

不同外源调节物质对不同耐旱性玉米 自交系的干旱缓解效应分析

曾文静,陈奋奇,庄泽龙,丁永福,彭云玲

(甘肃农业大学农学院,甘肃 兰州 730070)

摘要:以早敏感玉米自交系 TS141 为试材,在苗期以 20% PEG 模拟干旱胁迫处理,添加 5 种不同浓度外源甜菜碱(GB)或脯氨酸(Pro),以蒸馏水和干旱胁迫分别作为正向(CK+)、负向(CK-)对照处理,筛选得到对玉米苗期干旱胁迫缓解效果最佳的处理浓度:30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ GB 或 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pro。以最佳浓度外源 GB 或 Pro 对干旱胁迫下的耐旱玉米自交系昌 7-2 和早敏感玉米自交系 TS141 幼苗进行处理,比较分析两种耐旱性不同玉米自交系的生长参数、生理特性、气孔特性及叶片解剖结构。结果表明:外源 GB 或 Pro 可有效缓解玉米幼苗干旱胁迫损伤,恢复生理生化代谢稳态,外源 GB 对干旱胁迫的缓解效应强于外源 Pro;TS141 在添加外源 GB 后各生长参数均显著升高且叶片细胞结构明显恢复并排列整齐,而添加外源 Pro 后苗长并未出现显著变化且叶片细胞结构未发现明显差异;昌 7-2 在添加外源 GB 后脯氨酸含量、SOD、POD、CAT 活性分别下降 47.01%、26.33%、15.00%、66.08%,但添加外源 Pro 后只分别下降 27.74%、17.65%、11.45%、44.32%。此外,外源 GB 或 Pro 对早敏感玉米自交系缓解效果更明显:在添加外源 GB 或 Pro 后 TS141 各生长参数均显著升高,而昌 7-2 只有根长出现显著性差异;添加外源 GB 后 TS141 的脯氨酸含量、SOD、POD、CAT 活性分别降低 46.22%、16.58%、35.24%、60.52%,而昌 7-2 其值分别降低 47.01%、26.33%、15.00%、66.08%,均低于 TS141。干旱胁迫下玉米自交系叶片通过减小木质部导管直径,降低导管系统水势,诱导气孔开度降低,减少水分丧失;干旱胁迫下花环型结构变形,维管束鞘细胞和韧皮部细胞的散乱排列,导致了玉米自交系对干旱胁迫的耐受性降低。

关键词:玉米自交系;耐旱性;外源甜菜碱;外源脯氨酸;干旱胁迫;缓解效应

中图分类号:S513.034;Q945.78 **文献标志码:**A

Mitigation effect analysis of different exogenous regulatory substances on different drought-tolerance maize inbred lines under drought stress

ZENG Wenjing, CHEN Fenqi, ZHUANG Zelong, DING Yongfu, PENG Yunling

(College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: Drought-sensitive maize inbred line TS141 was treated with five different concentrations of exogenous glycine betaine (GB) or proline (Pro)'s treatments under 20% PEG-simulated drought stress at seedling stage, and distilled water treatment and drought stress treatment were used as positive (CK+) and negative (CK-) control checks. The optimum treatment concentration for maize seedling drought stress mitigation effect was selected: 30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ of GB and 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ of Pro. The drought-tolerant inbred line Chang 7-2 and drought-sensitive inbred line TS141 were treated with optimum concentration of exogenous GB or Pro under drought stress. The drought tolerance difference of different drought-tolerant maize inbred lines and the mitigation effects of exogenous GB or Pro were compared and analyzed from growth parameters, physiological characteristics, stomatal characteristics and leaf anatomical structure. The results showed that both exogenous GB and Pro alleviated the drought stress damage of maize seedlings and restored physiological and biochemical metabolic homeostasis. The mitigation effect of exogenous GB was greater than that of Pro under drought stress. After adding exogenous GB, the growth

收稿日期:2019-07-08

修回日期:2020-02-22

基金项目:伏羲“青年英才”项目(GAUFY-02Y09);甘肃省重大科技专项(17ZD2NA016)

作者简介:曾文静(1994-),女,甘肃榆中人,硕士研究生,研究方向为玉米抗逆生理及分子生物学。E-mail: 18119493191@163.com

通信作者:彭云玲(1978-),女,河南南阳人,教授,主要从事玉米抗逆生理及分子生物学研究。E-mail: pengyunlingpyl@163.com

parameters of TS141 were significantly increased and the cell structure of the leaves was restored and arranged in order, while the seedling length did not change significantly after adding exogenous Pro, and no significant difference was found in the leaf cell structure; the proline content, SOD activity, POD activity and CAT activity of Chang 7-2 decreased by 47.01%, 26.33%, 15.00% and 66.08% respectively after adding exogenous GB, but only decreased by 27.74%, 17.65%, 11.45% and 44.32% respectively after adding exogenous Pro. In addition, exogenous GB or Pro had more effective alleviating effects on drought-sensitive maize inbred line; The growth parameters of TS141 increased significantly after adding exogenous GB or Pro, while Chang 7-2 showed significant difference only in root length; after adding exogenous GB, the proline content, SOD activity, POD activity and CAT activity of TS141 decreased by 46.22%, 16.58%, 35.24% and 60.52% respectively, while Chang 7-2 decreased by 47.01%, 26.33%, 15.00% and 66.08% respectively, which were lower than TS141. Under drought stress, the leaves of maize inbred lines reduced the diameter of xylem vessel, thus reduced the water potential of the catheter system, induced the decrease of stomatal aperture, and reduced water loss. The deformation of the kranz anatomy, the scattered arrangement of bundle sheath cells, and vascular bundles cells led to a decrease in the tolerance of maize inbred lines to drought stress.

