

文献综述

大豆脯氨酸累积与抗逆性

尹 田 夫

(黑龙江省农业科学院大豆研究所)

科学家们发现植物在水分胁迫条件下,由于失去脯氨酸合成的反馈抑制作用,体内蛋白质合成受阻,分解增加^[13],导致氨基酸组分发生显著变化,尤其是游离脯氨酸(free Proline)的剧烈增加^[7,17]引起了许多科学家们的极大关注。

作者根据研究工作的需要,现就脯氨酸累积与抗逆性的有关研究综述如下:

一、脯氨酸累积对逆境胁迫的响应

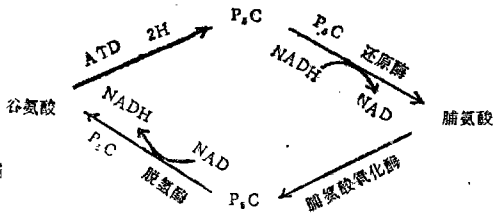
正常生长的植物,植株体内脯氨酸含量很低。当处于干旱、低温、盐碱等不良环境中,许多植物体内脯氨酸浓度增加,累积能力大大提高。脯氨酸累积量可达原有几倍、几十倍,乃至百倍之多。抗旱型水苜蓿品种,OS₄分离叶片在-20℃中,累积至2.8mg/g dry wt.增加约28倍^[1];海韭菜(*Triglochin masitima*)脯氨酸含量可达幼株干重的10—20%^[19];大豆在花粉母细胞形成期(R₄),脯氨酸累积一般为原含量的1.16—2.55倍,可见大豆在水分胁迫条件下,其脯氨酸累积量相对较其它作物为低。

二、脯氨酸累积的途径

综括前人的研究认为在水分胁迫条件下脯氨酸的累积概有三个途径^[5]:第一,失去了脯氨酸合成的反馈抑制作用。这一途径为Boggess等(1976)所证明,研究指出在正常的大麦和烟草中脯氨酸合成受到本身的抑制,但在萎蔫叶片中脯氨酸合成对脯氨酸抑制的敏感性下降。第二,脯氨酸氧化受到抑制^[21]。这可能由于水分胁迫破坏了线粒体的膜结构,影响了代谢的区隔化,导致氧化中间产物外渗,从而发生了氧化产物的逆转。实验也证明在干旱时叶子中水解酶活性升高。因此,脯氨酸累积在细胞内也可能是细胞完整性破坏的结果^[22]。第三,蛋白质合成受到抑制^[19]。在正常情况下,蛋白质合成是脯氨酸的主要去路,而干旱抑制了蛋白质合成,也抑制了脯氨酸向蛋白质的渗入。Parker(1968)提出脯氨酸可能是由于蛋白质裂解而产生。而Naylor(1972)提出脯氨酸累积是由于水分胁迫造成其它氨基酸合成的代谢支路阻塞。总之,关于脯氨酸的来源仍尚有不同之见。

三、脯氨酸累积的生理机制

据 Stewart (1978), Huang (1979) 等人研究证明, 萎蔫叶子中脯氨酸的累积主要由于谷氨酸合成, 水分胁迫也抑制氮脯氨酸的氧化及蛋白质的合成, 均有助于脯氨酸的累积。其代谢反应如图所示:



P₅C 为 Δ^1 吡咯啉—5—羧酸是谷氨酸转换成脯氨酸的中间产物。许多生理学家普遍认为作物在水分胁迫条件下, 游离脯氨酸累积主要是碳水化合物经过 α -酮戊二酸, 谷氨酸合成得到的(8)。Stewart (1978)对脯氨酸累积与作物萎蔫的关系、脯氨酸累积与碳水化物的效果及用(5—

H³) 的脯氨酸饲喂大麦, 然后在 H₂O 中回收 H³ 等实验, 结果说明作物体受胁迫后, 萎蔫的叶子主要是谷氨酸刺激着脯氨酸的合成。碳水化合物只起着抑制脯氨酸的氧化, 免除脯氨酸含量的降低, 促使脯氨酸累积。并且进一步指出, 除谷氨酸外鸟氨酸和精氨酸也可作为脯氨酸的前体。

