

水分胁迫下葡萄叶片中几种物质含量的变化

王云中¹, 韩忻彦², 张建成³, 李占成⁴, 刘 和³, 霍晓兰^{3,5}, 高秀萍⁵

(1. Curtin University of Technology, WA 6845, Australia; 2 山西省科学技术厅, 山西 太原 030001;

3. 山西农业大学 园艺学院, 山西 太谷 030801; 4 山西省农业科学院高寒区作物研究所, 山西 大同 037004;

5. 山西省农业科学院旱地农业研究中心, 山西 太原 030031)

摘要: 以两个抗旱性不同的葡萄幼树为试材, 测定了水分胁迫期间叶片中甜菜碱、可溶性糖及其组分、游离氨基酸和有机酸含量的变化。结果表明, 水分胁迫下葡萄叶片中可溶性糖和游离氨基酸含量增加, 并且随着胁迫程度的增加持续上升。抗旱性较强的龙眼葡萄比抗旱性较弱的晚红葡萄增加的幅度更大。水分胁迫对葡萄叶片中可溶性糖的影响主要是增加了肌醇、果糖和葡山甘(葡萄糖+山梨醇+甘露醇)的含量。在水分胁迫过程中, 抗旱性不同的两个葡萄品种叶片中甜菜碱和有机酸含量始终处于很低的水平, 没有观察到显著的变化。

关键词: 葡萄; 水分胁迫; 抗逆; 物质

中图分类号: S663.103.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2003)04-0072-04

Changes in the Contents of Some Osmoprotectants in Grape Leaves under Water Stress

WANG Yun-zhong¹, HAN Xin-yan², ZHANG Jian-cheng³, LI Zhan-cheng⁴,
LIU He³, HUO Xiao-lan^{3,5}, GAO Xiu-ping⁵

(1. Information Systems School, Curtin University of Technology, WA 6845, Australia;

2. Science and Technology Department in Shanxi Province, Taiyuan 030001, China;

3. Horticultural College of Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China;

4. Cold Region Crops Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Datong 037004, China;

5. Arid Farming Research Center, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China)

Abstract: Changes in the contents of betaine, soluble sugars, free amino acids and organic acids in the leaves of the young grapevine plants (*Vitis vinifera* L.) during water stress were investigated. The results showed that the contents of both soluble sugars and free amino acids increased in the grape leaves under water stress, moreover, that they continuously increased as water stress was developing. Compared with drought-sensitive Red Globe grapevine, the contents of both soluble sugars and free amino acids in the leaves of drought-resistant Long Yan grapevine increased to a greater extent. Under moderate water stress, the contents of inositol, fructose, and glucose + sorbitol + mannitol increased in the leaves of Long Yan grapevine plants, especially, the inositol content enhanced almost 1.5-fold. Throughout water stress, the content of both betaine and organic acids were rather low.

Key words: Grapevine; Water stress; Osmoprotectants

高等植物在干旱、盐渍等环境胁迫下均在细胞内积累与细胞代谢相容的有机溶质, 如多元醇及其衍生物、氨基酸、季铵化合物等^[1,2], 这些溶质一方

面通过调节渗透压来维持细胞质与内外环境的渗透平衡, 另一方面保护蛋白质和膜功能免遭胁迫条件的伤害^[3]。不同植物在胁迫条件下积累的相容性溶

收稿日期: 2003-07-02

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(19991112); 山西省攻关项目(001015)

作者简介: 王云中(1961-), 男, 山西大同人, 讲师, 硕士, 主要从事智能农业研究工作, 高秀萍为通讯作者。

质种类不同^[4]。在水分或盐胁迫下, 高粱积累的相容性溶质主要有可溶性糖^[4]和甜菜碱^[5], 向日葵主要有游离氨基酸和有机酸^[4], 小麦主要有可溶性糖、游离氨基酸和脯氨酸^[6]。研究表明, 苹果在水分胁迫下显著积累山梨醇、葡萄糖和果糖^[7]。有关葡萄相容性溶质的研究, 迄今在国内外尚少见报道。本试验研究了逐渐水分胁迫过程中葡萄幼树叶片中甜菜碱、可溶性糖及其组分、游离氨基酸和有机酸含量的变化, 以探讨与葡萄抗旱相关的化合物, 进而为葡萄抗旱栽培提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料与设计

