

不同品种甜高粱幼苗耐受渗透胁迫能力的研究

丛靖宇 杨冠宇 张 烨 王瑞刚

(内蒙古农业大学 生命科学学院,内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要:以 BJ-17、BJ-18、M-00110 3 个甜高粱品系为试验材料,对不同浓度乙二醇(PEG)处理下甜高粱幼苗的质膜透性、叶绿素、脯氨酸、丙二醛等生理指标含量变化进行了研究。结果表明:渗透胁迫下甜高粱幼苗的质膜透性增大,叶绿素、脯氨酸、丙二醛等含量升高。3 个品系相比,BJ-18 耐渗透胁迫的能力最强,BJ-17 次之,M-00110 最差。为甜高粱抗逆栽培和品种选育提供理论依据。

关键词:PEG;甜高粱;生理指标;渗透胁迫

中图分类号:S609.3 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2010)04-0136-05

Study of the Osmotic Stress Tolerance in Different Varieties of Sweet Sorghum

CONG Jing-yu ,YANG Guan-yu ,ZHANG Ye ,WANG Rui-gang

(College of Life Sciences ,Inner Mongolia Agricultural University ,Huhhot 010018 ,China)

Abstract: In this study BJ-17 ,BJ-18 and M-00110 were chosen as experimental material to study the change of physiological index ,such as membrane permeability ,chlorophyll ,proline and malonaldehyde(MDA) contents in the seedling of sweet sorghum under different concentrations of polyethylene glycol (PEG-6000) stress. The results showed: the membrane permeability ,chlorophyll ,proline and malonaldehyde(MDA) contents in the seedling of sweet sorghum increased under the osmotic stress. There were lower increase extent in the BJ-18 and higher increase extent in the M-00110 ,BJ-17 was in the middle. It was showed the osmotic stress-tolerant ability was different in different variety of sweet sorghum. This study provides a basis for sweet sorghum planting and breeding with osmotic stress resistance.

Key words: PEG; Sweet sorghum; Physiological index; Osmotic stress

随着能源问题的日益突出,清洁、可再生的生物能源越来越受到人们的关注。甜高粱作为一种 C_4 高能作物^[1-3],具有较强的适应性和光合效率、较高的含糖量和生物产量,被选定为可再生能源的主选资源。利用甜高粱秸秆生产燃料乙醇,无论是从经济性还是从能源安全的角度讲,都具有广阔的发展前景^[4-5]。

甜高粱具有抗旱、抗涝、耐盐碱和耐瘠薄等多重抗逆特性。研究发现,环境对甜高粱的生理特性具有一定的影响,如水分、光照、温度等均能影响甜高粱的生物产量^[6-8];而通过对 2 个基因型的甜高粱幼苗(耐盐型和盐敏感型)进行盐胁迫处理则发现盐处理降低了相对生长率(RGR),却提高了

Na^+ 、 Cl^- 、可溶性糖、脯氨酸的浓度和 Na^+/K^+ 、 Na^+/Ca^+ 比例,在盐敏感基因型中这种趋势更加显著^[9]。

甜高粱抗旱、耐涝、耐盐碱,适于内蒙古地区种植。内蒙古地区气候干燥,土地贫瘠,盐碱化严重,拥有较为充足的边际性荒漠化土地,可在环境治理的同时,建成规模化的甜高粱种植和生物质能源生产基地。近年来,巴彦淖尔地区已被规划为内蒙古自治区甜高粱生物质能源基地,但受河套灌溉影响,该地区盐碱化严重,限制了甜高粱种植和产业的发展,因此,筛选和培育高耐渗透胁迫甜高粱品种极为重要。本研究以不同浓度梯度聚乙二醇(PEG-6000)处理,通过对 3 个不同品种甜高粱的生理生化指标检测,探讨和比较了甜高粱耐渗透胁迫性能,为

