

芥菜在聚乙二醇模拟干旱条件下的生理变化研究

李卫芬, 秦 荣, 刘发万, 李 帆

(云南省农业科学院 园艺研究所, 云南 昆明 650205)

摘要:以云南地方芥菜品种“M100”(*Brassica juncea* Coss.)为试材, 研究了5%、8%和10%聚乙二醇(PEG6000)渗透胁迫下芥菜幼苗的叶绿素含量、丙二醛(MDA)含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、相对含水量、相对电导率和 Fv/Fm 等生理指标随胁迫处理时间的变化。结果表明:随着PEG6000胁迫时间的延长或PEG6000浓度的升高, 芥菜叶片叶绿素含量、相对含水量、 Fv/Fm 下降比较明显, MDA含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量和相对电导率则表现出不同程度的增加趋势。其中MDA含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、相对含水量和相对电导率5个指标在PEG6000浓度为10%时, 各处理间差异显著, 因此, 这5个指标可用于测定芥菜的耐旱性。

关键词:芥菜; 苗期; 抗旱性; 聚乙二醇(PEG6000); 模拟干旱胁迫

中图分类号:S 637 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)21-0005-04

芥菜(*Brassica juncea* Coss.)属十字花科(Cruciferae)芸薹属(*Brassica*)中的1个栽培种, 目前全国有芥菜类蔬菜五大类17个变种, 云南有四大类9个变种^[1], 云南食用芥菜在芥菜类蔬菜中种质资源最为丰富, 全省普遍栽培, 适应性最广。据统计, 2011年云南省蔬菜种植面积约80万hm², 占全省农作物播种面积的3%~4%, 产值已占种植业总产值的18%~20%, 云南蔬菜产业已成为云南高原特色农业的重要支柱产业。但近几年, 云南连续出现大干旱, 旱情的持续加剧造成农作物的严重减产, 甚至颗粒无收, 研究如何提高蔬菜作物和粮食作物抗旱性已成为国内外许多学者探讨的重要课题^[2]。与粮食作物和其它农作物相比, 蔬菜尤其是叶菜类蔬菜是需水量较大的作物, 对水分的反应尤为敏感, 因此, 研究降低蔬菜作物对于干旱胁迫的敏感性, 通过提高蔬菜作物的抗旱性或者耐旱性来增加蔬菜作物产量已经成为当前蔬菜研究的热点。聚乙二醇(PEG6000)是一种高分子渗透剂, 目前实验室条件下大都采用PEG6000高渗溶液来模拟干旱胁迫, 该方法具有简单易行、条件易控制、重复性好、试验周期短等优点, 已被广泛应用于蔬菜、花卉、农作物及林木等多种植物苗期抗旱性鉴定。

现以云南地方芥菜品种德庆“M100”(*Brassica juncea*

第一作者简介:李卫芬(1977-), 女, 云南丽江人, 硕士, 助理研究员, 现主要从事蔬菜资源开发与利用等研究工作。E-mail: 1614242375@qq.com.

责任作者:秦荣(1960-), 男, 云南昆明人, 助理研究员, 现主要从事蔬菜资源开发与利用等研究工作。E-mail: 35670188@qq.com.

基金项目:云南省科技厅新产品开发计划专项资助项目(2011BB006)。

收稿日期:2013-06-19

Coss.)为试材, 采用不同体积分数的聚乙二醇(PEG6000)高渗溶液模拟干旱胁迫, 研究不同程度的干旱胁迫对芥菜幼苗生理特性的影响, 并探索芥菜品种抗旱性的快速鉴定方法, 为云南省的芥菜育种和抗旱品种的选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在前期试验基础上, 从149份云南地方芥菜品种中初步筛选出耐旱性最强的品种德庆“M100”(*Brassica juncea* Coss.)为供试材料。

