

水分胁迫对寒富苹果叶片碳氮代谢的影响^x

秦嗣军¹, 赵德英², 吕德国^{1xx}, 张玉龙³, 刘国成¹, 马怀宇¹

1. 沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161; 2. 中国农业科学院果树研究所, 兴城 125100; 3. 沈阳农业大学资源与环境学院, 沈阳 110161

摘要: 以盆栽/寒富苹果为试材, 研究了不同水分胁迫处理对/寒富苹果碳氮代谢的影响。结果表明: 水分胁迫使/寒富苹果叶片内可溶性糖、游离氨基酸和可溶性蛋白含量升高, 淀粉含量降低, 胁迫越严重, 变化幅度越大。轻度干旱胁迫提高了/寒富苹果叶片中性转化酶、酸性转化酶和蔗糖合成酶活性, 降低了蔗糖磷酸合成酶、山梨醇脱氢酶、山梨醇氧化酶、硝酸还原酶、亚硝酸还原酶、谷丙转氨酶、谷草转氨酶和谷氨酰胺合成酶的活性; 中度、重度干旱胁迫和淹水条件下, 中性转化酶、酸性转化酶和蔗糖合成酶降低, 蛋白酶活性增加。/寒富苹果能耐轻度和中度干旱胁迫, 抗旱性较强。

关键词: 水分胁迫; /寒富苹果; 叶片; 碳氮代谢

中图分类号: S661.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-5684(2010)04-0402-05

Effects of Water Stress on Carbon and Nitrogen Metabolism of Hanfu Apple Leaves

QIN Si2jun¹, ZHAO De2ying², LB De2guo¹, ZHANG Yu2long³, LIU Guo2cheng¹, MA Hua2yu¹

1. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China; 2. Institute of Fruit Tree, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xingcheng 125100, China; 3. College of Resources and Environment, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China

Abstract: Using potted Hanfu apple as materials, carbon and nitrogen substance metabolism of Hanfu apple under different water stress was studied. The results showed that soluble sugar, free amino acids and soluble protein content increased while starch content reduced under water stress conditions. The heavier of stress, the greater of change range. Under light drought stress, neutral invertase, acid invertase and sucrose synthase activity improved, sucrose phosphate synthase, sorbitol dehydrogenase, sorbitol oxidase, nitrate reductase, nitrite reductase, glutamic2pyruvic transaminase, glutamic2oxaloacetic transaminase and glutamine synthetase activity reduced. In moderate and high drought stress and waterlogging conditions, neutral invertase, acid invertase and sucrose synthase activity reduced and protease activity enhanced. Hanfu apple was a cultivar with strong drought resistance because it could tolerate light and moderate drought.

Key words: water stress; Hanfu apple; leaf; carbon and nitrogen metabolism

碳氮代谢是植物体内最重要的两大生理过程和能量, 而碳代谢又需要氮代谢提供酶蛋白和光合色素, 二者需要共同的还原力、ATP 和碳源

^x 基金项目: 国家现代苹果产业技术体系建设专项(nycy2020205), 公益性行业科研专项(nyhyz072024), 辽宁省农业重大攻关项目(2008212003, 2008204003), 沈阳市科技攻关计划项目(1091104202)

作者简介: 秦嗣军, 男, 博士, 讲师, 研究方向: 果树栽培与生理生态。

收稿日期: 20090214 修回日期: 20100324

xx 通讯作者

架^[12]。我国大多数果园立地条件较差,水分是限制其高产优质的重要因子之一,研究水分胁迫下果树的碳氮代谢规律,对于实现适地适栽、节水优质增效生产具有重要意义。/寒富0是沈阳农业大学选育的具有多抗性的苹果品种,从辽东风城等年均降雨 1 000 mm 左右的温带湿润季风气候区到辽西朝阳等年均降雨 400 mm 左右的温带半干旱季风气候区均有种植,已成为辽宁省主栽品种之一。为深入了解/寒富0苹果对水分的适应性,本试验研究了不同水分条件下植株叶片碳氮代谢规律,以期为其节水优质高效生产提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料与试验处理

