

doi : 10. 16473/j. cnki. xblykx1972. 2018. 06. 007

不同盐碱胁迫下阿拉善荒漠区3种沙生植物幼苗体内脯氨酸变化规律的研究*

王丽, 张斌武, 桂翔, 杨阳, 谢菲, 刘俊良, 马悦
(阿拉善盟林木种苗站, 内蒙古 阿拉善盟 750300)

摘要: 以采集自阿拉善荒漠的3种沙生植物蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒为材料, 研究不同浓度(0、50mmol/L、100mmol/L、200mmol/L、300mmol/L) NaCl、KCl、Na₂CO₃ 和 NaHCO₃ 处理下幼苗内的脯氨酸含量变化。结果表明, 观测期内, 不同浓度、不同类型的胁迫处理均显著提高了脯氨酸在蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒幼苗叶片中的累积。相同胁迫条件下, 白沙蒿幼苗中脯氨酸的累积水平高于花棒, 花棒高于蒙古沙冬青。

关键词: 盐碱胁迫; 脯氨酸; 蒙古沙冬青; 白沙蒿; 花棒

中图分类号: Q 946; S 718.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-8246 (2018) 06-0040-05

Changes of Proline Content in Seedlings of Three Different Desert Plants under Different Saline-alkaline Stresses

WANG Li, ZHANG Bin-wu, GUI Xiang, YANG Yang, XIE fei, LIU Jun-liang, MA Yue
(Tree Seedling Station of Alxa, Alxa league Inner Mongolia, Alxa Mongolia 750300, P. R. China)

Abstract: Seeds of three different plants, *Ammopiptanthus mongolicus*, *Artemisia sphaerocephala* and *Hedysarum scoparium*, were sampled from Alxa desert to explore the change of proline content in leaves of their seedlings under different saline-alkaline stresses. NaCl, KCl, Na₂CO₃ and NaHCO₃ solutions, each in four different gradient concentrations (50mmol/L, 100mmol/L, 200mmol/L, 300mmol/L), were supplemented to pots containing seedlings of one month old. Our results showed that, significantly enhanced proline accumulation was observed in seedlings of *Ammopiptanthus mongolicus*, *Artemisia sphaerocephala* and *Hedysarum scoparium*, after stressed by saline-alkaline solutions in different gradients. Generally, *Artemisia sphaerocephala* seedlings accumulate more proline than *Hedysarum scoparium* under the same stress condition, whereas *Hedysarum scoparium* seedlings accumulate more proline than *Ammopiptanthus mongolicus*.

Key words: saline-alkaline stress; proline; *Ammopiptanthus mongolicus*; *Artemisia sphaerocephala*; *Hedysarum scoparium*

土壤盐渍化是全球性生态问题。世界范围内, 受盐渍化影响的土地面积约为 $8.31 \times 10^8 \text{hm}^2$ ^[1], 占全球土地总量的7%。此外, 不合理的灌溉和耕作方式还导致了次生盐渍化的发生。目前, 全球次生

盐渍化土地面积约为 $7.700 \times 10^4 \text{hm}^2$ ^[1], 其中58%均发生在具备灌溉条件的耕作区。盐渍化的发展严重影响适耕土地的生产力, 威胁作物生产和粮食安全。

* 收稿日期: 2018-05-24

基金项目: 阿拉善沙产业研究院科技计划项目(沙生植物良种选育及繁殖技术研究)。

第一作者简介: 王丽(1985-), 女, 工程师, 硕士, 主要从事植物逆境生理及分子生物学研究。E-mail: wanglind@foxmail.com

通讯作者简介: 张斌武(1970-), 男, 正高级工程师, 硕士, 主要从事林木遗传育种研究。E-mail: 492358798@qq.com

阿拉善地处三大沙漠交汇地带，区内沙漠面积广大，年均降水量小于200mm^[2]，自然环境恶劣。区内物种结构较为单一，多为多年生的旱生灌木和半灌木^[3]。脯氨酸是植物体内最为重要的渗透调节物质之一^[4]。胁迫条件下，体内累积的脯氨酸具有清除胞内活性氧的作用^[5]，还可作为储能物质存储参与细胞内的能量代谢，保证胁迫条件下的能量供给^[6]。