采用抗旱性较强的龙眼葡萄和抗旱性较弱的晚红葡萄 2 年生温室盆栽苗作试材。盆直径 44 cm, 高 32 cm。每盆装配土(表土: 河砂: 腐熟羊粪= 3: 1: 1, 并混拌 1 kg/m³ 的过磷酸钙) 25 kg。栽苗后, 定量浇水, 以保证各盆土壤水分状况一致或相近。

处理: ①对照(ck), 一直保持充足供水; ②水分胁迫, 自试验开始日停止浇水, 令盆土逐渐干旱。处理期间, 利用温室棚膜遮雨。随机区组设计, 单株小区, 6 次重复。

不同品种分别在停止浇水后间隔不同时间, 用重量法观测土壤含水量(SWC), 用压力室法测定叶片水势(Ψ_w), 并观察叶片萎蔫状况, 以评估当时的水分胁迫程度。 Ψ_w 的测定在凌晨 6: 00 左右进行, 每株取 1 片叶。SWC 的测定在上午 10: 30 以前进行, 每盆钻取 1 点, 深至底部。拟作分析的叶样于下午 4: 30~ 5: 30 采集, 每株采 1 次梢中部成龄叶 2 片, 采后立即用液氮研碎, - 70 °C 保存, 待测。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 甜菜碱含量的测定 按照 Gorham 等^[8]的方法提取和测定甜菜碱, 并作一些改进。准确称取 0.5 g 冷冻材料, 用 4 mL 甲醇- 氯仿- KHCO₃ (12.5: 10) 试剂研成匀浆, 于 60 °C 水浴恒温振荡 20 min, 冷却后, 在 10 000 r/min 下离心 10 min。沉淀再进一步提取 2 次, 1 次用上述相同的试剂, 1 次用甲醇- 水试剂。合并上清液, 加 2 mL 氯仿和 4 mL 蒸馏水, 摇匀, 静置分层后, 收集水- 甲醇相, 用蒸馏水定容至 10 mL, 此为甜菜碱的粗提液。将粗提液经过一个 3 mL 的离子交换混合柱 [1 mL Amberlite CG50 (100~ 200 目, H⁺ 形式), 2 mL Dowex 1- X2 (50~ 100 目, OH⁻ 形式)] 后, 先用 3 mL 蒸馏水, 后用 4 mL 4

mol/L NH₄OH 洗脱。洗脱液用旋转蒸发器蒸干, 用 2 mL 甲醇溶解残渣, 并过滤。最后, 用高效液相色谱法(HPLC)测定甜菜碱的含量。色谱仪为岛津 LC- 10AD 型高效液相色谱仪, 色谱柱为 Spherisorb 10SCX (4.6 mm × 250 mm) 柱。洗脱液为 0.2 mol/L, pH 值 3.5 的 NH₄H₂PO₄ (+ 50% 甲醇)。进样量为 20 μ L, 流速为 1 mL/min, 检测波长为 195 nm。数据用 C- R6A 数字处理机处理。

1.2.2 可溶性糖总量的测定 采用蒽酮比色法^[9]。

1.2.3 可溶性糖组分的测定 分别按照李德全等^[6]和王光亚等^[10]的方法提取和测定可溶性糖组分, 并作一些改进。准确称取 0.5 g 冷冻材料, 加 10 mL 蒸馏水进一步研细后, 于 90 °C 水浴恒温振荡 60 min, 冷却后, 在 7 000 r/min 下离心 15 min。上清液经过滤后, 减压浓缩至 2 mL, 用 HPLC 测定。色谱仪为日立 638- 50 型高效液相色谱仪, 色谱柱为 Shim- Pack- NH₂柱 (5 mm × 250 mm), 洗脱液为 80% 乙腈, 流速为 0.8 mL/min, 进样量为 10 μ L。用示差检测器检测。

