

# 外源 5-ALA 对干旱胁迫下玉米幼苗生长的缓解效应及抗氧化酶基因表达的影响

王 鹏,杨奥军,冯志进,王 婷,金梓浩,王 芳,彭云玲

(甘肃农业大学农学院,甘肃 兰州 730070)

**摘 要:**以抗旱玉米自交系郑 58 和干旱敏感自交系 TS141 为材料,研究了 5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)对 15% PEG-6000 模拟干旱胁迫下玉米幼苗生长的缓解效应及抗氧化酶基因表达的影响。结果表明:与对照相比,郑 58 及 TS141 在干旱胁迫下幼苗的苗长、鲜重、干重明显降低,郑 58 分别下降 18.49%、29.06%和 20.00%,TS141 分别下降 25.66%、23.97%和 13.64%;叶片丙二醛(MDA)及过氧化氢( $H_2O_2$ )含量明显增高,MDA 含量分别提高了 164.58%、263.53%, $H_2O_2$ 分别提高了 134.95%、203.83%;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性增加,郑 58 分别提高了 65.61%、29.48%、68.49%、141.51%,TS141 分别提高了 63.01%、48.00%、85.68%、204.29%;叶绿素含量降低,分别降低 33.46%、42.26%;光合参数  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$  下降,郑 58 的  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$  分别下降 48.78%、45.31%、52.39%,TS141 的  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$  分别下降 57.66%、57.46%、65.14%;抗氧化酶基因 *SOD3*、*POD3*、*CAT1* 相对表达量提高,郑 58 分别提高 54.58%、34.12%、69.70%,TS141 分别提高 54.95%、21.36%、59.34%。喷施  $25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的 5-ALA 能明显缓解干旱胁迫对玉米幼苗造成的损伤,与 PEG 处理相比,玉米自交系郑 58 和 TS141 的幼苗苗长、鲜重、干重明显增加,苗长分别增加了 13.31%和 11.21%,幼苗鲜重分别增加了 22.29%和 18.23%,幼苗干重分别增加了 16.67%和 10.53%;叶片中 MDA 含量分别降低了 17.85%、25.39%, $H_2O_2$  含量分别降低了 23.26%、19.15%;SOD、POD、CAT 和 APX 活性进一步增加,郑 58 分别增加 16.49%、18.15%、36.98%和 28.13% ( $P<0.05$ ),TS141 分别增加 16.65%、16.54%、28.49%和 26.76% ( $P<0.05$ );叶绿素含量和光合参数  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$  增加,叶绿素含量分别增加 18.29%、19.87%;光合参数  $P_n$  分别增加 35.87%、42.12%, $G_s$  分别增加 36.63%、36.81%, $T_r$  分别增加 37.67%、67.88%;玉米幼苗叶片中抗氧化酶基因 *SOD3*、*POD3*、*CAT1* 相对表达量较干旱胁迫处理都有进一步提高,郑 58 分别提高 20.99%、32.18%和 23.51%,TS141 分别提高 25.97%、23.16%和 40.94%。

**关键词:**玉米;干旱胁迫;5-氨基乙酰丙酸;幼苗生长;抗氧化酶基因表达

**中图分类号:**S513 **文献标志码:**A

## Effects of exogenous 5-ALA on growth of maize seedlings and expression of antioxidant enzyme genes under drought stress

WANG Peng, YANG Aojun, FENG Zhijin, WANG Ting, JIN Zihao, WANG Fang, PENG Yunling

(College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

**Abstract:** In this study, drought-resistant maize inbred line Zheng 58 and drought-sensitive maize inbred line TS141 were used as materials to study the alleviating effect of 5-aminolevulinic acid (5-ALA) on the effect of maize seedling growth and antioxidant enzyme gene expression under 15% PEG-6000 simulated drought stress. The results showed that compared with the control, the seedling length, fresh weight and dry weight of maize inbred line Zheng 58 and drought sensitive TS141 decreased obviously under drought stress. Zheng 58 decreased by 18.49%, 29.06% and 20.00% respectively, and TS141 decreased by 25.66%, 23.97% and 13.64% respectively. The contents of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) in leaves increased significantly. The content of

收稿日期:2021-09-24

修回日期:2021-12-02

**基金项目:**国家自然科学基金地区基金(32060487);甘肃农业大学青年导师基金(GAU-QDFC-2019-01);甘肃农业大学国家级大学生创新创业训练计划项目(202010733002)

**作者简介:**王鹏(1995-),男,甘肃临洮人,硕士,研究方向为玉米抗逆育种。E-mail:18893472691@163.com

杨奥军(1999-),男,湖南娄底人,在读本科生,研究方向为玉米抗逆育种。E-mail:1628724036@163.com

**通信作者:**王芳(1980-),女,甘肃民勤人,副教授,主要从事作物遗传育种方面的研究。E-mail:wangfang@gsau.edu.cn

MDA increased by 164.58% and 263.53% respectively, and the content of  $H_2O_2$  increased by 134.95% and 203.83% respectively. The activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and ascorbic acid peroxidase (APX) increased, and Zheng 58 increased by 65.61%, 29.48%, 68.49% and 141.51% respectively, and TS141 increased by 63.01%, 48.00% and 63.01% respectively. Chlorophyll content decreased by 33.46% and 42.26% respectively.  $P_n$ ,  $G_s$  and  $T_r$  of Zheng 58 decreased by 48.78%, 45.31% and 52.39% respectively, while those of TS141 decreased by 57.66%, 57.46% and 65.14% respectively. The relative expression of antioxidant enzymes *SOD3*, *POD3* and *CAT1* increased, and Zheng 58 increased by 54.58%, 34.12% and 69.70% respectively, and TS141 increased by 54.95%, 21.36% and 59.34% respectively. Spraying  $25\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  5-ALA obviously alleviated the damage of maize seedlings caused by drought stress. Compared with PEG treatment, the seedling length, fresh weight and dry weight of maize inbred lines Zheng 58 and TS141 increased significantly, with the seedling length increased by 13.31% and 11.21%, the fresh weight increased by 22.29% and 18.23%, and the dry weight increased by 16.67% respectively. In leaves, MDA decreased by 17.85%, 25.39% and  $H_2O_2$  decreased by 23.26%, 19.15% respectively. The activities of SOD, POD, CAT and APX increased further, Zheng 58 increased by 16.49%, 18.15%, 36.98% and 28.13% respectively, and TS141 increased by 16.65%, 16.54%, 28.49% and 26.76% respectively. Chlorophyll content and photosynthetic parameters  $P_n$ ,  $G_s$  and  $T_r$  increased, and chlorophyll content increased by 18.29% and 19.87% respectively. Photosynthetic parameters  $P_n$  increased by 35.87% and 42.12%,  $G_s$  by 36.63% and 36.81%, and  $T_r$  by 37.67% and 67.88%, respectively. Compared with drought stress treatment, the relative expression levels of antioxidant enzyme genes *SOD3*, *POD3* and *CAT1* in maize leaves were further increased, Zheng 58 increased by 20.99%, 32.18% and 23.51% and TS141 increased by 25.97%, 23.16% and 40.94% respectively.

