

NaCl 和等渗聚乙二醇对苹果属植物游离脯氨酸含量的影响

杨洪兵* 韩振海 许雪峰**

中国农业大学果树逆境生理与分子生物学实验室, 北京 100094

提要 测定了不同耐盐性苹果属植物珠眉海棠、小金海棠和山定子幼苗各部位的游离脯氨酸含量, 结果表明, NaCl 胁迫下苹果属植物游离脯氨酸含量增加均大于等渗PEG处理, NaCl和等渗PEG处理对耐盐种的游离脯氨酸含量影响较小, 高盐度下盐敏感种的游离脯氨酸含量持续大量增加。

关键词 苹果属植物; NaCl; 等渗PEG; 游离脯氨酸含量

Effects of NaCl and Iso-osmotic Polyethylene Glycol on Free Proline Content of *Malus*

YANG Hong-Bing*, HAN Zhen-Hai, XU Xue-Feng**

Stress Physiology and Molecular Biology Laboratory of Fruit Trees, China Agricultural University, Beijing 100094

Abstract Free proline content of different parts of *Malus* seedlings *M. baccata*, *M. xiaojinensis* and *M. zumi* with different salt-tolerance was determined. The results showed that the increase of free proline content in NaCl stress was more than that in iso-osmotic polyethylene glycol treatment. NaCl and iso-osmotic polyethylene glycol treatments showed less influence on free proline content of salt-tolerant cultivar, while salt-sensitive cultivar showed continuous and high increase of free proline content in high concentration NaCl treatment.

Key words *Malus*; NaCl; iso-osmotic PEG; free proline content

盐分胁迫下, 植物体内游离脯氨酸^[1~7]含量增加是自然界中普遍存在的现象, 受水分胁迫的植物体内游离脯氨酸^[8~10]含量也有增加现象。盐对植物的伤害分渗透胁迫和离子毒害两个方面, 这两方面的效应可能对植物脯氨酸代谢有不同的作用。现有报道中对渗透胁迫和离子毒害影响同一植物体内游离脯氨酸含量变化的研究较少, 室内用聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)对植物进行处理, 可以人为模拟水分渗透胁迫。本文采用NaCl和等渗PEG处理, 对苹果属植物体内有机渗透调节物质——游离脯氨酸的含量变化进行了比较研究。

材料与amp;方法

试验材料为苹果属植物山定子(*Malus baccata* L.)、小金海棠(*Malus xiaojinensis*)和珠眉海棠(*Malus zumi*)。山定子是一种不适于盐碱地栽培的盐敏感种^[11, 12]; 小金海棠能耐0.3%左右的盐度^[12], 是一种中等耐盐种; 珠眉海棠能在盐含量0.6%的滨海地和内陆盐碱地正常生长, 是一个优良的耐盐种质^[13]。珠眉海棠、小金海棠和山定子均采用多

次继代后基因型一致的组培苗。组培生长培养基为: MS+IAA(0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 生根培养基为: MS+IAA(1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。组培苗生根后移入营养液中通气培养。培养室的白天温度为22~28 $^{\circ}\text{C}$, 夜间为15~20 $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度(RH)白天为45%~50%, 夜间为60%~70%, 叶面光照度约为800 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光照时间为12 $\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

苹果属植物幼苗长至10 cm高时开始以NaCl处理(NaCl溶液用营养液配制)。为避免盐冲击(shock)效应, 采用每12 h递增25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl的方式, NaCl的终浓度分别为50、100和150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。另对幼苗作等渗PEG处理, 等渗PEG和NaCl的渗透势采用美国Wescor公司生产的5520型渗透压计测定, PEG-6000终浓度分别为0.0188 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (相当于50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl的渗透势)、

