

不同 pH 值缓冲液处理下蚕豆叶片相对含水量、脯氨酸及丙二醛含量的变化

武永军¹, 何国强¹, 史艳茹¹, 梁宗锁^{1,2*}

(1. 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 中国科学院西北水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 研究了外源 pH 缓冲液处理下, 离体和整株蚕豆叶片相对含水量、脯氨酸含量和丙二醛含量的变化。结果表明, 酸碱处理离体蚕豆叶片 10 min 和 30 min 后, 叶片组织相对含水量在 pH 6.5 时最高; 酸性处理下的叶片脯氨酸含量较高; pH 5.0 时丙二醛含量较高。整株蚕豆叶片处理 5 h 的叶片组织相对含水量在 pH 6.5 时最高, 处理 12 h 以 pH 5.0 时最高; pH 5.5 处理 5 h 叶片脯氨酸含量最高, 处理 12 h 脯氨酸含量的变化不大; 处理 5 h 时丙二醛含量的变化随 pH 的降低略有下降, 但处理 12 h 丙二醛含量的变化不大。

关键词: pH; 相对含水量; 游离脯氨酸; 丙二醛; 蚕豆

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2009)06-0169-04

在植物的生活史中, 干旱, 低温, 盐渍, 病害侵袭和机械损伤等各种多变的环境时有发生, 这些逆境, 不但会扰乱植物的正常生长发育, 导致产量下降, 有时甚至会影响到其生存^[1]。干旱是影响作物产量的一个主要原因, 水资源短缺日益成为人们关注的焦点^[2]。

研究表明, 植物可以通过将化学信息由根系向地上部分传递来独立地“感知”土壤水分状况^[3,4]。植物在多种情况下会对这种来自根部的“信号”发生反应, 诸如干旱、洪涝及温度变化等。人们将这种“信号”称作“根源信号”^[5]。根源信号是通过调控气孔开度来减少水分丧失, 最佳的利用有限水分, 提高水分利用效率来实现的^[6]。

ABA 被认为是一种主要的根源信号, 它在调控干旱下植物的气孔行为和气体交换方面扮演着“主要”的角色^[5,7]。近年来人们研究了干旱胁迫下木质部汁液 pH 的变化, 认为汁液中 pH 的升高可能是作为一种土壤中可利用水降低之前的早期信号^[8~10]。尽管目前已有逆境胁迫下木质部汁液 pH 变化机制的研究, 但人们还不清楚逆境胁迫下 pH 升高的确切机制以及各种逆境胁迫调控 pH 升高的机理^[11,12]。

蚕豆 (*Vicia faba* L.) 是一年生或越年生豆科草本植物, 由于其叶片上下表皮都比较容易撕取, 所以多年来一直是研究气孔生物学的一种模式材料^[13]。本研究以蚕豆叶片为材料, 测定外源 pH 缓冲液处

理下叶片组织含水量、丙二醛和游离脯氨酸含量的变化, 试图为研究干旱胁迫下木质部汁液 pH 值的变化机制以及 pH 变化作为一种根源信号的作用机制提供支持。

1 材料和方法

1.1 实验材料

蚕豆 (*Vicia faba* L.) 种子用 75% 酒精表面消毒 5 min 后, 置于培养皿中, 在光照培养箱中 25℃ 萌芽 3 d 至 4 d, 每天用自来水冲洗 3 遍。种子发芽后栽到培养槽中用 1/2 Hoagland 培养液培养, 培养液每天换 3 次, 光暗周期为 12 h/12 h, 光照强度 200~300 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 昼夜温度 25±2℃ 和 20±2℃, 相对湿度 70% 左右。当蚕豆苗高 15 cm 左右时, 用盐酸和氢氧化钠调配不同 pH 值的 1/2 Hoagland 培养液进行 5 h、12 h 的整株和 10 min、30 min 的离体叶片处理 (每个处理三个重复, 每个重复选用生长一致的幼苗, 相同叶位的叶片), 测量处理的蚕豆叶片组织 (取鲜重) 含水量、游离脯氨酸和丙二醛含量。

1.2 测定方法

蚕豆叶片的组织含水量、游离脯氨酸含量和丙二醛含量的测定参照高俊凤等的方法^[14]。

2 结果与分析

2.1 不同 pH 酸碱溶液处理下蚕豆叶片组织相对含水量

由图 1 可知, 酸碱处理 10 min 离体蚕豆叶片的

收稿日期: 2009-07-07

基金项目: 国家自然科学基金 (30600384); 西北农林科技大学青年骨干支持计划

作者简介: 武永军 (1974—), 男, 讲师, 主要从事抗旱信号转导及分子遗传机制研究。E-mail: yongjunwu2005@yahoo.com.cn。