Keywords: maize inbred line; drought tolerance; exogenous GB; exogenous Pro; drought stress; mitigation effect

干旱是玉米 (*Zea mays* L.) 生长发育中受到的主要非生物胁迫。当植物受到干旱胁迫时,甜菜碱 (GB) 或脯氨酸 (Pro) 作为渗透调节物质参与植物细胞的渗透调节,降低水势,保持膨压,抵御干旱。GB 是一种天然无毒的渗透相溶性物质,普遍存在于动植物和微生物体内,在抗逆性方面具有重要作用,例如渗透调节、清除活性氧、维持生物膜的稳定性、保护光合机构、维持大分子蛋白复合物和某些酶的结构和功能等^[1]。GB 可以通过自身合成积累,也可通过叶片喷施、根施、浸种等方式来提高植物的抗逆性。叶面喷施适宜浓度 GB 可显著提高棉花^[2]、匍匐翦股颖^[3]的耐旱性;将 GB 施用于玉米根部可增加其高度、叶面积和总干重^[4]。Pro 是植物在逆境下积累的一种小分子的渗透物质,水分和盐胁迫时 Pro 含量可以增加数十倍甚至上百倍,在调节渗透势、维持大分子结构的稳定性以及清除活性氧的过程中起重要作用^[5]。目前关于外源 GB 或 Pro 单方面对作物耐旱性的影响已有研究^[1-8],但外源 GB 和 Pro 对干旱缓解效果的差别尚不清楚,在烟草 BY-2 细胞^[9]和水稻^[10]上的研究表明,外源 Pro 比外源 GB 更能缓解盐胁迫产生的不利影响,而在干旱胁迫下是否具有相同的结论,同时现有研究大多是针对同一品种或不同干旱胁迫强度或某一特定的时间点进行的,少有针对耐旱性不同作物品种的缓解效果进行研究。

在水分缺乏的情况下作物可以通过改变自身的形态结构最大限度地使细胞水势保持在最有利于生长发育的范围内^[11],而叶片在这一应激机制中发挥着重要作用。干旱胁迫下植株光合作用下降,

主要是由叶片对光能和 CO₂ 的利用率下降而引起的,作为 CO₂ 和 H₂O 等物质交换的重要通道,气孔的变化直接决定着作物的蒸腾与光合速率。针对气孔性状及其抗旱性的研究已有报道,于海秋等^[12]的研究表明,玉米叶片气孔在干旱胁迫下密度增大,而宽度和长度则明显减小。高彦萍等^[13]发现水分胁迫使大豆叶片气孔密度增加,气孔开度和单位叶面积气孔相对面积减小。然而就不同耐旱性玉米自交系的气孔差异以及对干旱胁迫的响应差异鲜见报道。玉米叶片具有 C₄ 植物特有的花环型结构,花环型结构由维管束鞘细胞和围绕着鞘细胞的叶肉细胞两部分整齐排列构成。维管束鞘细胞不仅提高 CO₂ 的利用率,而且可以通过调节气孔开度以控制水分平衡^[14]。Ache 等^[15]的研究表明,叶片的径向水流不仅受到气孔的调节,同时还受到维管束导管的影响。Pardo 等^[16]认为,气孔运动和维管系统到内部组织的水分供应对叶片水势的稳定有重要作用。因此,植物叶片的气孔运动和维管束结构在应对干旱胁迫、保证叶片水势稳定的机制中具有重要功能。然而在水分胁迫下不同耐旱性玉米自交系叶片在维管束、气孔运动和花环型结构变化方面具有怎样的差异,以及三者之间的关系目前尚不清楚。

本研究以玉米耐旱自交系昌 7-2 和旱敏感自交系 TS141 为试材,以 20% 聚乙二醇 (PEG-6000) 模拟干旱胁迫,在苗期添加不同浓度的外源 GB 或 Pro,筛选最佳缓解浓度,从生理特性、气孔特性以及细胞解剖学结构三方面研究外源 GB 或 Pro 对玉米干旱胁迫的缓解能力,比较二者缓解效应的差别,

同时对不同耐旱性玉米自交系叶片在干旱胁迫下的细胞解剖学差异进行比较,以期为提高玉米耐旱性方面的研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

以本课题组前期筛选出的玉米耐旱自交系昌 7-2(属唐四平头系)和旱敏感自交系 TS141(属 Reid 系)为试验材料^[17],两个品种均由甘肃农业大学农学院玉米课题组提供。

1.2 试验方法

1.2.1 种子预处理 挑选饱满一致、无损伤的 TS141 种子,经 0.5% NaClO 消毒 10 min 后用蒸馏水冲洗干净,于 25℃ 下在对应处理液中吸胀 24 h。对照组记为 CK+(蒸馏水),处理组记为 CK-(20% PEG),5 个梯度的 GB 或 Pro 溶液浓度分别为:T1 (20% PEG + 10 μmol · L⁻¹ GB),T2 (20% PEG + 20 μmol · L⁻¹ GB),T3 (20% PEG + 30 μmol · L⁻¹ GB),T4 (20% PEG + 40 μmol · L⁻¹ GB),T5 (20% PEG + 50 μmol · L⁻¹ GB);T1* (20% PEG + 200 μmol · L⁻¹ Pro),T2* (20% PEG + 400 μmol · L⁻¹ Pro),T3* (20% PEG + 600 μmol · L⁻¹ Pro),T4* (20% PEG + 800 μmol · L⁻¹ Pro),T5* (20% PEG + 1 000 μmol · L⁻¹ Pro)。

1.2.2 幼苗生长试验 将 CK+、CK-、T1~T5、T1*~T5* 溶液浸种后的 TS141 种子各 30 粒,分别播种于装有灭菌蛭石的方形营养钵(长×宽:15 cm×13 cm)中,每个营养钵各 10 粒,置于昼/夜温度为 25℃/20℃ 的人工气候培养箱中培养,每天光照 14 h,黑暗 10 h,光照强度 600 μmol · s⁻¹ · m⁻²,相对湿度 60%~80%。每隔 1 d 加入 50 mL 蒸馏水,每 3 d 施加 50 mL 对应处理液。以 CK+ 为标准,待植株生长至三叶期,将幼苗根系附着的蛭石冲洗干净,吸干幼苗表面残余水分,测定生长参数以及生理指标。比较经过不同处理后各植株的生理生化指标,筛选出苗期最佳外源调节物质的处理浓度。再按照种子预处理以及幼苗生长试验方法,分别在 CK+、CK- 以及最佳外源调节物质处理浓度下培养耐旱自交系昌 7-2 和旱敏感自交系 TS141,测定其苗期生长参数、生理指标及气孔特性,并制备叶片组织切片。

1.3 指标测定

1.3.1 生长参数测定 根长、苗长的测定:幼苗的株高和主根长用直尺测量。鲜重与干重的测定:将单株地下部和地上部分离后称重。称重后置于烘箱于 105℃ 杀青 30 min,80℃ 烘干至恒重后称其干重。试验设置 3 次重复。

1.3.2 幼苗生理指标测定 根据 Galmés 等^[18]方法测定相对含水量(relative water content, RWC);用浸泡法测定相对电导率(relative conductivity, RC)^[19],使用氮蓝四唑光化学还原法测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性^[20],过氧化物酶(peroxidase, POD)活性、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性用愈创木酚比色法测定^[21-22],可溶性糖含量(soluble sugar content, SS)用蒽酮硫酸比色法测定^[23],丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量测定使用硫代巴比妥酸显色法^[24],脯氨酸(Proline, Pro)含量测定采用茚三酮显色法^[25]。试验设置 3 次重复。

