

聚乙二醇胁迫对甘蔗伸长期间叶中脯氨酸积累及其代谢关键酶活性的影响

黄诚梅^{1,2}, 毕黎明², 杨丽涛², 李杨瑞^{1,2,*}

¹广西农业科学院广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁 530007; ²广西大学农学院, 南宁 530005

摘要: 甘蔗品种‘桂糖119’(‘GT119’)、‘新台糖16号’(‘ROC16’)、‘新台糖22号’(‘ROC22’)为材料, 在甘蔗伸长期用25%聚乙二醇(PEG)6000淋灌于根部。第4天, ‘GT119’与‘ROC16’叶中游离脯氨酸含量明显上升, 但‘ROC22’在处理6d内其含量增加仍不明显。吡咯啉-5-羧酸合成酶活性变化因品种而异, ‘ROC22’在处理6d后才明显上升, 其他2个品种则在胁迫处理1d后即明显提高。鸟氨酸转氨酶活性变化不明显。‘ROC22’在处理1d后其脯氨酸脱氢酶活性稍有提高, 而其他2个品种则下降。

关键词: 甘蔗; 聚乙二醇胁迫; 脯氨酸; 吡咯啉-5-羧酸合成酶; 鸟氨酸转氨酶; 脯氨酸脱氢酶

Effects of Polyethylene Glycol Stress on Proline Accumulation and the Activities of the Key Enzymes in Leaves of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) at the Elongation Stage

HUANG Cheng-Mei^{1,2}, BI Li-Ming², YANG Li-Tao², LI Yang-Rui^{1,2,*}

¹Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Laboratory, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; ²Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530005, China

Abstract: Three sugarcane (*Saccharum officinarum*) varieties, ‘GT119’, ‘ROC16’ and ‘ROC22’, were used as experimental materials. The plants were treated with 25% polyethylene glycol (PEG) 6000 at the elongation stage. The results showed that, under the stress treatment, free proline content of two varieties ‘GT119’ and ‘ROC16’ increased 4 d after the starting of treatment, while there was no difference between the treatment and control for the variety ‘ROC22’ during 6 d. The same results for the Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) activity were obtained after the stress treatment, the activity of ‘ROC22’ increased till after the starting of treatment for 6 d. For the activities of ornithine- δ -aminotransferase (δ -OAT), there was no remarkable difference between the treatment and control. The proline dehydrogenase (ProDH) activity of ‘ROC22’ increased after treatment, the other varieties were contrary.

Key words: *Saccharum officinarum*; polyethylene glycol (PEG) stress; proline; Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS); ornithine- δ -aminotransferase (δ -OAT); proline dehydrogenase (ProDH)

我国旱地植蔗面积约占全国植蔗总面积的80%。在广西, 大部分蔗区分布在丘陵旱坡地上, 灌溉条件差。干旱已成为制约我国蔗糖生产的关键因素之一。

干旱对植物的影响是多层次的, 既有直观的形态学变化, 又有生理生化反应, 还有基因表达上的差异。一般, 常用干旱胁迫下不同基因型植物的生理生化反应作为衡量植物耐旱性的指标。在干旱等逆境因素胁迫下, 许多植物通常会大量积累如脯氨酸与甜菜碱之类的渗透物质。有研究表明, 脯氨酸积累与植物对干旱和盐胁迫适应性之间呈正相关关系(Yamada等2005; Hong等

2000; Kavi Kishor等1995; 钟希琼和叶振1996)。本文以抗旱性不同的3个品种甘蔗为材料, 用聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG) 6000处理模拟水分胁迫条件, 探讨其对甘蔗伸长期间叶中脯氨酸积累及其代谢相关酶活性的影响, 以阐明脯氨酸代谢与甘蔗耐胁迫能力之间的关系。

