

NaCl 胁迫对番茄叶片光合特性及蔗糖代谢的影响

鲁少尉¹, 齐飞¹, 李天来²

(1. 农业部规划设计研究院 设施农业研究所, 北京 100125; 2. 沈阳农业大学 园艺学院, 辽宁省设施园艺重点实验室, 辽宁 沈阳 110866)

摘要:为了从碳水化合物生产及代谢的角度分析盐胁迫影响番茄产量和果实品质的原因, 以番茄品种‘辽园多丽’为试材, 研究不同浓度的 NaCl 胁迫处理对番茄光合特性及叶片中糖代谢的影响。结果表明: 盐胁迫导致番茄叶片的净光合速率下降, NaCl 浓度越大降低得越多; 盐胁迫降低了番茄叶片的气孔导度、胞间 CO₂ 浓度和蒸腾速率, 降低了番茄叶片的叶绿素 a、b 和总叶绿素含量, 这种降低与 NaCl 浓度正相关。NaCl 胁迫导致番茄叶片中果糖和葡萄糖大量积累, NaCl 浓度越高积累得越多; NaCl 胁迫降低了番茄叶片中的蔗糖和淀粉含量; NaCl 胁迫后, 番茄叶片中的转化酶活性以及蔗糖合成酶活性均有所提高, 而且随着盐浓度增加而增大。说明 NaCl 胁迫破坏了番茄叶片的光合机能, 降低了光合作用效率, 而且盐浓度越大降低得越多; NaCl 改变了番茄叶片中的糖代谢方向, 显著增加了淀粉和蔗糖的分解, 提高了叶片中的果糖和葡萄糖含量, 而且这种影响随着盐浓度增加而增大。

关键词:番茄; 盐胁迫; NaCl; 光合作用; 蔗糖代谢

中图分类号:Q 945.78 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)09-0014-05

植物叶片中糖的合成与代谢是影响果实糖积累的重要因素。叶片通过光合作用形成碳水化合物, 并进行一系列的代谢过程形成蔗糖后, 经维管束系统运输到果实, 为果实生长发育提供物质和能量。蔗糖是植物光合作用的主要产物, 是“库”代谢的主要基质。因此, 叶片光合作用的强弱及糖代谢的方向和速度影响叶片中糖的输出, 对果实糖的积累起着非常关键的作用。Gao Z F 等^[1]认为盐分胁迫下, 番茄叶片中蔗糖的累积量高, 相应的酸性转化酶活性低, 这种情况下, 叶片中蔗糖的高积累及幼果中淀粉的快速合成是成熟果实中高糖累积的重要原因。Adele M 等^[2]用不同梯度的 NaCl 处理 Kikuyu 草, 盐胁迫 15 d 后, 在 150 mmol/L 和 200 mmol/L NaCl 梯度处理下的叶片中转化酶活性明显增强而根中转化酶活性降低, 说明高盐环境中, Kikuyu 草体内已糖积累量显著。有关盐胁迫下番茄光合特性的变化以及光合运转糖-蔗糖在叶片中的代谢变化尚未见详细报道。该研究通过果实发育期 3 个不同浓度的 NaCl 处理, 研究盐胁迫对番茄叶片光合作用及其相关因素、叶片中糖含量及糖代谢相关酶活性的影响, 从源头探讨盐胁迫增

加番茄果实中糖分含量的原因, 为进一步调控番茄品质提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以番茄品种‘辽园多丽’为试材, 穴盘育苗, 番茄幼苗子叶完全展开后浇灌 1/2 剂量的 Hoagland 配方营养液。

1.2 试验方法

试验于 2008 年 1~6 月在沈阳农业大学园艺学院科研基地日光温室内进行。番茄六叶一心时定植于营养液栽培槽中, 栽培槽长 2 m, 宽 1.4 m, 高 12 cm, 行距 45 cm, 株距 32 cm, 正常栽培管理。试验以 1×Hoagland 营养液为对照, 以 1×Hoagland 营养液中分别加入 25、50 和 75 mmol/L NaCl 为处理。各处理均在番茄第 1 花序第 1 花开放后 20 d 开始, 至果实成熟结束。调节营养液 pH 为 (6.5±0.1), 用气泵进行不间断通气, 每 7 d 更换 1 次营养液。