试验于 2008 年 7 月在沈阳农业大学果树科研基地进行。以三年生盆栽/寒富0苹果为试材,盆土配比为 V(园土)BV(腐叶土)BV(腐熟鸡粪)=4BIB1。处理前全部供试材料进行充分灌水,以灌水后盆底漏水孔向外渗水时所需水量为饱和灌水量,以常规灌水为对照(ck,灌水量为饱和灌水量的 75%),设轻度胁迫(LD,饱和灌水量的 55%)、中度胁迫(MD,饱和灌水量的 35%)、重度胁迫(HD,饱和灌水量的 25%)及淹水(W,将盆苗置于积水状态)4 个处理。采用整盆称重法控制土壤含水量,每日 18:00 称盆土重量,根据测量结果补充每日消耗水量,5 次重复。处理后 1, 3, 7, 14, 21, 28 d 取新梢中部成熟叶片测定各项指标。

1.2 研究方法

可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[3];淀粉

含量测定采用高氯酸水解法^[4];山梨醇、果糖、葡萄糖及蔗糖含量用 Waters 600E 型高效液相色谱测定,测定条件为柱温 35 e, 75% 乙腈B25% 超纯水流动相, 112 mL/min 流速;可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G- 250 法测定;游离氨基酸含量测定采用茚三酮显色法。

中性转化酶(NI)和酸性转化酶(AI)活性测定采用 Merlo 和 Passera^[5]的方法,蔗糖合成酶(SS)和蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性测定用 Zhun 等^[6]的方法;山梨醇脱氢酶(SDH)和山梨醇氧化酶(SOX)活性测定采用 Ruffly 和 Huber^[7]的方法;硝酸还原酶(NR)活性测定采用磺胺比色法,亚硝酸还原酶(NiR)活性测定采用萘基乙烯二胺法,以亚硝态氮(NO₂-N)总量(Lg/g/h)表示酶活性;谷氨酰胺合成酶(GS)活性测定采用汤章城^[8]的方法;谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)活性测定采用吴良欢^[9]的方法;蛋白酶活性测定采用 Kar 和 Mishra^[10]的方法。

2 结果与分析

2.1 不同水分处理对/寒富0苹果叶片碳素物质含量的影响

由图 1- A 可知,处理后第 1~ 7 d 各处理叶片中可溶性糖含量差异不明显,随着处理时间的延长,除 ck 外其余各处理叶片中的可溶性糖含量呈逐渐增加趋势,表现为 HD> W> MD> LD> ck。叶片中可溶性糖含量随着胁迫程度的加重而积累,在一定程度上避免了叶片细胞渗透势过度降低,增强了叶片的吸水保水能力,维持细胞内代谢的正常进行,这是植物对胁迫的一种适应性反应。

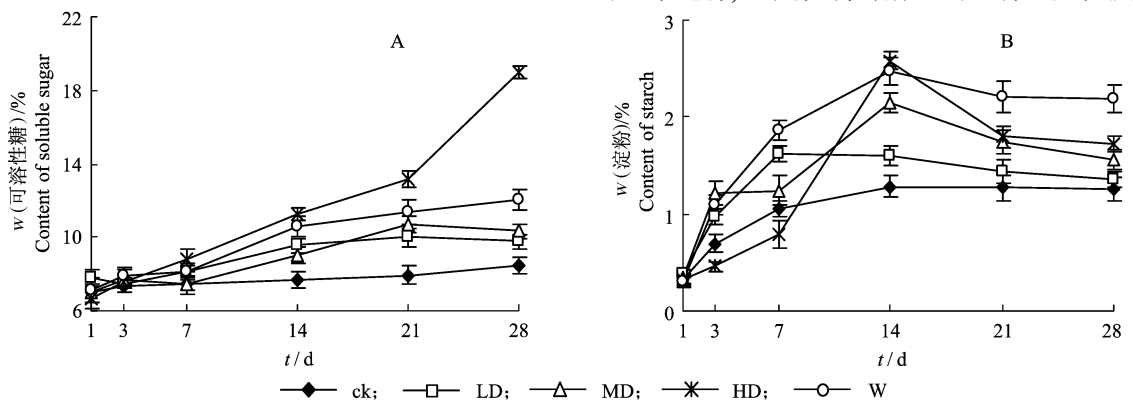


图 1 水分胁迫对/寒富0苹果叶片可溶性糖和淀粉含量的影响

Fig. 1. Effect of water stress on soluble sugar and starch content in Hanfu apple leaves

