

聚乙二醇胁迫对甘蔗生长前期叶片水势及脯氨酸代谢的影响

黄诚梅^{1,2}, 杨丽涛², 江文^{2,3}, 毕黎明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, 广西 南宁 530007;
2. 广西大学农学院, 广西 南宁 530005; 3. 广西农业科学院生物技术研究所, 广西 南宁 530007)

摘 要: 以 3 个甘蔗品种‘桂糖 119’(‘GT119’)、‘新台糖 16 号’(‘ROC16’)、‘新台糖 22 号’(‘ROC22’)为材料, 利用 PEG6000 淋灌于甘蔗幼苗根部模拟土壤水分胁迫, 研究其对植株叶片水势、脯氨酸含量、P5CS、 δ -OAT、ProDH 酶活性等的影响。结果表明, 3 个品种经胁迫处理, 其叶片水势都较对照有所下降; 对于游离脯氨酸含量的变化, ‘ROC16’在处理第 1 天含量就明显上升, ‘GT119’在处理 2 d 后也开始上升, 而 ‘ROC22’在处理 12 d 内其含量仍增加不明显; 吡咯啉-5-羧酸合成酶活性经胁迫处理都较未处理表现活跃, ‘GT119’与 ‘ROC16’在胁迫处理后酶活性表现上升趋势, 而 ‘ROC22’变化不明显; 鸟氨酸转氨酶活性变化不明显; 脯氨酸脱氢酶活性, ‘GT119’与 ‘ROC16’在处理 1 d 后稍有上升但在 7 天后都有下降, 而 ‘ROC22’在第 7 天酶活性就开始提高。

关键词: 甘蔗; PEG 胁迫; 水势; 脯氨酸代谢
中图分类号: S566.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2008)01-0205-04

干旱是农业生产上面临的重要问题。干旱胁迫常常影响植物的生长发育, 造成作物减产。干旱对农作物造成的损失在所有的非生物胁迫中占首位。在广西甘蔗生产中, 干旱造成减产是影响甘蔗产量的主要障碍之一。广西有 90% 以上的甘蔗种植在无灌溉条件的丘陵旱地上, 由于自然降水不均衡、土壤保水能力差、水利设施不完善等原因, 每年都出现不同程度的旱害, 特别是春、秋旱, 这是制约甘蔗获得高产高糖的最主要因素^[1]。甘蔗从种苗萌芽、发根、幼苗生长、分蘖、伸长、糖分积累到成熟, 整个生育过程都要消耗大量水分, 在幼苗形成期水分亏缺, 将会使出苗率明显降低, 造成缺苗, 最终造成甘蔗的严重减产。

本试验以抗旱性不同的 3 个品种甘蔗为材料, 通过采用聚乙二醇(Polyethylene glycol, PEG) 6000 处理模拟土壤水分胁迫, 对不同品种甘蔗生长前期渗透胁迫下的生理特性特别是作为主要渗透物质之一——脯氨酸积累及其代谢酶活性进行初步探讨, 以期对甘蔗品种生长前期耐旱性鉴定提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料种植与处理

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)。采用高度、口径为 35 cm、桶底直径为 28 cm 的黑色塑料桶, 用沙质土壤栽于广西甘蔗研究所智能温室大棚中, 于 2006 年 9 月 2 日下种, 每桶 4~6 芽, 齐苗后定苗, 每桶 2~3 株, 其它管理同一般的桶栽试验(主要为营养液的施用)。甘蔗长至 3~4 叶苗期时, 以 1 L 25%(w/v) PEG6000 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 0.5、1、2、3、5、7、12 天取甘蔗植株+1 与+2 叶距叶环 20~60 cm 区段的叶片去除中脉后用于各项生理指标测定(其中+2 叶用于测定水势), 每个处理取生长比较一致的植株 3 株, 重复 3 次。

