

外源 γ -氨基丁酸调控甜瓜叶绿体活性氧代谢应对短期盐碱胁迫*

向丽霞^{1,2,3} 胡立盼^{1,2,3} 胡晓辉^{1,2,3**} 潘雄波^{1,2,3} 任文奇^{1,2,3}

(¹西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100; ²农业部西北设施园艺工程重点实验室, 陕西杨凌, 712100; ³陕西省设施农业工程中心, 陕西杨凌 712100)

摘要 以甜瓜品种‘金辉1号’为试材,采用深液流水培法,研究外源 γ -氨基丁酸(GABA)对短期盐碱胁迫下甜瓜幼苗叶绿体活性氧代谢的调控作用.结果表明:盐碱胁迫显著提高了甜瓜叶绿体内光合色素、丙二醛(MDA)和过氧化氢(H_2O_2)含量及超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)产生速率;增加抗坏血酸(AsA)和谷胱甘肽(GSH)等抗氧化物质含量;明显抑制 H^+ -ATP 酶(H^+ -ATPase)和 H^+ -焦磷酸酶(H^+ -PPiase)活性.外源叶面喷施 GABA 有效抑制了盐碱胁迫引起的叶绿体内 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 和 MDA 的积累,缓解了光合色素增加的趋势;显著提高 SOD 和 AsA-GSH 循环各个酶的活性,增加了 AsA 和 GSH 库,降低了 AsA/DHA 和 GSH/GSSH 比值,增强了 H^+ -ATPase 和 H^+ -PPiase 活性.表明外源 GABA 能加快叶绿体内活性氧代谢,促进 AsA-GSH 循环的运转,维持细胞膜的渗透性,进而缓解了盐碱胁迫引起的氧化伤害.

关键词 GABA; 甜瓜; 叶绿体; 抗氧化; AsA-GSH 循环

文章编号 1001-9332(2015)12-3746-07 中图分类号 S627 文献标识码 A

Response of reactive oxygen metabolism in melon chloroplasts to short-term salinity-alkalinity stress regulated by exogenous γ -aminobutyric acid. XIANG Li-xia^{1,2,3}, HU Li-pan^{1,2,3}, HU Xiao-hui^{1,2,3}, PAN Xiong-bo^{1,2,3}, REN Wen-qi^{1,2,3} (¹College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China; ²Key Laboratory of Protected Horticultural Engineering in Northwest, Ministry of Agriculture, Yangling 712100, Shaanxi, China; ³Shaanxi Province Facility Agriculture Engineering Center, Yangling 712100, Shaanxi, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2015, 26(12): 3746–3752.

Abstract: The regulatory effect of exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) on metabolism of reactive oxygen species (ROS) in melon chloroplasts under short-term salinity-alkalinity stress were investigated in melon variety ‘Jinhui No.1’, which was cultured with deep flow hydroponics. The result showed that under salinity-alkalinity stress, the photosynthetic pigment content, MDA content, superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) production rate and hydrogen peroxide (H_2O_2) content in chloroplast increased significantly, the contents of antioxidants ascorbic acid (AsA) and glutathione (GSH) increased, and the activities of H^+ -ATPase and H^+ -PPiase were inhibited obviously. With exogenous GABA application, the accumulations of $O_2^{\cdot-}$, MDA and H_2O_2 induced by salinity-alkalinity stress were inhibited. Exogenous GABA alleviated the increase of photosynthetic pigment content, improved the activity of SOD, enzymes of AsA-GSH cycle, total AsA and total GSH while decreased the AsA/DHA ratio and GSH/GSSH ratio. Foliar GABA could enhance the H^+ -ATPase and H^+ -PPiase activities. Our results suggested that the exogenous GABA could accelerate the ROS metabolism in chloroplast, promote the recycle of AsA-GSH, and maintain the permeability of cell membrane to improve the ability of melon chloroplast against salinity-alkalinity stress.

Key words: GABA; melon; chloroplast; antioxidant; AsA-GSH recycle.

* 国家“十二五”科技支撑计划项目(2014BAD14B06)、陕西省科技攻关项目(2015NY102)和杨凌示范区科技计划项目(2014NY-17)资助.

** 通讯作者. E-mail: hxx1977@163.com

2015-04-14 收稿, 2015-09-17 接受.

甜瓜是我国设施栽培的主要瓜果类蔬菜作物, 营养价值高, 经济效益好^[1]. 西北部地区是我国甜瓜主要产地, 但由于气候干旱, 水分蒸发强烈, 土壤 pH 值上升, 盐渍化程度加剧, 破坏植物养分平衡^[2], 制约了甜瓜产业的可持续发展.

光合作用是植物生长发育的基础, 叶绿体则是植物进行光合作用的主要场所, 光反应及大部分与光合作用有关的蛋白质和蛋白复合物均位于叶绿体类囊体膜及类囊体腔中, 叶绿体是感受盐胁迫最敏感的细胞器^[3]. 盐胁迫下植物光合作用降低, 光合电子传递链中氧气的不完全还原或水的不完全氧化时产生大量的活性氧(ROS)^[4], 破坏活性氧产生与清除的平衡, 导致膜通透性增加, 部分酶功能降低, 引起植物氧化损伤, 影响植物正常生长^[5]. 植物体内抗氧化酶可以清除活性氧, 其中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)作为植物体内抗氧化酶系统的重要组成部分, 在清除自由基方面发挥着重要作用. 目前大多数对甜瓜盐胁迫抗氧化体系的研究主要集中在叶片 SOD、POD 和 CAT 上, 对光合器官叶绿体内抗氧化体系, 尤其是 AsA-GSH 循环各个环节的研究较少, 而叶绿体不含 CAT, H_2O_2 的清除主要依靠抗坏血酸-谷胱甘肽循环(AsA-GSH)^[6].

γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是以自由态广泛存在于植物体内的一种非蛋白质氨基酸, 联系着植物体碳代谢和氮代谢, 是调节植物生长发育的重要信号物质^[7]. 研究表明, GABA 能稳定细胞内 pH 值^[8], 作为三羧酸循环支路^[9]为三羧酸循环提供 NADPH 和琥珀酸等底物, 参与植物抵御逆境胁迫反应, 提高植物的耐性^[10-11]. 本课题组研究发现, 外源喷施 GABA 可以提高甜瓜幼苗耐盐性, 但其作用机理尚不清楚. 因此, 本试验以甜瓜幼苗为试材, 通过叶面喷施 GABA, 研究外源 GABA 对盐碱胁迫下叶绿体活性氧代谢的影响, 以期阐明外源 GABA 增强甜瓜幼苗盐碱胁迫耐性的抗氧化机制, 为外源物质参与调控盐碱胁迫提供一定的科学依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料 with 处理

以‘金辉 1 号’甜瓜品种为试材, 其种子经消毒、浸种处理后, 播种于 72 孔塑料穴盘中. 当幼苗长至 2 叶 1 心时, 选取长势一致的健壮幼苗定植于装有 1/2 剂量的山崎甜瓜专用营养液的水培箱(50 cm×

35 cm×15 cm)中, 用气泵正常通气(40 min·h⁻¹). 幼苗长至 4 叶 1 心时开始 50 mmol·L⁻¹ 的混合盐碱(NaCl:Na₂SO₄:NaHCO₃:Na₂CO₃=1:9:9:1, 摩尔体积比)胁迫处理. 为了避免盐激效应, 胁迫浓度先为 25 mmol·L⁻¹, 1 d 后达到终浓度 50 mmol·L⁻¹ 记为正式开始试验处理. 试验设 4 个处理: 1) 正常营养液栽培, CK; 2) 正常营养液+50 mmol·L⁻¹ GABA, CG; 3) 50 mmol·L⁻¹ 的盐碱胁迫处理, S; 4) 50 mmol·L⁻¹ 的盐碱胁迫处理+50 mmol·L⁻¹ GABA, SG. 每天 9:00 分别向 CG、SG、CK 和 S 处理组喷施等量的 50 mmol·L⁻¹ GABA 和蒸馏水. 每个处理 12 株, 4 次重复. 处理 3 d 后取第 2、3 叶测定各项指标.

1.2 叶绿体的提取

叶绿体的提取参照 Shu 等^[12]的方法并稍加修改. 称取 10 g 甜瓜叶片, 加 25 mL pH 为 6.5 的提取液(内含 330 mmol·L⁻¹ 山梨醇, 30 mmol·L⁻¹ Mes, 0.1% 牛血清蛋白, 2 mmol·L⁻¹ 抗坏血酸, 现用现加), 快速研磨至叶片碎成绿豆粒大小. 4 层纱布过滤, 滤液 800×g 离心 3 min, 上清液 3000×g 离心 5 min, 沉淀用 3 mL 悬浮液(内含 330 mmol·L⁻¹ 山梨醇, 30 mmol·L⁻¹ Hepes, 0.2% 牛血清蛋白, 用 Tris 调 pH 至 7.6)悬浮. 将 2 mL 含有 80% Percoll 铺在 10 mL 离心管下层, 再把 2 mL 20% Percoll 置于中间层, 然后将 3 mL 叶绿体悬浮液轻轻铺于离心管上层, 3000×g 离心 3 min, 取出离心管可以看到 3 层绿色带. 其中 40%~80% Percoll 层为完整叶绿体. 叶绿体悬浮液中加入 1.5 mL 预冷的 25 mmol·L⁻¹ Hepes 缓冲溶液(内含 0.2 mmol·L⁻¹ EDTA 和 2% (w/v) PVP, pH 7.8). 4℃ 条件下, 12000×g 离心 10 min, 上清液用于叶绿体内抗氧化酶及物质含量的测定.

1.3 测定方法

叶绿素及类胡萝卜素含量、 O_2^- 产生速率和丙二醛(MDA)含量均参照张志良和翟伟箴^[13]的方法测定, H_2O_2 含量按照 Gong 等^[14]的方法测定.

超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 NBT 光化还原法测定^[13], 以抑制 NBT 光化还原的 50% 为一个酶活力单位(U). 连续记录 25℃ 下 290 nm 吸光值变化测定抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性; 以 NADPH 启动反应, 连续记录 25℃ 下 340 nm 吸光值变化测定谷胱甘肽还原酶(GR)活性; 连续记录 25℃ 下 340 nm 吸光值变化测定单脱氢抗坏血酸还原酶(MDHAR)活性; 连续记录 25℃ 下 265 nm 吸光值变化测定脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)活性, 以上指标均参照 Ma 和 Cheng^[15]的方法. H^+ -ATPase 活

性和 H⁺-PPiase 活性按照 Liu^[16] 的方法测定;蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定^[17].