如图1- B所示,各处理与ck相比,叶片中淀粉含量随着处理时间的延长而呈先升高后降低的变化趋势。第14d后,W、HD及MD处理达到最高水平而后开始下降,这可能与后期胁迫程度加重,叶片内淀粉降解成葡萄糖、果糖等小分子碳水化合物参与渗透调节以维持机体的正常代谢有关。

如图2所示,山梨醇和葡萄糖是叶片中的主

要可溶性糖,二者占总量的85%以上。随着处理时间的延长,叶片中的各糖组分含量基本呈上升趋势,整体上表现为HD> W> MD> LD> ck。W处理的果糖和蔗糖含量分别于第7d和第14d达到最高,而后略有下降。第28d时,叶片中山梨醇、葡萄糖、果糖及蔗糖含量较ck分别提高了13010%、7611%、6310%、2913%。

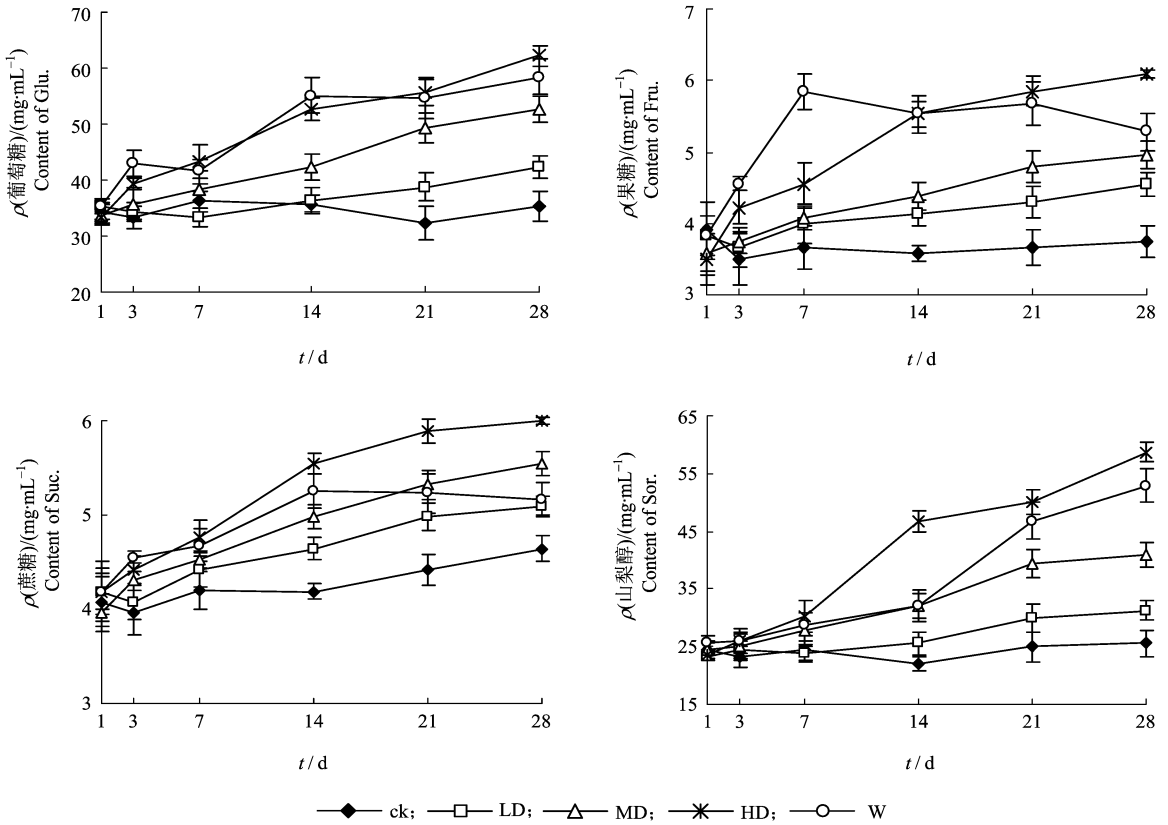


图2 水分胁迫对/寒富0苹果叶片葡萄糖、果糖、蔗糖和山梨醇含量的影响

Fig. 2. Effect of water stress on content of Glu, Fru, Suc and Sor in Hanfu apple leaves

