

甘草叶片渗透调节物质及蔗糖代谢相关酶 对干旱胁迫的响应特性

张东¹, 刘艳¹, 张晗², 王洋¹, 张子健¹, 刘美岑¹

(1 内蒙古农业大学 园艺与植物保护学院, 呼和浩特 010018; 2 洛南县核桃研究所, 陕西商洛 726100)

摘要: 该研究以甘草幼苗为试材, 采用盆栽自然干旱方法, 设计对照(CK)、轻度(LS)、中度(MS)、重度(SS)干旱胁迫处理, 测定分析甘草叶片的渗透调节物质及蔗糖代谢相关酶[蔗糖磷酸合成酶(SPS)、蔗糖合成酶合成方向(Ss⁺)、蔗糖合成酶分解方向(Ss⁻)、中性转化酶(NI)、酸性转化酶(AI)、淀粉磷酸化酶(SP)]活性的变化, 以探讨甘草的渗透调节特性以及糖分调节的酶学机制, 揭示甘草对于干旱胁迫的响应机理。结果显示: (1) 随着干旱胁迫程度的加剧, 甘草叶片可溶性糖、可溶性蛋白和脯氨酸含量呈逐渐增加的趋势, 束缚水/自由水的比值呈先增加后降低的趋势。(2) 随着干旱胁迫程度的加剧, 甘草叶片蔗糖、葡萄糖、果糖含量均呈先升高后降低的趋势, 但不同胁迫强度出现峰值的时间不同; 其中在CK和LS干旱胁迫时蔗糖含量>淀粉含量>葡萄糖含量>果糖含量, 在MS和SS干旱胁迫时淀粉含量>葡萄糖含量>蔗糖含量>果糖含量, 表明随着干旱程度的增加, 甘草叶片中蔗糖转化成了淀粉。(3) 随着干旱胁迫程度的加重, 甘草叶片的SPS活性呈先升高后降低的趋势, Ss活性和Inv(蔗糖转化酶)活性呈逐渐升高的趋势, SP活性呈逐渐降低的趋势; 各胁迫处理的Ss⁺活性与CK差异不显著, 而Ss⁻活性与CK差异显著, 并且Ss⁻活性在各胁迫处理下远大于Ss⁺活性, 表明甘草叶片Ss⁻活性在蔗糖代谢过程中占主导作用。(4) 相关分析结果显示, 在LS中, NI与蔗糖呈负相关关系, Ss⁻与淀粉呈显著正相关关系、与蔗糖呈负相关关系; 在MS中, 蔗糖和葡萄糖与SPS、Ss⁺、Ss⁻、NI和AI均呈正相关关系, 与SP呈负相关关系; 在SS中, SP和NI与蔗糖呈正相关关系, 而与淀粉呈负相关关系; 表明在轻度干旱处理下, Ss参加了蔗糖的分解, 继而合成淀粉; 在中度和重度干旱条件下, SP主要催化淀粉的分解来增加蔗糖含量以此平衡蔗糖代谢。

关键词: 甘草; 干旱胁迫; 渗透调节; 蔗糖

中图分类号: S567.71 **文献标志码:** A

Response of Osmotic Regulators and Sucrose Metabolization-related Enzymes to Drought Stress in *Glycyrrhiza uralensis*

ZHANG Dong¹, LIU Yan^{1*}, ZHANG Han², WANG Yang¹, ZHANG Zijian¹, LIU Meicen¹

(1 College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China; 2 Walnut Research Institution of Luonan County, Shangluo, Shaanxi 726100, China)

Abstract: We analyzed the changes of osmotic regulators and sucrose metabolization-related enzymes (SPS, Ss⁺, Ss⁻, NI, AI and SP) in leaves of *G. uralensis*. With *G. uralensis* seedling as the test material, CK, LS, MS and SS were designed for drought stress treatments by potted natural drought method, to ex-

收稿日期: 2019-12-26; 修改稿收到日期: 2020-04-28

基金项目: 国家自然科学基金(31560123)

作者简介: 张东(1993-), 男, 在读博士研究生, 主要从事园艺植物种质资源保存及植物逆境生理研究。E-mail: zhang_dong163@163.com

* 通信作者: 刘艳, 教授, 博士生导师, 主要从事植物逆境生理研究。E-mail: zgnly@163.com

plore the osmotic regulation of *G. uralensis* and the enzymatic mechanism of sugar regulation, and to demonstrate the response mechanism of *G. uralensis* to drought stress. The results showed that: (1) the contents of soluble sugar, soluble protein and proline in *G. uralensis* leaves increased with the aggravation of drought stress, while the ratio of bound water to free water increased first and then decreased. (2) The contents of sucrose, glucose and fructose in *G. uralensis* leaves increased first and then decreased with the aggravation of drought stress, but the peak time of different stress intensity was different. Sucrose content > starch content > glucose content > fructose content under drought stress of CK and LS, starch content > sucrose content > fructose content under drought stress of MS and SS, indicating that with the increase of drought, sucrose in *G. uralensis* leaves was transformed into starch. (3) With the aggravation of drought stress, the SPS activity in *G. uralensis* leaf first increased and then decreased. Ss activity and Inv activity showed a gradually increasing trend, while SP activity showed a gradually decreasing trend. In different drought stress levels, Ss+ and CK showed no significant difference, while Ss- and CK showed significant difference, and Ss- activity was much higher than Ss+ activity under various stress conditions, indicating that the Ss- activity in *G. uralensis* seedlings leaves played a major role. (4) According to the results of correlation in LS, NI and negatively correlated with sucrose, Ss- with starch was significant positive correlation, negative correlation with sugar. In MS, sucrose and glucose were positively correlated with SPS, Ss+, Ss-, NI and AI, and negatively correlated with SP. Under SS, SP and NI were positively correlated with sucrose and negatively correlated with starch. The results showed that Ss participated in sucrose decomposition and starch synthesis under LS. Under MS and SS, SP mainly catalyzes the decomposition of starch to increase sucrose content and balance sucrose metabolism.

