

外源甜菜碱对盐胁迫下水稻幼苗光合功能的改善

赵 华, 曹云英, 周 蓉, 季本华

(南通大学 生命科学院, 江苏 南通 226007)

摘要: 以水稻为试材, 研究了盐胁迫下外源甜菜碱对水稻幼苗光合作用及抗盐生理生化特性的影响。结果表明: 一定浓度范围内的甜菜碱可明显增强水稻对盐胁迫的抗性。外源甜菜碱能使叶片叶绿素 a 荧光诱导动力学参数 F_v/F_o , F_v/F_m 增高, 说明外源甜菜碱有利于植物对光能的捕获和转换, 明显促进植物生长, 降低盐胁迫对植物的抑制作用; 外源甜菜碱能增加过氧化物酶活性, 延缓叶片叶绿素含量减少的趋势。

关键词: 甜菜碱; 叶绿素; 叶绿素 a 荧光诱导动力学参数

中图分类号: S511.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2006)06-0072-03

Exogenous Glycinebetaine Improves Photosynthesis of Rice Seedlings under Salt Stress

ZHAO Hua, CAO Yun_ying, ZHOU Rong, JI Ben_hua

(College of Life Science, Nantong University, Nantong 226007, China)

Abstract: Effect of exogenous glycinebetaine (GB) on the salt resistance of rice seedlings including photosynthetic characteristics was studied. The results showed that GB in the certain extent could obviously improve salt resistance of seedlings. GB could increase chlorophyll a fluorescence induction kinetics parameters F_v/F_o , F_v/F_m of leaves of rice seedling under salt stress and improve the growth and light energy conversion of rice seedlings. Exogenous GB could also increase POD activity and slowly reduce the content of chlorophyll.

Key words: Glycinebetaine; Chlorophyll; Chlorophyll a fluorescence induction kinetics parameter

甘氨酸甜菜碱(简称甜菜碱, Glycinebetaine, GB)是高等植物中最常见也是最重要的渗透调节物质之一。许多高等植物, 特别是藜科和禾本科植物在渗透胁迫时能大量积累甜菜碱^[1~4], 其积累水平和抗胁迫能力成正比。甜菜碱不仅能使细胞在盐碱等胁迫下与环境保持渗透平衡, 而且具有稳定复杂蛋白质高级结构的能力, 使许多酶类在渗透胁迫下能继续保持活性^[3]。目前人们主要集中在甘氨酸甜菜碱合成酶类的基因以及转基因植物研究方面。本试验从另一个角度出发, 研究了盐胁迫下不同浓度外源甜菜碱对水稻幼苗光合功能的改善。

1 材料和方法

1.1 试验材料及培养条件

供试品种为粳稻品种(*O. sativa* L sub *japonica*)

中花 11 号, 在南通大学生命科学学院光照培养箱进行培养。挑选饱满种子浸种 12 h 后用漂白粉消毒 15 min, 清水冲洗干净后暗处催芽, 待露出胚根后播于塑料器皿中进行水培, 每盆 10 株。木村 B 营养液定期浇灌, 室温 26℃, 光照每日 12 h, 光照强度 350 ~ 400 $\mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 相对湿度 90%。秧苗长到九叶一心时进行试验。

1.2 甜菜碱和 NaCl 处理

用木村 B 营养液配制 5, 10, 20, 50 mmol/L 的甜菜碱溶液, 培养幼苗。对照用木村 B 营养液。处理 3 d, 第 4 d 开始进行盐胁迫处理, 用木村 B 营养液配制 NaCl 处理液 (50, 100, 150, 200 mmol/L) 分别浇灌。盐胁迫第 6 d 开始取样分析, 重复 2 次。

1.3 叶绿素含量的测定

按 Arnon^[5] 的方法用 UV755B 型紫外可见分光

收稿日期: 2006-07-22

基金项目: 南通大学科研项目资助 (02YL7)

作者简介: 赵 华 (1972-), 女, 江苏南通人, 讲师, 主要从事植物生理生化和分子生物学方面的研究工作。

光度计测定。

1.4 叶片叶绿素荧光诱导动力学参数的测定

水稻叶片经暗适应 10 min 后用 FMS_2 荧光仪 (英国汉莎公司) 测定叶绿素 a 荧光动力学参数。测定温度为 30 ℃。

1.5 粗酶液的提取及过氧化物酶(POD)活性的测定

称取 0.5 g 功能叶片, 剪碎, 加入 5 mL 50 mmol/L 的磷酸缓冲液(pH 7.8), 冰浴下研磨成匀浆, 以 16 000 r/min 4 ℃ 离心 10 min, 上清液即得粗酶液, 置于 4 ℃ 冰箱保存备用。

按张志良^[6]的方法, 以每分钟 OD 变化值表示酶活性(以鲜重计)大小, 即 $\Delta OD_{470}/(\text{min} \cdot \text{g})$ 表示。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 GB 对水稻幼苗叶绿素含量的影响

