著, 较 CK2 提高了 45.11%。这说明外源性的 ALA 可显著提高颠茄叶片中的两种抗氧化酶, 以此来减轻细胞氧化程度, 提高其抗盐胁迫能力。

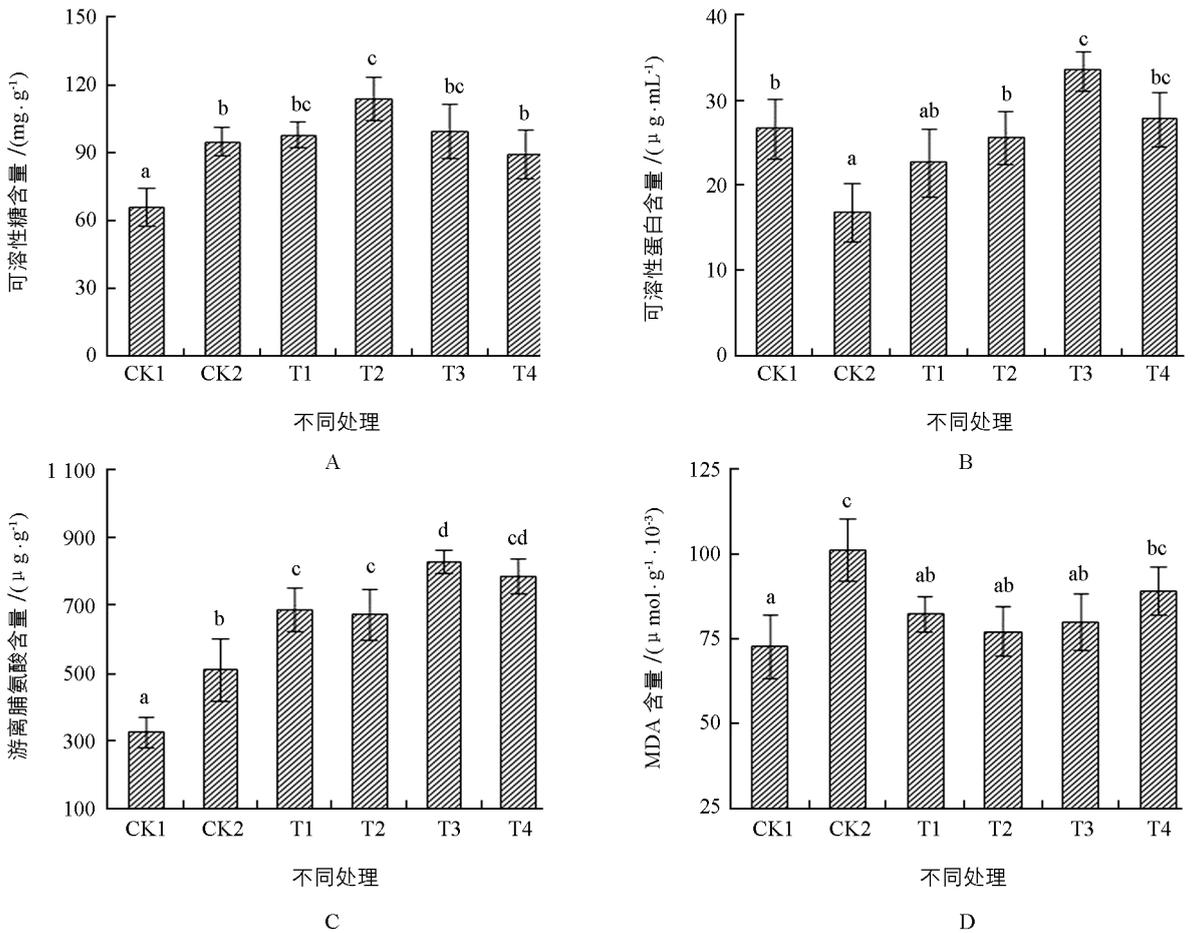


图 3 不同质量浓度 ALA 对盐胁迫下颠茄叶片渗透调节物质和 MDA 含量的影响

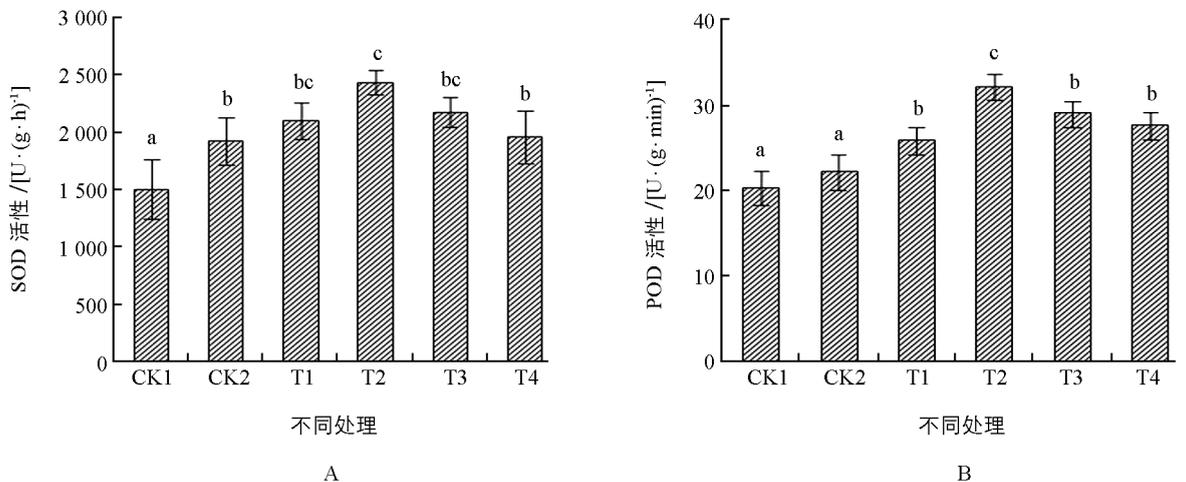


图 4 不同质量浓度 ALA 对盐胁迫下颠茄叶片抗氧化酶活性的影响

3.5 不同质量浓度 ALA 对盐胁迫下颠茄叶片莨菪碱和东莨菪碱含量的影响

如图 5 所示, 颠茄叶片中莨菪碱和东莨菪碱含量极低, 对照组 CK1 中的含量分别是 0.101% 和 0.017%。结果显示, 经盐胁迫处理后, 莨菪碱和东莨菪碱的含量显著降低, 分别降低了 23.74%, 47.49%。

用不同质量浓度 ALA 处理后, 莨菪碱和东莨菪碱的含量均有所变化, 其中莨菪碱呈现出无规则变化趋势, 但差异不具有统计学意义; 东莨菪碱含量经 ALA 处理后有所回升, 其中当 ALA 质量浓度为 75 mg/L 时, 其含量显著增加, 其他处理组差异不具有统计学意义, 这说明外源性的 ALA 可缓解盐胁迫导致的东莨菪碱合成障碍, 但是对于促进莨菪碱的合成不起显著作用。