收稿 2004-07-16 修订 2004-12-27

资助 国家自然科学基金(39740027)。

* 现在莱阳农学院生命科学院工作(E-mail: hbyang1968@sohu.com, Tel: 0532-2140470)。

** 通讯作者(E-mail: xuefengx@cau.edu.cn, Tel: 010-62733758)。

0.0245 mol·L⁻¹ (相当于100 mmol·L⁻¹ NaCl的渗透势) 和0.0285 mol·L⁻¹ (相当于150 mmol·L⁻¹ NaCl的渗透势)。NaCl 和等渗 PEG 达终浓度后的5、10 和 15 d, 分别取苹果属植物的主根、侧根、幼叶、成熟叶和老叶用于测定游离脯氨酸含量^[14]。每个处理重复3次。

实验结果

1 NaCl 和等渗PEG对苹果属植物根中游离脯氨酸含量的影响

图1和2显示:

(1) 50 mmol·L⁻¹ NaCl 和等渗 PEG 处理的3种幼苗主根中, 游离脯氨酸含量与5 d相比, 山定子15 d后、小金海棠和珠眉海棠均在10 d后显著下降($P<0.05$)。以100 mmol·L⁻¹ NaCl 和等渗 PEG 处理的山定子分别在10和15 d后显著增加($P<0.05$), 珠眉海棠在10 d后显著下降($P<0.05$)。

以150 mmol·L⁻¹ NaCl 和等渗 PEG 处理的山定子分别在10 d和15 d后显著增加($P<0.05$ 和 $P<0.01$), 珠眉海棠在10 d后显著下降($P<0.05$)。另外, 山定子和小金海棠在150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理10、15 d的主根中游离脯氨酸含量明显高于等渗PEG处理($P<0.05$) (图1)。

(2) 100 mmol·L⁻¹ NaCl 和等渗 PEG 处理的山定子侧根中, 游离脯氨酸含量分别在10和15 d后显著增加($P<0.05$), 珠眉海棠在15 d后显著下降($P<0.05$)。150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理的山定子和小金海棠分别在10和15 d后显著增加($P<0.05$), 珠眉海棠在15 d后显著下降($P<0.05$); 等渗 PEG 处理的山定子在10 d后显著增加($P<0.05$), 珠眉海棠在15 d后显著下降($P<0.05$)。另外, 山定子在100和150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理10、15 d的侧根中游离脯氨酸含量明显高于等渗 PEG 处理($P<0.05$) (图2)。

