

盐胁迫对番茄幼苗转化酶表达及糖代谢的影响^{*}

程智慧, 高 芸, 孟焕文

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 以栽培番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.) 品种中杂9号6叶期幼苗为试验材料, 在水培条件下研究了50, 100, 200, 400 mg/L NaCl胁迫处理对番茄幼苗根系和叶片转化酶活性表达, 及叶片中葡萄糖、果糖、蔗糖和淀粉代谢的影响。结果表明, 转化酶的表达水平与盐胁迫强度和时间的密切关系, 根系中转化酶在50 mg/L NaCl胁迫后5和11 d, 或100 mg/L NaCl胁迫5和13 d均有极显著高表达; 200和400 mg/L NaCl胁迫后11 d有极显著表达; 叶片对微盐和高盐伤害的抵御反应强烈, 转化酶在50和400 mg/L NaCl胁迫后11 d有显著表达。与叶片中转化酶表达的胁迫强度和胁迫时间相关, 叶片中葡萄糖、果糖和蔗糖水平提高; 胁迫后至第11天, 50, 100和200 mg/L NaCl处理叶片中淀粉含量增幅随胁迫强度的增加而增大, 而400 mg/L NaCl处理的增幅较小。

[关键词] 番茄; 盐胁迫; 转化酶; 糖代谢; 水培

[中图分类号] S641.201

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)01-0184-05

Effects of salinity stress on invertase expression and carbohydrate metabolism in tomato seedling

CHEN G Zhi-hui, GAO Yun, MEN G Huan-wen

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The effects of invertase expression and carbohydrate metabolism in tomato (cv. Zhongza No. 9) plant were studied under hydroponic culture with different levels of salinity stress by 50, 100, 200, 400 mg/L of NaCl treatment respectively. The results showed that invertase expression was closely related to both the strength and the duration of salinity stress. Invertases in root were most significantly increased at the 5th and 11th day stress of 50 mg/L NaCl or at the 5th and 13th day stress of 100 mg/L NaCl. They were most significantly increased at the 11th day after stress of 200 and 400 mg/L NaCl. The leaf was strongly resistant to the harm induced by low salinity level and high salinity level. Salinity stress at 50, 400 mg/L increased leaf invertase in 11 d. The increase of the leaf glucose, fructose and sucrose was correlated with invertase expression. The starch level in leaf was increased more by 50, 100, 200 mg/L treatment and less by 400 mg/L treatment in the duration of stress.

Key words: tomato; salinity stress; invertase; carbohydrate metabolism; hydroponic culture

盐害是农业生产的主要威胁之一, 尤其是在我国西北地区。因而, 有关盐胁迫对蔬菜及农作物生育及生理的影响研究一直是逆境研究的热点之一。转化酶作为一种不可逆催化蔗糖水解成葡萄糖和果糖的酶, 在植物糖分积累和组成调节上具有重要意义,

影响植物的正常生长和发育。它作为生物体内糖代谢的关键酶之一, 除主要催化糖转化外, 还与植物受病原物侵染和伤害刺激有关^[1-5]。但有关盐分胁迫与转化酶表达的关系尚未见系统的研究报道。本研究以栽培番茄幼苗为材料, 在水培条件下研究盐胁迫

^{*} [收稿日期] 2005-12-14

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30370977)

[作者简介] 程智慧(1958-), 男, 陕西兴平人, 教授, 博士生导师, 主要从事蔬菜生理生态与生物技术研究。E-mail: chengzh@nwsuaf.edu.cn

对番茄幼苗转化酶活性及糖代谢的影响,以探讨盐害对番茄的伤害机理,有助于更好地了解番茄对盐胁迫的适应性,对深入了解番茄盐逆境的生理生化特征及其调节亦有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料及其培养

供试番茄品种为栽培番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 品种中杂 9 号,由西北农林科技大学农城种业中心提供。供试番茄种子于 12-23 播种于温床,当幼苗长至 3 片真叶时选整齐一致的幼苗移入通气水培装置,加 Hoglands 营养液继续培养。当幼苗长至 6 叶 1 心时开始进行盐胁迫处理。培养室温度白天 25 ℃,夜间 18 ℃,人工光照强度 110 μmol/(m² · s),每天照光 12 h。

