

## 水分胁迫、盐胁迫和热激 对林生山黧豆体内游离氨基酸含量的影响\*

沈黎明 王 舰

(中国农业大学生物学院, 北京 100094)

**摘要:** 用氨基酸自动分析仪测定经 PEG、NaCl 和高温处理后林生山黧豆幼苗中游离氨基酸的组成和含量。结果表明不同处理,特别是水分胁迫,使林生山黧豆幼苗中以 DABA 和 HSE 为代表的游离氨基酸的含量显著增加。本文讨论了不同胁迫条件对植物游离氨基酸组成的影响,以及林生山黧豆幼苗游离氨基酸组成对逆境反应的特点。研究证明,以 DABA 为主的天门冬族氨基酸是不同发育阶段和不同胁迫条件下林生山黧豆体内游离氨基酸的主体。

**关键词:** 林生山黧豆; 胁迫; 游离氨基酸; 2,4-二氨基丁酸

**中图分类号:** Q945.17

植物对逆境条件(如水分胁迫、温度胁迫和盐胁迫等)的适应和抵抗表现在形态结构、生化代谢和基因调控等多个层次和水平。其中游离小分子物质(如糖醇、多胺和氨基酸类物质)在渗透调节、结构保护和代谢调控方面的作用和意义受到越来越多的重视<sup>[1]</sup>。不同植物或同一物种的不同品种体内,胁迫诱导的氨基酸变化相差很大,并和植物的抗逆能力有一定程度的相关<sup>[2,3]</sup>。目前认为,胁迫条件下产生的游离氨基酸可能起着维持细胞水势、消除物质毒害和储存氮素的功能<sup>[5]</sup>。深入研究不同胁迫条件下游离氨基酸的形成分布规律及其在植物抗逆反应中的意义,对比较分析各种逆境因子下信号传递,了解植物抗逆机理有积极作用。

林生山黧豆(*Lathyrus sylvestris* L.)是一种多年生豆科植物。经过我们的多年研究,发现这种植物突出的抗旱和适应瘠薄条件的能力是和体内大量的非蛋白质氨基酸(如 2,4-二氨基丁酸,DABA)的含量相关联<sup>[5]</sup>。随着水分胁迫时间的延长和强度的增加,DABA 酸的含量显著上升<sup>[3,6]</sup>。本文通过不同胁迫条件下林生山黧豆体内游离氨基酸的变化,分析不同逆境因子对林生山黧豆游离氨基酸组成和含量影响的共同性和特殊性,以为游离氨基酸逆境反应理论提供新的内容。

### 1 材料与方 法

**1.1 幼苗培养** 吸胀后的林生山黧豆(*Lathyrus sylvestris* L.)种子在 20℃ 黑暗条件下发芽。发芽后将幼苗移植于 20 cm 的花盆中(4 株/盆),20℃ 和 400  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (PPFD) 条件下生长两周。取长度为 15 cm 的幼苗进行胁迫处理。

**1.2 胁迫处理** 林生山黧豆在表 1 条件下进行胁迫处理。

收稿日期: 1995-05-17

\* 国家自然科学基金资助项目

### 1.3 游离氨基酸提取

取 200 mg 植物组织, 加 30 mL 80% (V/V) 乙醇研磨成匀浆, 转移至蒸发皿中, 80℃ 水浴提取。乙醇蒸干后, 再加入等量乙醇, 反复抽提 3 次。用 3 mL 0.02 mol·L<sup>-1</sup> HCl 溶解残余物, 转入离心管中, 15 000 r·min<sup>-1</sup> 离心

15 min。取 2 mL 上清液, 转入蒸发皿中, 80℃ 水浴蒸干。加入 400 μL 4% (W/V) 磺基水杨酸和 400 μL 0.02 mol·L<sup>-1</sup> HCl 充分溶解后, 15 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 取 600 μL 上清液用蒸馏水稀释 3 倍后保存作为游离氨基酸提取液。

1.4 游离氨基酸分析 取 100 μL 游离氨基酸提取液, 用氨基酸自动分析仪(日立 835-50)分析游离氨基酸的组成和浓度。

## 2 结果与讨论

林生山黧豆在水分、盐分和高温胁迫下, 均不同程度地失去组织水分。与对照相比, PEG、NaCl 和 HS 处理后林生山黧豆幼苗的组织含水量分别降低了 1.9%, 0.92% 和 0.22%。结果说明, 不同胁迫条件均对植物造成脱水胁迫。

不同胁迫条件对林生山黧豆体内主要游离氨基酸(含量在干重的 0.5% 以上)和次要游离氨基酸(含量在干重的 0.5% 以下)影响的结果分别见图 1 和图 2。

表 1 林生山黧豆胁迫处理条件

Table 1 Stress conditions for *Lathyrus sylvestris* L.