**Keywords:** maize; drought stress; 5-aminolevulinic acid; growth of maize seedling; antioxidant enzyme gene expression

玉米 (*Zea mays* L.) 是我国重要的粮饲兼用作物, 其中北方春播玉米作为我国玉米生产的重要组成部分, 对我国玉米总产量有着突出贡献。干旱是玉米丰产的重要制约因素, 而北方春季降雨量少, 水汽蒸发速率高, 导致干旱对北方春播玉米造成了极其恶劣的影响<sup>[1]</sup>。尤其是玉米苗期, 对水分的敏感程度较大, 一旦遭受干旱胁迫, 幼苗的生长就会受到严重影响, 并导致幼苗在生理生化和代谢方面发生一系列变化。研究表明, 外源植物生长调节剂 (Plant growth regulator, PGR) 具有缓解生物、非生物胁迫对植物造成伤害的作用, 可通过调控植物体内多个生理生化进程直接或间接地提高植物的抗性, 因此, 探索潜在的生长调节物质及其调控机理对提高植物抗逆性具有非常重要的意义<sup>[2]</sup>。

5-ALA 是四氢吡咯的前缀化合物, 是生物体合成叶绿素、血红素、维生素  $B_{12}$  等必不可少的物质, 是一种潜在的生理活性物质<sup>[3]</sup>, 现已证实其对干旱、盐、高温、低温、重金属和紫外辐射等多种非生物胁迫具有一定的缓解效应<sup>[4]</sup>。Watanabe 等<sup>[5]</sup> 研究发现 5-ALA 能够促进高盐分条件下棉花植株的生长; Balestrasse 等<sup>[6]</sup> 和 Wang 等<sup>[7]</sup> 研究发现外源 5-ALA 能够提高低温胁迫下大豆幼苗弱光和低温胁迫下

甜瓜幼苗中的叶绿素含量; 张春平等<sup>[8]</sup> 研究发现使用  $100\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 5-ALA 处理遭受干旱胁迫的草珊瑚, 不仅叶片中叶绿素含量显著提高, 叶绿素荧光参数也有所提高。5-ALA 对干旱胁迫下玉米幼苗生长的缓解效应及其相关抗氧化酶基因表达的研究鲜有报道, 因此, 本试验在 15% PEG-6000 处理模拟的干旱胁迫下, 研究喷施外源 5-ALA 对干旱胁迫下玉米幼苗生长、活性氧代谢、叶绿素含量、光合能力及抗氧化酶基因表达的影响, 明确 5-ALA 对干旱胁迫下玉米幼苗生长的调节作用, 为 5-ALA 调控玉米幼苗的抗旱机理的研究提供一定的理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

抗旱玉米自交系郑 58 和干旱敏感自交系 TS141。

### 1.2 试验方法

挑选饱满、大小一致的玉米种子, 用 1% 的 NaClO 溶液消毒 10 min, 使用蒸馏水冲洗多次, 直到 NaClO 溶液味道消失为止, 浸种 24 h。在每个装满蛭石的塑料花盆 (长×宽×高:  $15\text{ cm} \times 13\text{ cm} \times 11\text{ cm}$ ) 中分别播种 10 粒种子, 放入人工智能气候培养箱内进行培养, 其培养条件为光照 14 h, 黑暗 10 h, 温度

为 25℃/20℃,光照强度为 500  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,相对湿度为 60%。每隔 2 d 使用 1/5 浓度的 Hoagland 营养液浇灌 1 次。待玉米幼苗生长至三叶一心期进行试验处理。CK, 正常浇水+叶片喷施蒸馏水; ALA, 正常浇水+叶片喷施 5-ALA; PEG, 干旱胁迫+叶片喷施蒸馏水; AP, 干旱胁迫+叶片喷施 5-ALA。

根据前期的试验结果,本试验中选用 15% PEG-6000 模拟干旱胁迫,5-ALA 喷施浓度选用 25  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。CK 和 PEG 处理组玉米叶片喷施蒸馏水,ALA 和 AP 处理组玉米叶片喷施 5-ALA,连续处理 3 d,同时 PEG 和 AP 处理组每隔 2 d 使用 100 mL 15% PEG-6000 的 Hoagland 营养液浇灌进行干旱胁迫处理,CK 和 ALA 处理组每隔 2 d 使用等量的 1/5 浓度的 Hoagland 营养液浇灌处理。试验每个处理重复 3 次。胁迫处理 1 周后取样,液氮处理后 -70℃ 保存,用于生理指标和基因表达量的测定。

### 1.3 试验指标及测定方法

1.3.1 玉米幼苗生长指标的测定 苗长的测定:第 8 天每个处理选取 10 株幼苗用直尺测量幼苗茎基部至顶端生长点的长度。幼苗鲜、干重的测定:每个处理选取 10 株幼苗,用蒸馏水冲洗干净,并用滤纸吸干表面残余水分,称量鲜重,随后将其置于烘箱内,105℃ 杀青 30 min,80℃ 烘干至恒重后称量其干重。

1.3.2 玉米幼苗生理指标的测定  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量采用分光光度法测定<sup>[9]</sup>,MDA 含量采用硫代巴比妥酸比色法测定<sup>[9]</sup>,SOD 活性采用光化学还原法测定<sup>[10]</sup>,POD 活性采用愈创木酚比色法测定<sup>[10]</sup>,CAT 活性采用紫外吸收法测定<sup>[10]</sup>,APX 活性采用比色法测定<sup>[10]</sup>。

1.3.3 玉米幼苗叶绿素含量的测定 使用便携式叶绿素测定仪测定。

1.3.4 玉米幼苗气体交换参数测定 测定之前将玉米植株在自然光照条件下进行光适应至少 10 min,使用 LI-6400 便携式光合仪测定叶片净光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )、蒸腾速率( $T_r$ )和胞间  $\text{CO}_2$  浓度( $C_i$ )。

