

文章编号: 1001-1498(2003)03-0335-04

杉木幼苗在渗透胁迫下脯氨酸积累 及 Ca 的调节作用研究

苏梦云

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所,浙江 富阳 311400)

摘要:用 PEG6000 渗透胁迫(-1.5, -2.5, -5.0, -10 MPa)杉木苗(8月龄),叶片内游离脯氨酸含量迅速增加,渗透胁迫强度越大,脯氨酸积累的速度越快。在不同渗透胁迫强度下处理 72 h,叶片中脯氨酸含量从 3.8 $\mu\text{g g}^{-1}$ FW 分别增加到 5.5、7.5、16.0、28.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ FW。钙处理能明显提高渗透胁迫下脯氨酸的积累。渗透胁迫时间越长(24、48、72、96 h),脯氨酸增加量也越大。用 Ca^{2+} 的螯合剂 EGTA(5 mmol L^{-1})和 Ca^{2+} 通道阻塞剂 CoCl_2 (30 mmol L^{-1})处理,能明显抑制 Ca^{2+} 在渗透胁迫下促进脯氨酸的积累。研究表明,钙对杉木苗在渗透胁迫下脯氨酸的积累具有重要的调节作用。

关键词:杉木;渗透胁迫;脯氨酸;钙

中图分类号:S791.27 **文献标识码:**A

植物在干旱胁迫条件下,脯氨酸含量迅速积累,这是植物对逆境环境比较明显的生理反应。对于脯氨酸与植物抗旱性关系的研究深受人们关注。据报道,在水分胁迫下抗旱性较强的大麦(*Hordeum vulgare* Linn.)品种的脯氨酸积累量要比抗旱性较弱的品种多^[1]。在烟草(*Nicotiana tabacum* L.)^[2]、小麦(*Triticum aestivum* var. *polonicum* Bailey)^[3]等作物中得到类似的结果,但也存在不一致的报道^[4~7]。

Ca 在植物适应环境变化中起着重要作用^[8~10],不少研究发现,植物在逆境条件下细胞内游离 Ca^{2+} 浓度明显上升。 Ca^{2+} 处理能降低盐胁迫对细胞和质膜的伤害,并在逆境下能积累更多的脯氨酸^[11,12]。钙在逆境下脯氨酸积累中的作用以及怎样起作用的问题,目前正被深入研究。

在木本植物中,这方面的研究很少。前文^[13]得到,Ca 处理能降低杉木(*Cunninghamia larceolata* (Lamb.) Hook.)幼苗在干旱条件下膜脂过氧化作用和提高保护酶活性。本文主要研究杉木幼苗在渗透胁迫下脯氨酸含量的变化规律及 Ca^{2+} 的调节作用,以期为提高杉木等木本植物的抗旱性提供有关科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

杉木容器苗按常规方法在苗圃播种培育,容器(直径7.5 cm,高10 cm)基质为黄土和沙

收稿日期: 2002-08-27

基金项目: 1996—2000年浙江省重点课题“杉木杂交新品种选育及其利用”(691102169)

作者简介: 苏梦云(1942—),女,福建莆田人,研究员。

(体积比为 1 : 1), 并含有 0.5% 的过磷酸钙。苗龄为 8 个月, 平均高 7.5 cm, 平均地径为 0.16 cm。

1.2 实验处理

实验苗从容器中取出, 用水漂洗附着在根系上的泥土, 然后用吸水纸吸去根系表面的附着水, 晾干, 用 1/2 Hbagland 培养液, 培养 3 d 后, 转入用 PEG6000 配制的不同水势 (-1.5、-2.5、-5.0、-10 MPa) 的溶液中, 进行不同时间 (0、24、48、72、96 h) 的渗透胁迫试验。Ca 处理是在渗透胁迫前, 试验苗用 (CaCl_2 7 mmol L^{-1}) 溶液处理 24 h, 再转入 PEG 溶液 (-5.0 MPa) 中进行不同胁迫时间试验。 Ca^{2+} 的螯合剂和 Ca^{2+} 通道阻塞剂试验, 根据预备试验的结果, 用 CaCl_2 溶液 (7 mmol L^{-1}) 与 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA (5 mmol L^{-1}) 或者与 Ca^{2+} 通道阻塞剂 CoCl_2 (30 mmol L^{-1}) 混合处理 24 h 后, 再转入用 PEG 配制的溶液 (-5.0 MPa) 中进行渗透胁迫处理 48 h。每个处理 5 株苗。取成熟叶片混合制样, 进行分析测定, 重复 3 次, 取平均值。