收稿 2006-10-25 修定 2007-01-05

资助 广西区科技厅科技创新能力与条件建设项目(桂科能0630006-5F)和广西农业科学院科技发展基金(2004001)。

*通讯作者(E-mail: liyr@gxaas.net; Tel: 0771-3247689)。

材料与方 法

甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)品种‘桂糖119’(‘GT119’, 抗旱性中等)、‘新台糖16号’(‘ROC16’, 抗旱性一般)和‘新台糖22号’(‘ROC22’, 抗旱性较强)。用沙质土壤桶栽于广西甘蔗研究所智能温室大棚中, 于2006年2月25日下种, 每桶5~6个芽, 齐苗后定苗, 每桶2~3株, 其他的管理同一般的桶栽试验(主要为营养液的施用)。甘蔗长至伸长期时, 以2.5% PEG6000 (500 mL·l⁻¹)直接淋灌于甘蔗根部, 以清水为对照, 每个处理重复3次。分别于处理后1~6 d取甘蔗植株+1叶距叶环40~80 cm区段的叶片去除中脉后用于测定, 每个处理取生长比较一致的植株3株, 重复3次。

脯氨酸含量用茚三酮显色法(张宪政1992; 职明星和李秀菊2005)。

吡咯啉-5-羧酸合成酶(Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase, P5CS)酶活性参照García-Ríos等(1997)与余光辉(2003)文中的方法测定。鸟氨酸转氨酶(ornithine- δ -aminotransferase, δ -OAT)酶活性参照余光辉(2003)文中的方法测定。脯氨酸脱氢酶(proline dehydrogenase, ProDH)酶活性参照赵福庚等(2002b)文中的方法测定。

实验结果

1 PEG胁迫对不同品种甘蔗叶中游离脯氨酸积累的影响

图1结果表明, 抗旱性中等或一般的甘蔗品种‘GT119’与‘ROC16’在PEG处理后第4

天游离脯氨酸含量明显上升, 而抗旱性强的‘ROC22’在处理后的6 d内游离脯氨酸含量仍与未经PEG处理的差异不大。未经PEG处理的3个品种甘蔗的游离脯氨酸含量一直都没有明显变化。目测观察表明, 在PEG处理后第2天, ‘GT119’与‘ROC16’的嫩叶叶片已经出现卷曲, 老叶开始黄化, ‘ROC22’处理与未经PEG处理的一样; 随后的几天内, ‘GT119’与‘ROC16’卷曲黄化程度加剧, 而且‘ROC16’较‘GT119’更严重, ‘ROC22’的PEG处理与否仍无明显差异。因此认为, 植物体内游离脯氨酸含量大小在一定程度上可以反映植物抵抗逆境胁迫的能力(汤章城1984; 杨洪兵等2005)。

2 PEG胁迫对不同品种甘蔗叶中P5CS酶活性的影响

P5CS是脯氨酸生物合成中谷氨酸途径的一个双功能酶, 兼有 γ -谷氨酰激酶(γ -glutamyl kinase, γ -GK)和谷氨酸半醛脱氢酶(glutamic acid- γ -semialdehyde dehydrogenase, GSADH)催化活性, 催化脯氨酸生物合成的前两步, 催化谷氨酸磷酸化及谷氨酸- γ -半醛还原, 而且是合成反应的关键酶(Hu等1992; Zhang等1995)。从图2可以看出, 3个品种甘蔗的P5CS酶活性在PEG处理后均表现出先上升后下降而后又上升的变化趋势。‘GT119’与‘ROC16’在PEG处理后其酶活性明显高于未经PEG处理的, 而‘ROC22’酶活性只有在处理后第3和第6天时才稍有增高。

