

叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果幼树生理指标的影响

王贵平, 王金政, 薛晓敏, 路超, 聂佩显

(山东省果树研究所, 山东 泰安 271000)

摘要:以1年生“富士”苹果苗(砧木为“平邑甜茶”)为试材,通过盆栽试验,研究了干旱胁迫过程中叶面喷施甜菜碱对苹果幼树叶片中叶绿素、可溶性蛋白质、脯氨酸、可溶性糖、电解质外渗和丙二醛(MDA)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性的影响。结果表明:干旱胁迫过程中,喷施甜菜碱预处理有效缓解了叶绿素和可溶性蛋白质含量的下降,增加了脯氨酸和可溶性糖的含量;改善了苹果的水分状况;抗氧化酶活性也显著增强,膜脂过氧化程度减弱;叶面喷施甜菜碱提高了苹果幼树的抗旱性。

关键词:甜菜碱;苹果;干旱胁迫;生理响应

中图分类号:S 661.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)12-0010-05

苹果是我国农业生产的主要经济作物之一,是我国第一大水果,其大多栽培在缺乏灌溉条件和水分易流失的山地丘陵,果园旱害时有发生,因此研究苹果的抗旱性对干旱的生理反应,对采取有效的措施与自然灾害作斗争具有重要的理论和实践意义。甘氨酸甜菜碱(glycinebetaine, GB, 以下简称甜菜碱)是一种季胺类化合物,其特定的分子结构使其对生物膜及蛋白质具有保护作用,可提高植物的抗性^[1-4]。苹果合成甜菜碱的能力很低^[5],通过外源施用甜菜碱的方法是否也可以增加苹果体内甜菜碱积累,进而改善苹果的抗胁迫能力,有关此方面研究还鲜见报道。现以生产上种植的“富士”苹果苗为试材,采用叶面喷施甜菜碱的方法,研究了外源甜菜碱对干旱胁迫下苹果幼树生理状况的改善作用,以期为甜菜碱在果树抗逆栽培上的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为盆栽的1年生“富士”苹果,砧木为“平邑甜茶”(Malus hupehensis),所使用盆直径45 cm、高30 cm,盆土为3份壤土混1份有机肥(兔粪与羊粪的混合物),装土量为15 kg/盆,常规管理。

第一作者简介:王贵平(1980-),女,山东菏泽人,博士,助理研究员,现主要从事水果育种与栽培生理等研究工作。E-mail:guigui-0530@163.com.

基金项目:山东省自然科学基金资助项目(ZR2011CM034)。

收稿日期:2014-03-14

1.2 试验方法

1.2.1 甜菜碱(GB)预处理 试验在山东省果树研究所苗圃基地的防雨棚中进行。选取长势基本一致的幼树,分为2组进行叶面喷施甜菜碱处理。1组用含有100 mmol/L(经预试为最佳浓度)甜菜碱(Sigma公司产品)的溶液(用去离子水配制,含2‰Tween-20),另1组以喷去离子水为对照(CK:含2‰Tween-20)。每天早晚各喷施溶液1次,叶面、叶背喷施均匀,以保持甜菜碱浓度相对稳定,连续处理3 d。

1.2.2 胁迫处理 甜菜碱预处理后,取足够数量的CK材料和甜菜碱预处理的苹果植株材料,采用自然干旱的方式进行控水处理,分别于控水0、3、6、9 d采样测定。选取枝梢上位置相同叶片(梢顶部向下第3~5片叶)进行测试。

1.3 项目测定

1.3.1 叶绿素含量的测定 参照赵世杰等^[6]的方法进行。

1.3.2 叶片相对含水量(RWC)的测定 参照Bajji等^[7]的方法测定。剪下叶片,擦干表面,迅速称量鲜重(FW),然后将其浸于蒸馏水中,4℃下暗处放置24 h吸水饱和,取出,吸水纸擦干表面水分,称量饱和鲜重(SFW),然后放于烘箱80℃烘48 h,称量干重(DW),利用公式 $RWC = (FW - DW) / (SFW - DW) \times 100\%$,计算相对含水量(RWC)。