本研究以阿拉善荒漠区内3种常见的旱生植物蒙古沙冬青 (*Ammopiptanthus mongolicus*)、白沙蒿 (*Artemisia sphaerocephala*) 和花棒 (*Hedysarum scoparium*) 为材料，对此3种旱生植物不同类型盐碱胁迫条件下 (NaCl、KCl、Na₂CO₃、NaHCO₃) 的脯氨酸变化规律进行研究，为探索荒漠植物的逆境适应机理提供有益借鉴和参考。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验中所使用的蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒种子均采集于阿拉善左旗周边荒漠区内。分别挑选籽粒饱满的蒙古沙冬青、花棒种子，用蒸馏水冲洗干净后温水浸泡24h。将浸泡后的蒙古沙冬青、花棒种子经2%的高锰酸钾溶液消毒10min后冲洗干净。将蒙古沙冬青、花棒、白沙蒿种子分别拌沙点播至装有基质(草炭土和沙土各50%)的花盆中，待种子萌发至幼苗后进行间苗，每盆保留10株生长健壮且生长发育程度基本一致的幼苗植株用于不同浓度的盐胁迫处理。

1.2 胁迫处理

采用1月龄植株，设置50mmol/L、100mmol/L、

200mmol/L和300mmol/L共4个NaCl浓度梯度及与上述4个浓度梯度相对应的KCl、Na₂CO₃和NaHCO₃处理，于7月20日对幼苗进行盐碱胁迫。处理时，量取500mL预先配制好的盐碱溶液，缓慢浇至花盆中，将浇灌相同量蒸馏水的处理作为对照(0mmol/L)。各处理，每个采样时间点均设置3个重复。自8月31日起，每间隔2d采样1次。采集的叶片样本迅速转移至液氮中进行速冻，带回实验室后冻存于-80℃冰箱备用。

1.3 脯氨酸测定方法

使用酸性茚三酮法测定脯氨酸含量。称取0.5g叶片置于1个干净的研钵中，向其中加入10mL3%的磺基水杨酸溶液在低温条件下迅速研磨。充分研磨后的匀浆使用滤纸进行过滤，取2mL滤液转移至1个新的试管中，并向其中加入2mL预先配制好的茚三酮溶液和2mL冰乙酸，转移至沸水中水浴1h。将试管迅速插入冰中冷却，并向其中加入4mL甲苯。吸取甲苯上清，使用分光光度计于520nm处测定吸光值。使用市售的标准品绘制脯氨酸标准曲线。

1.4 数据处理

使用SAS软件分析比较不同胁迫处理下的脯氨酸含量，使用Origin 8软件绘图。

2 结果与分析

2.1 NaCl胁迫对脯氨酸积累的影响

从总体变化趋势上来看，不同浓度的NaCl胁迫促进了脯氨酸在蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒幼苗叶片中的积累(图1)。