1.2 试验方法

供试芥菜种子用70%酒精灭菌2 min, 再用0.5%次氯酸钠消毒2 min, 用无菌水清洗3次, 每次2 min。灭菌的种子在冰箱4℃春化1 d后, 种子点到装有1/2MS无糖琼脂培养基的3 mL离心管中培养, 培养3 d左右切离心管底部, 转移到水培盒中继续进行水培培养, 水培营养液采用Hogland配方, 培养时光照强度为100 μmol·m⁻²·s⁻¹。

选取生长一致的芥菜, 分别利用5%、8%、10%不同体积分数的PEG6000处理24、48、72、96、120 h, 每处理3次重复, 每重复14株苗, 每天定时定量添加10%的PEG6000, 以保持在一个相对稳定的浓度。以清水为对照(CK)。

1.3 项目测定

叶绿素含量采用DMF浸提法测定; PSII潜在最大光化学效率 Fv/Fm 采用美国产OS5-FL型饱和脉冲叶绿素荧光分析仪测定; 脯氨酸含量采用茚三酮法测定; 可溶性糖含量采用恩酮法测定; 电导率采用电导仪法测定; 丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸显色法测定;

相对含水量采用称重法测定^[3]。

1.4 数据分析

试验数据均采用 Excel 和 DPS 软件进行统计分析软件;采用 Duncan 新复极差法进行显著性分析,如无具体说明,P 值均小于 0.01。

2 结果与分析

2.1 PEG6000 模拟干旱胁迫对芥菜苗期叶绿素含量的影响

由图 1 可知,芥菜幼苗的叶绿素随着 PEG6000 胁迫浓度的增加和时间的延长而呈下降趋势,其中 5% 低浓度胁迫下,72 h 前与对照相比无显著差异,而 96、120 h 处理后叶绿素的含量比对照降低了 30.5% 和 34.9%,且与对照差异显著。但在 10% 高浓度 PEG6000 渗透胁迫 24、48、72、96、120 h 后,其叶绿素比对照分别减少了 37.7%、43.5%、46.5%、51.7%、54.7%,说明在 PEG6000 渗透胁迫下,芥菜幼苗的叶绿体受到了损害,且随着胁迫程度的加强,叶绿素大幅度降解,直接造成了其光合速率下降。

2.2 PEG6000 模拟干旱胁迫对芥菜苗期丙二醛(MDA)含量的影响

由图 2 可以看出,MDA 含量随 PEG6000 浓度的升高和胁迫时间的延长呈上升趋势,特别在 8%、10% 的

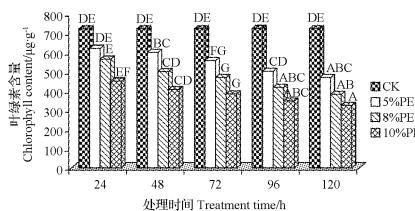


图 1 PEG6000 胁迫下芥菜幼苗叶绿素含量的变化

Fig. 1 The change of chlorophyll content in mustard seedlings at different concentrations of PEG6000 stress

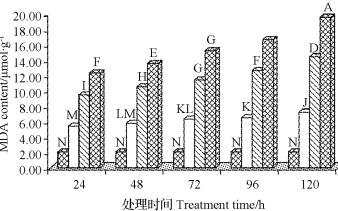


图 2 PEG6000 胁迫下芥菜幼苗 MDA 含量的变化

Fig. 2 The change of MDA content in mustard seedlings at different concentrations of PEG6000 stress

2.4 PEG6000 模拟干旱胁迫对芥菜苗期叶片相对电导率影响

由图 4 可知,膜透性随着 PEG6000 浓度的增加和胁迫时间的延长而呈上升趋势,其中在渗透胁迫 120 h 后,当 PEG6000 为 5%、8%、10% 时,芥菜叶片相对电导率分别比对照高出 24.7%、92.3%、143.2%,各处理间差异显著,该结果能较好地反映芥菜在干旱胁迫下叶片细胞膜相对透性的变化。从相对电导率随时间的变化可以看出,随胁迫时间的延长,相对电导率急剧增加,说明在 PEG6000 渗透胁迫下,芥菜幼苗细胞受到了一定的伤害,而且渗透胁迫强度越大,受到的伤害越重。当 PEG6000 浓度为 10% 时,经 24、48、72、96、120 h 渗透胁迫后,相对电导率分别比对照高出 86.4%、104.2%、

