

干旱胁迫对陕北沙棘幼苗生长发育的影响

孙晓东, 贾娜, 何鹏, 梁娜, 陈子琪, 贾雯婷

(陕西学前师范学院生命科学与食品工程学院, 西安 710061)

摘要:沙棘幼苗在不同水分供给下进行干旱胁迫处理,一段时间后对其幼苗叶片分别进行丙二醛、叶绿素含量、POD、SOD活性测定和气孔开放水平的观察统计,研究不同程度水分供给下陕北沙棘幼苗的生理生化特征变化的响应。结果表明,随着干旱胁迫程度的增加,沙棘幼苗叶片的丙二醛含量明显增加;叶绿素含量下降;POD和SOD的活性呈现先升高后下降的趋势;气孔开放水平受到水分胁迫的抑制。

关键词:陕北沙棘;干旱胁迫;生理特性;影响

中图分类号:S793.6

文献标识码:A

文章编号:1003-8701(2018)02-0016-05

Effects of Drought Stress on the Growth and Development of *Hippophae rhamnoides* Seedlings in Northern Shaanxi

SUN Xiaodong, JIA Na, HE Peng, LIANG Na, CHEN Ziqi, JIA Wenting

(College of Life Science and Food Engineering, Shaanxi Xueqian Normal University, Xi'an 710061, China)

Abstract: Seabuckthorn seedlings were treated under different water supply for a period of time. Leaf chlorophyll content, MDA, POD, SOD and stomatal conductance were determined to study physiological characteristics response of Northern Shaanxi Seabuckthorn to drought stress. The results showed that as drought stress increased, the MDA content of *Hippophae rhamnoides* seedlings increased significantly; chlorophyll content decreased; POD and SOD activity increased at first then decreased, and the stomatal opening level was inhibited by water stress.

Key words: *Hippophae rhamnoides*; Drought stress; Physiological characteristic; Effect

沙棘是胡颓子科沙棘属落叶灌木^[1]。其果实、种子等器官含有丰富养分,枝叶茂盛^[2],具有水土保持、防风固沙、改善土壤等功用^[3],是干旱地区水土保持和植被建造的前锋树种^[4]。其果实具有营养保健价值,含有多种维生素、碳水化合物和有机酸等营养成分^[5],尤其富含维生素C,被誉为“维C之王”。另外,沙棘根系能被弗兰克氏内生菌侵染而成根瘤,拥有极强的固氮能力^[6],对于增加土壤肥力、提高林地生产力具有非常重要的意义。

种子生活力测定根据活种子胚在呼吸过程中会发生氧化还原反应,而无生命的种子胚则不会^[7];丙二醛是脂质过氧化、膜通透性和膜蛋白影响的主要产物之一,影响细胞的离子吸收和活性

氧代谢的积累、系统的平衡,从而破坏细胞膜和新老细胞的渗透性^[8];气孔是植物和外界气体交换的通道,可调节蒸腾作用,开启和关闭的气孔调节气体运输交换率、植物呼吸速率^[9];水势是水的化学势,如同电流从高电位流向低电位,水从高水势流向低水势,溶液的浓度越大,其水势就越小^[10];POD和SOD是植物抗氧化防御过程中的关键酶^[11],也是植物的保护酶。

本研究以陕北沙棘为供试材料,对其幼苗施行不同程度的干旱处理,测定其在干旱胁迫下丙二醛含量,叶绿素含量,POD、SOD活性测定和气孔开放水平的生理变化,以探讨水分胁迫处理对沙棘的抗旱性影响,从而为沙棘抗旱生理的进一步研究奠定理论基础,为日后沙棘在治理荒漠化问题上提供一定的科学参考。

1 材料和方法

1.1 材料

收稿日期:2017-10-25

基金项目:国家级大学生创新创业训练计划项目(201614390007)

