

## 甜菜碱不同预处理时间下小麦幼苗对 PEG-6000 模拟干旱的响应<sup>\*</sup>

杨淑慎<sup>1</sup>, 翁明阳<sup>1</sup>, 戴明<sup>1</sup>, 孙宾芳<sup>1</sup>, 山仑<sup>2</sup>

(1. 西北农林科技大学 生命科技学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 中国科学院 水土保持研究所黄土高原与旱地农业国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

**摘 要:**以小麦长武 134 为实验材料, 于小麦长至两叶一心期时根施 2.0 g/L 甜菜碱, 研究外源甜菜碱预处理不同时间(48 h, 72 h, 96 h)后对 PEG-6000(-1.0 MPa)胁迫下小麦幼苗水分状况、游离脯氨酸含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、叶绿素含量、抗氧化酶活性、膜伤害程度的影响。结果表明外施甜菜碱可增强干旱条件下细胞的渗透调节能力, 提高抗氧化酶的活性, 减缓干旱胁迫诱导的细胞伤害, 其中用 2.0 g/L 的甜菜碱预处理 72 h 效果相对较好。

**关键词:**甜菜碱; 小麦; PEG 渗透胁迫

中图分类号: Q945.18

文献标识码: A

文章编号: 1005-3409(2008)06-0241-04

## Response of the Osmotic Stress on the Wheat Seedlings Drought Resistance Under the Different time Betaine Pretreatment

YANG Shu-shen<sup>1</sup>, WENG Ming-yang<sup>1</sup>, DAI Ming<sup>1</sup>, SUN Bin-fang<sup>1</sup>, SHAN Lun<sup>2</sup>

(1. College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Institute of Soil and Water Conservation, the Chinese Academy of Sciences, Yangling, Shaanxi 712100 China)

**Abstract:** Effects of root-applied exogenous betaine (2.0 g/L) at different time (48 h, 72 h, 96 h) on the drought-tolerance of wheat (Changwu 134) seedlings under PEG-6000(-0.1 MPa) osmotic stress was examined, including the water status, Proline content, soluble sugars content, soluble protein content, chlorophyll content and the activities of antioxidant enzymes. The results showed that the exogenous betaine could promote the activities of membrane protective enzymes, increase the content of the osmotically adjustable things, decrease the drought-stress-induced injuries of wheat seedlings and protect the cell structure, and pretreating 72 h provided the better effect.

**Key words:** betaine; wheat; PEG osmotic stress

甜菜碱(Betaine)是植物体内无毒副作用的渗透调节物质之一, 主要分布于植物叶绿体和细胞质中, 干旱胁迫下植物细胞内会大量积累, 除了能降低细胞的渗透势, 还能作为一种保护物质, 维持生物大分子结构的完整性, 以维持其正常的生理功能<sup>[1]</sup>。小麦是人类主要的粮食作物之一, 且世界上 70% 的小麦分布于干旱和半干旱地区, 因此, 研究小麦的抗旱丰产对世界粮食问题的解决具有重要意义。鉴于甜菜碱的上述功能, 使人们自然想到通过提高小麦体内的甜菜碱含量来提高小麦的抗旱能力。目前人们就甜菜碱对不同品种小麦抗性的影响及不同浓度甜菜碱对小麦抗性的影响已做了一定的研究<sup>[2-5]</sup>, 但甜菜碱不同时间预处理对小麦的抗性影响还未有报道。本实验在进行 PEG-6000 胁迫处理前, 先用 2.0 g/L 甜菜碱对小麦根预处理, 再研究其对干旱

胁迫下小麦幼苗相对含水量、丙二醛含量、可溶性蛋白含量、叶绿素含量、抗氧化酶活性等生理生化指标的影响, 旨在揭示外源甜菜碱施加时间与小麦抗旱性的关系。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料培养

本实验采用优质高产、耐寒、抗旱、对条锈病免疫的小麦品种长武 134 为材料。挑选大小一致籽粒饱满的种子于培养皿中浸水吸胀 12 h, 催芽 12 h, 然后将露白充分且一致的种子移种在塑料盒(25 cm × 15 cm × 5 cm)中, 水培至一叶一心期时换 Hoagland 营养液培养至两叶一心期, 期间 3 d 换一次营养液。培养时置于 22℃ 下恒温培养, 光周期为 14 h/10 h(白天/黑夜), 白天光照强度为 500 μmol/(m<sup>2</sup> · s)。