中、高浓度时,MDA 含量在各处理间差异显著。从 MDA 含量随胁迫时间的变化可知,当浓度为 10% 时,经 24、48、72、96、120 h 渗透胁迫后,MDA 的含量比对照高出 4.9、5.5、6.3、7.0、8.4 倍,说明随干旱胁迫时间的延长,MDA 含量急剧增加,脂膜过氧化的程度越来越强,而且渗透胁迫强度越大,受到的伤害越重。

2.3 PEG6000 模拟干旱胁迫对芥菜苗期脯氨酸含量的影响

由图 3 可知,在同种浓度胁迫下随处理时间的延长脯氨酸含量均比对照有显著提高。如在 5% 胁迫下处理 24、48、72、96、120 h 的脯氨酸含量分别比对照高出 17.7%、21.4%、27.8%、18.3%、14.9%,且在高浓度胁迫下脯氨酸含量的提高更加显著,如胁迫浓度为 10% 时,5 个时间段处理后脯氨酸的含量分别比对照高出 63.5%、115.9%、161.6%、98.6%、87.0%,且当处理时间为 24~72 h 时脯氨酸含量的递增最明显,而处理时间为 72~120 h 时,脯氨酸含量则有递减的趋势,但胁迫处理始终比对照(CK)含量高,说明芥菜在受到 PEG6000 胁迫后脯氨酸的积累不是一个线性递增的规律,芥菜幼苗在遭到突然的胁迫时,最初的表现为对于胁迫产生的强烈积极应对反应,而后随着慢慢适应后,渗透调节物的积累也慢慢缓减,这也是植物在遇到逆境时的主动适应。

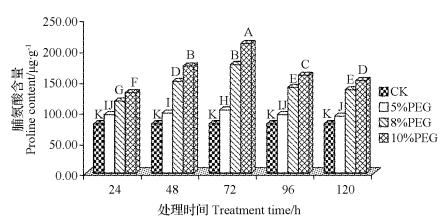


图 3 PEG6000 胁迫下芥菜幼苗脯氨酸含量的变化

Fig. 3 The change of proline content in mustard seedlings at different concentrations of PEG6000 stress

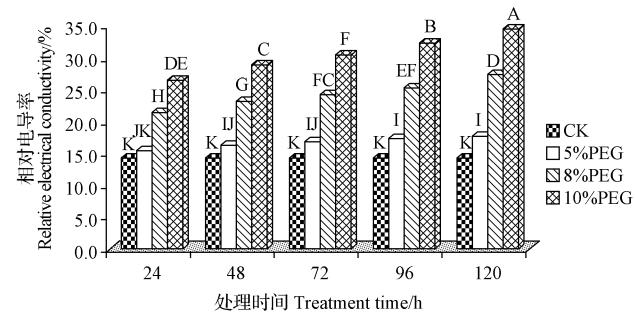


图 4 PEG6000 胁迫下芥菜幼苗相对电导率的变化

Fig. 4 The change of relative electrical conductivity in mustard seedlings at different concentrations of PEG6000 stress

115.3%、127.3%、143.2%,且各处理间差异显著。

2.5 PEG6000 模拟干旱胁迫对芥菜苗期可溶性糖含量的影响

由图5可知,可溶性糖含量随PEG6000 胁迫浓度的增大和胁迫时间的延长而增加。相同时间不同浓度PEG6000 渗透胁迫处理,各处理间的可溶性糖含量差异显著,即使是在较短时间即24 h 处理后,5%、8%、10% 3 种处理的芥菜幼苗的可溶性糖含量分别比对照高出5.1%、32.4%、49.8%,且处理间差异显著。而相同浓度PEG6000 不同时间处理后,各处理间的可溶性糖含量依然达到显著差异,如10% PEG6000 渗透胁迫处理24、48、72、96、120 h 后,可溶性糖含量分别比对照高出89.8%、94.5%、111.2%、143.4%、204.6%,可见可溶性糖含量是随PEG6000 渗透胁迫时间的延长而呈明显增加趋势。