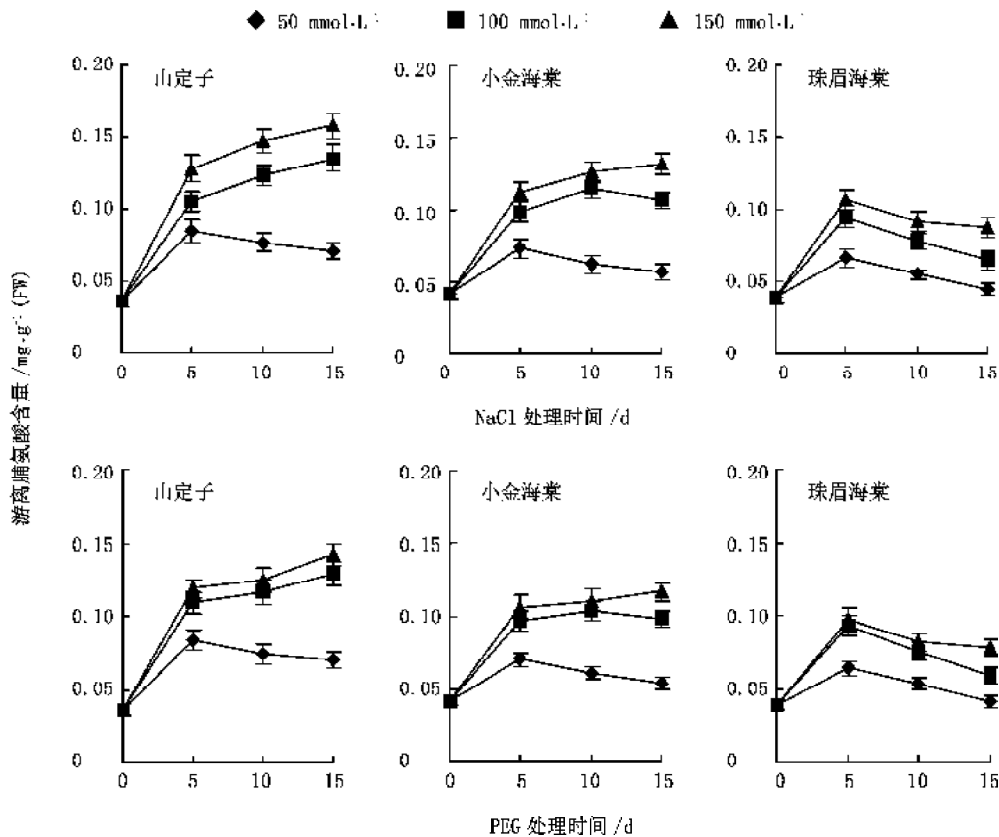


图1 NaCl和等渗PEG对苹果属植物主根中游离脯氨酸含量的影响

Fig. 1 Effects of NaCl and iso-osmotic PEG on free proline content in main roots of *Malus*

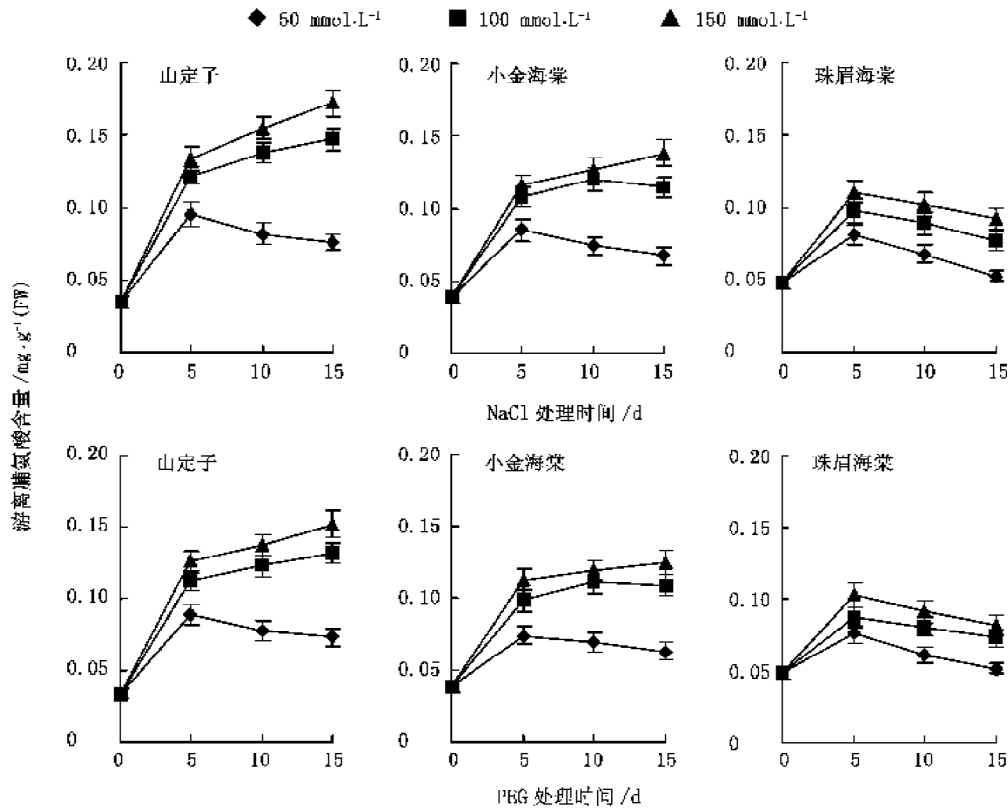


图2 NaCl和等渗PEG对苹果属植物侧根中游离脯氨酸含量的影响

Fig. 2 Effects of NaCl and iso-osmotic PEG on free proline content in lateral roots of *Malus*

2 NaCl和等渗PEG对苹果属植物叶中游离脯氨酸含量的影响

图3~5显示:

(1) 100 mmol·L⁻¹ NaCl和等渗PEG处理的山定子幼叶中, 游离脯氨酸含量在15 d后显著增加 ($P < 0.05$), 珠眉海棠在15 d后显著下降 ($P < 0.01$)。150 mmol·L⁻¹ NaCl和等渗PEG处理下, 山定子和小金海棠分别在10 d和15 d后显著增加 ($P < 0.05$), 珠眉海棠在15 d后显著下降 ($P < 0.05$)。另外, 山定子在150 mmol·L⁻¹ NaCl处理15 d的幼叶中游离脯氨酸含量明显高于等渗PEG处理 ($P < 0.05$) (图3)。

(2) 100 mmol·L⁻¹ NaCl和等渗PEG处理的山定子成熟叶中, 游离脯氨酸含量在15 d后显著增加 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$), 珠眉海棠在10 d后显著下降 ($P < 0.05$)。150 mmol·L⁻¹ NaCl和等渗PEG处理的山定子分别在10 d和15 d后显著增加 ($P < 0.05$), 小金海棠在15 d后显著增加 ($P < 0.05$), 珠眉海棠在15 d后显著下降 ($P < 0.05$)。另外, 山定子在150

mmol·L⁻¹ NaCl处理10和15 d的成熟叶中, 游离脯氨酸含量明显高于等渗PEG处理 ($P < 0.05$) (图4)。

(3) 100和150 mmol·L⁻¹ NaCl处理的山定子老叶中, 游离脯氨酸含量均在15 d后显著增加 ($P < 0.05$)。小金海棠和珠眉海棠在150 mmol·L⁻¹ NaCl处理15 d后也显著增加 ($P < 0.05$)。另外, 山定子在150 mmol·L⁻¹ NaCl处理15 d的老叶中, 游离脯氨酸含量明显高于等渗PEG处理 ($P < 0.05$) (图5)。

讨 论

渗透调节是植物对盐胁迫的重要适应手段之一^[15]。在盐胁迫下, 植物通过吸收Na⁺、Cl⁻等离子和累积游离脯氨酸等有机溶质以降低其渗透势^[16,17], 抵抗外界水分胁迫。如在盐胁迫下, 无花果^[4]和盐地碱蓬^[5]的游离脯氨酸含量增加; 在干旱和模拟干旱胁迫下, 蚕豆^[10]和野生大豆^[9]的游离脯氨酸明显累积。本文中, NaCl和等渗PEG

