

水分胁迫对不同品种甜高粱幼苗保护酶活性等生理特性的影响

吕金印¹, 郭涛²

(1. 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学理学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:以两个甜高粱品种为材料,研究不同浓度PEG-6000渗透溶液对甜高粱幼苗保护酶活性等生理特性的影响,比较不同品种间的抗旱性差异。结果表明:10%、20%PEG胁迫下两个品种甜高粱幼苗叶片相对含水量下降,质膜相对透性、丙二醛及脯氨酸含量增大,其中农家品种变幅较大;随着PEG胁迫浓度的增加,两个品种叶片还原型谷胱甘肽(GSH)含量降低,20%PEG胁迫下甜新2号GSH含量高于农家品种;两种PEG浓度处理下,甜新2号叶片抗氧化酶(APX、POD、SOD、CAT)活性高于农家品种。综合分析表明,相对于农家品种,甜新2号具有较强的抗旱性。

关键词:甜高粱;PEG胁迫;生理特性;保护酶

中图分类号:S514.01 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7601(2010)04-0089-05

干旱对农作物造成的损失在所有非生物胁迫中占首位,在世界范围内,干旱缺水对农业造成的损失相当于其他各种自然灾害造成的损失之和^[1]。高粱抗旱性相对高于玉米、小麦等其它禾本科作物,是干旱半干旱地区的理想栽培作物。甜高粱是高粱的一个变种,具有耐旱、耐涝、耐盐碱等多重抗性,被称为作物中的“骆驼”。甜高粱具有生长周期短,光合效率高、茎秆含糖量高等特点。同时,甜高粱也是生物学产量较高的C₄作物之一^[2],作为一种新兴的能源作物,甜高粱对干旱具有广泛的适应性^[3]。因此,研究甜高粱品种的抗旱性和鉴定抗旱品种是目前重要的研究课题。

目前,有关学者对甜高粱水分利用率和节水措施、氮素处理后甜高粱含糖量的差异,水分和辐照对甜高粱的影响进行了比较系统的研究分析^[4-6]。比较了甜高粱含糖量和产量的相互关系^[7],研究了盐胁迫、重金属胁迫对甜高粱幼苗生长的影响^[8,9];对抗旱性不同的高粱品种进行了干旱胁迫下抗氰呼吸的研究^[10];邵艳军等将高粱与玉米、糜子进行了抗旱性比较^[11]。目前有关不同品种甜高粱抗旱性差异的报道较少,本研究以不同品种甜高粱为材料,采用不同浓度PEG模拟水分胁迫处理,测定甜高粱幼苗叶片抗氧化酶活性等生理特性指标,比较不同品种间的抗旱性差异,为甜高粱抗旱栽培及抗旱品种的选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

选用2个甜高粱品种(*Sorghum bicolor* L.)“甜高粱新高粱2号”和“可皮西巴西”,种子由新疆农业科学院吐鲁番研究所提供。“甜高粱新高粱2号”(“甜新2号”)是2006年通过新疆科技厅品种审定委员会鉴定的新品种,该品种遗传性稳定、高产、高糖、早熟、抗丝黑穗病、耐旱、耐盐碱、适应性广,产量可达93 000 kg/hm²。“可皮西巴西”(简称“农家品种”)是通过对新疆当地农家品种筛选出来的早熟、抗旱、抗盐碱、抗高粱丝黑穗病、含糖量高、抗倒伏。

1.2 方法

1.2.1 材料培养 挑选籽粒饱满的“农家品种”和“甜新2号”甜高粱种子,0.1% HgCl₂消毒10 min,自来水中浸泡12 h,摆放于培养皿中,保持湿润,置25℃恒温培养箱内催芽,待根长约2.0 cm左右时摆苗并转移至Hoagland营养液。所用实验盆口径18 cm,高12 cm,每盆装1 L营养液,摆20株苗。光照培养箱内[昼夜培养温度:25℃/18℃;光/暗:14 h/10 h;光强:160 μmol/(m²·s)]。每天不定期通气5~6 h,每2 d更换一次营养液。