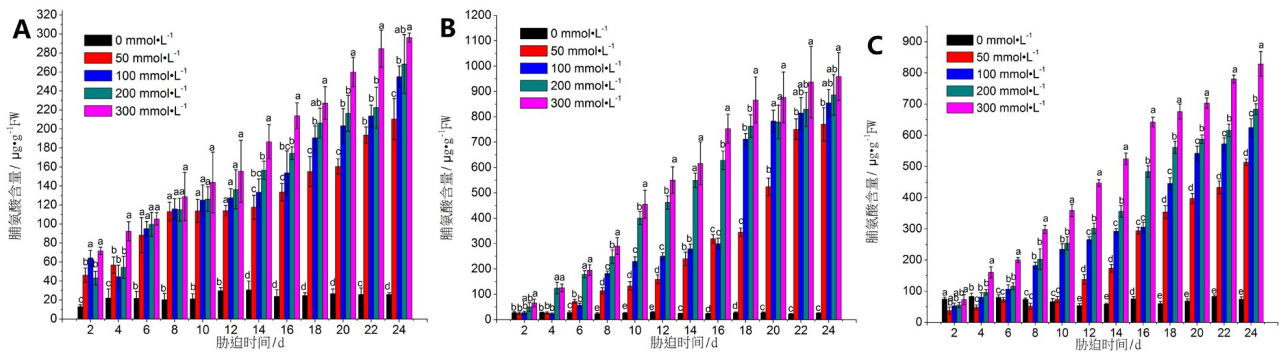


图1 NaCl胁迫对脯氨酸积累的影响

注：不同字母表示处理间在0.05水平存在显著性差异。下同

Fig. 1 Effects of NaCl stress on proline accumulation

观测期内,不同浓度的NaCl处理均显著提高了蒙古沙冬青幼苗中的脯氨酸水平(图1-A)。虽然随着处理时间的延长,观测期内3种植株体内的脯氨酸水平均表现出逐渐增高的趋势,但白沙蒿和花棒体内的脯氨酸累积水平显著高于蒙古沙冬青,300mmol/L NaCl处理24d后,白沙蒿和花棒幼苗叶片内的脯氨酸含量分别为959.02 $\mu\text{g/g}$ 和

828.89 $\mu\text{g/g}$ (图1-B和图1-C)。

2.2 KCl胁迫对蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒脯氨酸积累的影响

与NaCl胁迫类似,KCl处理同样对蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒幼苗叶片中的脯氨酸积累具有促进作用,见图2。

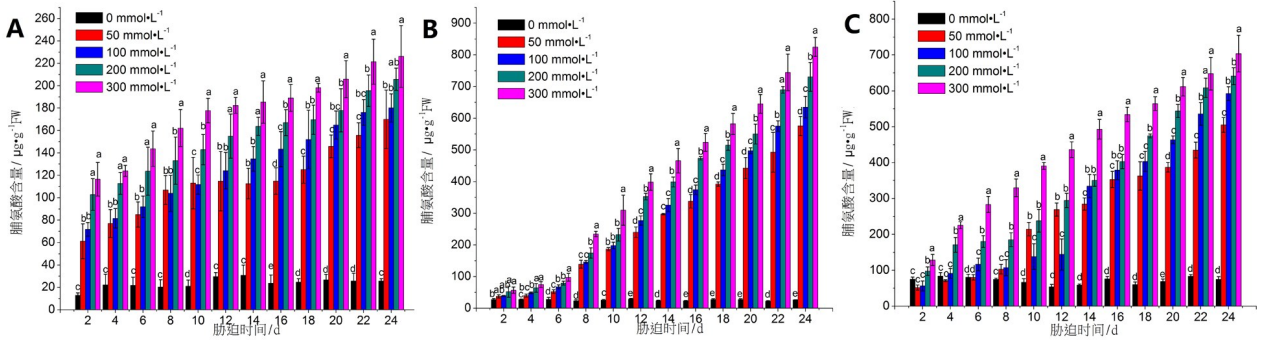


图2 KCl胁迫对脯氨酸积累的影响

Fig.2 Effects of KCl stress on proline accumulation

经不同浓度KCl处理后,蒙古沙冬青幼苗中的脯氨酸含量在各采样时间点均显著高于对照(图2-A)。300mmol/L KCl处理24d后,蒙古沙冬青叶片中的脯氨酸含量为226.21 $\mu\text{g/g}$ (图2-A),而白沙蒿和花棒中的脯氨酸含量分别为824.89 $\mu\text{g/g}$ 和704.05 $\mu\text{g/g}$ (图2-B和图2-C),均显著高于蒙古

沙冬青。

2.3 Na₂CO₃胁迫对蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒脯氨酸积累的影响

不同浓度Na₂CO₃处理后,随着处理时间的延长,蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒幼苗叶片中的脯氨酸含量均有所增加,见图3。