作者简介:孙晓东(1962-),女,教授,主要从事植物生理学教学与研究。

沙棘种子购于陕西省榆林市靖边县种子分公司。挑选饱满、均匀一致的沙棘种子。

1.2 主要试剂及仪器

TTC、高锰酸钾、蔗糖、TCA、TBA、丙酮、酒精、pH 7.8 磷酸盐缓冲溶液、NBT 溶液、EDTA、核黄素等均均为国产分析纯,购自西安化学试剂厂。

恒温箱、分光光度计、离心机、电子天平、光照培养箱、普通光学显微镜等均购自上海光学仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 沙棘幼苗培养

沙棘种子用 0.5% 高锰酸钾浸泡 1 h,清水洗干净,再将种子浸泡在 30℃ 的水中置于恒温培养箱中放置 48 h 取出,进行种植培养^[12]。

1.3.2 干旱胁迫处理

盆栽条件下设置 4 个供水水平(以 24 h 为周期):不做干旱处理、轻度干旱(隔一个周期浇水)、中度干旱(隔两个周期浇水)、重度干旱(隔三个周期浇水)。各处理分别设置 7 盆重复,干旱处理持续至实验完成^[13]。

1.3.3 测试项目

1.3.3.1 种子生活力的测定

运用氯化三苯基四氮唑法(TTC 法)测定种子的生活力。将 200 粒沙棘籽放入 30~35℃ 的热水中浸泡 2 h 后沿胚中线将沙棘籽切成两半,一半数量的种子加入 0.5% TTC 溶液浸泡,在恒温 30℃ 的环境下放置 1 h。另一半在沸水中煮沸 5 min 杀死种胚,做同样的染色处理^[14]。

1.3.3.2 气孔开放程度的观察

利用普通光学显微镜观察气孔开放程度。在中午 1 点左右采集新鲜的沙棘叶片,利用上表皮进行制片,观察气孔开放程度,将视线范围内完全开放、半开放、关闭三种程度的气孔数量计数^[15]。

1.3.3.3 叶片水势的测定

利用小液流法测定陕北沙棘幼苗叶片水势。将一系列不同浓度的蔗糖溶液注入已编号的试管,取对应数量的青霉素小瓶。从试管中取 2 mL 溶液转移到对应的青霉素瓶中并放置大小相似的沙棘碎片若干,蘸取少量的甲烯蓝加入每一青霉素小瓶内,胶头滴管吸取少量液体在试管中释放液滴,观察液滴的运动方向^[16]。

1.3.3.4 丙二醛的测定

硫代巴比妥酸(TBA)法测定丙二醛(MDA)含量。用三氯乙酸(TCA)、少许石英砂提取丙二醛;向提取液加入 0.6%TBA 溶液混合,沸水浴 15 min,

快速冷却并离心,取上清液,450 nm 和 532 nm 测 OD 值^[17]。

1.3.3.5 叶绿素含量的测定

运用分光光度计测定叶绿素含量。用纯丙醇、少量碳酸钙、石英砂和 80% 丙酮研磨成匀浆,转入离心管,提取叶绿素。再用 80% 丙酮稀释,放入比色杯,用 80% 丙酮为对照,645 nm、663 nm 测定 OD 值^[18]。

1.3.3.6 SOD 酶的测定

核黄素-NBT 法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性。pH 7.8 磷酸盐缓冲液研磨成匀浆,取上清液为 SOD 粗提物。玻璃管 4 支(25 mL),2 支对照。对照管置于黑暗中,实验管置于 4 000 lx 下反应 20 min,测 560 nm 处 OD 值^[19]。

1.3.3.7 POD 酶活性的测定

愈创木酚法测定过氧化物酶(POD)活性。磷酸缓冲液(pH 7.8)5 mL 研磨成匀浆,8 000 r/min 离心 10 min,取上清液。一支比色杯加 3 mL 反应混合液和 1 mL 磷酸盐缓冲液,另一支加入反应混合液 3 mL、酶 1 mL,470 nm 处测 OD 值^[20]。

2 结果与分析

2.1 陕北沙棘种子的生活力

由表 1 可知,TTC 溶液处理的 200 粒沙棘种子中有生活力的为 186 粒,无生活力的种子为 14 粒,而经过煮沸处理的沙棘种子全部失去生活力,可得沙棘种子中有生活力的种子所占比例约为 93%,种子生活力良好,具有较好的发芽潜能,可种植使用。