1.2.2 PEG处理 幼苗长至两叶一心时,选取生长一致的植株,分别于含0、10%、20% PEG(W/V)的Hoagland营养液中培养,每个浓度设3个重复,处理

收稿日期:2009-09-25

基金项目:黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室项目(10501-179)

作者简介:吕金印(1960—),男,陕西岐山人,教授,博士,主要从事植物水分与抗旱生理研究。E-mail:Jinyinlu@163.com。

24 h 后取样测定。

1.3 生理指标测定

1.3.1 叶片相对含水量(RWC)的测定 采用称重法^[12],称取各植株的中间同部位新鲜叶片 0.1 g 左右,称鲜重(W_f),浸入蒸馏水中 12 h 后称饱和重(W_t),然后放入烘箱于 105℃ 杀青,再在 80℃ 下烘干至恒重(W_d),计算公式:

$$\text{叶片相对含水量}(\%) = (W_f - W_d) / (W_t - W_d) \times 100$$

1.3.2 叶绿素含量的测定 80% 丙酮提取比色法^[12],称取 0.15 g 新鲜叶片,剪成细丝放入 25 mL 具塞刻度试管中,加入 0.5 mL 纯丙酮和 15 mL 80% 丙酮,暗处过夜。次日,叶组织已全部变白时,用 80% 丙酮定容,过滤,于 470 nm、645 nm、663 nm 下测定吸光值。

1.3.3 质膜相对透性的测定 电导法^[12],准确称取各植株的中间相同部位新鲜叶片 0.2 g,用去离子水冲洗 3 次,滤纸吸干表面水分,剪成 1 cm 左右的小段,浸入去离子水中,平衡 2 h,用电导仪测定电导值 S_1 ,然后置于沸水中煮 15 min,冷却至室温后,再测定外渗液的电导值 S_2 ,根据公式计算。质膜相对透性 $(\%) = S_1 / S_2 \times 100$ 。

1.3.4 丙二醛(MDA)含量的测定 硫代巴比妥酸比色法^[12],称取不同部位叶片 0.3 g,冰浴研磨(少许石英砂和 2 mL 0.05 mol/L pH7.8 磷酸缓冲液),取提取液,加入 5 mL 0.5% 硫代巴比妥酸溶液,摇匀,沸水浴 10 min,冰水冷却,3 000 × g 离心 15 min,取上清液并测量其体积。以 0.5% 硫代巴比妥酸溶液为空白测 532 nm、600 nm、450 nm 处的吸光值。

1.3.5 脯氨酸含量的测定 酸性茚三酮法^[12],准确称取各植株的中间相同部位新鲜叶片 0.15 g,剪成 1 cm 左右小段,置于试管中,加入 5 mL 3% 磺基水杨酸溶液,置沸水浴中提取 40 min。吸取上部清液 2 mL,加入 2 mL 冰醋酸和 2 mL 2.5% 酸性茚三酮显色液,封口。在沸水浴中加热 40 min。冷却至室温后加入 4 mL 甲苯,充分震荡萃取,静置分层后吸取甲苯层,以空白为对照,于 520 nm 下测其光密度。同步制作标准曲线,并根据标准曲线计算脯氨酸的含量。

1.3.6 可溶性糖含量的测定 蒽酮硫酸法^[12],准确称取各植株的中间同部位新鲜叶片 0.15 g,剪碎混匀,置于试管中,加入 10 mL 蒸馏水,塑料薄膜封口,于沸水中提取 30 min(提取 2 次),提取液过滤入 25 mL 容量瓶中,反复冲洗试管及残渣,定容至刻度。吸取 0.5 mL 样品液于试管中,按顺序加入 1.5 mL 蒸馏水、1 mL 9% 苯酚溶液、5 mL 浓硫酸,充分振

荡,显色并测定吸光度,由标准曲线计算出可溶性糖含量。

1.3.7 还原型谷胱甘肽(GSH)含量测定 称取 1 g 材料,用 10 mL 5% 偏磷酸提取,冷冻离心上清液为待测液,参照 Ellman 的方法^[13]。

1.3.8 保护酶活性测定 超氧化物歧化酶(SOD)采用 NBT 光化还原法^[12];过氧化物酶(POD)采用愈创木酚氧化法^[12];过氧化氢酶(CAT)采用紫外吸收法^[12];抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定参照文献^[12]的方法并稍作改进。各种酶活性均设 3 次重复。