212 不同水分处理对/寒富0苹果叶片碳素物质代谢相关酶活性的影响

如图3所示,HD、MD及W处理明显降低了叶片转化酶(NI和AI)、合成酶(SS和SPS)、SDH和SOX的活性。其中HD处理降幅最大,NI、AI、SS、SPS、SDH及SOX活性较ck分别降低了5618%、3014%、2413%、3412%、4218%、2313%。LD处理叶片各酶活性变化幅度较小,其中转化酶活性与ck无显著差异,SS较ck增高了917%,而SPS、SDH和SOX活性较ck分别降低了7192%、1812%、515%。

213 不同水分处理对/寒富0苹果叶片氮素物质含量的影响

如图4- A所示,LD和MD处理随着时间的延长,叶片中的游离氨基酸含量呈降低(升高)降低的变化趋势,处理期间LD平均游离氨基酸含量较ck降低617%,MD平均游离氨基酸含量较对照提高2316%。W和HD处理叶片中游离氨基酸含量前期变化不大,后期HD处理叶片中游离氨基酸含量急剧增长。处理后28d叶片中游离氨基酸含量表现为HD> MD> W> ck> LD。

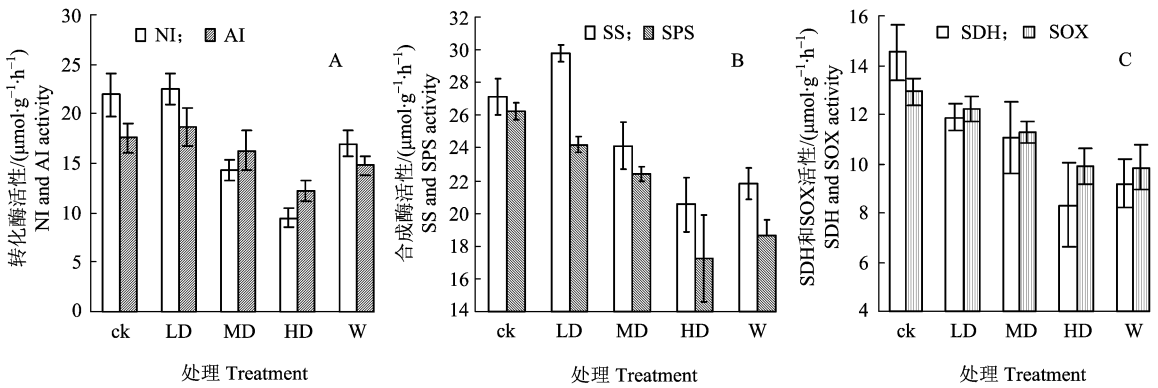


图3 水分胁迫对/寒富0苹果叶片糖代谢相关酶活性的影响

Fig. 3. Effect of water stress on related enzyme activity of sugar metabolism in Hanfu apple leaves

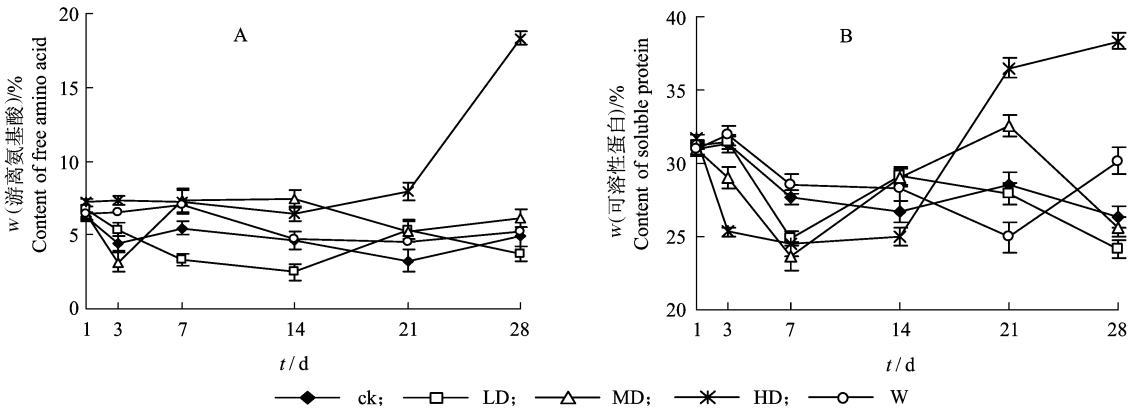


图4 水分胁迫对/寒富0苹果叶片游离氨基酸和可溶性蛋白含量的影响

Fig. 4. Effect of water stress on free amino acids and soluble protein content in Hanfu apple leaves