1.3.5 玉米幼苗叶片上表皮气孔观察 参照 Yu

等<sup>[11]</sup>叶片表面压印法,选取不同处理下玉米幼苗第三片功能叶中间部位(1 cm×1 cm),制作叶片上表皮切片,每个处理 3 个重复,然后置于 LEICA DM 500 光显微镜,在 10×10 倍镜下观察气孔形态,并随机选取 6 个视野拍照,然后利用 Image-Pro Plus 6.0 软件统计单位面积气孔数量,并测量气孔宽度和长度。

### 1.3.6 抗氧化酶基因表达分析

(1) 荧光定量特异性引物设计。以 *Actin* 基因为内参基因,采用实时定量 PCR 技术,检测 3 种抗氧化酶基因 *SOD3*、*POD3*、*CAT1* 的 mRNA 水平。引物由上海生工有限公司合成,各目的基因引物序列见表 1。

(2) 总 RNA 的提取及反转录。总 RNA 的提取:按照 Steady Pure 植物 RNA 提取试剂盒(艾科瑞,AG)说明书提取,使用 BioBnMATER5 超微量紫外分光光度计测定浓度和纯度,并通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 质量。

按照 Evo M-MLV 反转录试剂预混液(艾科瑞,AG)说明书进行反转录,在无菌无酶的离心管中加入 4  $\mu\text{L}$  的 5×Evo M-MLVRT Master Mix,RNA 的量根据提取的浓度稀释后加入,添加 RNase free water 至 20  $\mu\text{L}$  的体系,混匀、离心。按照第一阶段 37℃ 15 min,第二阶段 85℃ 5 s,4℃ 保存的反应条件进行反转录,得到单链 cDNA 于 -20℃ 保存备用。

(3) 荧光定量 PCR (Real-Time PCR)。Real-Time PCR 采用 2×SYBR Mixture (Biomiga) 荧光定量试剂盒。采用 Step One Plus 实时 PCR 系统 (Applied bio-systems, CA, 美国) 进行荧光定量 PCR 扩增,反应体系见表 2。反应条件:95℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 5 s, 60℃ 退火延伸 30 s, 循环 40 次, 每个样品 3 次重复。

### 1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 19.0 对所得数据进行统计和多重比较分析。基因的表达量采用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  相对定量的方法,对不同处理玉米叶片抗氧化酶基因表达量进行数据分析。各指标试验数据均采用 3 次重复。

表 1 抗氧化酶基因和内参基因的引物序列

Table 1 Primer sequences of antioxidant enzyme gene and internal reference gene

基因名称 Gene name	上游引物序列 Forward primer sequence	下游引物序列 Reverse primer sequence
<i>SOD3</i>	5'-TCACCCAAGAGGGAGATG-3'	5'-TTGCTCGCAGGATTGTAG-3'
<i>POD3</i>	5'-CCACGTACACCTACCTCC-3'	5'-GCTTTAAGCCCAATTCCT-3'
<i>CAT1</i>	5'-CCGAATCCAAAGACCAAT-3'	5'-ATGCCAACATCGTCAAAGAG-3'
<i>Actin</i>	5'-TGAAACCTTCGAATGCCAG-3'	5'-GATTGGAACCGTGTGGCTCA-3'

## 2 结果与分析

### 2.1 外源 5-ALA 对干旱胁迫下玉米幼苗苗长、鲜重及干重的影响

由表 3 可知, 喷施 5-ALA 后, 自交系郑 58 的苗长、幼苗鲜重、幼苗干重与对照(CK) 差异不显著, 而 TS141 与对照相比, 苗长没有显著差异, 幼苗干鲜重却有显著差异。在 PEG 处理下, 与对照(CK) 相比, 郑 58 和 TS141 玉米幼苗的苗长、鲜重、干重都显著降低, 郑 58 分别下降 18.49%、29.06% 和 20.00%, TS141 分别下降 25.66%、23.97% 和 13.64%; 与 PEG 处理相比, AP 处理下的郑 58 和 TS141 幼苗的苗长、鲜重和干重都有增加, 苗长分别增加了 13.31% 和 11.21%, 幼苗鲜重分别增加了 22.29% 和 18.23%, 幼苗干重分别增加了 16.67% 和 10.53%。表明喷施 5-ALA 能够有效缓解干旱胁迫对玉米幼苗苗长、鲜重和干重的抑制作用。

### 2.2 外源 5-ALA 对干旱胁迫下玉米幼苗丙二醛和 $H_2O_2$ 含量的影响

由图 1 可知, 与对照(CK) 相比, ALA 处理下郑 58 幼苗叶片的 MDA 及  $H_2O_2$  含量变化不显著, TS141 幼苗叶片中 MDA 及  $H_2O_2$  含量呈下降趋势; PEG

处理下, 与对照相比, 郑 58 和 TS141 幼苗叶片中 MDA 及  $H_2O_2$  含量都显著提高, MDA 含量分别提高了 164.58%、263.53%,  $H_2O_2$  分别提高了 134.95%、203.83%。干旱胁迫下喷施 5-ALA 后(AP 处理), 与 PEG 处理相比, 郑 58 和 TS141 幼苗叶片中 MDA 及  $H_2O_2$  含量显著降低, MDA 分别降低了 17.85%、25.39%,  $H_2O_2$  分别降低了 23.26%、19.15%。说明 5-ALA 能显著抑制干旱胁迫下玉米幼苗叶片中 MDA 及  $H_2O_2$  含量的提高, 减缓活性氧的积累。

### 2.3 外源 5-ALA 对干旱胁迫下玉米幼苗抗氧化酶活性的影响

由图 2 以看出, 与对照(CK) 相比, ALA 处理下郑 58 和 TS141 玉米幼苗叶片中的 SOD、POD、CAT 和 APX 活性变化不显著。PEG 处理下幼苗叶片中的 4 种酶活性都显著升高, 与对照相比, 郑 58 分别提高了 65.61%、29.48%、68.49%、141.51%, TS141 分别提高了 63.01%、48.00%、85.68%、204.29%。与 PEG 处理相比, AP 处理下的幼苗叶片中的 4 种酶活

表 3 不同处理下玉米幼苗苗长、鲜重及干重  
Table 3 Seedling length, fresh weight and dry weight of maize seedlings under different treatments

材料 Material	处理 Treatment	苗长 Seedling length/cm	鲜重	干重
			$/(g \cdot \text{株}^{-1})$ Fresh weight $/(g \cdot \text{plant}^{-1})$	$/(g \cdot \text{株}^{-1})$ Dry weight $/(g \cdot \text{plant}^{-1})$
郑 58 Zheng 58	CK	26.17±1.20ab	2.34±0.07a	0.15±0.011ab
	ALA	27.43±0.81a	2.55±0.09a	0.17±0.004a
	PEG	21.33±0.73c	1.66±0.11c	0.12±0.011c
TS141	CK	31.83±0.73a	2.62±0.14b	0.22±0.008b
	ALA	33.83±0.44a	2.98±0.20a	0.26±0.015a
	PEG	25.33±0.93c	1.92±0.14d	0.19±0.005c
	AP	28.17±0.88b	2.27±0.08c	0.21±0.008bc

注: 不同字母表示处理间在  $P < 0.05$  水平下差异显著, 下同。

Note: Different letters indicate significant difference at  $P < 0.05$  level, the same below.