1.3.3 脯氨酸和可溶性糖含量的测定 参照赵世杰等^[6]的方法,游离脯氨酸含量采用酸性茚三酮法测定;可溶性糖含量采用苯酚法测定。

1.3.4 MDA 含量和电解质外渗量的测定 参照赵世杰等^[6]的方法,膜脂过氧化程度用丙二醛(MDA)含量表示,膜透性用电解质外渗量(相对电导度)表示。

1.3.5 抗氧化酶(SOD、CAT)提取和活性测定 取 0.5 g 叶片放于预冷的研钵中,加 1 mL 磷酸缓冲液($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) (pH 7.8)冰浴研磨成浆,加缓冲液至终体积 5 mL。取 2 mL 于 12 000 r/min 下离心 10 min,以上清液为超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(CAT)粗提液,参照 Bartoli 等^[8]的方法测定酶活性。

1.3.6 可溶性蛋白质含量的测定 参照赵世杰等^[6]的方法,以考马斯亮蓝 G-250 2.8 mL 溶液及 0.2 mL 酶液,反应 2 min,用 UV-1601 型分光光度计在 595 nm 处比色。

1.4 数据分析

所有试验测定均为 3 次或者 3 次以上重复的平均

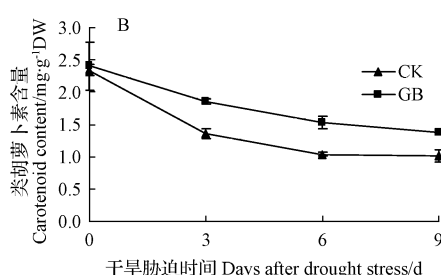
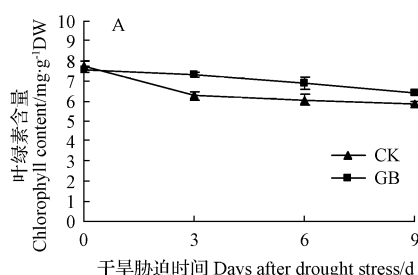


图 1 叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片叶绿素(A)和类胡萝卜素(B)含量的影响

Fig. 1 Effect of spraying glycinebetaine on the chlorophyll (A) and carotenoid content (B) in leaves of apple under drought stress

由图 2 可以看出,随干旱胁迫时间的延长,可溶性蛋白质含量逐渐下降,GB 预处理叶片下降幅度明显低于 CK ($P<0.05$),在胁迫的第 3、6、9 天,GB 预处理叶片可溶性蛋白质含量分别下降了 19.4%、32.0% 和 35.5%,而对照叶片分别下降了 25.5%、46.0% 和 51.2%。

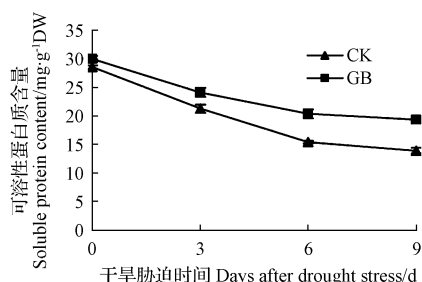


图 2 叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片可溶性蛋白质含量的影响

Fig. 2 Effect of spraying glycinebetaine on the soluble protein content of apple leaves under drought stress

2.2 叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片相对含水量(RWC)的影响

如图 3 所示,干旱胁迫过程中,苹果叶片相对含水量呈下降趋势,在干旱处理的第 3 天、第 6 天和第 9 天

值±SE。利用 DPS 软件(浙江大学,中国)进行统计分析,利用 Duncan 新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片色素含量和可溶性蛋白质含量的影响

由图 1 可以看出,干旱胁迫过程中,叶片叶绿体色素含量逐渐下降,GB 预处理可以减轻胁迫对色素的损害。干旱胁迫后的第 3 天,对照叶片叶绿素含量下降了 19.2%,而 GB 预处理叶片下降了 3.2%,胁迫后的第 6 天,对照和 GB 预处理叶片分别下降了 21.8% 和 8.9%,胁迫后的第 9 天,对照和 GB 预处理叶片分别下降了 24.1% 和 15.3%(图 1A)。类胡萝卜素含量的变化趋势(图 1B)和叶绿素变化基本一致。

GB 预处理叶片分别下降了 11.3%、19.2% 和 31.9%,而 CK 叶片分别下降了 18.1%、46.8% 和 57.5%,GB 预处理显著 ($P<0.05$) 缓解了叶片相对含水量的下降。