抗坏血酸 (AsA) 和脱氢抗坏血酸 (DHA) 含量采用 Fe³⁺ 还原法测定^[18];氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 和还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量参照 Griffith^[19] 的方法测定.

1.4 数据处理

用统计分析软件 SAS 8.1 进行试验数据处理和分析.采用单因素方差 (One-way ANOVA) 分析及 Duncan 多重比较进行差异显著性分析 ($\alpha=0.05$).

2 结果与分析

2.1 GABA 对甜瓜幼苗叶绿体光合色素含量的影响

由表 1 可以看出,与 CK 相比,在正常栽培条件下叶面喷施外源 GABA 对 Chl a、Car、Chl (a+b) 和 Car/Chl (a+b) 影响不显著,但显著提高了 Chl b 的含量,说明外源 GABA 主要影响了 Chl b 的合成.盐碱胁迫处理增加了甜瓜幼苗 Chl a、Chl b、Chl (a+b) 和 Car 含量,且均显著高于其他处理.与单纯盐碱胁迫相比,盐碱胁迫下叶面喷施 GABA 显著降低了甜瓜幼苗 Chl a、Chl b、Chl (a+b) 和 Car 含量.盐碱胁迫下,Car/Chl 比值显著降低,表明盐胁迫对叶绿素含量的影响大于对 Car 的影响,外源喷施 GABA 后缓解了其降低的趋势,但未达到正常水平.

2.2 GABA 对甜瓜幼苗叶绿体 MDA、H₂O₂ 含量和 O₂⁻ 产生速率的影响

如图 1 所示,盐碱胁迫显著提升了甜瓜叶绿体内 MDA 和 H₂O₂ 含量及 O₂⁻ 产生速率,而外源喷施 GABA 后缓解了由活性氧引起的膜伤害,降低了 3 种物质的积累量,且影响显著.正常条件下喷施 GABA 也显著提高了叶绿体内 MDA 和 H₂O₂ 含量.表明外源 GABA 对胁迫引起的伤害有缓解作用.

2.3 GABA 对甜瓜幼苗叶绿体抗氧化酶活性的影响

如图 2 所示,盐碱胁迫抑制了 SOD、MDHAR 和

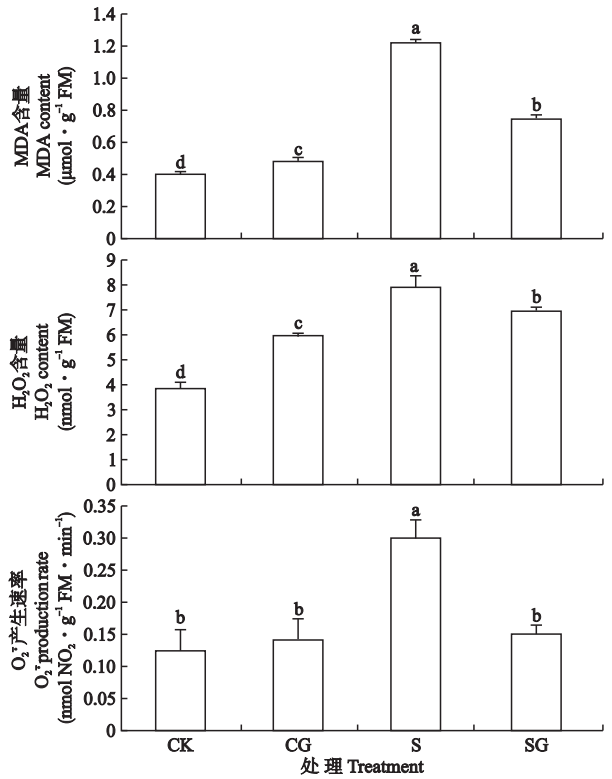


图 1 GABA 对甜瓜幼苗叶绿体 MDA、H₂O₂ 含量和 O₂⁻ 产生速率的影响
Fig.1 Effects of GABA on MDA content, H₂O₂ content and O₂⁻ production rate in melon chloroplasts (mean±SE).

CK: 正常营养液 Common solution; CG: 正常营养液+50 mmol · L⁻¹ GABA Common solution with 50 mmol · L⁻¹ GABA; S: 50 mmol · L⁻¹ 的盐碱胁迫 50 mmol · L⁻¹ salt-alkaline stress; SG: 50 mmol · L⁻¹ 的盐碱胁迫+50 mmol · L⁻¹ GABA 50 mmol · L⁻¹ salt-alkaline stress with 50 mmol · L⁻¹ GABA.不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$) Different letters meant significant difference among treatments at 0.05 level. 下同 The same below.

DHAR 活性,显著提高了 APX 和 GR 活性.外源 GABA 处理后,缓解了盐碱胁迫对上述 5 种酶活性的抑制作用,其中 MDHAR 和 DHAR 能达到对照水平,表明外源 GABA 对叶绿体内抗氧化酶活性影响显著.正常条件下,外源喷施 GABA 同样提高了 SOD、APX、GR、MDHAR 和 DHAR 的酶活性,其中 DHAR 与对照差异不显著.