1.2 测定方法

水势采用 WP4-T 水势仪进行测定。脯氨酸含量用茚三酮显色法^[2]。吡咯啉-5-羧酸合成酶(Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase, P5CS)酶活性参照 Hayzer D. J. 等^[3]与韩晓玲^[4]的方法测定。鸟氨酸转氨酶(Ornithine- δ -aminotransferase, δ -OAT)酶活性参照余光辉^[5]的方法测定。脯氨酸脱氢酶(Proline dehydrogenase, ProDH)酶活性参照赵福庚等^[6]的方法测定。

收稿日期: 2007-03-21
基金项目: 广西区科技厅科技创新能力与条件建设项目(桂科能 0630006-5F); 广西农业科学院科技发展基金(2004001)
作者简介: 黄诚梅(1977-), 女, 广西上思人, 博士研究生, 主要研究方向为甘蔗栽培及其生理基础与分子生物学。
通讯作者: 李杨瑞, E-mail: liyr@gxaas.net。

2 结果与分析

2.1 PEG 胁迫对不同品种甘蔗叶片水势的影响

图 1 表明,3 个品种经胁迫处理,其叶片水势都

较对照有所下降。‘ROC16’除了胁迫后第 1 天和第 5 天外,其它都比对照有所下降。而‘GT119’与‘ROC22’变化趋势相似,除了处理后第 1 天高于对照之外,其它均低于对照。

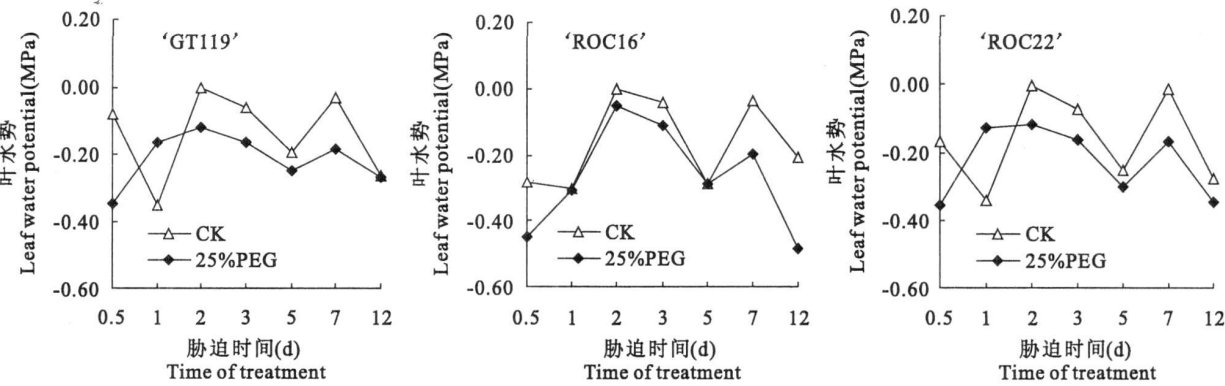


图 1 PEG 胁迫对不同品种甘蔗叶片水势的影响

Fig.1 Effects of PEG stress on water potential in leaves of different sugarcane varieties

2.2 PEG 胁迫对不同品种甘蔗叶片游离脯氨酸含量的影响

如图 2 所示,经 PEG 胁迫处理,抗旱性一般的甘蔗品种‘ROC16’在处理第 1 天游离脯氨酸含量就明显上升,抗旱性中等的‘GT119’在处理 2 天后也开始上升,而抗旱性强的‘ROC22’在处理 12 天

内,只有第 7 天稍有增高,其它时间与未经处理的差异不大。这与甘蔗伸长期的研究结果^[7]相似。抗旱性一般与中等的甘蔗品种在经胁迫处理后,脯氨酸含量高于对照,且呈上升趋势,而抗旱性强的品种脯氨酸含量与对照差别不大,这表明抗旱性差的品种易受到胁迫伤害,所积累的脯氨酸较多。

