

盐度对互花米草生长及脯氨酸、可溶性糖和蛋白质含量的影响*

肖强 郑海雷** 陈瑶 黄伟滨 朱珠

(厦门大学生命科学院, 厦门 361005)

摘要 研究了互花米草在不同培养盐度下,株高、茎粗、叶长、叶宽、叶面积、鲜重等生长指标以及脯氨酸、可溶性糖和蛋白质含量的变化情况。结果表明,随着盐度增加,米草株高呈下降趋势,在高盐度(50‰)下,米草叶面积、叶长等指标与对照组相比明显下降,鲜重与低盐度组比较显著下降。米草叶片中可溶性糖、脯氨酸含量随盐度增加总体上呈上升趋势;可溶性蛋白质含量随盐度增加亦呈上升趋势,表明蛋白质合成增强。在盐胁迫下,渗透调节物质的积累作用是互花米草对盐胁迫的主要响应过程,可以作为其抗盐性的生理参数。

关键词 互花米草,盐度,生长,脯氨酸,可溶性糖,可溶性蛋白质

中图分类号 Q945 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2005)04-0373-04

Effects of salinity on the growth and proline, soluble sugar and protein contents of *Spartina alterniflora*. XI-AO Qiang, ZHENG Hailei, CHEN Yao, HUANG Weibin, ZHU Zhu (School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China). *Chinese Journal of Ecology*, 2005, 24(4): 373 ~ 376.

Under different salinity conditions, variations of height, stem diameter, leaf length and width, leaf area, fresh weight, proline, soluble sugar and protein contents of *Spartina alterniflora* seedlings were investigated. The results showed that the height tended to decrease with the increasing salinity in the medium. In high salinity (50‰) treatment, the leaf area and length decreased significantly compared with control, and single plant fresh weight decreased more than those of low salinity treatments. The sugar and proline contents in leaves generally increased with salinity. The content of protein also increased with salinity, which implied the increase in protein synthesis. Accumulation of osmoprotectants was the key response of *Spartina alterniflora* under salinity stress, and it could be characterized as an indicator of salt tolerance.

Key words *Spartina alterniflora*, salt stress, growth, proline, soluble sugar, soluble protein.

1 引言

已有研究表明,高盐对植物的伤害主要涉及到离子胁迫和渗透胁迫^[15]。为了缓解盐胁迫引起的渗透胁迫,植物细胞趋向积累渗透溶质,特别是脯氨酸的生物合成被明显激活,通常认为脯氨酸在植物细胞适应盐胁迫中起到了重要作用^[2,14]。

互花米草(*Spartina alterniflora*)是一种滩涂草本植物,原产于美国东海岸。1979年被引入我国进行研究和开发。由于它具有耐碱、耐潮汐淹没、繁殖力强、根系发达等特点,互花米草曾被认为是保滩护堤、促淤造陆的最佳植物。另一方面,由于其良好的生境适应能力,在引种地生长蔓延,占据了大片良好的滩涂,导致滩涂底质被米草侵占固化,滩面升高,使海水营养盐下降,造成浮游生物

减少,生态环境受到破坏,影响滩涂资源的开发利用^[5]。目前沿海各省都在寻找合适的调控手段来控制它的蔓延。本实验目的在于通过对不同盐度下互花米草生长情况以及一些重要生理指标如可溶性糖、脯氨酸、可溶性蛋白质含量的变化进行研究,探索米草对盐生环境的适应机制,为将来的调控研究提供依据。

2 材料与方法

2.1 材料

互花米草幼苗采自福建省厦门市海沧开发区东屿村海滩,选取株高为15~20cm的幼苗,栽种于

*国家自然科学基金项目(30271065, 39970438, 39870630)和福建省自然科学基金资助项目(D0210001)。

**通讯作者

收稿日期:2003-09-26 改回日期:2003-11-19

沙盆中,分成6组分别以不同盐度海水处理,盐度分别为0、10‰、20‰、30‰、40‰和50‰,其中0组为对照,每个盐度处理重复3盆。生长期间,分别适当补以水或海水,以使盐度达到所设定处理盐度。在处理后39d进行生长情况的观测并采集整株植株进行相关生理指标的测定。