1.3 项目测定

1.3.1 可溶性糖含量的测定 糖的组成和含量的测定方法依据 Madore M A 等^[3]和齐红岩等^[4]的方法, 并加以改进。在田间取样后立即称重, 然后置入装有一定体积 80% 乙醇的试管中, 80℃ 水浴 1 h 后冷却、封存。不同时期的样品都取完后, 再用 80% 乙醇, 80℃ 水浴反复提取 2 次, 合并提取液, 过 C₁₈ 小柱滤除色素, 之后转入蒸发皿中蒸干, 用 1 mL 超纯水溶解, 上清液经 0.45 μm 滤膜过滤后进液相 (HPLC) 测定, 测定仪器及色谱条件为: Waters 600E

第一作者简介:鲁少尉(1983-), 男, 辽宁沈阳人, 博士, 现主要从事设施蔬菜逆境生理的研究工作。

责任作者:李天来(1955-), 男, 博士, 教授, 研究方向设施蔬菜栽培生理。E-mail: tianlaili@126.com。

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划资助项目(2006BAD07B04)。

收稿日期:2011-12-16

高效液相色谱,2410 示差折光检测器,流动相比比例为 75% 乙腈:25%超纯水,流速为0.8 mL/min。

1.3.2 淀粉含量的测定 取测糖后的干燥残渣,采用高氯酸水解法^[5]测定叶片中淀粉的含量。

1.3.3 酶的提取方法 采用王永章等^[6]和 Julie S 等^[7]的方法。取冷冻的样品,加少量的石英砂和 10 mL HEPES 缓冲液,冰浴研磨成匀浆,4 层纱布过滤,12 000 r/min(4℃)离心 20 min,上清液加硫酸铵至 80% 溶解度,用 12 000 r/min(4℃)离心 20 min,弃上清液,用提取缓冲液 3 mL 溶解沉淀,再用稀释 10 倍的 HEPES 缓冲液透析 20 h 后测定。第 1 次离心后,在含有沉淀的离心管中加入 3 mL 包含 1 mol/L NaCl 的 HEPES 缓冲液,然后 4℃ 震荡培养 4 h,12 000 r/min 离心 20 min,上清液中包含束缚型酸性转化酶,透析 20 h 后测定。以上所有操作均在 0~4℃ 进行。

1.3.4 酶活性的测定 采用於新建^[8]和 Balibrea M E 等^[9]的方法,并加以改进。可溶性酸性转化酶和束缚型酸性转化酶活性的测定:采用 0.8 mL 反应液(0.1 mol/L pH 4.8 的磷酸氢二钠-柠檬酸钠缓冲液,0.1 mol/L 的蔗糖)中加入 0.2 mL 酶液,37℃ 条件下反应 30 min,3,5-二硝基水杨酸法测定生成的还原糖含量,酶的活性单位为 Glucose $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ 。中性转化酶活性的测定:采用 0.8 mL 反应液(0.1 mol/L pH 7.2 的磷酸氢二钠-柠檬酸钠缓冲液,0.1 mol/L 的蔗糖)中加入 0.2 mL 酶液,37℃ 条件下反应 30 min,3,5-二硝基水杨酸法测定生成的还原糖含量,酶的活性单位为 Glucose $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ 。蔗糖合成酶活性测定:采用 0.35 mL 反应液(0.05 mol/L 果糖,0.82% UDPG,0.1 mol/L Tris,10 mmol/L MgCl_2)中加入 0.2 mL 酶液,37℃ 条件下反应 30 min,用间苯二酚显色法测定,酶的活性单位用