胁迫因子 Stress factor	溶液及浓度 Solution & concentration	T/℃	t/h
对照 (CK) Control	蒸馏水 Water	20	56
水分 (PEG) Water	PEG 8000, 20% (W/V)	20	56
盐分 (NaCl) Salt	NaCl, 200 mmol·L <sup>-1</sup>	20	56
热激 (HS) Heat	蒸馏水 Water	40	8

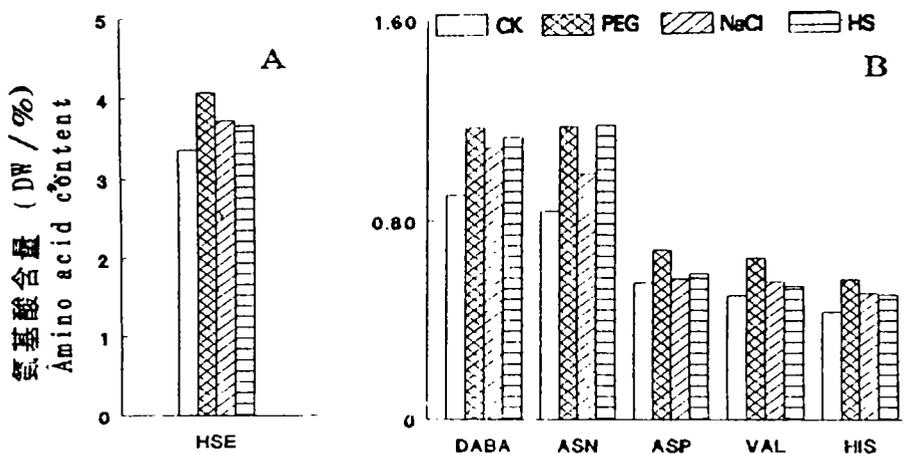


图 1 不同胁迫条件对林生山黧豆体内 HSE (A) 和其他主要游离氨基酸 (B) 含量的影响

Fig. 1 HSE (A) and other major free amino acid (B) contents in *Lathyrus sylvestris* L. as influenced by different stress conditions

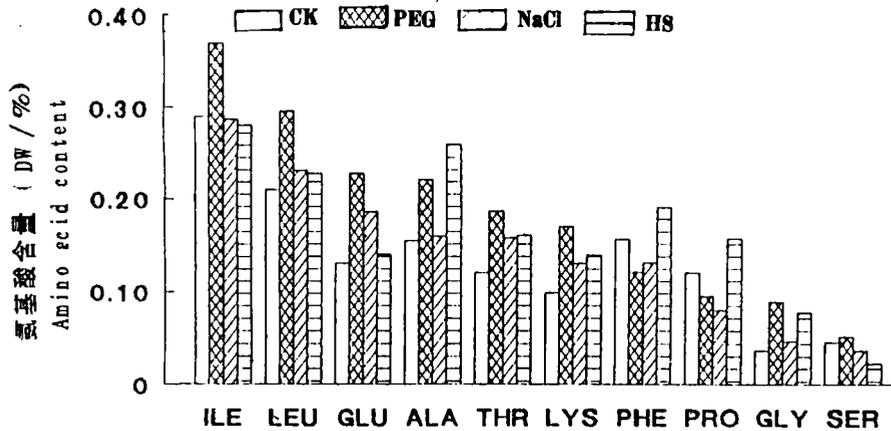


图2 不同胁迫条件对林生山魈豆体内次要游离氨基酸含量的影响

Fig. 2 Minor free amino acid contents in *Lathyrus sylvestris* L. as influenced by different stress conditions

林生山魈豆幼苗体内游离氨基酸的总量在水分、盐分 and 高温胁迫下都明显增加,其中以 PEG 造成的水分胁迫对游离氨基酸的影响最为显著。与对照相比,PEG,NaCl 和 40℃ 高温处理分别使游离氨基酸的含量上升了 27.5%,11.6% 和 16.6%。

PEG 处理对林生山魈豆游离氨基酸含量影响的特点,主要在于林生山魈豆体内的非蛋白质氨基酸,包括特征游离氨基酸(DABA)和幼苗中的主要游离氨基酸(高丝氨酸,HSE)的含量增加幅度较大,两种非蛋白质氨基酸的增加构成游离氨基酸增加总量的 40%。与这些非蛋白质氨基酸代谢密切相连的天门冬族氨基酸的含量上升幅度也较大,如 ASN,LYS,ILE 和 THR 分别比对照增加了 39.8%、72%、27.2% 和 55%。游离的丙氨酸族氨基酸(如 SER, GLY,LEU 和 VAL)和 GLU 等 5 种氨基酸在林生山魈豆体内含量较低,在 PEG 处理下含量也明显增加。同其他胁迫条件相比,高温胁迫也使林生山魈豆体内的非蛋白质氨基酸和游离蛋白质氨基酸增加,但其影响的特殊性在于对一些蛋白质氨基酸影响较大,如 ALA, PHE,PRO 和 ASN 的含量以高温处理的上升最为明显。NaCl 处理对林生山魈豆游离氨基酸的含量和组成的影响表现出与 PEG 处理同样的趋势,但影响程度较小。比较不同胁迫条件对林生山魈豆游离氨基酸的影响发现,其共同性在于各种条件都提高了游离氨基酸总量及非蛋白质氨基酸的含量,这个结果与以前在植株水平干旱和养分亏缺胁迫研究的结果一致<sup>[3,5]</sup>。各种不同胁迫条件引起反应的共同基础在于它们均在细胞水平引起水分亏缺,而增加的非蛋白质氨基酸和游离蛋白质氨基酸可能在渗透调节、维持细胞水势及细胞结构方面有重要作用。高温处理对蛋白质氨基酸的影响可能反映了高温下蛋白质分解加速,在分子和细胞水平造成伤害。结果也在一定程度上说明,林生山魈豆作为一种野生耐荫植物<sup>[7]</sup>,对高温胁迫的抵抗能力较弱。本项研究的结果中,盐分胁迫影响的特殊性不明显,可能因为我们采用的胁迫条件仅仅为植物创造了低渗透势条件,并未在氨基酸代谢的水平上造成盐分的特殊影响。