2.2 方法

植株株高、茎粗、鲜重采用常规方法进行测定,叶面积、叶长、叶宽采用LF3000A便携式叶面积仪(美国LFCOR产)测定,在本研究中,叶长和叶宽是指选定叶片的平均值;在测定时每盆随机选定2株,每株选定从上到下第3~5片叶子作为测定样本。可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[1],游离脯氨酸含量测定采用茚三酮比色法^[1],可溶性蛋白质含量的测定采用考马斯亮蓝G250染色法^[1]。

3 结果与分析

3.1 盐度对互花米草株高、茎粗、鲜重的影响

表1给出了培养盐度对互花米草株高、茎粗、鲜重的影响,单因素方差分析显示各盐度处理条件下互花米草平均株高在0.05水平上有显著差异,表明株高受盐度影响。独立双总体t检验结果表明,低盐情况下(盐度低于20‰),盐度处理组植株株高与对照组之间差异无显著性,在盐度>20‰以上时,盐度处理组植株株高明显低于对照组和10%盐度处理组,表明植株生长受到了高盐度的抑制,尤其在50%组表现最显著,其长势受抑制较对照组和10%盐度处理组存在极显著性差异($P < 0.01$)。同时,独立双总体t检验表明,50%盐度组植株鲜重与10%和20%盐度组在0.05水平上有显著差异,说明米草的合成代谢受到高盐度抑制,影响到物质积累。Gzik^[11]的研究表明,在渗透胁迫下,甜菜的脯氨酸含量快速积累,同时完整植株的生长速度和鲜重是下降的。Bellinger等^[7]认为,在盐胁迫情况下,脯氨酸的积累通常伴随着生长的减低(光合同化主要用于渗透保护和贮藏),从生态生理的观点来看,在野生型植物中,生物量消耗的减少或者是对“昂贵”器官(如果实)的较低投入,可以认为是一种适应策略,而非一种胁迫症状。在本实验中,盐度对互花米草平均株高的影响是显著的;高盐度对植株鲜重也存在影响,表现在与低盐度相比鲜重下降。说明在高盐度条件下,互花米草生长是受到抑制的,可以认为这是互花米草在盐度环境下的一种胁迫症状。

表1 不同盐度处理对互花米草株高、茎粗、鲜重的影响

Tab. 1 Effect of salinity on height, stem diameter and fresh weight of *S. alterniflora*

盐度(‰)	株高(cm)	植株茎粗(mm)	植株鲜重(g 植株 ⁻¹)
0	118.13 ± 17.12 ^a	0.71 ± 0.182 ^a	19.72 ± 6.68 ^a
10	125.75 ± 10.56 ^{a,c}	0.74 ± 0.136 ^a	27.34 ± 3.56 ^{ab}
20	107.25 ± 25.13 ^{a,b}	0.72 ± 0.140 ^a	23.75 ± 1.98 ^{ab}
30	94.75 ± 14.59 ^{ad}	0.62 ± 0.073 ^a	17.38 ± 6.47 ^a
40	93.12 ± 16.28 ^{abd}	0.64 ± 0.087 ^a	19.26 ± 4.84 ^a
50	78.38 ± 6.86 ^b	0.63 ± 0.051 ^a	12.52 ± 2.16 ^{a,c}

注:同列不同字母表示在0.05水平存在显著性差异。下同。

3.2 盐度对互花米草叶长、叶宽和叶面积的影响

表2给出了培养盐度对互花米草叶长、叶宽和叶面积的影响。单因素方差分析显示各盐度处理条件下互花米草平均叶宽在0.05水平上无显著差异;而各盐度处理条件下互花米草平均叶面积在0.05水平上有显著差异,表明叶面积受盐度影响。独立双总体t检验结果表明,盐度低于40‰,各盐度处理组之间互花米草叶长和叶面积差异无显著性,在50%盐度组,其叶长和叶面积与其它低盐度处理组和对照组之间在0.05水平上有显著差异。表明高盐度对植株叶片的生长有抑制作用。

表2 不同盐度处理对互花米草叶长、叶宽和叶面积的影响

Tab. 2 Effect of salinity on leaf length, width and leaf area of *S. alterniflora*