1.3.3 叶片气孔形态测定 参照 Yu 等^[26]叶片表面压印法,制作不同处理玉米植株第三片叶大致相同部位的上表皮切片,在光学显微镜(Leica 6000; Leica Instruments, Germany)下分别观察 6 个视野并拍照,用 ImageJ 软件测量叶片气孔长度、气孔宽度、气孔面积、气孔数量和气孔开度。

1.3.4 叶片组织切片制备 采用 Schuerger 等^[27]的番红-固绿染色法,制作不同处理下玉米第三片叶相同部位横切面切片,粘片时采用蛋清甘油混合溶液(v : v = 1 : 2)。制作完成的切片置于光学显微镜(Olympus, BX61, Japan)下进行观察并拍照。

1.4 数据统计与分析

使用 SPSS 19.0 统计软件(SPSS Inc., Chicago, USA)进行数据分析,采用 Duncan 法对各处理之间进行差异显著性分析,试验结果均用平均值±标准偏差(standard deviation, SD)表示;采用 Microsoft Excel 2013 作图。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下外源调节物质对玉米幼苗生长及生理生化特性的影响

旱敏感自交系 TS141 的生长参数在不同处理下存在差异(图 1)。干旱胁迫处理下,干旱敏感自交系 TS141 的苗长、根长、地上部鲜重和地下部鲜重分别降低了 21.42%、34.40%、38.70%、38.67%。而添加外源 GB 或 Pro 有效缓解干旱胁迫的效果,较 CK- 处理相比,其各生长参数均显著升高($P < 0.01$),但不同浓度外源 GB 或 Pro 对生长参数的缓解程度不同(图 1)。就外源 GB 而言,T3 处理玉米苗长、根长、地上部鲜重和地下部鲜重达到最大,分别是 CK- 干旱胁迫处理的 1.26、1.54、1.51、1.46 倍;而 T5 处理玉米苗长和地下部鲜重达最小,分别是 CK- 干旱胁迫处理的 1.09、1.08 倍。T1 处理玉米根长和地上

部达最小,分别是 CK-干旱胁迫处理的 1.03、1.13 倍。就外源 Pro 而言,T2* 处理玉米的苗长、根长、地上部鲜重和地下部鲜重达到最大,分别是 CK-干旱胁迫处理的 1.15、1.39、1.13、1.52 倍;而 T5* 处理玉米的苗长、根长、地上部鲜重和地下部鲜重达最小,分别是 CK-干旱胁迫处理的 0.92、0.91、0.79、1.02 倍。

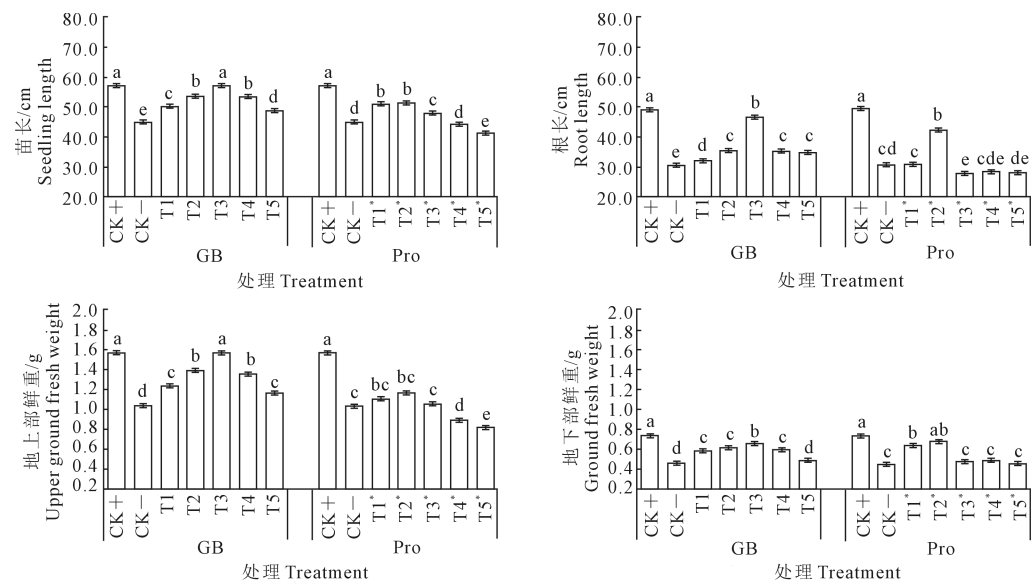
早敏感自交系 TS141 的生理特性在不同处理下存在差异(图 2)。CK-干旱胁迫处理时,玉米幼苗的相对含水量明显下降,与 CK+对照处理相比降低了 18.60%;其他 7 个生理性状如相对电导率、丙二醛含量、脯氨酸含量、CAT 活性、可溶性糖含量、SOD 活性、POD 活性等则显著上升,分别是对照处理的 1.82、2.27、3.07、1.73、1.42、2.19、2.59 倍。干旱胁迫下添加外源 GB 或 Pro 对玉米幼苗的生理生化特性有明显的影响,且不同浓度外源 GB 或 Pro 对各生理生化性状的影响程度不同(图 2)。就外源 GB 而言,T5 处理玉米相对含水量达到最大,是 CK-干旱胁迫处理的 1.14 倍;T3 处理玉米的相对电导率、丙二醛和脯氨酸含量、3 种保护酶(SOD、POD 或 CAT)活性以及可溶性糖含量达最小,与 CK-干旱胁迫处理相比分别下降了 38.70%、48.00%、30.43%、27.49%、16.77%、37.38%、42.12%。就外源 Pro 而言,T2* 处理玉米的相对含水量达到最大,是 CK-干旱胁迫处理的 0.98 倍;T1* 或 T2* 处理玉米的相对电导率、丙二醛和脯氨酸含量、3 种保护酶(SOD、

POD 或 CAT)活性以及可溶性糖含量达最小,与 CK-干旱胁迫处理相比分别下降了 40.95%、48.00%、22.87%、31.75%、-42.92%、25.95%、32.1%。

由此,就玉米幼苗的长势和生理性状而言,外源 GB 在 T3(30 μmol · L⁻¹)处理时对玉米干旱胁迫缓解效应最佳,外源 Pro 在 T2* 处理时对玉米干旱胁迫缓解效应最佳。