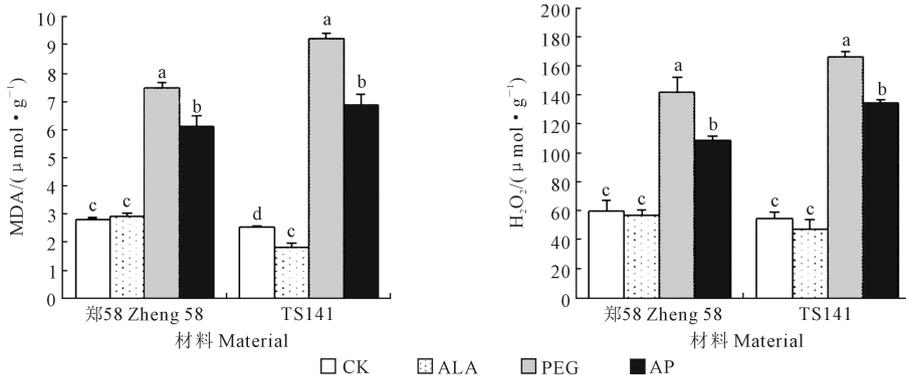


图 1 外源 5-ALA 对干旱胁迫下两个玉米自交系丙二醛(MDA) 和过氧化氢( $H_2O_2$ ) 含量的影响

Fig.1 Effect of exogenous 5-ALA on MDA and  $H_2O_2$  content of two maize inbred lines under drought stress

性显著增加,郑58分别增加16.49%、18.15%、36.98%和28.13%,TS141分别增加16.65%、16.54%、28.49%和26.76%。这说明喷施5-ALA能够提高玉米幼苗叶片中抗氧化酶的活性,缓解玉米的干旱胁迫程度。

#### 2.4 外源5-ALA对干旱胁迫下玉米幼苗叶绿素含量的影响

由图3可知,与对照(CK)相比,在ALA处理

下,郑58和TS141玉米幼苗叶片中叶绿素含量均显著增加;PEG处理下,郑58玉米叶片中叶绿素含量比对照降低了33.46%,TS141比对照降低了42.26%;与PEG处理相比,AP处理下郑58玉米叶片叶绿素含量增加18.29%,TS141增加19.87%。说明喷施5-ALA能够有效缓解干旱胁迫下玉米叶片中叶绿素含量的下降,并且对TS141的缓解效应更显著。

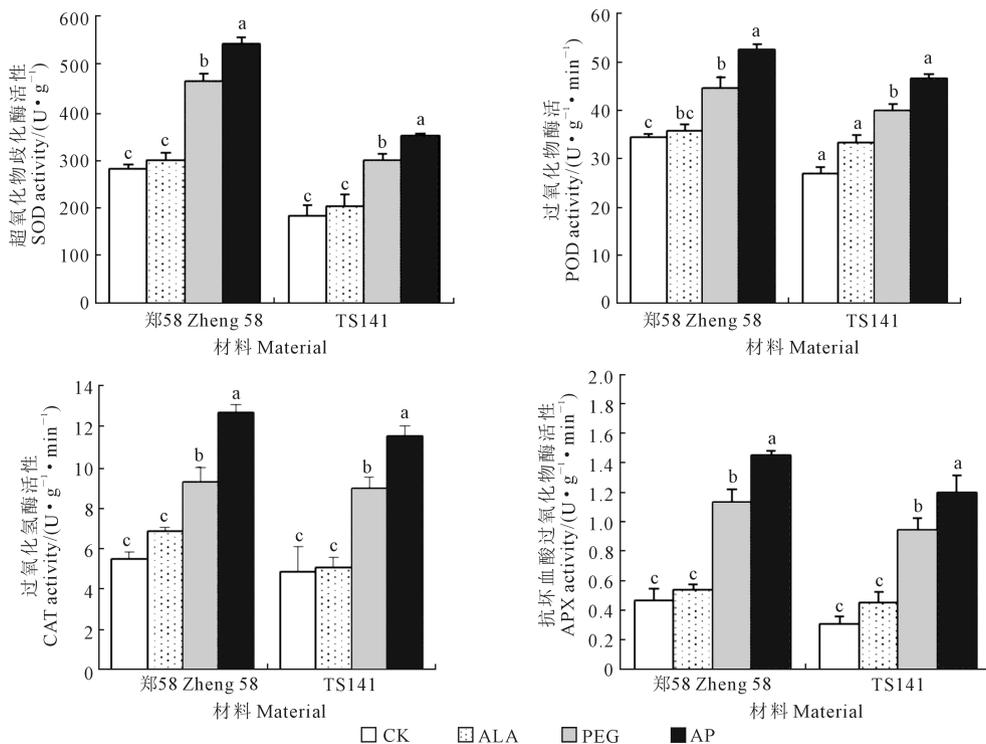


图2 外源5-ALA对干旱胁迫下两个玉米自交系抗氧化酶活性的影响

Fig.2 Effect of exogenous 5-ALA on antioxidant enzyme activity of two maize inbred lines under drought stress

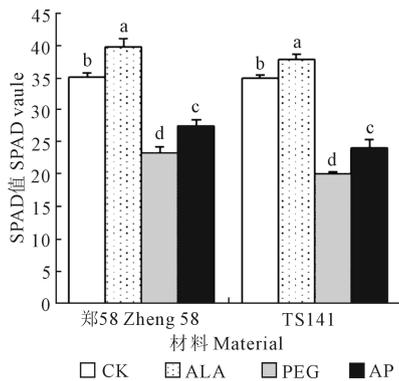


图3 外源5-ALA对干旱胁迫下两个玉米自交系叶绿素含量的影响

Fig.3 Effect of exogenous 5-ALA on chlorophyll content of two maize inbred lines under drought stress

#### 2.5 外源5-ALA对干旱胁迫下玉米幼苗光合特性的影响

由图4可以看出,PEG处理下,玉米幼苗叶片光合参数 $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$ 明显降低,与CK相比,郑58的