1.4 数据统计

试验数据用 SPSS 16.0 软件进行方差分析(ANOVA)和 LSD 检验,数值为 3 次重复的平均值 ± 标准差。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片相对含水量的影响

叶片相对含水量(RWC)是反映植物抗旱性强弱的重要指标。干旱胁迫后,RWC 值越大,则抗旱性越强^[14]。由图 1 可看出,随着水分胁迫程度的增加,叶片相对含水量(RWC)呈降低趋势。10% PEG 处理条件下,甜新 2 号和农家品种的 RWC 较对照分别下降了 17% 和 30%;在 20% PEG 时分别下降了 53% 和 65%,甜新 2 号下降幅度较小,表明具有较强的保水力。

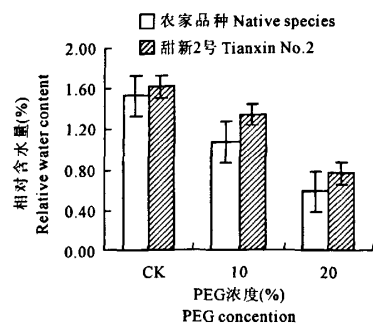


图 1 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片相对含水量的影响

Fig.1 Effect of water stress on relative water stress in leaves of sweet sorghum seedlings

2.2 水分胁迫对甜高粱幼苗叶绿素含量的影响

叶片叶绿素含量是在逆境条件下植物生长发育代谢的重要生理指标。本研究,随着 PEG 胁迫浓度的增加,甜高粱叶片叶绿素总含量呈先升后降趋势(图 2)。10% PEG 浓度处理下,叶绿素含量与对照相比略有增加,20% PEG 处理下,叶绿素含量下降

幅度较大。

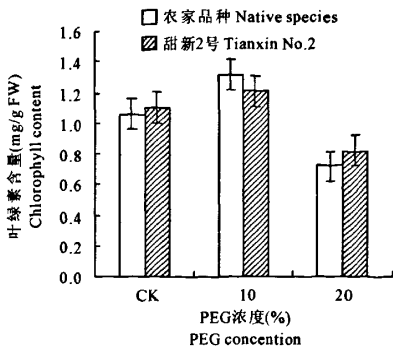


图2 水分胁迫对甜高粱幼苗叶绿素含量的影响
Fig.2 Effect of water stress on chlorophyll content in leaves of sweet sorghum seedlings

2.3 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片质膜相对透性的影响

图3显示,随着胁迫浓度的增加,两个甜高粱品种叶片质膜相对透性急剧升高。正常水分条件下,农家品种叶片质膜相对透性高于甜新2号。10%、20%PEG胁迫处理后,农家品种质膜相对透性分别是对照的1.9和2.6倍,甜新2号为对照的2.2和2.3倍。说明低浓度PEG处理对细胞的损伤较小,随着胁迫浓度的增大,质膜透性增加,农家品种增大的幅度较大,表明所受伤害较大。

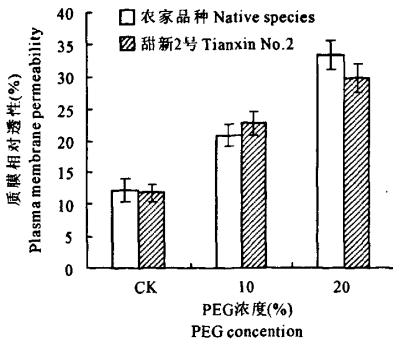


图3 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片质膜相对透性的影响
Fig.3 Effect of water stress on plasma membrane relative permeability in leaves of sweet sorghum seedlings

2.4 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片丙二醛含量的影响

一般认为,干旱条件下抗旱性强的品种丙二醛(MDA)含量低于抗旱性弱的品种^[14]。图4表明,两个甜高粱品种叶片中MDA含量均呈现增加趋势。与对照相比,农家品种与甜新2号叶片MDA含量在10%PEG和20%PEG胁迫处理下分别是对照的1.5、2.5倍和1.6、2.2倍。