四、脯氨酸累积的生理作用

顾静文 (1983) 综述有关这方面的文献资料指出, 在水分胁迫条件下, 植物体内游离脯氨酸累积增加是植物对于干旱胁迫的反应。该反应有助于抗御胁迫, 使植物体维持适当的 C/N 比, 脯氨酸累积可缓解水分胁迫时, 蛋白质水解后产生的有毒物质, 如 NH₃。而且是作物在受胁迫条件下, 暂时以脯氨酸的形式将氮贮藏起来, 作为植物体呼吸和胁迫解除后恢复细胞膨压时所需要的能量; 脯氨酸累积可以保护线粒体膜结构的完整性和可溶性酶的稳定性; 还能防止细胞原生质严重脱水, 以维持胶体的亲水作用。综括前人的研究可以认为脯氨酸的生理作用尽管其说不一, 但脯氨酸含量是植物水分胁迫程度的指示, 这一点已被生理学家们普遍地承认。

五、影响脯氨酸累积的外界因素

影响植株体内脯氨酸累积的外界因素主要有土壤水分含量、叶片相对膨润度或叶水势等因素。前人的研究指出, 不同植物受水分胁迫后, 叶片中脯氨酸累积与叶水势下降的临界值各不相同。玉米—5—10巴, 大麦、稻谷为—10巴, 高粱—14—16巴, 棉花(四叶期)—15—17巴。

关于土壤水分含量、叶片相对膨润度对脯氨酸累积的影响, 我国台湾省中兴大学朱德民 (1979) 研究指出, 水稻抗旱品种 OS, 其叶片相对膨润度(relative turgity, RT%)

维持在 90% 左右，脯氨酸含量亦很低，约为每克干重含有 0.1 毫克左右，盆钵中土壤水分含量维持在 25—30% 左右。当开始断水时，土壤中水分含量迅速减少，叶片相对膨润度也相对减少，此时，叶片中脯氨酸含量没有明显变化。当断水后第九日，土壤水分含量降低至 3—4% 左右，叶片相对膨润度降低 60% 左右，植株呈现显著凋萎状态时，此时叶片内脯氨酸含量开始增加，以后土壤水分维持不变，叶片相对膨润度继续减少，脯氨酸大量累积。断水后第十一日，其脯氨酸含量高达 8.5 毫克/克干重，较原来正常植株增加约 85 倍之多，如图 1 所示。

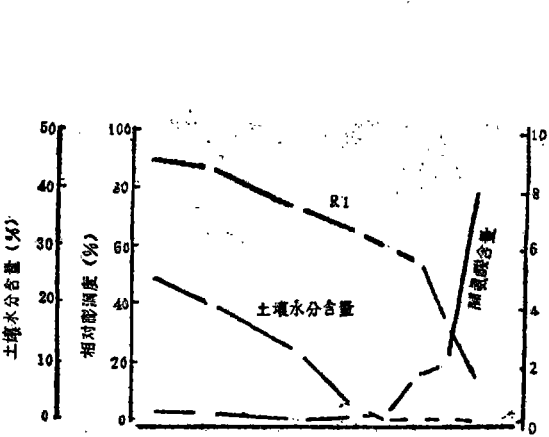


图 1、土壤水分含量、叶片相对膨润度及脯氨酸含量的变化
(引自：科学发展月刊(台)7(2),170,朱德民)

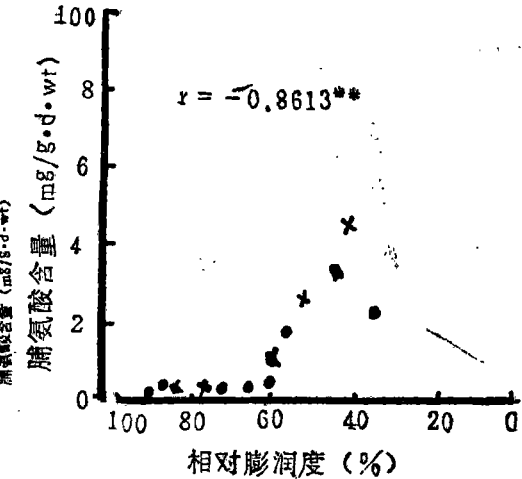


图 2、叶片相对膨润度与脯氨酸的关系
(引自：科学发展月刊(台)7(2),171,朱德民)

叶片水分含量变化与脯氨酸含量增加呈高度显著负相关($r = -0.8613^{**}$) 见图 2 所示。

六、脯氨酸累积特性

作者在研究大豆脯氨酸累积特性时发现，在水分胁迫条件下，栽培大豆 (G_{max}) 品种其植株叶片、叶柄、茎杆均有累积脯氨酸的能力。并且，在一般情况下，叶片的累积能力较高，茎杆次之，叶柄最低。敏感型品种和抗旱型品种的这一趋势相同，如表 1 所示。

表1 大豆游离脯氨酸在植株体内的累积 (mg/g.d.wt)