收稿日期:2010-06-28

基金项目:内蒙古自治区重大科技专项;内蒙古自然科学基金重大项目(2009ZD03);教育部春晖计划项目(Z2007-1-01017)基金资助

作者简介:丛靖宇(1974-),女,内蒙古赤峰人,讲师,在读博士,主要从事甜高粱产业化基础研究和植物分子生物学研究。

通讯作者:王瑞刚(1972-),男,内蒙古赤峰人,教授,博士,主要从事植物生物化学与分子生物学研究。

甜高粱抗逆品种选育提供了依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

甜高粱品种: BJ-17、BJ-18、M-00110。

1.2 试验方法

1.2.1 甜高粱种子发芽试验 ①把滤纸剪成 90 mm 口径圆片;②放入培养皿内,每皿 5 张,高压灭菌;③配制不同浓度的 PEG 溶液,高压灭菌;④培养皿分为 5 组,每组 3 个重复,分别为 H₂O(CK)、10% PEG、20% PEG、30% PEG 和 40% PEG;在每皿中分别加入 10 mL PEG;⑤取 BJ-17 甜高粱种子,75% 乙醇消毒 8 min,超纯水冲洗 3~4 次,置于无菌室晾干,播种于培养皿内,每皿播种 30 粒,按 5×6 的矩阵式播种;⑥置于 1/100 的电子天平上称质量,记录;⑦28℃ 恒温培养,每日观察和统计种子发芽数,计算发芽率,称重补水。

1.2.2 甜高粱幼苗生长阶段耐渗透胁迫处理方法

1.2.2.1 甜高粱材料培养 蛭石灭菌,装入培养钵,用花无缺水充分浸泡,分别播种 BJ-17、BJ-18、M-00110,播种深度 2~3 cm,播种量 9 粒/钵,覆塑料薄膜,23℃ 相对湿度 60% 和 16 h 光照/8 h 黑暗培养,幼苗长至 5~7 cm 时,进行渗透胁迫处理。

1.2.2.2 渗透胁迫处理 ①幼苗长至 5~7 cm 时,进行第一次渗透胁迫处理,以水为对照,分别用 80 mL 10% 和 15% 的 PEG 处理幼苗;②5 d 后,进行第 2 次渗透胁迫处理,处理方法同上;③5 d 后,

取样检测形态和生理生化指标。

1.2.3 甜高粱各品种耐渗透胁迫形态指标的检测方法 ①甜高粱幼苗鲜质量的测定;PEG 胁迫处理 5 d 后,选取长势均匀的甜高粱完整植株,用水冲洗干净,吸干表面水分,称量鲜质量,记录,每个浓度检测 9 株。②甜高粱幼苗株高及根长的测定;测定鲜质量后,用直尺测量株高和根长,记录。

1.2.4 甜高粱各品种耐渗透胁迫生理生化指标的检测方法 ①叶绿素含量的测定:丙酮、无水乙醇浸提法。②植物细胞质膜透性的测定:Maribol L,Dio-nisio—Sese,Satoshi T 法。^[10]③脯氨酸含量的测定:改进的脯氨酸测定方法^[11]。④丙二醛(MDA)含量的测定:改进的植物组织中丙二醛测定方法^[12]。

2 结果与分析

2.1 甜高粱种子萌发阶段耐受 PEG 浓度范围的确定 为确定甜高粱种子萌发阶段耐受 PEG 的浓度范围,以 BJ-17 甜高粱品种为材料,分别用 H₂O、10% PEG、20% PEG、30% PEG、40% PEG 处理种子。在 25℃ 的恒温培养箱中,经过 8 d 的发芽试验后,统计发芽率。结果(表 1)可以看出,当 PEG 浓度超过 20% 时,种子发芽率急速下降,当 PEG 浓度达到 40% 时,种子发芽率为 0。这说明甜高粱耐受 PEG 的最大浓度低于 40%。

试验中发现,在 25% PEG 以上浓度处理时,种子发霉极为严重,且当 PEG 超过 20% 时发芽率极低,因此,试验确定的 PEG 处理范围为 0~20%。

表 1 甜高粱种子萌发率

Tab. 1 Germination rate of sweet sorghum seed								%
处理 Treatment	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d
H ₂ O	41.10	65.60	94.40	100	100	100	100	100
10% PEG	3.33	3.33	22.20	32.70	44.00	51.00	66.70	66.70
20% PEG	0	0	0	3.33	5.56	10.00	12.30	15.00
30% PEG	0	0	0	0	3.33	3.33	6.67	6.67
40% PEG	0	0	0	0	0	0	0	0

2.2 甜高粱对渗透胁迫的生理生化响应

2.2.1 PEG 处理对甜高粱鲜质量、株高、根长的影响 幼苗在受到非生物胁迫后,鲜质量、株高等指标均表现出下降趋势,其下降幅度越小,说明幼苗在该胁迫条件下生长,受到的抑制就越小,其抗性越强。本试验选用 15% PEG 对 3 个品种的甜高粱幼苗进行处理,经 2 次处理 5 d 后,BJ-17、BJ-18、M0-00110 鲜质量、株高均大幅下降,与对照组相比,鲜质量分别下降 19.05%、15.79%、32.00%;株高分别下降 25.69%、22.84%、33.25%(表 2)。BJ-18 的鲜质量和株高的变化与其他 2 个品系相比,差异显著。甜