Sucrose $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对番茄净光合速率的影响

由图 1 可知,在花后 29 d,番茄叶片的净光合速率达到最大值,随后不断下降。盐胁迫没有改变这一趋势,但降低了各个时期番茄叶片的净光合速率,而且随着 NaCl 浓度的升高,降低得越多。在花后 47 d,75 mmol/L NaCl 胁迫下,番茄叶片的净光合速率较对照降低了 17.7%;在不同发育时期,50 mmol/L NaCl 胁迫下,番茄叶片的净光合速率较对照分别下降 7.5%到 12%。

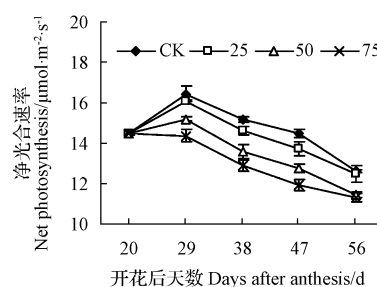


图 1 盐胁迫对番茄叶片净光合速率的影响

Fig. 1 Effects of salt stress on net photosynthesis in tomato leaves

2.2 NaCl 胁迫对番茄叶片光合作用相关因素的影响

由图 2 可知,从花后 20 d 开始番茄叶片气孔导度和胞间 CO_2 浓度先升高后下降,气孔导度在花后 38 d 达到最大,胞间 CO_2 浓度在花后 29 d 达到最大。盐分胁迫降低了番茄叶片的气孔导度、胞间 CO_2 浓度和蒸腾速率,NaCl 浓度越大降低得越多;盐分胁迫增加了气孔限制值,NaCl 浓度越大增加得越多。由此可见,盐胁迫下番茄叶片净光合速率的下降是由于叶片气孔导度的下降,导致胞间 CO_2 浓度的下降和气孔限制值的增加。

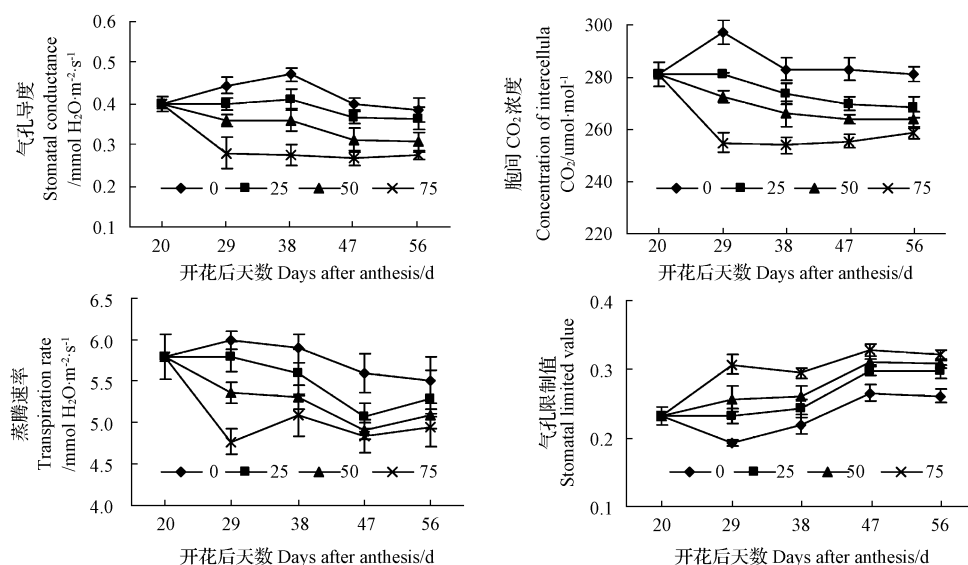


图 2 盐胁迫对番茄叶片光合作用相关因素的影响

Fig. 2 Effects of salt stress on photosynthesis related factors in tomato leaves

2.3 NaCl 胁迫对番茄叶片叶绿素含量的影响

由图 3 可知,对照植株叶片的叶绿素 a、b 和总叶绿素含量呈现先增加后减少的变化趋势,峰值出现在花后 38 d,花后 56 d 的含量低于花后 20 d 的含量。叶绿素 a/b 在花后 20 d 之后迅速升高,花后 29 d 达到峰值,之后不断下降。盐分胁迫降低了番茄叶片的叶绿素 a、b 和总叶绿素含量,胁迫 9 d 后,叶片的叶绿素 a、b 和总叶绿素含量略有下降;胁迫 18 d 后显著下降,NaCl 浓度越大降低得越多。