1.2 试验方法

1.2.1 试验处理方法 通过在营养液中加入不同质量浓度的 NaCl 实施盐胁迫。NaCl 质量浓度设 50, 100, 200, 400 mg/L 4 个处理,以不加 NaCl 为对照,每处理 80 苗,加营养液 16 L。试验期间每天向营养液中补充无离子水及营养液至标记刻度。

1.2.2 转化酶和糖分的测定 盐胁迫处理后分别于 3, 5, 9, 11, 13, 15 d 中午 11: 00~ 12: 00 取番茄根系约 0.5 g,并用打孔器取功能叶圆片(约 12 cm²)用于转化酶测定;于 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 d 14: 00 取功能叶圆片(约 6 cm²)用于糖分测定。根样和叶样采集后立即放入液氮中,用于糖分测定的叶样采后转入- 80 ℃冰柜保存。每处理取样重复 4 株,不同时期换株取样。转化酶和糖分的提取参照 Scholes 等^[6]的方法。转化酶的测定依据 Scholes 等^[6]的方法,蔗糖和果糖的测定依据间苯二酚定糖法^[7-8],葡萄糖的测定依据蒽酮比色定糖法^[9],淀粉的测定依

据蒽酮法^[10]。仪器采用 Bio-Rad Laboratories 公司生产的 Model 680 酶标仪和德国 Heraeus 冷冻离心机等。

1.3 数据处理

试验数据运用 EXCEL 及 DPS 软件进行分析处理,处理结果以“平均值±标准方差”表示。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫对番茄幼苗转化酶活性表达的影响

2.1.1 盐胁迫对番茄幼苗根系转化酶活性表达的影响 在盐胁迫下,番茄幼苗根系转化酶活性表达以胞壁转化酶和酸性可溶性转化酶为主,碱性酶含量很少。由表 1 可见,与对照相比,50 mg/L NaCl 胁迫下,番茄幼苗根系胞壁转化酶和酸性可溶性转化酶在第 5 天保持极显著的较高表达水平,在胁迫 11 d 后保持显著且稳定的较高水平;100 mg/L NaCl 胁迫下,2 种酶除在第 5 天时有极显著升高外,其余时间基本都呈现降低的趋势;200 mg/L NaCl 胁迫下,到第 9 天 2 种酶的表达水平有很大幅度提高,且到第 11 天升幅极显著;400 mg/L NaCl 胁迫下 2 种酶的变化趋势与 200 mg/L NaCl 胁迫下基本相似。

2.1.2 盐胁迫对番茄幼苗叶片转化酶活性表达的影响 盐胁迫下,番茄幼苗叶片转化酶以胞壁转化酶和酸性可溶性转化酶为主,碱性酶含量很少。由表 1 可见,与对照相比,50 mg/L NaCl 胁迫下,番茄幼苗叶片胞壁转化酶和酸性可溶性转化酶在第 11 天仍保持极显著的较高表达水平;400 mg/L NaCl 胁迫下,2 种酶在第 11 天保持显著的高表达水平,以后略有下降,到第 15 天 2 种酶升幅显著;100 和 200 mg/L NaCl 胁迫下,2 种酶活性的表达水平均与对照差异不显著。

表 1 盐胁迫对番茄幼苗转化酶活性表达的影响

Table 1 Effects of salt stress on invertase expression in tomato leaves and root nmol/(min · g)