2.2 干旱胁迫下最佳浓度外源调节物质对不同耐旱性玉米幼苗的缓解效应分析

2.2.1 最佳浓度外源调节物质对玉米生长参数和生理特性的影响 干旱胁迫下两种耐旱性不同玉米自交系的生长表现存在差异(图 3)。昌 7-2 和 TS141 的苗长和根长在干旱胁迫下均显著降低,昌 7-2 分别降低了 19.45%、25.08%,TS141 分别降低了 25.65%、43.88%;而在地上部鲜重和地下部鲜重方面,昌 7-2 未出现显著差异,TS141 则分别降低了 68.67%、44.90%,即干旱敏感自交系 TS141 在苗长、根长、地上部及地下部鲜重降幅均大于耐旱自交系昌 7-2。添加最佳浓度外源 GB 或 Pro 后对干旱胁迫有明显的缓解效应,与 CK-处理相比,其各生长参数均有所上升($P<0.01$),但同一外源调节物质对不同自交系缓解效果不同(图 3):与 CK-相比,外源 GB 处理后昌 7-2 苗长、地上部及地下部鲜重均无显著性差异,而 TS141 的各生长参数均显著上升,分别是 CK-的 1.30、1.39、2.88、1.48 倍;与 CK-相比,外源 Pro 处理后昌 7-2 只有根长出现显著差异,而



注:不同小写字母代表同一自交系在不同处理下差异显著($P<0.01$)。下同。
Note: Different lowercase letters in the same inbred line indicate significant difference ($P<0.01$). The same below.

图 1 干旱胁迫下 GB 或 Pro 对玉米自交系 TS141 幼苗生长的影响

Fig.1 Effects of GB and Pro on seedling growth of maize inbred line TS141 under drought stress

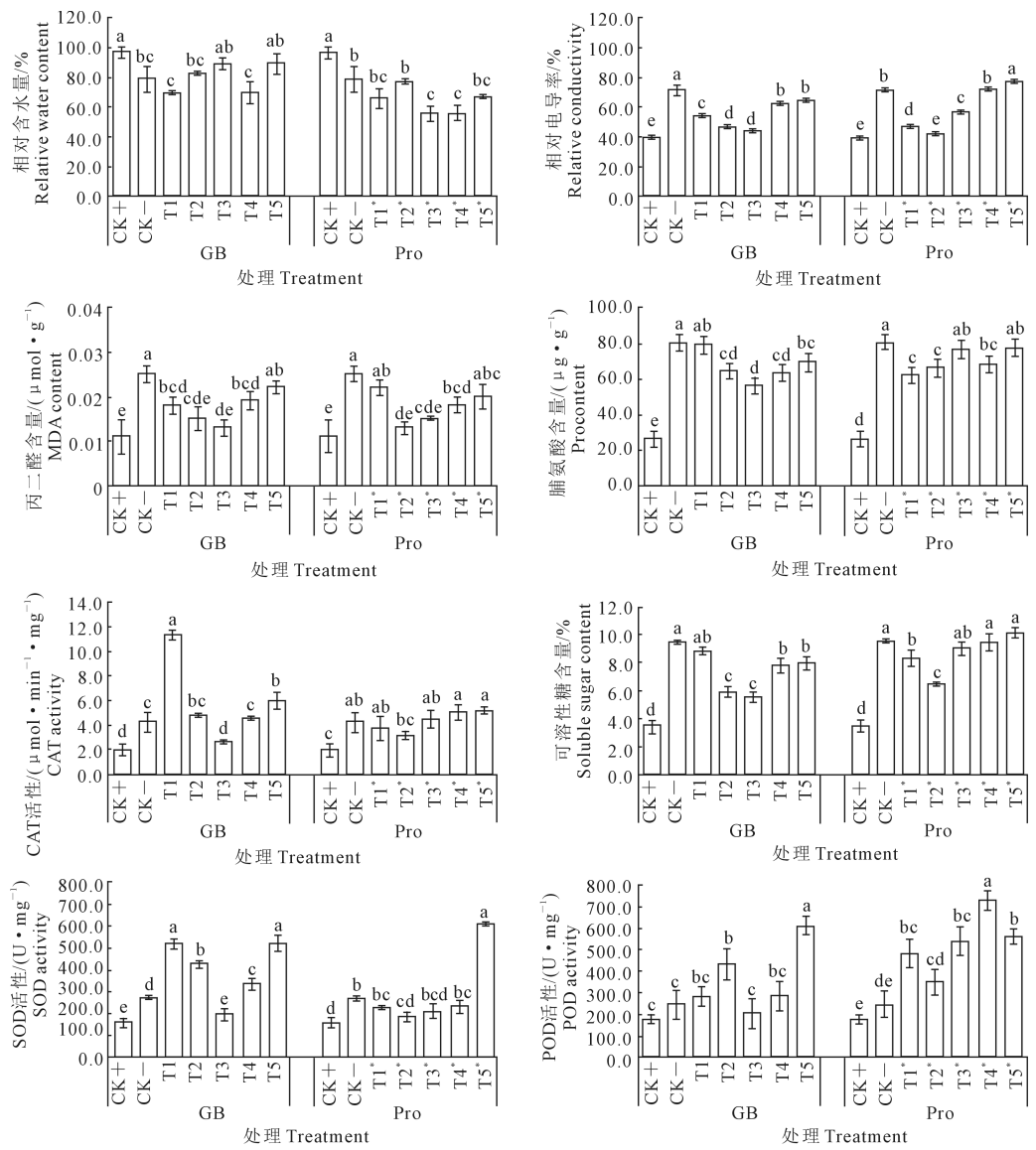


图 2 干旱胁迫下 GB 或 Pro 对玉米自交系 TS141 幼苗生理特性的影响

Fig.2 Effects of different exogenous regulating substances (GB or Pro) in maize inbred line TS141 seedling physiological characteristics

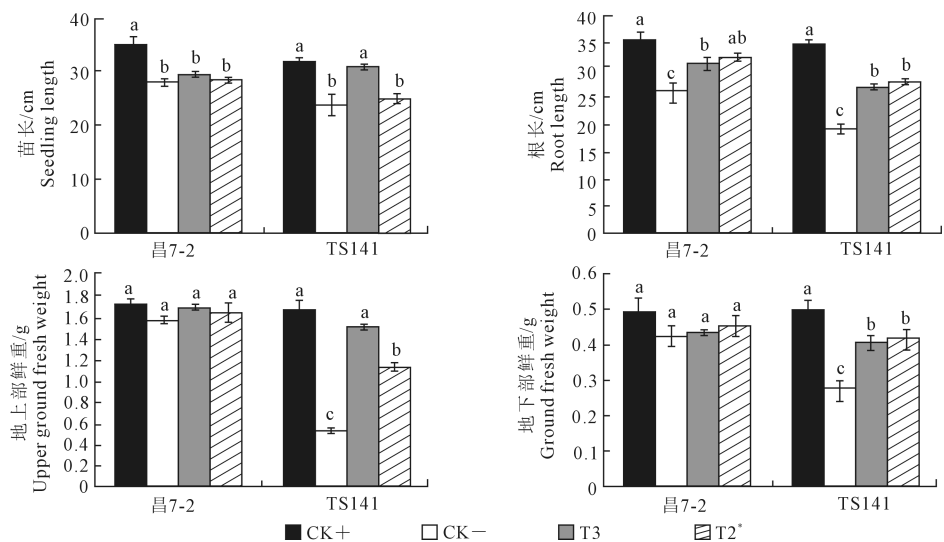


图 3 干旱胁迫下最佳浓度 GB 或 Pro 对两种玉米自交系幼苗生长的影响

Fig.3 Effects of optimum concentration of exogenous regulating substances (GB or Pro) in maize seedling growth parameters