表 1 GABA 对甜瓜幼苗叶绿体内光合色素含量的影响
Table 1 Effects of GABA on the photosynthetic pigment content in melon chloroplasts (mean±SE)

处理 Treatment	叶绿素 a Chl a (mg · g ⁻¹ FM)	叶绿素 b Chl b (mg · g ⁻¹ FM)	总叶绿素 Chl (a+b) (mg · g ⁻¹ FM)	类胡萝卜素 Car (mg · g ⁻¹ FM)	类胡萝卜素/ 总叶绿素 Car/Chl (a+b)
CK	15.39±0.51c	4.99±0.22d	20.38±0.73c	2.54±0.06c	0.125±0.0015a
CG	17.32±0.58c	6.31±0.34c	23.63±0.93c	2.88±0.07c	0.122±0.0028a
S	36.18±1.58a	12.93±0.53a	49.12±2.11a	5.26±0.23a	0.107±0.0002c
SG	26.72±1.45b	9.22±0.24b	35.94±1.69b	4.09±0.19b	0.114±0.0008b

CK: 正常营养液 Common solution; CG: 正常营养液+50 mmol · L⁻¹ GABA Common solution with 50 mmol · L⁻¹ GABA; S: 50 mmol · L⁻¹ 的盐碱胁迫 50 mmol · L⁻¹ salt-alkaline stress; SG: 50 mmol · L⁻¹ 的盐碱胁迫+50 mmol · L⁻¹ GABA 50 mmol · L⁻¹ salt-alkaline stress with 50 mmol · L⁻¹ GABA.同列不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$) Different letters in the same column meant significant difference among treatments at 0.05 level.

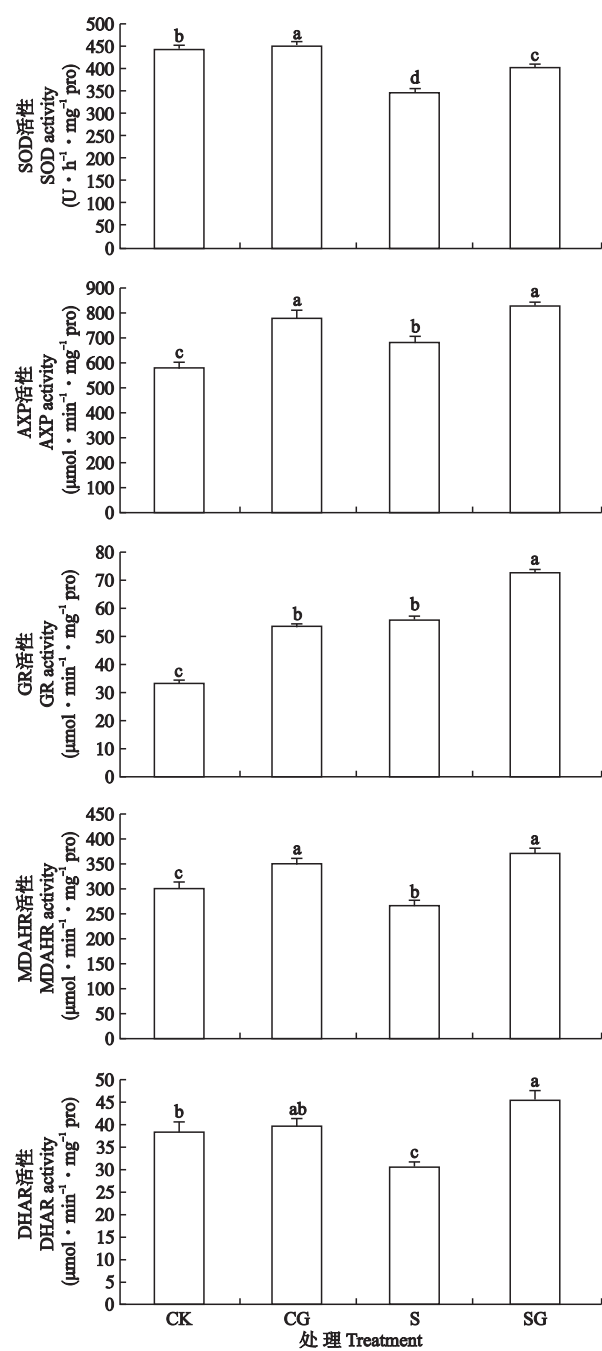


图2 GABA对甜瓜幼苗叶绿体SOD、APX、GR、MDHAR和DHAR活性的影响
Fig.2 Effects of GABA on activities of SOD, APX, GR, MDHAR and DHAR in melon chloroplast (mean±SE).

2.4 GABA对甜瓜幼苗叶绿体AsA、DHA、AsA+DHA含量及DHA/AsA比值的影响

如图3所示,正常条件下喷施GABA均提高了甜瓜叶绿体内AsA、DHA及AsA+DHA的含量,而对AsA/DHA比值无显著影响.盐碱胁迫下,叶绿体内AsA和AsA+DHA的含量分别是CK的1.5和1.16倍,AsA/DHA比值显著上升.盐碱胁迫下喷施外源GABA后,叶绿体内AsA含量和AsA/DHA比值降

