

叶面喷施甜菜碱在烟草叶片保水和耐脱水中的作用

邱念伟, 杜 斐, 郝 爽, 赵 盈, 刘正一

(曲阜师范大学生命科学学院, 山东曲阜 273165)

摘要: 【目的】从保水和耐脱水这一新的角度, 研究叶面喷施甜菜碱在烟草抗旱中的作用。【方法】烟草叶面喷施甜菜碱两周后, 进行脱水和复苏处理。【结果】叶面喷施 5~15 mmol·L⁻¹ 甜菜碱对水分适宜条件下的烟草株高和光合速率并未显著影响, 但叶片叶绿素含量呈现增加的趋势; 喷施 20 mmol·L⁻¹ 甜菜碱的烟草株高却显著低于对照, 叶片发黄, 光合速率下降。喷施 5~15 mmol·L⁻¹ 甜菜碱的烟草叶片在脱水过程中不仅能够保持较高的肉质化程度, 而且其质膜及 PS II 能保持更好的稳定性, 其中喷施 10~15 mmol·L⁻¹ 甜菜碱的效果最好; 但喷施 20 mmol·L⁻¹ 甜菜碱的叶片 PSII 活性小于对照。而喷施甜菜碱的叶片脱水 24 h 后的复苏能力都显著好于对照。【结论】叶面喷施甜菜碱的叶片保水和耐脱水能力显著提高, 喷施甜菜碱的最适浓度为 10~15 mmol·L⁻¹。

关键词: 甜菜碱; 烟草; 保水; 耐脱水; 叶面喷施

The Role of Betaine Foliar-Application in Retaining Water and Dehydration-Tolerance of Tobacco Leaves

QIU Nian-wei, DU Fei, HAO Shuang, ZHAO Ying, LIU Zheng-yi

(College of Life Science, Qufu Normal University, Qufu 273165, Shandong)

Abstract: 【Objective】The role of betaine foliar-application in drought-resistance of tobacco was analyzed in this paper in a new aspect of water-retaining and dehydration-tolerance. 【Method】The tobacco plants were sprayed with different concentrations of betaine for two weeks, and then the leaves were separated from the original plants and dehydrated under controlled conditions. Dehydrated leaves were resuscitated in distilled water-saturated cheesecloth. 【Results】The results showed that foliar-application of 5-15 mmol·L⁻¹ betaine had no significant effects on the height and net CO₂ assimilation rate of tobacco plants under normal condition. Furthermore, its application (5-15 mmol·L⁻¹) enhanced the chlorophyll contents of tobacco leaves. However, the height of tobacco plants sprayed with 20 mmol·L⁻¹ betaine were lower than control plants obviously, so were the chlorophyll content and net CO₂ assimilation rate. The betaine-sprayed leaves were dehydrated under controlled conditions. It was found that tobacco leaves, sprayed with 5-15 mmol·L⁻¹ betaine, can retain higher succulence degree and stronger stability of plasma membrane and photosystem II. However, the activity of PSII in tobacco leaves foliar applied with 20 mmol·L⁻¹ betaine was less than control leaves. Furthermore, the activities of resuscitation of betaine-sprayed leaves were also higher than control plants. 【Conclusion】The results above suggest that foliar-application of betaine have obvious effects on water-retaining and dehydration-tolerance, in which 10-15 mmol·L⁻¹ is optimum concentration.

Key words: Betaine; Tobacco; Water-retaining; Drought tolerance; Foliar application

0 引言

【研究意义】干旱胁迫常常影响植物生长发育, 造成作物严重减产^[1]。据统计, 干旱对农业造成的损失相当于其它各种自然灾害损失之和。因此, 改善植

物本身的抗旱能力, 是提高作物产量的一种有效途径。

【前人研究进展】1975年, Storey等^[2]最早发现许多禾本科和藜科植物适应盐或水分胁迫的有效方式是积累一种无毒的季胺化合物——甜菜碱。甜菜碱作为植物细胞中一种常见的渗透保护物质, 备受前人关

收稿日期: 2006-12-06; 接受日期: 2008-01-16

基金项目: 山东省“十一五”重点学科专项基金(2006); 曲阜师范大学博士科研启动基金(2004)

作者简介: 邱念伟(1976-), 男, 山东嘉祥人, 副教授, 博士, 研究方向为作物逆境生理学。Tel: 0537-4456415; E-mail: nianweiqiu@163.com

注^[3~7]。但是,前人的研究大都集中在干旱胁迫下甜菜碱等有机相容性溶质的渗透调节和渗透保护作用方面,这类物质可以在细胞内积累到很高的浓度而对细胞无害。【本研究切入点】在农业生产中,作物最经常遇到的干旱胁迫是土壤干旱;在土壤干旱不太严重时,植物可以通过渗透调节增加吸水能力,抵御干旱胁迫。但当植物遇到严重的土壤干旱时,植物不是有水不能吸收,而是根本无水可供利用,渗透调节不再起作用。因此笔者认为,植物适应干旱胁迫的过程中,其保水能力和耐脱水能力也同样具有非常重要的作用。而关于甜菜碱在植物体内是否具有保水作用鲜有报道,也没有文献从耐脱水角度研究甜菜碱在作物耐旱中的作用。烟草是重要的经济作物,它起源于雨量充沛的热带,对干旱非常敏感,而其自身不能合成甜菜碱,缺乏有效的耐旱机制,经常因干旱严重影响产量和质量^[8,9]。【拟解决的关键问题】以烟草为试验材料,叶面喷施甜菜碱,探究甜菜碱在烟草保水和耐脱水方面的作用,为农业生产实践和相关的抗旱生理研究提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料培养与amp;处理

