

不同狗牙根品种对聚乙二醇胁迫反应的差异

易杨杰, 张新全, 高 杨, 严 欢, 初秀娟

(四川农业大学 草业科学系 四川 雅安 625014)

摘 要:以聚乙二醇(PEG)作为渗透胁迫剂,对5份狗牙根品种(系)进行干旱胁迫。观测其植株叶片相对含水量、叶绿素总含量、相对电导率、游离脯氨酸含量以及丙二醛含量。随着PEG-6000浓度的提高以及胁迫时间的延长,狗牙根叶片相对含水量和叶绿素总含量呈递减趋势;相对电导率和丙二醛含量呈递增趋势;游离脯氨酸含量则先递增后达到一个峰值,随后稍微有点下降。对5个理化指标的抗旱系数进行隶属函数分析,得出各狗牙根的抗旱性由强到弱的顺序为: Sau02011、Sau9926、南京狗牙根、Tifway、Sau9928。

关键词:狗牙根;聚乙二醇;相对含水量;游离脯氨酸含量;隶属函数

中图分类号:S 688.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)09-0096-04

狗牙根(*Cynodon dactylon* L. Pers.),又叫铁线草、爬地草,属于禾本科狗牙根属。狗牙根原产于非洲,分布在热带、亚热带和温带沿海地区。在美国的南部、非洲、欧洲、亚洲的南部各国都有分布^[1],为世界广布种。在我国,狗牙根主要分布于黄河流域及其以南地区,此外新疆、吉林、青海、甘肃、河北等地均有分布^[2]。

为了更好地开发利用狗牙根,除了对其形态学^[3-6]、细胞学^[7]、坪用价值^[8]和遗传多样性^[9-13]等方面的研究以外,筛选更加耐旱的狗牙根品种(系)也是极为重要的方面。聚乙二醇(PEG)是一种非离子、非穿透性的渗透和干旱调节剂^[14]。高分子量的PEG($\geq 6\ 000$)不能穿过细胞壁,通过结合细胞外的自由水使细胞处于低水势的环境中,从而导致细胞内水分流出,引起细胞塌陷^[15]。目前,利用高浓度PEG已在烟草^[16]、苜蓿^[17]、向日葵^[18]等物种中筛选出耐旱的突变体。

试验以5个狗牙根品种(系)为材料,研究了在不同浓度的PEG-6000胁迫下,不同狗牙根品种生理生化变化特征,为从种质资源方面探索狗牙根的抗旱性提供一定的理论依据和实践基础,也为狗牙根抗旱育种及新品种推广应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于四川省雅安市青衣江流域四川农业大

学草学系基地内,地理坐标北纬 $30^{\circ}8'$,东经 $103^{\circ}14'$,海拔600 m,属北亚热带湿润季风气候区。年平均气温 16.2°C ,最热月(7月)均温 25.3°C ,最冷月(1月)均温 6.1°C ,极端最高气温 37.7°C ,年降水量1 774.3 mm,年蒸发量1 011.2 mm,相对湿度79%,日照时数1 039.6 h,无霜期304 d,大于 10°C 年积温 $5\ 231^{\circ}\text{C}$ 。试验地土壤为紫色土,pH值为6.2。

1.2 试验设计

供试材料为四川农业大学草业科学系多年栽培培育而成的3个狗牙根品系: Sau9926、Sau9928、Sau02011,加上国内育成的品种南京狗牙根以及国外的品种“Tifway”,共5个材料。从草业科学系试验农场取回带根的狗牙根材料,把根部洗净并分别浸入浓度为0%(对照)、5%、10%、20%的PEG-6000溶液中,保证狗牙根的根系与溶液充分接触,并设3次重复。培养24 h和48 h后,进行各项生理生化指标的测定。

1.3 观测指标

叶片相对含水量(RWC):采用鲜重法测定^[19];细胞膜透性(RPP):电导仪法测定;游离脯氨酸(Pro)含量:采用茚三酮比色法测定^[20];丙二醛(MDA)含量:采用硫代巴比妥酸法测定;叶绿素(Chl)含量:采用分光光度计法测定^[21]。