TS141 的根长、地上部及地下部鲜重显著升高,分别是 CK- 的 1.43、2.13、1.52 倍,即外源调节物质对于旱敏感自交系 TS141 的缓解效果比耐旱自交系昌 7-2 明显。同时不同外源调节物质对同一自交系的缓解效果不同 ($P<0.01$) (图 3),外源 GB 处理后 TS141 比 CK- 各生长参数均显著升高,外源 Pro 处理后则只有根长、地上部及地下部鲜重显著升高,即与外源 Pro 相比,外源 GB 的缓解效果较好。

干旱胁迫下玉米幼苗体内代谢紊乱,不同处理相对含水量呈现先降后升趋势,其他生理指标呈现先升后降趋势。干旱胁迫下耐旱自交系昌 7-2 和旱敏感自交系 TS141 在生理特性方面存在差异 (图 4)。昌 7-2 相对含水量在各处理下均未出现显著差异,而 TS141 在干旱胁迫下下降 26.77%;两自交系相对电导率、丙二醛含量在干旱胁迫下显著升高,昌 7-2 分别是 CK- 的 1.27、1.55 倍,TS141 分别是 CK- 的 1.39、1.68 倍,即耐旱自交系昌 7-2 在相对电导率及丙二醛含量的上升幅度小于旱敏感自交系 TS141;两自交系 Pro 含量、SOD 活性、POD 活性、CAT 活性及可溶性糖含量在干旱胁迫下同样显著升高,昌 7-2 的分别是 CK- 的 2.92、1.64、1.32、4.62、2.35 倍,TS141 的分别是 CK- 的 2.58、1.41、1.73、4.42、1.96 倍,即耐旱自交系昌 7-2 在这 5 个

生理指标的上升幅度大于旱敏感自交系 TS141。干旱胁迫下添加外源 GB 或 Pro 对玉米幼苗的生理特性有显著影响 ($P<0.01$),可显著缓解干旱胁迫伤害,但与生长参数类似,同一外源调节物质对不同耐旱性自交系的缓解效果不同 (图 4):就外源 GB 而言,与 CK- 相比脯氨酸含量、SOD 活性、POD 活性、CAT 活性在两自交系中均出现显著差异,昌 7-2 分别降低了 47.01%、26.33%、15.00%、66.08%,TS141 分别降低了 46.22%、16.58%、35.24%、60.52%;就外源 Pro 而言,与 CK- 相比脯氨酸含量、POD 活性、CAT 活性及可溶性糖含量在两自交系中均出现显著差异,昌 7-2 的分别降低了 27.74%、11.45%、44.32%、19.83%,TS141 的分别降低了 43.55%、29.87%、50.40%、47.86%,与耐旱自交系昌 7-2 相比,外源调节物质对旱敏感自交系 TS141 的缓解效果较明显。同时也发现不同外源调节物质对同一材料的缓解效果不同 (图 4),昌 7-2 脯氨酸含量、SOD 活性、POD 活性、CAT 活性在添加外源 GB 或 Pro 后与 CK- 相比均显著下降 ($P<0.01$),最佳浓度外源 GB 处理下分别下降 47.01%、26.33%、15.00%、66.08%,最佳浓度外源 Pro 处理下分别下降 27.74%、17.65%、11.45%、44.32%,即添加外源 GB 对玉米的缓解幅度大于外源 Pro,外源 GB 缓解效果较好。

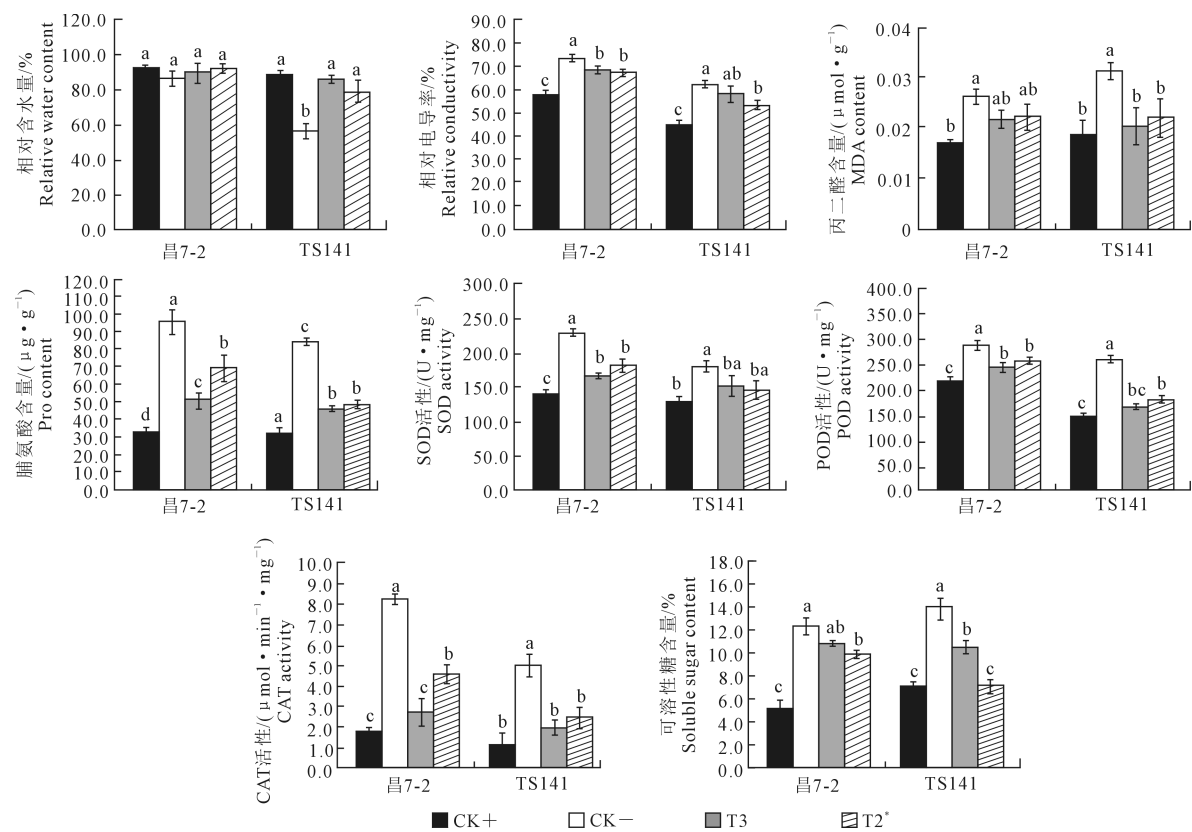


图 4 干旱胁迫下最佳浓度 GB 或 Pro 对两种玉米自交系幼苗生理特性的影响

Fig.4 Effects of optimum concentration of exogenous regulating substances (GB or Pro) in maize seedling physiological characteristics