表 1 陕北沙棘种子的生活力

处理方式	TTC 溶液处理	煮沸
着色种子数	186	0
未着色种子数	14	200
着色种子所占比例	93%	0

2.2 不同程度的干旱胁迫对陕北沙棘幼苗叶片气孔开度的影响

由表 2 可知,在较轻程度的干旱胁迫下,气孔完全开放和半开放数量较多为 79%,气孔关闭的数量相对较少为 21%;加重干旱胁迫程度后气孔关闭的数量逐渐增多,增加至 27%;随着干旱胁迫程度的不断增加,气孔关闭程度随之增高,在重度干旱下高达 49%。当植物受到干旱时,叶片会萎蔫,不利于植物的存活。因而当植物受到干旱的影响时,为了防止体内水分的散失叶片上的气

孔会关闭,同时会导致光合反应降低,使 CO_2 同化受到影响,沙棘叶片气孔的关闭抑制了其自身的生长和发育。

表2 不同干旱胁迫下陕北沙棘幼苗叶片气孔开放程度 %

干旱胁迫程度	完全开放	半开放	关闭
对照组	32	50	18
轻度干旱	30	49	21
中度干旱	27	46	27
重度干旱	13	38	49

2.3 不同程度的干旱胁迫对陕北沙棘幼苗叶片水势的影响

如图1所示,沙棘叶片水势与干旱胁迫程度呈显著的负相关。在轻度干旱胁迫下沙棘叶片的水势约为-4 MPa;随着干旱程度的不断增高,沙棘叶片水势也在不断降低,在较高的干旱程度下沙棘的水势减小至-9 MPa以下。说明随着干旱胁迫程度的增加,沙棘幼苗叶片水势逐渐降低,其含水量也呈降低趋势。即使干旱胁迫下会发生气孔的关闭来阻止水分的散失,但在干旱程度较大的情况下,叶片的水势和含水量依旧明显下降,也会影响沙棘的生理代谢反应。

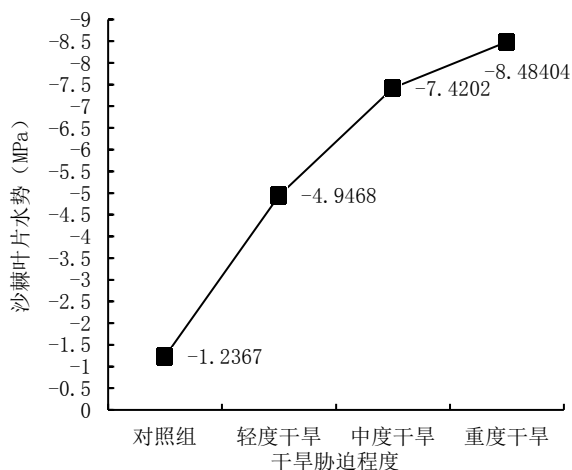


图1 不同干旱程度沙棘幼苗叶片水势

2.4 不同程度的干旱胁迫对陕北沙棘幼苗叶片中丙二醛含量的影响

如图2所示,在不同干旱程度的胁迫下,沙棘幼苗叶片受到不同程度的损害,在较轻的干旱胁迫下丙二醛含量变化不明显,随着干旱程度的增加,沙棘幼苗叶片中丙二醛的含量显著增加。丙二醛是脂质氧化的主要产物之一,它可与细胞膜上的蛋白质、酶等结合、交联使之失活,从而破坏生物膜的结构与功能,是一种具有细胞毒性的

物质,对许多生物大分子均有破坏作用。它通过影响细胞膜透性及膜蛋白进而影响细胞对离子的吸收和积累及活性氧代谢系统的平衡,从而破坏植物细胞膜的透性^[21]。由此可见,干旱胁迫对于沙棘幼苗的生长发育有抑制作用,干旱胁迫程度越高对沙棘幼苗的伤害程度越大,对沙棘细胞膜系统的破坏程度越大,其膜透性也越大。