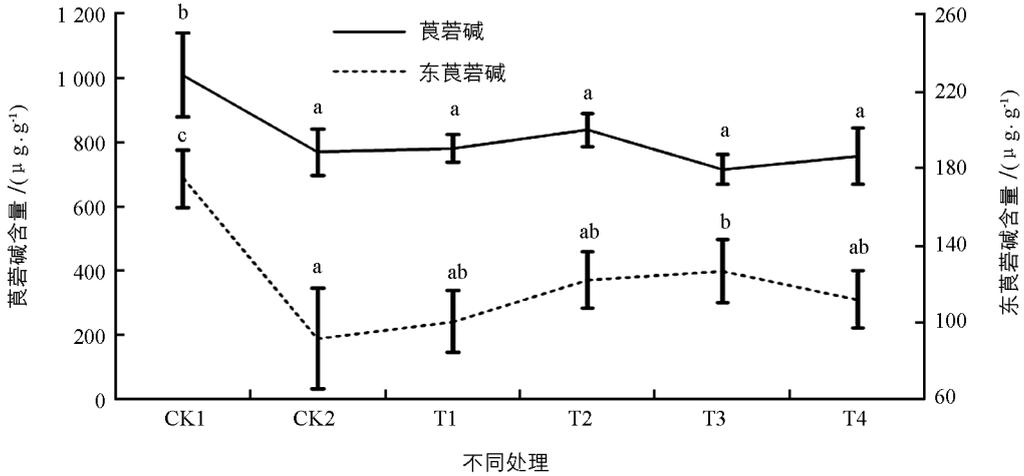


图 5 不同质量浓度 ALA 对盐胁迫下颠茄叶片莨菪碱和东莨菪碱含量的影响

4 讨论与结论

光合作用的强弱对植物生长、产量及抗逆性都具有十分重要的影响^[19], 而叶绿素是参与光合作用光能吸收、传递和转化的重要色素^[20], 因此叶绿素含量会直接影响植物生长. 在盐胁迫条件下, 植物体各种生理过程受到干扰, 膜系统结构被破坏, 有害物质积累, 直接或间接地影响了叶绿素的含量^[21]. 本研究表明, 在盐胁迫条件下, 颠茄叶绿素含量显著降低, 抑制或加快了颠茄叶片中叶绿素 a 和叶绿素 b 的合成与分解, 而施加外源 ALA 后, 其叶绿素含量显著上升, 表明 ALA 有助于保护叶绿体膜, 保持其结构的完整性, 维持颠茄叶片较高的叶绿素含量, 从而对其光合作用起到一定的促进作用. 这与 Hotta 等^[22]提出的 ALA 可以调节叶绿素合成观点相一致.

植物体进行光合作用受到伤害的最初部位是与 PS II 紧密联系的, 而盐胁迫会导致叶绿体光合机构的破坏, 降低 PS II 原初光能转换效率、抑制 PS II 潜在活性, 导致 PS II 功能下降^[23]. 本实验结果显示, 相比对照组 CK1, 盐胁迫使 F_0 和 NPQ 升高, F_v/F_m 和 qP 降低, 说明盐胁迫使 PS II 反应中心受到破坏, 发生光抑制, 降低了电子传递效率, 从而导致 PS II 功能下降. 在低质量浓度 ALA 处理下, F_0 呈下降趋势, 而 F_v/F_m 呈上升趋势, 其中 50 mg/L 处理最为显著, 这表明低质量浓度 ALA 可有效抵御盐胁迫对 PS II 反应中心的伤害, 使颠茄叶片 PS II 天线色素吸收的能量更多地流向光化学部分, 减少以荧光形式散失的能量, 从而使颠茄叶片在盐胁迫条件下保持较高的光化学效率, 有利于光合作用进行. 在中低质量浓度 ALA 处理下, NPQ 下降而 qP 上升, 表明 PS II 反应中心降低了热能形式的光能耗散, 增加了光化学反应所引起的荧光猝灭, 反映出在盐胁迫下 ALA 可以使颠茄 PS II 反应中心开放程度增大及增强 PS II 的电子传递活性, 使之保持较高的光化学效率, 同时这也说明外源 ALA 在盐胁迫条件下保护光合机构的原因不是通过增加光能热耗散的形式.

渗透调节是植物适应盐胁迫的基本特征之一, 在盐胁迫下细胞通过积累脯氨酸、可溶性糖、无机离子等来调节细胞内的渗透势, 维持水分平衡, 保护细胞内代谢所需的酶活性^[24], 对细胞的生命物质及生物膜起到保护作用. 可溶性糖和可溶性蛋白既是渗透调节剂, 也是合成其他有机溶质的碳架和能量来源, 还可在细胞内无机离子浓度高时起保护酶类的作用^[25]. 本实验结果显示, 在盐胁迫下颠茄叶片可溶性糖和游离脯氨酸含量相比对照有所上升, 可溶性蛋白含量显著降低, 这说明在盐胁迫处理下颠茄快速响应逆境, 其本身调节可溶性糖和游离脯氨酸含量增加, 来缓解逆境伤害导致的渗透压变化, 而可溶性蛋白含量的降低表明, 盐胁迫减弱了蛋白质的合成并加速其分解, 不利于植株正常生长. 在喷施不同质量浓度 ALA 溶液后, 可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸含量呈先升高后降低趋势, 其中 ALA 质量浓度为 50 mg/L

和 75 mg/L 时效果最为显著, 这说明外源性 ALA 可以维持颠茄细胞内较低的渗透势, 提高细胞内溶质的浓度, 有助于细胞从外界吸收水分, 维持细胞正常生理活性, 可有效缓解盐胁迫对颠茄造成的伤害。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)是植物体内保护酶系统的主要成员, 特别是 SOD 和 POD 是防御活性氧及其他自由基对细胞膜系统伤害最重要的酶^[26]。丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的主要产物之一, 其量的高低和质膜透性的大小都是膜脂过氧化强弱和质膜破坏程度的重要指标^[27]。实验结果显示, 在盐胁迫处理下 MDA 含量大幅上升, SOD 和 POD 活性较正常水平略微升高, 说明细胞质膜发生了过氧化作用, 且其自身通过调控抗氧化酶活性, 降低活性氧水平。通过喷施不同质量浓度 ALA 溶液, MDA 含量开始显著降低并且大幅度提高了 SOD 和 POD 活性, 这与刘鹏等^[28]的研究结果相似, ALA 可以缓解盐胁迫这一作用与能够调节植物细胞渗透调节能力、提高抗氧化酶活性和抑制质膜过氧化有关。