1.4 数据处理

抗旱系数根据公式将各个指标的原始数据进行转换,并进行简单相关分析。然后利用隶属函数法分析各狗牙根品种(系)的抗旱性强弱。单项指标抗旱系数计算公式如下:

$$\text{抗旱系数 } \alpha(\%) = \frac{\text{处理测定平均值}}{\text{对照测定值}} \times 100\% \quad (1);$$

$$\text{隶属函数计算公式为: } R(X_i) = \frac{(X_i - X_{\min})}{(X_{\max} - X_{\min})} \quad (2);$$

第一作者简介:易杨杰(1982-),男,四川崇州人,在读硕士,研究方向为草种质资源创新及育种。E-mail: yyj_914@yahoo.com.cn。

通讯作者:张新全。E-mail: zhangxq@sicau.edu.cn。

基金项目:科技部“973”资助项目(2007CB108907);四川省青年基金资助项目(07ZQ026-121)。

收稿日期:2008-03-24

反隶属函数计算公式为: $R(X_i) = 1 - (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$ (3)。

式中 X_i 为各材料的某一指标的抗旱系数, X_{\max} 、 X_{\min} 分别为所有材料中指标抗旱系数的最大值和最小值。

2 结果与分析

2.1 PEG 胁迫对狗牙根叶片相对含水量的影响

水分对植物的生命活动十分重要, 它的多少将直接影响着植物的光合作用、呼吸作用、体温调节、物质合成与代谢等生命活动。相对含水量(RWC)即组织含水量占饱和含水量的百分数, 它是反映植物体内水分状况最为常用的一种指标。干旱胁迫下, 植物 RWC 含量的高低与其抗旱性呈正相关^[23]。

各供试狗牙根材料在 PEG 胁迫 24 h 之后, 叶片相对含水量的变化如图 1 所示。在 PEG 浓度为 0%(CK) 时, 各材料之间的 RWC 基本一致。随着 PEG 浓度的不断升高, RWC 下降幅度明显。在 PEG 浓度为 5% 时, 下降幅度最大的是 Sau9928 其 RWC 值从 88.32% 下降到 52.63%, 降低了 35.69%, RWC 曲线位于其它材料的下方, 但在随后 PEG 浓度增加的过程中, 其下降幅度减缓, 并在 PEG 浓度为 20% 时, 有最小的 RWC 值, 为 25.07%; 在整个浓度增加的过程中, Sau02011 和 Tifway 的 RWC 的变化趋势相当; Sau9926 和南京的 RWC 的变化也极为相似, 变化曲线几乎重合。

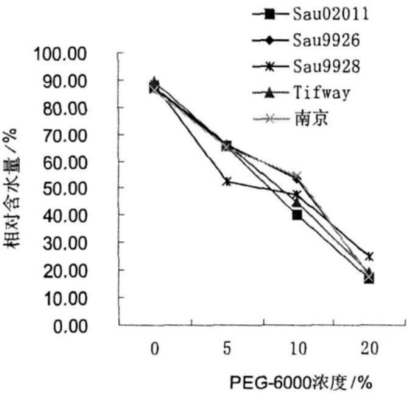


图1 PEG 胁迫 24 h 后各材料叶片相对含水量变化趋势

各供试狗牙根材料在 PEG 胁迫 48 h 之后, 其叶片相对含水量随着 PEG 浓度的不断升高, RWC 下降趋势基本一致。除 Sau02011 的 RWC 值下降幅度最大之外, 其余材料的 RWC 的变化范围相差不大。