<sup>\*</sup> 收稿日期: 2008-11-11

基金项目: 陕西省自然科学基金项目(2007 C117)

作者简介: 杨淑慎(1956-), 女, 陕西黄陵人, 教授, 博士, 主要从事植物抗逆生理教学与研究工作。E-mail: yangshushen2002@163.com  
通信作者: 山仑(1933-), 男, 山东龙口人, 工程院院士, 主要从事旱地农业生理生态研究。

## 1.2 材料处理

处理 1: 对两叶一心期的小麦直接进行 -1.0 MPa PEG-6000 胁迫处理 48 h; 处理 2: 先对两叶一心期的小麦幼苗根施 2.0 g/L Betaine 进行预处理, 处理时间分别为 48 h、72 h 和 96 h, 然后再加入 -1.0 MPa PEG-6000 进行渗透胁迫处理 48 h; 以未进行任何处理的小麦幼苗为对照。

## 1.3 生理指标测定

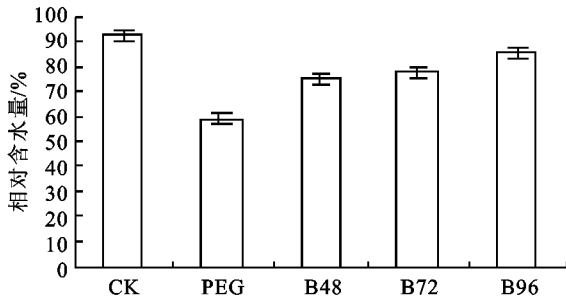
相对含水量、渗透势、叶绿素含量、抗氧化酶活性、细胞膜相对透性、丙二醛含量、游离脯氨酸、可溶性糖含量及可溶性蛋白的测定均采用高俊凤的方法<sup>[6]</sup>。每个指标重复测定 3 次以上。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源甜菜碱对 PEG 胁迫下小麦幼苗水分关系的影响

#### 2.1.1 外源甜菜碱对小麦幼苗相对含水量的影响

相对含水量(RWC)是反映植物组织水分状况的重要参数<sup>[7]</sup>。从图 1 可知, 与对照相比, PEG 胁迫下, 小麦幼苗的 RWC 均有所下降; 与用甜菜碱进行预处理小麦的 RWC 相



注: CK 代表对照, PEG 代表胁迫 48 h, B48、B72、B96 分别代表甜菜碱预处理 48 h、72 h、96 h, 下同。

图 1 甜菜碱对干旱胁迫条件下小麦幼苗 RWC 的影响

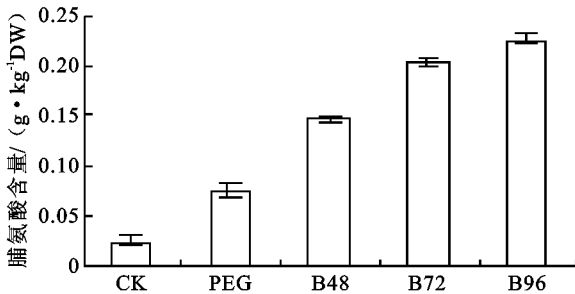


图 3 甜菜碱对干旱胁迫条件下小麦幼苗游离脯氨酸含量的影响

### 2.2 外源甜菜碱对 PEG 胁迫下小麦幼苗游离脯氨酸和可溶性糖的影响

作为渗透调节物质, 脯氨酸和可溶性糖含量的增加对降低细胞水势、增加细胞汁液浓度和提高植物的吸水能力是十分有利的。如图 3 和图 4 所示, 小麦幼苗受到 PEG-6000 胁迫时, 体内的游离脯氨酸含量和可溶性糖的含量都上升。与对照相比, 只进行 PEG 胁迫的幼苗的游离脯氨酸含量上升到对照的 3.3 倍, 而经过甜菜碱预处理 (48 h、72 h、96 h) 的幼苗游离脯氨酸含量分别上升到对照的 6.4、8.9、9.1 倍。与游离脯氨酸含量在两种不同处理的小麦幼苗中的对比类似, 经过甜菜碱预处理 (48 h、72 h、96 h) 后, 小麦幼苗的可溶性糖含量分别上升到对照的 2.8、3.4、2.7 倍, 显著高于只进行 PEG 处理的幼苗中可溶性糖含量上升的幅度 (只有对照的 1.4 倍)。然而随着甜菜碱预处理时间的增大, 干旱胁迫