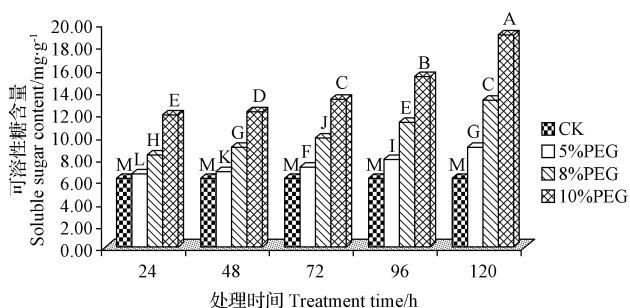


图5 PEG6000 胁迫下芥菜幼苗可溶性糖含量的变化

Fig. 5 The change of soluble sugar content in mustard seedlings at different concentrations of PEG6000 stress

2.6 PEG6000 模拟干旱胁迫对芥菜苗期相对含水量影响

由图6可知,芥菜幼苗在PEG6000 渗透胁迫下相对含水量随着PEG6000 浓度的增加和胁迫时间的延长而呈下降趋势。相同时间渗透胁迫下,相对含水量随PEG6000 浓度的增加而递减,如经过120 h 胁迫后,PEG6000 5%、8%、10% 处理的相对含水量分别比对照降低了14.2%、22.7%、30.7%,且差异显著。而在相同浓度PEG6000 渗透胁迫下,相对含水量随处理时间的延长而显著减少,且处理间达到了显著差异,该结果能较好地反映芥菜在干旱胁迫下叶片相对含水量的变化,其中在10% PEG6000 渗透胁迫下,经过24、48、72、96、120 h 后,相对含水量分别比对照降低了8.3%、12.7%、21.0%、26.6%、30.7%,且处理间差异显著。由此可见,芥菜幼苗的相对含水量随渗透胁迫的加强和胁迫时间的延长而显著减少,这与表型是一致的,即随着干旱胁迫程度的加强,叶片失水更严重,叶片的萎焉程度更加明显。

2.7 PEG6000 模拟干旱胁迫对芥菜苗期最大光化学效率 F_v/F_m 的影响

由图7可知,芥菜幼苗在PEG6000 渗透胁迫下最大光化学效率 F_v/F_m 随着PEG6000 浓度的增加和时间的

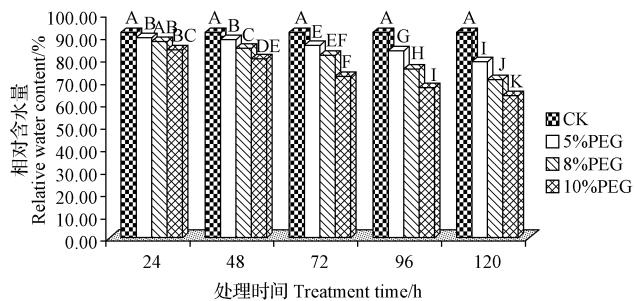


图6 PEG6000 胁迫下芥菜幼苗相对含水量的变化

Fig. 6 The change of relative water content in mustard seedlings at different concentrations of PEG6000 stress

延长而呈下降趋势。其中胁迫时间延长至120 h 时,PEG6000 浓度5%、8%、10% 3 种处理后芥菜幼苗 F_v/F_m 分别比对照降低了2.2%、5.2%、9.2%,且处理间差异显著。从 F_v/F_m 随胁迫时间的变化可以看出,在相同PEG6000 浓度渗透胁迫后, F_v/F_m 随时间的延长而明显下降,如在10% PEG6000 胁迫下,24、48、72、96、120 h 处理后, F_v/F_m 分别比对照降低了2.8%、4.2%、5.4%、6.5%、9.2%,说明芥菜在干旱条件下对水分胁迫的敏感性,导致叶片发生了光抑制,最终光合能力降低,该结果与上述的叶绿素含量变化是一致的。