* 通讯作者: 梁宗锁, 教授, 博士生导师。E-mail: Lianzuo@ms.iswc.ac.cn。

组织相对含水量在 pH 6.5 时最高; pH 5.5 和 5.0 处理的相对含水量基本相近。酸碱处理 30 min 离体蚕豆叶片的结果与 10 min 处理相比差异较大, 但 pH 6.5 处理的含水量仍然较高。pH 5.0 处理离体蚕豆叶片 10 min、30 min 的相对含水量变化不大。

整株蚕豆处理 5 h 与离体蚕豆叶片处理 10 min

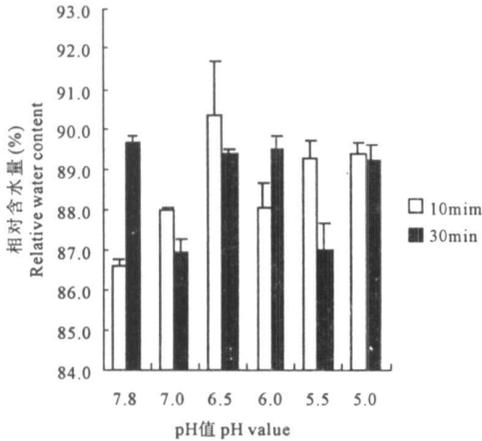


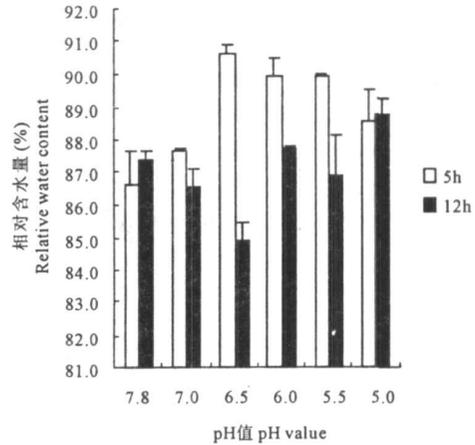
图 1 不同 pH 1/2 Hoagland 培养液处理下蚕豆叶片相对含水量的变化

Fig. 1 Changes of relative water content of *Vicia faba* leaves under different pH 1/2 Hoagland solution treatments

2.2 不同 pH 酸碱溶液处理下蚕豆叶片脯氨酸含量的变化

由图 2 可知, 酸碱处理离体蚕豆叶片 10 min 时, 叶片脯氨酸含量在 pH 6.5 (0.12%) 和 pH 5.0 时较高 (0.12%)。酸碱处理离体蚕豆叶片 30 min 的脯氨酸含量在 pH 7.0 时最低 (0.06%), pH 6.0 至 5.5 处理

的结果类似, 即叶片组织相对含水量在 pH 6.5 时最高, 低于、高于 pH 6.5 处理的叶片相对含水量均有所降低。整株蚕豆在 pH 6.5 处理 12 h 的叶片相对含水量最低, pH 5.0 下的叶片相对含水量最高。同样, pH 5.0 处理 5 h、12 h 蚕豆叶片相对含水量变化不大。



2.2 不同 pH 酸碱溶液处理下蚕豆叶片脯氨酸含量的变化

下的脯氨酸含量较高。

整株蚕豆在 pH 5.5 处理 5 h 下叶片脯氨酸含量最高, pH 7.8 和 7.0 下的叶片脯氨酸含量较低。整株蚕豆处理 12 h 时, 脯氨酸含量的变化不大, 其中 pH 6.5 (0.10%) 和 5.5 (0.10%) 处理下的含量较低。

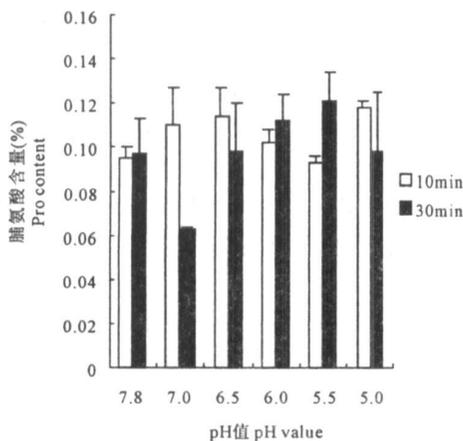


图 2 不同 pH 1/2 Hoagland 培养液处理下蚕豆叶片脯氨酸含量的变化

Fig. 2 Changes of Pro content of *Vicia faba* leaves under different pH 1/2 Hoagland solution treatments