比, 未用甜菜碱根施预处理过的小麦幼苗的 RWC 下降幅度大, 未用甜菜碱进行预处理小麦幼苗的 RWC 与对照组相比下降了 35.7%, 而经甜菜碱预处理过 48 h、72 h、96 h 的幼苗其 RWC 与对照组相比分别只降低了 18.8%、15.4% 和 7.4%。这说明在干旱胁迫前经过甜菜碱预处理, 缓解了干旱对小麦幼苗的渗透胁迫, 增加了细胞的保水能力, 使小麦维持正常的生理功能。并且随着甜菜碱预处理时间的延长, PEG-6000 处理后小麦幼苗 RWC 下降幅度逐渐变小, 幼苗叶片的保水能力增强。

#### 2.1.2 外源甜菜碱对 PEG 胁迫下小麦幼苗渗透势的影响

根据 Blum 等<sup>[8]</sup>的定义, 渗透调节能力是指由于胞内物质的增加引起的渗透势的下降。从图 2 可以看出, 在 PEG-6000 胁迫下, 经甜菜碱和未经甜菜碱处理的小麦幼苗的渗透势都有一定程度的下降。但经甜菜碱处理的小麦其渗透势下降幅度更大, 说明经甜菜碱处理的小麦幼苗在 PEG 胁迫下产生更大的渗透调节作用, 而且甜菜碱处理的时间越长这种渗透调节作用越大。

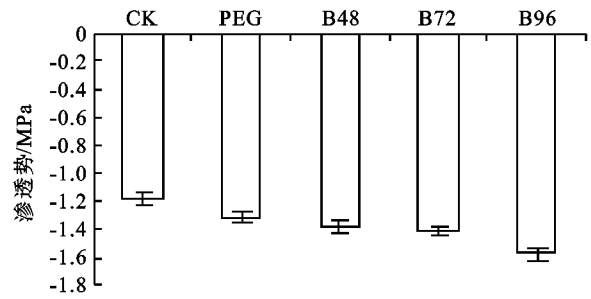
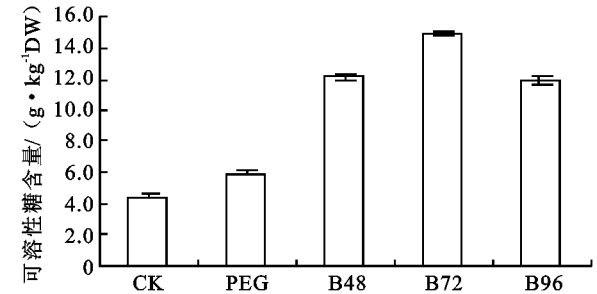


图 2 甜菜碱对干旱胁迫条件下小麦幼苗渗透势的影响



后小麦幼苗中可溶性糖的含量并非一直增加, 用甜菜碱预处理 72 h 的小麦幼苗在干旱下可溶性糖的积累量最大, 再继续延长预处理时间, 干旱下小麦幼苗中可溶性糖的含量反而会下降。

### 2.3 外源甜菜碱对 PEG 胁迫下小麦幼苗细胞膜的作用

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化最重要的产物之一, 其含量的高低可以反映膜脂氧化的程度, 代表膜损伤程度的大小。从图 5 可以看出, 在 PEG-6000 胁迫下, 小麦幼苗体内的 MDA 含量明显增加, 说明干旱胁迫导致了膜脂过氧化反应。与只进行 PEG-6000 胁迫的幼苗中 MDA 量相比, 经甜菜碱预处理过的小麦幼苗体内的 MDA 含量明显降低, 且预处理时间越长体内 MDA 含量越低。说明甜菜碱被根系吸收并运送到叶片后, 对干旱胁迫诱导的叶肉细胞膜脂过氧化起到有效的缓解作用, 从而减轻干旱胁迫对植物细胞膜系