植物的次生代谢是植物体内一种重要的生理代谢, 次级代谢产物的合成和积累与植物生长环境密切相关。有研究表明, 有利于初生代谢的环境条件不利于次生代谢, 不利于次生代谢的条件反而增加次生代谢, 也就是初生代谢与次生代谢之间存在矛盾^[29]。然而本研究结果与之相反, 实验结果显示, 在盐胁迫条件下颠茄叶片中莨菪碱和东莨菪碱含量均显著降低, 可能是由于盐胁迫抑制了 TAs 合成途径中某种或者几种酶的活性, 也有可能是由于盐胁迫造成 TAs 的前提物质减少所致, 经不同质量浓度 ALA 处理后, 东莨菪碱含量略有提高, 但是莨菪碱含量没有显著变化。本研究结果表明, ALA 对颠茄光合作用与抗逆能力起到促进作用, 有利于颠茄植株的初生代谢, 可抵抗恶劣环境促进其快速生长, 从而不利于次生代谢产物的积累。对于盐胁迫及 ALA 对颠茄次生代谢的影响机制, 还有待进一步深入研究。

作为 TAs 药源植物的颠茄具有极高的应用价值, 其良好的生长条件固然不可忽视, 但是作为药用植物其活性成分的积累才更为重要。随着 TAs 需求量的日益提高, 人工种植颠茄将是今后的首选。但是, 如何在最优生长条件下保持较高的 TAs 积累水平, 是将要解决的首要问题。

参考文献:

- [1] 刘云, 张均田, 杨靖华. 十二种莨菪碱类衍生物药理作用的比较 [J]. 药学报, 1987, 22(10): 725-729.
- [2] FACCHINI P J. Alkaloid Biosynthesis in Plants: Biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications [J]. Annual Review of Plant Physiology & Plant Molecular Biology, 2001(52): 29-66.
- [3] Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2010.
- [4] 李慧, 吴松, 孙其文, 等. 颠茄的离体培养与快速繁殖研究 [J]. 北方园艺, 2007(12): 192-194.
- [5] 徐晓洁, 邹志荣, 乔飞, 等. ALA 对 NaCl 胁迫下不同品种番茄植株光合作用、保护酶活性及果实产量的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(4): 131-135.
- [6] 张宪政. 植物叶绿素含量测定——丙酮乙醇混合液法 [J]. 辽宁农业科学, 1986(3): 26-28.
- [7] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [8] 高俊凤. 植物生物学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [9] VELIKOVA V, YORDANOV I, EDREVA A. Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain 2-Treated Bean Plants Protective Role of Exogenous Polyamines [J]. Plant Science, 2000, 151(2): 59-66.
- [10] GIANNOPOLITIS C N, RIES S K. Superoxide Dismutases I. Occurrence in Higher Plants [J]. Plant physiology, 1977, 59(2): 309-314.
- [11] 张志良, 瞿伟菁, 李小芳. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [12] ZÁRATE R, HERMOSIN B, CANTOS M, et al. Tropane Alkaloid Distribution in *Atropa Baetica* Plants [J]. Journal of Chemical Ecology, 1997, 23(8): 2059-2066.
- [13] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论 [J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 444-448.
- [14] 赵中振, 肖培根. 当代药用植物典(第一册) [M]. 上海: 上海世界图书出版社, 2007.
- [15] 马伏英. 黄连等中药抗实验性小鼠柯萨奇 B3 病毒性心肌炎的实验研究 [J]. 武警医学, 1998, 9(4): 187-190.
- [16] XU C C, LI D Q, ZOU Q, et al. Effect of Drought on Chlorophyll Fluorescence and Xanthophyll Cycle Components in Winter Wheat Leaves with Different Ages [J]. Acta Phytophysiologica Sinica, 1999, 25(1): 29-37.
- [17] 孙璐, 周宇飞, 李丰先, 等. 盐胁迫对高粱幼苗光合作用和荧光特性的影响 [J]. 中国农业科学, 2012, 45(16): 3265-3272.
- [18] 张春平, 何平, 胡世俊, 等. 外源 5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下黄连种子萌发及幼苗生理特性的影响 [J]. 中草药,

2014, 45(24): 3618–3626.