同植株建成期干旱对林生山魈豆体内游离氨基酸含量和组成影响的研究结果相比,幼

苗体内的游离氨基酸组成(主要成分为HSE和DABA)有明显的不同。成株体内的主要游离氨基酸为DABA、GABA( $\gamma$ -氨基丁酸)、HSE和ASN。在干旱条件下以叶片中的DABA和HSE、茎秆中的DABA和GABA以及根部的DABA、GABA和ASN增加最为显著<sup>[5]</sup>。其主要原因可能在于林生山豆体内游离氨基酸代谢是受生长发育阶段控制的。DABA在林生山豆植株体内特别是种子内的含量很高,可达干重的4%以上<sup>[6]</sup>。发芽后DABA浓度降低,并通过HSE而转化为其他成分。所以,DABA和HSE构成了幼苗受逆境胁迫时游离氨基酸变化的主体。幼苗和成株研究结果的共同性表现在DABA是不同生长发育条件和胁迫条件下林生山豆游离氨基酸组成和变化的主要成分,这可能是和DABA在林生山豆体内生长发育和抗逆反应中的特殊作用相联系的。

PRO是一些植物在干旱胁迫下游离氨基酸增加的主要成分,可占氨基酸增加总量的40%<sup>[7]</sup>。可是我们发现除了在高温条件下PRO的含量增加了 $0.37 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}(\text{DW})$ 以外,林生山豆幼苗的游离PRO的含量并未受到胁迫条件的显著影响。林生山豆成株叶片中PRO的含量受到干旱胁迫后也仅升高 $2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}(\text{DW})$ <sup>[5]</sup>。我们的结果说明,胁迫条件下林生山豆体内具有重要意义的游离氨基酸不是PRO,而是以DABA为主的天门冬族游离氨基酸。

### 参 考 文 献

- 1 DiTomaso J M, et al. Membrane-mediated putrescine transport and its role in stress-induced phytotoxicity. *Plant Physiol*, 1989, 86: 338~340
- 2 Shen L, et al. Growth and 2,4-diaminobutyric acid composition of flatpea (*Lathyrus sylvestris* L.) as influenced by mineral and symbiotically fixed-nitrogen. *J Expt Bot*, 1990, 41: 521~527
- 3 Shen L, et al. Composition and distribution of free amino acids in flatpea (*Lathyrus sylvestris* L.) as influenced by water deficit and plant age. *J Expt Bot*, 1989, 40: 71~79
- 4 Shen L, et al. Influence of nitrate and ammonium on the growth and 2,4-diaminobutyric acid composition of flatpea (*Lathyrus sylvestris* L.). *Plant Cell Environ*, 1990, 13: 833~838
- 5 Shen L, et al. Influence of drought on the concentration and distribution of 2,4-diaminobutyric acid and other free amino acids in tissues of flatpea (*Lathyrus sylvestris* L.). *Environ Expt Bot*, 1990, 30: 497~504
- 6 沈黎明等. 林生山豆——种新型林牧草, 北京农业大学学报, 1992, 18(1): 9~14
- 7 Barnett N M, Naylor A W. Amino acid and protein metabolism in Bermuda grass during water stress. *Plant Physiol*, 1966, 41: 1222~1230

## Influences of Water Stress, Salt Stress and Heat Shock on Amino Acids Contents of *Lathyrus sylvestris* L.

Shen Liming Wang Jian

(College of Biological Sciences, CAU, Beijing 100094)

**Abstracts:** Seedlings of *Lathyrus sylvestris* L. were treated with PEG, NaCl and high temperature. Free amino acids were extracted and analysed with Amino Acid Analyzer. Contents of free amino acids, the majority of which were DABA and HSE, in the seedlings were significantly increased under stress conditions. Influences of different stress conditions on the composition of free amino acids and the specific characteristics of seedling responses were discussed. Results showed that the majority of variations in free amino acid in *Lathyrus sylvestris* L. of different development stages and under different stress conditions was ASP-family amino acids, represented by DABA.

**Key words:** *Lathyrus sylvestris* L; stress; free amino acids; 2,4-diaminobutyric acid (DABA)

www.cnki.net