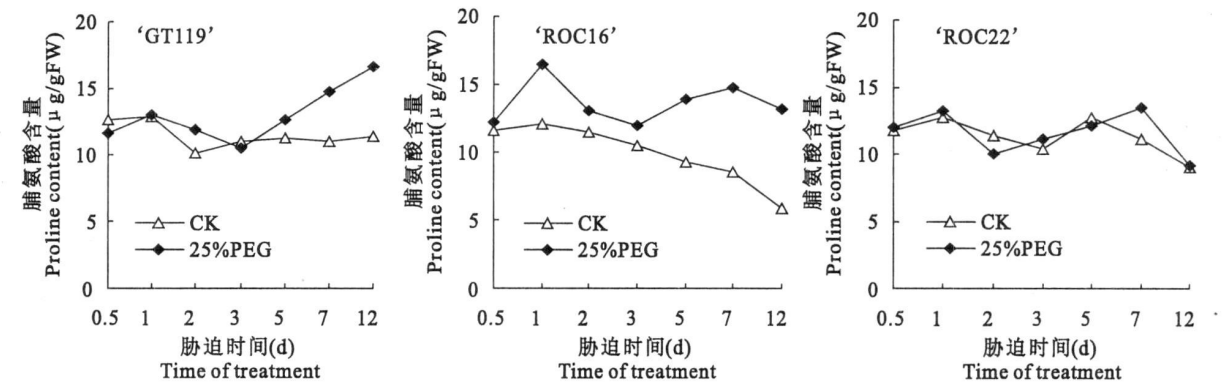


图 2 PEG 胁迫对不同品种甘蔗叶片中游离脯氨酸含量的影响

Fig.2 Effects of PEG stress on proline content in leaves of different sugarcane varieties

2.3 PEG 胁迫对不同品种甘蔗叶片 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^[8,9]。如图 3 所示,3 个甘蔗品种的 P5CS 酶活性经 PEG 胁迫处理都较未处理的表现活跃。

‘GT119’在胁迫处理后除了第 2 天和第 5 天与未处理没有明显差别,其它时间均高于未处理,‘ROC16’也除了第 7 天之外其它均明显高于未经处理,而‘ROC22’只有处理后第 2、7、12 天高于未经处理的,其它的与未经处理的差异不大。

2.4 PEG 胁迫对不同品种甘蔗叶片 δ -OAT 酶活性的影响

δ -OAT 是脯氨酸生物合成中另一条途径——鸟氨酸途径中的关键酶^[10]。从图 4 可见,3 个品种甘蔗在胁迫处理后,其叶中 δ -OAT 酶活性在处理

12 天内与未经处理之间没有明显差异,这表明渗透势地位,这与在甘蔗伸长期的研究结果相似^[7]。胁迫下,精氨酸→鸟氨酸→脯氨酸途径不占优

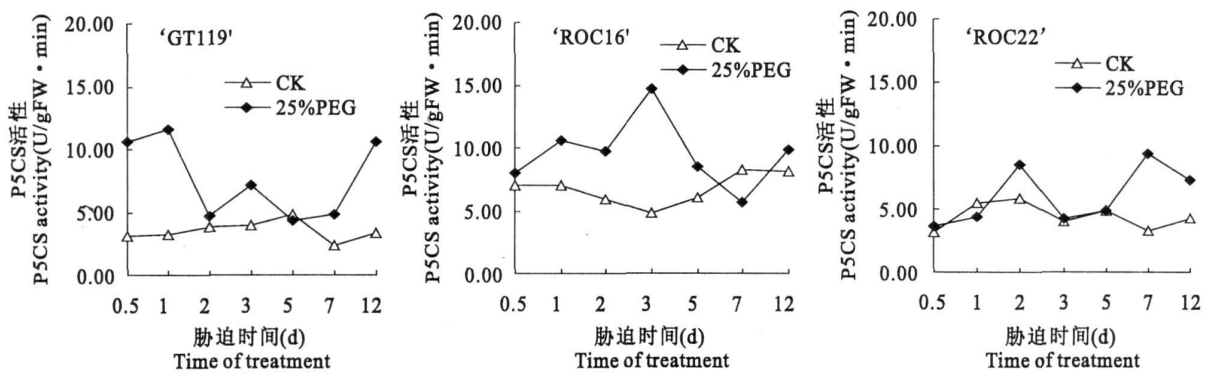


图 3 PEG 胁迫对不同品种甘蔗叶片中 P5CS 酶活性的影响
Fig.3 Effects of PEG stress on P5CS activity in leaves of different sugarcane varieties