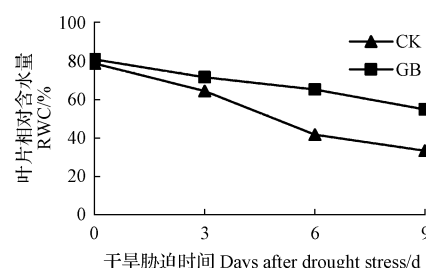


图 3 外源甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片相对含水量(RWC)的影响

Fig. 3 Effect of spraying glycinebetaine on the relative water content (RWC) in leaves of apple under drought stress

2.3 叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片可溶性糖和脯氨酸含量的影响

可溶性糖和脯氨酸是植物体内 2 种重要的有机渗透调节物质^[7]。如图 4A 所示,干旱胁迫过程中,苹果叶片内可溶性糖含量呈上升趋势;在整个胁迫过程中,GB

预处理叶片可溶性糖含量明显高于 CK 植株。图 4B 显示,干旱胁迫过程中,苹果叶片内脯氨酸含量呈先增加后下降趋势,整个干旱过程中,GB 预处理叶片脯氨酸含量明显高于 CK 植株。

2.4 叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片丙二醛(MDA)含量和电解质外渗的影响

干旱会损伤细胞膜,引起离子渗漏,使细胞代谢和功能发生紊乱^[9],这些结果的出现与活性氧积累和发生膜脂过氧化有关。

MDA 含量可以衡量逆境引起的膜脂过氧化程度^[10]。如图 5A 所示,干旱胁迫下 MDA 含量增加明显,但在整个干旱过程中,GB 预处理植株的 MDA 含量明显低于 CK;离子渗漏可以评价细胞膜稳定性,已经被广泛应用于评价作物对胁迫的抗性和敏感性^[11-12],如图 5B 所示,干旱明显($P<0.05$)增加了离子渗漏,随胁迫时间的推迟,离子渗漏的程度更为严重,胁迫过程中,GB 预处理植株的离子渗漏低于 CK。

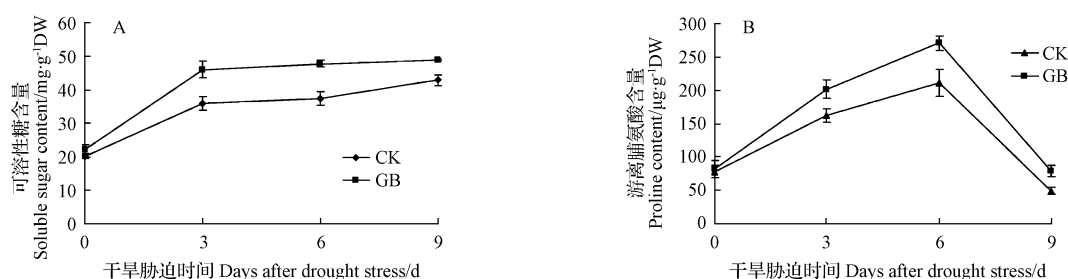


图 4 叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片可溶性糖(A)和脯氨酸(B)含量的影响

Fig. 4 Effect of spraying glycinebetaine on the soluble content (A) and proline content (B) in leaves of apple under drought stress

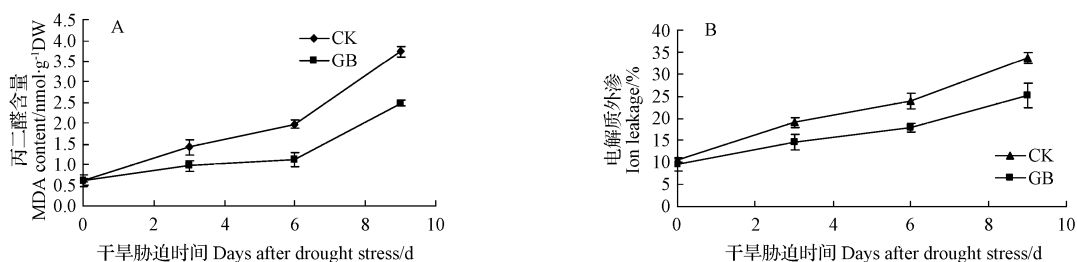


图 5 叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片丙二醛(MDA) 含量(A)和电解质外渗(B)的影响