1.2.4 游离氨基酸含量的测定 采用茚三酮显色法^[9]。

1.2.5 有机酸含量的测定 采用 NaOH 滴定法^[9]。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫下葡萄叶片中甜菜碱含量的变化

应用 HPLC 可检测到葡萄叶片中含有甜菜碱, 但浓度很低(表 1)。品种间似乎略有差异。抗旱性较强的龙眼葡萄叶片中甜菜碱含量(以干重计)比抗旱性较弱的晚红葡萄稍高一些。在水分胁迫过程中, 抗旱性不同的两个品种叶片中甜菜碱含量始终处于很低的水平, 也没有观察到显著的变化。表明葡萄在水分胁迫下并不积累甜菜碱。

表 1 水分胁迫下葡萄叶片中甜菜碱含量的变化

处理	μ mol/g					
	龙眼			晚红		
	停水后天数(d)			停水后天数(d)		
	6	9	13	4	6	9
足水(ck)	1.20	1.09	0.89	0.23	0.31	0.36
干旱	0.98	1.10	1.05	0.25	0.24	0.34

2.2 水分胁迫下葡萄叶片中可溶性糖总量的变化

图 1 显示, 在水分胁迫下, 葡萄叶片中可溶性糖(以干重计)总量增加, 并随着胁迫程度的增加而持续增加。抗旱性不同的品种呈现出相同的趋势, 但抗旱性较强的龙眼比抗旱性较弱的晚红增加的幅度

更大一些。在轻度、中度和严重水分胁迫下,龙眼叶片中可溶性糖总量比对照分别增加 15.4%, 28.8%

和 36.5%, 晚红仅比对照分别增加 6.2%, 11.5% 和 21.1%。

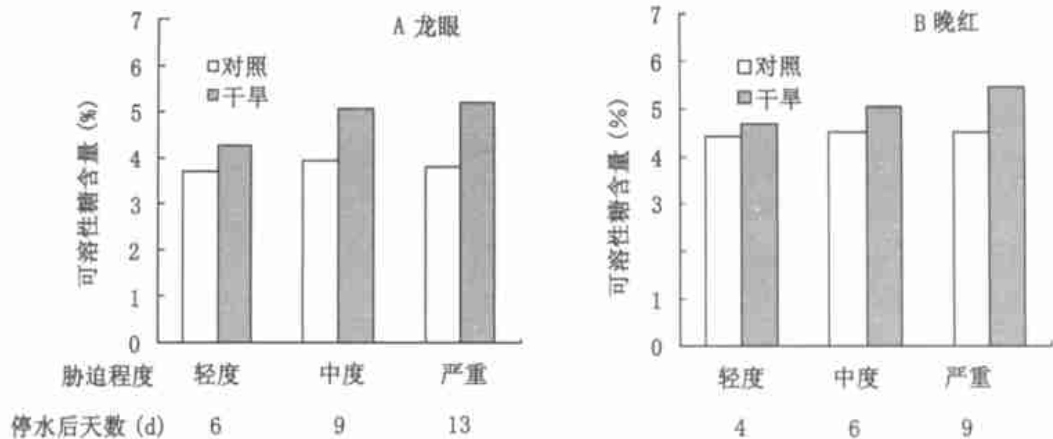


图1 水分胁迫下葡萄叶片中可溶性糖总量的变化

2.3 水分胁迫下葡萄叶片中可溶性糖组分的变化

应用 HPLC 测定了中度水分胁迫条件下抗旱性较强的龙眼葡萄叶片中可溶性糖组分的含量。结果表明,在水分胁迫下,葡萄叶片中果糖、葡山甘(葡萄糖+ 山梨醇+ 甘露醇)和肌醇的含量均比对照有所增加,其中以肌醇增加的幅度最大,其次为果糖,二

