

文章编号: 1001-411X(2001)04-0062-04

脯氨酸浸种对 NaCl 胁迫下玉米种子萌发和幼苗生长的效应

卢元芳

(曲阜师范大学生物系, 山东 曲阜 273165)

摘要: 用脯氨酸浸种, 可使 NaCl 胁迫下的玉米发芽率升高, 幼苗的含水量和脯氨酸含量增加, 过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性增强, 说明脯氨酸浸种可以促进盐胁迫下玉米种子的萌发和幼苗的生长。

关键词: 脯氨酸; 玉米; 浸种; 发芽率; 酶活性

中图分类号 Q948.113

文献标识码: A

脯氨酸(Pro)是多种植物细胞的重要渗透调节物质^[1,2], 游离的脯氨酸可以提高植物的抗渗透胁迫能力。以前有不少人研究了环境胁迫和脯氨酸积累之间的关系^[3,4], 但这些研究多集中在对植物体内内源脯氨酸变化的检测上。近年来, 有人开始注意外源脯氨酸的研究。王宝山等^[5]研究了盐胁迫下外源脯氨酸对冰叶松叶菊愈伤组织中离子及脯氨酸含量的影响, 陈因等^[6]研究了外源脯氨酸对受 NaCl 胁迫的蓝藻固氮活性的影响。为探明外源脯氨酸能否解除或缓解盐胁迫对农作物的抑制作用, 笔者用不同浓度 Pro 浸种对 NaCl 胁迫下玉米种子的萌发、幼苗生长及某些生理特性的效应作了些研究。

1 材料和方法

玉米(*Zea mays* L., 单玉 13 号)种子, 用 $\varphi=1\%$ NaClO 溶液消毒 15 min, 再用无离子水洗净晾干, 然后分别用 0、20、40、80 mmol·L⁻¹ 的 L-Pro 溶液浸泡 36 h, 将浸泡过的种子每个浓度都分成 4 份, 分别置于 0、1、2 和 3 g·L⁻¹ 的 NaCl 溶液中, 在 25℃培养箱中暗萌发(培养皿中各铺两层滤纸), 每天更换 1 次溶液。5 d 测其发芽率。再将萌发的种子移植到塑料纱网上, 分别用含有上述浓度 NaCl 的 Hoagland 培养液进行室内培养。温度(25±1)℃/(20±1)℃(白天/晚上), 相对湿度 85%, 光照强度 7 000 lx, 光照 12 h/d, 每天通气 1 次, 失去水分用无离子水补充。每隔 2 d 更换 1 次培养液。幼苗长至三叶期时测定苗高、植株的鲜质量、干质量、含水量、Pro 含量、过氧化物酶(POD)和超氧化物歧化酶(SOD)活性。每个处理 3 个重复。含水量=[(鲜质量-干质量)/鲜质量]×100%。Pro 含量和 POD 活性按文献[7]

介绍的方法测定。Pro 含量用每克干材料中含 Pro 的微克数表示。POD 活性的测定方法是, 称取 1 g 鲜叶片按上法制备 10 mL 提取液, 再将 1 mL 提取液稀释 10 倍, 取 1 mL 稀释液加 3 mL 反应混合液, 立即于 470 nm 波长下测光密度, 每隔 1 min 测 1 次。以每分钟光密度值($D_{470\text{ nm}}$)改变 0.01 个单位的酶量定义为 1 个酶单位, 用 U 表示。SOD 活性的测定采用 NBT 光还原法^[8]。取 0.02 mL 酶提取液(相当于 0.002 g 样品), 与 3 mL 反应混合液混合, 在光照培养箱内光照 10 min, 立即取出测定 $D_{560\text{ nm}}$ 值。用不加酶液的照光管为对照, 以抑制 NBT 光还原 50% 的酶量为 1 个酶单位(U)。

2 结果与分析

2.1 Pro 浸种对玉米种子萌发和幼苗生长的影响

由表 1 和 2 看出, 在浸种的 Pro 浓度相同时, 玉米种子的发芽率、苗高、单株鲜质量和干质量都随 NaCl 浓度的升高逐渐减小。在 NaCl 浓度相同时, 用 Pro 浸种的玉米种子的发芽率、苗高、单株鲜质量和干质量都高于未用 Pro 浸种的, 并且在 Pro 浓度为 40 mmol·L⁻¹ 时增幅最大。从 t 检验结果也可看出, 无论在盐胁迫还是非盐胁迫条件下, 用 Pro 浸种与未用 Pro 浸种的相比, 其苗高差异性大多数为极显著($P<0.01$)(表 2)。特别是 Pro 浓度为 40 mmol·L⁻¹ 时全部为极显著。说明 Pro 浸种在一定浓度范围内, 对玉米幼苗苗高的增加多数有极显著影响。同时, 从外观上看, 以 40 mmol·L⁻¹ Pro 处理的玉米幼苗长势最好。由此可见, 经上述浓度的 Pro 浸种, 都可缓解 NaCl 胁迫对玉米幼苗的抑制作用, 以 40 mmol·L⁻¹ 的 Pro 最为有效。