NaCl 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration of NaCl	胁迫天数 Day stressed	叶片 Leaf		根 Root	
		胞壁转化酶 Apoplastic invertase	酸性可溶性转化酶 Soluble acid invertase	胞壁转化酶 Apoplastic invertase	酸性可溶性转化酶 Soluble acid invertase
0	3	20.147±2.870 aA	20.298±2.665 aA	5.440±0.139 aAB	5.248±0.020 abAB
	5	19.067±1.581 abA	19.128±1.669 abA	5.382±0.071 bB	5.174±0.064 bB
	9	19.680±0.437 aA	19.535±0.506 aA	8.960±0.171 aA	8.364±0.279 aA
	11	17.752±0.649 cB	17.275±0.595 bB	4.789±0.458 bC	4.623±0.500 bC
	13	18.115±2.373 aA	18.763±3.144 aA	8.473±0.414 bB	7.630±0.460 bB
	15	14.590±0.635 bA	13.953±0.467 bA	6.432±0.134 bB	6.270±0.122 aA
50	3	20.218±1.273 aA	20.448±1.319 aA	5.441±0.059 aAB	5.177±0.115 abAB
	5	20.227±1.456 aA	20.239±1.459 aA	8.682±0.438 aA	8.146±0.477 aA

续表 1 Continued of Table 1

NaCl 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration of NaCl	胁迫天数 Day stressed	叶片 Leaf		根 Root	
		胞壁转化酶 Apoplastic invertase	酸性可溶性转化酶 Soluble acid invertase	胞壁转化酶 Apoplastic invertase	酸性可溶性转化酶 Soluble acid invertase
100	9	20 200±1. 856 aA	20 250±1. 640 aA	6 802±0. 644 aA	6 230±0. 748 aA
	11	21. 446±1. 165 aA	20 583±0. 592 aA	7. 082±1. 034 aAB	6 880±1. 006 aAB
	13	19 343±1. 344 aA	19 337±1. 070 aA	11. 009±0. 196 aA	10 529±0. 349 aA
	15	14 112±0. 255 bA	13 961±0. 852 bA	7. 602±0. 597 aA	7 261±0. 320 aA
	3	18 196±1. 740 aA	18 609±1. 924 aA	5 221±0. 043 bB	5 034±0. 097 bB
	5	21. 102±0. 393 aA	20 312±0. 112 aA	8 894±0. 117 aA	8 434±0. 134 aA
	9	16 422±2. 103 aA	16 309±1. 190 aA	5 025±0. 799 aA	4 558±0. 536 aA
	11	18 324±0. 160 bcAB	18 840±0. 292 abAB	5 487±0. 356 bBC	5 285±0. 394 bBC
	13	18 879±6. 542 aA	18 254±6. 281 aA	6 473±0. 156 cC	6 262±0. 069 cC
	15	15 111±0. 192 abA	15 223±0. 459 abA	6 798±0. 379 bAB	25 820±33. 541 aA
200	3	18 884±0. 675 aA	18 560±0. 612 aA	5 501±0. 077 aA	5 381±0. 167 aA
	5	17. 482±0. 828 bA	17. 106±1. 119 bA	5 351±0. 242 bB	5 236±0. 215 bB
	9	17. 319±0. 770 aA	1. 697±0. 938 aA	22 577±29. 328 aA	20 380±26. 475 aA
	11	18 312±0. 685 bcAB	17. 926±0. 420 bAB	6 874±0. 539 aAB	6 576±0. 541 aAB
	13	17. 448±0. 267 aA	17. 088±0. 046 aA	6 552±0. 197 cC	6 221±0. 004 cC
	15	15 792±1. 021 abA	15 441±1. 700 abA	6 471±0. 064 bB	6 378±0. 250 aA
	3	20 690±1. 658 aA	21. 127±1. 681 aA	5 405±0. 062 aAB	5 037±0. 110 bB
	5	17. 551±1. 684 bA	17. 593±1. 517 bA	5 428±0. 066 bB	5 235±0. 013 bB
	9	19 775±3. 412 aA	18 716±3. 819 aA	5 766±0. 802 aA	5 182±0. 540 aA
	11	20 654±2. 366 abAB	20 420±2. 041 aA	7 254±0. 460 aA	7 004±0. 372 aA
400	13	16 173±0. 982 aA	15 808±1. 224 aA	5 121±0. 120 dD	4 983±0. 318 dD
	15	16 935±2. 047 aA	16 413±1. 710 aA	6 372±0. 101 bB	6 366±0. 153 aA