高粱幼苗在受到非生物胁迫后,根长变化同鲜质量、株高的变化略有不同,因甜高粱是须根植物,其在受到非生物胁迫后,根长略有减小,须根数目减少。其变化不如鲜质量及株高明显,但也能表现出根长随受胁迫程度增加而下降的趋势。从表 2 可知,经 15% PEG 处理后,BJ-17、BJ-18、M 00110 3 个品种的根长均略有下降,与对照组相比,其下降幅度并不明显,分别只下降了 9.87%、8.58%、9.90%。但 BJ-18 与其他 2 个品系相比,差异也达到显著水平。从总体看,15% PEG 处理后的甜高粱幼苗无论是株高、鲜质量还是根长都是 BJ-18 下降幅度最小,BJ-

17 次之 ,M-00110 的下降幅度最大。因此 ,根据鲜质量等 3 个生理指标的差异可断定 3 个甜高粱品种

耐受渗透胁迫的能力依次为: BJ-18 > BJ-17 > M-00110。

表 2 不同甜高粱品种经 PEG 处理后鲜质量、株高、根长比较

Tab.2 Fresh weight ,plant height ,root length by the PEG treatment of different sweet sorghum variety

品种 Variety	鲜质量 /g Fresh weight			株高 /cm Stock height			根长 /cm Root length		
	对照 CK	15% PEG 处理 Treatment	减少量 /% Decrement	对照 CK	15% PEG 处理 Treatment	减少量 /% Decrement	对照 CK	15% PEG 处理 Treatment	减少量 /% Decrement
BJ-17	0.21	0.17	19.05% Bb	24.68	18.34	25.69% Bb	12.87	11.6	9.87% Aa
BJ-18	0.19	0.16	15.79% Bc	25.31	19.53	22.84% Bc	11.31	10.34	8.58% Ab
M-00110	0.25	0.17	32.00% Aa	28.18	18.81	33.25% Aa	11.52	10.38	9.90% Aa

注: 表中的 A、B、C 和 a、b、c 分别表示在 0.01 和 0.05 的显著水平下各品系间的差异。表 3~6 同。
Note: The table A ,B ,C and a ,b ,c express respecteeey the differences of significance level for 0.01 and 0.05 of the various variety ,the same as Tab. 3 - 6.

2.2.2 PEG 处理对甜高粱叶绿素含量的影响 叶片叶绿素含量与光合作用密切相关 ,受营养、光照等因素的影响。叶绿素含量是植物生理、栽培和育种研究中的一个重要指标。幼苗在受到非生物胁迫后 ,叶绿素含量表现出下降趋势 ,其下降幅度越小 ,说明幼苗在该胁迫条件下生长 ,受到的抑制就越小 ,说明其抗性越强。

本试验选用 15% PEG 对 3 个品种的甜高粱幼苗进行处理 ,经 2 次处理 5 d 后 ,BJ-17、BJ-18、

M-000110的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量均有所下降 ,与对照组相比 ,分别下降 0.66% ,0.13% ,1.81% 和 16.57% ,14.07% ,18.71% (表 3) 。经差异显著性分析发现 ,BJ-18 与其他 2 个品系相比 ,差异均达到极显著水平 ,而总叶绿素含量的变化也是如此。因此 ,根据这一生理指标的差异可断定 3 个甜高粱品种耐受渗透胁迫的能力依次为: BJ-18 > BJ-17 > M-00110。

表 3 不同甜高粱品种经 PEG 处理后叶绿素含量

Tab.3 Chlorophyll content of different sweet sorghum variety by PEG treatment

μmol/mL

品种 Variety	Chla			Chlb			Chla + Chlb		
	对照 CK	15% PEG 处理 Treatment	减少量 /% Decrement	对照 CK	15% PEG 处理 Treatment	减少量 /% Decrement	对照 CK	15% PEG 处理 Treatment	减少量 /% Decrement
BJ-17	1.797 8	1.785 9	0.66Bb	1.544 5	1.288 5	16.57Ab	3.342 3	3.074 4	8.01Aa
BJ-18	1.799 5	1.797 1	0.13Cc	1.326 4	1.139 7	14.07BC	3.125 9	2.936 8	6.05Bb
M-00110	1.802 5	1.769 8	1.81Aa	1.077 5	0.875 9	18.71Aa	2.880 0	2.645 7	8.13Aa