表 1 Pro 浸种对玉米种子发芽率的影响¹⁾

Tab.1 Effect on the rate of germination of corn seed soaked with proline

$\rho(\text{NaCl})/$ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	$c(\text{Pro})/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$			
	0	20	40	80
0	80.5(100)	83.6(103.9)	87.7(108.9)	84.1(104.5)
1	71.3(100)	74.4(104.3)	76.2(106.9)	71.4(100.1)
2	53.5(100)	68.5(128.0)	69.7(130.2)	61.2(114.4)
3	51.0(100)	61.2(120.0)	65.8(129.0)	51.3(100.6)

1) 表中数据为 200 粒种子的发芽率(%)；括号内的数字为相同盐度下, Pro 浸种的占未用 Pro 浸种的百分数

表 2 Pro 浸种对玉米幼苗苗高、鲜质量和干质量的影响¹⁾

Tab.2 Effect on seedling height, fresh mass and dry mass of corn seedling of seed soaked with proline

$\rho(\text{NaCl})/$ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	$c(\text{Pro})/$ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	苗高 seedling height/cm	鲜质量 fresh mass/mg	干质量 dry mass/mg
0	0	34.7(100)	1 804.1(100)	131.7(100)
	20	35.4(101.8) *	1 838.9(101.9)	132.4(100.5)
	40	36.8(108.8) **	1 951.4(108.2)	136.6(103.7)
	80	35.8(103.2) **	1 901.4(105.4)	135.9(103.2)
1	0	33.2(100)	1 570.7(100)	128.8(100)
	20	34.4(103.6) **	2 114.5(134.6)	131.1(101.8)
	40	37.2(112.0) **	2 333.3(148.6)	140.0(108.7)
	80	35.8(107.8) **	2 258.3(143.8)	135.5(105.2)
2	0	32.9(100)	1 387.8(100)	124.9(100)
	20	34.0(103.3) **	1 767.1(127.3)	129.0(103.3)
	40	35.6(108.2) **	2 334.5(168.2)	135.4(108.4)
	80	33.1(100.6)	2 108.1(151.9)	130.7(104.6)
3	0	31.0(100)	1 156.9(100)	118.0(100)
	20	32.1(103.5) **	1 520.0(131.4)	121.6(103.1)
	40	34.7(111.9) **	1 885.7(163.0)	132.0(111.8)
	80	31.1(100.3)	1 423.9(123.1)	121.8(103.2)

1) 苗高为 10 株幼苗的平均值, 鲜质量和干质量为 5 株幼苗的平均值; 括号内的数字为相同盐度下, Pro 浸种的占未用 Pro 浸种的百分数; 用 t 检验法检验 Pro 浸种的与未用 Pro 浸种的幼苗苗高的差异性, * 表示显著($P<0.05$), ** 表示极显著($P<0.01$)

2.2 Pro 浸种对玉米幼苗含水量和 Pro 含量的影响

表 3 表明, (1)浸种的 Pro 浓度相同时, 玉米幼苗的含水量随 NaCl 浓度的提高而略有降低. 用不同浓度的 Pro 浸种, 在非盐胁迫下玉米幼苗的含水量变化不大, 而在相同浓度的 NaCl 胁迫下 Pro 浸种的玉米幼苗的含水量都高于未用 Pro 浸种的, 且 Pro 浓度为 $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时高出的幅度最大(高达 3%). (2)在浸种的 Pro 浓度相同时, 幼苗的 Pro 含量地上部分都随 NaCl 浓度的升高而增加, 而地下部分规律不明显. 在

NaCl 浓度相同时, Pro 浸种的玉米幼苗的 Pro 含量都明显高于未用 Pro 浸种的. 从 t 检验结果看, 无论在盐胁迫还是非盐胁迫条件下, 用 Pro 浸种的与未用 Pro 浸种的相比, 其 Pro 含量的差异性大多数为极显著($P<0.01$), 见表 3. 而地下部分几乎全是极显著. 从表 3 还可看出, Pro 浓度为 $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时增幅最大, t 检验结果全部为极显著. 这说明 Pro 浸种对玉米幼苗的 Pro 含量基本上也都有极显著影响. Pro 含量的增加, 不仅因为植物细胞吸收了外源 Pro, 而且促进了细胞中 Pro 的积累. 含水量增加可能是在外源 Pro 作用下细胞积累更多的 Pro 进行渗透调节, 降低细胞渗透势, 维持膨压, 以致细胞在低水势环境中也能继续生长.