统的伤害,增强叶片对逆境的适应。

干旱会使植物细胞膜系统受损,导致膜透性增大,逆境条件下细胞膜相对透性的变化反映了植物对逆境的适应能力。从图 6 可以看出,只进行 PEG 胁迫的小麦幼苗的细胞膜相对透性为对照组的 2.11 倍,而用甜菜碱预处理 48 h、72

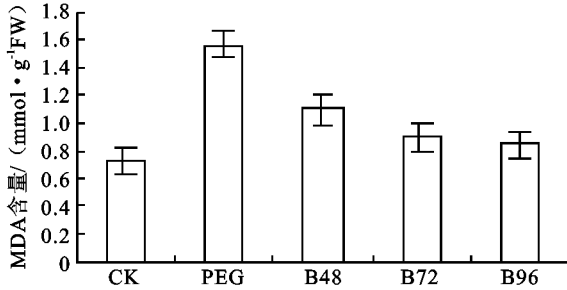


图 5 甜菜碱对干旱胁迫条件下小麦幼苗 MDA 含量影响

#### 2.4 外源甜菜碱对 PEG 胁迫下小麦幼苗抗氧化酶的影响

干旱胁迫诱导植物细胞中活性氧增多并对植物造成氧化伤害,植物体内的过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)等抗氧化酶可以减缓这种氧化伤害。由图 7、8 所示,与对照相比,PEG 胁迫处理明显减弱了小麦幼苗叶片中 POD 和 SOD 酶的活性,然而经过甜菜碱预处理后这两种酶

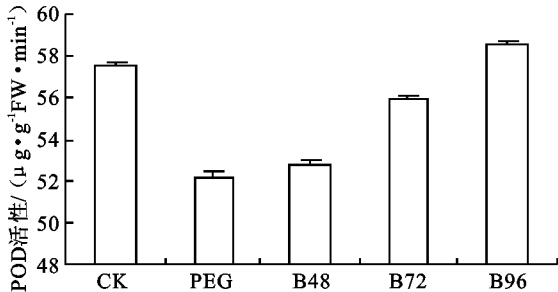


图 7 甜菜碱对干旱胁迫条件下小麦幼苗体内 POD 活性的影响

#### 2.5 外源甜菜碱对 PEG 胁迫下小麦幼苗体内可溶性蛋白和叶绿素含量的影响

干旱胁迫可引起植物体内蛋白质和叶绿素的降解。从图 9 和图 10 可以看出,PEG-6000 胁迫后,小麦幼苗叶片中的可溶性蛋白含量和叶绿素含量明显降低,与只进行 PEG

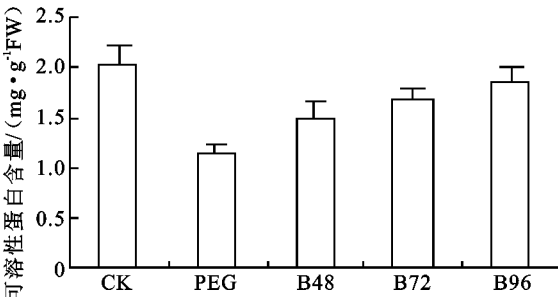


图 9 外源甜菜碱对干旱胁迫下小麦幼苗体内可溶性蛋白的影响

### 3 讨论

#### 3.1 外源甜菜碱对干旱胁迫下小麦幼苗渗透调节能力的影响

许多研究都表明渗透调节在植物适应干旱过程中起重要作用,并且被认为是植物耐旱机制的重要组成部分<sup>[9]</sup>。干旱首先造成植物水分状况的恶化,进而影响其他的生理功

能。在本研究中,外源甜菜碱的施加减缓了小麦幼苗在干旱条件下水分状况的恶化,表现为叶片 RWC 下降幅度小,以及叶片渗透势变化幅度大。此外,外源甜菜碱的添加还诱导了另外两种渗透调节物质游离脯氨酸和可溶性糖积累量的增大。这说明外源甜菜碱的预处理在增大植物内源甜菜碱量的同时还诱导了其他渗透调节物质的提高,多种渗透调节