植 株 部 位	绥农 4 号 (敏感型)		安丰 1 号 (抗旱型)	
	水分胁迫	增 长 率	水分胁迫	增 长 率
叶	6.43	1.16	6.93	2.55
叶柄	4.35	1.05	4.05	1.33
茎	6.13	1.87	5.63	1.60

根据大豆脯氨酸累积这一特性，因此在进行大豆脯氨酸累积、脯氨酸代谢、以及脯氨酸生理机制等方面研究时，均可采用叶片进行脯氨酸测定。

关于大豆植株体内游离脯氨酸的分布如图 3 所示。在同一植株中，叶片及叶柄其游离脯氨酸累积能力随着叶龄增加而减少，换言之，幼龄组织具有较高的累积能力。据此，在测定大豆游离脯氨酸时，应采用叶龄较小的叶片为宜。

图 3 还显示，栽培大豆植株其主茎上数第四节叶片及叶柄脯氨酸累积能力均较其它主茎节叶片和叶柄高。鉴于此，大豆植株上数第四节叶片可作为测定脯氨酸的最佳叶片。

就大豆主茎和分枝脯氨酸累积能力而言，图 4 显示出，主茎上的叶片和叶柄其脯氨酸累积能力均高于分枝。由此说明，在水分胁迫条件下，大豆主茎和分枝对干旱的反应不同，脯氨酸代谢能力也不相同。脯氨酸在植株体内的分布亦为水稻所佐证^[1]。

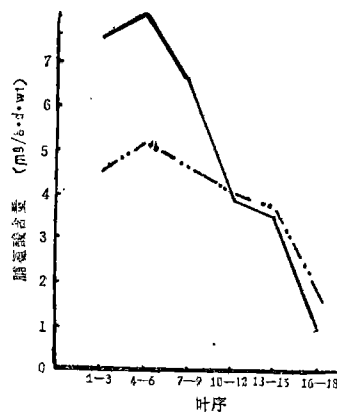


图 3、脯氨酸在大豆植株体内的布分趋势

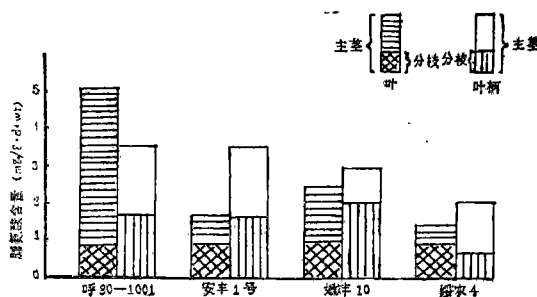


图 4、大豆主茎与分枝的叶片、叶柄脯氨酸累积的比较

七、大豆种间脯氨酸累积现象

由表 1、2 明显可见，栽培大豆 (*G. max*) 品种、野生大豆 (*G. soja*) 和半野生大豆 (*G. gracilis*)，在水分胁迫条件下，均能累积脯氨酸。由于野生大豆和半野生大豆叶片较小，蒸腾量较少，故凋萎较慢、脯氨酸累积量相对较少。但脯氨酸累积增长率却

表 2 大豆种间脯氨酸的累积现象 (mg/g.dwt)

种 名	品 种	对 照		干旱处理		增 长 率	
		叶	叶 柄	叶	叶 柄	叶	叶 柄
G. soja	龙79-1701	1.68	1.00	2.18	2.78	1.30	2.78
	龙79-1703	2.40	1.32	2.32	1.82	0.97	1.38
G. gracilis	龙79-7106	4.56	5.36	4.40	5.63	0.96	1.05

表现较高。这可能说明了野生大豆和半野生大豆具有较强的耐旱能力。

八、离体叶片脯氨酸累积的变化

生长的完整植株，遭受逆境时，叶片、叶柄、茎秆均有游离脯氨酸累积。若将正常叶片切下，置于恒温箱中，进行干旱处理，即把切成1cm长的叶片段，放置在发芽皿中，于20℃恒温箱中进行脱水试验，当叶片相对膨润度在24小时内急骤减少；48小时后，叶片相对膨润度由原来85—90%减少至5%左右，叶片脯氨酸含量大量增加，尤其是在24至48小时之内，增加速率最为显著。此乃可见，不仅完整植株叶片具有脯氨酸累积能力，切离叶片亦具有此能力，但累积量与水分关系和完整植株的不同。