Fig. 5 Effect of spraying glycinebetaine on MDA content (A) and ion leakage (B) in leaves of apple under drought stress

2.5 叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片抗氧化酶 SOD 和 CAT 活性的影响

如图 6 所示,干旱胁迫过程中,GB 预处理植株和 CK 植株的 SOD 和 CAT 活性均表现先升高后降低趋

势,但是在整个胁迫过程中,GB 预处理植株 SOD 和 CAT 活性始终高于 CK,其中以 GB 对 SOD 活性的影响较大(图 6A)。

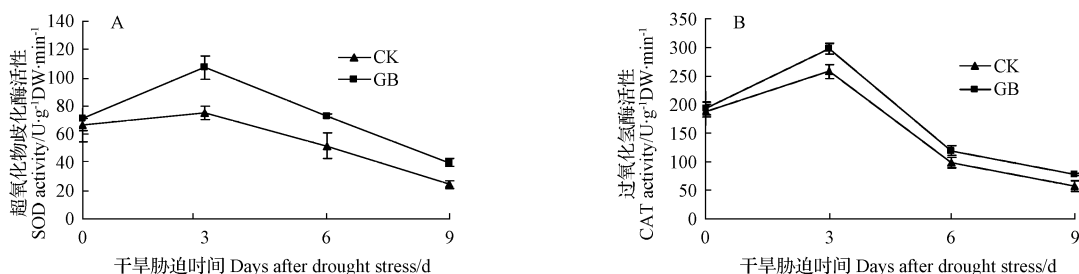


图 6 叶面喷施甜菜碱对干旱胁迫下苹果叶片 SOD 和 CAT 活性的影响

Fig. 6 Effect of spraying glycinebetaine on the SOD activity (A) and CAT activity (B) in leaves of apple under drought stress

3 结论与讨论

苹果是一种中等抗旱果树,其内源甜菜碱的水平很

低^[5],通过叶面喷施的方法可以提高“平邑甜茶”的甜菜碱含量,这为甜菜碱提高苹果抗旱性提供了新的思路和

方法。

干旱胁迫下,苹果的光合能力下降^[13-14],这表现在叶绿素明显降低,干旱胁迫过程中,叶面喷施甜菜碱显著抑制了叶片叶绿素含量的降低(图1),这与1年生植物(作物)上的研究结果相一致^[15-18],有利于植株维持较高的光合作用,从而提高抗旱性。叶面喷施甜菜碱明显提高了叶片的相对含水量(图3),这有利于苹果细胞的水分平衡。甜菜碱对细胞水分状况的改善,可能有利于细胞维持一定的膨压,维持较高的气孔导度,从而有利于维持光合作用。干旱胁迫下,植物会主动积累渗透调节物质,如可溶性糖、脯氨酸、甜菜碱等^[19],增强吸水能力,以维持细胞的水分状况。叶面喷施甜菜碱能维持叶片的水分状况,这可能与增加了脯氨酸、可溶性糖(图4)等相容性物质的含量有关^[18],这与马千全等^[20]、张士功等^[21]对小麦的研究结果相一致。干旱胁迫下,喷施甜菜碱后苹果叶片中可溶性蛋白质含量高于CK(图2),这说明GB预处理可能诱导了某些干旱胁迫蛋白的产生,同时可溶性蛋白质也有增加细胞渗透势的作用,有利于维持叶片的水分状况。

逆境胁迫会造成活性氧积累,叶面喷施甜菜碱预处理提高了抗氧化酶SOD和CAT的活性,这与刘瑞冬等^[22]在仁用杏上的研究结果和韦建学等^[23]在香蕉上的研究结果基本一致。该研究结果发现,GB对SOD的保护更为明显(图6),SOD是水-水循环的一个关键酶,其活性的提高可以促进水-水循环的进行,而水-水循环不但可以清除活性氧,还具有耗散过剩能量的作用^[24],间接减少了活性氧的积累,这对植株抗旱性的提高尤为重要。