本试验所用烟草为栽培品种 K326 (*Nicotiana tabacum* cv. K326)。烟草种子播种在盛有干净石英砂的苗盘内;待烟草长至 5 cm 左右高时,挑选生长一致的烟草幼苗,移栽至盛有干净石英砂的塑料盆中,每个塑料盆 3~4 株,每个处理 5 盆。烟草生长过程中浇灌 1/2 强度的 Hoagland 营养液。培养室的日夜温度分别为 (28±2) °C 和 (20±2) °C,光周期 14 h/10 h,最大照光强度约为 600 μmol·m⁻²·s⁻¹,相对湿度 60%~80%。

烟草培养 2 个月 after 开始用甜菜碱处理。考虑到烟草叶片角质层薄, Betaine 溶液挥发性不强的特点,采用叶面喷施的方法,甜菜碱很容易被烟草吸收^[10,11],相较于根施法更为高效迅速,同时避免了土壤中微生物分解的不利因素。甜菜碱于每晚 19:00 喷施,喷施浓度分别为 5、10、15 和 20 mmol·L⁻¹;对照喷施蒸馏水,记为 0 mmol·L⁻¹。甜菜碱每天喷施 1 次,喷施 2 周后,测定烟草株高、光合速率、叶绿素含量、蒸腾速率、PSII 最大光化学效率以及叶片含水量等指标,分析甜菜碱对烟草在适宜水分条件下生长的影响。同时,将叶片从植株上剪下,在室内进行离体脱水处理,脱水在 25°C、光照 50 μmol·m⁻²·s⁻¹、相对湿度 60% 的环境下进行。脱水过程中,测定叶片的肉质化程度、

PSII 最大光化学效率、丙二醛含量和质膜透性等生理指标,分析甜菜碱在脱水条件下的保水和耐脱水能力。

1.2 试验方法

1.2.1 株高的测定 以烟草茎基部到烟草最幼叶的高度作为烟草的株高,每个处理测 10 个重复。

1.2.2 叶绿素含量测定 参照文献^[12],用 80% 的丙酮提取叶片色素。用紫外可见分光光度计 (UV8500 II, 中国上海) 测定 663 和 645 nm 处吸收值 (A),每个处理测 5 个重复 (下同)。

$$\text{叶绿素 a 浓度 } (\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}) = 12.7A_{663} - 2.69A_{645}$$

$$\text{叶绿素 b 浓度 } (\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}) = 22.9A_{645} - 4.68A_{663}$$

1.2.3 叶片保水能力和复苏能力的测定 以脱水过程中叶片含水量的下降幅度表示叶片的保水能力。保水能力较强的叶片含水量下降幅度较小。选择相同叶位的烟草叶片进行脱水处理,分别于脱水 0、12、24 和 48 h 后称量叶片鲜重。然后将叶片烘干,称其干重。叶片含水量用叶片肉质化程度表示。

$$\text{叶片肉质化程度} = \text{鲜重} / \text{干重}$$

离体脱水 24 h 后的叶片,用浸透蒸馏水的湿纱布包裹,25°C 下暗处复苏 1 h。用复苏后的 PSII 最大光化学效率 (Fv/Fm) 表示脱水叶片复苏能力的大小。

1.2.4 叶片光合速率和蒸腾速率的测定 光合速率和蒸腾速率采用英国 PP system 公司的 Ciras-2 型光合测定系统测定。以完全展开的成熟叶为材料,测定净二氧化碳同化速率 (Pn, μmol·m⁻²·s⁻¹) 和蒸腾速率 (Tr, mmol·m⁻²·s⁻¹)。测定的条件为:大气 CO₂ 浓度 (360±5) μmol·mol⁻¹,湿度 60%~70%。使用仪器自带的卤素灯光源控制光强或者利用自然光源,测定光强为 600 μmol·m⁻²·s⁻¹。

1.2.5 叶绿素荧光的测定 叶片暗适应 30 min 以后,把叶片夹于叶片夹中,用植物效率分析仪 (Plant Efficiency Analyser, PEA; Hansatech Instrument Ltd., UK) 测定叶片的 PSII 最大光化学效率 (Fv/Fm)。测定光源为 6 个发光二极管提供的波长为 650 nm 的红光,光强为 3 000 μmol·m⁻²·s⁻¹,光聚集在直径为 4 mm 的试验材料上,荧光信号的记录时程为 2 s。

1.2.6 丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量的测定 参照 Hodges 等^[13]的方法。丙二醛用 10% 三氯乙酸研磨提取。丙二醛与硫代巴比妥酸 (Thiobarbituric acid, TBA) 反应后,测定 532 和 600 nm 处的光吸收值 (D),丙二醛含量的计算公式如下。

$$C (\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}) = 6.45 \times (D_{532} - D_{600}) - 0.56 \times D_{450}$$