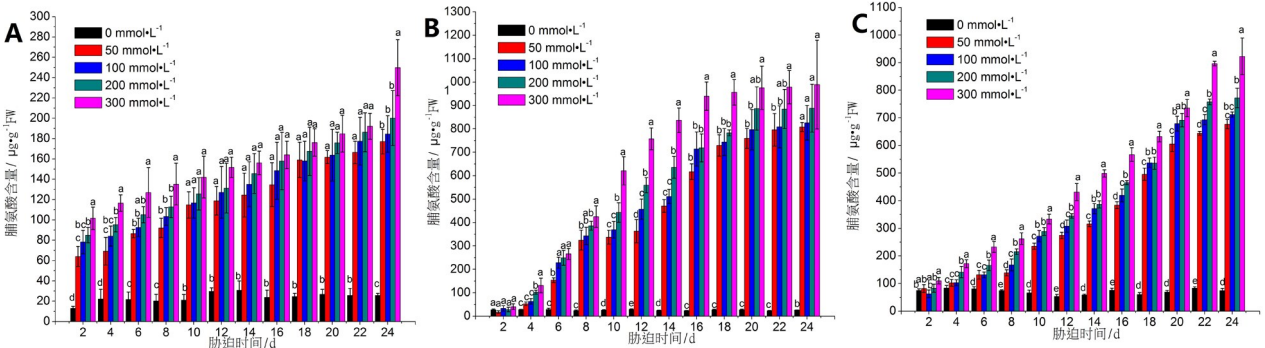


图3 Na₂CO₃胁迫对脯氨酸积累的影响

Fig.3 Effects of Na₂CO₃ stress on proline accumulation

观测期内,不同浓度的Na₂CO₃胁迫均显著提高了蒙古沙冬青幼苗叶片中的脯氨酸含量(图3-A)。300mmol/L Na₂CO₃处理24d后,白沙蒿和花棒叶片内的脯氨酸含量持续上升达到最大,分别为989.33 $\mu\text{g/g}$ 和923.04 $\mu\text{g/g}$ (图3-B和图3-C)。

2.4 NaHCO₃胁迫对蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒脯氨酸积累的影响

NaHCO₃胁迫虽然对蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒幼苗叶片中的脯氨酸积累有促进作用,但与Na₂CO₃相比,NaHCO₃胁迫促进脯氨酸累积的水

平均有所降低。如 300mmol/L NaHCO_3 处理 24d 后, 蒙古沙冬青中的脯氨酸含量为 228.49 $\mu\text{g/g}$ (图 4-A), 低于 Na_2CO_3 处理 (249.82 $\mu\text{g/g}$)。而 300 mmol/L NaHCO_3 处理 24 d 后, 白沙蒿和花棒中脯氨酸含量分别为 782.37 $\mu\text{g/g}$ 和 631.69 $\mu\text{g/g}$

(图 4-B 和图 4-C), 均显著低于相同条件下的 Na_2CO_3 处理。上述结果说明: 与 NaHCO_3 处理相比, 相同浓度的 Na_2CO_3 对蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒幼苗中的脯氨酸积累具有更强的促进作用。

