

PEG 处理对蛇皮果幼苗的生理响应及酶变化研究*

孙程旭^{1,2}, 刘立云^{1,2}, 李荣生³, 曹红星^{1,2**}, 冯美利^{1,2}, 陈思婷^{1,2}, 张军^{1,2}

1. 中国热带农业科学院 椰子研究所, 海南 文昌 571339;
2. 海南省热带油料作物生物学重点实验室, 海南 文昌 571339;
3. 中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东 广州 510520)

摘要: 以蛇皮果幼苗为试验材料, 利用聚乙二醇 6000 (PEG-6000) 人工模拟水分胁迫环境, 设置 3 个胁迫强度处理 (轻度胁迫、中度胁迫、重度胁迫) 和 3 个胁迫持续时间处理 (持续 24, 48, 72 h), 研究干旱胁迫对蛇皮果幼苗生理生化指标的影响。结果表明: 随着 PEG 胁迫浓度的增加和胁迫持续时间延长, 蛇皮果幼苗叶片相对含水量都表现下降的趋势, 各胁迫处理都显著高于对照 ($P < 0.5$); 叶片相对电导率呈上升的趋势, 在处理 48, 72 h 时, 各浓度处理分别达到显著差异 ($P < 0.5$); 叶片丙二醛和脯氨酸的含量均都有不同程度升高, 重度胁迫处理时含量最高。不同浓度 PEG 处理在胁迫 24, 48, 72 h 时, SOD 活性在处理 24 h 表现最高, POD 活性都表现为轻度胁迫时最高, PPO 酶活性都分别表现为随着胁迫浓度的增加而增强。在各种指标中, 相对电导率、脯氨酸含量、丙二醛含量较为直观, 可以作为评价蛇皮果苗木抗旱性的依据。

关键词: 蛇皮果; PEG 胁迫; 质膜透性; 保护酶活性; 渗透调节

中图分类号: S 667.903.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X (2011) 05-0673-05

Biophysical Response and Enzyme Activity of Salak [*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss] to PEG Stress

SUN Cheng-xu^{1,2}, LIU Li-yun^{1,2}, LI Rong-sheng³, CAO Hong-xing^{1,2},
FENG Mei-li^{1,2}, CHEN Si-ting^{1,2}, ZHANG Jun^{1,2}

1. Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wenchang 571339, China;
2. Hainan Key Laboratory of Tropical Oil Crops Biology, Wenchang 571339, China;
3. Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China)

Abstract: The effect of drought on the seedlings was evaluated by testing the variance of physiological and biochemical parameters and this experiment were conducted using treatments of different polyethylene glycol (PEG-6000) concentrations (mild stress, moderate stress, severe stress) and different stress durations (24, 48, 72 h). The results indicated that the relative water content in leaves showed a decreased tendency with the increase of stress intensity and the treating time, and the control treatment was significant lower than other treatments ($P < 0.05$). The relative conductivity tended to increase and every treatment showed significant difference when treated with 48 h and 72h ($P < 0.05$); the proline and MDA content tended to increase and their highest values were attained under severe

收稿日期: 2010-04-12 修回日期: 2011-06-29 网络出版时间:

* 基金项目: 国家林业局“948”项目 (2007-4-11)。

作者简介: 孙程旭 (1976-), 男, 河南确山人, 硕士, 助理研究员, 主要从事植物生理生态研究。

E-mail: suncx@live.com

** 通讯作者 Corresponding author: 曹红星 (1977-), 女, 河南南阳人, 博士, 副研究员, 主要从事植物资源评价与分子遗传育种研究。E-mail: caohx@live.com

网络出版地址:

stress treatment; the highest activities of SOD, POD, PPO were attained when treated 24h, mild stress, severe stress, respectively. The index of relative conductivity, MDA content and soluble sugar were intuitive and as proper physiological indices for evaluating drought resistance of seedlings of salak.