注: 表中同列不同浓度盐分相同胁迫天数测定值后的不同大写字母和不同小写字母分别表示 1% 和 5% 的差异水平, 表 2 同。
Note: Different capital and lowercase letters after the data of the same stree day but different concentration of NaCl in a same colum show the difference at 1% and 5% level, respectively. The same in Table 2

2.2 盐胁迫对番茄幼苗叶片糖代谢的影响

盐胁迫处理后第 1 天, 对照番茄幼苗叶片中葡萄糖和果糖含量均较低, 分别为 529.6 和 516.7 nmol/g; 随着幼苗的生长, 两种己糖水平呈缓慢增加趋势, 到第 11 天时分别提高到 756.8 和 744.7 nmol/g(表 2)。与对照相比, 从处理后至第 11 天, 50 mg/L NaCl 处理的两种己糖分别增加 0.8%~36.2% 和 0.9%~36.9%; 100 mg/L NaCl 处理的

两种己糖分别增加 1.3%~6.7% 和 0.6%~7.8%; 200 mg/L NaCl 处理的两种己糖分别增加 0.07%~2.6% 和 0.7%~4.5%; 400 mg/L NaCl 处理的两种己糖分别增加 0.7%~38.7% 和 0.9%~40.0%。即 50 和 400 mg/L NaCl 处理时两种己糖水平增幅较大, 且增幅最大的时间出现在处理后的第 11 天。

表 2 盐胁迫对番茄幼苗叶片糖代谢的影响

Table 2 Effects of salt stress on carbohydrate metabolism in fresh tomato leaves

NaCl 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration of NaCl	胁迫天数 Day stressed	葡萄糖/ (nmol · g ⁻¹) Glucose	果糖/ (nmol · g ⁻¹) Fructose	蔗糖/(nmol · g ⁻¹) Sucrose	淀粉/ (g · kg ⁻¹) Starch
0	1	529.6±71.6	516.7±70.8	1591.2±93.1	0.0387±0.0053
	3	643.4±37.9	631.5±42.8	1620.3±146.0	0.0493±0.0045
	5	672.4±55.0	666.5±50.0	1638.1±63.3	0.0579±0.0009
	7	689.9±71.4	679.8±67.5	1644.4±109.3	0.0594±0.0066
	9	713.4±33.1	695.4±34.0	1660.6±77.5	0.0692±0.0038
	11	756.8±58.7	744.7±56.6	1695.6±15.5	0.0724±0.0043
	13	654.1±34.6	644.6±36.8	1554.5±135.0	0.0544±0.0020
	15	658.9±21.1	645.4±23.1	1501.0±29.4	0.0493±0.0022