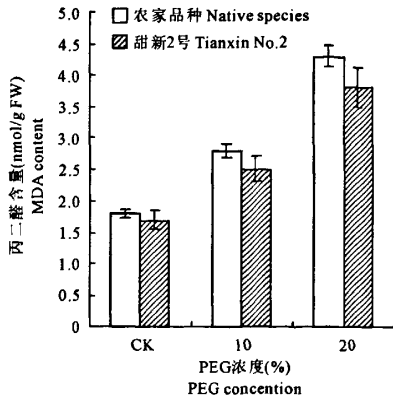


图4 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片丙二醛含量的影响
Fig.4 Effect of water stress on MDA content in leaves of sweet sorghum seedlings

2.5 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片脯氨酸含量的影响

植物受到干旱逆境时,体内脯氨酸(Pro)含量大幅增加^[16]。如图5所示,两种浓度PEG胁迫下,甜高粱幼苗体内脯氨酸总含量增加。与正常水分处理相比较,20%PEG胁迫后,农家品种和甜新2号叶片中Pro含量分别是对照的3.3倍和4.1倍,表明甜新2号抗旱性较强。

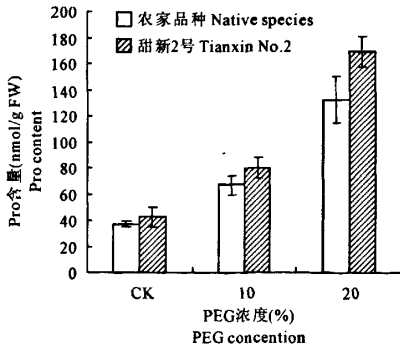


图5 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片游离脯氨酸含量的影响
Fig.5 Effect of water stress on praline content in leaves of sweet sorghum seedlings

2.6 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片可溶性糖含量的影响

由图6可以看出,正常水分处理下,甜新2号叶片可溶性糖含量略高于农家品种;水分胁迫后,农家品种叶片可溶性糖含量比对照增加了20%,甜新2号增加了60%,明显高于农家品种。研究表明水分胁迫提高了甜高粱植株幼苗叶片中可溶性糖含量,在不同抗性品种间存在差异。

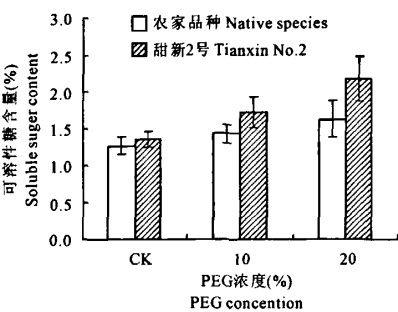


图 6 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片可溶性糖含量的影响
Fig.6 Effect of water stress on soluble sugar content
in leaves of sweet sorghum seedlings

2.7 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片还原型谷胱甘肽含量的影响

还原型谷胱甘肽(GSH)能清除生物体内的自由基从而解除毒害^[17]。本试验中在不同浓度 PEG 处理下两个甜高粱品种幼苗中 GSH 含量下降(图 7),可能是水分胁迫处理影响了 GSH 合成的特异性酶活性^[17]。20% PEG 处理下甜新 2 号幼苗中 GSH 含量高于农家品种。

2.8 水分胁迫对甜高粱幼苗保护酶活性的影响

由表 1 可以看出,2 个甜高粱品种在 PEG 浓度

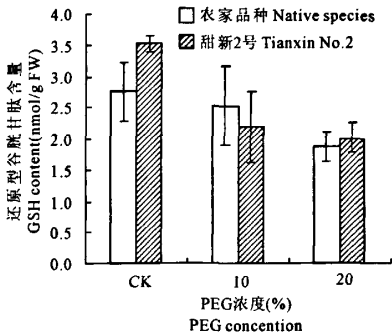


图 7 水分胁迫对甜高粱幼苗叶片中 GSH 含量的影响
Fig.7 Effect of water stress on GSH content
in leaves of sweet sorghum seedlings

表 1 水分胁迫对甜高粱幼苗保护酶活性的影响

Table 1 Effect of water stress on activity of protective enzymes of sweet sorghum seedlings