Key words: salak; PEG stress; membrane permeability; activity of enzyme; osmoregulation

当植物蒸腾速率超过水分吸收速率或土壤缺乏树木可利用的水分时,植物将发生干旱胁迫^[1]。季节性干旱胁迫也是影响植物生长的重要逆境因子^[2-5]。在干旱条件下,树木在生长发育、形态结构以及生理生化特性等方面表现出一定的特点和规律性。其中以生理生化指标开展抗旱性研究为最活跃的领域。目前,海南时常发生季节性干旱,已成为影响植物正常生长发育及大面积栽培的主要限制因素之一。

蛇皮果 [*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss], 是东南亚著名水果,风味鲜美,营养丰富,在国际市场上颇受欢迎。目前已在我国海南、云南、广州等热区零星试种。但蛇皮果属地域性水果,对于原产地的光、温、水等需求具有专一性等^[6-7],有关温度对蛇皮果生长的影响已有研究^[8-9],但干旱对蛇皮果生理生化变化的影响还未见报道。

本试验以不同浓度 PEG-6000 溶液对蛇皮果幼苗进行模拟干旱胁迫处理,研究不同 PEG 胁迫浓度和胁迫时间处理下蛇皮果叶片内的相对含水量、游离脯氨酸、丙二醛 (MDA) 含量、质膜透性及保护酶活性等生理生化指标的变化,以期为蛇皮果的栽培、引种及耐旱品种的选育提供科学依据,并通过其植物体内一些生理生化指标变化的研究,探寻其变化机理,从而找到一些与抗旱性关系密切的指标作为抗旱性鉴定指标。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2009 年 8 月进行,选取生长一致、健壮的 8 个月生的水培蛇皮果 Pondoh 品种幼苗为材料。

1.2 方法

1.2.1 样品处理

用营养液配制的具有不同渗透势的聚乙二醇 (PEG-6000) 溶液中进行不同强度及不同持续时间的水分胁迫处理幼苗。各处理均在人工气候箱 (PYX-2500Q-B) 下进行,温度为 25℃,相对湿度为 75%~85%,光照强度 4 000 lx。处理后,选择生长良好,大小均匀的叶片为供试材料,各

处理的蛇皮果幼苗相同指标均在早晨 9:00 采样,每个指标采样 3 株,取每株的功能叶片(从上自第 3 叶片起,同一测定指标取同一序号的叶片),用自来水冲洗表面污物后,再用蒸馏水冲洗 2~3 次后,用吸水纸轻轻吸干叶片表面水分,混合采集叶片后进行指标测定,3 次重复。

1.2.2 不同水分胁迫强度处理

在新鲜营养液里加入 PEG6000 配制成不同质量分数的胁迫溶液:轻度胁迫 5% (50 g/L PEG)、中度胁迫 10% (100 g/L PEG)、重度胁迫 15% (150 g/L PEG),进行胁迫处理,以不加 PEG 6 000 的 1/2 Hoagland 营养液中的幼苗作为对照。

1.2.3 不同水分胁迫持续时间处理

各胁迫强度均设 3 组胁迫处理时间,分别在胁迫持续 24, 48, 72 h 时采集叶片,分别以持续培养 24, 48, 72 h 不加 PEG6000 的幼苗为对照,测定各项生理指标。

1.3 测试方法

叶片相对含水量采用万里强等方法^[10],细胞质膜透性根据朱根海等^[11]的方法略有改动,游离脯氨酸、丙二醛 (MDA)、SOD 和 POD 酶活性测定采用李合生等^[12]的方法,PPO 酶液提取^[13],活性采用姚延涛^[14]的方法。

所有指标测定均重复 3 次。采用 SPSS 17.0 数据处理系统进行分析。

2 结果与分析

2.1 PEG 胁迫对叶片相对含水量的影响

随着 PEG 胁迫浓度的增加和胁迫程度加深,不同处理相对含水量均有所下降(图 1)。水分胁迫处理 24 h 后,轻度胁迫和重度胁迫蛇皮果叶片相对含水量无显著差异,但均显著高于对照 ($P < 0.05$);胁迫处理 48 h 时,轻度胁迫和重度胁迫的叶片含水量无显著性差异,均显著高于对照但显著低于重度胁迫时的叶片含水量 ($P < 0.05$);胁迫处理 72 h 时,不同胁迫强度的叶片相对含水量进一步下降,变化趋势和处理 48 h 相似。其中轻度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的质膜透性分别比对照下降了 13.11%, 21.72%, 36.35%;中度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的质膜透性分别比对

照下降了 19.25%, 24.30%, 38.68%; 重度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的质膜透性分别比对照下降了 26.94%, 46.17%, 54.11%。