续表 2 Continued of Table 2

NaCl 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration of NaCl	胁迫天数 Day stressed	葡萄糖/ (nmol · g ⁻¹) Glucose	果糖/ (nmol · g ⁻¹) Fructose	蔗糖/(nmol · g ⁻¹) Sucrose	淀粉/ (g · kg ⁻¹) Starch
50	1	541.3±98.7	527.3±93.1	1 603.7±138.6	0.0424±0.0068
	3	654.4±14.1	696.7±14.5	1 636.9±105.9	0.0580±0.0017
	5	677.8±89.6	672.5±85.9	1 663.3±98.4	0.0619±0.0014
	7	695.4±50.9	688.9±51.7	1 682.1±48.0	0.0699±0.0037
	9	725.9±35.4	701.6±33.4	1 686.1±109.6	0.0725±0.0028
	11	1 030.8±32.2	1 019.4±32.2	1 707.6±171.7	0.0821±0.0019
	13	646.8±20.3	632.1±22.1	1 595.0±92.8	0.0647±0.0023
	15	644.8±191.8	614.6±185.5	1 546.3±147.6	0.0599±0.0068
100	1	537.0±83.4	533.0±79.4	1 717.4±81.0	0.0430±0.0059
	3	686.6±75.2	681.1±73.7	1 741.7±80.7	0.0542±0.0060
	5	688.7±35.8	684.7±36.4	1 791.6±14.4	0.0682±0.0002
	7	698.7±74.0	684.0±70.6	1 812.5±45.5	0.0728±0.0054
	9	727.4±51.9	712.8±47.1	1 847.3±45.7	0.0804±0.0039
	11	769.6±19.5	753.3±20.2	1 867.1±105.7	0.0917±0.0015
	13	635.5±72.7	619.5±69.4	1 794.3±85.6	0.0740±0.0048
	15	465.5±29.5	442.3±21.7	1 731.1±8.2	0.0658±0.0013
200	1	534.3±51.4	540.0±380.4	1 745.3±251.9	0.0556±0.0029
	3	660.4±22.1	645.5±29.7	1 812.4±17.8	0.0627±0.0001
	5	688.5±17.6	684.7±17.8	1 876.8±5.9	0.0697±0.0056
	7	690.4±21.9	684.8±20.7	1 877.6±8.8	0.0704±0.0020
	9	716.6±11.3	701.6±13.9	1 898.7±95.4	0.0787±0.0012
	11	762.2±22.3	756.3±18.1	1 913.4±92.9	0.0856±0.0005
	13	605.2±128.0	589.9±122.6	1 798.5±5.3	0.0753±0.0093
	15	519.2±81.4	506.7±80.7	1 687.4±72.5	0.0698±0.0008
400	1	534.8±51.8	523.4±51.4	1 628.8±45.1	0.0389±0.0039
	3	653.5±25.5	649.3±26.6	1 647.2±110.3	0.0502±0.0064
	5	688.7±50.7	681.6±49.9	1 680.4±104.9	0.0606±0.0015
	7	694.7±43.9	686.1±43.1	1 694.3±150.2	0.0666±0.0024
	9	719.2±54.9	707.1±54.5	1 686.5±70.7	0.0709±0.0039
	11	1 049.7±44.1	1 042.5±43.0	1 706.5±52.4	0.0735±0.0032
	13	566.3±102.1	552.1±101.2	1 639.8±106.0	0.0564±0.0074
	15	580.9±12.6	568.0±11.4	1 602.6±70.4	0.0508±0.0008

随着番茄幼苗的生长, 到处理后第 11 天, 番茄幼苗叶片中蔗糖增加的趋势也较明显。与对照相比, 50, 400 mg/L NaCl 处理的蔗糖水平分别增加 0.7%~2.3% 和 0.6%~3.0%; 100, 200 mg/L NaCl 处理的蔗糖水平分别增加 7.5%~11.3% 和 9.7%~14.5%; 其中, 50, 400 mg/L NaCl 处理的蔗糖水平增加幅度低于己糖。

盐胁迫后直至第 11 天, 番茄幼苗叶片中淀粉含量均有不同程度的增加。50, 100, 200 mg/L NaCl 处理的淀粉含量分别较对照增加 5.8%~21.6%, 10.2%~33.3%, 14.5%~43.6%; 增幅随 NaCl 胁迫强度的增加而增大, 但 400 mg/L NaCl 处理的淀粉含量仅较对照增加 2.0%~19.6%。

3 讨 论

3.1 转化酶表达水平与盐胁迫强度和时间的关系

盐胁迫利于胞壁转化酶和酸性可溶性转化酶的合成。番茄幼苗根系和叶片转化酶的表达水平与盐胁迫时间关系密切, 主要在胁迫至第 11 天时, 两器官的 2 种转化酶均达到显著高表达水平; 不同的盐胁迫强度在很大程度上影响了番茄幼苗根系和叶片转化酶的表达: 根系中的转化酶活性在 50, 100 mg/L NaCl 处理下, 第 5 天和第 11 天都有极显著高表达, 说明番茄幼苗根系对低盐的反应敏感, 在较短时间内因转化酶活性的增加, 己糖水平提高, 抵御胁迫伤害而维持代谢。而 200, 400 mg/L NaCl 处理