Key words: *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; drought stress; osmotic regulation; sucrose

渗透调节是植物主动适应干旱、盐碱等逆境胁迫的重要生理反应之一。逆境胁迫下植物通过增加渗透调节物质,降低细胞渗透势,提高细胞吸水保水能力,从而防止细胞水分过度散失,保持膨压,维持正常生理代谢功能或最大限度降低逆境伤害^[1]。研究发现,一些具有高亲水活性的小分子物质在植物响应逆境胁迫的渗透调节中发挥重要功能,如游离脯氨酸、可溶性糖、甜菜碱、可溶性蛋白等。在干旱或盐胁迫等逆境条件下,渗透调节物质含量增加,与植物的抗逆性呈正相关,但不同植物种类以及不同胁迫程度下渗透调节物质种类以及含量变化幅度有较大差异^[2]。孙景宽等^[3]研究发现,沙枣(*Elaeagnus angustifolia*)叶片中脯氨酸、可溶性糖含量随干旱胁迫程度加剧均有不同程度的增加;陈鹏等^[4]研究发现,梭梭(*Haloxylon ammodendron*)幼苗甜菜碱含量随干旱胁迫程度的加重而增加。已知糖是植物光合作用重要的同化产物,它的合成代谢、运转分配等直接影响植物生长发育以及作物产量和品质形成;同时可溶性糖作为重要的渗透调节物质参与植物抗逆性的获得。因此,了解逆境胁迫下植物糖分种类、含量以及与之密切相关的糖代谢相关酶活性变化是阐明植物抗性机理的重要内容。

甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)是常用大宗药材,也是干旱、半干旱地区重要的植物资源,其

抗旱性强,在西部干旱和荒漠化生态建设中扮演重要角色。当前对甘草抗旱力获得的内在生理生化机制了解还不多。干旱胁迫下,渗透调节物质在甘草幼苗叶片中如何变化?蔗糖代谢相关酶又是如何调控糖分的组成与含量?这些信息将为揭示甘草抗旱机制提供重要生理学资料。因此,本试验以甘草幼苗为材料,采用盆栽控水模拟土壤干旱的方法,研究不同干旱胁迫程度下甘草幼苗渗透调节物质含量以及蔗糖代谢相关酶活性变化,旨在了解甘草的渗透调节特性,以及糖分调节的酶学机制,为阐明甘草抗旱机理以及最终通过基因工程创新抗旱种质资源、通过栽培学途径提高植物抗旱性提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料及处理

试验于2018年3月~9月在内蒙古农业大学教学温室进行。挑选充实饱满的甘草种子(内蒙古天创药业科技股份有限公司提供)浓硫酸浸种,25℃催芽,待种子露白后均匀点播于塑料花盆中,每盆填充7 kg培养基质,基质为细沙和营养土=5:3(V/V),出苗后正常管理。幼苗长至2~3片真叶时开始间苗,每盆保留壮苗15株,待植株生长60 d,具10~12片真叶时开始处理。

将幼苗停止浇水,自然干旱至不同处理水平。

试验共设 4 个处理,每个处理 8 盆,分别是正常供水的对照(CK)、轻度胁迫(light stress,LS)、中度胁迫(moderate stress,MS)和重度胁迫(severe stress,SS),土壤相对含水量(soil relative water content,SRWC)分别为 $78\% \pm 3.42\%$ 、 $65\% \pm 1.56\%$ 、 $45\% \pm 1.89\%$ 、 $25\% \pm 2.46\%$ 。之后采用称重法控制土壤水分含量,于每天 18:00 补充水分至不同干旱胁迫水平,10 d 后当不同干旱胁迫处理的植株叶片受害程度出现明显差异时结束试验,取地上部叶片液氮速冻, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱贮存,用于相关指标测定。不同处理甘草植株如图 1 所示。

1.2 测定方法

1.2.1 束缚水与自由水含量测定 自由水和束缚水含量的测定参照王学奎^[5]的方法。

1.2.2 渗透调节物质含量测定 游离脯氨酸(free proline)含量测定采用酸性茚三酮法^[6];可溶性蛋白(soluble protein)含量测定采用考马斯亮蓝法^[6];可溶性糖(soluble sugar)含量测定采用蒽酮比色法^[6]。