从图 1 可知, 用不同浓度的 NaCl 处理水稻幼苗后, 测量计算得出叶绿素含量的变化规律, 考虑到 200 mmol/L 的 NaCl 对水稻幼苗毒害作用太大, 故下降率只计算到 150 mmol/L NaCl 时的变化情况。以下一系列数据变化情况均作此处理。以未加 GB 的水稻幼苗叶绿素作为对照, 发现其叶绿素含量急剧下降, 下降率为 70.09%, 说明水稻幼苗对盐胁迫十

分敏感。而加了 GB 的水稻幼苗叶绿素含量下降趋势明显减缓。GB 含量为 5, 10, 20, 50 mmol/L 时, 叶绿素下降率分别为 16.73%, 21.81%, 46.84%, 55.98%。

由此可见, 当 GB 含量为 5 mmol/L 时, 水稻幼苗叶绿素下降趋势最缓慢。

从图 1 还可以看出, 当 GB 含量为 50 mmol/L 时, 叶绿素含量与对照组相比呈现出一定的下降趋势。估计是由于高浓度的 GB 所致。即高浓度的 GB 对水稻幼苗可能有一定的毒害作用。具体情况还有待进一步研究。

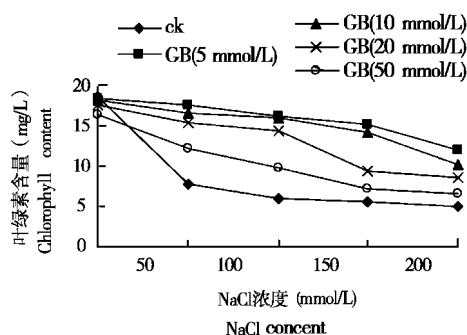


图 1 GB 对盐胁迫下水稻叶绿素含量的影响

Fig. 1 The effects of exogenous glycinebetaine on chlorophyll in rice seedling

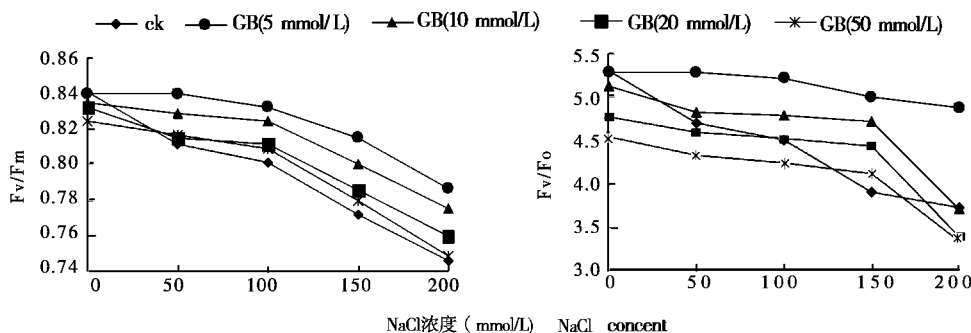


图 2 GB 对盐胁迫下水稻叶片 Fv/Fo, Fv/Fm 的影响

Fig. 2 The effects of exogenous glycinebetaine on Fv/Fo, Fv/Fm in rice seedling

2.2 不同浓度 GB 对水稻幼苗叶片叶绿素 a 荧光诱导动力学参数 Fv/Fm, Fv/Fo 的影响

从图 2 可以看出, 水稻幼苗用不同浓度 NaCl 处理后, 其叶片叶绿素 a 荧光诱导动力学参数 Fv/Fm 明显降低, 从 0.841 下降到 0.772, 下降了 8.20%; 水稻幼苗用不同浓度 GB 处理后, 呈现明显的缓解趋势。其中效果最明显的出现在 GB 浓度为 5 mmol/L, 下降趋势最缓慢, 下降率为 2.98%; GB 为 10 mmol/L 时, 下降率为 4.19%; GB 为 20 mmol/L 时, 下降率为 5.53%; GB 为 50 mmol/L 时, 下降率为 5.46%。说明 GB 能够增加叶绿素 PSII 原初光能转

化效率从而缓解 NaCl 对水稻幼苗光合作用的毒害作用。另外, 水稻幼苗用不同浓度 NaCl 处理后, 其叶片叶绿素 a 荧光诱导动力学参数 Fv/Fo 明显降低, 从 5.308 8 下降到 3.906 6, 下降了 26.4%; 水稻幼苗用不同浓度 GB 处理后, 呈现明显的缓解趋势。其中效果最明显的出现在 GB 浓度为 5 mmol/L, 下降趋势最缓慢, 下降率为 5.49%; GB 为 10 mmol/L 时, 下降率为 7.86%; GB 为 20 mmol/L 时, 下降率为 6.76%; GB 为 50 mmol/L 时, 下降率为 9.21%。说明 GB 能够增加叶绿素 PSII 的潜在光化学活性从而缓解 NaCl 对水稻幼苗光合作用的毒害作用。同时

表明高浓度的 GB 对水稻幼苗 F_v/F_o 有一定的抑制作用。说明高浓度的 GB 对水稻幼苗可能有一定的毒害。

2.3 不同浓度 GB 对水稻幼苗过氧化物酶(POD)的影响

叶绿体是植物细胞产生活性氧的一个重要细胞器。在正常情况下,叶绿体内活性氧的产生和清除处于动态平衡状态。叶绿体内的 SOD 可将 O_2 歧化为 H_2O_2 , 此后 H_2O_2 的清除主要是通过 POD 等的循环途径来清除。