由于切离叶片在干燥状态下，亦具有脯氨酸累积能力，为了避免品种间叶片构造、茸毛、气孔等形态性状的差异，因此将切离叶片浸在高渗透压溶液中，以造成叶片干旱环境。即将切离叶片（1cm长）分别浸在—10及—20巴聚乙二醇（PEG，M、W、4000）溶液中，放置于恒温箱中，不照光，72小时后取出材料用水洗净，测定其脯氨酸含量。对照处理利用蒸馏水代替渗透溶液。结果表明分离叶片在—10巴PEG中，72小时后其脯氨酸含量为1.9mg/g·d·wt·，增加约19倍，而在—20巴中，累积至2.8mg/g·dry wt·增加约28倍。但品种之间累积能力不同。由此说明切离叶片在渗透溶液中，叶片也发生脯氨酸累积现象，但此种累积能力比完整植株的要低。

九、大豆脯氨酸累积和品种抗旱性

作者根据大豆抗旱生态类型分布和抗旱形态特征以及大豆生产实践中认定的抗旱性不同的大豆品种，测定其脯氨酸累积能力。由表3可见，大豆品种抗旱性不同，其叶片脯氨酸累积能力有别。敏感型的品种其脯氨酸累积量较少，相对增长率较低。随着品种抗旱性的增强，其脯氨酸累积量也增多。如抗旱型的大豆品种呼80—1001和安丰1号

表 3 抗旱性不同大豆品种脯氨酸累积变化 (mg/g·d·wt)

品 种	抗旱类型	叶 原 有 脯 氨 酸 含 量	干旱处理后叶中 脯氨酸含量	增 长 率
绥农 4	敏 感 型	5.52	6.43	1.16
嫩丰 10	中 间 型	5.20	7.08	1.36
呼80—1001	抗 旱 型	2.88	6.67	2.32
安丰 1	抗 旱 型	2.72	6.83	2.55

大豆品种其脯氨酸相对增长率分别为2.32和2.55，敏感型的大豆品种绥农4增长率仅为1.16，而中间型的大豆品种嫩丰10脯氨酸相对增长率为1.36。可见，在水分胁迫条件下，游离脯氨酸累积能力与大豆品种的抗旱性具有密切关系。这种关系在许多植物上被证明。然而，从当前的报导来看，由于研究者所用的试验材料，对材料的测试部位、测试时间以及测试手段等有别，因而也出现与此相反的报导结果。

关于植物脯氨酸遗传的研究,近年来已有不少报导。在水稻上,此性状的遗传力较高,受环境影响不大,因此欲以脯氨酸含量的高低在早期世代选拔具有抗旱性植株尚易施行。

参 考 文 献

1. 朱德民, 李成章: 1979, 科学发展月刊, 7(2), 167—169
2. 朱德民: 1975, 农林学报, 24, 115—122
3. 顾静文: 1983, 陕西农业科学, 6, 29—30
4. 高吉寅: 1983, 国外农业科技, 7, 12—15
5. 汤章城: 1983, 植物生理学通讯, 4, 1—7
6. Barnett, N. W. & A. W. Naylor: 1966, Pl. Physiol., 40, 1222—1230
7. Boggess, S. F. et al.: 1976, Pl. Physiol., 58, 398
8. Chen, D., B. Kessler & Monselise: 1964, Pl. Physiol., 39, 379—386
9. Fututoku, Y., et al.: 1981, Plant & Cell Physiol., 22(8), 1397—1404
10. Hsiao, T. C.: 1977, Ann. Rev. Pl. Physiol., 24, 519—570
11. International Rice Research Institute Annual Report, 1973—75, IRRI, Los Banos, Philippines
12. Levitt, J.: 1972, Responses of Plants to Environmental Stresses, Academic Press, N. Y.
13. Levitt, J.: 1980, Responses of Plants to Environmental Stresses, 2nd Ed, Vol. II, Academic Press, New York—London—Toronto—Sydney—San Francisco, P. 58, 141
14. Routley, D. G.: 1966, Crop Sci., 6:358—61
15. Singh, T. N., D. Aspinall & L. G. Paley: 1972, Nat. New Biol., 236, 188—190
16. Singh, T. N., et al.: 1973, Aust. J. Biol. Sci., 26, 451—456
17. Sindh, T. N., D. Aspinall, et al.: Stress Metabolism I, Aust. J. Biol. Sci., 1973, 26, 65—76; Part iv, Aust. J. Biol. Sci., 1973, 20, 77—86
18. Stewart, C. R.: 1972, Pl. Physiol., 51, 508—511
19. Stewart, C. R., J. Morris & J. F. Rhompson: 1966, Pl. Physiol., 41, 1585—1590
20. Stewart, C. R. & S. F. Boggess: 1978, Pl. Physiol., 61, 654
21. Todd, G. W.: 1972, In T. T. Kozlowski Ed, Water Deficits and Plant Growth, Vol. 3, Acad. Press, New York—San Francisco—London, P. 177