2.3 Pro 浸种对玉米幼苗 POD 和 SOD 活性的影响

表 4 表明, 在 Pro 浸种而浓度相同时, 幼苗的 POD 和 SOD 活性都随 NaCl 浓度的增加而增大. 而未用 Pro 浸种的, 其 POD 和 SOD 活性也都随盐度的增加而增加, 但不如 Pro 浸种的显著. 在有盐胁迫而 NaCl 浓度相同时, Pro 浸种的玉米幼苗的 POD 和 SOD 活性明显高于未用 Pro 浸种的, 并且 Pro 浓度为 $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时增幅最大. 无盐胁迫的 POD 活性与对照基本一致, SOD 活性有明显增加, 但都不如盐胁迫下增加的多. 用 t 检验法检验了 Pro 浸种的与未用 Pro 浸种的玉米幼苗 POD 和 SOD 活性的差异性, 除无盐胁迫的 POD 活性外, 基本上都是极显著($P<0.01$). 尤其是 SOD 活性, 无论是盐胁迫还是非盐胁迫条件下, 几乎全部是极显著. 除无盐胁迫条件下的 POD 活性外, Pro 浓度为 $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时全部为极显著. 这说明 Pro 浸种对提高 POD 和 SOD 活性, 效果都非常明显. 由上面的分析可以看出, NaCl 和 Pro 单独处理, POD 和 SOD 活性的增加, 都不如同时处理增加的显著. NaCl 单独处理使 POD 和 SOD 活性增加, 是植物对逆境适应的结果^[9]. 但这种适应是有限度的. 而用 Pro 浸种无论在盐胁迫还是非盐胁迫条件下, 都能使植物体内游离 Pro 含量增加, 这一方面对酶起保护作用, 另一方面为酶蛋白和其他蛋白质的合成提供了充足的 Pro, 促进了这两种酶的合成. POD 和 SOD 都是清除自由基的酶. 但在非盐条件下, 也就是 Pro 单独处理, 因自由基少, 也就是酶的底物少, 所以酶的活性升高并不显著. 但在盐胁迫条件下, 产生了大量的自由基, 由于酶底物的增加, 酶活性可能被诱导提高^[9, 10].

表 3 Pro 浸种对玉米幼苗含水量和 Pro 含量的影响¹⁾

Tab. 3 Effect on the cotent of water and proline in corn seedling of seed soaked with proline

$\rho(\text{NaCl})/$ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	$c(\text{Pro})/$ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	$w(\text{H}_2\text{O})/$ %	$(\text{Pro})^{2)}/(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$	
			地上	地下
			above the ground	under the ground
0	0	92.7(100)	449.4(100)	190.5(100)
	20	92.8(100.1)	461.3(102.6)	286.8(150.6)**
	40	93.0(100.3)	524.3(116.7)**	501.5(263.3)**
	80	92.9(100.2)	453.2(100.8)	280.7(147.3)**
1	0	91.8(100)	501.3(100)	241.2(100)
	20	93.8(102.2)	511.6(102.1)*	277.6(115.1)**
	40	94.0(102.4)	566.9(113.1)**	368.0(152.6)**
	80	94.0(102.4)	559.7(111.6)**	247.8(102.7)*
2	0	91.0(100)	506.0(100)	250.0(100)
	20	92.7(101.9)	583.4(115.3)**	463.5(185.4)**
	40	94.2(103.5)	604.9(119.5)**	581.7(232.7)**
	80	93.8(103.1)	558.5(110.4)**	297.0(118.8)**
3	0	89.8(100)	510.6(100)	299.8(100)
	20	92.0(102.4)	519.5(101.7)*	403.2(134.5)**
	40	93.0(103.6)	604.1(118.3)**	516.1(172.1)**
	80	91.4(101.8)	530.2(103.8)**	337.4(112.5)**

1) 含水量为 5 株幼苗的平均值, Pro 含量为 3 个数据的平均值; 括号内的数字为相同盐度下, Pro 浸种的占未用 Pro 浸种的百分数; 2) 以干质量计; 用 *t* 检验法检验 Pro 浸种与未用 Pro 浸种的 Pro 含量的差异性, * 表示显著 ($P<0.05$), ** 表示极显著 ($P<0.01$)

表 4 Pro 浸种对玉米幼苗 POD 和 SOD 活性的影响¹⁾

Tab. 4 Effect on POD and SOD activity in corn seedling of seed soaked with proline