2.2 PEG 胁迫对狗牙根细胞膜相对透性的影响

干旱胁迫可引起植物细胞膜不同程度的伤害, 使膜的选择透性降低或丧失, 导致细胞内电解质外渗, 组织浸出液的电导率增大, 并且随着胁迫时间的延长而增

大^[23]。因此通过测定组织浸出液的电导率变化即可反映出膜受害程度和植物抗旱性的强弱。

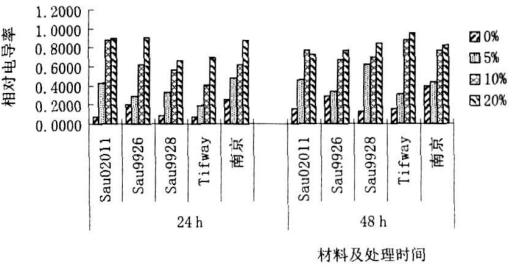


图2 PEG 胁迫下各材料相对电导率变化趋势

5 个狗牙根品种(系)在 PEG 胁迫下, 细胞膜相对透性增大, 其叶片的相对电导率随处理浓度的提高、处理时间的延长而呈递增趋势(图 2)。在 PEG 浓度从 0% 增加到 20% 的过程中 (24 h), 材料 Sau02011、Sau9926、Sau9928、Tifway 和南京的相对电导率的增幅分别为 0.8230、0.7121、0.5753、0.6240 和 0.6247。增幅最小的是 Sau9928。处理 48 h 后, 材料 Sau02011、Sau9926、Sau9928、Tifway 和南京的相对电导率的增幅分别为 0.5663、0.4800、0.7152、0.7926 和 0.4271, 增幅最小的是南京狗牙根。相对电导率增幅较小, 说明其细胞膜的受损程度较小, 抗旱性相对较强。

2.3 PEG 胁迫对狗牙根游离脯氨酸(Pro)含量的影响

渗透调节是植物抵御逆境的一种自卫反应, 通过主动积累溶质、降低渗透势, 从而降低水势, 以保持外界吸水, 维持细胞膨压等生理过程的正常进行。在正常情况下, 植物游离脯氨酸含量很少, 但在逆境胁迫下, 脯氨酸的含量升高有利于植物体对逆境胁迫的抵抗, 从而在一定程度上都可能增加生物体对胁迫环境的适应性^[24]。由图 3 可知, 在 PEG 的胁迫下, 各狗牙根材料的脯氨酸含量都出现了不同程度的积累, 均高于对照, 在 PEG 浓度为 20% 的时候达到最高峰 (24 h 后), 但随着时间的推移 (48 h 后), 各材料的脯氨酸含量稍微有点下降, 这可能是由于体内的酶受到伤害而失去活性, 阻碍了脯氨酸的合成过程。

一般情况下, 脯氨酸含量积累峰值越大的植物的抗旱性越强。在整个 PEG 胁迫过程中, 各材料脯氨酸积累值均在 PEG 浓度为 20% 的时候出现最大值 (24 h 后), 即它们出现峰值的时间基本相同。峰值最大的是野生材料 Sau9926, 为 20.78 mg/g, 其次是 Sau02011 和 Tifway, 峰值分别为 20.43 mg/g 和 19.28 mg/g, 最小的是南京和 Sau9928, 峰值分别为 18.99 mg/g 和 18.89 mg/g。由此可以看出, 5 个狗牙根品种(系)都可以采用渗透调节来抵御干旱, 而其中 Sau9926 的渗透调节能力相对较强。

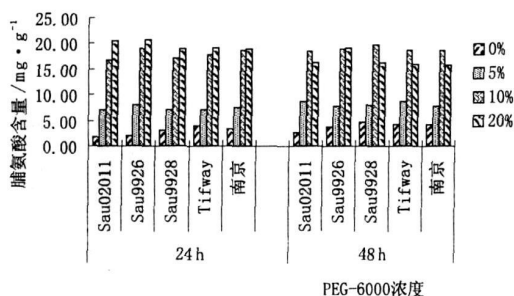


图3 PEG胁迫下各材料脯氨酸含量变化趋势

2.4 PEG胁迫对狗牙根丙二醛(MDA)含量的影响

MDA是膜脂氧化的最终产物,其含量变化反映了植物所受胁迫的伤害程度。研究表明^[23],在逆境胁迫下,MDA的变化量已被作为评价逆境伤害程度和植物适应性的指标而广泛应用。