$P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$ 分别下降48.78%、45.31%、52.39%,TS141的 $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$ 分别下降57.66%、57.46%、65.14%;PEG处理下郑58的光合参数 $C_i$ 与对照相比下降56.08%,TS141下降不显著;与PEG处理相比,喷施5-ALA的玉米幼苗叶片光合参数的下降得到了明显缓解,AP处理下郑58的 $P_n$ 、 $G_s$ 、 $C_i$ 、 $T_r$ 分别上升了35.87%、36.63%、51.21%、37.67%,TS141的 $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$ 分别上升了42.12%、36.81%、67.88%,而TS141中的 $C_i$ 与PEG处理相比下降23.79%。表明5-ALA能够提高干旱胁迫下玉米幼苗光合效率。

#### 2.6 外源5-ALA对干旱胁迫下玉米幼苗叶片上表皮气孔的影响

从图5和图6可以看出,正常情况下,耐旱自交系郑58叶片上表皮单位面积气孔数量大于旱敏感自交系TS141,气孔长度和宽度郑58小于TS141。ALA处理下两个自交系叶片上表皮单位面积气孔数

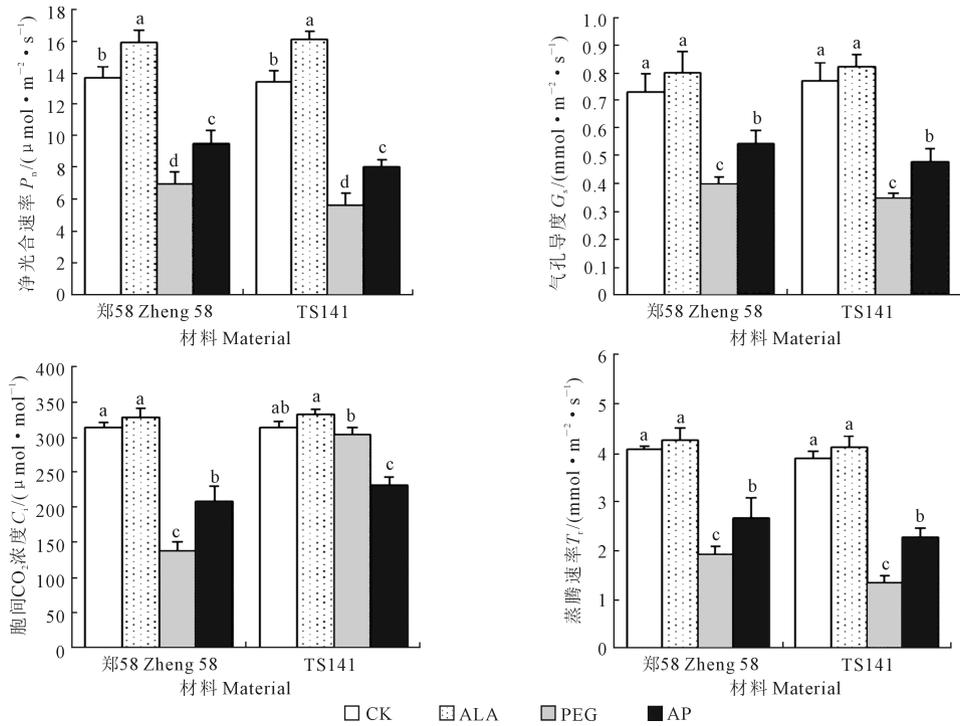


图 4 外源 5-ALA 对干旱胁迫下两个玉米自交系光合特性的影响

Fig.4 Effects of exogenous 5-ALA on photosynthetic characteristics of two maize inbred lines under drought stress

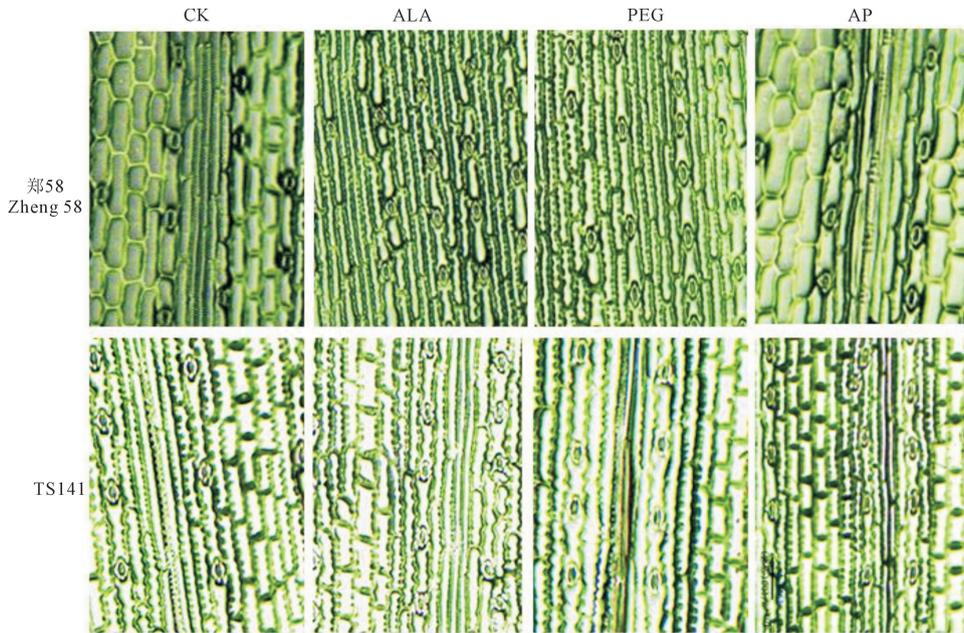


图 5 不同处理下两个玉米自交系幼苗叶片上表皮气孔显微结构

Fig.5 Stomatal microstructure of upper epidermis of two maize inbred lines seedlings under different treatments

量、长度和宽度变化都不明显。PEG 处理下两个玉米自交系叶片上表皮单位面积气孔数量显著增加,气孔长度和宽度均显著减小,耐旱自交系郑 58 叶片上表皮单位面积气孔数量与对照相比增加了 39.64%,气孔长度和宽度分别减小了 22.48% 和 26.39%,而旱敏感自交系 TS141 叶片上表皮单位面积气孔数量增加了 28.72%,气孔长度和宽度分别减小了 15.88% 和 23.08%,郑 58 叶片上表皮单位面积