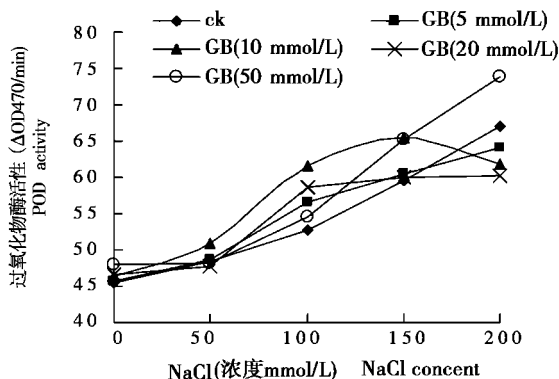


图3 GB对水稻过氧化物酶活性的影响

Fig.3 The effects of exogenous glycinebetaine on POD activity in rice

从图3可以看出,随着胁迫程度的加深,POD活性迅速上升;而预先用GB处理后,在一定范围内,水稻幼苗POD活性高于对照。GB为5 mmol/L时,活性最大增加率为7.56%;GB为10 mmol/L时,活性增加率为17.02%;GB为20 mmol/L时,活性增加率为11.36%。说明GB能通过提高POD活性来保护细胞膜。

3 讨论

叶绿素a荧光诱导动力学参数 F_v/F_m 代表PSII原初光能转化效率, F_v/F_o 代表PSII的潜在光化学活性。GB能够缓解 F_v/F_m 、 F_v/F_o 的下降趋势说明外源甜菜碱能缓解胁迫对PSII的伤害,是由于外源甜菜碱浇灌增加了植物调节叶绿体中的渗透平衡的能力,保持叶绿体的体积;保护核酮糖_1,5_二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)和放氧的光系统II(PSII)复合体,免受盐胁迫诱导的酶失活和亚基的解离,缓解胁迫对植物的伤害作用^[7]。

许多研究证实,环境因子的改变可引起叶绿素含量的变化,进而引起光合功能的改变。一般研究表明,盐胁迫下植物叶片中叶绿素含量下降,其主要原因是由于NaCl能促进叶绿素酶活性使叶绿素分解。

而甜菜碱对叶绿体有显著的渗透调节作用,这种调节作用有利于在逆境下保持叶绿体的光合作用,进而缓解盐胁迫对植物的伤害。

水分亏缺会导致光合速率的下降,严重时则会使光合系统完全关闭,当光合作用遭到破坏时,而叶绿体仍接受到多余的激发能量,则会产生氧自由基,如过氧化物、超氧化物等,进一步对膜和酶系产生伤害。

在植物的进化过程中,产生了一套抗氧化系统抵御氧自由基的伤害,包括一系列清除氧自由基的酶,如:超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(Catalase)、谷胱甘肽还原酶(Glutathione reductase, GR)。研究发现,水稻在受到渗透胁迫时,在一定范围内POD活性会迅速上升,当体内氧自由基的产生速率超过清除速率时,POD活性又会降低^[8]。预先喷施适宜浓度的甜菜碱,能增强植物的抗性。当植物受到胁迫时,能通过增强过氧化物酶活性保护细胞膜。但孙文越等^[9]认为,外源甜菜碱对渗透胁迫下小麦的受伤害程度有明显加深作用。所以笔者认为,外源甜菜碱对农作物的生理效应还需进一步研究,高浓度的甜菜碱对植物可能有伤害。

综上所述,盐胁迫对水稻造成的伤害,可由一定浓度的甜菜碱处理得以缓解,使水稻受盐胁迫造成的伤害得到修复,增强水稻的耐盐性。

参考文献:

- [1] 张艳敏,郭北海,蒋春志,等.转甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因小麦的耐盐耐旱性[J].华北农学报,2003,19(1):29-32.
- [2] Bala Rathinasabapathi. Metabolic engineering for stress tolerance: Installing osmoprotectant synthesis pathways[J]. Annals of Botany, 2000, 86: 709-716.
- [3] 梁 峥,骆爱玲.甜菜碱和甜菜碱合成酶[J].植物生理学通讯,1995,31(1):1-8.
- [4] 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.
- [5] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*[J]. Plant Physiol, 1949, 24: 1-15.
- [6] 张志良,翟伟菁.植物物理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2003.
- [7] 侯彩霞,徐春和,汤章城,等.甜菜碱对光系统II放氧中心结构的选择性保护[J].科学通报,1997,42(17):1857-1859.
- [8] 杨艳华,陈国祥,刘少华,等. Hg^{2+} 胁迫下两优培九和武运粳7号水稻幼苗抗性差异的研究[J].农村生态环境,2002,18(3):34-37.
- [9] 孙文越,王 辉,黄久常.外源甜菜碱对干旱胁迫下小麦幼苗膜脂过氧化作用的影响[J].西北植物学报,2001,21(3):487-491.