1.2.3 电导率含量测定 电导率测定根据邹琦^[7]的方法用 PDS-307 型电导率仪(上海康仪仪器有限公司,上海)测定。

相对电导率($\%$) = $(S_2 - S_1) / (S_3 - S_1) \times 100\%$

式中: S_1 为去离子水的电导率, S_2 为浸泡 3 h 的电导率, S_3 为水浴后电导率。

1.2.4 糖和淀粉含量测定 称取约 0.15 g 材料,研磨过夜浸提, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心($8\ 000\ \text{g}/\text{min}$)10 min,取上清液,调节 pH 值至 5~9,水系针头式过滤器过滤到带有内衬管的样品瓶待测。高效液相色谱仪配有 RID-10 示差检测器,色谱柱为 Kro-masilNH₂ (250 mm×4.6 mm),流动相为纯水,流速 0.4 mL/min,

柱温 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$,进样量 $10\ \mu\text{L}$ 。分别测定蔗糖、葡萄糖、果糖含量。

淀粉(Starch)含量测定参照高俊凤^[8]的方法。

1.2.5 糖代谢相关酶活性测定 蔗糖磷酸合成酶(sucrose phosphate synthase,SPS)活性测定参照赵智中等^[9]的方法,蔗糖合成酶(sucrose synthase,Ss)合成方向(Ss+)的活性测定参照 Hubbard 等^[10]的方法,蔗糖合成酶(sucrose synthase,Ss)分解方向(Ss-)的活性测定参照 Lowell 等^[11]的方法,中性转化酶(neutral invertase,NI)活性和酸性转化酶(acid invertase,AI)活性测定参照赵智中等^[9]和 Lowell 等^[11]的方法;淀粉磷酸化酶(starch phosphorylase,SP)活性测定参照高俊凤^[8]的方法。

净活力(net activity,NA) = $[SPS + (Ss+)] - [(Ss-) + (NI) + (AI)]$ 。

1.3 数据处理

试验数据用 Excel 2013 整理,Origin 9.0 软件作图,SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下甘草叶片束缚水/自由水的变化

束缚水和自由水相对含量是植物组织代谢活动及抗逆性强弱的重要生理指标。如图 2 所示,正常供水(CK)的甘草叶片束缚水/自由水较低,仅为 16.68%,表明叶片具有较高的代谢活性;干旱胁迫下甘草叶片束缚水/自由水较对照有显著升高,且不同胁迫程度下升高幅度有较大差异,其中 LS 下甘草叶片束缚水/自由水较对照有小幅升高,为 CK 的 1.60 倍;MS 下甘草叶片束缚水/自由水大幅升高,为 CK 的 2.28 倍;SS 下甘草叶片束缚水/自由水仍维持较高水平,为 CK 的 2.54 倍。



CK、LS、MS、SS 分别代表对照、轻度、中度、重度干旱胁迫处理;下同

图 1 不同干旱胁迫处理甘草幼苗的外部形态

CK, LS, MS and SS represented the control, mild, moderate and severe drought stress, respectively. The same as below

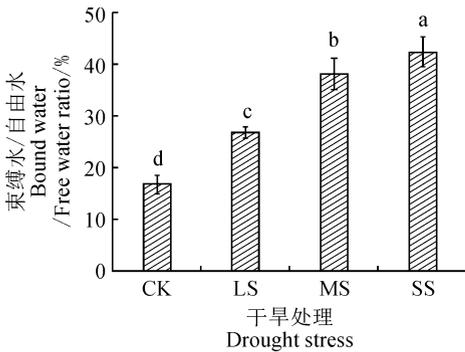
Fig. 1 The external morphology of *G. uralensis* under different drought stresses

2.2 干旱胁迫下甘草叶片相对电导率的变化

细胞膜具有选择透过性的特点,膜的相对透性反映了细胞受损的程度,膜透性的改变使内部物质外渗,物质外渗的多少与细胞受损程度呈正相关。由图3可知,随着胁迫程度的加剧甘草叶片相对电导率呈逐渐升高的趋势,不同干旱胁迫处理均显著高于CK,其中在MS中增加幅度最大。

2.3 干旱胁迫下甘草叶片渗透调节物质的变化

如图4(A~C)所示,CK的甘草叶片中有少量可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸,其值分别为1.43、67.13、0.59;随着干旱胁迫程度的加剧,甘草叶片可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸含量均呈逐渐增加趋势,但不同干旱胁迫程度下,上述3种物质含量增幅有较大差异。其中,在LS下,可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸含量均较CK有所升高,增加了50.35%、30.9%、138.98%,达到差异显著水平。MS下,3种物质含量均较CK显著增加,但增幅有所不同,由大到小分别是游离脯氨酸>可



不同小写字母表示处理间在0.05水平存在显著性差异;下同

图2 干旱胁迫下甘草叶片束缚水/自由水的变化

Different lowercase letters indicated significant differences between treatments at the level of 0.05. The same as below