2.4 NaCl 胁迫对番茄叶片中糖分含量的影响

盐胁迫会使番茄根系环境中的水势下降,造成吸水困难。为了能够吸收更多的水分,番茄植株需要合成大

量可溶性糖等有机渗透调节剂来降低自身的水势。由图 4 可知,NaCl 胁迫 10 d 后,番茄叶片中果糖和葡萄糖大量积累,而且是 NaCl 浓度越高积累得越多。

在 NaCl 胁迫下,番茄叶片中的果糖和葡萄糖含量在花后 30 d 要高于花后 20 d 的含量,之后开始下降,但一直高于对照。在花后 30 d,3 个不同浓度 NaCl 处理下,番茄叶片中果糖含量分别比对照提高 11%、32%和 42%,葡萄糖含量分别比对照提高 6%、15%和 21%。在花后 30 d,番茄叶片中的蔗糖含量在高浓度处理中有所降低,但在另 2 个较低浓度处理下含量升高;之后,无论高浓度还是低浓度处理,蔗糖含量均下降,而且是 NaCl 浓度越高下降得越多。番茄叶片中的淀粉含量在花后

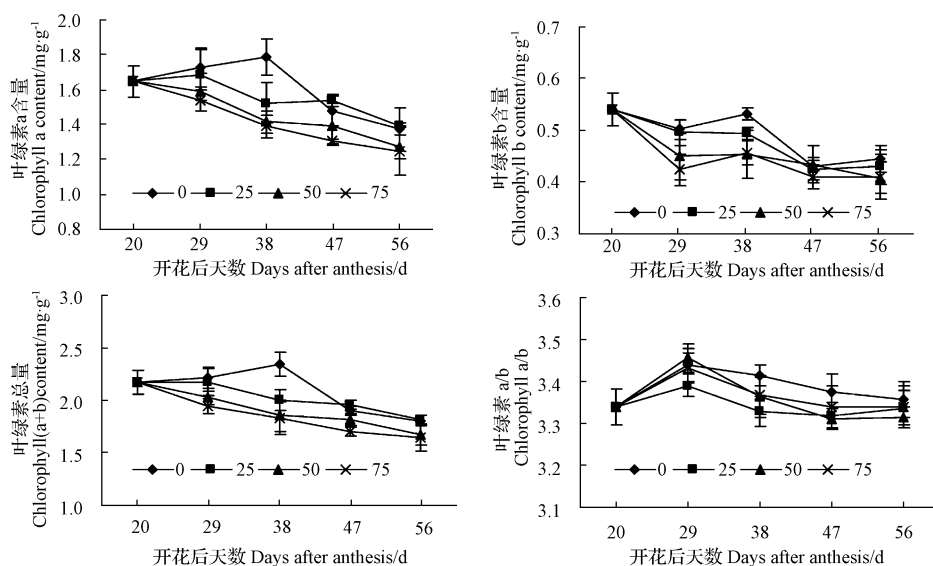


图 3 盐胁迫对番茄叶片叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effects of salt stress on chlorophyll content in tomato leaves