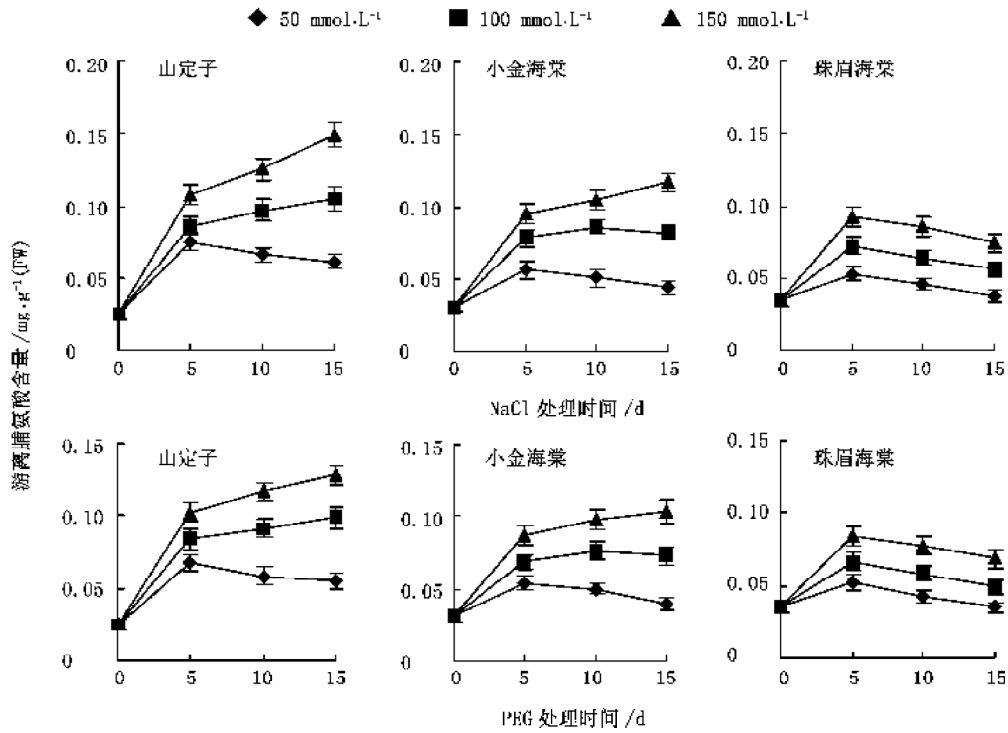


图 3 NaCl和等渗PEG对苹果属植物幼叶中游离脯氨酸含量的影响
 Fig. 3 Effects of NaCl and iso-osmotic PEG on free proline content in young leaves of *Malus*

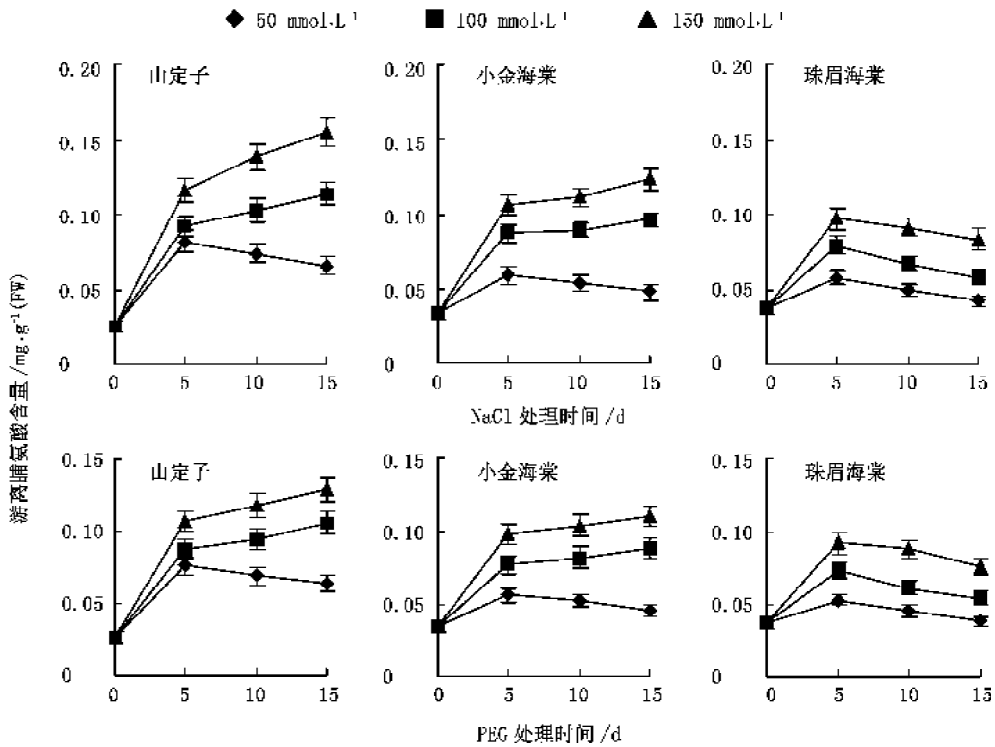


图 4 NaCl和等渗PEG对苹果属植物成熟叶中游离脯氨酸含量的影响
 Fig. 4 Effects of NaCl and iso-osmotic PEG on free proline content in mature leaves of *Malus*