品种 Varities	处理 Treatments	SOD 活性 SOD activity [U/(min·g FW)]	POD 活性 POD activity [U/(min·g FW)]	CAT 活性 CAT activity [U/(min·g FW)]	APX 活性 APX activity [U/(min·g FW)]
农家品种 Native species	CK	134.7 ± 34.4c	173.8 ± 7.6c	204.6 ± 21.4c	22.7 ± 7.4b
	10%	338.4 ± 22.4a	156.2 ± 5.4a	295.8 ± 22.5a	28.7 ± 6.3a
	20%	237.6 ± 15.8b	123.7 ± 2.1b	231.3 ± 18.11b	36.3 ± 14.2c
甜新 2 号 Tianxin No.2	CK	145.7 ± 17.1b	189.6 ± 19.9c	288.62 ± 16.7b	18.1 ± 5.4c
	10%	296.3 ± 13.2a	157.7 ± 14.8a	336.79 ± 13.5a	32.1 ± 13.1a
	20%	368.6 ± 22.5c	148.9 ± 6.1b	439.91 ± 29.3c	44.2 ± 7.9b

注:表中数值为 3 个重复的平均值 ± 标准差,同列数据标有不同字母的表示差异具有显著性(LSD 检验, $P = 0.05$)

Note: The data represent the mean ± SD ($n = 3$); values with different letters in the same column indicate a significant difference at $P = 0.05$ according to LSD test.

3 讨 论

水分胁迫影响植物光合作用及体内相关代谢反应。植物在逆境条件下细胞膜透性的变化反映了植物受伤害的程度^[17]。本研究中,在 PEG 处理下农家品种质膜相对透性增幅较大,表明其抗逆性相对较弱。叶绿素是植物光合作用的物质基础,其含量高直接 影响光合作用强弱及有机物质的合成^[18]。在正常水分和 PEG 胁迫处理下,甜新 2 号幼苗叶片

处理下,SOD 活性呈上升趋势。农家品种 SOD 活性呈先升后降,但显著高于对照 ($P < 0.05$);甜新 2 号则持续上升,SOD 活性高于农家品种 ($P < 0.05$)。PEG 处理下 POD 活性均表现为下降趋势 ($P < 0.05$),对照处理中甜新 2 号 POD 活性略高于农家品种,PEG 胁迫后低于甜新 2 号。CAT 活性与对照相比显著增加。农家品种 CAT 活性先升后降 ($P < 0.05$);甜新 2 号则显著上升 ($P < 0.05$)。APX 活性二者均上升,且变化趋势一致,与对照相比,甜新 2 号 APX 活性上升比较明显 ($P < 0.05$)。

叶绿素含量大于农家品种,表明其在水分胁迫下具有较强的光合作用。MDA 为膜脂过氧化产物,在逆境条件下植物受伤害程度与其积累量正相关,与抗旱能力呈负相关^[18]。本研究中农家品种甜高粱幼苗叶片中 MDA 含量较高,说明水分亏缺对其植株的伤害较为严重,抗旱性相对较差。

脯氨酸和可溶性糖是植物在逆境条件下的主要渗透调节物质,一般认为抗旱性强的品种积累的脯氨酸较多。本研究中随着 PEG 胁迫浓度的增大,两

个甜高粱品种幼苗叶片中脯氨酸和可溶性糖含量增加,相对于农家品种甜新2号可溶性糖含量较高,表明其具有较强渗透调节作用。还原型谷胱甘肽(GSH)是植物细胞中重要的非酶系统抗氧化剂。与对照相比,两种浓度PEG处理下两个甜高粱品种叶片中还原型谷胱甘肽(GSH)含量均降低。20%PEG胁迫下甜新2号GSH含量高于农家品种,表明其具有较强的抗氧化能力。