2.2.2 添加最佳浓度外源调节物质对玉米叶片气孔形态和数量的影响 正常供水条件下耐旱自交系昌 7-2 和旱敏感自交系 TS141 在 5 个气孔性状间存在差异(表 1)。干旱敏感自交系 TS141 的气孔长度、宽度、面积及开度整体大于耐旱自交系昌 7-2, 而单位面积气孔数量则小于耐旱自交系昌 7-2。干旱胁迫下两玉米自交系叶片气孔长度、宽度、面积及开度均减小,单位面积气孔数量则增加,但两自交系变化幅度不同($P<0.05$)。干旱胁迫下昌 7-2 气孔各项特征均出现显著差异,气孔长度、宽度、面积及开度与对照相比分别减少了 10.11%、12.76%、13.10%、23.78%,气孔数量上升了 14.89%;而 TS141 只有气孔宽度和开度出现显著差异,分别减少了 5.15%、17.80%,变化幅度均低于昌 7-2。两自交系气孔宽度的变化幅度均大于气孔长度的变化幅度,说明干旱胁迫下气孔形状的变化主要是气孔宽度的减小。添加外源 GB 或 Pro 后对气孔特性有明显的缓解效应,且同一外源调节物质对两自交系的缓解效应不同($P<0.05$)。与 CK-相比昌 7-2 添加外源 GB 后气孔长度、面积、开度均显著上升,而 TS141 只有气孔宽度显著上升;与 CK-相比添加外源 Pro 后昌 7-2 气孔开度显著上升,而 TS141 各气孔参数

与 CK-相比均无显著差异,即就气孔形状与数量而言,外源 GB 或 Pro 对玉米耐旱自交系昌 7-2 缓解效果较强,并且添加外源 GB 或 Pro 对同一自交系的缓解效果不同,外源 GB 对叶片气孔形状和数量的缓解效果强于外源 Pro,外源 Pro 在气孔形状和数量方面基本没有表现出缓解效应。

2.2.3 添加最佳浓度外源调节物质对玉米叶片解剖结构的影响 在作物生长发育过程中,植株通过不同形态结构应对不同生物胁迫和非生物胁迫^[28]。干旱胁迫下两玉米自交系木质部导管直径变小,形状趋向于不规则,由接近圆形转变为接近多边形;大维管束断面面积减小(见图 5)。干旱胁迫下耐旱自交系昌 7-2 叶绿体由紧贴细胞质膜内侧分布趋于整体向偏细胞中心移动,而 TS141 中只有个别叶绿体分布发生了变化。干旱敏感自交系 TS141 在干旱胁迫下花环型结构变形且排列凌乱,维管束鞘细胞和韧皮部细胞排列散乱且不清晰,昌 7-2 则未发现明显差异。就玉米叶片解剖结构而言,添加外源 GB 和 Pro 对耐旱性玉米自交系昌 7-2 的缓解效应基本无差别。添加外源 GB 后干旱敏感自交系 TS141 叶片细胞结构明显恢复且排列整齐,即外源 GB 对 TS141 的缓解效应强于外源 Pro。

表 1 干旱胁迫下最佳浓度 GB 或 Pro 对两种玉米自交系叶片气孔参数的影响

Table 1 Effects of optimum concentration of exogenous regulating substances (GB or Pro) in maize seedling stomatal parameters

品种	处理	气孔长度/ μm	气孔宽度/ μm	气孔面积/ μm^2	气孔数量	气孔开度/ μm
Variety	Treatment	Somatal length	Somatal width	Stomatal area	Number of somata	Stomatal aperture
昌 7-2 Chang7-2	CK+	38.763±3.381a	24.047±1.466a	630.276±38.730a	94±3b	8.957±0.378a
	CK-	34.843±2.103b	20.979±0.449b	547.738±23.030b	108±7a	6.827±0.492c
	T3	38.794±3.526a	20.652±1.723b	618.443±37.467a	99±4ab	8.203±0.398b
	T2 *	36.764±1.013ab	21.112±1.466b	565.268±39.620b	98±4ab	8.311±0.406b
TS141	CK+	41.105±1.015a	26.327±0.824a	718.892±38.316a	83±2a	9.308±0.459a
	CK-	39.490±2.947a	24.972±0.380b	679.223±49.058a	93±2a	7.651±0.286bc
	T3	40.680±2.088a	25.944±0.438a	690.369±36.05a	95±6a	7.985±0.268b
	T2 *	39.698±1.742a	24.764±0.841b	669.223±47.857a	91±2a	7.309±0.499c

注:不同小写字母代表同一自交系在不同处理下差异显著($P<0.05$)。

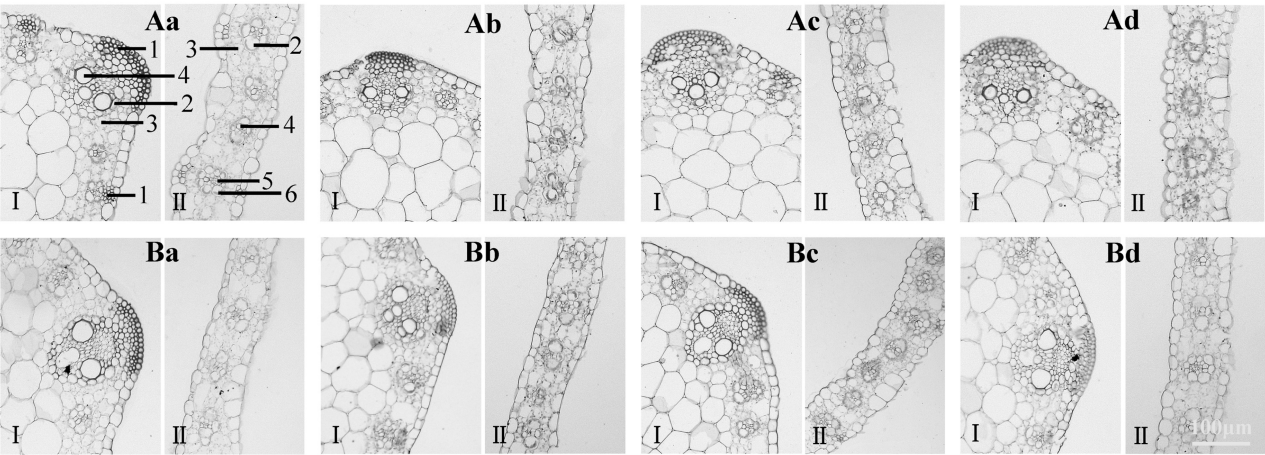
Note: Different lowercase letters in the same inbred line indicate significant difference ($P<0.05$).