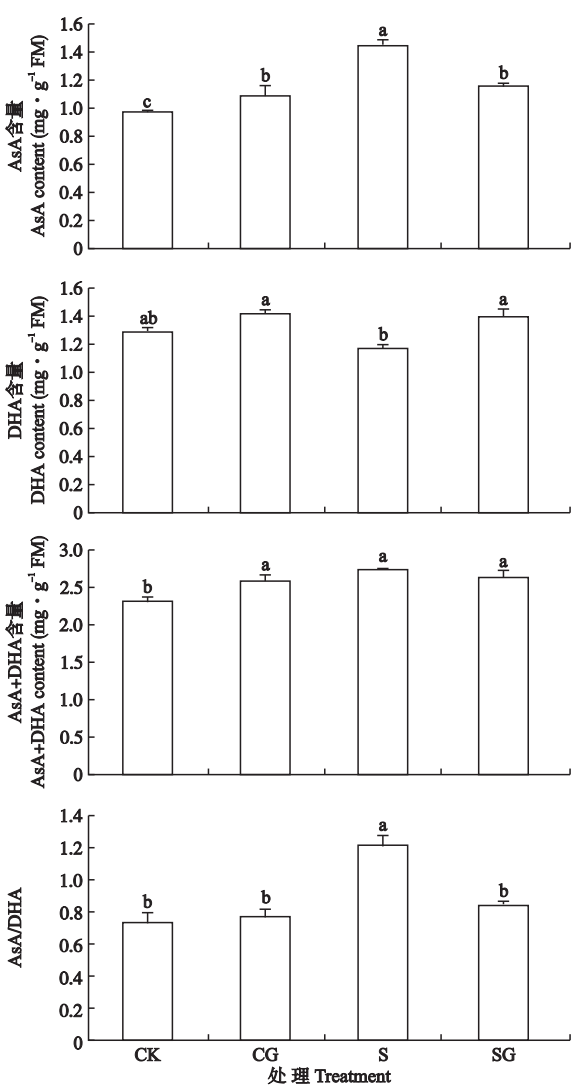


图3 GABA对甜瓜幼苗叶绿体AsA、DHA、AsA+DHA含量及DHA/AsA比值的影响
Fig.3 Effects of GABA on contents of AsA, DHA and AsA+DHA and ratio of DHA/AsA in melon chloroplast (mean±SE).

低,AsA+DHA含量变化不明显,表明盐碱胁迫下叶绿体内抗坏血酸的运转受到了外源GABA的调控.

2.5 GABA对甜瓜幼苗叶绿体GSH、GSSG、GSH+GSSG含量及GSH/GSSG比值的影响

如图4所示,正常条件下喷施GABA显著提高了甜瓜幼苗叶绿体GSH、GSSG、GSH+GSSG含量及GSH/GSSG比值.盐碱胁迫进一步提高了GSH、GSH+GSSG含量和GSH/GSSG比值.盐碱胁迫下喷施外源GABA后,显著增加了GSH+GSSG的含量,降低了GSH/GSSG比值,与单纯盐碱胁迫处理相比差异显著.因此,外源GABA和盐碱胁迫均能促进叶绿体内GSH库的提升,为循环代谢提供充足的底物.

2.6 GABA对甜瓜幼苗叶绿体H⁺-ATPase和H⁺-PPIase活性的影响

如图5所示,盐碱胁迫显著抑制了H⁺-ATPase

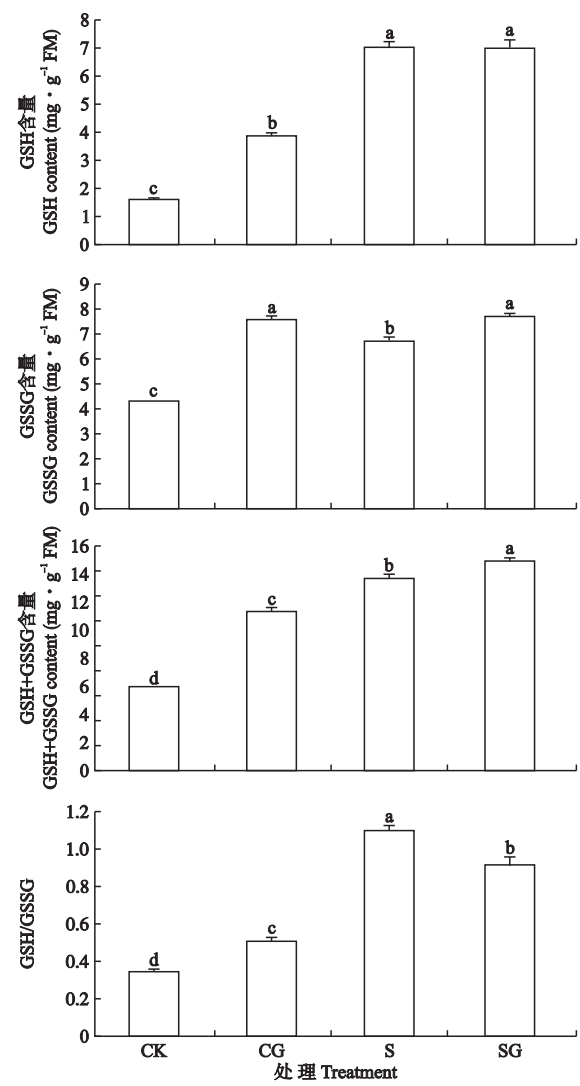


图4 GABA对甜瓜幼苗叶绿体GSH、GSSG、GSH+GSSG及GSH/GSSG比值的影响

Fig.4 Effects of GABA on contents of GSH, GSSG, GSH+GSSG and ratio of GSH/GSSG in melon chloroplast (mean±SE).