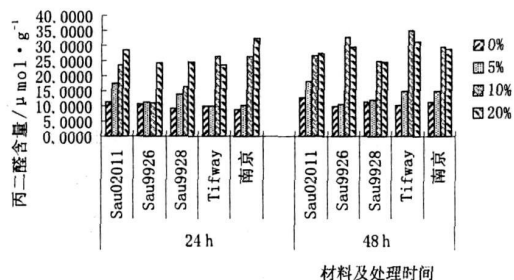


图4 PEG胁迫下各材料丙二醛含量变化趋势

由图4可知,在PEG胁迫下各材料的MDA含量均不同程度地高于对照。大部分材料在0%~5%PEG浓度下,MDA含量上升缓慢,而在5%~10%PEG浓度下,MDA含量出现大幅度的提升,大部分材料的MDA含量在PEG浓度为20%的时候达到峰值。可以看出该PEG浓度对狗牙根的细胞膜系统能造成较大程度的损伤。PEG处理24h后,MDA含量增幅最小的是Tifway,为13.5148;PEG处理48h后,MDA含量增幅最小的是Sau9928,为12.8885。随着胁迫时间地延长(48h),各材料积累的MDA含量大多高于胁迫时间短(24h)的材料。

2.5 PEG胁迫对狗牙根叶片叶绿素含量的影响

干旱胁迫使狗牙根植株体内水分亏缺达一定程度时,会造成叶绿素体的变形和片层结构的破坏,叶绿素降解,其含量发生变化。由图5中可知,在PEG胁迫下的狗牙根材料,其叶绿素含量均有不同程度的下降。在PEG胁迫24h后,随着PEG浓度的升高,材料Sau9926的叶绿素含量下降最快,从约4.6mg/g下降为2.6mg/g左右,随后稍微有点提高。在PEG浓度升高的过程中,南京狗牙根的叶绿素含量下降的幅度最小,只比对照降低了33.75%。横向比较,PEG处理48h后的叶片叶绿素含量均低于只处理24h的材料的叶绿素含量。

2.6 简单相关分析及隶属函数分析

对5个狗牙根品种(系)5个指标的抗旱系数进行相关分析得到相关关系矩阵(表1)。所有理化指标间都存在一定的相关性,从而使得它们所提供的信息发生重叠,同时各指标在狗牙根抗旱性中所起的作用也不尽相同,如直接利用这些指标进行抗旱性评价,也不能真实、准确地反映狗牙根的抗旱能力。

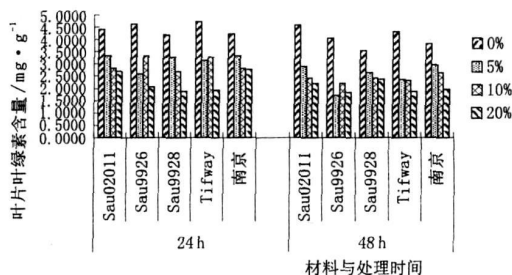


图5 PEG胁迫下各材料叶绿素含量变化趋势

表1 5个生理指标抗性系数间的相关关系

理化指标	丙二醛 X1	相对电导率 X2	脯氨酸 X3	相对含水量 X4	叶绿素a/b值 X5
丙二醛 X1	1.000				
相对电导率 X2	-0.413	1.000			
脯氨酸 X3	-0.210	-0.027	1.000		
相对含水量 X4	0.748	-0.137	-0.748	1.000	
叶绿素a/b值 X5	0.315	-0.148	0.842	-0.273	1.000

对5个理化指标的抗旱系数利用公式(2)和公式(3)进行隶属函数分析,并求其平均值,以评价其抗旱强弱。根据隶属函数平均值的大小对各狗牙根品种(系)的抗旱性进行排序(表2),抗旱性由强到弱的顺序为: Sau02011、Sau9926、南京狗牙根、Tifway、Sau9928。