2.3 不同 pH 酸碱溶液处理下蚕豆叶片丙二醛含量的变化

由图 3 可知, 酸碱处理离体蚕豆叶片 10 min 时, 丙二醛含量的变化相差不大, pH 5.0 时丙二醛含量

较高。酸碱处理离体蚕豆叶片 30 min 时, pH 5.0 处理的丙二醛含量最高, 总体来看, 酸性处理下的含量较碱性处理下高。

整株蚕豆酸碱处理 5 h 时, 丙二醛含量的变化随

pH 的降低略有下降。处理 12 h 下的丙二醛含量变化

不大,含量较 5 h 处理偏高,其中以 pH 5.0 时最小。

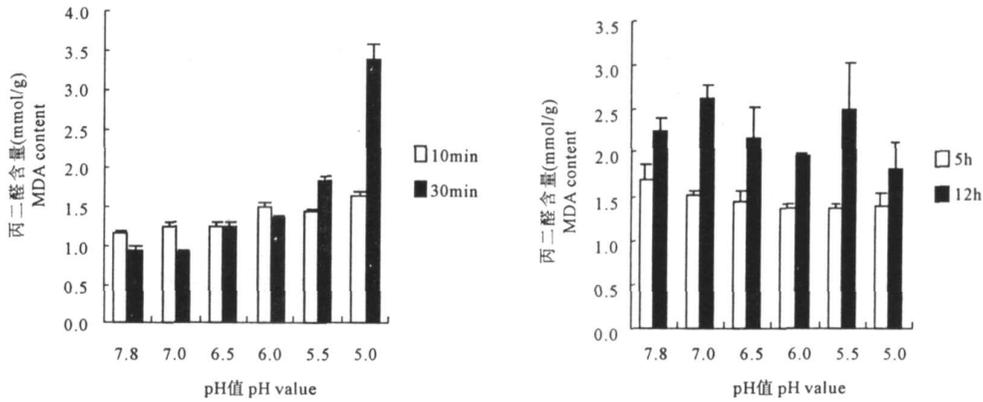


图 3 不同 pH 1/2 Hoagland 培养液处理下蚕豆叶片丙二醛含量的变化

Fig. 3 Changes of MDA content of *Vicia faba* leaves under different pH 1/2 Hoagland solution treatments

3 讨论

相对含水量是反映渗透胁迫下叶片水分状况的一个相对敏感的指标,渗透胁迫下其下降的快慢与植物抗旱、抗盐、抗酸性密切相关。本实验结果表明,无论是对离体蚕豆叶片处理,还是对整株蚕豆处理,偏酸性条件叶片相对含水量较高,特别是在短时间(10 min、5 h)处理下。Wilkinson 等^[9,10]用不同 pH 值 AS 缓冲液处理鸭跖草(*Commelina Communis*)叶片时,发现仅在 pH 8.0 时叶水势降低,ABA 浓度升高,而其它处理下两者的变化不大或没有影响;pH 5.0 和 pH 6.0 处理下的蒸腾速率没有差异,而 pH 7.0 时蒸腾速率仅为 pH 6.0 且不加外源 ABA 时的 40%~50%。据此,他们认为升高的 pH 通过使更多进入叶中的 ABA 穿透气孔保卫细胞来关闭气孔。本实验结果与 Wilkinson 等人的结果不同,这是因为单独的 pH 处理可能不足以起到关闭气孔的作用,相反可能还是对植物的一种有害性反应^[10]。另外,也可能处理方式和材料的不同,确切机理还有待进一步研究。

脯氨酸是植物体内的一种渗透调节物质,其含量的变化是植物对逆境条件的一种适应性变化或者自卫反应,植物体内脯氨酸含量在一定程度上反映了植物的抗逆性^[15,16]。本研究结果表明,离体蚕豆叶片在不同 pH 值缓冲液处理下,脯氨酸含量变化不大,且与处理时间的长短关系不大。整株蚕豆处理 5 h 后,叶片脯氨酸含量变化明显,酸性处理(pH 5.5 和 pH 5.0)下含量较高,说明酸性处理对蚕豆形成了较强的胁迫。但是,整株蚕豆处理 12 h 后,各处理叶片脯氨酸含量变化不大,表明 12 h 处理可能

已经造成了较大危害,这种危害已经影响了蚕豆部分防御系统作出反应的能力。

MDA 被认为是逆境胁迫下膜脂过氧化的最终产物,对植物细胞有毒害作用,它的含量可以反应植物遭受逆境伤害的程度^[17~19]。本实验中,离体蚕豆叶片在不同 pH 值缓冲液处理下,丙二醛含量 10 min、30 min 处理下都随着处理酸性程度的增加略有上升。特别是 pH 5.0 处理 30 min 后,丙二醛含量有了很大的上升。整株蚕豆处理 5 h 后,叶片丙二醛含量随着处理酸性程度的增加略有下降。整株蚕豆处理 12 h 后,各处理叶片丙二醛含量比 5 h 有所上升,但基本上随着处理酸性程度的增加含量有所下降。有趣的是,离体叶片酸性处理下丙二醛含量较高,而整株蚕豆处理在碱性条件下叶片丙二醛含量较高,这可能与不同部位的刺激(信号)引起机体代谢应急的方式不同有关^[19]。