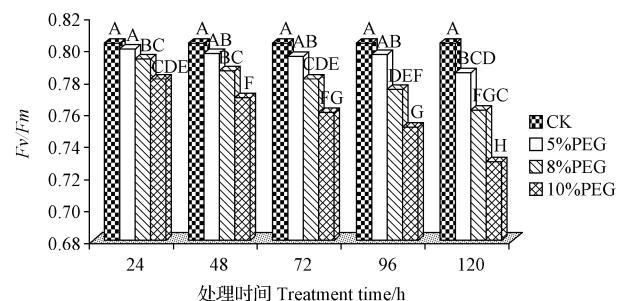


图7 PEG6000 胁迫下芥菜幼苗 F_v/F_m 的变化

Fig. 7 The change of F_v/F_m in mustard seedlings at PEG6000 stress

3 结论与讨论

该试验中芥菜“M100”随着PEG6000 胁迫时间的延长或PEG6000 浓度的升高,其叶绿素含量、相对含水量、MDA含量、相对电导率等7个指标含量的变化与黄瓜和蚕豆^[4]、辣椒^[5]、芦笋^[6]等蔬菜在遭受到干旱胁迫以后的变化是一致的。该试验结果表明,MDA含量、脯氨酸含量、相对电导率、可溶性糖含量、相对含水量5个指标在PEG6000 为浓度为10%时,各处理间差异显著,因此,这5个指标可用于测定芥菜的耐旱性的可靠指标。

一般来说在干旱胁迫下,植物往往会表现出叶绿素含量下降的现象^[7]。当植物受到逆境胁迫影响时,细胞膜遭到破坏,膜透性增大,细胞内的电解质外渗,从而使植物细胞浸提液的电导率增大。植物细胞膜受伤害越

严重,相对电导率值越大^[8]。可溶性糖作为植物在干旱胁迫下渗透调节的重要物质,在渗透胁迫下会显著增加,以增加植物体组织的渗透势,从而提高植物的抗旱能力^[9]。有研究结果表明干旱胁迫下,小麦细胞内渗透调节物质特别是K⁺和可溶性糖的积累是反映作物抗旱性的较可靠的指标^[10]。叶片相对含水量(RWC)是反映植物抗旱性强弱的一项重要指标,RWC越大、下降速率越小,则抗旱性越强。李德全等^[10]研究表明,叶片相对含水量高的小麦品种抗旱性强,耐旱性较强的品种有较高的叶片相对含水量^[11]。活体叶绿素荧光是光合作用的有效探针,Blum试验表明,高粱叶片叶段或离体叶绿体的光合速率与植物耐旱性有关,在干旱胁迫下,抗旱性较强的品种能维持较高的光合速率^[12]。 F_v/F_m 代表的是最大光化学效率,其数值反映了植物的潜在最大光合能力,非胁迫条件下该参数的变化极小,不受物种和生长条件的影响,胁迫条件下该参数明显下降。

在高等植物中,干旱或渗透胁迫能诱导植物体内游离脯氨酸大量积累,这是一个比较普遍的现象^[13],脯氨酸的累积对植物的渗透调节起着重要作用,其含量增加可以作为植物抗旱的生理指标。因此,人们常用脯氨酸含量变化来研究植物对耐旱性情况^[14]。通常情况下植物体内脯氨酸的含量很低,但在逆境条件下,脯氨酸含量可猛增数十倍。目前关于脯氨酸含量能否作为抗旱性鉴定,争议很大^[10],主要有2种观点:脯氨酸含量在品种间存在差异,并与田间的抗旱性为正相关,脯氨酸含量高抗旱性强;脯氨酸含量与抗旱性之间无相关或弱负相关。该试验PEG6000胁迫后芥菜幼苗叶片的脯氨酸累积先上升后下降,与韦小丽等^[15]研究的“快-慢-快”的增长趋势相吻合,而与辣椒^[5]、芦笋^[6]PEG6000胁迫下脯氨酸含量显著增加有出入,是与材料本身有关还是品

种特性则有待进一步研究。

(致谢:该试验于2011年在中科院昆明植物研究所种质资源库实验室完成,试验过程中得到李唯奇、李爱华2位老师的热忱帮助,在此表示衷心的感谢!)