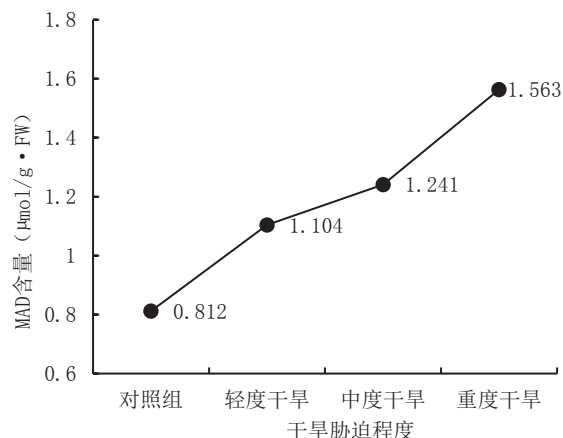


图2 不同干旱程度下沙棘幼苗叶片中的MDA含量

2.5 不同程度的干旱胁迫对陕北沙棘幼苗叶片中叶绿素含量的影响

如图3所示,经过不同程度的干旱胁迫处理后,沙棘幼苗叶片中叶绿素a、叶绿素b和叶绿素总含量均随干旱程度的增加而降低。在轻度干旱胁迫下,叶绿素a、叶绿素b、叶绿素总含量相对稳定,与对照组相比还稍有增加。随着干旱胁迫程度的增加,叶绿素a、叶绿素b和叶绿素总含量随之下降。表明干旱胁迫加快了沙棘叶绿素的降解,抑制了沙棘的光合作用;也说明叶绿素的含量可能与植物的耐旱性有关。

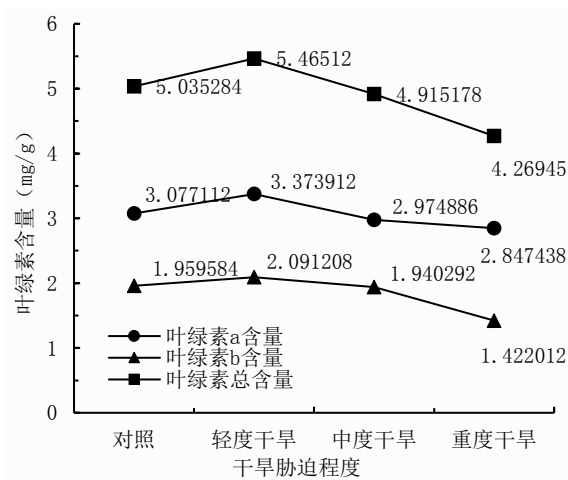


图3 不同干旱程度下沙棘幼苗叶片中叶绿素含量

2.6 不同程度的干旱胁迫对陕北沙棘幼苗叶片中SOD含量的影响

由图4可知,沙棘幼苗经不同程度的干旱胁迫处理后,在轻度的干旱胁迫下SOD活性值呈现先增后降的趋势,随着干旱程度的增加,沙棘幼苗叶片SOD活性值逐渐降低。在轻度干旱条件下,沙棘幼苗叶片中SOD活性先增加,表明沙棘在干旱胁迫下会提高SOD活性,即提高活性氧清除能力,进而说明SOD可能与植物抗旱性有关。

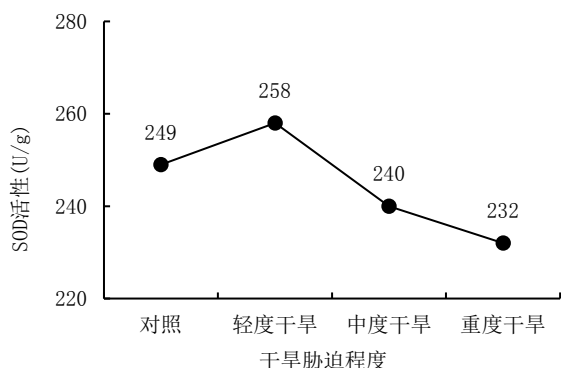


图4 不同干旱程度下沙棘幼苗叶片中SOD含量

2.7 不同程度的干旱胁迫对陕北沙棘幼苗叶片中POD含量的影响

由图5可知,在干旱胁迫初期POD活性逐渐升高,说明轻度的干旱能够激发保护酶活性,使植物在逆境环境下不受损害;经过一段时间的胁迫后,随着干旱胁迫的增加,POD活性逐渐降低,最低值低于对照组。说明在干旱胁迫下,保护酶的调节能力是有限的,也说明POD活性可能与植物的抗旱性有关。