式中减 0.56×D₄₅₀ 是为了除去糖份对吸光度的干扰。

1.2.7 叶片渗透势的测定 取叶片 500 mg 左右, 挤出细胞汁液, 用蒸汽压渗透压计 (vapor pressure osmometer 5520, Hansatech Instrument Ltd., UK) 测得细胞汁液浓度, 利用范特霍夫公式计算出渗透势。

$$\Psi_{\pi} = -iCRT$$

式中, Ψ_{π} 为渗透势; i 为溶质的解离系数; C 为溶质的浓度; R 为气体常数 ($0.00083 \text{ dm}^3 \cdot \text{MPa} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$); T 为绝对温度 (K)。

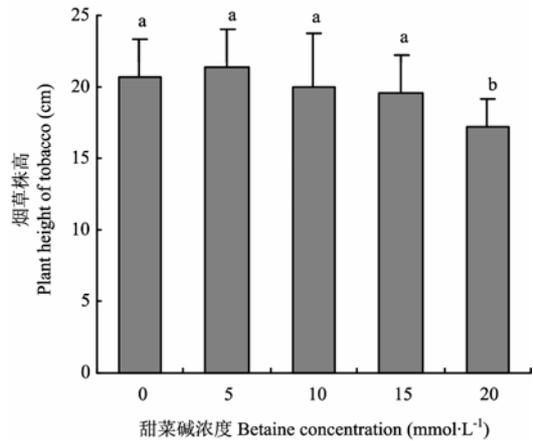
1.2.8 叶片质膜透性的测定 叶片质膜透性采用电导率法测定, 具体方法参照 Maribal 等^[14]1998 年的方法。相对电导率 = 原电导率/总电导率 $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 叶面喷施甜菜碱对水分适宜条件下烟草生长状况的影响

2.1.1 对烟草株高的影响 图 1 结果显示, 叶面喷施 5、10、15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甜菜碱 2 周, 对烟草株高并未产生明显影响, 但是喷施 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甜菜碱却使烟草的生长显著受到抑制, 株高显著低于对照。说明甜菜碱虽然是植物中常见的渗透保护物质, 但叶面喷施高浓度的甜菜碱会对植物产生伤害。

2.1.2 对烟草叶片光合速率和 PS II 最大光化学效率的影响 由图 2-A 可看出, 叶面喷施 5、10、15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甜菜碱后, 烟草叶片的光合速率与对照相比差异并不显著, 而当喷施甜菜碱的浓度为 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 烟草叶片的光合速率却显著低于对照。说明甜菜碱的喷施浓度不高于 15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 不影响烟草的光合作用;



不同处理间数据的差异性用 SPSS 数据处理软件中的 Duncan 检验进行分析。不同小写字母表示 $P < 0.05$, 达显著水平; 不同大写字母表示 $P < 0.01$, 达极显著水平。下同。图中数据为 10 次重复的平均值

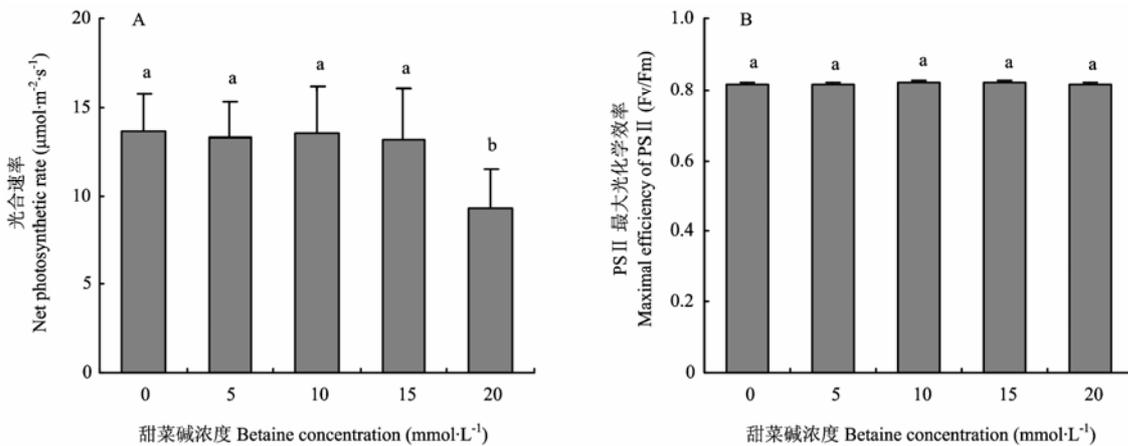
Data in figure 1 were tested against each other by F-test. Statistical significance: small letter means different at $P < 0.05$; capital letter means different at $P < 0.01$. The same as below. Data in Fig. 1 are means \pm SD of ten replicates

图 1 叶面喷施甜菜碱对烟草株高的影响

Fig. 1 The effect of foliar-applied betaine on plant height of tobacco

高于 15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 就会对烟草光合作用产生显著影响。本文首次报道了高浓度甜菜碱对烟草叶片的伤害作用。

但是叶面喷施 5~20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甜菜碱后, 并不影响烟草叶片 PS II 最大光化学效率 (F_v/F_m), 表明高浓度甜菜碱不影响烟草叶片光合作用的光反应(图 2-B)。