3 PEG胁迫对不同品种甘蔗叶中 δ -OAT酶活性的影响

δ -OAT是脯氨酸生物合成中另一条途径——

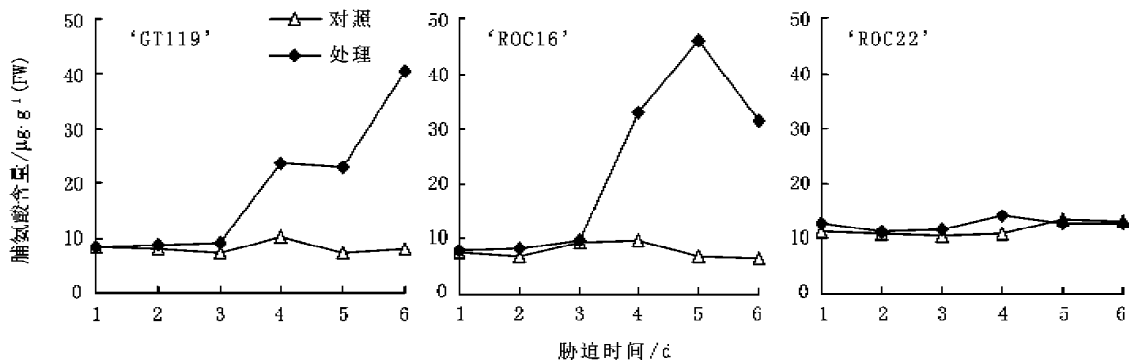


图1 PEG胁迫对不同品种甘蔗叶中游离脯氨酸含量的影响

Fig. 1 Effects of PEG stress on proline content in leaves of different sugarcane varieties

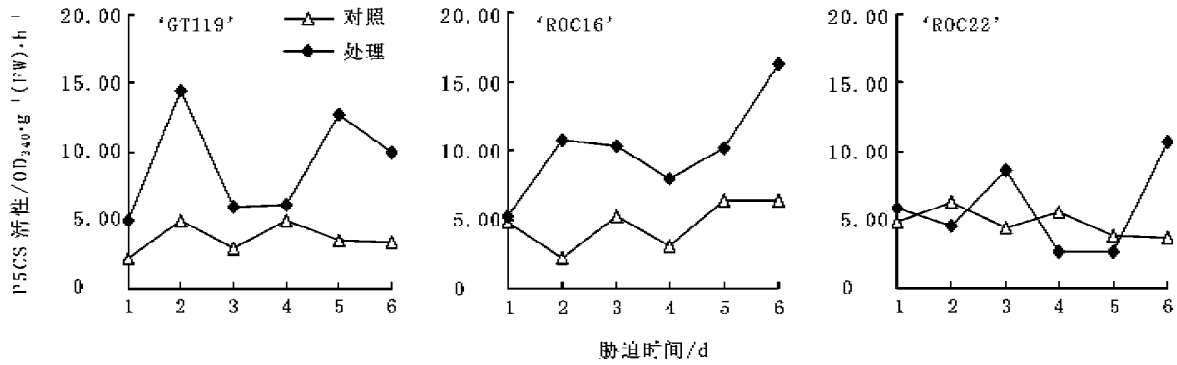


图2 PEG胁迫对不同品种甘蔗叶中P5CS酶活性的影响

Fig. 2 Effects of PEG stress on P5CS activity in leaves of different sugarcane varieties

鸟氨酸途径中的关键酶。从图3可见, 3个品种甘蔗在PEG处理后, 其叶中 δ -OAT酶活性与未经PEG处理之间没有明显差异, 这表明渗透胁迫下, 精氨酸 \rightarrow 鸟氨酸 \rightarrow 脯氨酸途径不占优势地位, 这与Delauncy等(1993)的结果相同。

4 PEG胁迫对不同品种甘蔗叶中ProDH酶活性的影响

PEG胁迫处理1 d后, 'GT119'与'ROC16'

叶中ProDH酶活性下降, 直至第3天后'ROC16'才稍有上升, 而'ROC22'在处理1 d后其酶活性有提高(图4), 这表明渗透胁迫下甘蔗植株叶片中脯氨酸的降解受抑制和合成对脯氨酸积累有同等意义。