如图4- B所示,叶片可溶性蛋白含量随着处理时间的延长基本上呈先降低后升高再降低的变化趋势。HD处理后第3 d可溶性蛋白含量降至最低,处理后14 d开始急剧升高。处理后28 d时,叶片中的可溶性蛋白含量表现为HD> W> ck> MD> LD。

214 不同水分处理对/寒富0苹果叶片氮素物质代谢相关酶活性的影响

如图5- A所示,HD处理NR活性较ck降低4713%,而LD、MD和W处理NR活性较ck有不同程度的提高,分别提高了1718%、1919%、1111%。NiR活性受水分胁迫的影响较大,LD处理使NiR活性较ck增高了1818%,而MD、HD和W处理NiR活性则分别降低了2113%、4518%、1412%。

如图5- B所示,LD、MD和W处理提高了GPT活性,较ck分别增加了1312%、2614%、1612%,而HD处理GPT活性明显降低,较ck降低了1314%。水分胁迫对GOT活性的影响小于GPT,其中LD、MD处理GOT活性较ck分别增加了812%、611%,而W处理GOT活性与ck无显著差异,HD处理则使GOT活性较ck降低1913%。

如图5- C所示,LD和MD处理增加了GS活性,较ck分别增加513%和1715%。HD和W处理则降低了GS活性,较ck分别降低了4118%和2415%。

如图5- D所示,HD和MD处理使蛋白酶活性明显增加,较ck分别增加5018%和710%。而LD和W处理对蛋白酶活性无明显影响。

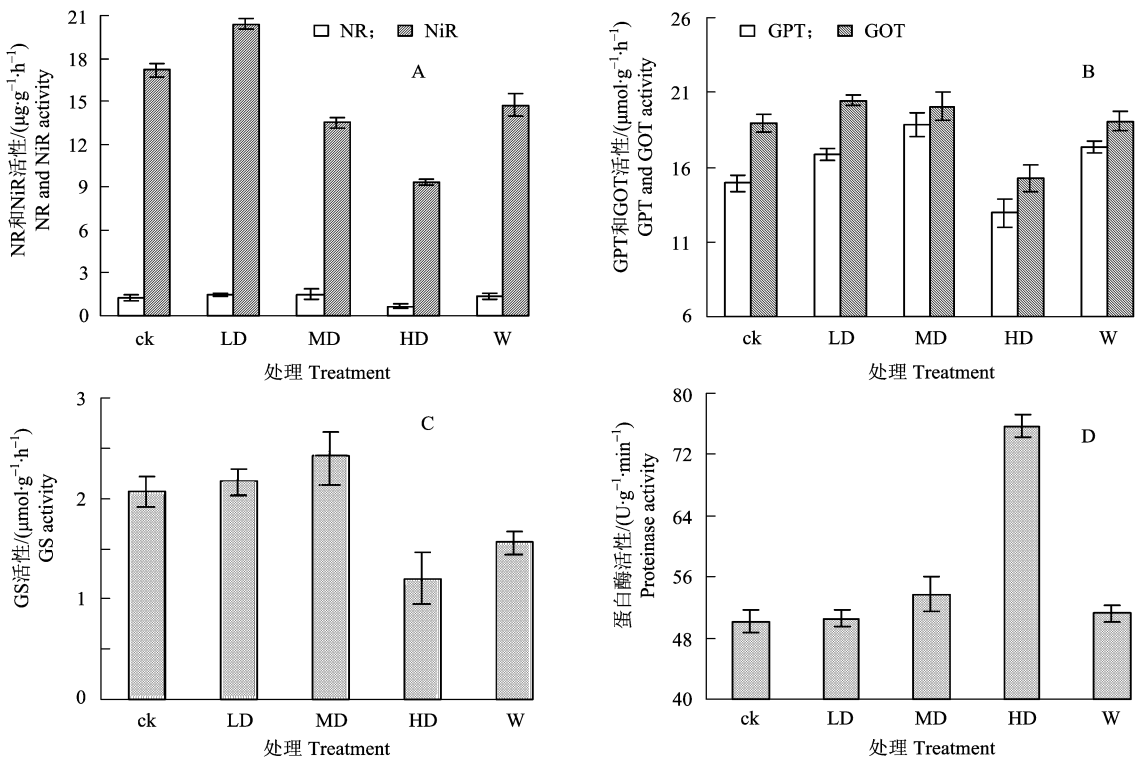


图5 水分胁迫对寒富0苹果叶片氮代谢相关酶活性的影响

Fig. 5. Effect of water stress on related enzyme activity of nitrogen metabolism in Hanfu apple leaves

3 讨论