气孔数量的增幅、气孔长度和宽度的减幅都远大于 TS141。喷施外源 5-ALA 后对干旱胁迫下气孔特性有明显的缓解效应,郑 58 叶片上表皮单位面积气孔数量与 PEG 处理相比减少 12.90%,气孔长度和宽度分别增加 16.04% 和 21.49%,而 TS141 叶片上表皮单位面积气孔数量与 PEG 处理相比减小 16.53%,气孔长度和气孔宽度分别增大了 11.19% 和 11.97%。

## 2.7 外源5-ALA对干旱胁迫下玉米幼苗抗氧化酶基因相对表达含量的影响

*SOD3*、*POD3*、*CAT1* 分别是抗氧化酶 SOD、POD、CAT 的关键调控基因。由图 7 可知, ALA 处理下玉米自交系郑 58 和 TS141 的 *SOD3*、*POD3*、*CAT1* 相对表达量与对照相比没有显著变化。在 PEG 处理下, 2 个玉米自交系幼苗叶片中抗氧化酶基因 *SOD3*、*POD3*、*CAT1* 相对表达量较 CK 都有显著提高, 郑 58 分别提高 54.58%、34.12%、69.70%, TS141 分别提高 54.95%、21.36%、59.34%; AP 处理进一步提高了抗氧化酶基因 *SOD3*、*POD3* 和 *CAT1* 的相对表达量, 郑 58 分别提高 20.99%、32.18% 和

23.51%, TS141 分别提高 25.97%、23.16% 和 40.94%。这说明喷施 5-ALA 能够提高抗氧化酶基因 *SOD3*、*POD3*、*CAT1* 的相对表达量。

## 3 讨论

植物幼苗阶段是受干旱胁迫影响最为严重的时期, 与其他作物相比较, 玉米前期生长相对缓慢, 如果水分供应不及时, 玉米的整个生长发育将会受到严重影响<sup>[12]</sup>。因此, 缓解玉米幼苗期的干旱胁迫是提高玉米产量和质量的重要途径。本研究发现, 抗旱玉米自交系郑 58 和干旱敏感自交系 TS141 在干旱胁迫下幼苗的生长明显受到抑制。喷施 5-ALA

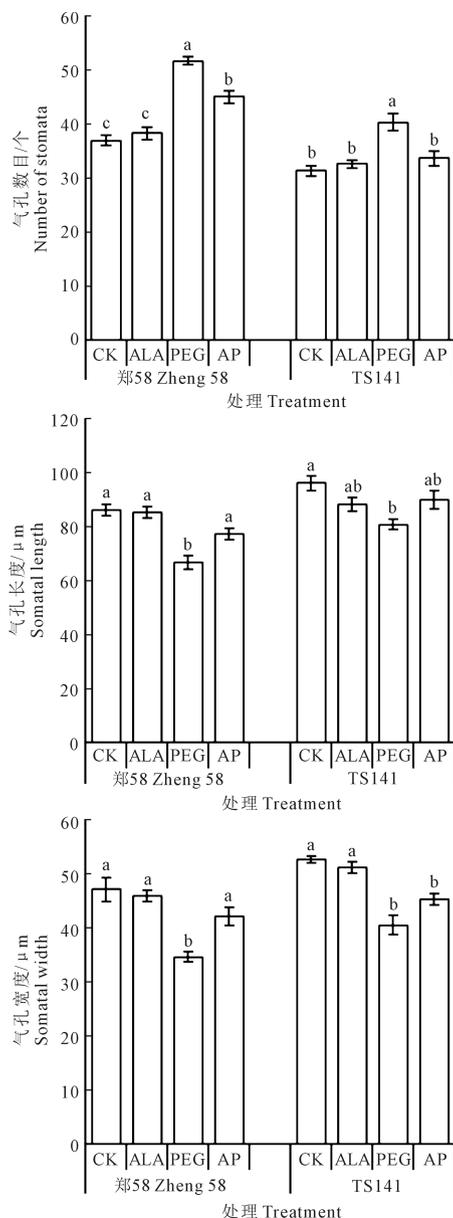


图 6 不同处理对两个玉米自交系幼苗叶片上表皮气孔参数的影响

Fig.6 Effects of different treatments on stomate of seedling leaves of two maize inbred lines

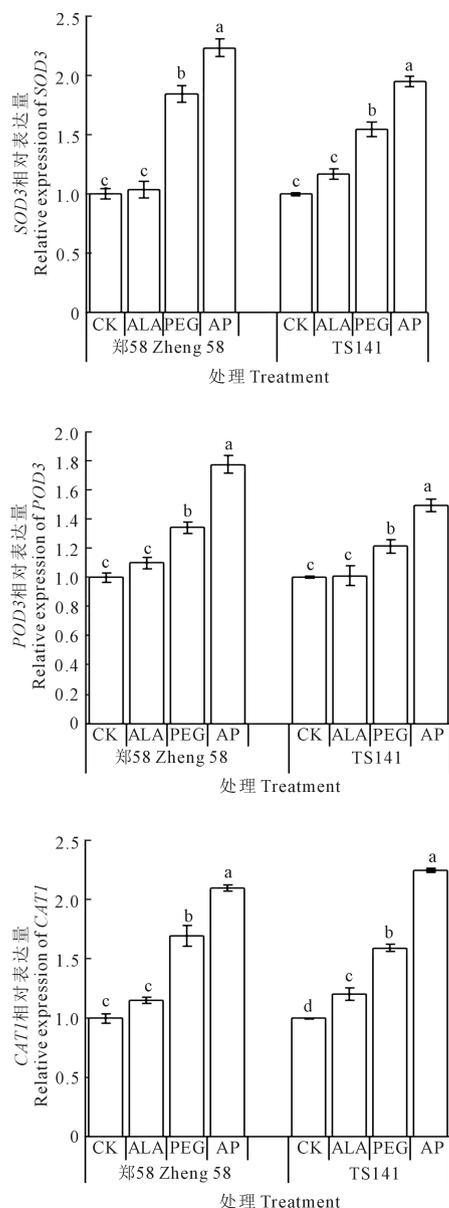


图 7 不同处理下玉米幼苗抗氧化酶基因表达量

Fig.7 Expression of antioxidant enzyme genes in maize seedlings under different treatments

处理后,玉米幼苗的苗长、鲜重和干重都得到提高,说明 5-ALA 能够促进干旱胁迫下玉米幼苗的生长,而且对抗旱自交系郑 58 的缓解效应好于干旱敏感自交系 TS141。这与孙阳等<sup>[13]</sup>对低温胁迫下玉米幼苗生长的缓解效应研究结果一致。