表2 PEG-6000胁迫下狗牙根隶属函数值

品种(系)名	R(1)	R(2)	R(3)	R(4)	R(5)	S
Sau02011	0.887	0.359	1.000	0.000	1.000	0.649
Sau9926	0.133	0.908	0.400	0.521	0.652	0.523
Sau9928	1.000	0.000	0.000	0.421	0.000	0.284
Tifway	0.000	0.270	0.140	1.000	0.681	0.418
南京 Nanjing	0.550	1.000	0.083	0.666	0.299	0.519

注:表中R(1)、R(2)、R(3)、R(4)、R(5)分别表示丙二醛、相对电导率、脯氨酸、相对含水量和叶绿素a/b值的隶属函数值,S代表隶属函数平均值。

3 小结与讨论

通过比较5项生理指标的变化规律,结果显示:随着PEG浓度的增加和胁迫时间的延长,5份狗牙根材料的5项生理指标中叶片的相对含水量和叶绿素总含量呈递减趋势;相对电导率和丙二醛含量呈递增趋势;游离脯氨酸含量则先递增后达到一个峰值,随后稍微有点下降。

隶属函数分析提供了一条在多指标测定基础上对植物抗旱性进行综合评价的途径,避免了单一指标的片面性。不同狗牙根种质资源其抗旱机制可能不同,因此,利用多指标对种质资源的抗旱性进行综合评价,能

更好的揭示狗牙根对 PEG 胁迫下的适应机制, 提高抗旱鉴定的准确性。

在色素含量指标方面, 前人多是对叶绿素总量进行研究, 认为干旱时, 其含量越高, 品种越抗旱。而有研究表明^[5,21], 叶绿素 a/b 的比值越大, 品种越抗旱, 叶绿素 a/b 的比值比叶绿素总量在抗旱生理指标的研究上更为可靠。该试验即以各材料的叶绿素 a/b 值进行相关分析和隶属函数分析, 而分析结果也基本和上面的研究相一致。

植物的抗旱性是一个复杂的综合特性, 发生在生长发育的各个阶段。植物在不同生育时期对水分的反应不同, 抵抗干旱胁迫的内在机制也不同。尤其目前所采用的抗旱性研究方法多为阶段性控水处理, 因而对于一个品种全生育期抗旱性进行鉴定, 不仅需将形态指标和生理生化指标相结合, 且需综合评定各生育期的抗旱性, 从而提高抗旱性鉴定的可靠性和科学性。

参考文献

[1] 董宽虎, 沈益新. 饲草生产学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
[2] 谭继清, 谭志坚. 中国草坪地被[M]. 重庆: 重庆出版社, 1999.
[3] Hadan J R, de Wet J M J. Sources of variation in *Cynodon dactylon* (L.) Pers[J]. Crop Sci, 1969(9): 774-778.
[4] 刘健秀, 郭爱桂, 郭海林. 我国狗牙根种质资源形态变异及形态类型划分[J]. 草业学报, 2003, 12(6): 99-104.
[5] 孙宗玖, 阿不来提, 李培英. 新疆狗牙根农艺性状及利用价值初探[J]. 草业科学, 2006, 23(5): 36-40.
[6] 张小艾, 张新全. 西南区野生狗牙根形态多样性研究[J]. 草原与草坪, 2006(3): 35-38.
[7] 马克群, 刘健秀, 胡化广, 等. 狗牙根属部分优良选系染色体倍性的初步研究[J]. 草业科学, 2006, 23(4): 82-85.
[8] 王赞, 毛凯, 吴彦奇, 等. 四川攀西地区野生狗牙根坪用价值研究[J]. 草业科学, 2005, 22(1): 91-93.
[9] Asefa S, Taliaferro C M, Anderson M P, et al. Diversity among *Cynodon* accessions and taxa based on DNA amplification fingerprinting[J]. Genome, 1999, 42: 465-474.
[10] Zhang L H, zias-Akins P O, Kochert G, et al. Differentiation of bermudagrass(*Cynodon* spp.) genotypes by AFLP analyses[J]. Theor. Appl. Genet,