1.3 测试方法

脯氨酸含量测定, 按朱广廉等方法^[14]

2 结果与分析

2.1 渗透胁迫对杉木幼苗叶片中脯氨酸含量的影响

在正常供水情况下杉木幼苗叶片中的脯氨酸含量, 没有明显的变化, 稳定在一个较低的水平。在渗透胁迫条件下, 叶片中脯氨酸含量明显增加。在轻度胁迫 (-1.5, -2.5 MPa) 下, 叶片中脯氨酸含量缓慢增加。随着渗透胁迫强度加大 (-5.0, -10 MPa) 和胁迫时间的延长 (72 h), 脯氨酸的累积量迅速增加。幼苗在不同胁迫强度 (-1.5, -2.5, -5.0, -10 MPa) 下渗透胁迫 72 h, 叶片中游离脯氨酸含量从对照的 $3.8 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 分别增加到 5.5、7.5、16.0、28.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$, 但在 -5.0 MPa 下胁迫处理 72 h 以上, 脯氨酸增加缓慢, 趋于稳定。而在 -10 MPa 下胁迫 72 h 以上, 脯氨酸积累明显下降 (图 1)。

2.2 钙对渗透胁迫下杉木幼苗叶片中脯氨酸积累的效应

杉木幼苗在渗透胁迫 (-5.0 MPa) 条件下胁迫 24、48、72、96 h, 叶片中脯氨酸含量从未胁迫处理的 $4.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 分别增加到 8.0, 11.0, 16.0, 16.8 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 。在渗透胁迫前用 7 mmol L^{-1} CaCl_2 溶液处理 24 h, 能明显促进渗透胁迫引起的脯氨酸积累。在不同渗透胁迫强度 (-1.5、-2.5、-5.0、-10.0 MPa) 下, 脯氨酸含量分别比未用 Ca^{2+} 处理的增加了 56.3%, 63.6%, 75.0%, 102.0%。当未用 Ca^{2+} 处理的幼苗在渗透胁迫 72 h 以上时, 脯氨酸含量趋于稳定, 而 Ca 处理对渗透胁迫下脯氨

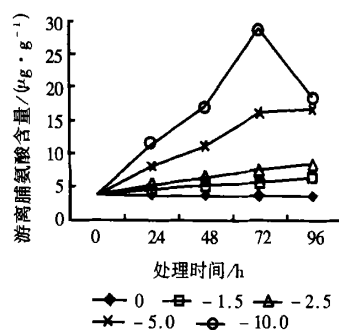


图1 不同渗透胁迫强度和时间内对杉木苗叶片中脯氨酸含量的影响

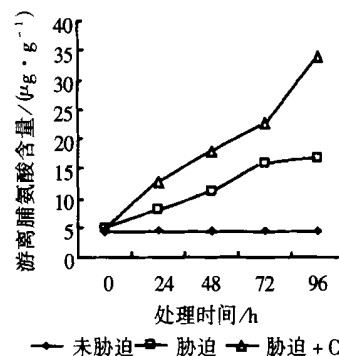


图2 Ca 对渗透胁迫下杉木幼苗叶片中脯氨酸含量的影响

酸的积累,仍表现出明显的促进作用(图2)。

2.3 EGTA 和 CoCl_2 处理对 Ca^{2+} 促进脯氨酸积累的影响

EGTA 是一种 Ca^{2+} 螯合剂。用 EGTA ($5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液与 Ca^{2+} 同时处理 24 h 后,进行渗透胁迫 (-5.0 MPa),试验结果表明, Ca^{2+} 在渗透胁迫下促进脯氨酸积累的作用明显受到抑制。用 Ca^{2+} 通道阻塞剂 CoCl_2 ($30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 溶液与 Ca^{2+} 一起处理也明显地抑制了在渗透胁迫下 Ca^{2+} 促进的脯氨酸积累(图3)。