图中数据为 5 次重复的平均值 Data in Fig. 2 are means \pm SD of five replicates

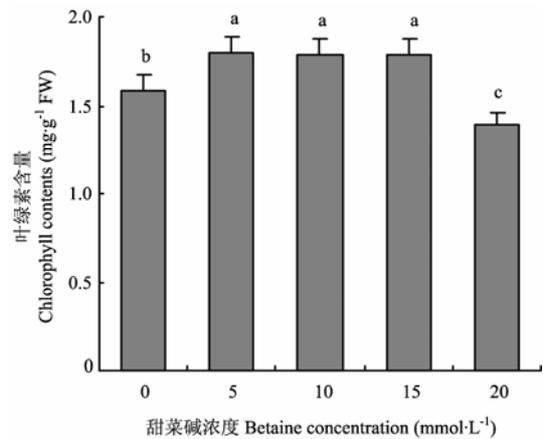
图 2 叶面喷施甜菜碱对烟草叶片光合速率和 PS II 最大光化学效率的影响

Fig. 2 The effect of foliar-applied betaine on net CO_2 assimilation rate and the maximal efficiency of PS II photochemistry of tobacco leaves

2.1.3 对烟草叶片叶绿素含量的影响 叶面喷施 5、10、15 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱后,烟草叶片的叶绿素含量显著高于对照(图 3),说明适当浓度甜菜碱处理可能促进叶绿素的合成或减少叶绿素的降解。但是叶面喷施 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱后,叶片发黄,叶绿素含量显著下降,进一步证明了喷施高浓度甜菜碱对烟草叶片具有明显的伤害。

2.1.4 对烟草叶片蒸腾速率和肉质化程度的影响 图 4-A 结果显示,喷施 5、10、15 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱 2 周后,烟草叶片的蒸腾速率与对照相比都没有显著差异。喷施 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱的烟草叶片蒸腾速率则显著下降。说明叶面喷施高浓度甜菜碱(20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)可能影响烟草叶片的气孔开放。

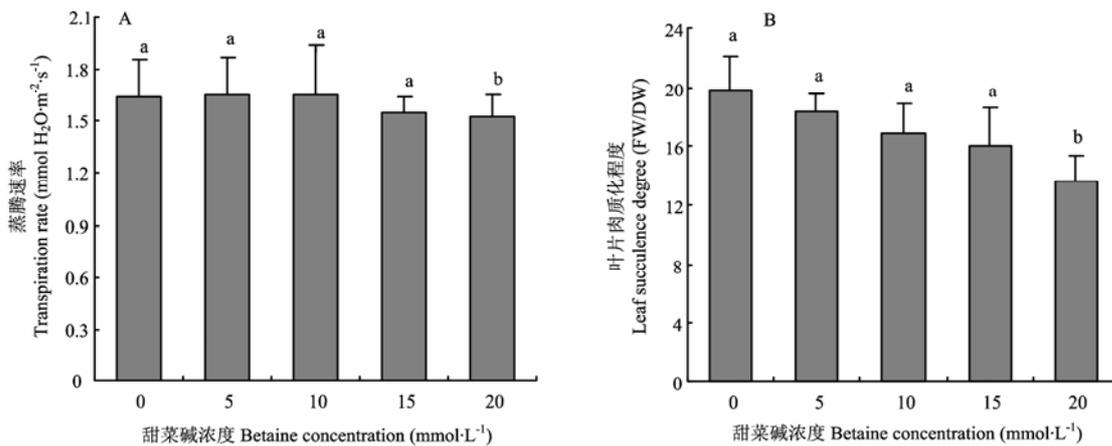
肉质化程度是表示植物水分状况的常用指标,绝对含水量等水分指标具有更高的灵敏性和科学性^[15]。图 4-B 结果显示,随着喷施甜菜碱浓度的升高,烟草



图中数据为 5 次重复的平均值 Data in Fig. 3 are means±SD of five replicates

图 3 叶面喷施甜菜碱对烟草叶片叶绿素含量的影响

Fig. 3 The effect of foliar-applied betaine on chlorophyll contents of tobacco leaves



图中数据为 5 次重复的平均值 Data in Fig. 4 are means±SD of five replicates

图 4 叶面喷施甜菜碱对烟草叶片蒸腾速率和肉质化程度的影响

Fig. 4 The effect of foliar-applied betaine on transpiration rate and succulence degree of tobacco leaves

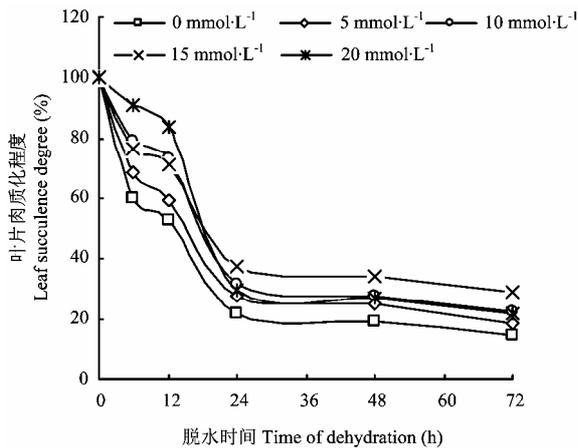
叶片肉质化程度逐渐下降。如对照叶片的肉质化程度为 19.78,而喷施 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱的烟草叶片肉质化程度下降到 13.68。说明甜菜碱参与了叶片水分含量的调节。

2.2 叶面喷施甜菜碱对烟草叶片保水能力的影响

2.2.1 脱水叶片肉质化程度的变化 为研究甜菜碱的保水作用,喷施处理的烟草叶片从植株上剪下,在室内可控条件下(25℃、光照 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、相对湿度 60%)自然脱水。图 5 结果表明,喷施甜菜碱的烟草叶片脱水速度显著缓于对照。甜菜碱的保水效果在