膜质过氧化产物 MDA 能很好地反映植物膜系统的受损程度,干旱胁迫下 MDA 和  $H_2O_2$  含量显著提高,说明玉米幼苗受到干旱胁迫后膜系统损伤,导致膜质过氧化产物 MDA 含量增加。喷施 5-ALA 后,MDA 和  $H_2O_2$  含量明显降低,表明施加 5-ALA 可以降低玉米幼苗中 MDA 和  $H_2O_2$  的含量,减缓活性氧的积累,弱化对玉米幼苗的毒害作用。这与 Li 等<sup>[14]</sup>在黄瓜上的研究和 Liu 等<sup>[15]</sup>在油菜上的研究结果相似。

正常情况下植物体内的活性氧水平处于一种动态平衡,而干旱胁迫会破坏这种平衡,造成植物体内的 ROS 过多,引发脂质过氧化、蛋白质氧化等一系列毒害植物体的过程<sup>[16]</sup>。植物将通过提高抗氧化酶的活性来消除过多的活性氧,降低其对植物的毒害作用。SOD、POD、CAT 和 APX 是植物体内重要的抗氧化酶,干旱胁迫下玉米幼苗叶片中 SOD、POD、CAT 和 APX 活性显著高于对照,说明植物在受到干旱胁迫后通过提高 4 种抗氧化酶的活性,清除体内多余的 ROS,缓解干旱损伤,提高抗旱能力。喷施 5-ALA 后,玉米幼苗叶片中 4 种酶活性得到进一步提高,说明 5-ALA 能增强抗氧化酶的活性,从而提高玉米幼苗抗氧化、抗衰老的能力,缓解干旱胁迫对玉米幼苗的毒害作用。安玉艳等<sup>[17]</sup>研究发现外源 5-ALA 通过降低春茶的氧化损伤,提高抗氧化酶活性来提高春茶的产量和品质。

叶绿素是植物光合作用过程中必不可少的一部分,当植物体内的光合色素过少或者光合作用强度不够时,可以适当喷施 5-ALA 来提高叶绿素的含量。本研究表明,干旱胁迫下玉米植株叶绿素含量显著降低,植物光合作用减弱,有机物的积累减少。在 5-ALA 处理下,玉米植株叶绿素含量得到显著提高,光合作用增强,有机物的积累增加。王嘉楠等<sup>[18]</sup>研究发现喷施外源 5-ALA 能够明显增加叶绿素含量,缓解干旱胁迫下小麦幼苗叶片的光合能力,从而提高小麦幼苗的耐旱性。李瑞杰等<sup>[19]</sup>研究发现 5-ALA 能提高东北春玉米叶绿素含量。植物光合作用的强度主要通过光合参数来反映。在干旱胁迫下,郑 58 和 TS141 幼苗叶片光合参数  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$  显著降低,光合作用效率下降,喷施 5-ALA 后,玉米幼苗叶片光合参数  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$  的下降得到缓解。导致光合作用效率下降的原因有气孔因素和

非气孔因素,耐旱自交系郑 58 的  $G_s$  降低,  $C_i$  也降低,说明气孔因素是限制郑 58 光合速率下降的主要原因;干旱敏感自交系 TS141 的  $G_s$  降低,而  $C_i$  升高,说明后期植物光合速率下降的主要原因是由非气孔因素导致,喷施 5-ALA 可以缓解干旱胁迫对玉米幼苗叶片光合作用效率的抑制。王发展等<sup>[20]</sup>研究发现 5-ALA 能提高烤烟幼苗叶绿素含量和光合参数  $P_n$ 、 $G_s$ 、 $T_r$ ,从而缓解干旱胁迫对烤烟的伤害,提高烤烟的抗旱能力。

植物叶片气孔作为植物体与大气环境气体交换的重要结构,为了适应干旱胁迫气孔形态特征通常会发生一系列变化<sup>[21]</sup>。有研究发现,在植物应对逆境胁迫的过程中,叶片气孔密度增加和气孔减小对环境变化的响应更为迅速<sup>[22-23]</sup>。本研究发现,在干旱胁迫处理下,干旱敏感自交系 TS141 叶片上表皮单位面积气孔数量远小于耐旱自交系郑 58,而气孔长度和宽度大于耐旱自交系郑 58。说明耐旱性较强的玉米自交系其叶片气孔个体小且分布紧密,玉米为了适应干旱胁迫,气孔减小防止水分蒸发,叶片生长受到抑制,从而使叶片面积减小,导致单位面积气孔数量上升,这与王凯丽等<sup>[24]</sup>在棉花中的研究结果一致。另外干旱胁迫下耐旱自交系郑 58 气孔参数变化幅度大于干旱敏感自交系 TS141,可能是郑 58 耐旱性比 TS141 强的原因,这说明耐旱性越强的材料气孔在面对干旱胁迫时做出应激反应越强,外源喷施 5-ALA 对干旱胁迫下 2 个玉米自交系都有不同程度的缓解作用。

抗氧化酶 SOD、POD、CAT 的含量及其表达活性受相应基因的调控。干旱胁迫下,抗氧化酶基因 *SOD3*、*POD3*、*CAT1* 的相对表达含量显著提高,从而提高抗氧化酶 SOD、POD、CAT 的表达活性,加快对过量 ROS 的清除。喷施 5-ALA 后,抗氧化酶基因 *SOD3*、*POD3*、*CAT1* 的相对表达含量增加,玉米幼苗的抗旱性增强。

## 4 结 论

综上所述,干旱胁迫下玉米幼苗生长明显受到抑制,幼苗叶片中 MDA、 $H_2O_2$  含量以及抗氧化酶活性显著提高,叶片中叶绿素含量以及光合参数明显下降,抗氧化酶基因相对表达量明显提高。喷施 25  $mg \cdot L^{-1}$  的 5-ALA,玉米幼苗的苗长等形态指标、叶绿素含量以及光合参数得到明显提高,叶片中 MDA、 $H_2O_2$  含量明显下降,SOD 等 4 种抗氧化酶活性以及抗氧化酶基因相对表达量得到进一步提高,从而提高玉米幼苗的抗旱性。