干旱胁迫诱发植物体内的保护酶系统参与清除活性氧过程,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)是清除植物体内 H_2O_2 的关键酶,抗坏血酸过氧化物酶(APX)主要参与叶绿体中 H_2O_2 的清除,使植物体内活性氧保持在正常水平。本研究中,PEG胁迫下,两个品种甜高粱幼苗叶片中SOD、CAT和APX活性增大,POD活性降低,其中,甜新2号保护酶活性均高于农家品种,表明相对农家品种甜新2号具有较强的抗旱性,有关其抗旱机理还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 张宏一,朱志华,景蕊莲.高粱幼苗水分胁迫诱导表达差异cDNA的研究[J].植物遗传资源学报,2006,7(3):277—283.
- [2] 山 仑,黄占斌,张步岐.节水农业[M].北京:清华大学出版社,2000:12—13.
- [3] 赵 凯,马龙彪,耿 贵,等.能源作物甜高粱的综合开发[J].中国糖料,2008,(3):67—71.
- [4] Marcello Mastroianni, Nader Katerji, Gianfranco Rana. Productivity and water use efficiency of sweet sorghum as affected by soil water deficit occurring at different vegetative growth stages[J]. European Journal of Agronomy, 1999, 11: 207—215.
- [5] Almodares A, Hadi M R, Ranjbar M, et al. The effects of nitrogen treatments, cultivars and harvest stages on stalk yield and sugar content in sweet sorghum[J]. Asian Journal of Plant Sciences, 2007, 6(2): 423—426.
- [6] Dercas N, Liakatas A. Water and radiation effect on sweet sorghum productivity[J]. Water Resource Manage, 2007, 21: 1585—1600.
- [7] 文素珍,刘晓辉,杨 明.甜高粱国内外杂交种含糖量的研究[J].中国种业,2008,(9):38—39.
- [8] 贺玉蛟,刘兴华,蔡庆生. C_4 植物甜高粱和玉米幼苗对Zn胁迫的响应差异[J].生态环境,2008,17(5):1839—1842.
- [9] 何金玉,董喜存,李文建,等.碳离子辐照诱变产生的甜高粱 M_2 代幼苗对高温胁迫的响应[J].辐射研究与辐射工艺学报, 2008, 26(5): 147—148.
- [10] 马纯艳,徐 昕,赵新刚,等.高粱3853-1与高粱3801-2生理指标及抗性分析[J].辽宁师范大学学报,2006, 29(2): 223—225.
- [11] 邵艳军,山 仑,李广敏.干旱胁迫与复水条件下高粱、玉米苗期渗透调节及抗氧化比较研究[J].中国生态农业学报,2006, 14(1):68—70.
- [12] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版公司, 2000.
- [13] Ellman G L. Tissue sulfhydryl groups[J]. Arch Biochem, 1959, 82: 70—77.
- [14] 石水红,万里强,刘建宁,等.干旱胁迫对6个坪用多年生黑麦草品种抗旱性的影响[J].草地学报,2009,17(1):52—57.
- [15] 华东师范大学生物系植物生理教研组.植物生理学试验指导[M].北京:高等教育出版社,1980.
- [16] 李长宁,农 倩,李杨瑞.水分胁迫下外源ABA提高甘蔗抗旱性的作用机制[J].作物学报,2010,36(5):863—870.
- [17] 康建宏,吴宏亮,黄灵丹.干旱胁迫处理的玉米幼苗对逆境的交叉适应研究[J].干旱地区农业研究,2008,26(6):143—148.
- [18] 胡梦芸,张正斌,徐 萍.作物几种光合酶与抗旱节水的关系研究进展[J].干旱地区农业研究,2008,26(2):250—256.

Effects of water stress on activities of protective enzyme and physiological characteristics in seedlings of two varieties of sweet sorghum

LU Jin-yin¹, GUO Tao²

(1. College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. College of Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: This study was to investigate the effects of different concentrations of PEG(10% and 20%) on activities of protective enzymes and other physiological characteristics in the seedlings of two varieties of sweet sorghum and to identify the difference of their drought resistance. The results showed that the relative water content decreased under the PEG stress treatment, while the relative permeability of the plasma membrane, the content of malondialdehyde(MDA) and proline(Pro) increased, and the native species have larger change ranges. With the increasing of concentrations of PEG, the content of glutathione(GSH) in two species decreased. While the content of GSH in Xingao-liang 2 was higher than the native species under the concentration of 20% PEG treatment. The activity of the antioxidant enzyme(APX, POD, SOD and CAT) in Xingao-liang 2 was higher than in the native species. The results indicated that Xingao-liang 2 have stronger drought resistant adaptability than the native species.

Keywords: sweet sorghum; PEG stress; physiological characteristic; protective enzyme