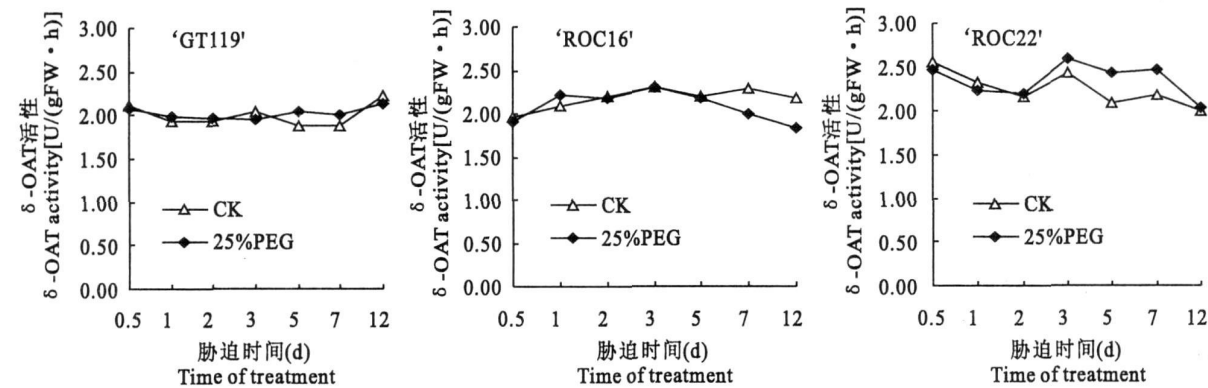


图 4 PEG 胁迫对不同品种甘蔗叶片中 δ-OAT 酶活性的影响
Fig.4 Effects of PEG stress on δ-OAT activity in leaves of different sugarcane varieties

2.5 PEG 胁迫对不同品种甘蔗叶片 ProDH 酶活性的影响

PEG 胁迫处理后,抗旱性中等或一般的甘蔗品种‘GT119’与‘ROC16’在处理 1 天后稍有上升,但在 7 天后都有下降,而抗旱性强的‘ROC22’在第 7

天其酶活性就开始提高。这与其脯氨酸积累变化规律呈负相关关系,即在干旱胁迫下,不同抗旱性的甘蔗品种幼苗叶片中脯氨酸的降解反应在脯氨酸积累中也起到重要作用。

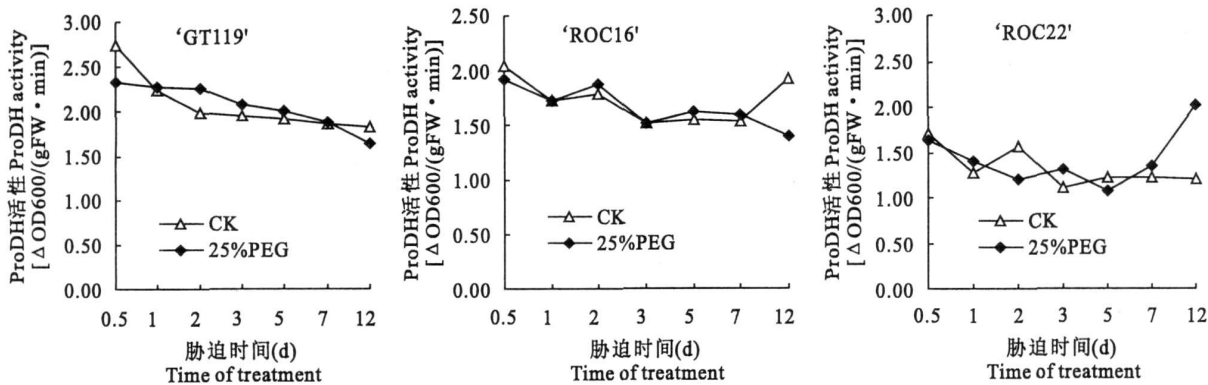


图 5 PEG 胁迫对不同品种甘蔗叶片中 ProDH 酶活性的影响
Fig.5 Effects of PEG stress on ProDH activity in leaves of different sugarcane varieties