土壤水分供应不足或过多均会影响植物的光合作用,引起碳素物质积累及其在各器官中分配比例的改变^[11]。随着水分胁迫程度的增加碳同化物在叶片中滞留量增加,向外输出减少,一般表现为可溶性糖含量增加,而淀粉含量下降^[1214]。本试验中,水分处理第7 d后叶片内山梨醇和葡萄糖含量迅速升高,使可溶性糖含量在叶片内大量积累。可溶性糖的积累被认为主要参与渗透调节作用,有利于维持细胞内代谢的正常进行,是植物对逆境的适应性反应。胁迫条件下代谢相关酶活性发生改变是引起碳素物质含量差异的重要原因^[15]。柴成林^[16]报道水分胁迫植物叶片蔗糖合成的酶系活性降低,蔗糖趋于降解成果糖和葡萄糖。本试验中胁迫越重蔗糖合成酶、蔗糖磷酸合成酶活性下降越明显,但蔗糖仅占可溶性糖的较小的部分,所以通过蔗糖水解成小分子碳水化合物参与渗透调节可能不是寒富0苹果抵抗逆境的主要方式。

蛋白质作为氮素代谢的终极产物,其生物合成主要在硝酸还原酶、谷氨酰胺合成酶等一系列

酶催化下完成^[1718]。多数研究者认为,水分胁迫时叶片中蛋白质含量下降是由于蛋白酶活性升高引起蛋白质水解所致。本试验中,水分胁迫/寒富0苹果叶片内游离氨基酸含量和蛋白质含量升高,胁迫越重,增加幅度越大,这与前人关于水分胁迫降低了可溶性蛋白含量的结果不一致。水分胁迫通过影响氮代谢相关酶的活性来调控植株体内有机氮化物的含量,严重水分胁迫导致硝酸还原酶、亚硝酸还原酶、谷丙转氨酶、谷草转氨酶和谷氨酰胺合成酶活性降低,氮代谢受阻,而蛋白酶活性增加,蛋白质水解速度加快。结果表明,寒富0苹果能耐轻度和中度干旱胁迫,抗旱性较强。

参考文献:

- [1] 张立军, 梁宗锁. 植物生理学[M]. 北京: 科学出版社, 2007
- [2] 李潮海, 刘奎, 连艳鲜. 玉米碳氮代谢研究进展[J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(4): 318-321
- [3] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001
- [4] 牛森. 作物品质分析[M]. 北京: 农业出版社, 1994

(下转第412页)