综上所述,以信号物质(胁迫)处理离体器官可能在某种程度上揭示或者证实其信号作用,但是这种信号作用是有别于整株植物遭受胁迫下的信号调控的。因为,两种处理下的信号通路或者网络是不同的。具体而言,研究干旱胁迫下木质部汁液 pH 变化作为一种根源信号(干旱信号)的研究,还得从整体植物胁迫出发,从信号的产生(原因、部位)、运输(方式、途径)和作用(位点、机制)各个环节进行,这才可能反映其真实机制。

参考文献:

- [1] Luan S. Signaling drought in guard cells[J]. *Plant Cell Environ*, 2002, 25: 229-237.
- [2] 康绍忠. 新的农业科技革命与 21 世纪我国节水农业的发展[J]. *干旱地区农业研究*, 1998, (1): 11-17.

- [3] Jones H G. Interaction and integration of adaptive responses to water stress: the implications of an unpredictable of plants to water and high temperature stress[M]. New York: Wiley, 1980, 353—365.
- [4] Cowan I R, Raven J A, Hartung W, et al. A possible role for abscisic acid in coupling stomatal conductance and photosynthetic carbon metabolism in leaves[J]. Aust J Plant Physiol, 1982, 9: 489—498.
- [5] Davies W J, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil[J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1991, 42: 55—76.
- [6] Zhang J, Davies W J. Abscisic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil[J]. Plant Cell Environ, 1989, 12: 73—81.
- [7] Wilkinson S, Davies W J. ABA-based chemical signaling: the co-ordination of responses to stress in plants[J]. Plant Cell Environ, 2002, 25: 195—210.
- [8] Davies W J, Wilkinson S, Loveys B. Research review: stomatal control by chemical signaling and the exploitation of this mechanism to increase water use efficiency in agriculture[J]. New Phytol, 2002, 153: 449—460.
- [9] Wilkinson S, Corlett J E, Ogerl, et al. Effect of xylem pH on transpiration from wild-type and flacca tomato leaves: a vital role for abscisic acid in preventing excessive water loss even from well-watered plants[J]. Plant Physiol, 1998, 117: 703—709.
- [10] Wilkinson S, Davies W J. Xylem sap pH increase: A drought signal received at the apoplastic face of the guard cell that involves the suppression of saturable abscisic acid uptake by the epidermal symplast[J]. Plant Physiol, 1997, 113: 559—573.
- [11] 梁建生, 张建华. 根系逆境信号的产生和运输及其生理作用[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(5): 329—338.
- [12] 梁宗锁, 邵明安, 张建华. 土壤干湿条件下木质部汁液成分变化及其在根冠信号传递中的作用[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(1): 62—66.
- [13] Melhorn V, Matsumi K, Koiwai H, et al. Transient expression of AtNCED3 and AAO3 genes in guard cells causes stomatal closure in *Vicia faba*[J]. Journal of Pant Research, 2008, 121(1): 125—131.
- [14] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000.
- [15] 梁宗锁, 高俊凤, 荆家海. 渭北旱地不同玉米品种苗期抗旱适应性研究[J]. 西北植物学报, 1996, 16(6): 62—66.
- [16] 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[J]. 西北植物学报, 2002, 22(5): 1122—1135.
- [17] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species, metabolism, oxidative stress, and signal transduction[J]. Annu Rev Plant Biol, 2004, 55: 373—399.
- [18] Dhanda S, Sethi G S, Behl R K. Indices of drought tolerance in wheat genotypes at early stages of plant growth[J]. J Agron Crop Sci, 2004, 190(1): 6—12.
- [19] Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, Seki M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses[J]. Curr Opin Plant Biol, 2003, 6(5): 410—417.

Change of relative water content, Proline content and Malondialdehyde content of *Vicia faba* leaves under different pH buffer treatments

WU Yong-jun¹, HE Guo-qiang¹, SHI Yan-ru¹, LIANG Zong-suo^{1,2*}

(1. College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: To further elucidate the mechanism of xylem pH as a root signal under drought stress, a study was conducted on relative water content, Proline content and Malondialdehyde content of *Vicia faba* leaves under different pH buffer treatments. The results showed that for leaves in vitro, relative water content was the highest under pH 6.5; Pro content was higher under acidic treatment; and Malondialdehyde content was the highest under pH 5.0 treatment. For the whole plant treatment, relative water content was the highest under 5 h pH 6.5 treatment, or 12 h under pH 5.0 treatment; Pro content was the highest under 5 h pH 5.5 treatment, but little change under 12 h treatment; Malondialdehyde content decreased a little under 5 h treatment, or did not change under 12 h treatment.

Keywords: pH; relative water content; Proline; MDA; *Vicia faba*