和H⁺-PPiase活性,外源喷施GABA后,H⁺-ATPase和H⁺-PPiase活性显著增强.与CK相比,正常条件喷施GABA对叶绿体内H⁺-ATPase和H⁺-PPiase活性无显著影响.表明盐碱胁迫下外源GABA加快了细胞内H⁺转运,缓解了盐碱胁迫的抑制作用,维持了细胞活性.

3 讨 论

叶绿素是绿色植物进行光合作用的主要色素,能够吸收和传递光能,参与光化学反应过程,叶绿素含量直接影响光合作用的进程.本试验结果表明,盐碱胁迫下Chl a、Chl b、Chl (a+b)以及Car含量均显著高于对照,而盐碱胁迫下喷施外源GABA后叶绿

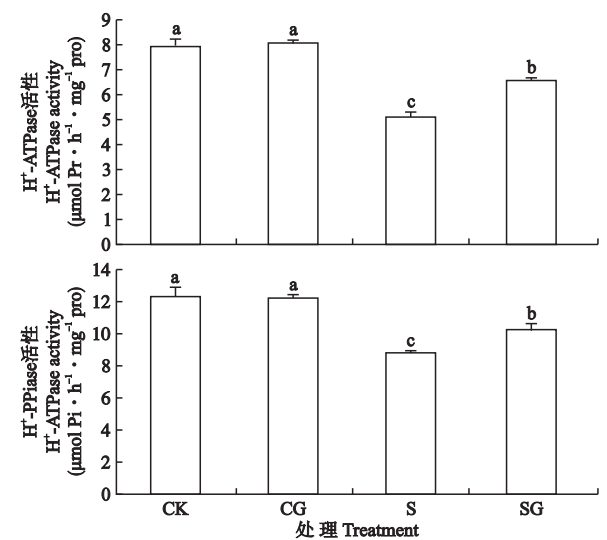


图5 GABA对甜瓜幼苗叶绿体H⁺-ATPase和H⁺-PPiase活性的影响

Fig.5 Effects of GABA on activities of H⁺-ATPase and H⁺-PPiase in melon chloroplast (mean±SE).

素含量显著降低(表1),这与王素平等^[20]在黄瓜上的研究结果一致,可能的原因是短期盐碱胁迫下植株叶片含水量过低,生长缓慢,产生相对的“浓缩”效应.此外,Car在光合作用中除具有辅助吸收光能的作用外,又是内源抗氧化剂,在细胞内可吸收剩余光能、淬灭活性氧,防止膜脂过氧化^[21],Car/Chl值的高低与植物忍受逆境的能力有关^[22].本试验中,外源喷施GABA可能通过提高盐胁迫下叶绿体内Car/Chl的比值,促进过剩激发能的耗散,参与失活的PSII修复,降低了电子逸出,进而缓解盐碱胁迫.

盐胁迫引起植物在细胞水平上产生氧化胁迫,导致活性氧过量积累.活性氧能同许多细胞组分发生反应,引起色素脱色、酶失活、蛋脂质过氧化^[8]以及PSII外周蛋白部分或完全脱落^[23]等,严重影响作物光合作用.本试验结果表明,盐碱胁迫下叶绿体内活性氧过量积累,O₂⁻产生速率加快,H₂O₂含量上升,膜脂过氧化程度加剧.外源喷施GABA降低了MDA含量、O₂⁻产生速率和H₂O₂含量,缓解ROS引起的氧化胁迫,进而能够保护叶绿体膜结构.

SOD作为植物抗氧化系统的一道防线,广泛存在于植物的各个细胞器中.它能催化活性氧的中间产物O₂⁻歧化反应生成H₂O₂和O₂,然后由其他反应清除H₂O₂^[24].本试验中,盐碱胁迫抑制了甜瓜叶绿体内SOD酶的活性,外源喷施GABA后SOD酶活性的抑制作用得到缓解,降低了叶绿体内O₂⁻产生速率和MDA含量.

叶绿体大量积累的H₂O₂可以通过Haber-Weiss

反应与 O_2^- 生成活性更强的 $\cdot OH$, 导致更严重的氧化伤害, 而叶绿体内不含 CAT, H_2O_2 的清除主要依靠抗坏血酸-谷胱甘肽 (AsA-GSH) 循环系统^[25]. 在 AsA-GSH 循环中, APX 利用 AsA 将 H_2O_2 还原成 H_2O , 同时形成 MDHA. MDHA 不稳定, 一部分被 MDHAR 还原为 AsA, 另一部分进一步氧化生成 DHA. DHA 以 GSH 为底物, 在 DHAR 的作用下生成 AsA. 此反应产生的 GSSG 又可在 GR 的催化下被还原成 GSH^[26]. 本试验中, 盐碱胁迫促进了 AsA 和 AsA 库 (AsA+DHA) 的增加, 这与程玉静等^[27] 在黄瓜上的研究结果一致. 抗氧化物质的氧化型/还原型比率, 可以用作 ROS 清除机制调控的信号^[28]. 盐碱胁迫下叶绿体内 AsA 含量大幅增加, 并维持较高的 AsA/DHA 比值, 为 AsA-GSH 循环提供充足的底物, 而盐碱胁迫下喷施外源 GABA 后 AsA 含量降低, AsA/DHA 比值下降, 但 APX、MDAHR、DHAR 和 GR 活性明显上升. 可见, GABA 不仅促进了叶绿体内 AsA-GSH 循环的运转, 还促使 AsA 与单线态氧、 O_2^- 、 H_2O_2 和羟自由基等活性氧直接反应, 缓解氧化伤害^[29]. GR 是 AsA-GSH 循环中的关键酶, 直接影响 GSH 库的水平 and GSH/GSSG 的比值, 较高的 GSH 含量和 GSH/GSSG 比值在保持细胞氧化还原水平有重要的作用^[30-31]. 外源 GABA 和盐碱胁迫均显著增加了叶绿体内 GSH 和 GSH 库 (GSH+GSSG) 的量, 盐碱胁迫下 GSH/GSSG、GSH 库和 GSH/GSSG 比值、GR 活性均显著高于对照, 说明盐碱胁迫主要通过促进 GR 活性再生 GSH. 盐碱胁迫下外源喷施 GABA 后, GSH/GSSG 比值下降, GSSG 含量上升, 可能是由于 GR 和 DHAR 活性进一步增强, 促进了 AsA-GSH 循环加快.