1999, 98: 859-902.
[11] Karaca M, Saha S, Zipf A, et al. Genetic diversity among forage bermudagrass (*Cynodon* spp.): Evidence from chloroplast and nuclear DNA fingerprinting[J]. Crop Sci, 2002, 42: 2118-2127.
[12] Wu Y Q, Taliaferro C M, Bai G H, et al. Genetic diversity of *Cynodon transvaalensis* Burt-Davy and its relatedness to hexaploid *C. dactylon* (L.) Pers. As indicated by AFLP markers[J]. Crop Sci, 2005, 45: 848-853.
[13] 刘伟. 西南区野生狗牙根种质资源遗传多样性与坪用价值研究[D]. 四川农业大学, 2006.
[14] 王文国, 赵小光, 王胜华, 等. PEG 胁迫对不同培养方式下金发草愈伤组织再生能力的影响[J]. 生物工程学报, 2007, 23(2): 337-342.
[15] 张立军, 樊金娟, 阮燕晔, 等. 聚乙二醇在植物渗透胁迫生理研究中的应用[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(3): 361-364.
[16] Heyser J W, Nabors M W. Osmotic adjustment of tobacco cell and plants to and penetrating and non-penetrating solutes[J]. Plant Physiol Suppl, 1979, 83-77.
[17] 张志胜, 赵世绪. 渗透胁迫下苜蓿愈伤组织的生长和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(1): 21-23.
[18] Hassan N S, Shaaban L D, Hashem E A, et al. In vitro selection for water stress tolerant callus line of *Helianthus annuus* L. cv. Myak[J]. Int J Agr&Bio, 2004, 6(1): 13-18.
[19] 孙群, 胡景江. 植物生理学实验技术[M]. 杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2005.
[20] 郝再彬, 苍晶, 徐仲. 植物生理学实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004.
[21] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2003.
[22] 周瑞莲. 应用生物化学技术进行牧草逆境性鉴定的原理和方法[J]. 中国草地, 1991(3): 56-59.
[23] 曾兵, 张新全, 彭燕, 等. 优良牧草鸭茅的温室抗旱性研究[J]. 湖北农业科学, 2006, 45(1): 103-106.
[24] 涂三思, 秦天才. 高温胁迫对黄姜叶片脯氨酸、可溶性糖和丙二醛含量的影响[J]. 湖北农业科技, 2004(4): 98-100.
[25] 卢少云, 郭振飞. 草坪草逆境生理研究进展[J]. 草业学报, 2003, 12(4): 7-13.
[26] 程建峰, 潘晓云, 刘宜柏, 等. 快速鉴定稻种资源抗旱性的生理指标筛选及其遗传背景[J]. 西南农业学报, 2005, 18(5): 529-533.
[27] 张明生, 谈峰. 水分胁迫下甘薯叶绿素 a/b 比值的变化及其与抗旱性的关系[J]. 种子, 2001(4): 23-25.

Differing Response of Different *Cynodon dactylon* Varieties under Polyethylene Glycol Stress

YI Yang-jie, ZHANG Xin-quan, GAO Yang, YAN Huan, CHU Xiu-juan
(Department of Grassland, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

Abstract: Five *Cynodon dactylon* varieties were subjected to drought stress, using polyethylene glycol (PEG) as the stress reagent. Relative water content (RWC), chlorophyll content, relative conductance rate (RPP), dissociated praline (Pro) and malondialdehyde (MDA) were analyzed. Along with the enhance of PEG-6000 consistence and prolong the stress time, the RWC and chlorophyll content presented descending; while the RPP and the MDA presented increasing; the Pro presented first increasing then descending. The drought coefficients of five physiological parameters were evaluated by subordinate function analysis. The capacity of drought resistance of the five varieties was ordered as follows: Sau0201> Sau9926> Nanjing> Tifway> Sau9928.

Key words: *Cynodon dactylon*; Polyethylene glycol; Relative water content (RWC); Dissociated praline (Pro); Subordinate function