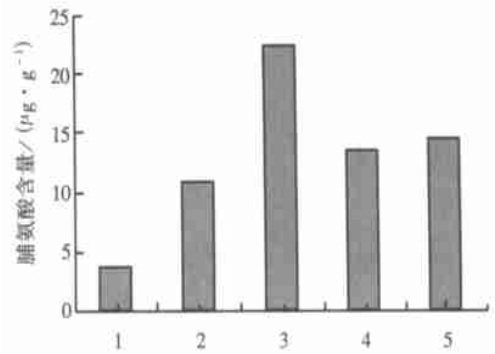
3 讨论

植物在渗透胁迫下脯氨酸迅速积累,这是一个比较普遍而明显的生理现象。一般渗透胁迫强度越大,渗透胁迫时间越长,脯氨酸的积累越多。说明脯氨酸的积累与植物适应逆境的能力有一定的关系。脯氨酸的积累,特别是作为细胞质渗透调节物质,在提高植物渗透调节能力方面具有重要生理意义^[15]。刘宁等^[16]报道,在渗透胁迫下,植物细胞质膜透性的改变是在脯氨酸积累开始稳定或下降时才发生的,说明脯氨酸可能具有清除活性氧的作用^[17],这必然有利于提高植物抗逆境的能力。

渗透调节是植物适应逆境的机理之一,而脯氨酸是渗透调节中的一种主要渗透调节物质^[18]。在渗透胁迫条件下脯氨酸的积累是植物适应逆境环境的一种生理反应。在本试验中, Ca^{2+} 处理能明显促进杉木幼苗在渗透胁迫下脯氨酸的积累,用 Ca^{2+} 螯合剂 EGTA 和 Ca^{2+} 通道阻塞剂 CoCl_2 处理,明显抑制渗透胁迫下 Ca^{2+} 促进的脯氨酸积累。这与玉米 (*Zea mays* L.)^[11] 和无花果 (*Ficus carica* L.)^[12] 上的研究结果一致,表明 Ca^{2+} 对杉木幼苗在逆境条件下的脯氨酸积累具有重要的调节作用。 Ca^{2+} 在渗透胁迫下对脯氨酸积累的促进作用,可能是通过活化钙调素 (CaM) 来实现的^[12]。但也有报道认为, Ca^{2+} 对脯氨酸积累的刺激作用不涉及 CaM 系统,而是在保护膜完整性方面具有重要作用^[19]。有关 Ca^{2+} 促进脯氨酸积累的生理机制的研究,仍在深入进行。鉴于对脯氨酸适应性积累的重要调节作用,适当的 Ca^{2+} 处理技术有可能成为提高植物抗旱性的一个调节途径。

参考文献:

- [1] Singh T N, Aspinall D, Paleg L G. Proline accumulation and varietal adaptability to drought in barley a potential metabolic measure of drought resistance[J]. Nature New Biol, 1972, 236:188~190
- [2] Rensburg L V, Kruer G H J, Kruer H. Proline accumulation as drought tolerance selection criterion: its relationship to membrane integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotina tabacum* L [J]. J Plant Physiol, 1993, 141: 188~194
- [3] 刘华山,张清梅,孟凡庭,等. 豫36号种子萌发和幼苗期一些抗旱生理指标检测资料[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(4): 352~355
- [4] Harson A D, Nelsen C E, Everson E H. Evaluation of free proline accumulation as an index of drought resistance using two contrasting barley cultivars [J]. Crop Sci, 1977, 17:720~726