- 壤 pH、EC 值和微生物的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2001, 28(4): 350-353.
- [9] 吕卫光, 张春兰, 袁飞, 等. 有机肥减轻连作黄瓜自毒作用的机制[J]. 上海农业学报, 2002, 18(2): 52-56.
- [10] 袁飞, 彭宇, 张春兰, 等. 有机物料减轻设施连作黄瓜苗期病害的微生物效应[J]. 应用生态学报, 2004, 15(5): 862-870.
- [11] 张春兰, 张耀东, 朱建春, 等. 施用稻草对防治保护地土壤盐渍化的作用[J]. 土壤肥料, 1994(3): 146-148.
- [12] 宋述尧. 玉米秸秆还田对塑料大棚蔬菜连作土壤改良效果研究(初报)[J]. 农业工程学报, 1997, 13(1): 135-139.
- [13] 孟艳玲, 刘子英, 李季. 菜粮轮作对温室土壤盐分和硝酸盐含量的影响[J]. 河南农业科学, 2006(10): 81-87.
- [14] 胡飞, 孔垂华. 胜红蓟化感作用的研究 1. 水溶物的化感作用及其化感物质分离鉴定[J]. 应用生态学报, 1997, 8(3): 304-308.
- [15] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 262-275.
- [16] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- [17] 刘穗. 蔬菜施肥与硝酸盐的含量[J]. 长江蔬菜, 1998, 11(6): 23-24.
- [18] 吴凤芝, 赵凤艳, 刘元英. 设施蔬菜连作障碍原因综合分析及防治措施[J]. 东北农业大学学报, 2000, 31(3): 242-247.
- [19] 喻景权, 杜小舜. 蔬菜设施栽培可持续发展中的连作障碍问题[J]. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(1): 12-16.
- [20] 吴凤芝, 刘德, 栾非时. 大棚土壤连作年限对黄瓜产量及品质的影响[J]. 东北农业大学学报, 1999, 30(3): 242-248.
- [21] 张连学, 陈长宝, 王英平, 等. 人参忌连作研究及其解决途径[J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(4): 48-52.
- [22] 胡元森, 吴坤, 刘娜, 等. 黄瓜不同生育期根际微生物区系变化研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(10): 1521-1526.
- [23] 樊军, 郝明德. 长期轮作与施肥对土壤主要微生物类群的影响[J]. 水土保持研究, 2003, 10(1): 82-89.
- [24] 朱丽霞, 张家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述[J]. 生态环境, 2003, 12(1): 102-105.

(上接第 406 页)

- [5] Merlo L, Passera C. Changes in carbohydrate and enzyme levels during development of leaves of *Prunus persica*, a sorbitol synthesizing species[J]. *Plant Physiol*, 1991, 83: 621-626.
- [6] Zhun Y L, Komor E, Moore P H. Sucrose accumulation in the sugarcane stem is regulated by the difference between the activities of soluble acid invertase and sucrose phosphate synthase[J]. *Plant Physiol*, 1997, 115: 602-616.
- [7] Ruffly T W, Huber S C. Changes in starch formation and activities of sucrose phosphate synthase and cytoplasmic fructose 1, 6-bisphosphatase in response to source-sink alterations[J]. *Plant Physiology*, 1983, 72(2): 474-478.
- [8] 汤章城. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [9] 吴良欢, 蒋式洪, 陶勤南. 植物转氨酶(GOT 和 GPT) 活性比色测定方法及其应用[J]. 土壤通报, 1998, 29(3): 132-138.
- [10] Kar M, Mishra D. Protease activity during leaf senescence [J]. *Biology of Plant*, 1977, 19: 362-369.
- [11] 姜卫兵, 高光林, 俞开锦, 等. 水分胁迫对果树光合作用及同化代谢的影响研究进展[J]. 果树学报, 2002, 19(6): 412-420.
- [12] 崔秀敏, 王秀峰. 基质供水状况对番茄穴盘苗碳氮代谢及生长发育的影响[J]. 园艺学报, 2004, 31(4): 477-481.
- [13] 徐迎春, 李绍华, 柴成林, 等. 水分胁迫期间及胁迫解除后苹果树源叶碳水同化物代谢规律的研究[J]. 果树学报, 2001, 18(1): 12-16.
- [14] 宋凤斌, 戴俊英. 玉米对干旱胁迫的反应和适应性 0. 玉米雌穗和雄穗生长发育对干旱胁迫的反应[J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(1): 12-16.
- [15] 赵德英, 吕德国, 刘国成, 等. 冷凉气候区/寒富0苹果及其亲本光合特性的研究[J]. 园艺学报, 2009, 36(7): 942-952.
- [16] 柴成林, 李绍华, 徐迎春. 水分胁迫期间及胁迫解除后桃树叶片中的碳水化合物代谢[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(6): 492-498.
- [17] 张智猛, 戴良香, 胡昌浩, 等. 灌浆期不同水分处理对玉米籽粒蛋白质及其级分和相关酶活性的影响[J]. 植物生态学报, 2007, 31(4): 720-728.
- [18] 陈立松, 刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片氮和核酸代谢的影响及其与抗旱性的关系[J]. 植物生理学报, 1999, 25(1): 42-46.