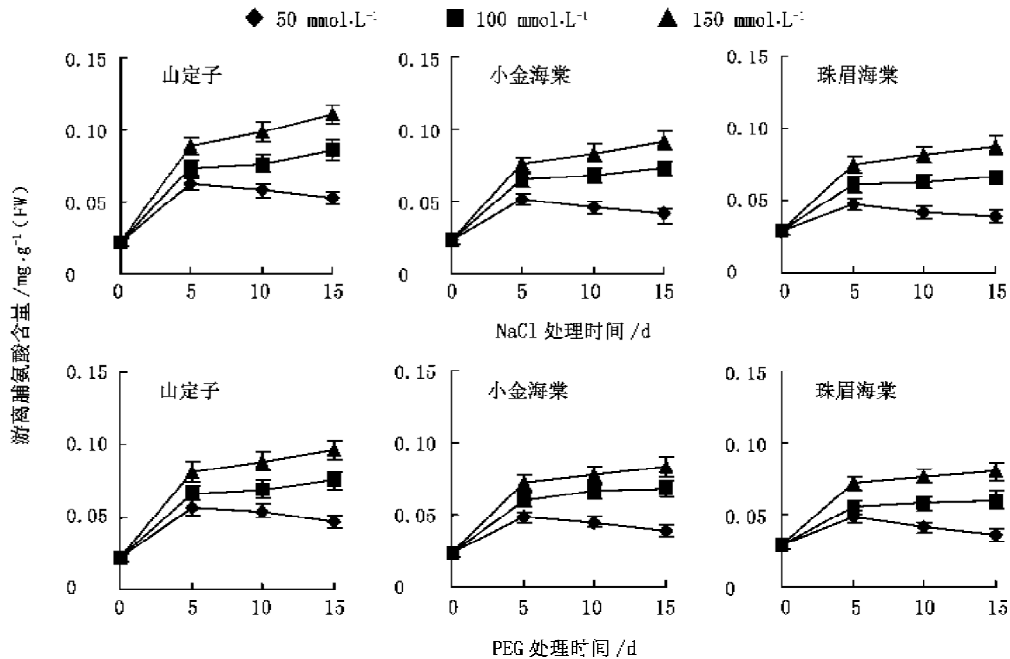


图5 NaCl和等渗PEG对苹果属植物老叶中游离脯氨酸含量的影响

Fig. 5 Effects of NaCl and iso-osmotic PEG on free proline content in old leaves of *Malus*

处理的3种苹果属植物体内游离脯氨酸含量在5 d时都有明显增加(图1~5),也说明一定数量的游离脯氨酸累积很可能是植物对盐胁迫和水分渗透胁迫的应激反应,是适应逆境的一种表现。

对同一植物进行NaCl和等渗PEG处理,体内游离脯氨酸含量增加是不一致的。有报道认为:NaCl胁迫下的小麦根和叶中游离脯氨酸含量增加均大于等渗PEG处理^[6,7]。我们的结果也表明,NaCl处理的3种苹果属植物主根、侧根、幼叶、成熟叶和老叶中的游离脯氨酸含量增加幅度都大于等渗PEG处理(图1~5),说明离子效应可引起苹果属植物积累更多的游离脯氨酸,特别是对盐敏感的山定子,其离子效应表现得更加明显。

据报道,随着NaCl浓度的增大,盐地碱蓬整株水平上的游离脯氨酸含量逐渐增大^[5]。另有报道认为,盐胁迫能激活大麦幼苗脯氨酸合成的鸟氨酸途径,导致大麦体内脯氨酸含量明显增加,这对提高大麦幼苗耐盐性是有意义的^[18]。但盐胁迫产生盐害时,植物代谢失调,引起蛋白质合成下降或脯氨酸氧化受阻,从而积累较多的游离脯氨酸,因此可以认为游离脯氨酸的长期大量