Fig.2 The bound water/free water in *G. uralensis* leaves under drought stress

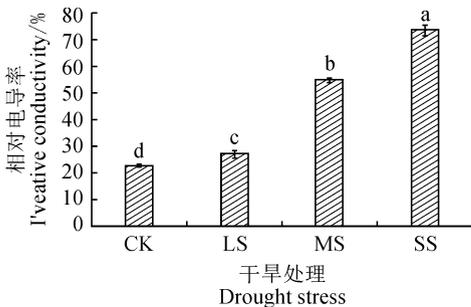


图3 干旱胁迫下甘草叶片相对电导率的变化

Fig.3 The relative conductivity in *G. uralensis* leaves under drought stress

溶性糖>可溶性蛋白,较CK分别增加了301.69%、127.97%、93.85%。SS下,甘草叶片可溶性糖较MS有一定降低,但高于CK,是CK的1.8倍。

2.4 干旱胁迫下甘草叶片糖组成与含量的变化

植物中含有可溶性糖主要是蔗糖、果糖、葡萄糖。它们既作为能源物质参与植物生长发育,同时还是重要的渗透调节物质。干旱胁迫下甘草叶片蔗糖、葡萄糖、果糖含量如图5(A~C)所示。CK中甘草叶片中蔗糖含量最高,为254.88,葡萄糖次之,为195.32,果糖含量最低,仅为50.48;在LS时,蔗糖、葡萄糖、果糖含量即与CK差异显著,分别比CK提高了23.36%、4.85%、17.29%;在MS时,蔗糖和葡萄糖含量显著低于CK,果糖含量显著高于CK;在SS时,蔗糖、葡萄糖和果糖含量显著低于CK。整体甘草叶片蔗糖、葡萄糖和果糖含量随着干旱胁迫程度的加剧呈先增加后降低的趋势。

2.5 干旱胁迫下甘草叶片蔗糖代谢相关酶活性的变化

由图6可知,SPS活性随着干旱胁迫程度的加重呈现先升高后降低的趋势,在LS时,SPS活性最高,为53.33(图6,A)。甘草叶片Ss活性随着干旱

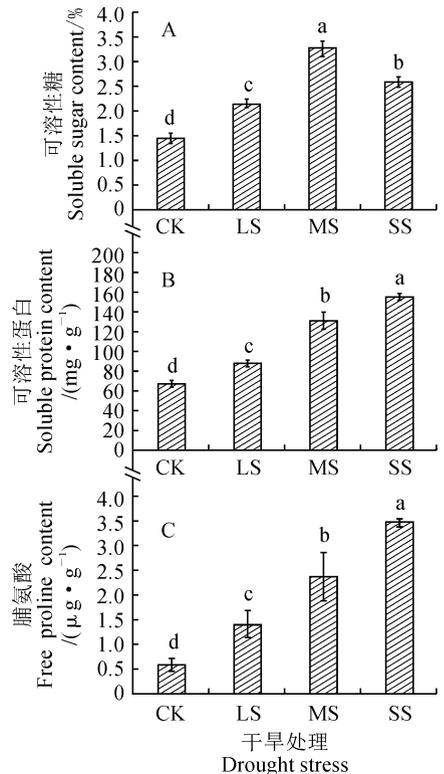


图4 干旱胁迫下甘草叶片渗透调节物质的变化

Fig.4 The osmotic regulators in *G. uralensis* leaves under drought stress

胁迫程度的加重呈逐渐升高的趋势,在不同干旱胁迫程度中蔗糖合成酶合成方向活性(S_s+)与 CK 差异不显著,而蔗糖合成酶分解方向活性(S_s-)与 CK 差异显著(图 6, B)。甘草叶片蔗糖转化酶(Inv)活性随着干旱胁迫程度的加重呈升高的趋势,不同

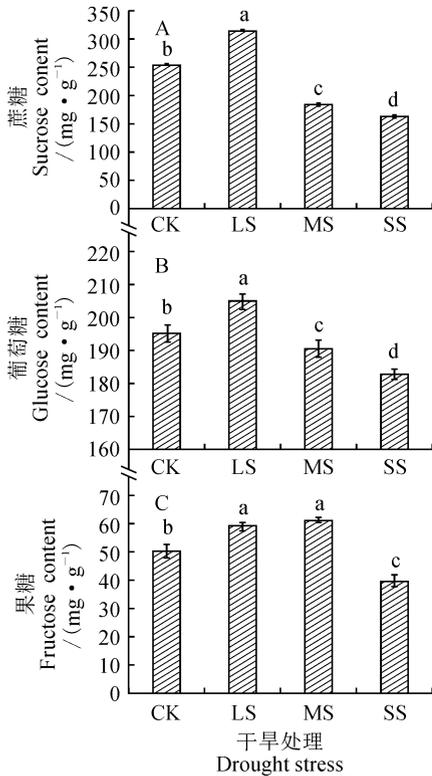


图 5 干旱胁迫下甘草叶片糖含量的变化
Fig. 5 The sugar content in *G. uralensis* leaves under drought stress

处理中 NI 活性均高于 AI 活性;在 LS 时, AI 活性是 CK 的 2.60 倍, NI 活性是 CK 的 1.65 倍;在 MS 时, AI 活性是 CK 的 3.38 倍, NI 活性是 CK 的 2.45 倍;在 SS 时, AI 活性是 CK 的 5.87 倍, NI 活性是 CK 的 3.92 倍(图 6, C)。甘草叶片蔗糖代谢相关酶活性 NA 呈负值,随着干旱胁迫程度的加重, NA 呈逐渐升高的趋势,且不同干旱胁迫程度与 CK 差异显著(图 6, D)。