脱水 6 h 后就明显表现出来,喷施 0、5、10、15、20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱的烟草叶片肉质化程度分别为脱水前的 60.2%、68.6%、79.2%、76.6%和 91.2%。脱水 24 h 后,15 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱的保水效果好于其它浓度的甜菜碱。试验结果表明叶面喷施甜菜碱可提高烟草叶片在脱水过程中的保水能力。另外,图 5 结果还显示烟草叶片脱水过程可分为 4 个阶段:快速脱水阶段、缓慢脱水阶段、再快速脱水阶段、再缓慢脱水阶段。

2.2.2 脱水叶片细胞渗透势的变化 干旱胁迫下,很多植物在体内大量积累甜菜碱,降低细胞汁液渗透势,



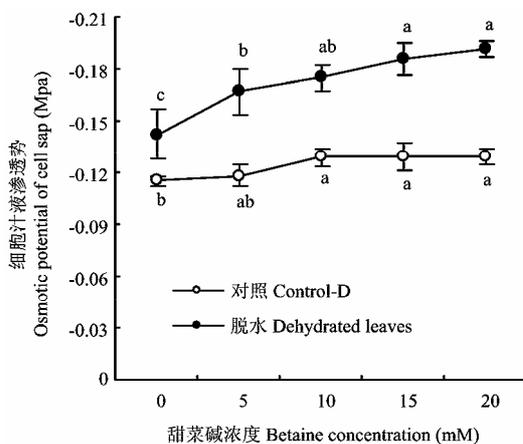
图中数据是分别以各处理未脱水叶片的肉质化程度值为 100% 计算得到的数值

The values in the figure are expressed as percentages of the values of succulence degree of undehydrated leaves

图 5 喷施不同浓度甜菜碱的烟草叶片脱水过程中叶片肉质化程度的变化

Fig. 5 Changes in succulence degree of tobacco leaves foliar-applied with different concentrations of betaine during the course of dehydration

提高细胞的吸水能力。但水分适宜的条件下叶面喷施甜菜碱是否也能够降低细胞渗透势尚未见报道。图 6 结果显示, 在水分适宜条件下, 叶面喷施甜菜碱也能



图中数据为 5 次重复的平均值

Data in Fig. 6 are means±SD of five replicates

图 6 喷施不同浓度甜菜碱的烟草叶片脱水前后叶片细胞渗透势的变化

Fig. 6 Changes in osmotic potential of cell sap of tobacco leaves, foliar-applied with different concentrations of betaine, undehydrated (Control-D) and dehydrated for 12 h

够降低叶片细胞渗透势, 但降低幅度不大, 如 20 mmol·L⁻¹ 甜菜碱处理的叶片和对照叶片的细胞汁液渗透势分别为 -0.129 MPa 和 -0.115 MPa。而叶片脱水 12 h 后, 甜菜碱在细胞渗透调节中的作用显著, 并且喷施甜菜碱的浓度越高, 叶片细胞汁液渗透势越低, 如 20 mmol·L⁻¹ 甜菜碱处理和对照的叶片细胞汁液渗透势分别为 -0.191 MPa 和 -0.142 MPa。说明甜菜碱在水分胁迫条件下的渗透调节作用更为显著。

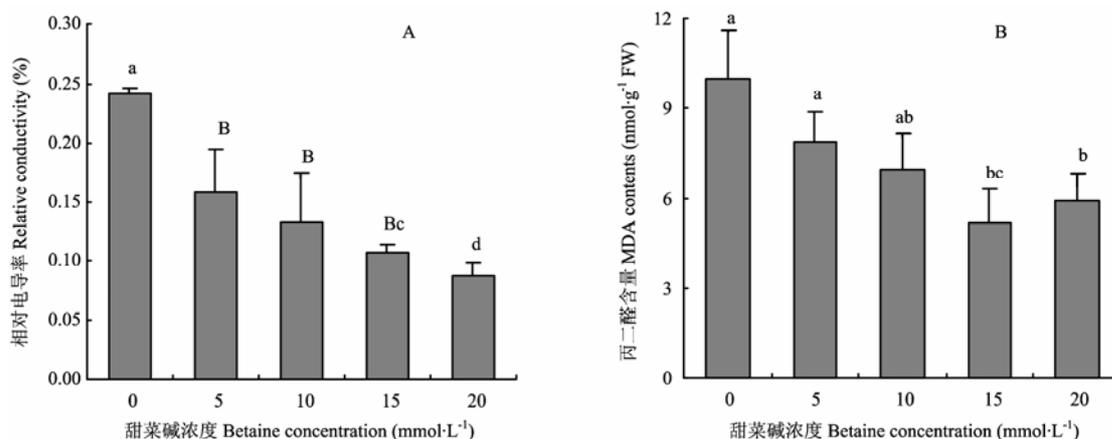
2.3 叶面喷施甜菜碱对烟草叶片耐脱水能力的影响

2.3.1 脱水叶片质膜透性和丙二醛含量的变化 各种自然胁迫对植物的原初伤害都是对生物膜的伤害, 因此膜的稳定性在植物抗逆性中非常重要。相对电导率是反映质膜透性的常用指标, 相对电导率越大, 膜透性越大。图 7-A 结果显示, 叶面喷施甜菜碱的离体叶片脱水 12 h 后的相对电导率显著小于对照, 并且喷施的甜菜碱浓度越大, 相对电导率越小。说明叶面喷施甜菜碱能显著增加膜的稳定性。