讨论

脯氨酸是植物蛋白质的组分之一, 并以游离

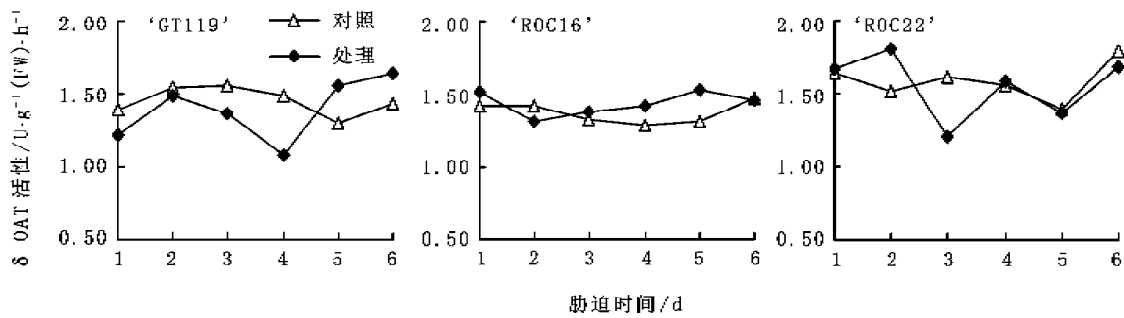


图3 PEG胁迫对不同品种甘蔗叶中 δ -OAT酶活性的影响

Fig. 3 Effects of PEG stress on δ -OAT activity in leaves of different sugarcane varieties

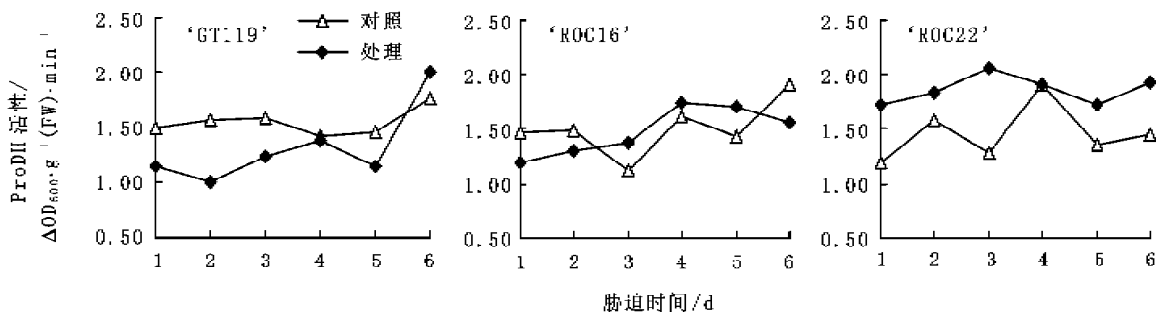


图4 PEG胁迫对不同品种甘蔗叶中ProDH酶活性的影响

Fig. 4 Effects of PEG stress on ProDH activity in leaves of different sugarcane varieties

状态广泛存在于植物体中。前人的研究表明, 植物在受到不同环境胁迫时, 其体内常伴有游离脯氨酸的积累, 这既可能有适应性的意义, 又可能是细胞结构和功能受到损伤的表现, 其积累量与逆境水平及植物对这种逆境的抗性有关(汤章城 1984)。目前, 对于其累积与植物抗旱能力之间的关系仍存在不同的看法。本文结果表明: 在PEG胁迫条件下, 不同抗旱性甘蔗品种间的脯氨酸积累量存在差异, 且品种抗旱性越强, 脯氨酸含量越少, 这可能是由于抗旱性强的品种比抗旱性弱的品种受胁迫程度轻, 伤害小, 所以产生脯氨酸就较少。

在胁迫条件下, 脯氨酸在其积累过程中的合成途径因物种而异, 与其合成相关酶的活性变化规律不同。豇豆(*Vigna aconitifolia*)中的研究结果表明, 在渗透胁迫与氮缺乏时谷氨酸途径是植物体内脯氨酸合成的主要途径, 而在非胁迫条件与高氮水平下鸟氨酸途径占优势(Hu等 1992; Zhang等 1995; Delauncy等 1993)。也有相反的结果(余光辉 2003; 赵福庚等 2002a)表明, 五叶期的假俭草(*Eremochloa ophiuroides*)幼苗在20% PEG6000模拟的水分胁迫条件下, 脯氨酸含量在处理24 h时明显增高, 谷氨酸途径中的关键酶P5CS活性下降, 而鸟氨酸途径中的关键酶 δ -OAT活性却显著增高(余光辉 2003)。大麦(*Hordeum vulgare*)幼苗在50~200 mmol·L⁻¹ NaCl处理下, 其叶片脯氨酸合成主要是通过谷氨酸途径, 200 mmol·L⁻¹以上NaCl胁迫下鸟氨酸途径受激(赵福庚等 2002a)。本文结果表明, 3个品种甘蔗经PEG处理后, 除了‘ROC22’外, 游离脯氨酸含量与谷氨酸途径中的关键酶P5CS酶活性都有明显增强, 游离脯氨酸含量的提高速度总是滞后于P5CS酶活性。而脯氨酸生物合成中另一条途径——鸟氨酸途径中的关键酶 δ -OAT酶活性与未经PEG处理之间没有明显差异, 这表明渗透胁迫下, 甘蔗叶中脯氨酸生物合成中谷氨酸→脯氨酸途径比精氨酸→鸟氨酸→脯氨酸途径更占优势地位。