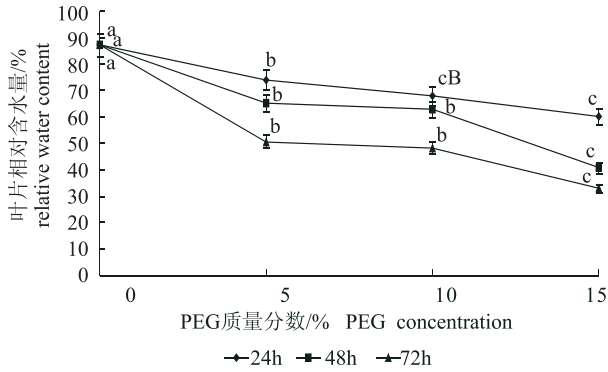


图 1 水分胁迫对蛇皮果幼苗叶片相对含水量的影响
Fig. 1 Effect of drought stress on the relative water content in leaves of salak seedlings

2.2 干旱胁迫对蛇皮果叶细胞膜透性及内渗透调节物质的影响

2.2.1 质膜透性的变化

在不同处理时间和处理强度下, 蛇皮果叶片质膜透性的变化如图 2 所示。不同浓度 PEG 处理的叶片质膜透性均随胁迫时间的延长而增大, 在处理 24, 48, 72 h, 不同浓度 PEG 处理叶片质膜透性分别都达到显著差异 ($P < 0.05$); 其中轻度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的质膜透性分别比对照升高了 12.60%, 32.20%, 6.66% 倍; 中度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的质膜透性分别是对照的 18.63%, 34.99%, 38.42%; 重度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的质膜透性分别是对照的 23.72%, 41.77%, 46.04%。

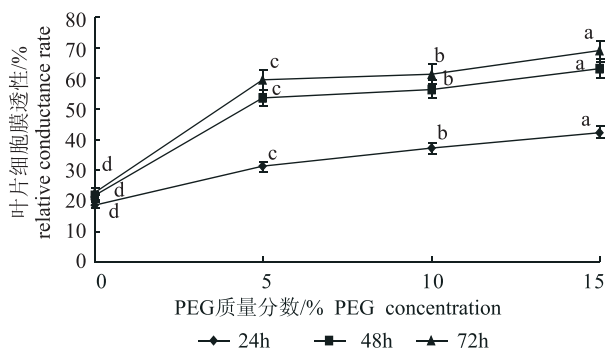


图 2 水分胁迫对蛇皮果幼苗叶片细胞膜透性的影响
Fig. 2 Effect of drought stress on cell membrane permeability in leaves of salak seedlings

2.2.2 丙二醛含量的变化

由图 3 可知, 随着 PEG 胁迫浓度的增加和胁迫持续时间延长, 叶片丙二醛含量均有不同程度

升高, 但重度胁迫时丙二醛含量变化幅度最大。在处理 48, 72 h, 不同浓度 PEG 处理丙二醛分别都达到显著差异 ($P < 0.05$)。其中轻度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的叶片 MDA 含量分别比对照升高了 0.49%, 0.78%, 2.26%; 中度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的叶片 MDA 含量分别比是对照升高了 1.07%, 1.24%, 2.48%; 重度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的叶片 MDA 含量分别是对照的 1.49%, 1.68%, 2.86%。

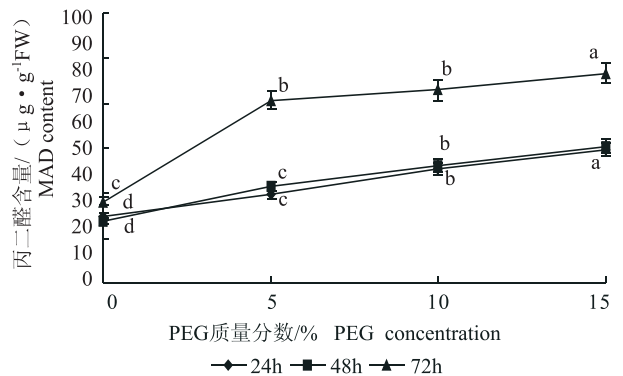


图 3 水分胁迫对蛇皮果幼苗叶片丙二醛含量的影响
Fig. 3 Effect of drought stress on MDA content in leaves of salak seedlings

2.2.3 脯氨酸含量的变化

由图 4 可看出, 不同浓度 PEG 处理的叶片脯氨酸含量随胁迫时间的延长均有不同程度升高。在不同的处理时间, 轻度胁迫时的脯氨酸含量和重度胁迫处理达到显著性差异, 和中轻度胁迫未达到显著性差异。其中轻度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的脯氨酸含量分别比对照上升了 0.23, 2.08, 2.72 $\mu\text{g/g FW}$; 中度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的脯氨酸含量分别比对照升高了 0.62, 2.34, 2.83 $\mu\text{g/g FW}$; 重度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的脯氨酸含量分别比对照升高了 0.88,