图 7-B 结果显示, 叶面喷施甜菜碱的离体叶片脱水 12 h 后的丙二醛含量也显著小于对照, 并且喷施的甜菜碱浓度越大, 丙二醛含量越低。丙二醛是膜脂过氧化产物, 丙二醛含量越高, 膜脂被氧化程度越严重。图 7-B 结果说明, 叶面喷施甜菜碱能显著减轻脱水过程中产生的氧自由基对质膜的氧化破坏作用。

2.3.2 脱水叶片 PS II 最大光化学效率的变化 PSII 是光系统中对外界胁迫最敏感的部位^[16,17], 所以 PS II 抗逆性在植物适应逆境环境中非常重要。图 8 结果表明, 喷施 10、15 mmol·L⁻¹ 甜菜碱的烟草叶片在离体脱水 24 h 后, PS II 最大光化学效率 (Fv/Fm) 显著高于对照, 说明喷施 10、15 mmol·L⁻¹ 甜菜碱在烟草叶片脱水 24 h 后对 PSII 表现出明显的保护效应, 脱水 48 h 后的保护效应更加明显; 喷施 5 mmol·L⁻¹ 甜菜碱对 PS II 的保护效应并不显著; 而喷施 20 mmol·L⁻¹ 甜菜碱对 PS II 不仅没有表现出保护效应, 而且加重了脱水对 PS II 的伤害。因此, 叶面喷施甜菜碱的最佳浓度为 10~15 mmol·L⁻¹。

2.3.3 对脱水叶片复苏能力的影响 图 9 结果显示, 脱水 24 h 的烟草叶片在浸透蒸馏水的纱布中复苏 1 h 后, 喷施甜菜碱的烟草叶片 PS II 最大光化学活性有明显的恢复, Fv/Fm 增大到 0.760 以上, 但无法恢复到正常水平, 即 0.820 左右 (图 2-B)。而对照叶片复水后, Fv/Fm 并未明显增大。说明喷施甜菜碱的叶片脱水 24 h 后还具有一定的复苏能力, 对照叶片则失去了复苏能力。



图中数据为 5 次重复的平均值 Data in Fig. 7 are means±SD of five replicates

图 7 喷施不同浓度甜菜碱的烟草叶片脱水 12 h 后质膜透性和丙二醛含量变化

Fig. 7 Changes in relative permeability of plasma membrane and malondialdehyde (MDA) contents of tobacco leaves foliar-applied with different concentrations of betaine and dehydrated for 12 hours

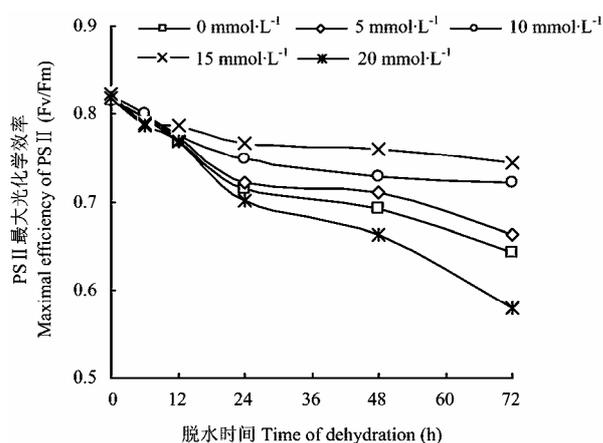


图 8 喷施不同浓度甜菜碱的烟草叶片脱水过程 PS II 最大光化学效率的变化

Fig. 8 Changes in the maximal efficiency of PS II photochemistry of tobacco leaves spraying with different concentrations of betaine during the course of dehydration

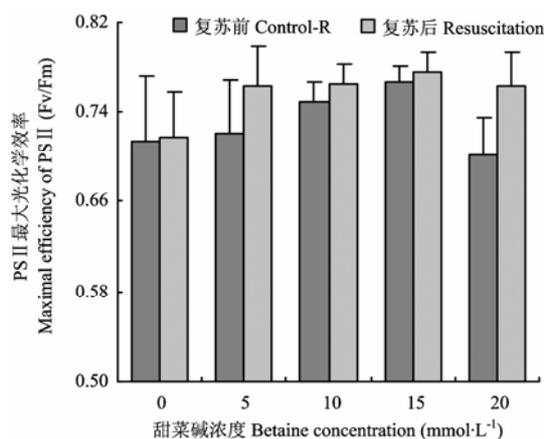


图 9 喷施甜菜碱对烟草叶片复苏能力的影响

Fig. 9 The effect of foliar-applied betaine on leaf resuscitation activity

3 讨论

在水分供应良好的条件下,对烟草叶片喷施 0、5、10、15、20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱后发现,甜菜碱虽然是对植物细胞无毒的相容性溶质,但喷施浓度过高(20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)会使烟草生长受到抑制(图 1),叶片光合

速率显著下降(图 2-A)。光合速率下降的原因并不是因为抑制了烟草叶片的光反应,而可能是气孔因素^[18],如气孔关闭、蒸腾下降(图 4-A),因为 PS II 最大光化学效率并没有下降(图 2-B);另外,还可能是高浓度甜菜碱影响了烟草叶片叶绿素含量和肉质化程度造成的(图 3、图 4-B)。试验还发现喷施 20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱的烟草叶片上有水渍状坏死斑点,这可能是由于不能合成甜菜碱的植物不能兼容过多外源物质——甜菜碱造成的。喷施甜菜碱浓度过高会影响