分子生物学的研究表明, P5CS与ProDH基因的相反方向调节是控制脯氨酸水平的关键。ProDH基因受外源脯氨酸的诱导, 而在渗透胁迫中其转录水平受抑制。本文结果中除‘ROC22’

外, 其他品种甘蔗的ProDH酶活性在PEG处理后都有下降, 这表明渗透胁迫下甘蔗植株叶中脯氨酸降解受抑制和其合成对脯氨酸积累有同等意义, 其中机制尚待进一步探讨。

参考文献

- 汤章城(1984). 逆境条件下植物脯氨酸的积累及其可能的意义. 植物生理学通讯, (1): 15~21
- 杨洪兵, 韩振海, 许雪峰(2005). NaCl和等渗聚乙二醇对苹果属植物游离脯氨酸含量的影响. 植物生理学通讯, 41 (2): 157~162
- 余光辉(2003). 水分胁迫下假俭草脯氨酸积累的ABA、Ca²⁺调节[硕士学位论文]. 广州: 华南师范大学
- 张宪政主编(1992). 作物生理研究法. 北京: 农业出版社, 119~218
- 赵福庚, 刘友良, 章文华(2002a). 大麦幼苗叶片脯氨酸代谢及其与耐盐性的关系. 南京农业大学学报, 25 (2): 7~10
- 赵福庚, 孙诚, 刘友良, 章文华, 刘兆普(2002b). ABA和NaCl对碱蓬多胺和脯氨酸代谢的影响. 植物生理与分子生物学报, 28 (2): 117~120
- 职明星, 李秀菊(2005). 脯氨酸测定方法的改进. 植物生理学通讯, 41 (3): 355~357
- 钟希琼, 叶振邦(1996). 综合评价甘蔗的抗旱性及其抗旱生理指标. 华南农业大学学报, 17 (3): 81~84
- Delauncy AJ, Hu CAA, Kavi Kishor PB, Verma DPS (1993). Cloning of ornithine δ -aminotransferase cDNA from *Vigna aconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis. J Biol Chem, 268 (25): 18673~18678
- García-Ríos M, Fujita T, LaRosa PC, Locy RD, Clithero JM, Bressan RA, Csonka LN (1997). Cloning of a polycistronic cDNA from tomato encoding γ -glutamyl kinase and γ -glutamyl phosphate reductase. Proc Natl Acad Sci USA, 94: 8249~8254
- Hong Z, Lakkineni K, Zhang Z, Verma DPS (2000). Removal of feedback inhibition of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. Plant Physiol, 122: 1129~1136
- Hu CAA, Delauncy AJ, Verma DPS (1992). A bifunctional enzyme (Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase) catalyzes the first two steps in proline biosynthesis in plants. Proc Natl Acad Sci USA, 89: 9354~9358
- Kavi Kishor PB, Hong Z, Miao GH, Hu CAA, Verma DPS (1995). Overexpression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. Plant Physiol, 108: 1387~1394
- Yamada M, Morishita H, Urano K, Shiozaki N, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Yoshida Y (2005). Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. J Exp Bot, 56 (417): 1975~1981
- Zhang C-S, Lu Q, Verma DPS (1995). Removal of feedback inhibition of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase, a bifunctional enzyme catalyzing the first two steps of proline biosynthesis in plants. J Biol Chem, 270 (35): 20491~20496