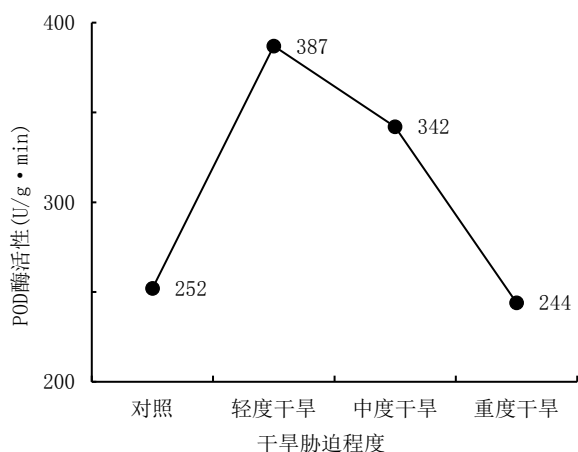


图5 不同干旱程度下沙棘幼苗叶片中POD含量

3 各种生理生化指标与沙棘幼苗抗旱性的关系

植物主要通过根系从土壤中吸取水分提供给植物体以保证生长发育。当沙棘幼苗受到干旱的影响,根系的吸水量减少,植物还会因蒸腾作用而散失部分水分,导致植物体的水分减少。为防止体内水分的散失,叶片上的气孔便会关闭,减少水分的流失。实验结果(表2)表明,干旱程度越大,气孔的关闭程度也越大,气孔的开闭程度与干旱程度呈正相关。

当植物受到干旱胁迫时,其体内水分会随着干旱程度的增加而减少,体内浓度增加,植物叶片的水势便会降低,幼苗正常的生理代谢会受到抑制,进一步影响它的生长与发育。

丙二醛含量与沙棘幼苗的抗旱性呈负相关。在轻度干旱胁迫下丙二醛含量变化不明显,随着干旱程度的增加,沙棘幼苗叶片中丙二醛的含量显著增加(图2)。丙二醛是脂质过氧化的主要产物之一,它可与细胞膜上的蛋白质、酶等结合、交联使之失活,从而破坏生物膜的结构与功能,是一种具有细胞毒性的物质,对许多生物大分子均有破坏作用。干旱胁迫程度越大,丙二醛含量越高,对沙棘幼苗的伤害程度也越大。

叶绿素是光合作用的重要条件之一,在一定程度上可以反映植物抵抗逆境胁迫的能力。在实验中,叶绿素含量对干旱胁迫有一个适应和自我补偿现象,表现为轻度干旱维持或有促进作用。随着干旱胁迫程度的增加,叶绿素含量下降明显(图3)。这主要是干旱胁迫会影响沙棘幼苗的水分营养。水分是体内物质运输的主要溶剂,是幼苗体内代谢反应的主要参与者,幼苗矿物质的吸收也依赖于水分,这便会影响幼苗的呼吸作用和光合作用等生理反应的正常进行,因此叶绿素的合成减少,分解加快。幼苗叶片叶绿素含量降低又会影响幼苗的光合作用,抑制其生长发育。

POD和SOD是植物体内普遍存在的两种保护酶,其酶活性与植物抗逆性密切相关。在干旱胁迫初期POD活性逐渐升高,说明轻度的干旱能够激发保护酶活性,使植物在逆境环境下不受损害。经过一段时间的胁迫后,随着干旱胁迫程度的增加,POD活性逐渐降低,最低值低于对照组,说明在干旱胁迫下,保护酶的调节能力是有限的,也说明POD活性与植物的抗旱性有关。