无论是苹果砧木“平邑甜茶”苗期的叶面喷施试验(数据未发表),还是在田间1年生苹果(“富士”/“平邑甜茶”)苗的叶面喷施试验,发现外源甜菜碱能被苹果吸收并积累,并在比较长的一段时间内不会降解。这一特点为它在苹果生产中的应用奠定了基础,如果将甜菜碱的施用和叶面施肥结合起来可能更方便,这需要进一步研究,有关甜菜碱与苹果抗逆性研究还有许多工作要做。

参考文献

- [1] Sakamoto A, Murata N. The role of glycinebetaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants[J]. Plant Cell Environ, 2002, 25:163-171.
- [2] Park E J, Jeknic Z, Sakamoto A, et al. Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in tomato protects seeds, plants, and flowers from chilling damage[J]. Plant J, 2004, 40:474-487.
- [3] Waditee R, Bhuiyan M N H, Rai V, et al. Genes for direct methylation of glycine provide high levels of glycinebetaine and abiotic-stress tolerance in *Synechococcus* and *Arabidopsis*[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102:1318-1323.
- [4] Ma X L, Wang Y J, Xie S L, et al. Glycinebetaine Application Ameliorates Negative Effects of Drought Stress in Tobacco[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2007, 54(4):472-479.
- [5] 马双艳,姜远茂,彭福田,等.水分胁迫对几种果树甜菜碱含量的影响[J].山西果树,2003(5):3-4.
- [6] 赵世杰,史国安,董新纯.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业科学技术出版社,2002:55-57.
- [7] Bajji M, Lutts S, Kinet J M. Water deficit effect on solution contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions[J]. Plant Science, 2001, 160:669-681.
- [8] Bartoli C G, Simontacchi M, Tambussi E, et al. Drought and watering-dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. leaves[J]. J Exp Bot, 1999, 50:375-383.
- [9] Terence J, Blake Jiyue L. Hydraulic adjustment in jack pine and black spruce seedlings under controlled cycles of dehydration and rehydration[J]. Physiol Plant, 2003, 117:532-539.
- [10] Sudhakar C, Lakshmi A, Giridarakumar S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity[J]. Plant Sci, 2001, 161:613-619.
- [11] Blum A, Ebercon A. Cell membrane stability as measure of drought and heat tolerance in wheat[J]. Crop Sci, 1981, 21:43-47.
- [12] Rehman H, Malik S A, Saleem M. Heat tolerance of upland cotton during fruiting stage evaluated using cellular membrane thermostability[J]. Field Crops Res, 2004, 85:149-158.
- [13] 刘艳,王丽雪,王有年.水分胁迫对苹果叶片叶绿体1,6-二磷酸果糖磷酸酯酶活性的影响[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2002,23(4):42-45.
- [14] 罗华建,刘星辉.干旱胁迫对光合特性的影响[J].果树科学,1999,16(2):126-130.
- [15] 张建新,徐福利,吕家珑,等.外源甜菜碱对作物的抗旱作用效果研究[J].干旱地区农业研究,2003,21(2):86-90.
- [16] Anjum S A, Farooq M, Wang L C, et al. Gas exchange and chlorophyll synthesis of maize cultivars are enhanced by exogenously-applied glycinebetaine under drought conditions[J]. Plant Soil Environ, 2011, 57(7):326-331.
- [17] Mäkelä P, Kontturi M, Pehu E, et al. Photosynthetic response of drought- and salt-stressed tomato and turnip rape plants to foliar-applied glycinebetaine[J]. Physiol Plant, 1999, 105:45-50.
- [18] Ma X L, Wang Y J, Xie S L, et al. Glycinebetaine Application Ameliorates Negative Effects of Drought Stress in Tobacco[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2007, 54(4):472-479.
- [19] 邹琦.作物抗旱生理生态研究[M].济南:山东科学技术出版社,1994:4.
- [20] 马千全,邹琦,李永华,等.根施甜菜碱对水分胁迫下小麦幼苗水分状况和抗氧化能力的改善作用[J].作物学报,2004(4):321-328.
- [21] 张士功,高吉寅,宋景芝.外源甜菜碱对盐胁迫下小麦幼苗体内几种与抗逆能力有关物质含量以及钠钾吸收和运输的影响[J].植物生理学通讯,2000,36(1):23-26.
- [22] 刘瑞冬,王有年,王丽雪,等.外源甜菜碱对仁用杏抗旱生理指标的影响[J].内蒙古农业大学学报,2004,25(2):69-72.
- [23] 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.
- [24] Saneoka H, Moghaieb R E A, Premachandra G S, et al. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds[J]. Environ Exp Bot, 2004, 52:131-138.