H^+ -ATPase 水解氧化磷酸化形成跨膜质子驱动力, 产生 ATP, 向外分泌 H^+ , 维持细胞酸碱平衡, 是细胞与环境之间物质和信息传递的桥梁. H^+ -ATPase 通过调节自身水解活性、基因表达和蛋白含量等适应环境变化与逆境胁迫. H^+ -PPiase 以 PPi 为底物, 推动 H^+ 跨液泡膜运输、建立跨膜 pH 和电势梯度, 协同维持胞内 pH 和物质运输等过程. 本试验中, 盐碱胁迫显著降低了 H^+ -ATPase 和 H^+ -PPiase 活性, 质子驱动能力减弱, 细胞内环境失调, 这与陈沁等^[32] 的研究结果 H_2O_2 含量和 O_2^- 产生速率与 H^+ -ATPase 活性呈显著负相关一致. 外源 GABA 处理后, 显著缓解了盐碱胁迫下甜瓜叶绿体膜 H^+ -ATPase 和 H^+ -PPiase 活性的降低, 可能是 GABA 通过谷氨酸 (GAD) 与 Ca^{2+} 信号途径相联系, 调节细胞内

Ca^{2+} 浓度及与 Ca^{2+} 信号相关的胁迫应答反应^[33], 把膜表面的磷酸盐和磷酸脂以及蛋白质的羟基桥连起来, 维持膜蛋白 H^+ -ATPase 和 H^+ -PPiase 结构和功能的稳定性^[27].

综上所述, 短期盐碱胁迫下外源喷施 GABA 为三羧酸循环 (TCA) 循环供应 NADH 和琥珀酸等反应底物, 能够抑制活性氧的积累, 增强甜瓜幼苗叶绿体抗氧化酶的活性, 增加抗氧化物含量, 加快 AsA-GSH 的运转, 提高了 H^+ -ATPase 和 H^+ -PPiase 的活性, 稳定叶绿体内环境, 缓解盐碱胁迫引起的叶绿体过氧化伤害.

参考文献

- [1] Xia Q-P (夏庆平), Gao H-B (高洪波), Li J-R (李敬蕊), *et al.* Effects of γ -aminobutyric acid on the photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of muskmelon seedlings under hypoxia stress. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2011, **22** (4): 999-1006 (in Chinese)
- [2] Hu XH, Zhang Y, Shi Y, *et al.* Effect of exogenous spermidine on polyamine content and metabolism in tomato exposed to salinity-alkalinity mixed stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, **57**: 200-209
- [3] Cheeseman JM. Mechanism of salinity tolerance in plants. *Plant Physiology*, 1988, **87**: 547-550
- [4] Kukavica B, Morina F, Janjić N, *et al.* Effects of mixed saline and alkaline stress on the morphology and anatomy of *Pisum sativum* L.: The role of peroxidase and ascorbate oxidase in growth regulation. *Archives of Biological Sciences*, 2013, **65**: 265-278
- [5] Yang JY, Zheng W, Tian Y, *et al.* Effects of various mixed salt-alkaline stresses on growth, photosynthesis, and photosynthetic pigment concentrations of *Medicago ruthenica* seedlings. *Photosynthetica*, 2011, **49**: 275-284
- [6] Xu Z-F (徐志防), Luo G-H (罗广华), Wang A-G (王爱国), *et al.* Photoinhibition of photosynthesis and the metabolism of active oxygen in photosynthetic organs. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), 1999, **35** (4): 325-332 (in Chinese)
- [7] Faës P, Niogret MF, Montes E, *et al.* Transcriptional profiling of genes encoding GABA-transaminases in *Brassica napus* reveals their regulation by water deficit. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, **116**: 20-31
- [8] Su GX, Jun YB, Zhang WH, *et al.* Higher accumulation of γ -aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2007, **45**: 560-566
- [9] Renault H, Roussel V, El AA, *et al.* The Arabidopsis pop2-1 mutant reveals the involvement of GABA transaminase in salt stress tolerance. *BMC Plant Biology*, 2010, **10**: 20