累积不是适应盐胁迫的方式,而是盐害的一种表现,这与已有报道的结果^[19]一致。

盐胁迫下脯氨酸累积与品种类别有关。有报道指出,耐盐性强的无花果品种叶中游离脯氨酸积累量较少,而耐盐性弱的无花果品种则相反,在盐处理后无花果叶中游离脯氨酸的增加量与品种耐盐性呈负相关^[4];耐盐性较强的苹果砧木八楞海棠和M₇的游离脯氨酸含量增加较少,增速也较慢,而耐盐性差的苹果砧木SH₁₅增值最大^[3]。耐盐能力强的小麦品种其游离脯氨酸含量变化率低^[1]。从本文结果来看,低盐度(50 mmol·L⁻¹)下,3种苹果属植物游离脯氨酸含量均在15 d后明显下降;高盐度(150 mmol·L⁻¹)下,对盐敏感的山定子主根、侧根、幼叶和成熟叶中游离脯氨酸累积量在10 d后明显增加,并且出现盐害症状,而耐盐的珠眉海棠的游离脯氨酸含量在15 d后均明显下降,游离脯氨酸累积量较少,变化率低,另外,3种苹果属植物的老叶中游离脯氨酸变化较小,且三者变化规律相似。这说明苹果属植物的耐盐性与其主根、侧根、幼叶和成熟叶中游离脯氨酸的累积呈负相关,据此可以推测,耐盐种主

要是通过无机离子进行渗透调节的, 由于合成游离脯氨酸等有机渗透物质需要消耗能量, 所以这不是主要的渗透调节方式, 高盐度下盐敏感种的游离脯氨酸持续大量增加应是盐害的一种表现。

参考文献

- 傅秀云, 崔光泉, 林昶. 冬小麦耐盐力与脯氨酸含量的关系. 山东农业科学, 1988, (2): 5~7, 26
- 邓占鳌, 章文才, 万蜀渊. 柑桔耐盐系的离体诱发与原质体植株再生. 园艺学报, 1993, 20(2): 127~132
- 王海英, 孙建设, 马宝焜等. 苹果砧木组培苗耐盐筛选技术的研究. 果树科学, 2000, 17(3): 164~169
- 姜卫兵, 马凯, 王业遴. 无花果耐盐性生理指标的探讨. 江苏农业学报, 1991, 7(3): 29~33
- 陈敏, 邱念伟, 丁顺华等. NaCl处理对盐地碱蓬整株及细胞水平的生长、溶质积累的影响. 山东科学, 2001, 14(2): 21~27
- 许兴, 郑国琦, 邓西平等. 不同基因型小麦幼苗抗旱抗盐性比较研究. 西北植物学报, 2002, 22(5): 1122~1135
- 许兴, 郑国琦, 邓西平等. 水分和盐分胁迫下春小麦幼苗渗透调节物质积累的比较研究. 干旱地区农业研究, 2002, 20(1): 52~56
- 李波, 贾秀峰, 白庆武等. 干旱胁迫对苜蓿脯氨酸累积的影响. 植物研究, 2003, 23(2): 189~191
- 张美云, 钱吉, 郑师章. 渗透胁迫下野生大豆游离脯氨酸和可溶性糖的变化. 复旦学报, 2001, 40(5): 558~561
- 鲍思伟, 谈锋, 廖志华. 土壤干旱对蚕豆叶片渗透调节能力的影响. 西南农业大学学报, 2001, 23(4): 353~359
- 马如池, 韩淑艳, 李义福. 滨海盐碱地苹果早期丰产栽培技术. 中国果树, 1992, (2): 32~34
- 翟衡, 杜中军, 罗新书. 苹果砧木耐盐性鉴定. 山东农业大学学报, 1999, 30(3): 296
- 顾迺良, 赵惠祥, 马继龙等. 珠眉海棠盐碱地适应范围应用. 天津农学院学报, 1996, 3(3): 48~52
- 张宪政. 作物生理研究法. 北京: 农业出版社, 1992
- 张海燕. 盐分和水分胁迫对盐地碱蓬幼苗渗透调节效应的研究. 植物学报, 1998, 40(1): 56~61
- 李明亮, 赵可夫. NaCl对甜土植物和盐生植物生理效应的研究. 曲阜师范大学学报, 1990, 16(2): 64~69
- 衣艳君, 刘家尧, 马宗琪等. NaCl对盐生植物和非盐生植物生理效应的比较. 曲阜师范大学学报, 1995, 21(1): 69~73
- 赵福庚, 孙诚, 刘友良. 盐胁迫激活大麦幼苗脯氨酸合成的鸟氨酸途径. 植物学报, 2001, 43(1): 36~40
- Liu JP, Zhu JK. Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of *Arabidopsis*. Plant Physiol, 1997, 114: 591~596