

甜菜碱在果树胁迫中的作用

许培磊, 艾军, 李晓红, 王振兴, 张庆田, 秦红艳

(中国农业科学院 特产研究所, 吉林 长春 130112)

摘要:甜菜碱是一种非毒性渗透调节物质,对维持逆境胁迫下果树的代谢和生存具有重要的生理意义,系统讨论了甜菜碱在植物胁迫条件下的作用机制。由于并非所有植物在胁迫条件下会产生内源甜菜碱,因此外源甜菜碱使植物获得抗性的研究受到广泛关注。现对不同途径添加外源甜菜碱在果树抗逆过程中所起的作用进行举例说明,试图为增强果树的抗逆性提供新的技术措施。

关键词:甜菜碱;果树;逆境;抗性

中图分类号:S 66 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)05-0179-03

我国地域辽阔,自然条件复杂,果树在不同地区经常遭遇到干旱、盐渍、寒害、机械损伤等非生物因子胁迫,严重影响果树的生长发育和优良品质,给生产带来难以弥补的损失。

甜菜碱是一类季胺化合物,广泛存在于植物体中,作为一种非毒性渗透调节物质,在植物的抗逆生理中起到非常重要的作用^[1]。甘氨酸甜菜碱是最主要的一类,一般称甘氨酸甜菜碱为甜菜碱^[2]。甜菜碱在植物细胞的渗透调节中具有重要作用^[3],维持细胞的渗透平衡和离子平衡;逆境胁迫下,在植物体内逐渐积累以调节细胞内的渗透压,维持水分平衡;降低丙二醛(MDA)含量以缓解膜脂过氧化对植物膜系统的伤害;同时还对三羧酸循环的主要酶类和末端氧化酶类起保护作用^[4]。

甜菜碱对维持逆境胁迫下果树的代谢和生存具有重要的生理意义。但是目前有关甜菜碱抗逆生理的研究多集中在1a生作物和其它草本植物,而对于木本植物特别是果树的研究较少^[5]。葡萄的内源甜菜碱含量很低,通过外施甜菜碱可增加体内的浓度,并且,研究者认为甜菜碱可能作为一种有效的化合物起到保护植物体抵御氧化胁迫的功能。

1 内源甜菜碱与植物抗逆性的关系

植物在遭受干旱、盐或低温胁迫时,首先会直接或间接地产生渗透胁迫,导致环境渗透势低于细胞渗透势而使细胞失水、死亡。作为一种适应性的防御机制,植物体内会积累甜菜碱,降低细胞渗透势,从而保持其体内水分以减少逆境对植物产生的伤害。目前,研究者已

发现甜菜碱在高等植物的28个科中都有分布。在干旱、盐、低温等胁迫下,许多植物可以通过积累甜菜碱提高抗逆性。甜菜碱在植物中的含量差异很大,从痕迹量到418 $\mu\text{mol/g DW}$ 。

果树在遭受水分胁迫情况下,甜菜碱的含量升高,内源含量与抗旱性呈正相关,例如板栗、苹果、桃经干旱胁迫后,其叶片中的甜菜碱含量随胁迫程度的增加而增加,研究者推测有可能是胁迫增加了甜菜碱合成酶的活性^[5]。不同果树的甜菜碱增加程度也不尽相同,梨成龄叶片在轻度水分胁迫下甜菜碱即显著增加,当胁迫强度继续升高时,甜菜碱的累积却不随胁迫程度的加强继续升高,而是保持在稳定的水平上^[6]。然而枣和葡萄叶片中的甜菜碱不受水分胁迫的诱导。可见,果树在水分胁迫下并非都会诱导甜菜碱的积累,甜菜碱在不同果树中对水分胁迫的应答机制存在差异。

甜菜碱是盐胁迫下最有效的蛋白质稳定剂,它能降低膜脂过氧化水平,缓解盐分胁迫对细胞膜系统的伤害,是耐盐性鉴定的一个重要指标^[7]。Grieve等^[8]比较了盐角草在不同盐度下甜菜碱含量的变化,发现较低盐度下,甜菜碱含量随盐浓度的增加而迅速上升;当盐度继续升高时,其增加的速度减缓直至最后稳定在某一水平。甜菜碱在植物的不同器官中含量也存在差异,在NaCl胁迫的坪山柚中,甜菜碱在根部增幅高于地上部,直接暴露在胁迫环境中的根能快速积累甜菜碱^[9],甜菜碱的积累与盐胁迫密切相关,盐浓度的变化可对甜菜碱生物合成中相关基因的表达进行调控,从而控制甜菜碱的积累。