3 讨 论

胁迫条件下,甘蔗生长前期植株的脯氨酸代谢与伸长期^[7]的反应相似,但品种之间差异不明显。3 个抗旱性不同的甘蔗品种经胁迫处理,其叶片水势都较对照有所下降,游离脯氨酸含量则有增长趋势,其相关的酶活性也有明显变化,而抗旱性差的甘蔗品种对胁迫反应比抗旱性强的品种敏感,其较容易积累脯氨酸,因此,脯氨酸含量可作为受旱程度的生理指标。

水势是植物水分亏缺或表示水分状况的一个直接指标,它与土壤—植物—大气循环系统(简称 SPAC)中的水分运动规律密切相关。植物组织的水势愈低,则吸水能力愈强,反之水势愈高,则吸水能力愈弱,将水分输送到其它较缺水细胞的能力就愈强,这可用以确定植物的受旱程度和抗旱能力^[11]。本研究表明,3 个品种经胁迫处理,其叶片水势都较对照有所下降。

大量研究表明^[12~15],在干旱或其它逆境条件中植物体内脯氨酸含量会大量积累。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^[16]。另外,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^[8~10]。也有相反研究结果,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^[5]。本文结果表明,3 个品种甘蔗幼苗经胁迫处理后,‘GT119’与‘ROC16’在处理后的游离脯氨酸含量与 P5CS 酶活性就开始上升,而抗旱性强的‘ROC22’在处理后的 12 天内与未经处理的相比,其变化幅度不大。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 酶活性在处理 12 天内与未经处理之间没有明显差异,这表明了渗透胁迫下,甘蔗幼苗叶片脯氨酸生物合成以谷氨酸→脯氨酸途径为主。

ProDH 是植物体内控制脯氨酸降解的关键酶,在渗透胁迫时其表达活性受到抑制,而外源脯氨酸能显著诱导 ProDH 基因的表达。本文结果表明,水分胁迫处理后,‘GT119’与‘ROC16’在处理 1 天后

稍有上升,但在 7 天后都有下降,而抗旱性强的‘ROC22’在第 7 天其酶活性就开始提高。这表明了在干旱胁迫下,不同抗旱性的甘蔗品种幼苗叶片中脯氨酸的降解反应在脯氨酸积累中也起到重要作用。

参 考 文 献:

- [1] 李杨瑞. 对加入 WTO 后广西蔗糖业发展的几点意见[J]. 广西农业科学, 2003, (1): 1—4.
- [2] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1992. 119—218.
- [3] Hayzer D J, Leisinger T. The gene-enzyme relationships of proline biosynthesis in *Escherichia Coli* [J]. J. Gen. Microbiol. 1980, 118: 287—293.
- [4] 韩晓玲. 小冠花抗 L-羟基脯氨酸(Hyp)变异系离体筛选及其耐盐性研究[D]. 西安: 西北大学, 2006.
- [5] 余光辉. 水分胁迫下假俭草脯氨酸累积的 ABA、Ca²⁺ 调节[D]. 广州: 华南师范大学, 2003.
- [6] 赵福康, 孙 诚, 刘友良, 等. ABA 和 NaCl 对碱蓬多胺和脯氨酸代谢的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2002, 28(2): 117—120.
- [7] 黄诚梅, 黎黎明, 杨丽涛, 等. 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[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(1): 77—80.
- [8] Hu CAA, Delauney AJ, Verma DPS. A bifunctional enzyme (Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase) catalyzes the first two steps in proline biosynthesis in plants [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89: 9354—9358.
- [9] Zhang C-S, Lu Q, Verma DPS. 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]. J Biol Chem, 1995, 270(35): 20491—20496.
- [10] Delauney A J, Hu CAA, Kavi Kishor PB, et al. Cloning of ornithine δ -aminotransferase cDNA from *Vigna aconitifolia* by trans-complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis [J]. J Biol Chem, 1993, 268(25): 18673—18678.
- [11] 付爱红, 陈亚宁, 李卫红, 等. 干旱、盐胁迫下的植物水势研究与进展[J]. 中国沙漠, 2005, 25(5): 744—749.
- [12] 曲 东, 王保莉, 汪沛洪, 等. 渗透胁迫下磷对玉米叶片有机渗透物质的影响[J]. 干旱地区农业研究, 1996, 14(2): 72—77.
- [13] 刘建新, 赵国林. 干旱胁迫下骆驼蓬抗氧化酶活性与渗透调节物质的变化[J]. 干旱地区农业研究, 2005, 23(5): 127—131.
- [14] Hong Z, Lakkineni K, Zhang Z, et al. Removal of feedback inhibition of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress [J]. Plant Physiol, 2000, 122: 1129—1136.
- [15] Yamada M, Morishita H, Urano K, et al. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress [J]. J Exp Bot, 2005, 56(417): 1975—1981.
- [16] 汤章城. 逆境条件下植物脯氨酸的积累及其可能的意义[J]. 植物生理学通讯, 1984, (1): 15—21.

(英文摘要下转第 220 页)

Senescence and activate oxygen metabolism of leaf in *Panicum miliaceum* L.

DAI Hui-ping, FENG Bai-li, GAO Jin-feng, GAO Xiao-li, WANG Peng-ke, CHAI Yan

(College of Agriculture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: This research aims to study *Panicum miliaceum* L. leaves activity and the aging characteristics of oxygen metabolism by using Yu-Mi 3 and the pot method. The results showed that SOD, CAT, POD activities of different leaves rose and then declined with plant ageing, the content of active oxygen protective enzyme of flag leaf was high and declined slowly, and the content of MDA was low and rose gradually. These changes were significant in the middle and late stage of grain filling. The results showed, in the rain-fed agriculture, slowing leaves ageing is vital important to promote grain filling and increase jield and quallty of *Panicum miliaceum* L.

Key words: *Panicum miliaceum* L.; leaf senescence; activiate oxygen metabolism

(上接第 208 页)

Effects of water stress on water potential and proline metabolism in leaves of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) at early growth stage

HUANG Cheng-mei^{1,2}, YANG Li-tao², JIANG Wen^{2,3}, BI Li-ming², LI Yang-rui^{1,2}

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

3. Biotechnology Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

Abstract: Three sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) varieties, 'Guitang119', 'ROC16' and 'ROC22', were used as experimental materials. The plants were treated with polyethylene glycol (PEG) 6000 at the early growth stage. Effects of water stress on water potential, proline content, activities of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS), ornithine- δ -aminotransferase (δ -OAT) and proline dehydrogenase (ProDH) of leaves were studied. The results showed that, under the stress treatment, leaf water potential of three varieties decreased. And free proline content of 'ROC16' increased 1 d after the starting of treatment, 'GT119' also increased 2 d after the starting of treatment, while there was no difference between treatment and control for the variety 'ROC22' during 12 d. The same results for the activity of P5CS were obtained after the stress treatment, the activity of 'GT119' and 'ROC16' increased after treatment, but 'ROC22' was contrary. For the activities of δ -OAT, there was no remarkable difference between the treatment and control. The proline dehydrogenase (ProDH) activity of 'GT119' and 'ROC16' increased at first then decreased after 7 d, 'ROC22' increased 7 d after the starting of treatment.

Key words: *Saccharum officinarum* L.; polyethylene glycol (PEG) stress; water potential; proline metabolism