2.6 淀粉含量及淀粉磷酸化酶(SP)活性变化

由图 7 可知,甘草叶片随着干旱胁迫程度的加重淀粉呈逐渐升高趋势, SP 呈逐渐降低的趋势。在 LS 时, SP 小于 CK, 但差异不显著;在 MS 和 SS 时, SP 显著小于 CK, 分别比 CK 降低了 14.29%、29.14%。

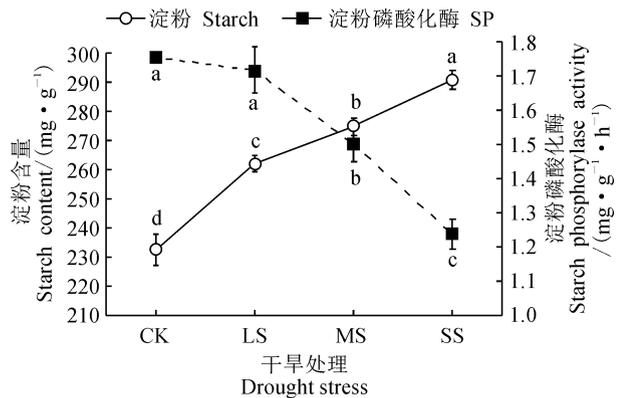


图 7 干旱胁迫下甘草叶片淀粉含量及淀粉磷酸化酶活性变化

Fig. 7 The starch content and starch phosphorylase activity in *G. uralensis* leaves under drought stress

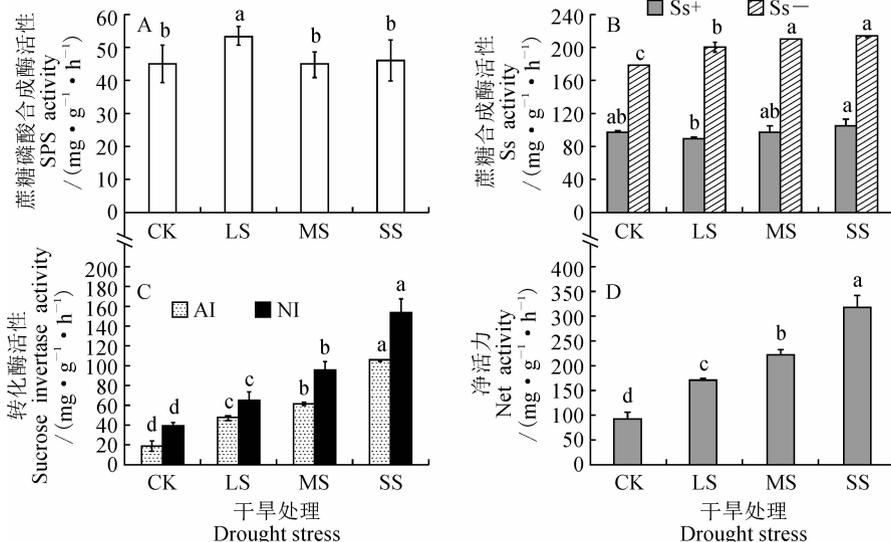


图 6 干旱胁迫下甘草叶片蔗糖代谢相关酶活性的变化

Fig. 6 The sucrose metabolism related enzyme activities in *G. uralensis* leaves under drought stress

表 1 干旱胁迫下甘草叶片渗透调节物质和糖相关性分析

Table 1 Correlation analysis of osmotic regulatory substances and sugar in leaves of *G. uralensis* under drought stress

	CK			L.S			MS			SS		
	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白 Soluble protein	脯氨酸 Free proline									
蔗糖 Sucrose	-0.005	0.145	-0.918	0.342	0.209	-0.847	-0.997*	0.539	-0.542	-0.731	0.293	-0.614
葡萄糖 Glucose	-0.339	-0.194	-0.732	0.470	0.344	-0.913	-0.998*	0.548	-0.533	-0.191	0.798	-0.960
果糖 Fructose	-0.172	-0.022	-0.838	0.462	0.336	-0.909	0.140	0.707	0.937	-0.464	0.592	-0.840
淀粉 Starch	0.783	0.68	0.265	0.637	0.737	-0.029	-0.454	0.985	0.567	0.998*	0.494	-0.153

注: * 表示在 0.05 水平上显著相关, ** 表示在 0.01 水平上极显著相关;下同

Note: * means significant correlation at the level of 0.05, ** mean extremely significant correlation at the level of 0.01; The same as below

表 2 干旱胁迫下甘草叶片糖和蔗糖代谢相关酶相关性分析

Table 2 Correlation analysis of sugar and sucrose metabolism-related enzymes in *G. uralensis* leaves under drought stress

	CK			L.S			MS			SS						
	蔗糖 Sucrose	葡萄糖 Glucose	果糖 Fructose	淀粉 Starch												
SPS	-0.082	-0.41	0.484	0.751	0.994	-0.634	0.484	0.493	0.751	0.994	0.344	0.061	-0.273	0.344	0.061	0.887
Ss+	-0.311	-0.611	0.866	-0.675	-0.129	0.708	0.866	0.860	-0.675	-0.129	0.065	-0.223	-0.532	0.065	-0.223	0.981
Ss-	-0.32	-0.618	0.340	-0.991	-0.737	-0.326	0.340	0.330	-0.991	-0.737	0.755	0.911	0.996	0.755	0.911	-0.748
AI	0.538	0.789	0.380	0.822	1.000**	-0.486	0.380	0.390	0.822	1.000**	0.304	0.602	0.304	0.805	0.602	0.484
NI	0.99	0.886	0.342	-0.991	-0.736	0.128	0.342	0.332	-0.991	-0.736	0.349	0.602	0.832	0.349	0.602	-0.974
SP	0.07	0.399	-0.757	-0.477	-0.895	-0.994	-0.757	-0.763	-0.477	-0.895	-0.325	-0.041	0.291	-0.325	-0.041	-0.895