植物抗寒力的强弱与低温下甜菜碱的增加量呈正比,甜菜碱增加越多的品种抗寒力越强。甜菜碱积累在细胞质中,能有效维持低温下蛋白质和生物膜的结构和功能,维持酶的活性^[10-11]。在叶绿体中含量丰富,可保护类囊体膜,降低细胞膜的脂质过氧化程度,从而保持

第一作者简介:许培磊(1984-),女,硕士,研究实习员,现主要从事野生果树病害防治与逆境生理研究工作。

基金项目:吉林省自然科学基金资助项目(20101566)。

收稿日期:2011-12-16

较高的光合效率。

然而,研究表明,有些植物在胁迫条件下,体内不能产生甜菜碱,如拟南芥、马铃薯、番茄和水稻等^[12],也可能是由于试验条件或由于物种基因型差异所导致。随着甜菜碱合成基因在多种植物中的克隆和鉴定,使甜菜碱可以通过转基因途径在非积累甜菜碱植物体内合成积累。

2 基因工程手段

甘氨酸甜菜碱在植物体内由胆碱经过二步氧化而成,这二步反应均在植物的叶绿体基质中完成^[13]。首先胆碱在胆碱单氧化酶(CMO)催化下形成甜菜碱醛^[14],然后经甜菜碱醛脱氢酶(BADH)催化生成甜菜碱^[15]。运用基因工程手段向植物体内导入甜菜碱合成相关酶基因,使体内不能积累甜菜碱的植物获得相对抗性或是增加植物体内的甜菜碱含量而增强抗性成为研究热点。

近期,研究者报道通过生物工程手段可提高冷胁迫下柑橘的甜菜碱含量,并证实了甜菜碱提升植物的抗冷性的可能性^[16]。杨传平等^[17]在2001年将甜菜碱合成基因 *bet-A* 转入小黑杨中,对阳性植株进行 Southern 印迹杂交分析后,证实外源基因已整合到小黑杨的基因组中。随后,蔡智军在2004年对转 *bet-A* 基因小黑杨的甜菜碱、脯氨酸、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等指标进行了测定,结果显示,转基因植株的甜菜碱含量随着盐胁迫强度和时间的延长而增加,并且与POD活性呈正相关。可能是由于转入的 *bet-A* 基因表达保护了盐胁迫下POD合成基因的活性。研究者^[18]还发现在高盐反应体系中,加入甜菜碱后可稳定双螺旋DNA和降低DNA退火温度,可能从而增强胁迫条件下遗传物质的转录和复制,加速蛋白质的合成。

目前的研究主要集中在甜菜碱醛脱氢酶活性和转BADH基因植物方面^[7]。孙仲序等^[19]已用农杆菌介导BADH基因成功转化葡萄,但是由于果树一般生命周期较长,遗传性高度杂合,遗传转化体系的不成熟等因素的存在,使得转基因手段增加甜菜碱在体内的积累具有一定的局限性。因此,通过外源手段增加甜菜碱含量成为果树研究中一项更为实用、快速的手段。

3 外源甜菜碱增强植物抗性

3.1 叶面喷施

通过叶面喷施甜菜碱,可提高果树在干旱、盐及温度胁迫下的抗逆性。桃在干旱胁迫过程中,叶面喷施甜菜碱100和500 mg/L可降低细胞质膜透性、增强抗坏血酸过氧化物酶的活性、降低过氧化氢含量及提高可溶性蛋白质含量,王一鸣等^[20]认为桃叶面喷施甜菜碱可在一定程度上提高桃抗旱性,减轻干旱胁迫对植物造成的伤害。盐胁迫条件下,桑树叶面施用甜菜碱可以提高叶片中叶绿素、可溶性糖及脯氨酸含量,保持叶片中的含

水量和离子平衡,进而减轻盐胁迫对桑树的伤害^[21]。在叶面喷施2 mmol/L甜菜碱72 h后,抗冷性可提高2倍,并能延续冰冻生存能力和植株再生能力^[10]。5.0 mmol/L甜菜碱可有效降低高温胁迫下葡萄幼苗叶片中的脯氨酸、丙二醛含量及维持较低的膜透性,增加可溶性蛋白和抗坏血酸的含量,对于提高葡萄幼苗的抗热能力具有积极的作用^[22]。外源喷施甜菜碱还可增加低温胁迫下香蕉幼苗叶片中抗氧化酶SOD、POD及过氧化氢酶(CAT)活性,有效抑制MDA的积累,增加细胞膜的稳定性,其中7.5 mmol/L甜菜碱的抗冷效果最佳^[23]。