## 参考文献:

- [1] 刘帆,申双和,李秀秀,等.不同生育期水分胁迫对玉米光合特性的影响[J].气象科学,2013,33(4):378-383.  
LIU F, SHEN S H, LI Y X, et al. Effect of water stress on maize photosynthetic characteristics in different growth stages[J]. Journal of the Meteorological Sciences, 2013, 33(4): 378-383.
- [2] 王芳,刘燕,王铁兵,等.外源褪黑素对玉米幼苗盐胁迫的缓解效应研究[J].中国草地学报,2020,42(5):14-21.  
WANG F, LIU Y, WANG T B, et al. Mitigation effect and mechanism of exogenous melatonin on maize seedling under salt stress[J]. Chinese Journal of Grassland, 2020, 42(5): 14-21.
- [3] 刘海灵,江焕峰,王玉刚,等.光动力化合物5-氨基乙酰丙酸的简便全合成[J].有机化学,2005,25(11):1431-1433.  
LIU H L, JIANG H F, WANG Y G, et al. Simple total synthesis of photodynamic compound 5-aminolevulinic acid[J]. Chinese Journal of Organic Chemistry, 2005, 25(11): 1431-1433.
- [4] 牛奎举.外源5-氨基乙酰丙酸对干旱胁迫下草地早熟禾光合作用的调控机制[D].兰州:甘肃农业大学,2018.  
NIU K J. The role of 5-aminolevulinic acid on regulation mechanism of photosynthesis in Kentucky bluegrass seedlings under drought stress [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2018.
- [5] WATANABE K, TANAKA T, HOTTA Y, et al. Improving salt tolerance of cotton seedlings with 5-aminolevulinic acid[J]. Plant Growth Regulation, 2000, 32(1): 97-101.
- [6] BALESTRASSE K B, TOMARO M L, BATLLE A, et al. The role of 5-aminolevulinic acid in the response to cold stress in soybean plants [J]. Phytochemistry, 2010, 71(17/18): 2038-2045.
- [7] WANG L J, JIANG W B, HUANG B J. Promotion of 5-aminolevulinic acid on photosynthesis of melon (*Cucumis melo*) seedlings under low light and chilling stress conditions[J]. Physiologia Plantarum, 2004, 121(2): 258-264.
- [8] 张春平,何平,袁凤刚,等.外源5-氨基乙酰丙酸对干旱胁迫下珊瑚瑚叶绿素荧光特性及能量分配的影响[J].中草药,2012,43(1):164-172.  
ZHANG C P, HE P, YUAN F G, et al. Effects of exogenous 5-aminolevulinic acid on chlorophyll fluorescence characteristics and energy dissipation of *Sarcandra glabra* under drought stress[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2012, 43(1): 164-172.
- [9] 陈建勋,王晓峰.植物生理学实验指导[M].广州:华南理工大学出版社,2002:119-124.  
CHEN J X, WANG X F. Experimental guidance of plant physiology [M]. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2002: 119-124.
- [10] 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,2000:164-165.  
LI H S. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 164-165.
- [11] YU H, CHEN X, HONG Y Y, et al. Activated expression of an Arabidopsis HD-START protein confers drought tolerance with improved root system and reduced stomatal density[J]. Plant Cell, 2008, 20(4): 1134-1151.
- [12] 许婷婷.玉米根系发育与抗旱栽培的研究[J].农业开发与装备,2020,(4):190-191.  
XU T T. Root development and drought resistant cultivation of maize [J]. Agricultural Development & Equipments, 2020, (4): 190-191.
- [13] 孙阳,王焱,孟瑶,等.外源5-氨基乙酰丙酸对低温胁迫下玉米幼苗生长及光合特性的影响[J].作物杂志,2016,(5):87-93.  
SUN Y, WANG Y, MENG Y, et al. Effects of exogenous ALA on growth and photosynthetic characteristics of maize seedlings under low temperature stress[J]. Crops, 2016, (5): 87-93.
- [14] LI D M, ZHANG J, SUN W J, et al. 5-Aminolevulinic acid pretreatment mitigates drought stress of cucumber leaves through altering antioxidant enzyme activity[J]. Scientia Horticulturae, 2011, 130(4): 820-828.
- [15] LIU D, KONG D D, FU X K, et al. Influence of exogenous 5-aminolevulinic acid on chlorophyll synthesis and related gene expression in oilseed rape de-etiolated cotyledons under water-deficit stress [J]. Photosynthetica-International Journal for Photosynthesis Research, 2016, 54(3): 468-474.
- [16] MØLLER I M, SWEETLOVE L J. ROS signalling-specificity is required[J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(7): 370-374.
- [17] 安玉艳,冯新新,丁恒毅,等.5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)对春茶生长与品质成分的影响[J].江苏农业科学,2016,44(11):224-228.  
AN Y Y, FENG X X, DING H Y, et al. Effects of 5-aminolevulinic acid(5-ALA) on growth and quality of spring Tea [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(11): 224-228.
- [18] 王嘉楠,李小艳,魏石美,等.5-ALA对干旱胁迫下小麦幼苗光合作用及D1蛋白的调节作用[J].作物杂志,2018,(5):121-126.  
WANG J N, LI X Y, WEI S M, et al. Regulation of exogenous 5-aminolevulinic acid on photosynthesis and D1 protein of wheat seedlings under drought stress[J]. Crops, 2018, (5): 121-126.
- [19] 李瑞杰,闫鹏,王庆燕,等.5-氨基乙酰丙酸和乙烯利对东北春玉米功能叶光合生理特性和产量的影响[J].作物杂志,2021,(1):135-142.  
LI R J, YAN P, WANG Q Y, et al. Effects of 5-Aminolevulinic acid and ethephon on photosynthetic physiology of leaves and yield of spring maize in northeast China[J]. Crops, 2021, (1): 135-142.
- [20] 王发展,金伊楠,李子玮,等.干旱胁迫下外源ALA对烤烟幼苗光合特性和抗氧化能力的影响[J].中国烟草科学,2020,41(1):22-29.  
WANG F Z, JIN Y N, LI Z W, et al. Effects of exogenous ALA (5-aminolevulinic acid) on photosynthesis and antioxidant system of flue-cured tobacco seedlings under drought stress [J]. Chinese Tobacco Science, 2020, 41(1): 22-29.
- [21] GAO Y, WU M Q, ZHANG M J, et al. Roles of a maize phytochrome-interacting factors protein ZmPIF3 in regulation of drought stress responses by controlling stomatal closure in transgenic rice without yield penalty[J]. Plant Molecular Biology, 2018, 97(4/5): 311-323.
- [22] FRANKS P J, BEERLING D J. Maximum leaf conductance driven by CO<sub>2</sub> effects on stomatal size and density over geologic time[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(25): 10343-10347.
- [23] DOW G J, BERGMANN D C. Patterning and processes: how stomatal development defines physiological potential[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2014, 21: 67-74.
- [24] 王凯丽,高彦钊,李珊,等.短期干旱胁迫下棉花气孔表现及光合特征研究[J].中国生态农业学报,2019,27(6):901-907.  
WANG K L, GAO Y Z, LI S, et al. Response of leaf stomata and photosynthetic parameters to short-term drought stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2019, 27(6): 901-907.