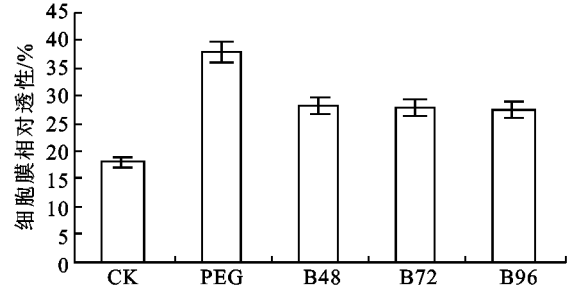


图 6 甜菜碱对干旱胁迫条件下小麦幼苗细胞膜相对透性的影响

活性的减弱得到控制,并且随着外源甜菜碱预处理时间的延长,对酶活性的保护作用越明显,POD 活性在预处理 96 h 后甚至高于对照,SOD 活性在预处理 72 h 后高于对照。表明甜菜碱对 POD 和 SOD 两种抗氧化酶活性具有提高的作用,且随着甜菜碱量的增多,这两种酶的保护作用越强。

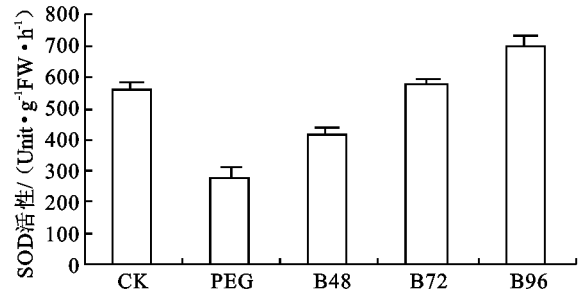


图 8 甜菜碱对干旱胁迫条件下小麦幼苗体内 SOD 活性的影响

胁迫处理的小麦幼苗体内的可溶性蛋白含量和叶绿素含量相比,经过甜菜碱预处理的小麦幼苗中的可溶性蛋白含量和叶绿素含量下降的幅度较小,且随着预处理时间的延长,这两种物质下降的量越小。说明外施甜菜碱对小麦幼苗中可溶性蛋白和叶绿素含量均有保护作用。

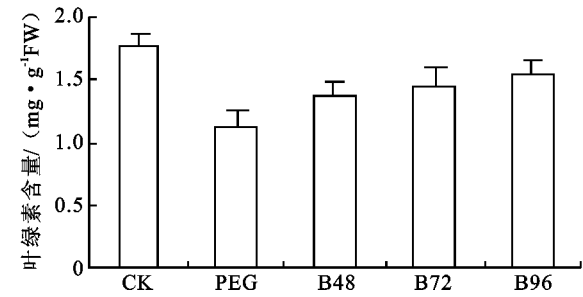


图 10 外源甜菜碱对干旱胁迫下小麦幼苗体内叶绿素的影响

能。在本研究中,外源甜菜碱的施加减缓了小麦幼苗在干旱条件下水分状况的恶化,表现为叶片 RWC 下降幅度小,以及叶片渗透势变化幅度大。此外,外源甜菜碱的添加还诱导了另外两种渗透调节物质游离脯氨酸和可溶性糖积累量的增大。这说明外源甜菜碱的预处理在增大植物内源甜菜碱量的同时还诱导了其他渗透调节物质的提高,多种渗透调节

物质同时增多大大增强了小麦幼苗叶片细胞的渗透调节能力,从而改善了叶片的水分状况,提高了植株的耐旱能力。这与郭启芳等<sup>[10]</sup>关于外源甜菜碱提高了小麦在盐胁迫伤害中渗透胁迫能力的研究一致。