辣椒根系分泌物的收集方法研究

张 婷 玉, 林 多, 杨 延 杰

(青岛农业大学 园艺学院, 山东 青岛 266109)

摘 要:以“保加利亚尖椒”、“948 辣椒”、“茄门甜椒”3 个辣椒品种为试材,采用水培方式,从根系气体环境、温度(15、20、25、30℃)、光照强度(0、60、117 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)和收集时间(1、2、3、4、5、6 h)4 个方面研究了适合辣椒根系分泌物活体收集的方法;同时,以黄瓜幼苗为受体,对在该条件下收集的根系分泌液的化感作用进行了验证。结果表明:在通气条件下,温度为 20℃,光照强度为 117 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,收集时间为 3 h 的辣椒根系分泌物收集量最大;辣椒根系分泌液对黄瓜幼苗生长的影响符合化感物质“低促高抑”的趋势;该收集方法可以作为辣椒根系分泌物活体的收集方法。

关键词:辣椒;根系分泌液;收集方法;化感作用

中图分类号:S 643.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)12-0014-04

辣椒(*Capsicum annuum* L.)是一种重要的茄果类蔬菜,随着专业化生产和设施栽培的发展,辣椒连作障碍逐年加重,当连作障碍发生时,轻者导致减产减收,重者则绝收^[1-2]。已有研究^[3-4]指出,化感效应是引起辣椒连

作障碍的主要因素之一。化感物质的来源主要有植株地上部和凋落物的挥发、淋溶,根系的分泌和植株残体的分解等途径,其中,根系分泌物的影响是不可忽视的一个重要因素^[5-6]。已有研究^[7-8]表明,影响植株根系分泌物的因素是多方面的,主要包括土壤理化特性、植物种类与发育阶段、矿质营养、光温和通气条件及根际微生物等。目前,阶段性植物根系分泌物的收集方法有多种,其中水培(溶液培)^[9]是一种常用方法。采取合理方法对根系分泌物进行收集是化感作用研究中一个非常重要的环节,它不仅影响到所收集的物质是否可靠,而且关系到化感物质能否得到有效分离及准确鉴定^[10]。有效合理的根系分泌物收集方法最直观的验证方法是收集到的根系分泌液能否对受体材料表现为低促高抑

第一作者简介:张婷玉(1988-),女,硕士研究生,研究方向为蔬菜营养生理。E-mail:741911879@qq.com.

责任作者:杨延杰(1972-),男,博士,副教授,研究方向为蔬菜栽培生理。E-mail:yangyanjie72@163.com.

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项经费资助项目(201103001);山东省现代农业产业技术体系蔬菜创新团队资助项目(SDAIT-02-022-06);青岛市科技计划发展项目公共领域科技支撑计划(农业科技)资助项目(12-1-3-22-nsh)。

收稿日期:2014-03-07

Effect of Spraying Glycinebetaine on Physiological Responses of Apple Young Trees Under Drought Stress

WANG Gui-ping, WANG Jin-zheng, XUE Xiao-min, LU Chao, NIE Pei-xian
(Shandong Institute of Pomology, Tai'an, Shandong 271000)

Abstract: Taking one-year-old ‘Fuji’ apple trees as materials (with ‘*Malus hupehensis*’ as rootstock), the effect of spraying glycinebetaine on content of chlorophyll, soluble protein content, soluble sugar content, electrolyte leakage rate, MDA content and antioxidant enzyme activity (SOD activity, CAT activity) were studied under drought stress by pot experience. The results showed that exogenous glycinebetaine (GB) alleviated the decreases of chlorophyll and soluble protein, increased the proline content and soluble sugar accumulation in apple leaves during drought stress, ameliorated the water condition; meanwhile, increased the SOD and CAT activities, decreased the MDA content and cell membrane permeability, so the drought resistance of apple young tree was improved.

Key words: glycinebetaine (GB); apple; drought stress; physiological response