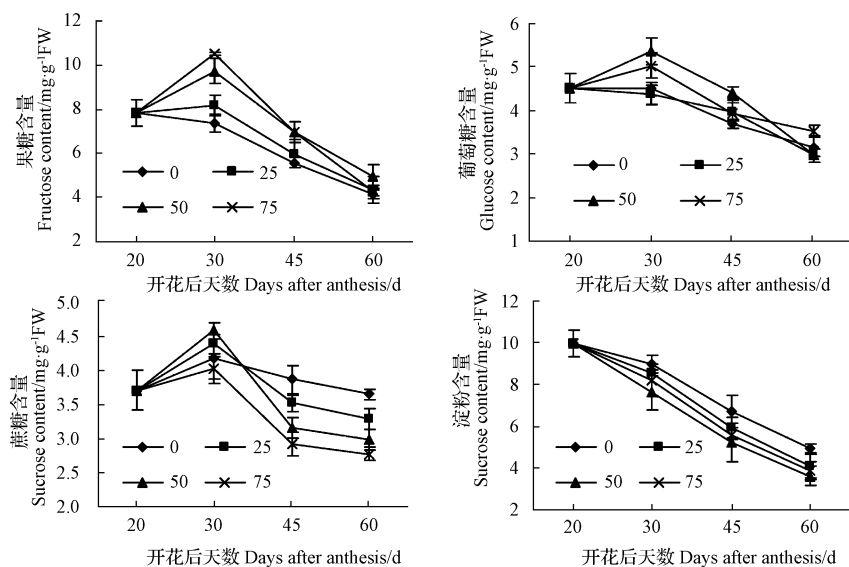


图 4 NaCl 胁迫对番茄叶片中糖分含量的影响

Fig. 4 Influence of NaCl stress on carbohydrate content in tomato leaves

20 d 开始不断下降,盐胁迫进一步降低了各个时期叶片中的淀粉含量,而且是 NaCl 浓度越高下降得越多。

2.5 NaCl 胁迫对番茄叶片中蔗糖代谢相关酶活性的影响

植物在盐胁迫下可溶性糖含量的增加,往往是由于蔗糖裂解酶活性的增强。番茄植株中的蔗糖裂解酶主要有转化酶和蔗糖合成酶两大类,转化酶又分为酸性转化酶和中性转化酶,酸性转化酶又包括可溶性和不溶性(束缚型)2 种;蔗糖合成酶是一种催化可逆反应的酶,既可水解蔗糖又能合成蔗糖,但水解活性是主要的。由图 5 可知,在花后 20 d 番茄叶片中的 4 种蔗糖裂解酶中,束缚型酸性转化酶活性最高,其次是蔗糖合成酶的裂解活

性和可溶性酸性转化酶活性,活性最低的是中性转化酶。NaCl 胁迫后,番茄叶片中的转化酶活性以及蔗糖合成酶的裂解活性均有所提高,而且随着盐浓度增加而增大。花后 30 d,在 25 mmol/L NaCl 胁迫下,只有中性转化酶活性增加较多,其它 3 种裂解酶活性只是略有增加;在 50 mmol/L 和 75 mmol/L NaCl 胁迫下,4 种蔗糖裂解酶活性均大幅增强,75 mmol/L NaCl 处理要高于 50 mmol/L NaCl 处理,但二者之间没有显著差异;在 75 mmol/L NaCl 胁迫下,束缚型酸性转化酶活性增加 30.4%,蔗糖合成酶的裂解活性增加 23.3%,可溶性酸性转化酶活性增加 37.4%,中性转化酶增加 59.3%。