3 讨 论

玉米对于旱尤其敏感,水分胁迫是玉米产量的主要限制因素^[29]。虽然玉米苗期需水量低于生长后期,但干旱胁迫会影响玉米在早期作物建立阶段的适应性,限制玉米生长产量潜力^[30]。玉米苗期供水不足会影响叶片生长发育,从而导致光合作用速率下降等一系列影响。干旱胁迫下施加外源 GB 或 Pro 有助于细胞抵御逆境胁迫的不利影响,本试验通过对玉米幼苗生长参数和生理性状分析发现,外源 GB 在浓度为 30 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (T3)时对玉米干旱胁迫缓解效应最佳,外源 Pro 在浓度为 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

(T2*)时对玉米干旱胁迫缓解效应最佳。

干旱胁迫下玉米耐旱自交系昌 7-2 和干旱敏感自交系 TS141 均出现形态应激,但昌 7-2 与对照相比几乎无差异,而 TS141 则出现显著抑制生长的现象,例如根长几乎缩短了 50%。幼苗叶片脂膜过氧化程度、活性氧清除及渗透调节能力均增强,但耐旱自交系昌 7-2 的相对电导率及丙二醛含量上升幅度小于干旱敏感自交系 TS141,而脯氨酸含量上升幅度大于 TS141,说明昌 7-2 在干旱胁迫下能相对保持膜系统的稳定性,质膜过氧化程度较 TS141 轻。昌 7-2 在干旱胁迫下 SOD、POD、CAT 活性及可溶性糖含量上升幅度大于 TS141,也说明了



注:1:厚壁组织;2:维管束鞘细胞;3:叶肉细胞;4:木质部;5:韧皮部;6:叶绿体。A:昌 7-2;B:TS141。a:CK+;b:CK-;c:T3;d:T2*。
I:大维管束;II:小维管束。

Note: 1: Sclerenchyma; 2: Bundle sheath cell; 3: Mesophyll cell; 4: Xylem; 5: Vascular bundles; 6: Chloroplast. A: Chang 7-2; B: TS141. a: CK+; b: CK-; c: T3; d: T2*. I: Big vascular bundles; II: Small vascular bundles.

图 5 干旱胁迫下添加最佳浓度外源调节物质对两种玉米自交系叶片解剖结构的影响
Fig.5 Effects of optimum concentration of exogenous regulating substances (GB or Pro)
in maize seedling leaf anatomical structure

昌 7-2 清除应激诱导产生的活性氧及过氧化物的能力较强,能更好地维持细胞稳态。添加最佳浓度的外源 GB 或 Pro 对幼苗特性有显著影响,本试验表明,外源 GB 或 Pro 对耐旱性不同的玉米自交系均产生了缓解效应,苗长、根长、地上部鲜重及地下部鲜重明显上升,各生理指标与对照相比差异明显减少。结合生理特性、气孔运动以及叶片细胞学观察发现,外源 GB 的缓解效果强于外源 Pro,且不同玉米自交系对外源 GB 或 Pro 的敏感性不同,耐旱性越弱的玉米品种对外源 GB 或 Pro 越敏感。

本研究对玉米苗期叶片干旱胁迫下的花环型结构进行了观察,结果发现早敏感自交系 TS141 花环型结构变形且排列凌乱,维管束鞘细胞和韧皮部细胞排列散乱且不清晰;耐旱自交系昌 7-2 叶绿体分布向偏细胞中心扩散;两自交系木质部导管直径均减小,形状由接近圆形转变为接近多边形,同时大维管束断面面积减小。花环型结构只存在于 C4 植物中,该结构的存在造就 C₄ 植物独特的 CO₂ 浓缩机制,使 C₄ 植物对 CO₂ 的固定效率比 C₃ 植物高很多^[31],有利于玉米在干旱环境的生长。现有研究表明维管束鞘细胞在保持叶片水势方面扮演着重要角色^[32],干旱胁迫导致维管束鞘细胞排列凌乱且不紧凑,使其与周围细胞的接触面积减小,进而造成玉米光合作用效率下降^[33];叶绿体分布的变化可能是玉米叶片适应干旱胁迫,增加光吸收面积的一种机制^[32];叶片木质部导管是植物进行蒸腾作用、运

输水分的重要途径,本研究中耐旱自交系昌 7-2 和早敏感自交系 TS141 木质部导管均出现直径减小现象,可能会降低通过木质部导管到达叶表面以进行蒸腾作用的水分量,使叶片导管系统水势降低,诱导玉米叶片气孔开度降低,以适应干旱环境。

气孔作为植物体物质内外交换的重要通道,其变化也是逆境胁迫下的重要适应机制之一。本研究在不同处理下敏感自交系 TS141 气孔长度、宽度、面积及开度整体大于耐旱自交系昌 7-2,而单位面积气孔数量则小于耐旱自交系昌 7-2,说明耐旱性越强的玉米自交系品种其叶片气孔越趋向于个体小且分布密集。干旱胁迫下两玉米自交系的气孔面积均减小,而单位面积气孔数量则增加,推测玉米适应干旱胁迫的机制之一可能是水分胁迫使叶面积减小从而提高了单位叶面积上的气孔个数,这与于海秋等^[12]的研究一致;同时两自交系的气孔开度在干旱胁迫下减小,可能是减少叶片蒸腾失水以应对干旱胁迫,虽然同时也增大了 CO₂ 进入细胞的阻力,但玉米作为典型的 C₄ 植物,其特有的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶与 CO₂ 极高的亲和力,使得 C₄ 植物有极少的 CO₂ 存在时,维管束鞘细胞就能快速高效地进行光合作用^[34]。干旱胁迫下耐旱自交系昌 7-2 各气孔参数变化幅度显著大于早敏感自交系 TS141,可能是昌 7-2 比 TS141 耐旱性强的原因之一。另外,就气孔运动而言,外源 GB 的缓解效果强于外源 Pro,这与其生理特性一致。

参 考 文 献:

[1] 张天鹏, 杨兴洪. 甜菜碱提高植物抗逆性及促进生长发育研究进展[J]. 植物生理学报, 2017, 53(11): 1955-1962.