1. 未胁迫;2. 胁迫;3. 胁迫 + Ca^{2+} ;
4. 胁迫 + Ca^{2+} + EGTA ;5. 胁迫 + Ca^{2+} + CoCl_2

图3 渗透胁迫下加 EGTA 和 CoCl_2 对 Ca^{2+} 促进杉木苗脯氨酸积累的影响

- [5] Ilahi L, Dorffling K. Changes in abscisic acid and proline levels in maize varieties of different drought resistance[J]. *Physiol Plant*, 1982, 55:129 ~ 135
- [7] 王玮,朱德全,邹琦. 水分胁迫下外源 AB 对玉米幼苗根叶渗透调节的影响[J]. *植物生理学通讯*, 2000, 36(6):523 ~ 526
- [8] Zhang W H, Liu Y L. Effect of calcium on absorption and distribution of ions and H^+ ——ATPase activity in barley and wheat salt stress [J]. *Acta Bot Sin*, 1993, 35:435 ~ 440
- [9] Bush D S. Calcium regulation in plant cells and its roles in signaling [J]. *Ann Rev Plant Mbl Biol*, 1995, 46:95 ~ 122
- [10] Braam J, Sistrunk ML, Polisenky D H, et al. Life in a changing world : TCH gene regulation of expression and responses to environmental signals[J]. *Physiol Plant*, 1996, 98:909 ~ 916
- [11] 龚明, 杨兴富. 钙对玉米幼苗抗盐性的效应[J]. *植物生理学通讯*, 1994, 30(6):429 ~ 432
- [12] 汪良驹, 刘友良, 马凯. 钙在无花果细胞盐诱导脯氨酸积累中的作用[J]. *植物生理学报*, 1999, 25(1):36 ~ 42
- [13] 苏梦云, 范铭庆. 渗透胁迫和钙处理对杉木幼苗膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. *林业科学研究*, 2000, 13(4):343 ~ 348
- [14] 朱广廉, 邓兴旺, 左卫能. 植物体内游离脯氨酸的测定[J]. *植物生理学通讯*, 1983(1):35 ~ 37
- [15] 汤章城. 逆境条件下植物内源脯氨酸的积累及其可能的生态意义[J]. *植物生理学通讯*, 1984(1):15 ~ 24
- [16] 刘宁, 高玉葆, 贾彩霞, 等. 渗透胁迫下多花黑麦草叶内过氧化物酶活性和脯氨酸含量以及质膜相对透性的变化[J]. *植物生理学通讯*, 2000, 36(1):11 ~ 14
- [17] Shmiff N. The role of active oxygen in response of plants to water deficit and desiccation[J]. *New Phytol*, 1993, 125:27 ~ 31
- [18] 刘友良, 汪良驹. 植物对盐胁迫的反应和耐盐性[A]. 见:余叔文, 汤章城. *植物生理与分子生物学*[M]. 北京:科学出版社, 1998. 752 ~ 769
- [19] 宋克敏, 姚光郎, 张志良, 等. 营养液缺钙或缺钾对糜子幼苗抗旱性的影响[J]. *植物生理学报*, 1995, 21(1):35 ~ 42

The Role of Calcium in Proline Accumulation under Osmotic Stress in Leaves of Chinese Fir Seedling

SU Mengyun

(Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400, Zhejiang, China)

Abstract: Free proline content in leaves of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) seedlings under different levels of osmotic stress induced by PEG increased quickly. Free proline content increased with osmotic stress time (24, 48, 72, 96 h) and strength (-1.5, -2.5, -5.0, -10 MPa). Free proline content in leaves under different osmotic stress strength for 72 h increased from $3.8 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (Fw) to 5.5, 7.5, 16.0, $28.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW), respectively. Calcium treatment made proline accumulation induced by osmotic stress obviously raised. Under different osmotic stress time (24, 48, 72, 96 h), free proline contents with calcium treatment were 56.3, 63.6, 75.0, 10.2 per cent higher than that of the control, respectively. After treating for 24 h with calcium chelating agent EGTA (5 mmol L^{-1}) and calcium channel blocker CoCl_2 (30 mmol L^{-1}), proline accumulation induced by calcium under osmotic stress decreased obviously. The results showed that the calcium in proline accumulation under osmotic stress has an important role.

Key word: Chinese fir; osmotic stress; proline; calcium