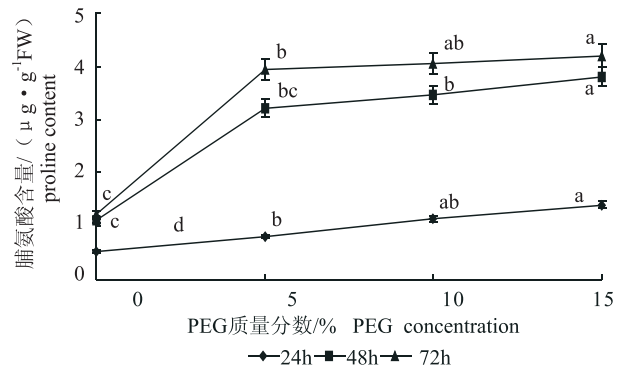


图 4 水分胁迫对蛇皮果幼苗叶片脯氨酸含量的影响
Fig. 4 Effect of drought stress on free proline content in leaves of salak seedlings

2.68, 2.98 $\mu\text{g/g FW}$ 。

2.3 干旱胁迫对叶内酶活性的影响

2.3.1 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的变化

从图 5 可知, 不同浓度 PEG 处理在胁迫 24, 48, 72 h 时, SOD 活性在处理 24 h 表现最高。其中轻度胁迫处理在 24, 48 h 的 SOD 活性分别比是对照升高了 2.19, 0.49 $\mu\text{g/g FW}$, 而 72 h 的 SOD 活性却下降了 0.60 $\mu\text{g/g FW}$; 中度胁迫处理在 24, 48 h 的 SOD 活性分别比对照升高了 2.76, 1.30 $\mu\text{g/g FW}$, 而 72 h 的 SOD 活性却下降了 0.12 $\mu\text{g/g FW}$; 重度胁迫处理在 24, 48 h 的 SOD 活性分别比对照升高了 4.64, 1.8 $\mu\text{g/g FW}$, 而 72 h 的 SOD 活性却下降了 0.09 $\mu\text{g/g FW}$ 。在 PEG 处理 24 h 时, SOD 活性最强。

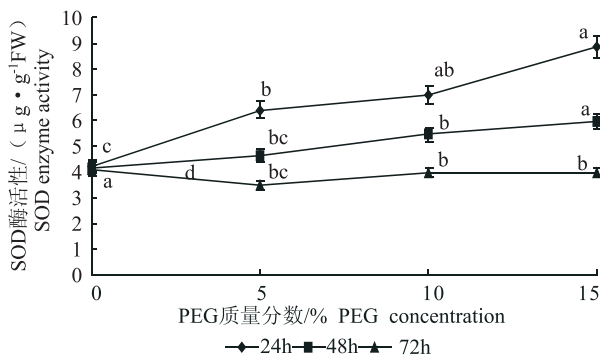


图 5 水分胁迫对蛇皮果幼苗叶片 SOD 活性的影响
Fig. 5 Effect of drought stress on SOD enzyme activity in leaves of salak seedlings

2.3.2 过氧化物酶 (POD) 活性的变化

由图 6 可知, 不同浓度 PEG 处理在不同处理时间, POD 活性都表现为轻度胁迫处理时最高。其中轻度和重度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的 POD 酶活性分别比对照有不同程度的升高, 轻度胁迫

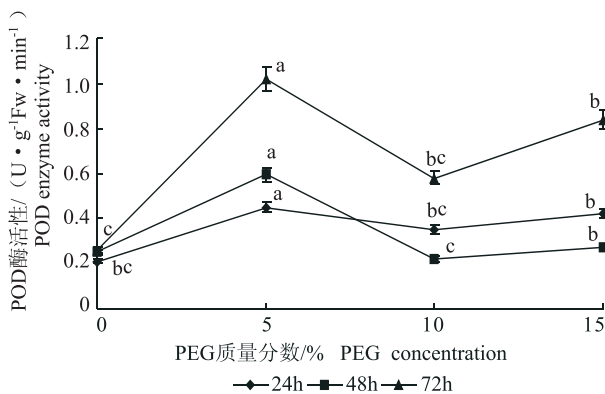


图 6 水分胁迫对蛇皮果幼苗 POD 活性的影响
Fig. 6 Effect of drought stress on POD enzyme activity in leaves of salak seedlings

处理和其它各处理存在着显著性差异; 中度胁迫处理在 24, 72 h 的 POD 酶活性分别比对照升高了 0.14 和 0.32 $\text{u/ (g FW} \cdot \text{min)}$, 而 48 h 却下降了 0.03 $\text{u/ (g FW} \cdot \text{min)}$ 。