- [19] 张春平, 周慧, 何平, 等. 外源 5-氨基乙酰丙酸对盐胁迫下黄连幼苗光合参数及其叶绿素荧光特性的影响 [J]. 西北植物学报, 2014, 34(12): 2515–2524.
- [20] SASAKI K, MARQUEZ F J, NISHIO N, et al. Promotive Effect of 5-Aminolevulinic Acid on the Growth and Photosynthesis of *Spirulina Platensis* [J]. *Journal of Fermentation & Bioengineering*, 1995, 79(5): 453–457.
- [21] 徐晓洁, 邹志荣, 乔飞, 等. ALA 对 NaCl 胁迫下不同品种番茄植株光合作用、保护酶活性及果实产量的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(4): 131–135.
- [22] HOTTA Y, TANAKA T, TAKAOKA H, et al. New Physiological Effects of 5-Aminolevulinic Acid in Plants: The Increase of Photosynthesis, Chlorophyll Content, and Plant Growth [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1997, 61(12): 2025–2028.
- [23] LU C M, ZHANG J H. Effects of Water Stress on Photosystem II Photochemistry and Its Thermostability in Wheat Plants [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1999, 50(336): 1199–1206.
- [24] 杨志莹, 赵兰勇, 徐宗大. 盐胁迫对玫瑰生长和生理特性的影响 [J]. *应用生态学报*, 2011, 22(8): 1993–1998.
- [25] 乔绍俊, 李会珍, 张志军, 等. 盐胁迫对不同基因型紫苏种子萌发、幼苗生长和生理特征的影响 [J]. *中国油料作物学报*, 2009, 31(4): 499–502.
- [26] 罗广华, 王爱国, 邵从本, 等. 超氧化物歧化酶(SOD)在大豆下胚轴线粒体内的定位 [J]. *植物学报*, 1987, 29(2): 171–177.
- [27] 韩蕊莲, 李丽霞, 梁宗锁, 等. 干旱胁迫下沙棘膜脂过氧化保护体系研究 [J]. *西北林学院学报*, 2002, 17(4): 1–5.
- [28] 刘鹏, 赵宝龙, 王文静, 等. 5-氨基乙酰丙酸对葡萄盐胁迫缓解效应的研究 [J]. *北方园艺*, 2014(9): 19–22.
- [29] 苏文华, 张光飞, 李秀华, 等. 植物药材次生代谢产物的积累与环境的关系 [J]. *中草药*, 2005, 36(9): 1415–1418.

Effects of Exogenous 5-Aminolevulinic Acid on Physiological Characteristics and Secondary Metabolite Contents of *Atropa belladonna* L. Seedlings Under NaCl Stress

LU Ke-huan, GUO Shuang, WEI Yue,
ZHANG Cui-ping, WU Neng-biao

*School of Life Science, Southwest University/Key Laboratory of Eco-Environments in
Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, Chongqing 400715, China*

Abstract: In a study reported herein, seedlings of *Atropa belladonna* L. were treated with NaCl solution at 100 mmol/L and 5-aminolevulinic acid (5-ALA) solution at different concentrations, and the contents of soluble sugar, free proline, malondialdehyde (MDA), hyoscyamine and scopolamine were measured, and the activities of antioxidant enzymes (SOD and POD) were determined so as to find an approach to alleviating salinity damage to *A. belladonna* and enhancing its alkaloid contents under NaCl stress. The results showed that foliar spray of 5-ALA significantly ($p > 0.05$) improved the activities of the antioxidant enzymes and increased the contents of chlorophyll and osmotic adjustment substances, and decreased the level of peroxidation of plasma membrane and the level of damage of PS II. In addition, 5-ALA enhanced the scopolamine content of the seedlings under NaCl stress, but had little effect on hyoscyamine contents. In conclusion, exogenous 5-ALA can improve the resistance of *A. belladonna* seedlings to NaCl stress and effectively alleviate the inhibition of salt to the growth of *A. belladonna* plants.

Key words: *Atropa belladonna* L.; salt stress; physiological characteristics; secondary metabolism