3.2 浸种

10 mmol/L的甜菜碱浸种可提高盐胁迫下桑种子的发芽率,增加幼苗叶片中的叶绿素含量、含水量及脯氨酸的合成,减轻渗透胁迫对细胞膜的伤害,促进幼苗的生长发育^[24]。甜菜碱浸种还可以抑制干旱胁迫叶片中H₂O₂的积累,增加抗氧化物抗坏血酸和谷胱甘肽的含量,维持较高的抗坏血酸过氧化物酶和谷胱甘肽还原酶活性^[25]。

3.3 根施

通过对盐胁迫下的桑树幼苗追施外源甜菜碱,发现根施2.5~10 mmol/L甜菜碱可减缓盐胁迫对幼苗生长的抑制,可提高叶片的叶绿素、可溶性糖及脯氨酸的含量,但在20 mmol/L浓度下,高浓度的甜菜碱可诱导脯氨酸的合成,使其含量急剧升高,超过植物体内的阈值失去缓解盐胁迫伤害的能力,导致MDA含量升高和植株受害严重甚至死亡^[26]。因此,根施过量甜菜碱不仅不能起到保护作用,还会对植株产生伤害。

4 外施甜菜碱浓度

2 a生仁用杏在喷施不同浓度的甜菜碱后,能够维持较高的净光合速率,并且低浓度的甜菜碱喷施效果比高浓度的好^[27]。喷施适宜浓度的甜菜碱还可以降低叶片中脯氨酸和丙二醛的含量,降低膜透性并提高可溶性糖含量及抗坏血酸含量,缓解高温胁迫对葡萄叶片的伤害,提高其抗热能力^[22]。适宜浓度的甜菜碱还可以促进苹果组培苗的生长,在没有胁迫条件下,外施0.1、0.2或是0.3 mol/L甜菜碱可使茎相对于未施用的伸长30%~76%。研究低温胁迫下香蕉幼苗叶片喷施不同浓度的甜菜碱,10 mmol/L外源甜菜碱能显著提高脯氨酸含量,减少活性氧的积累,提高SOD、POD、抗坏血酸过氧化物酶(ASP)的活性,更有效地提高了香蕉幼苗的抗冷性^[28]。

植物的生长阶段,喷施的不同时节和植物所处的环境因素都显著影响甜菜碱的作用效果。因此在施用甜菜碱之前要针对不同物种、不同阶段及不同的生长条件进行优化,以达到甜菜碱作为“胁迫刺激物质”的效果。