盐度(‰)	植株叶长(cm)	植株叶宽(mm)	植株叶面积(mm ²)
0	24.08 ± 1.52 ^{ac}	1.206 ± 0.153 ^a	219.29 ± 53.38 ^a
10	24.80 ± 2.76 ^{ac}	1.217 ± 0.117 ^a	221.67 ± 36.54 ^a
20	24.88 ± 2.87 ^{ac}	1.239 ± 0.074 ^a	213.96 ± 40.38 ^a
30	23.03 ± 2.34 ^a	1.167 ± 0.097 ^a	175.68 ± 40.49 ^a
40	25.70 ± 4.06 ^{ac}	1.233 ± 0.123 ^a	188.68 ± 45.14 ^a
50	20.98 ± 2.17 ^{ab}	1.136 ± 0.080 ^a	127.99 ± 12.88 ^b

在渗透胁迫下,完整植株的生长速度和鲜重是下降的^[11]。在本实验中,高盐度对互花米草叶长和叶面积的抑制作用是显著的;表现在其生长速度指标叶长和叶面积都是下降的。张正仁等^[4]研究表明,互花米草加盐1周后10%盐度组与对照一样正常,30%盐处理的苗则开始黄化、萎焉,50‰、70%则枯死。2周后10%和盐处理苗开始泌盐,30%开始返青;互花米草适盐范围是0~30‰,最适范围是10%左右,致死阈值在50%左右。研究表明,互花米草生长的适盐范围在40%以下,而生长抑制盐度则在50%左右。

3.3 盐度对脯氨酸含量的影响

表3给出了培养盐度对互花米草游离脯氨酸含量的影响,单因素方差分析显示各盐度处理条件下互花米草叶片中游离脯氨酸含量在0.01水平上有

显著差异,表明游离脯氨酸含量受盐度影响。独立双总体 t 检验结果表明:高盐度(50‰)下,互花米草叶片游离脯氨酸含量与其它各盐度处理组在 0.05 水平上有显著差异。同时,在 20‰以上盐度组,游离脯氨酸含量的增加较对照组总体上存在显著性差异,但在 30‰盐度组(接近自然情况下海水盐度)脯氨酸含量与对照组差异无显著性。

表 3 不同盐度处理对互花米草游离脯氨酸含量的影响

Tab.3 Effect of salinity on the content of free proline of *S. alterniflora*

盐度(‰)	脯氨酸含量(mg·g ⁻¹ FW)
0	0.073 ±0.026 ^{bc}
10	0.126 ±0.008 ^{bc}
20	0.168 ±0.008 ^a
30	0.121 ±0.033 ^b
40	0.198 ±0.034 ^b
50	0.361 ±0.061 ^d

生物体在正常代谢过程中,可通过有机渗透调节物质的积累和分解来调节细胞渗透平衡,从而缓解盐胁迫对植物的伤害。脯氨酸可以作为细胞质的渗透调节物质和防脱水剂参与维持细胞的含水量和膨压;此外,脯氨酸可以改善细胞膜和其他高分子物质的水环境,增强细胞结构的稳定性^[8]。脯氨酸也可以调节胞质 pH 值,参与阻止氧自由基产生的过程,它可以作为 ROS 和其它自由基的清除剂^[12]。

在高盐胁迫下,脯氨酸含量明显升高,说明脯氨酸的积累是互花米草渗透调节的重要物质^[2,14]。脯氨酸可以作为大米草盐胁迫的一个重要的检测指标。通常情况下,仅当培养液中盐浓度达到一定阈值时,植物体内才开始积累脯氨酸;对氯化钠而言,互花米草的阈值为 0.5 mol L⁻¹,大米草为 0.3 mol L⁻¹^[11]。研究表明,在 20‰盐度(相当于 0.34 mol L⁻¹)下,脯氨酸的积累与对照组比较在 0.05 水平上有显著性差异;在互花米草生长抑制盐度下,脯氨酸的积累与其它盐度组比较存在显著差异。

脯氨酸的合成有两条途径:谷氨酸途径和鸟氨酸途径。在渗透胁迫下谷氨酸途径是合成脯氨酸的主要途径^[10]。吡咯啉-5-羧酸合成酶(P5CS)是其合成途径的关键酶。脯氨酸的降解则由脯氨酸脱氢酶(ProDH)和吡咯啉-5-羧酸脱氢酶(P5CDH)催化^[8]。赵福庚^[6]的研究表明,在盐胁迫下,大麦叶片内 P5CS 活性明显提高,ProDH 活性略有下降。由于脯氨酸的积累是大米草渗透调节的重要物质,今后需进一步研究不同盐度下,大米草细胞内与脯氨酸合成与降解作用相关酶活性的变化情况,为探索其耐盐机制主要生理生化过程提供更多依据。