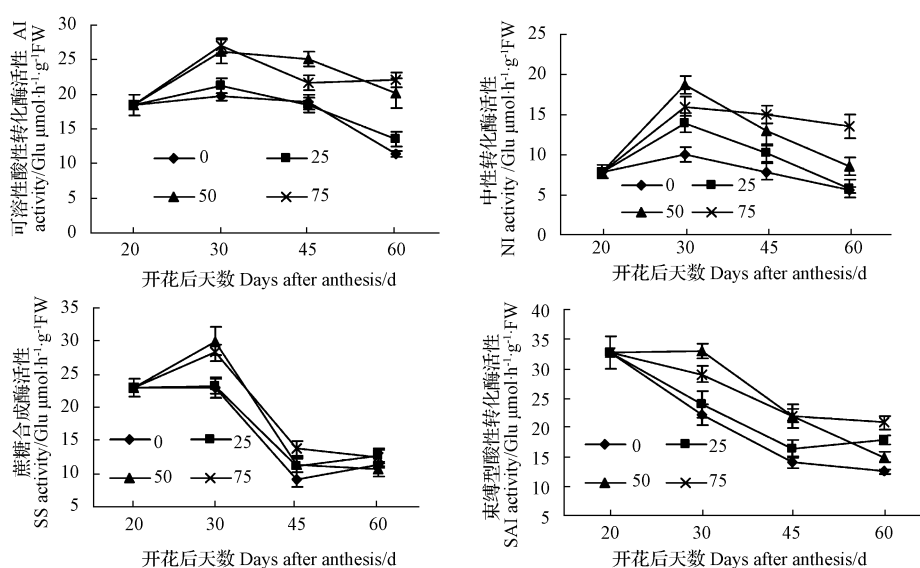


图 5 NaCl 胁迫对番茄叶片中蔗糖裂解酶活性的影响

Fig. 5 Effect of NaCl stress on sucrolytic activities in tomato leaves

3 讨论与结论

3.1 盐胁迫对番茄光合特性的影响

在受到盐胁迫的情况下,植物的各种生理代谢都会受到影响,直接或间接地影响到叶绿素的合成与分解, Yeo A^[10] 研究表明,盐胁迫下植物叶片中的叶绿素含量下降,主要原因是盐胁迫增强了叶绿素酶的活性,促进了叶绿素分解,从而引起叶绿素含量降低。该试验 3 个浓度 NaCl 胁迫下,番茄叶片净光合速率降低,叶绿素含量降低,气孔导度也降低,而且随着盐胁迫浓度的增加,番茄叶片光合速率逐渐下降,其变化规律与 Chl 的变化规律基本一致。Berry J A 等^[11] 认为,盐胁迫下植物光合作用的减弱是由多种因素引起的,除上述光合色素含量的变化外,还包括渗透胁迫引起的气孔限制因素和非气孔限制因素。盐胁迫引起非盐生植物光合速率降低是由于气孔限制因素还是非气孔限制因素的研究,存在不同的结果。对菜豆的研究表明,气孔因素是引起净光

合速率下降的主要原因;而对甜椒的研究表明非气孔因素导致净光合速率下降。任艳芳等^[12] 对茼蒿的研究认为,盐胁迫对光合抑制是气孔因素还是非气孔因素不仅和作物种类相关,还和盐胁迫的时间长短、胁迫的浓度相关。该试验结果表明,在 75 mmol/L 及以下的 3 个浓度 NaCl 胁迫下,番茄叶片气孔导度下降,伴随着胞间 CO₂ 浓度下降,而叶绿素含量也随之降低,这说明此时光合速率的下降是气孔因素和非气孔因素共同造成的。

3.2 盐胁迫对番茄叶片中蔗糖代谢的影响

在整个植株生长发育过程中,番茄叶片的 pH 在 5.0~7.0,即叶片内一直是呈微酸性的生理环境,这最有利于蔗糖合成酶裂解蔗糖的作用的发挥,也有利于酸性转化酶表现出较大活性。在植株生长发育的一定时期,NaCl 胁迫增强了番茄叶片中蔗糖裂解酶的活性,增加的程度取决于 NaCl 的浓度,在 0.025 M NaCl 处理下总的裂解酶活性略有增加,而 0.05 M NaCl 和 0.075 M NaCl

处理下总的裂解酶活性显著增加。在果实发育期,3个浓度 NaCl 盐胁迫处理均可提高叶片中的果糖含量,浓度越大增加得越多;NaCl 胁迫下番茄叶片中的葡萄糖的含量略有增加;而在果实成熟期,盐胁迫处理的果糖和葡萄糖含量逐渐降低到与对照水平接近。在整个生长期,3个浓度盐胁迫处理之间基本上是 NaCl 浓度越大,其果糖和葡萄糖含量越高;而总的来说,盐胁迫对番茄叶片中的蔗糖含量影响不大,只是在果实发育后期时,降低了叶片中蔗糖含量;在番茄果实发育中后期,盐胁迫降低了番茄叶片中的淀粉含量。而在整个果实发育期内,番茄叶片中的葡萄糖与果糖含量并不相一致,葡萄糖的含量要低于果糖含量,这可能是因为葡萄糖更多的参与能量转换和淀粉的合成。