者分别比对照增加 141.7% 和 108.0%;而蔗糖的含量则比对照下降 53.2%。在胁迫与非胁迫(对照)的叶片中,均未检测到海藻糖(图 2)。由此可见,水分胁迫下葡萄叶片中可溶性糖总量的增加主要是由于果糖和肌醇的大幅度增加所致。

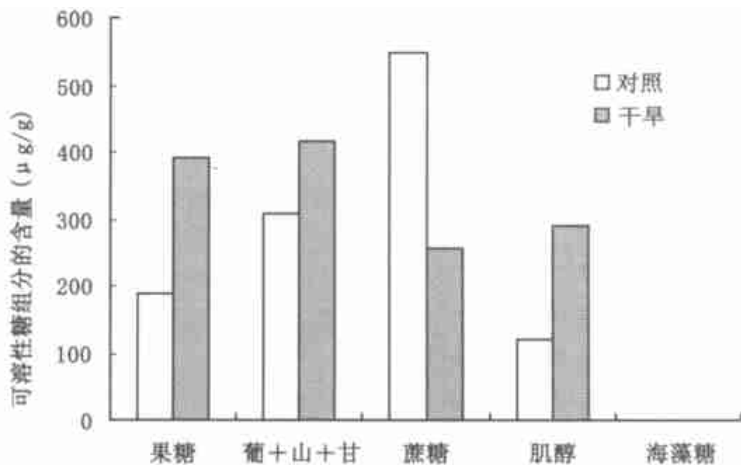


图2 水分胁迫下葡萄叶片中可溶性糖组分的变化

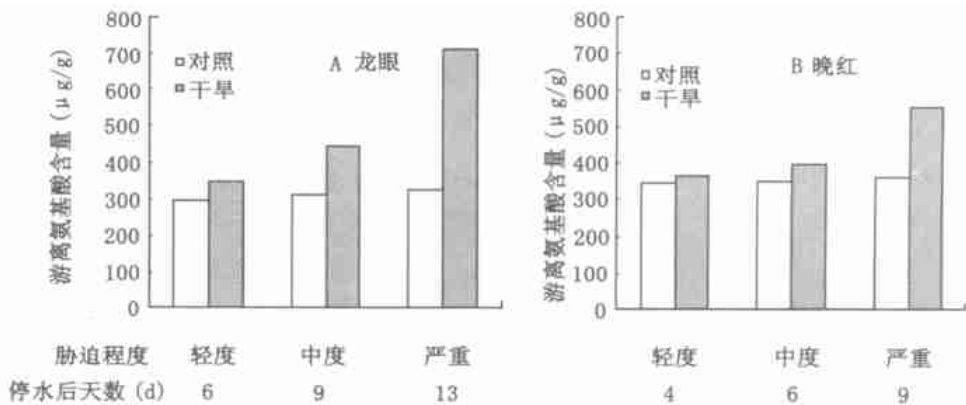


图3 水分胁迫下葡萄叶片中游离氨基酸含量的变化

2.4 水分胁迫下葡萄叶片中游离氨基酸含量的变化

图3表明,在水分胁迫下,葡萄叶片中游离氨基酸含量(以干重计)增加,并且随着胁迫程度的增加而持续增加,抗旱性不同的品种呈现出相同的趋势,但抗旱性较强的龙眼比抗旱性较弱的晚红增加的幅度更大。在轻度、中度和严重水分胁迫下,龙眼叶片中游离氨基酸含量比对照分别增加17.6%,42.6%和120.1%,而晚红仅比对照分别增加6.7%,13.2%和52.3%。