3.4 盐度对可溶性糖含量的影响

表 4 给出了培养盐度对互花米草可溶性糖含量的影响,单因素方差分析显示各盐度处理条件下互花米草叶片中可溶性糖含量在 0.01 水平上有显著差异,表明可溶性糖含量受盐度影响。独立双总体 t 检验结果表明,盐度 > 30‰,互花米草叶片可溶性糖含量与 10‰盐度组和对照组在 0.05 水平上有显著差异;在 50‰盐度组,可溶性糖含量与其它各盐度组之间在 0.05 水平上有显著差异。线性回归分析表明可溶性糖含量与盐度存在相关关系($P < 0.01$)。

表 4 不同盐度处理对互花米草可溶性糖含量的影响

Tab.4 Effect of salinity on the content of soluble sugar of *S. alterniflora*

盐度(‰)	可溶性糖含量(mg·g ⁻¹ FW)
0	2.1 ±0.61 ^{ac}
10	2.86 ±0.18 ^{ac}
20	3.41 ±0.46 ^{ad}
30	3.76 ±0.04 ^{ad}
40	3.93 ±0.15 ^{ad}
50	4.91 ±0.40 ^b

糖是调节渗透胁迫的小分子物质,在植物对盐胁迫的适应性调节中,是增加渗透性溶质的重要组成成分^[14]。脯氨酸的积累需要碳水化合物,碳水化合物通过氧化磷酸化作用为脯氨酸的合成提供必需的氢和还原能力^[3]。研究表明,糖和磷酸化能量都参与胁迫情况下脯氨酸积累,虽然光不用来合成脯氨酸,但它刺激这一合成,糖提供碳骨架来源,光能提供从谷氨酸合成脯氨酸所需的 NAD(P)H 和 ATP。脯氨酸的合成依赖于糖分解代谢和呼吸作用已被如下事实证明,三羧酸循环或糖酵解抑制剂,如缺氧,可以避免脯氨酸积累^[12]。所以脯氨酸含量积累的同时,蔗糖含量也增加。张正仁等^[4]研究表明,互花米草可溶性糖含量、游离氨基酸含量与营养液中盐浓度存在相关关系。本实验研究中互花米草叶片中可溶性糖含量与培养基中盐度存在正相关($P < 0.05$),表明随盐度升高,在脯氨酸积累的同时,糖的合成也增加,为脯氨酸的合成提供碳骨架和能量来源。

3.5 盐度对可溶性蛋白质含量的影响

表 5 给出了培养盐度对互花米草蛋白质含量的影响,单因素方差分析显示各盐度处理条件下互花米草叶片中可溶性蛋白质含量在 0.01 水平上有显著差异,表明可溶性蛋白质含量受盐度影响。独立双总体 t 检验结果表明,盐度 > 30‰,互花米草叶片可溶性蛋白质含量与对照组在 0.05 水平上有显著

差异。线性回归分析表明可溶性蛋白含量与盐度存在相关关系 ($P < 0.05$)。

表5 不同盐度处理对互花米草蛋白质含量的影响

Tab.5 Effect of salinity on the content of protein of *S. alterniflora*

盐度 (%)	可溶性蛋白质含量 (mg · g ⁻¹ FW)
0	4.31 ± 0.34 ^a
10	6.65 ± 3.20 ^a
20	5.58 ± 0.82 ^{ab}
30	7.78 ± 0.72 ^c
40	8.12 ± 0.23 ^c
50	15.35 ± 0.63 ^b