参考文献

- [1] Gao Z F, Sagi M, Lips S H. Carbohydrate metabolism in leaves and assimilate partitioning in fruits of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) as affected by salinity [J]. Plant Science, 1998, 135: 149-159.
- [2] Adele M, Maria S, Maria R P. Tolerance of kikuyu grass to long term salt stress is associated with induction of antioxidant defences [J]. Plant Growth Regulation, 2003, 1: 57-62.
- [3] Madore M A. Carbohydrate metabolism in photosynthetic and nonphotosynthetic tissues of variegated leaves of *Coleus blumei* Benth [J]. Plant Physiology, 1990, 93: 617-622.
- [4] 齐红岩,李天来,刘海涛. 番茄不同部位中糖含量和相关酶活性的研究[J]. 园艺学报, 2005, 32(2): 239-243.
- [5] 牛森. 作物品质分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 1992: 46.
- [6] 王永章, 张大鹏. ‘红富士’苹果果实蔗糖代谢与酸性转化酶和蔗糖合酶关系的研究[J]. 园艺学报, 2001, 28(3): 259-261.
- [7] Julie S, Nicholas B, Robin W, et al. The impact of reduced vacuolar invertase activity on the photosynthetic and carbohydrate metabolism of tomato [J]. Planta, 1996, 200: 265-272.
- [8] 於新建. 蔗糖合成酶与蔗糖磷酸合成酶活性的测定. 植物生理学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 148-149.
- [9] Balibrea M E, Dell'Amico J, Bolaro-Ân M C. Carbon partitioning and sucrose metabolism in tomato plants growing under salinity [J]. Physiologia Plantarum, 2000, 110: 503-511.
- [10] Yeo A. Molecular biology of salt tolerance in the context of whole plant physiology [J]. Journal of Experimental Botany, 1998, 49: 915-929.
- [11] Berry J A, Downton W J S. Environmental regulation of photosynthesis Govind J. Photosynthesis [M]. New York: Academic Press, 1982: 263-345.
- [12] 任艳芳, 何俊瑜. NaCl 胁迫对莴苣幼苗生长和光合性能的影响[J]. 华北农学报, 2008, 23(4): 149-153.

Effect of NaCl Stress on Photosynthetic Characteristics and Sucrose Metabolizing in Tomato Leaf

LU Shao-wei¹, QI Fei¹, LI Tian-lai²

(1. Institute of Facility Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Engineering, Beijing 100125; 2. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Key Laboratory of Protected Horticulture of Liaoning Province, Shenyang, Liaoning 110866)

Abstract: In order to analysis the reason of salt stress affect tomato yield and fruit quality from the carbohydrate production and metabolism, tomato varieties ‘Liaoyuanduoli’ were used as material, the effect of different concentrations NaCl stress treatment on tomato leaf photosynthesis and sugar metabolism were studied. The results showed that salt stress decreased tomato leaf net photosynthetic rate, the greater NaCl concentration the more reduction; salt stress reduced tomato leaf stomatal conductance, intercellular CO₂ concentration and transpiration rate, reduced chlorophyll a, b and total chlorophyll content, this reduction was associated with the NaCl concentration. NaCl stress led to significant accumulation of fructose and glucose in tomato leaves, the higher NaCl concentration the more accumulation; NaCl stress reduced sucrose and starch content in tomato leaves; NaCl stress increased invertase activity and sucrose synthase activity in tomato leaves, and the addition was more with the increase of salt concentration. The results indicated that NaCl stress damaged the photosynthetic function of tomato leaf, reduced the efficiency of photosynthesis, and the reduction is greater with increasing of salt concentration; NaCl stress altered the direction of sugar metabolism in tomato leaves, significant increased the decomposition of starch and sugar, increased the content of fructose and glucose in tomato leaves, and the effect increased with increasing of salt concentration.

Key words: tomato; salt stress; NaCl; photosynthesis; sucrose metabolism