$\rho(\text{NaCl})/$ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	$c(\text{Pro})/$ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	POD 活性	SOD 活性
		POD activity/ U	SOD activity/ U
0	0	15.1(100)	0.916(100)
	20	15.2(100.7)	0.952(103.9)*
	40	15.4(102.0)	1.002(109.4)**
	80	15.1(100.0)	0.964(105.2)**
1	0	15.9(100)	0.920(100)
	20	17.8(111.9)*	1.084(117.8)**
	40	18.4(115.7)**	1.290(140.2)**
	80	18.3(115.1)**	1.280(139.1)**
2	0	16.2(100)	0.942(100)
	20	18.4(113.6)*	1.102(117.0)**
	40	22.8(140.7)**	1.308(138.9)**
	80	21.0(129.6)**	1.302(138.2)**
3	0	17.0(100)	0.996(100)
	20	19.4(114.1)**	1.142(114.7)**
	40	21.6(127.1)**	1.338(134.3)**
	80	21.4(125.9)**	1.318(132.3)**

1) 表中数据均为 3 次重复平均值; 括号内的数字为相同盐度下, Pro 浸种的占未用 Pro 浸种的百分数; 用 *t* 检验法检验 Pro 浸种与未用 Pro 浸种的玉米幼苗的 POD 和 SOD 活性的差异性, * 表示显著 ($P<0.05$), ** 表示极显著 ($P<0.01$)

3 结论

用 Pro 浸种可以促进盐胁迫下玉米种子的萌发和幼苗的生长. Pro 浸种可提高玉米幼苗 Pro 的积累, 增强玉米幼苗的吸水能力, 减轻盐胁迫对玉米幼苗的伤害作用. Pro 浸种还可提高玉米幼苗的 POD 和 SOD 活性, 由此增强了玉米幼苗清除体内自由基的能力, 减轻了自由基的毒害.

参考文献

[1] SINGH T N, ASPINAIL D, PALEG L G. Proline accumulation and varietal adaptability to drought in barley : a potential metabolic measure of drought resistance [J]. Nature New Boil 1972, 236: 188—190.

[2] STEWART C R, LEE J A. The role of proline accumulation in halophytes [J]. Planta, 1974, 120: 279.

[3] 徐云岭, 余叔文. 苜蓿愈伤组织盐适应过程中溶质的积累[J]. 植物生理学报, 1992, 18(1): 93.

[4] STEWART C R, LARHER F. Accumulation of amino acids and related compound in relation to environmental stress [A]. MILFIN B J, et al. Biochemistry of plants [C]. New York: Academic Press, 1980. 609.

[5] 王宝山, 李明亮, 张宝泽, 等. 盐胁迫下外源脯氨酸和丙二醛对冰叶松叶菊愈伤组织中离子和脯氨酸含量的影响[J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(3): 182—184.

[6] 陈 因, 方大惟. 外源脯氨酸对受 NaCl 胁迫的蓝藻固氮活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(4): 254—258.

[7] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 第 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1990. 154— 155, 259— 260.

[8] 邹 奇. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995. 97— 99.

[9] 陈 雄, 王宗灵, 任红旭, 等. 海拔高度对大车前叶和根中抗氧化系统的影响[J]. 植物学报, 1999, 41(8): 846—850.

[10] 严重玲, 洪业汤, 付舜珍, 等. Cd、Pb 胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响[J]. 生态学报, 1997, 17(5): 488—492.

Effect of Seed Soaked with Proline on Seed Germination and Seedling Growing of Corn Under NaCl—Stress

LU Yuan-fang
(Dept. of Biology, Qufu Nomal University , Qufu 273165, China)

Abstract: Under NaCl-stress, seeds soaked with proline enabled to increase the rate of gremination of corn, the content of water and proline , and the activity of POD and SOD in corn seedling could be improved. The results showed that seed soaked with proline can promot seed germination and seedling growing of corn under NaCl-stress.

Key words: proline; corn; seed soaking; rate of germination; activity of enzyme

【责任编辑 柴 焰】

(上接第 38 页)

Studies on the Resistance Materials of *Oryza minuta* to *Nilaparvata lugens* (stål)

XIAO Han-xiang¹, ZHANG Liang-you²
(1 Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640, China;
2 College of Resource & Environmental Sciences, South China Agric. Univ. Guangzhou 510642 China)

Abstract: The contents of free amino acid and oxalic acid in leaf sheath of different rice and the biological activity of ox-
alic acid to *Nilaparvata lugnes* (stål) were measured. The results showed that there were 21 kinds of free amino acid in
the leaf sheath of rice. In *Oryza minuta*, the content of total amino acid and six main free amino acid such as Asp, Glu,
Asn, Ser, Ala and Val were 4 057.9, 215.0, 308.3, 611.8, 571.2, 192.1 and 94.7 μg/g respectively, and lower
than those in the susceptible check variety TN1. In *Oryza minuta*, the content of oxalic acid was 3.80 mg/g, obviously
higher than that in the susceptible check variety TN₁.

Key word: *Oryza minuta*; *Nilaparvata lugnes* (stål); free amino acid; oxalic acid

【责任编辑 周志红】