细胞活性, 如影响蛋白质合成^[19]、引起叶片局部细胞失活等^[20]。许雯等^[11]研究甜菜碱在青菜抗盐性中的作用时发现, 喷施甜菜碱最适浓度也为 $0\sim 20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。本文试验结果表明, 喷施 $5\sim 15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱则对烟草的生长没有显著影响, 叶片叶绿素含量还显著高于对照(图 1~图 3), 这也和文献报道的结果一致^[11]。

既然甜菜碱被认为是最好的渗透调节剂, 并且抗旱性强的植物能积累更多的甜菜碱^[21], 那么外源喷施甜菜碱应该能够增加作物的抗旱性^[22,23]。将喷施甜菜碱的烟草叶片在室内人工条件下离体脱水, 研究结果发现: 喷施甜菜碱的烟草叶片保水能力较强, 其中喷施 $15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱保水效果好最好(图 5)。本文数据还显示, 烟草叶片离体脱水过程分为快速脱水阶段(6 h)、缓慢脱水阶段(6~12 h)、再快速脱水阶段(12~24 h)、再缓慢脱水阶段(>24 h) 4 个阶段。这可能是因为叶片离体脱水初期, 叶片抵御水分胁迫的系统还没有启动; 6 h 后, 叶片细胞感受到水分胁迫, 并作出了反应, 迅速关闭气孔, 进入保水阶段; 12 h 后, 体内水分降到了植物细胞所能承受的极限, 即开始出现永久萎蔫, 发生了第二次更快速脱水过程; 24 h 后, 体内水分逐渐变成束缚水, 叶片脱水过程逐渐放缓。这与玉米的脱水过程类似^[24]。

在水分适宜条件下, 喷施甜菜碱对烟草叶片的细胞汁液渗透势影响不大; 而在脱水 12 h 后, 喷施甜菜碱的烟草叶片细胞汁液渗透势显著低于对照(图 6), 而离体烟草叶片不能吸收各种物质, 自身又不能合成甜菜碱, 说明甜菜碱处理的叶片内有大量有机渗透调节物质合成。有文献报道甜菜碱可诱导脯氨酸、可溶性糖等相容性物质的合成^[25]。这些渗透调节物质的合成, 一方面能降低细胞渗透势, 增强细胞的吸水能力, 以维持细胞膨压; 另一方面能稳定酶、蛋白复合体等生物大分子的结构和功能^[6,7,26], 保持膜的有序态^[27]。

喷施甜菜碱的叶片脱水 12 h 后质膜透性和膜脂过氧化产物(MDA)含量显著低于对照(图 7), 这与根施甜菜碱的结果一致^[9]。此外, 叶面喷施 $10\sim 15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱对 PS II 也具有明显的保护作用; 但喷施 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱却加重了脱水对 PS II 的伤害, 喷施高浓度甜菜碱抑制烟草叶片 PS II 活性的原因有待进一步研究。喷施甜菜碱的叶片脱水 24 h 后都具有一定的复苏能力, 而对照失去了复苏能力, 也说明喷施甜菜碱可以增加烟草叶片的耐脱水能力。甜菜碱可能是通过增强蛋白质表面的水合程度, 维持和恢复蛋白质原有的空间构象与生物活性, 从而提高植物耐脱

水能力的^[26,28]。

4 结论

烟草叶面喷施甜菜碱 2 周后, 对烟草叶片进行离体脱水和复苏处理, 分析甜菜碱对叶片的保水和耐脱水作用, 结果表明, 叶面喷施甜菜碱对离体脱水的叶片具有显著的保水和耐脱水作用, 喷施甜菜碱的最适浓度为 $10\sim 15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 主要表现在叶片脱水过程中叶片肉质化程度较高, 生物膜及生物大分子更稳定, 复苏能力也好于对照。此外, 喷施 $5\sim 15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甜菜碱不仅不影响烟草的生长, 而且使叶片叶绿素含量增加; 但喷施甜菜碱的浓度过高($20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)会对叶片产生伤害。

References

- [1] Boyer J S. Plant productivity and environment. *Science*, 1982, 218: 443-448.
- [2] Storey R, Wyn Jone R G. Betaine and choline levels in plants and their relationship to NaCl stress. *Plant Science Letter*, 1975, 4: 161.
- [3] Sakamoto A, Murata N. The role of glycinebetaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. *Plant Cell and Environment*, 2002, 25: 163-171.
- [4] Waditee R, Bhuiyan M N H, Rai V, Aoki K, Tanaka Y, Hibino T, Suzuki S, Takano J, Jagendorf A T, Takabe T. Genes for direct methylation of glycine provide high levels of glycinebetaine and abiotic-stress tolerance in *Synechococcus* and *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2005, 102: 1318-1323.
- [5] Zhu J K, Hasegawa P M, Bressan R A. Molecular aspects of osmotic stress in plants. *Critical Review in Plant Science*, 1997, 16: 253-278.
- [6] Yang X H, Liang Z, Lu C M. Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine enhances photosynthesis against high temperature stress in transgenic tobacco plants. *Plant Physiology*, 2005, 138: 2299-2309.
- [7] Ohnishi N, Murata N. Glycinebetaine counteracts the inhibitory effects of salt stress on the degradation and synthesis of D1 protein during photoinhibition in *Synechococcus* sp. PCC 7942. *Plant Physiology*, 2006, 141: 758-765.
- [8] Agboma P C, Peltonen-Sainio P, Hinkkanen R, Pehu E. Effect of foliar application of glycinebetaine on yield components of drought-stressed tobacco plants. *Experimental Agriculture*, 1997, 33: 345-352.
- [9] 马新蕾, 王玉军, 谢胜利, 李峰, 王玮. 根施甜菜碱对水分胁迫下烟草幼苗光合机构的保护. *植物生理与分子生物学学报*, 2006,