的反应滞后, 2 种酶均在胁迫后的第 11 天升幅达极显著水平。50, 400 mg/L NaCl 处理对番茄幼苗叶片转化酶表达有显著影响, 11 d 后有显著高表达, 说明番茄幼苗叶片对微盐和高盐伤害的反应强烈, 其敏感程度较一致, 中量的盐胁迫不足以引起转化酶的显著变化。

3.2 糖代谢与叶片转化酶、盐胁迫强度及时间的关系

从处理后直至第 11 天, 在不同程度盐胁迫下, 番茄幼苗叶片中的葡萄糖和果糖均有不同程度的提高。50 和 400 mg/L NaCl 处理的两种已糖水平增幅较大, 且增幅最大的时间出现在处理后第 11 天, 这种变化趋势与番茄幼苗叶片转化酶表达的趋势一致, 说明在微盐和高盐胁迫下, 转化酶水解蔗糖, 增加了两种已糖的水平; 同时, 叶片中蔗糖增加的趋势也较明显, 但 50, 400 mg/L NaCl 处理的蔗糖水平增加幅度低于葡萄糖和果糖, 说明微盐和高盐胁迫下部分蔗糖加速转化, 产生了更多的已糖; 处理后直至第 11 天, 淀粉增幅随着胁迫强度的增加而增大, 但 400 mg/L NaCl 处理的淀粉含量增幅远远小于前 3 个处理, 说明在高盐胁迫下部分淀粉可能水解, 提高了已糖水平。盐胁迫下转化酶的表达受植物防御系统的调控, 转化酶作为碳水化合物代谢的关键酶, 经一段时间的胁迫后出现高表达, 将蔗糖水解为葡萄糖和果糖, 增加重要的渗透调节剂——可溶性糖的含量, 以保持细胞的渗透压; 提供合成其他有机溶质的碳架和能量来源, 在细胞内 Na^+ 和 Cl^- 浓度高时保护酶类^[11-12], 使植物抵御伤害, 维持植株的正常代谢。

[参考文献]

- [1] Godit D E, Roitsch T. Regulation and tissue-specific distribution of mRNAs for three extracellular invertase isoenzymes of tomato suggests an important function in establishing and maintaining sink metabolism [J]. *Plant Physiology*, 1997, 115: 273-282
- [2] Klann N, Yelle S, Bennett A B. Plant gene register: tomato fruit acid invertase complementary DNA, nucleotide and deduced amino acid sequences [J]. *Plant Physiology*, 1992, 99: 351-353
- [3] Konno Y, Vedvick T, Fitzmaurice L, et al. Purification, characterization, and subcellular localization of soluble invertase from tomato fruit [J]. *Journal of Plant Physiology*, 1993, 141: 385-392
- [4] Klann E M, Chetelat R T, Bennett A B. Expression of acid invertase gene controls sugar composition in tomato (*Lycopersicon*) fruit [J]. *Plant Physiology*, 1993, 103: 863-870
- [5] Ohyama A, Ito H, Sato T, et al. Suppression of acid invertase activity by antisense RNA modifies the sugar composition of tomato fruit [J]. *Plant Cell Physiology*, 1995, 36(2): 369-376
- [6] Scholes J D, Bundock N, Wilde R, et al. The impact of reduced vacuolar invertase activity on the photosynthetic and carbohydrate metabolism of tomato [J]. *Planta*, 1996, 200: 265-272
- [7] 李如亮. 生物化学实验 [M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1998: 19
- [8] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 127
- [9] 杨建雄. 生物化学与分子生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 2002
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验技术 [M]. 北京: 世界图书出版公司, 2000
- [11] 赵玉蓉, 王维中. 植物在盐害下的渗透调节 [J]. 徐州师范学院学报: 自然科学版, 1995, 13(4): 59-62
- [12] 张海燕, 赵可夫. 盐分和水胁迫对盐地碱蓬幼苗渗透调节效应的研究 [J]. 植物学报, 1998, 40(1): 56-61