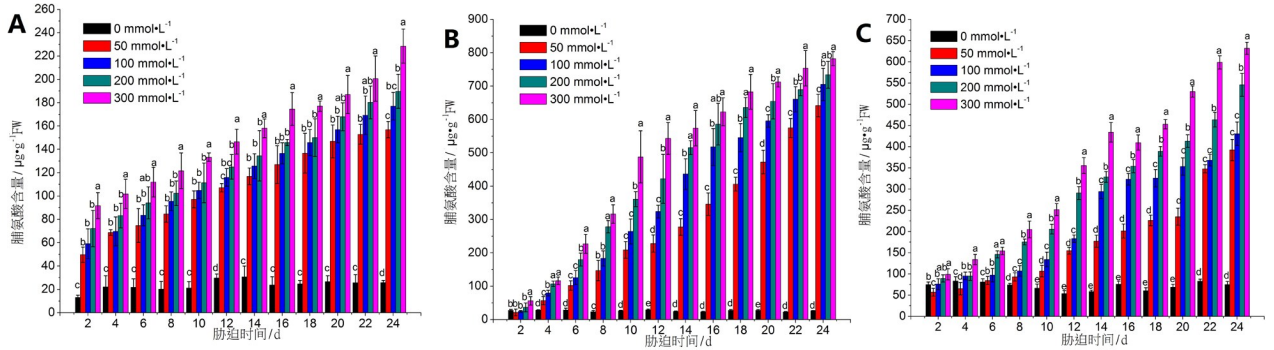


图 4 NaHCO_3 胁迫对脯氨酸积累的影响

Fig. 4 Effects of NaHCO_3 stress on proline accumulation

3 结论与讨论

脯氨酸积累对植物的抗逆性具有十分重要的意义。高等植物中, 生物^[7]和非生物^[8]胁迫诱导的脯氨酸积累已被证明广泛存在于多种植物中。通常情况下, 相较于抗逆性较差的甜土植物, 盐生植物在逆境条件下积累脯氨酸的能力更强^[9]。因此, 有些报道^[10-11]直接将脯氨酸的累积水平与植物的抗逆性, 尤其是抗盐性或抗旱性联系起来, 认为两者间存在着相关性。由于脯氨酸是水溶性最大的氨基酸^[12], 也是抗渗透压的小分子物质, 本研究中, 经不同浓度的 NaCl 、 KCl 、 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 处理后, 蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒植株周围的环境渗透压发生了变化, 不同盐胁迫导致土壤环境渗透压不同, 因此在植株体内积累的脯氨酸含量存在差异。随着胁迫时间的延长, 蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒幼苗叶片中的脯氨酸含量逐渐升高。不同浓度、不同类型的盐碱胁迫均显著提高了脯氨酸在上述 3 种沙生植物幼苗叶片中的累积水平。总体上看, NaCl 胁迫诱导脯氨酸积累的能力大于 KCl ; Na_2CO_3 胁迫诱导脯氨酸积累的能力大于 NaHCO_3 。胁迫条件下, 白沙蒿幼苗内脯氨酸的积累水平大于花棒, 而花棒大于蒙古沙冬青, 但脯氨酸的累积水平并不能直接等同于植物的抗逆性。事实上, 近年来的多项研究表明: 脯氨酸的累积与植物的抗逆性

间的关系在不同的植物中存在差异。例如, Lv 等^[13]的研究表明, 水稻幼苗对盐碱胁迫的抗性与脯氨酸含量的相关性较差, 脯氨酸的累积水平不是评价水稻对盐碱胁迫抗性的可靠指标。植物对某种(类)胁迫的抗性是由多种生理过程共同参与和决定的综合性表现^[14]。本研究对蒙古沙冬青、白沙蒿和花棒在不同盐碱胁迫下的脯氨酸含量进行了比较, 是对这 3 种沙生植物盐碱胁迫响应机理解析的有益尝试, 将对今后阿拉善荒漠区沙生植物资源的开发和利用提供参考。

参考文献:

- [1] 李建国, 濮励杰, 朱明, 等. 土壤盐渍化研究现状及未来研究热点[J]. 地理学报, 2012, 67(9): 1233-1245.
- [2] 张金林, 陈托兄, 王锁民. 阿拉善荒漠区几种抗旱植物游离氨基酸和游离脯氨酸的分布特征[J]. 中国沙漠, 2004, 24(4): 493-499.
- [3] 李景平, 杨鑫光, 傅华, 等. 阿拉善荒漠区 3 种旱生植物体内主要渗透调节物质的含量和分配特征[J]. 草业科学, 2005, 22(9): 35-38.
- [4] Szabados L, Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid[J]. Trends Plant Sci, 2010, 15(2): 89-97.
- [5] Rejeb K B, Abdelly C, Savoure A. How reactive oxygen species and proline face stress together[J]. Plant Physiol Biochem, 2014, 80: 278-284.
- [6] Verbruggen N, Hermans C. Proline accumulation in

plants: a review [J]. *Amino Acids*, 2008, 35(4): 753–759.

[7] Fabro G, Kovacs I, Pavet V, *et al.* Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant–pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2004, 17(4): 343–350.

[8] Wang L, Guo Z, Zhang Y, *et al.* Characterization of Lh-SorP5CS, a gene catalyzing proline synthesis in *Oriental hybrid lily Sorbonne*: molecular modelling and expression analysis [J]. *Bot Stud*, 2017, 58(1): 10.

[9] Zheng L, Dang Z, Li H, *et al.* Isolation and characterization of a Delta1 – pyrroline – 5 – carboxylate synthetase (NtP5CS) from *Nitraria tangutorum* Bobr. and functional comparison with its *Arabidopsis* homologue [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(1): 563–572.

[10] Singh T N, Aapinall D, Paleg L G. Proline accumula-

tion and varietal adaptability to drought in barley: a potential metabolic measure of drought resistance [J]. *Nat New Biol*, 1972, 236(67): 188–190.