2.5 水分胁迫下葡萄叶片中有机酸含量的变化

在水分胁迫发展过程中,葡萄叶片中有机酸含量始终处于很低的水平,难以用NaOH滴定法定量分析。

3 讨论

Wang等(1992)在苹果上的研究表明,水分胁迫下苹果叶片中可溶性糖含量增加,其中主要是山梨醇、葡萄糖和果糖的增加,并且随着胁迫程度的增加进一步积累。本研究在葡萄上的试验得到了与苹果相似的结果。在水分胁迫下,葡萄叶片中可溶性糖总量均有增加,并且随着胁迫程度的增加而持续增加,抗旱性较强的龙眼葡萄比抗旱性较弱的晚红葡萄增加的幅度更大。对中度水分胁迫下龙眼葡萄叶片中可溶性糖组分的测定结果显示,葡萄叶片中可溶性糖组分的变化虽然也与苹果基本一致,表现在蔗糖含量降低而果糖和葡山甘(葡萄糖+山梨醇+甘露醇)含量增加,但是,葡萄叶片中肌醇含量增加的幅度更大,大约比非胁迫的对照增加近1.5倍。研究认为,能理想地起渗透调节作用的有机溶质主要有多元醇和偶极含氮化合物^[11]。也有研究表明,肌醇是最有效的活性氧清除剂^[12]。因此认为,肌醇可能不仅作为渗透调节剂,而且更重要的是作为渗透保护剂和活性氧化清除剂,在葡萄抵御干旱胁迫中起着非常重要的作用。肌醇的这种作用及其机理有待于进一步深入研究和探讨。

本研究的结果还显示,在水分胁迫下,葡萄叶片

中游离氨基酸含量增加,并且随着胁迫程度的增加继续增加,抗旱性较强的龙眼葡萄比抗旱性较弱的晚红葡萄增加的幅度更大,这表明游离氨基酸可能作为渗透调节物质在葡萄抵御干旱中也起着一定的作用。

参考文献:

- [1] Yancy P H, Clark M E, Hand S C, *et al.* Living with water stress: evolution of the osmolyte systems[J]. *Science*, 1982, 217: 1214– 1222.
- [2] Rhodes D, Hanson A D. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1993, 44: 357– 384.
- [3] Wyn Jones R G. Phytochemical aspects of osmotic adaptation[J]. *Recent Adv Phytochem*, 1984, 18: 55– 78.
- [4] Jones M M, Osmond C B, Turner N C. Accumulation of solutes in leaves of sorghum and sunflower in response to water deficits[J]. *Aust J Plant Physiol*, 1982, 7: 193– 205.
- [5] Saneoka H, Ishiguro S, Moghaieb R E A. Effect of salinity and abscisic acid on accumulation of glycine betaine aldehyde dehydrogenase mRNA in Sorghum leaves (Sorghum bicolor)[J]. *J Plant Physiol*, 2001, 158: 853– 859.
- [6] 李德全, 邹琦, 程炳嵩. 土壤干旱下不同抗旱性小麦品种的渗透调节和渗透调节物质[J]. *植物生理学报*, 1992, 18(1): 37– 44.
- [7] Wang Z W, Stutte G W. The role of carbohydrates in active osmotic adjustment in apple under water stress[J]. *J Amer Soc Hort Sci*, 1992, 117(5): 816– 823.
- [8] Goham J, McDonnell E, Wyn Jones R G. Determination of betaines as ultraviolet-absorbing esters[J]. *Anal Chim Acta*, 1982, 138: 277– 283.
- [9] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [10] 王光亚, 叶晓敏, 沈治平, 等. 应用高效液相色谱测定食物中的糖类[J]. *营养学报*, 1981, 3(4): 241– 249.
- [11] 汤章城. 植物抗逆性生理生化研究的某些进展[J]. *植物生理学通讯*, 1996, 4: 146– 148.
- [12] Smimoff N, Cumbes Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes[J]. *Phytochem*, 1989, 28: 1057– 1060.