2.3.3 PPO 酶活性的变化

从图 7 可知, 不同浓度 PEG 处理在胁迫 24, 48, 72 h 时, PPO 酶活性都分别表现为随着胁迫浓度的增加而增强, 中度胁迫处理分别和轻度胁迫、重度胁迫处理未达到显著性差异。其中轻度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的 PPO 活性分别比对照上升了 0.05, 0.10, 0.02 $\text{U/ (gFW} \cdot \text{min)}$; 中度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的脯氨酸含量分别比对照升高了 0.15, 0.15, 0.08 $\text{U/ (gFW} \cdot \text{min)}$; 重度胁迫处理在 24, 48, 72 h 的脯氨酸含量分别比对照升高了 0.21, 0.29, 0.12 $\text{U/ (gFW} \cdot \text{min)}$ 。

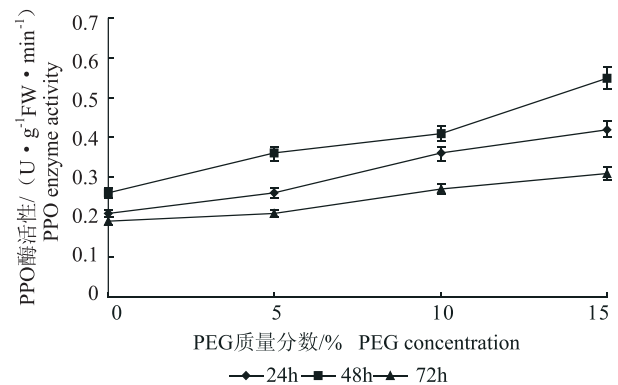


图 7 水分胁迫对蛇皮果幼苗 PPO 活性的影响
Fig. 7 Effect of drought stress on PPO enzyme activity in leaves of salak seedlings

3 讨论

大多数植物在水分胁迫条件下均会出现脱水现象^[15], 相对含水量 (RWC) 是反应植物水分状况的参数, 逆境中植物叶片相对含水量的大小, 在一定程度上反映其抗逆性的强弱。水分胁迫下, 其含量的变化可反映组织的抗脱水能力。在充分供水及轻度水分胁迫条件下叶片含水量基本保持稳定。随着 PEG 胁迫浓度和胁迫程度加深, 蛇皮果叶组织的相对含水量明显下降 (图 1), 这些变化表明, 叶片相对含水量在轻度水分胁迫过程中变化小于严重水分胁迫, 显示出较强的叶片保水能力, 因而能较好地维持细胞的正常生长。

在干旱等逆境胁迫过程中, 细胞内活性氧产生与清除的平衡会遭到破坏, 从而引起自由基的积累和膜脂过氧化, 使膜系统的结构和功

能受到损伤, 其透性增大 (图 2), 细胞内各种水溶性物质包括电解质将有不同程度的外渗, 伤害愈大, 外渗愈大, 电导率的增加也愈大^[16-17], 膜脂化作用导致积累膜脂过氧化物的最终分解产物二醛 (MDA)^[17-21] 和脯氨酸^[22], 造成植物细胞伤害。

生物膜是水分敏感的原初部位, 水分胁迫首先引起膜脂过氧化, 继而物理性状发生改变。丙二醛的含量增加速率较快 (图 3), 这表明植株开始表现为对干旱胁迫产生了强烈的反应, 而后通过植物体的积极调节作用, 丙二醛的增加速率减缓, 不同 PEG 浓度处理下的蛇皮果 MDA 含量均有所增加且都显著地高于对照 ($P < 0.05$), 在不同的处理时间, PEG 浓度越高, MDA 含量越高, 表明随着干旱程度的加剧, 细胞膜脂过氧化程度越大。蛇皮果对照叶片脯氨酸含量基本稳定 (图 4), 各处里随胁迫时间的延长都有不同程度升高, 轻度胁迫时的脯氨酸含量和重度胁迫处理达到显著性差异 ($P < 0.05$), 表明脯氨酸对干旱条件反应较敏感。