SOD酶可清除植物体内多余的超氧阴离子,是保护酶体系中的关键酶。沙棘幼苗经不同程度的干旱胁迫处理后,随着干旱程度的增加,沙棘幼苗叶片SOD活性值会呈现出先增高后降低的

趋势。即轻度干旱条件下,沙棘幼苗叶片中SOD活性随胁迫时间的延长而增加,表明沙棘在干旱胁迫下会提高SOD活性,即提高活性氧清除能力,进而说明SOD可能与植物抗旱性有关。

目前,有关对沙棘幼苗生长发育及其耐旱性的关系研究较少,尚不能全面地揭示沙棘幼苗的抗旱机制,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 宋自娟,徐怀德,高锦明,等.加工过程中冷打浆沙棘浓缩汁理化特性的变化[J].农业工程学报,2014,30(3):264-270.
- [2] 王爱国,罗广华.羟自由基启动下的脱氧核糖降解及其产物的TBA反应[J].生物化学与生物物理进展,1993(2):150-152.
- [3] 吴林,李亚东,刘洪章,等.水分逆境对沙棘生长和叶片光合作用的影响[J].吉林农业大学学报,1996,18(4):45-49.
- [4] 陈献勇,廖镜思.水分胁迫对果梅光合色素和光合作用的影响[J].福建农业大学学报,2000,29(1):35-39.
- [5] 谢春阳,王治同.沙棘复合果汁加工工艺研究[J].吉林农业科学,2004,29(2):55-56.
- [6] 李德全,邹琦,程炳藁.作物抗旱生理生态研究[M].济南:山东科技出版社,1994:3-12.
- [7] 张木清,陈如凯,余松烈.水分胁迫下蔗叶多胶代谢变化及其同抗旱性的关系[J].植物生理学报,1996,22(3):327-332.
- [8] 叶冰莹,陈由强,朱锦懋,等.水分胁迫对三种木麻黄小枝活性氧伤害的研究[J].福建师范大学学报(自然科学版),2000,16(1):76-79.
- [9] 陈立松,刘星辉.水分胁迫对荔枝叶片活性氧代谢的影响[J].园艺学报,1998,25(3):241-246.
- [10] 胡景江,顾振瑜,文建雷,等.水分胁迫对元宝枫膜脂过氧化作用的影响[J].西北林学院学报,1999,14(2):7-11.
- [11] 叶利民.硅对盐胁迫下水稻幼苗保护酶活性和离子吸收的影响[J].吉林农业科学,2012,37(3):22-24.
- [12] 陈昆松,徐昌杰,楼健,等.脂氧合酶与猕猴桃果实后熟软化的关系[J].植物生理学报,1999,25(2):138-144.
- [13] 刘世荣.沙棘对中国亚湿润干旱区杨树人工林生长与生产力的影响[J].植物生态学报,2000,24(2):169-174.
- [14] 胡建忠.沙棘的生态经济价值及综合开发利用技术[M].郑州:黄河水利出版社,2000:122.
- [15] 王静,黄薇.初生根的形态解剖结构与春小麦抗旱性的关系初探[J].兰州大学学报(自然科学版),1998,34(4):154-156.
- [16] 李代琼.半干旱黄土区沙棘的水分生理生态与形态解剖学特性研究[J].沙棘,1999,12(3):11-16.
- [17] 廉永善,陈学林,马瑞军.关于沙棘属植物鳞毛的研究[J].沙棘,1999,12(3):4-10.
- [18] 宋秀杰.沙棘抗旱机制的研究[J].河北林业科技,1990(3):22-24.
- [19] 郑希伟.辽西地区主要造林树种叶片旱生结构的研究[J].辽宁林业科技,1990(4):12-14.
- [20] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志(第五十二卷,第二分册)[M].北京:科学出版社,1983:40-41.
- [21] 韩蕊莲,李丽霞.干旱胁迫下沙棘膜脂过氧化保护体系研究[J].西北林学院学报,2002,17(4):1-5.

(责任编辑:王昱)