5 结论

甜菜碱合成相对简单,而可以内源产生甜菜碱的植物物种有限,浓度也有限,所以外源甜菜碱对保护植物

在胁迫条件下的生长代谢具有重要意义,运用甜菜碱减轻果树在逆境下的胁迫,增强果树的抗性,将有利于推广果树栽培面积,增加国民收入,为艰苦地区的果树栽培提供思路。

为更好地运用甜菜碱提高果树抗逆性,仍存在一些需要深入研究的问题。首先,应在更多果树品种上,对甜菜碱能否增强抗逆性进行研究,试图增强果实的抗病虫能力和提高产量;其次,运用转基因手段在果树中合成的甜菜碱含量及所起到的抗逆能力还需要进一步研究;最后,不同甜菜碱浓度对不同物种、不同生长期、不同部位产生的效应均不同,因此外源添加甜菜碱要有针对性,对条件需进行反复的摸索。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 徐保红,杨洁. 甘氨酸甜菜碱与植物抗胁迫能力[J]. 新疆大学学报(自然科学版),2008,25(3):349-352.
- [3] Hanson A D, Wyse R E. Biosynthesis, translocation and accumulation of betaine in sugar beet and its progenitors in relation to salinity [J]. Plant Physiol, 1982, 70: 1191-1198.
- [4] McCue K F, Hanson A D. Drought and salt tolerance: towards understanding and application [J]. Trends in Biotechnology, 1990(8): 358-362.
- [5] 马双艳,姜远茂,彭福田,等. 干旱胁迫对苹果叶片中甜菜碱和丙二醛及脯氨酸含量的影响[J]. 落叶果树, 2003(5): 1-4.
- [6] 高秀萍,闫继耀,刘恩科,等. 水分胁迫下梨、枣和葡萄叶片中甜菜碱含量的变化[J]. 园艺学报, 2002, 29(3): 268-270.
- [7] 刘遵春,刘用生. 盐胁迫对果树生理生化的影响及耐盐性指标的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(14): 3273-3274.
- [8] Grieve C M, Maas E V. Betaine accumulation in salt-stress sorghum [J]. Physiologia Plantarum, 1984, 61: 167-171.
- [9] 马翠兰,刘星辉. 盐对柚幼苗的胁迫效应分析[J]. 热带作物学报, 2004, 25(1): 28-31.
- [10] Rajashekar C B, Zhou H, Marcum K B, et al. Glycine betaine accumulation and induction of cold tolerance in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch) plants [J]. Plant Science, 1999, 148: 175-183.
- [11] Garrow T A, Szegedi S S, Castro C. Assigning enzymatic function to betaine-homocysteine S-methyltransferase-2 (BHMT2) as an S-methylmethionine (SMM)-specific homocysteine (Hcy) methyl transferase [J]. FASEB J., 2006, 20: 606.
- [12] Sakamoto A, Valverde R, Ali A, et al. Transformation of Arabidopsis with the coda gene for choline oxidase enhances freezing tolerance of plants [J]. Plant J, 2000, 22(5): 449-453.
- [13] Hanson A D, May A M. Betaine synthesis in chenopods: localtion in chloroplast [J]. Mat. Acad. Sci. USA, 1985, 82(1): 3678-3695.
- [14] Arakawa K, Takabe T, Sugiyama T, et al. Purification of betaine aldehyde dehydrogenase from spinach leaves and preparation of its antibody [J]. Bacteriol, 1987, 101: 1485-1488.
- [15] Weretilnyk E A, Hanson A D. Molecular cloning of a plant betaine aldehyde dehydrogenase, an enzyme implicated in adaptation to salinity and drought [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 2745-2749.
- [16] Nolte K D, Hanson A D, Gage D A. Proline accumulation and methylation to proline betaine in Citrus: Implications for genetic engineering of stress resistance [J]. J. Amer. Sor. Hort. Sci, 1997, 122: 8-13.
- [17] 杨传平,刘桂丰,梁宏伟,等. 耐盐基因 *Bet-A* 转化小黑杨的研究[J]. 林业科学, 2001, 37(6): 34-38.
- [18] Rajendrakumar C S V, Suryanarayana T, Reddy A R. DNA helix destabilization by proline and betaine: possible role in the salinity tolerance process [J]. FEBS Letters, 1997, 410(2-3): 201-205.
- [19] 孙仲序,陈受宜,王建设,等. 农杆菌介导 BADH 基因转化葡萄的研究[J]. 果树学报, 2003, 20(2): 89-92.
- [20] 王一鸣,王有年,师光禄,等. 外源甜菜碱对水分胁迫下桃树生理响应的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(3): 542-548.
- [21] 谈建中,承建平,孙丙耀,等. 外源甜菜碱对桑树抗盐生理的影响及其作用机理的研究[J]. 蚕业科学, 2005, 31(4): 404-408.
- [22] 孟凤,郁松林,郑强卿,等. 外源甜菜碱对葡萄幼苗抗高温胁迫能力的影响[J]. 果树学报, 2008, 25(4): 581-584.
- [23] 苏文潘,李茂富,黄华孙. 甜菜碱对低温胁迫下香蕉幼苗细胞膜保护酶活性的影响[J]. 广西农业科学, 2005, 36(1): 21-23.
- [24] 张国英,谈建中,吴志平,等. 外源甜菜碱对桑种子抗盐性效应的影响[J]. 蚕业科学, 2005, 31(2): 199-202.
- [25] 田晓梅. 甜菜碱浸种对干旱条件下裸大麦叶片 H_2O_2 代谢的影响[J]. 大麦科学, 2001(4): 21-23.
- [26] 李新梅,孙丙耀,谈建中,等. 根施甜菜碱对盐胁迫下桑树幼苗生理生化反应的影响[J]. 蚕业科学, 2006, 32(3): 414-417.
- [27] 刘瑞冬,王有年,于同泉,等. 水分胁迫下外源甜菜碱对仁用杏叶片光合作用的影响[J]. 北京农学院学报, 2004, 19(1): 10-13.
- [28] 韦建学,李绍鹏,李茂富. 外源甜菜碱对香蕉幼苗抗冷性的影响[J]. 广东农业科学, 2007(7): 41-43.

The Resistance Functions of Betaine in Fruit Trees Under Stress Environment

XU Pei-lei, AI Jun, LI Xiao-hong, WANG Zhen-xing, ZHANG Qing-tian, QIN Hong-yan

(Laboratory of Special Wild Plant Physiology, Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin 130112)

Abstract: Betaine as a non-toxic osmotic adjustment substance which has important physiological significance for maintaining metabolism and survival when fruit trees under stress, systematic discussion about the action mechanism of betaine in plants under stress conditions. Because not all plants could produce endogenous betaine under stress conditions, thus the studies of exogenous betaine improve the resistance of plants received extensive attention. This article illustrated the different ways by adding exogenous betaine would increase the stress resistance. Attempt to provide new technical measures for enhance the resistance of fruit trees.

Key words: betaine; fruit trees; stress; resistance