干旱胁迫的机理是水分胁迫造成的膜伤害包含着活性氧自由基伤害过程, PEG 激发 SOD 酶和 POD 酶活性以及 PPO 酶的相对稳定, 从而更好地保持活性氧自由基与防御系统之间的平衡, 降低了蛇皮果对渗透胁迫的敏感程度 (图 5~7), 因而减轻了膜脂过氧化产物 MDA 的产生, 降低了膜的损伤程度, 减少了渗透胁迫的伤害, 从而有利于蛇皮果苗的正常生长等。这可能是 PEG 胁迫激发了蛇皮果的防御机制, 并能有效的利用防御机制防止蛇皮果受到伤害, 其受害程度较低或没有受到伤害; 随着胁迫时间的延长, 蛇皮果的防御机制受到破坏或减弱, 其受害程度加强主要原因^[22-23]。

4 结论

在试验处理的范围内, 随着水分胁迫程度的增强和胁迫时间的延长, 蛇皮果幼苗叶片相对含水量下降、相对电导率增加, 细胞膜透性增强, 内渗透调节物质丙二醛和脯氨酸含量增加。SOD 活性在处理 24 h 表现最高, POD 活性都表现为轻度胁迫时最高, PPO 酶活性都分别表现为随着胁迫浓度的增加而增强。在各种指标中, 相对电导率、脯氨酸含量、丙二醛含量的变化比较直观, 可以作为评价蛇皮果苗木抗旱性的依据。

[参考文献]

[1] 李燕, 薛立, 吴敏. 树木抗旱机理研究进展 [J].

生态学杂志, 2007, 26 (11): 1857-1866.

- [2] 庄丽, 陈亚宁, 李卫红, 等. 干旱区荒漠植被丙二醛及保护酶活性对地下水位的响应 [J]. 冰川冻土, 2005, 27 (5): 723-733.
- [3] 孙彩霞, 沈秀瑛, 刘志刚. 作物抗旱性生理生化机制的研究现状和进展 [J]. 杂粮作物, 2002, 22 (5): 285-288
- [4] 姚觉, 于晓英, 邱收, 等. 植物抗旱机理研究进展 [J]. 华北农学报, 2007, 22 (z1): 51-56.
- [5] BECKER M, NIEMINET M, GEREMIA F. Short-term variation and long-term changes in oak productivity in northeastern France: the role of climate and atmospheric CO₂ [J]. Annales Des Sciences Forestieres, 1994, 51: 477-492.
- [6] 黎祐琛, 邱治军. 树木抗旱性及抗旱造林技术研究综述 [J]. 世界林业研究, 2003, 16 (4): 17-22.
- [7] AGROMEDIA R. Budi Daya Salak [M]. Jakarta: AgroMedia, 2007: 12-13.
- [8] 孙程旭, 曹红星, 陈思婷, 等. 应用电导率法及 Logistic 方程测试蛇皮果抗旱性研究 [J]. 江西农业学报, 2009, 21 (4): 33-35.
- [9] 曹红星, 孙程旭, 陈思婷, 等. 蛇皮果幼苗耐寒性初步研究 [J]. 热带作物学报, 2009, 30 (6): 751-755.
- [10] 万里强, 石永红, 李向林, 等. PEG 胁迫下 3 个多年生黑麦草品种抗性生理研究 [J]. 草地学报, 2009, 17 (4): 440-444
- [11] 朱根海, 刘祖祺, 朱培仁. 应用 Logistic 方程确定植物组织低温半致死温度研究 [J]. 南京农业大学学报, 1986 (3): 11-16.
- [12] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 195-263.
- [13] 李云峰, 杨秀清, 姚延涛, 等. 铜锌元素在仁用杏树不同生育期的循环规律初探 [J]. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2003, 23 (3): 208-211.
- [14] 姚延涛. 华北落叶松铜、铝含量及多酚氧化酶活性研究 [J]. 林业科学研究, 1998, 11 (1): 94-98.
- [15] BRAAM J, SISTRUNK M L, POLISENSKY D H, et al. Plant responses to environmental stress: regulation and functions of the arabidopsis TCH genes [J]. Planta, 1997, 203 (Suppl): S35-S41.
- [16] 茹广欣, 郝绍菊, 茹桃勤, 等. 干旱梯度下刺槐无性系生理指标的变化与品种抗旱性关系的研究 [J]. 河南科技学院学报: 自然科学版, 2006, 34 (1): 37-40.
- [17] 许发喜, 刘翠芳, 邹杰, 等. 陈信波植物角质层对非生物逆境胁迫响应研究进 [J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30 (8): 126-130.
- [18] 赵黎芳, 张金政, 张启翔, 等. 水分胁迫下扶芳藤幼苗保护酶活性和渗透调节物质的变化 [J]. 植物研究, 2003, 23 (4): 437-442.