Pedrol 等^[13]认为,在胁迫情况下,游离脯氨酸和可溶性蛋白同步增加,未发现在游离脯氨酸和蛋白质代谢损伤之间任何相关性。在 > 20% 盐度情况下,植物中可溶性蛋白含量上升,与对照组比较存在显著性差异;在更高盐度下,其含量差异具有极显著性。表明在高盐度下,植物细胞中蛋白质的合成代谢增强,合成更多蛋白质,参与渗透调节。使植物适应高盐环境。研究表明,植物在盐胁迫情况下有新的蛋白合成^[9,11],高吉寅等^[7]认为抗盐品种在盐逆境下较快地合成胁迫蛋白,且维持时间较长。在增强抗逆能力方面,盐胁迫蛋白与细胞壁糖蛋白具有相同作用,可以认为盐胁迫蛋白的增加是植物的一种自我保护和抗盐机制。本研究中,可溶性蛋白质在盐胁迫下含量增加,可以认为是互花米草适应高盐环境的一种自我保护机制。

4 结论

4.1 高盐度 (50%) 对植株生长 (株高、叶长、叶面积) 的抑制作用与对照组比较是显著的,高盐度 (50%) 下植株鲜重与低盐度组 (10% 和 20%) 之间存在显著差异。

4.2 在 20% 以上盐度组,游离脯氨酸含量的增加较对照组总体上存在显著性差异。

4.3 在高盐度处理下,可溶性糖含量上升,与对照组相比,其差异存在显著性。可溶性糖含量与盐度存在相关关系 ($P < 0.01$)。

4.4 在 > 20% 盐度情况下,植物中可溶性蛋白含量

上升,与对照组比较存在显著性差异;在更高盐度下,其含量差异具有极显著性。可以认为,在盐胁迫下,互花米草通过渗透调节物质的积累和可溶性蛋白质合成的增加来对抗盐胁迫的不利影响。

参考文献

- [1] 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社.
- [2] 刘友良, 汪良驹. 1998. 植物对盐胁迫的反应和耐盐性[A]. 见: 余叔文, 等. 植物生理与分子生物学[C]. 北京: 科学出版社, 752 ~ 769.
- [3] 张正仁, 宋长铎. 1985. 逆境下植物体内脯氨酸的变化及其生理意义[J]. 南京大学学报(米草研究进展论文集): 36 ~ 41.
- [4] 张正仁, 经美德, 钦佩, 等. 1985. 自动砂培装置下互花米草耐盐生理反应初报[J]. 南京大学学报(米草研究进展论文集): 268 ~ 279.
- [5] 林如求. 1997. 三都湾大米草和互花米草的危害及治理研究[J]. 福建地理, 12(1): 16 ~ 19.
- [6] 赵福康, 刘友良, 章文华. 2002. 大麦幼苗叶片脯氨酸代谢及其耐盐性的关系[J]. 南京农业大学学报, 25(2): 7 ~ 10.
- [7] 高吉寅, 关建平, 王明珍, 等. 1994. 小麦幼苗盐胁迫蛋白研究[J]. 作物品种资源, 1: 25 ~ 27.
- [8] 彭志红, 彭克勤, 胡家金, 等. 2002. 渗透胁迫下植物脯氨酸积累的研究进展[J]. 中国农学通报, 18(4): 80 ~ 83.
- [9] Bellinger Y, Bensoud A, Larher F. 1991. Physiological significance of proline accumulation, a trait of use to breeding for stress tolerance [A]. In: Physiology Breeding of Winter Cereals for Stressed Mediterranean Environments[C]. Paris: INRA Les Colloques, 55.
- [10] Delauney AJ, Verma DPS. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants[J]. Plant J., 4(2): 215 ~ 223.
- [11] Gzik A. 1996. Accumulation of proline and pattern of amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt stress [J]. Environ. Exp. Bot., 36(1): 29 ~ 38.
- [12] Manuel J, Reigosa Roger. 2001. Handbook of Plant Ecophysiology Techniques[M]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 365 ~ 383.
- [13] Pedrol N, Ramos P, Reigosa MJ. 2000. Phenotypic plasticity and acclimation to water deficits in velvet-grass: a long-term greenhouse experiment. Changes in leaf morphology, photosynthesis and stress-induced metabolites[J]. J. Plant Physiol., 157: 383 ~ 393.
- [14] Yokoi SJ, Bressan RA, Hasegawa PM. 2002. Salt stress tolerance of plants[R]. JIRCAS Working Report, 25 ~ 33.
- [15] Zhu JK. 2001. Plant salt tolerance[J]. Trends Plant Sci., 6: 66 ~ 71.

作者简介 肖强,男,1970年生,硕士研究生,主要从事植物生理生态研究。

责任编辑 王伟