注: SPS. 蔗糖磷酸合成酶; Ss+, 蔗糖合成酶分解方向; Ss-, 蔗糖合成酶分解方向; AI. 酸性转化酶; NI. 中性转化酶; SP. 淀粉磷酸化酶

Note: SPS. Sucrose phosphate synthase; Ss+, Sucrose synthase synthesis; Ss-, Sucrose synthase decomposes; AI. Acid invertase; NI. Neutral invertase; SP. Starch phosphorylase

2.7 相关性分析

2.7.1 干旱胁迫下甘草叶片渗透调节物质和糖相关性分析 由表 1 可知,CK 中,可溶性糖与葡萄糖、果糖和蔗糖均为负相关,与淀粉呈正相关;可溶性蛋白与蔗糖和淀粉呈正相关,与葡萄糖和果糖呈负相关;脯氨酸与淀粉呈正相关,与蔗糖、葡萄糖和果糖呈负相关。LS 中,可溶性糖和可溶性蛋白与葡萄糖、果糖、蔗糖和淀粉均为正相关,游离脯氨酸与葡萄糖、果糖、蔗糖和淀粉为负相关。MS 中,可溶性糖与蔗糖、葡萄糖和淀粉均为负相关,与果糖呈正相关;脯氨酸与葡萄糖和蔗糖为负相关,与果糖和淀粉均为正相关;可溶性蛋白与蔗糖、葡萄糖、果糖和淀粉均为正相关。SS 中,可溶性糖与蔗糖、葡萄糖和果糖均为负相关,与淀粉为显著正相关;脯氨酸与蔗糖、葡萄糖、果糖和淀粉均为负相关;可溶性蛋白与蔗糖、葡萄糖、果糖和淀粉均为正相关。

综上,随着干旱胁迫程度的加重,甘草叶片渗透调节物质和糖相关性亦发生变化。其中,在 LS 中,可溶性糖和可溶性蛋白与糖相关性为正相关,表明 LS 有助于叶片中糖的积累。

2.7.2 干旱胁迫下甘草叶片糖和蔗糖代谢相关酶相关性分析 由表 2 可知,CK 中,蔗糖和葡萄糖与 SPS、Ss+ 和 Ss- 均呈负相关,与 AI、NI 和 SP 均呈正相关,果糖和淀粉与 SPS、Ss+、Ss-、AI 和 NI 均呈正相关,与 SP 均呈负相关。LS 中,蔗糖、葡萄糖和淀粉与 SPS、AI 均呈正相关,与 Ss+ 和 NI 均呈负相关,而果糖相反;蔗糖、葡萄糖和果糖与 SP 均呈负相关,而与淀粉呈正相关。MS 中,蔗糖和葡萄糖与 SPS、Ss+、Ss-、AI 和 NI 均呈正相关,与 SP 均呈负相关;果糖和淀粉与 SPS、AI 均呈正相关,与 Ss+、Ss-、NI 和 SP 均呈负相关。SS 中,蔗糖与 SPS、Ss+ 均呈负相关,与 Ss-、AI、NI 和 SP 均呈正相关;葡萄糖与 SPS、Ss+、Ss-、AI、NI 均呈正相关,与 SP 呈负相关;果糖与 SPS、Ss-、AI、NI 均呈正相关,与 Ss+、SP 均呈负相关;淀粉与 SPS、Ss+、AI 呈正相关,与 SS-、NI、SP 呈负相关。由此可见,甘草叶片糖和蔗糖代谢相关酶相关性随胁迫程度的不同而变化。其中,在 LS 中,葡萄糖与 AI 达到极显著正相关,淀粉与 Ss- 活性达到显著正相关,Ss- 与蔗糖呈负相关,表明在 LS 下,Ss 参加了蔗糖的分解,继而合成淀粉。

3 讨 论

植物受到干旱等逆境环境时,体内可通过细胞

内水分减少、细胞体积变小和细胞内容物质增加等 3 条途径来实现渗透调节,植物体内这 3 条途径是共存的,只是在一定的条件下或因植物种类差异,其途径可能以某一种方式为主。渗透调节能力是有一定限度的,在水分胁迫发展快或至重度胁迫时,渗透调节能力变小甚或消失^[12]。Jones 认为 LS 和 MS 渗透调节才会起作用,SS 胁迫下渗透调节能力丧失^[13]。在干旱胁迫中渗透调节的最初效应是降低了细胞内束缚水的自由能,维持了细胞内外的水势差,使细胞能在更低的外界水势条件下吸水,从而维持了细胞生长所需的膨压。束缚水/自由水比值是反映渗透调节能力强弱的重要指标之一,比值大则植株抗旱性强。本试验结果显示随着干旱胁迫程度的加重,甘草叶片束缚水/自由水比值、可溶性蛋白和脯氨酸含量呈逐渐增加的趋势,可溶性糖呈先增加后降低的趋势。