参考文献

- [1] 黄兴奇.云南作物种质资源(果树、油料、小宗作物、蔬菜篇)[M].昆明:云南科技出版社,2008.
- [2] 康绍忠.新农业科技革命与21世纪我国节水农业的发展[J].干旱地区农业研究,1998,16(1):11-17.
- [3] 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,2000:260-261.
- [4] 祁云枝,杜勇军.干旱胁迫下黄瓜及蚕豆叶片膜透性改变及其机理的初步研究[J].陕西农业科学,1997(4):6-7.
- [5] 蔡小东,郭见林.PEG模拟干旱胁迫下辣椒相关生理指标的变化[J].湖南农业科学,2008(6):49-50,58.
- [6] 李志刚,刘威,林彭文,等.芦笋在PEG模拟干旱条件下的生理生化变化[J].生态科学,2006,25(1):21-23.
- [7] 宋唯一.PEG6000模拟干旱胁迫对黄瓜幼苗生长的影响[J].湖北农业科学,2011,50(12):2394-2397.
- [8] 王荣华,石雷,汤庚国,等.渗透胁迫对蒙古冰草幼苗保护酶系统的影响[J].植物学通报,2003,20(3):330-335.
- [9] 王霞,候平.植物对于旱胁迫的适应机理[J].干旱区研究,2001,18(2):42-46.
- [10] 李德全,郭清福,张以勤,等.冬小麦抗旱性生理特性的研究[J].作物学报,1993,19(2):125-131.
- [11] 任丽花,王义祥,翁伯琦,等.土壤水分胁迫对圆叶决明含水量和光合特性的影响[J].厦门大学学报(增刊),2005,44:28-31.
- [12] 芮仁廉,聂毓琦,童红玉.超氧化物歧化酶(SOD)作为甘薯种质源抗逆性参数的探讨[J].江苏农业学报,1990,6(4):52-56.
- [13] 肖用森.在渗透胁迫下稻苗中游离脯氨酸的积累与膜质过氧化的关系[J].武汉植物学研究,1996,14(4):334-340.
- [14] 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(增刊):51-56.
- [15] 韦小丽,徐锡增,朱守谦.水分胁迫下榆科3种幼苗生理生化指标的变化[J].南京林业大学学报(自然科学版),2005,29(2):47-50.

Study on Physiological Changs of *Brassica juncea* Coss. Under Drought Stress Simulated by PEG6000

LI Wei-fen, QIN Rong, LIU Fa-wan, LI Fan

(Institute of Horticulture, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650205)

Abstract: Taking Yunnan local mustard variety ‘M100’ (*Brassica juncea* Coss.) as test material, the physiological changes under PEG6000 stress with the concentrations of 5%, 8% and 10% were investigated. Physiological indexes such as the content of chlorophyll, MDA, proline, soluble sugar, relative water content, relative electric conductivity, F_v/F_m were determined with the prolongation of the time of PEG6000-induced stress. The results showed that with the increasing of PEG6000 concentration and the prolongation of treatment time, chlorophyll, relative water content, F_v/F_m of the leaf decreased obviously, and the content of MDA, proline, soluble sucrose, relative electric conductivity increased in varying degrees. Among these indexes, MDA content, proline content, soluble sugar content, relative water content, relative electric conductivity reached a significant difference between treatments under the concentration of 10% PEG6000 simulated drought stress, so these five indexes could be used for determination of mustard drought resistance.

Key words: *Brassica juncea* Coss.; seeding stage; drought resistance; PEG6000; simulated drought stress