[2] 高雁, 李春, 娄恺. 甜菜碱对干旱胁迫下棉花幼苗生理特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(2): 513-516.

[3] 刘思露, 杨鹏, 尹淑霞. 外源甜菜碱对匍匐翦股颖的抗旱性调控作用分析[J]. 草业学报, 2015, 24(3): 80-88.

[4] Reddy K R, Henry W B, Seepaul B, et al. Exogenous application of glycinebetaine facilitates maize (*Zea mays* L.) growth under water deficit conditions [J]. American Journal of Experimental Agriculture, 2013, 3(1): 1-13.

[5] 陈颖, 王婷, 华学军. 脯氨酸转运相关基因的研究进展[J]. 植物学报, 2018, 53(6): 754-763.

[6] 姚春馨, 丁玉梅, 周晓罡, 等. 马铃薯抗旱相关表型效应分析与抗旱指标初探[J]. 作物研究, 2012, 26(5): 474-477, 481.

[7] Farooq M, Basra S M A, Wahid A, et al. Physiological role of exogenously applied glycine betaine to improve drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2008, 194(5): 325-333.

[8] Gupta N, Thind S K. Improving photosynthetic performance of bread wheat under field drought stress by foliar applied glycine betaine [J]. Journal of Agricultural Science & Technology, 2015, 17(1): 75-86.

[9] Hoque M A, Okuma E, Banu M N A, et al. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities[J]. Journal of Plant Physiology, 2007, 164(5): 553-561.

[10] Hasanuzzaman M, Alam M M, Rahman A, et al. Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties [J]. Biomed Research International, 2014. doi.org/10.1155/2014/757219

[11] Pantin F, Simonneau T, Muller B. Coming of leaf age: control of growth by hydraulics and metabolics during leaf ontogeny [J]. New Phytologist, 2012, 196(2): 349-366.

[12] 于海秋, 王晓磊, 蒋春姬, 等. 土壤干旱下玉米幼苗解剖结构的伤害进程[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(5): 143 -147.

[13] 高彦萍, 冯莹, 马志军, 等. 水分胁迫下不同抗旱类型大豆叶片气孔特性变化研究[J]. 干旱地区农业研究, 2007, 25(2): 77-79.

[14] Ye Q, Heinen R B, Chaumont F. Role of aquaporins in leaf physiology [J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(11): 2971-2985.

[15] Ache P, Bauer H, Kollist H, et al. Stomatal action directly feeds back on leaf turgor: new insights into the regulation of the plant water status from non-invasive pressure probe measurements [J]. The Plant Journal, 2010, 62(6): 1072-1082.

[16] Prado K, Maurel C. Regulation of leaf hydraulics: from molecular to whole plant levels [J]. Frontiers in Plant Science, 2013.doi.org/10.3389/fpls.2013.00255

[17] 彭云玲, 赵小强, 任续伟, 等. 干旱胁迫对不同株型玉米大喇叭口期生长的影响[J]. 中国沙漠, 2013, 33(5): 1064-1070.

[18] Galmés, J, Flexas, J, Savé, R, et al. Water relations and stomatal characteristics of mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery [J]. Plant and Soil, 2007, 290(1): 139-155.

[19] Liu Y N, Du H M, He X X, et al. Identification of differentially expressed salt-responsive proteins in roots of two perennial grass species contrasting in salinity tolerance [J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(2): 117-126.

[20] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels [J]. Analytical Biochemistry, 1971, 44(1): 276-287.

[21] Han L B, Song G L, Zhang X Z. Preliminary observations on physiological responses of three turfgrass species to traffic stress [J]. Hortotechnology, 2008, 18(1): 139-143.

[22] Siminis C I, Kanellis A K, Roubelakis-Angelakis K A. Catalase is differentially expressed in dividing and nondividing protoplasts [J]. Plant Physiology, 1994, 105(4): 1375-1383.

[23] 李文砚, 韦持章, 孔方南, 等. 萘酚法测定木奶果果实中可溶性糖含量的研究[J]. 中国园艺文摘, 2015, (12): 7-8, 28.

[24] Madhava Rao K V, Sresty T V. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsbaugh) in response to Zn and Ni stresses [J]. Plant Science, 2000, 157(1): 113-128.

[25] Bates L S, Waldren R P, Teare I D. Rapid determination of free proline for water-stress studies [J]. Plant and Soil, 1973, 39(1): 205-207.

[26] Yu H, Chen X, Hong Y Y, et al. Activated expression of an *Arabidopsis* HD-START protein confers drought tolerance with improved root system and reduced stomatal density [J]. Plant Cell, 2008, 20(4): 1134-1151.

[27] Schuerger A C, Brown C S, Stryjewski E C. Anatomical features of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) grown under red light-emitting diodes supplemented with blue or far-red light [J]. Annals of Botany, 1997, 79(3): 273-282.

[28] 汪攀, 陈奶莲, 邹显花, 等. 植物根系解剖结构对逆境胁迫响应的研究进展[J]. 生态学杂志, 2015, 34(2): 550-556.

[29] Lobell D B, Roberts M J, Schlenker W, et al. Greater sensitivity to drought accompanies maize yield increase in the U.S. Midwest [J]. Science, 2014, 344(6183): 516-519.

[30] Zenda T, Liu Songtao, Wang Xuan, et al. Comparative proteomic and physiological analyses of two divergent maize inbred lines provide more insights into drought-stress tolerance mechanisms [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(10): 3225.

[31] 李平华, Ponnala L, Gandotra N, 等. 利用 Illumina 测序技术研究玉米花环结构维管束鞘细胞及叶肉细胞的基因表达[C]//中国作物学会. 2012 年全国玉米遗传育种学术研讨会暨新品种展示观摩会论文集. 郑州, 2012.

[32] 李真真, 张莉, 李思, 等. 玉米叶片气孔及花环和维管束结构对水分胁迫的响应[J]. 应用生态学报, 2014, 25(10): 2944-2950.

[33] Shatil-Cohen A, Attia Z, Moshelion M. Bundle-sheath cell regulation of xylem-mesophyll water transport via aquaporins under drought stress: A target of xylem-borne ABA? [J]. The Plant Journal, 2011, 67(1): 72-80.

[34] 王丽媛, 张玉, 徐明怡, 等. 植物磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶的研究进展[J]. 国土与自然资源研究, 2017, (5): 86-89.