- [10] Zhao J-Z (赵九洲), Hu L-P (胡立盼), Xu Z-R (徐志然), *et al.* The screening of melon (*Cucumis melo* L.) seedling cultivars for salt-alkaline tolerance and concentration of γ -aminobutyric acid alleviating salt-alkaline stress. *Northern Horticulture* (北方园艺), 2014(9): 1-7 (in Chinese)
- [11] Claudia SG, Aaron F, Adriano NN, *et al.* Reduced expression of succinyl-coenzyme a ligase can be compensated for by up-regulation of the γ -aminobutyrate shunt in illuminated tomato leaves. *Plant Physiology*, 2007, **145**: 626-639
- [12] Shu S, Yuan LY, Guo SR, *et al.* Effects of exogenous spermine on chlorophyll fluorescence, antioxidant system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L. under salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, **63**: 209-216
- [13] Zhang Z-L (张志良), Zhai W-J (翟伟管). *Plant Physiology Experiment Instruction*. Beijing: Higher Education Press, 2008 (in Chinese)
- [14] Gong HZ, Zhu XY, Chen KM, *et al.* Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science*, 2005, **169**: 313-321
- [15] Ma FW, Cheng LL. Exposure of the shaded side of apple fruit to full sun leads to up-regulation of both xanthophyll cycle and the ascorbate-glutathione cycle. *Plant Science*, 2004, **166**: 1479-1486
- [16] Liu J, Yu BJ, Liu YL. Effects of spermidine and spermine levels on salt tolerance associated with tonoplast H^+ -ATPase and H^+ -PPase activities in barley roots. *Plant Growth Regulation*, 2006, **49**: 119-126
- [17] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, **72**: 248-254
- [18] Kampfenkel K, Montagu MV, Inzé D. Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. *Analytical Biochemistry*, 1995, **225**: 165-167
- [19] Griffith OW. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Analytical Biochemistry*, 1980, **106**: 207-212
- [20] Wang S-P (王素平), Guo S-R (郭世荣), Hu X-H (胡晓辉), *et al.* Effects of NaCl stress on the content of photosynthetic pigments in the leaves of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis* (江西农业大学学报), 2006, **28** (1): 32-38 (in Chinese)
- [21] Duan J-J (段九菊), Guo S-R (郭世荣), Kang Y-Y (康云艳), *et al.* Effects of exogenous spermidine on active oxygen scavenging system and bound polyamine contents in chloroplasts of cucumber under salt stress. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2009, **29**(2): 653-661 (in Chinese)
- [22] Sairam BK, Rao KV, Srivastava GC. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 2002, **163**: 1037-1046
- [23] Suzuki T, Tada O, Makimura M, *et al.* Isolation and characterization of oxygen-evolving photosystem II complexes retaining the PsbO, P and Q proteins from *Euglena gracilis*. *Plant and Cell Physiology*, 2004, **45**: 1168-1175
- [24] Jao J (焦娟), Wang X-F (王秀峰), Yang F-J (杨凤娟), *et al.* Effect of exogenous NO on the growth and antioxidant enzyme activities of cucumber seed under NO_3^- stress. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2009, **20**(12): 3009-3014 (in Chinese)
- [25] Cakmak I. Activity of ascorbate-dependent H_2O_2 scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium and potassium-deficient leaves, but not in phosphorus-deficient leaves. *Journal of Experimental Botany*, 1994, **45**: 1259-1266
- [26] Xu X-D (徐向东), Sun Y (孙艳), Guo X-Q (郭晓琴), *et al.* Effects of exogenous melatonin on ascorbate metabolism system in cucumber seedlings under high temperature stress. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2010, **21**(10): 2580-2586 (in Chinese)
- [27] Cheng Y-J (程玉静), Guo S-R (郭世荣), Li S-R (刘书仁), *et al.* Effects of exogenous Ca on leaf antioxidant system and membrane proton pump activity of cucumber seedlings under salt stress. *Chinese Journal of Ecology* (生态学报), 2010, **29**(5): 892-898 (in Chinese)
- [28] Mittler R, Feng XQ, Cohen M. Post-transcriptional suppression of cytosolic ascorbate peroxidase expression during pathogen-induced programmed cell death in tobacco. *The Plant Cell*, 1998, **10**: 461-473
- [29] Ma Y-H (马玉华). Effect of Environmental Stresses on Enzyme Activities and Gene Expression of Ascorbic and Metabolism in Apple. PhD Thesis. Yangling: Northwest A&F University, 2008 (in Chinese)
- [30] Wang C (王聪), Zhu Y-L (朱月林), Yang L-F (杨立飞), *et al.* Effects of NaCl stress on ascorbate glutathione cycle in vegetable soybean seeds. *Plant Nutrition and Fertilizer Science* (植物营养与肥料学报), 2010, **16**(5): 1209-1216 (in Chinese)
- [31] Li X-Y (李晓云), Wang X-F (王秀峰), Li L-F (吕乐福), *et al.* Effects of exogenous nitric oxide on ascorbate-glutathione cycle in tomato seedlings roots under copper stress. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2013, **24**(4): 1023-1030 (in Chinese)
- [32] Chen Q (陈沁), Liu L-Y (刘友良), Chen Y-H (陈亚华). Relationship between active oxygen damage and tonoplast H^+ -ATPase activity in leaves of barley seedling under salt stress. *Journal of Nanjing Agricultural University* (南京农业大学学报), 1998, **21**(3): 21-25 (in Chinese)
- [33] Gut H, Dominici P, Pilati S, *et al.* A common structural basis for pH- and calmodulin-mediated regulation in plant glutamate decarboxylase. *Journal of Molecular Biology*, 2009, **392**: 334-351

作者简介 向丽霞,女,1990年生,硕士研究生.主要从事设施植物生理生态研究. E-mail: wenxi107@outlook.com

责任编辑 肖红