糖是绿色植物生长的物质基础,供给植物正常生理代谢活动。单糖主要是葡萄糖、果糖,双糖以蔗糖为主,多糖则有纤维素和淀粉。其中葡萄糖和果糖是主要的还原糖。李天红等^[14]研究表明,MS 处理有利于苹果叶片中还原糖的积累,还原糖总量和果糖对干旱胁迫反应更敏感,处理早期即与 CK 形成显著差异,而葡萄糖含量的变化对适度干旱胁迫的反应较慢。淀粉是一种葡萄糖均聚物,是许多植物物种中主要的贮藏碳水化合物,可占植物器官总干重的 90%^[15]。淀粉是糖的重要储藏库,在特定的条件下,可溶性糖与淀粉之间可以相互转化,淀粉-糖在植物组织中的相互转化在植物体内起着重要的生理作用,同时淀粉是植物主要的能量贮藏物质,在植物生长发育过程中起着重要作用。关于干旱胁迫下蔗糖和淀粉的相互转化有两种不同的观点,一种观点是蔗糖转化为淀粉,在正常供水时叶片中淀粉含量随幼苗生长而增加,在干旱胁迫下,淀粉迅速积累,蔗糖是淀粉合成的主要底物。另一种观点是淀粉转化为蔗糖,干旱胁迫下,蔗糖增加的多,而淀粉增加得少^[16]。本试验结果发现,随着干旱胁迫程度的加剧,甘草叶片蔗糖、葡萄糖、果糖含量均呈先升高后降低的趋势,只是出现最高峰的胁迫程度不同。其中在 CK 和 LS 时蔗糖含量>淀粉含量>葡萄糖含量>果糖含量,在 MS 和 SS 时淀粉含量>葡萄糖含量>蔗糖含量>果糖含量。干旱胁迫下蔗糖含量的变化则有不同报道。柴成林等^[17]试验发现干旱胁迫后桃叶片蔗糖含量随干旱胁迫程度的增加显著降低。而本试验结果显示甘草叶片蔗糖含量随着干

旱胁迫程度的加剧呈先升高后降低的趋势。这可能与植物种间差异有关,其中甘草叶片有特殊结构腺体,使得在干旱胁迫初期蔗糖含量升高;也可能是随着干旱程度的增加,甘草叶片中蔗糖和淀粉间转化量的多少有关。

植物蔗糖代谢相关酶的活性强弱影响库强和糖卸载能力^[18]。其中SPS在蔗糖合成中起着重要的角色,干旱胁迫下,SPS活性增加,是增加淀粉再动员的调节因素。使植物体内碳同化物分配发生变化,以增加植物体内蔗糖等可溶性糖的含量,从而改变细胞的渗透压来抵抗胁迫环境的影响。干旱胁迫使水稻茎中SPS活性增加,同时可溶性糖(包括蔗糖)含量增加,且SPS活性的增加与茎中蔗糖含量的增加显著相关。Inv催化蔗糖在细胞内和外胚层转化为葡萄糖和果糖。SP是对淀粉的合成转化起着重要作用的酶,SP催化淀粉合成与分解,具有可逆性,其原因是处于离体条件下的淀粉磷酸化酶是可逆的,过去被认为是植物体内合成淀粉的反应,但是植物细胞内有较高的无机磷酸浓度,不适宜反应合成,所以有人提出SP主要催化淀粉的分解^[19]。

本试验结果显示,随着干旱胁迫程度的加重,甘草叶片SPS活性呈现先升高后降低的趋势,Ss活性和Inv活性呈逐渐升高的趋势,SP活性呈逐渐降低的趋势,其中Ss-活性在各个胁迫条件下远大于Ss+活性,表明甘草叶片Ss-活性占主要作用。相关性分析显示SPS活性与蔗糖呈正相关,SP与淀粉呈负相关。这与胡瑞芳^[20]、马春梅等^[21]、周晨卉^[22]研究结果一致,也证实了SP主要催化淀粉的分解^[19]。

相关性结果显示,随着干旱胁迫程度的加重,甘草叶片渗透调节物质和糖相关性以及糖和蔗糖代谢相关酶相关性亦发生变化。其中,在LS中,NI与蔗糖呈负相关,Ss-与淀粉达到显著正相关、与蔗糖呈负相关,说明甘草叶片中蔗糖通过NI和Ss-活性的提高合成淀粉。在MS中,蔗糖和葡萄糖与SPS、Ss+、Ss-、NI和AI均呈正相关,与SP呈负相关,说明甘草叶片可能是通过提高SPS、Ss+、Ss-、NI和AI酶活性,增加蔗糖含量来抵御干旱胁迫。在SS中,SP和NI与蔗糖呈正相关,而与淀粉呈负相关,说明甘草叶片中NI酶活性的提高和SP酶活性的降低来增加蔗糖含量以此平衡蔗糖代谢。

参考文献:

- [1] 黄承建, 赵思毅, 王龙昌, 等. 干旱胁迫对苧麻叶绿素含量的影响[J]. 中国麻业科学, 2012, **34**(5): 208-212.
HUANG C J, ZHAO S Y, WANG L C, *et al.* Effect of drought stress on chlorophyll contents in ramie[J]. *Plant Fiber Sciences in China*, 2012, **34**(5): 208-212.
- [2] JALEEL C A, MANIVANNAN P, KISHOREKUMAR A, *et al.* Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2007, **59**(2): 150-157.
- [3] 孙景宽, 张文辉, 刘新成. 干旱胁迫对沙枣和孩子拳头的生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2008, **28**(9): 1 868-1 874.
SUN J K, ZHANG W H, LIU X C. Physiological characteristics of *Elaeagnus angustifolia* and *Grewia biloba* G. Don var. *parviflora* seedlings under drought stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, **28**(9): 1 868-1 874.
- [4] 陈鹏, 潘晓玲. 干旱和NaCl胁迫下梭梭幼苗中甜菜碱含量和甜菜碱醛脱氢酶活性的变化(简报)[J]. 植物生理学通讯, 2001,(6): 520-522.
CHEN P, PAN X L. Change of betaine contents and activity

- of betaine aldehyde dehydrogenase in seedlings of *Haloxylon ammodendron* under drought and NaCl stress[J]. *Plant Physiology Communications*, 2001,(6): 520-522.
- [5] 王学奎, 黄见良. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2015.
- [6] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [7] 邹琦. 植物生理生化实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [8] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [9] 赵智中, 张上隆, 徐昌杰, 等. 蔗糖代谢相关酶在温州蜜柑果实糖积累中的作用[J]. 园艺学报, 2001, **28**(2): 112-118.
ZHAO Z Z, ZHANG S L, XU C J, *et al.* Roles of sucrose-metabolizing enzymes in accumulation of sugars in *Satsuma mandarin* fruit[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2001, **28**(2): 112-118.
- [10] HUBBARD N L, HUBER S C, PHARR D M. Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits[J]. *Plant Physiology*, 1989, **91**(4): 1 527-1 534.

- [11] LOWELL C A, TOMLINSON P T, KOCH K E. Sucrose-metabolizing enzymes in transport tissues and adjacent sink structures in developing *Citrus* fruit[J]. *Plant Physiology*, 1989, **90**(4): 1 394-1 402.
- [12] 吴 顺, 张雪芹, 蔡 燕. 干旱胁迫对黄瓜幼苗叶绿素含量和光合特性的影响[J]. 中国农学通报, 2014, **30**(1): 133-137.
- WU S, ZHANG X Q, CAI Y. Effects of drought stress on chlorophyll contents and photosynthetic characteristics of cucumber seedlings[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2014, **30**(1): 133-137.
- [13] JONES MMNC, TURNER CB, OSMOND. The physiology and biochemistry of drought resistance in plants [J]. *BioScience*, 1982, **32**(10): 15-37.
- [14] 李天红, 李绍华. 水分胁迫对苹果苗非结构性碳水化合物组分及含量的影响[J]. 中国农学通报, 2002, **18**(4): 35-39, 51.
- LI T H, LI S H. Effects of water deficiency stresses on components and contents of the non-structured carbohydrates in the tissue-cultured apple seedlings[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2002, **18**(4): 35-39, 51.
- [15] CENCI U, NITSCHKE F, STEUP M, *et al.* Transition from glycogen to starch metabolism in Archaeplastida[J]. *Trends in Plant Science*, 2014, **19**(1): 18-28.
- [16] 魏志刚. 植物干旱胁迫响应机制[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- [17] 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, (6): 495-498.
- CHAI C L, LI S H, XU Y C. Carbohydrate metabolism in peach leaves during water stress and after stress relief[J]. *Plant Physiology Communications*, 2001, (6): 495-498.
- [18] 郑国琦, 罗 霄, 郑紫燕, 等. 宁夏枸杞果实糖积累和蔗糖代谢相关酶活性的关系[J]. 西北植物学报, 2008, **28**(6): 1 172-1 178.
- ZHENG G Q, LUO X, ZHENG Z Y, *et al.* Relationship between sugar accumulation and its metabolizing enzymes in *Lycium barbarum* L. [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, **28**(6): 1 172-1 178.
- [19] 门福义, 毛雪飞, 刘梦云, 等. 马铃薯不同品种淀粉积累生理基础研究——淀粉积累与磷酸化酶、蔗糖转化酶的关系[J]. 中国马铃薯, 1997, **11**(1): 1-6.
- MEN F Y, MAO X F, LIU M Y, *et al.* Study on physiological basis of starch accumulation in different varieties of potato —relation between starch accumulation and amylophosphorylase, sucrose invertase[J]. *Chinese Potato Journal*, 1997, **11**(1): 1-6.
- [20] 胡瑞芳. 不同品种甜高粱糖分积累规律与糖代谢相关酶关系的研究[D]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2012.
- [21] 马春梅, 郭海龙, 龚振平, 等. 大豆叶片可溶性糖代谢动态变化与相关酶活性的研究[J]. 作物杂志, 2012, (5): 71-75.
- MA C M, GUO H L, GONG Z P, *et al.* Study on dynamic change of soluble sugar metabolism and related enzyme activity in soybean leaf[J]. *Crops*, 2012, (5): 71-75.
- [22] 周晨卉. 毛花猕猴桃‘华特’采后果实品质及其代谢特性的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2015.

(编辑:潘新社)