- 32 (4): 465-472.
- Ma X L, Wang Y J, Xie S L, Li F, Wang W. Glycinebetaine applied through roots protects the photosynthetic apparatus of tobacco seedlings under water stress. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2006, 32(4): 465-472. (in Chinese)
- [10] Makela P, Peltonen-Sainio P, Jokinen K, Pehu E. Uptake and translocation of foliar-applied glycinebetaine in crop plants. *Plant Science*, 1996, 121: 221-230.
- [11] 许 雯, 孙梅好, 朱亚芳, 苏维埃. 甘氨酸甜菜碱增强青菜抗盐性的作用. *植物学报*, 2001, 43(8): 809-814.
- Xu W, Sun M H, Zhu Y F, Su W A. Protective effects of glycinebetaine on *Brassica chinensis* under salt stress. *Acta Botanica Sinica*, 2001, 43(8): 809-814. (in Chinese)
- [12] 张其德. 测定叶绿素的几种方法. *植物学通报*, 1985, 3(5): 60-64.
- Zhang Q D. Some methods of determining chlorophyll. *Chinese Bulletin of Botany*, 1985, 3(5): 60-64. (in Chinese)
- [13] Hodges D M, DeLong J M, Forney C F, Prange R K. Improving the thiobarbituric-acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 1999, 207: 604-611.
- [14] Maribel L, Dionisio-Sese, Satoshi T. Antioxidant response of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 1998, 135: 1-9.
- [15] Omer L S, Schlesinger W H. Regulation of NaCl in *Jaumea carnosa* (*Asteraceae*), a salt marsh species, and its effect on leaf succulence. *American Journal of Botany*, 1980, 67(10): 1448-1454.
- [16] Baker N R. A possible role for photosystem II in environmental perturbation of photosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 1991, 81: 563-570.
- [17] Allakhverdiev S I, Hayashi H, Nishiyama Y, Ivanov A G, Aliev J A, Klimov V V, Murata N, Carpentier R. Glycinebetaine protects the D1/D2/Cytb559 complex of photosystem II against photo-induced and heat-induced inactivation. *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160: 41-49.
- [18] Jacob J, Lawlor D W. Stomatal and mesophyll limitations of photosynthesis in photosynthesis in phosphate deficient sunflower, maize and wheat plants. *Journal Experimental Botany*, 1991, 241: 1001-1011.
- [19] Gilbon Y, Bessieres M A, Larher F. Is glycinebetaine a non-compatible solute in higher plants that do not accumulate it? *Plant Cell and Environment*, 1997, 20: 329-340.
- [20] Sulpice R, Gilbon Y, Bouchereau A, Larher F. Exogenously supplied glycinebetaine in spinach and rapeseed leaf discs: compatibility or non-compatibility. *Plant Cell and Environment*, 1998, 21: 1285-1292.
- [21] Morgan J M. Osmoregulation and water stress in high plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 1984, 35: 299-319.
- [22] Ma Q Q, Li Y H, Li D Q, Wang W, Zou Q. Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar applied glycinebetaine. *Journal of Plant Physiology*, 2006, 163: 165-175.
- [23] Xing W, Rajashekar C B. Alleviation of water stress in beans by exogenous glycinebetaine. *Plant Science*, 1999, 148: 185-195.
- [24] 洪法水, 张 帆. 玉米幼苗萎蔫过程中某些理化性质变化的研究. *西北植物学报*, 1999, 19(1): 71-75.
- Hong F S, Zhang F. A study of physiological and biochemical characters in seedlings of maize under wilting. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 1999, 19(1): 71-75. (in Chinese)
- [25] 邵艳军, 山 仑. 植物耐旱机制研究进展. *中国生态农业学报*, 2006, 14(4): 16-20.
- Shao Y J, Shan L. Advances in the studies on drought tolerance mechanism of plants. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2006, 14(4): 16-20. (in Chinese)
- [26] Bourot S, Sire O, Trautwetter A, Touzé T, Wu L F, Blanco C, Bernard T. Glycine betaine assisted protein folding in a *lysA* mutant of *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275: 1050-1056.
- [27] Alia, Kondo Y, Sakamoto A, Nonaka H, Hayashi H, Saradhi P P, Chen T H H, Murata N. Enhanced tolerance to light stress of transgenic *Arabidopsis* plants that express the *codA* gene for a bacterial choline oxidase. *Plant Molecular Biology*, 1999, 40: 279-288.
- [28] Weretilnyk E A, Hanson A D. Molecular cloning of a plant betaine-aldehyde dehydrogenase, an enzyme implicated in adaptation to salinity and drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1990, 87: 2745-2749.