### 3.2 外源甜菜碱对干旱胁迫条件下小麦幼苗生物大分子物质的影响

干旱能够导致植物细胞壁和叶绿体等细胞器中活性氧(ROS)代谢平衡的紊乱,这些 ROS 能对细胞膜、蛋白质和核酸造成严重的伤害<sup>[11]</sup>。在本研究中,外源甜菜碱的施加明显减缓了干旱胁迫下小麦幼苗叶片 MDA 含量的升高和细胞膜相对透性的增大,表明植物体内甜菜碱的积累减缓了 ROS 对植物细胞膜的伤害。另外施加甜菜碱与没有施加甜菜碱的小麦幼苗相比,在干旱条件下体内抗氧化酶 SOD 和 POD 的活性较高。这可能是甜菜碱作为分子伴侣在渗透胁迫下稳定了抗氧化酶等生物大分子的结构和功能<sup>[12]</sup>,SOD 和 POD 酶活性的稳定有利于清除小麦体内过多的 ROS,进而减少植物细胞在干旱胁迫下受到的氧化伤害。

在本研究中还检测到外源甜菜碱的施加减缓了干旱胁迫下小麦幼苗叶片中叶绿素含量和可溶性蛋白含量的降低。这一方面可能是植物体内的甜菜碱直接保护了叶绿素和可溶性蛋白的结构和功能,另一方面可能是前面提到的外源甜菜碱增强了细胞内 SOD 和 POD 酶的活性,进而减少了 ROS 对叶绿素和蛋白质的氧化破坏,间接起到保护作用。叶绿体的完整性保证了光合作用的正常进行,从而也提高了小麦幼苗的抗旱性。

由以上研究可知,外源甜菜碱的使用在缓解干旱对小麦的伤害中起重要作用,并且与甜菜碱预处理的时间有很大关系。从本实验看,在一定时间内,甜菜碱预处理时间越长越有利于小麦体内生物大分子物质结构和功能的稳定,但较长时间甜菜碱预处理(96 h)对小麦幼苗叶片水分状况恶化和细胞膜过氧化的缓解作用不再增强,甚至会减少体内可溶性糖的积累量。李新梅等<sup>[13]</sup>研究发现,植物细胞中脯氨酸含量的积累似乎存在一个限制性阈值,超过这一积累值则失去缓解盐胁迫伤害的功能,表现为植株受害严重甚至死亡,本研究中甜菜碱的积累也存在这种情况。

### 参考文献:

- [1] 李新梅,孙丙耀,谈建中. 甜菜碱与植物抗逆性关系的研究进展[J]. 农业科学研究,2006,27(3):66-70.
- [2] 张建新,刘拉平. 甜菜碱对小麦幼苗抗旱生理作用的研究[J]. 陕西农业科学,1997(4):21-22.
- [3] 景蕊莲,吕小平,胡荣海. 外源甜菜碱对小麦幼苗抗旱性的影响[J]. 干旱地区农业研究,1998,16(2):1-5.
- [4] 杨淑英,张建新,吕家珑,史荣力. 外源甜菜碱对冬小麦抗旱性生理指标的影响研究[J]. 西北植物学报,2000,20(6):1041-1045.
- [5] 张立新,李生秀. 氮、钾、甜菜碱对水分胁迫下夏玉米叶片膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J]. 作物学报,2007,33(3):482-490.
- [6] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界地图出版社,2000.
- [7] 北京植物生理学会. 植物生理生化进展[M]. 北京:科学出版社,1983.
- [8] Bium A, Munns R, Passloura J B, et al. Genetically engineered plants resistant to soil drying and salt stress: how to interpret osmotic relations? [J]. Plant Physiology,1996,110:1051-1053.
- [9] Bajji M, Lutts S, Kinet J M. Water deficit effect on solution contribution to osmotic adjustment as a function of leaf aging in three durum wheat (*Triticum durum* Desf) cultivars performing differently in arid conditions[J]. Plant Sci.,2001,160:669-681.
- [10] 郭启芳,马千全,孙灿. 外源甜菜碱提高小麦幼苗抗盐性的研究[J]. 西北植物学报,2004,24(9):1680-1686.
- [11] Nicholas S. Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants [M]. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 2005.
- [12] Bourot S, Sire O, Trautwetter A, et al. Glycine betaine-assisted protein folding in a *lysA* mutant of *Escherichia coli* [J]. J. Biol. Chem.,2000,275(2):1050-1056.
- [13] 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,2006,2(3):414-417.