[11] Jain R K, Dhawan R S, Sharma D R, *et al.* Salt-tolerance and proline accumulation: a comparative study in salt-tolerant and wild type cultured cells of eggplant [J]. *Plant Cell Rep*, 1987, 6(5): 382–384.

[12] 李敏, 马金龙. 盐胁迫及干旱胁迫对三种杨树脯氨酸含量的影响 [J]. *湖南农业科学*, 2013(1): 105–107, 110.

[13] Lv B, Ma H, Li X, *et al.* Proline accumulation is not correlated with saline-alkaline stress tolerance in rice seedlings [J]. *Agron J*, 2015, 107: 51–60.

[14] 蔡金桓, 都成林, 薛立, 等. 盐胁迫对4种园林植物光合特性的影响 [J]. *西南林业大学学报*, 2017, 37(2): 30–34.

(编辑: 成伶俐)

=====

[上接第39页]

[9] 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, 1995.

[10] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts [J]. *Plant Cell Physiology*, 1981, 22: 867–880.

[11] 张春容, 夏立江, 杜相革. 镉对紫花苜蓿种子萌发的影响 [J]. *中国农学通报*, 2004, 20(5): 253–255.

[12] 王新新, 吴亮, 朱生凤, 等. 镉胁迫对碱蓬种子萌发及幼苗生长的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(2): 238–243.

[13] 王兴明, 李屏, 涂俊芳, 等. Cd对油菜种子发芽与幼苗生长的生态毒性 [J]. *土壤通报*, 2006, 37(6): 1218–1223.

[14] 周青, 黄晓华, 张一. 镉对紫花苜蓿种子萌发的影响 [J]. *农业环境保护*, 2000, 19(3): 156–158.

[15] Cutraro J, Goldstein N. Cleaning up contaminants with plants [J]. *Biocycle*, 2005, 46: 30–32.

[16] 吴坤, 吴中红, 郇付菊, 等. 镉胁迫对烟草叶激素水平、光合特性、荧光特性的影响 [J]. *生态学报*, 2011, 31(16): 4517–4524.

[17] 段瑞军, 吴朝波, 王蕾, 等. 镉胁迫对海雀稗脯氨酸、可溶性糖和叶绿素含量及氮、磷、钾吸收的影响 [J]. *江苏农业学报*, 2016, 32(2): 357–361.

[18] Chang Y C, Walling L L. Abscisic acid negatively regulates expression of chlorophyll a/b binding protein genes during soybean embryogeny [J]. *Plant Physiology*, 1991, 97(3): 1260–1264.

[19] Ouzounidou G, Moustakas M, Eleftheriou E P. Physio-

logical and ultrastructural effects of cadmium on wheat leaves [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1997, 32(2): 154–160.

[20] Zeng Q P, Guo Y. A diversity response and systematic resistance induction in plants. [J]. *Chemistry of Life*, 1997, 17(3): 31–33.

[21] 仇硕, 张敏, 孙延东, 等. 植物重金属镉 (Cd²⁺) 吸收、运输、积累及耐性机理研究进展 [J]. *西北植物学报*, 2006, 26(12): 2615–2622.

[22] 张义贤. 重金属对大麦 (*Hordeum vulgure*) 毒性的研究 [J]. *环境科学学报*, 1997, 17(2): 199–205.

[23] 虎瑞, 苏雪, 宴民生, 等. 重金属 Pb(II) 对3种蕈科植物种子萌发的影响 [J]. *植物研究*, 2009, 29(3): 362–367.

[24] 高芳, 张佳蕾, 王媛媛, 等. 镉胁迫对花生叶片衰老的影响 [J]. *花生学报*, 2011, 40(3): 11–15.

[25] Wang X M, Tu J F, Li J, *et al.* Effects of Cd on rape growth and antioxidant enzyme system [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(1): 102–106.

[26] Dinakar N, Nagajyothi P C, Suresh S, *et al.* Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlings [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20: 199–206.

[27] Okmanen E, H ikio E, Sober J. Ozone-induced H₂O₂ accumulation in field-grown aspen birch is linked to foliar ultrastructure and peroxisomal activity [J]. *New Phytologist*, 2004, 161(3): 791–799.

(编辑: 胡光辉)