2.2.3 PEG 处理对甜高粱细胞质膜透性的影响 植物细胞的细胞质由一层质膜包围着 ,这种质膜具有选择透性的独特功能。植物细胞与外界环境之间发生的一切物质交换都必须通过质膜进行。各种不良环境因素对细胞的影响往往首先作用于这层由类脂和蛋白质所构成的生物膜。如极端的温度、干旱、

盐渍、重金属离子(如 Cd²⁺ 等) 和大气污染物(如 SO₂、HF、O₃) 等都会使质膜受到不同程度的损伤 ,其往往表现为细胞膜透性增大 ,细胞内部电解质外渗 ,外液电导率增大。该变化可用电导仪测出来。细胞膜透性变得愈大 ,表示受害愈重 ,抗性愈弱 ,反之则抗性愈强。

表 4 不同甜高粱品种经 PEG 处理后电解质相对外渗率

Tab.4 Relative electrolyte leakage rate of different sweet sorghum variety by the PEG treatment

%

品种 Variety	对照组电解质相对外渗率 Relative electrolyte leakage rate of CK	15% PEG 处理后电解质相对外渗率 Relative electrolyte leakage rate by the PEG treatment	相对增长量 Relative growth rate
BJ-17	8.24	12.29	49.15Bb
BJ-18	8.33	11.91	42.98Cc
M-00110	8.87	14.12	59.19Aa

本试验选用 15% PEG 对 3 个品种的甜高粱幼苗进行处理 ,经 2 次处理 5 d 后 ,BJ-17、BJ-18、M-00110 的电解质相对外渗率明显增加 ,与对照组相比 ,分别增大 49.15% ,42.98% ,59.19% (表 4) 。其中 BJ-18 增大的幅度最小 ,BJ-17 次之 ,M-00110 的增大的幅度最大 ,3 个品系间的差异均达到极显著

水平($P < 0.01$)。因此 ,根据这一生理指标的差异 ,可断定 3 个甜高粱品种耐受渗透胁迫的能力依次为: BJ-18 > BJ-17 > M-00110。

2.2.4 PEG 处理对甜高粱脯氨酸含量的影响 在正常环境条件下 ,植物体内游离脯氨酸含量较低 ,但在逆境(干旱、低温、高温、盐渍等) 及植物衰老时 ,

植物体内游离脯氨酸含量可增加 10 ~ 100 倍 ,并且游离脯氨酸积累量与逆境程度、植物的抗逆性有关。因此 ,测定植物体内游离脯氨酸的含量 ,在一定程度上可以判断逆境对植物的危害程度和植物对逆境的抵抗力。

本试验选用 15% PEG 对 3 个品种的甜高粱幼苗进行处理 ,经 2 次处理 5 d 后 ,BJ-17、BJ-18、M-00110 的脯氨酸含量均有明显增加 ,与各自对照组相比 ,M-00110 的增幅最大 ,是对照组的 74. 70% ;

BJ-17 次之 ,是其对照组的 72. 56% ;而 BJ-18 增大的幅度最小 ,只有对照组的 69. 66% ,与其他两个品系相比均达到了 0. 01 的极显著水平(表 5)。在渗透胁迫条件下 ,甜高粱幼苗叶片中脯氨酸含量上升幅度越小 ,说明该品种幼苗叶片组织因胁迫产生的渗透调节物质就越少 ,即说明该品种耐渗透胁迫的能力越强。因此 ,根据这一生理指标的差异 ,可断定 3 个甜高粱品种耐受渗透胁迫的能力依次为: BJ-18 > BJ-17 > M-00110。

表 5 不同甜高粱品种经 PEG 处理后脯氨酸含量

Tab. 5 Proline content of different varieties of sweet sorghum by PEG treatment			
品种 Variety	对照组脯氨酸含量/($\mu\text{g/g}$) Proline content of CK	15% PEG 处理后脯氨酸含量/($\mu\text{g/g}$) Proline content by PEG treatment	相对增加量/% Relative growth rate
BJ-17	0. 239 8	0. 413 8	72. 56 ABb
BJ-18	0. 225 8	0. 383 1	69. 66 Bb
M-00110	0. 254 1	0. 443 9	74. 70 Aa

2. 2. 5 PEG 处理对甜高粱丙二醛含量的影响 植物器官衰老或在逆境下遭受伤害 ,往往发生膜脂过氧化作用 ,丙二醛(MDA) 是膜脂过氧化的最终分解产物 ,其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度。MDA 从膜上产生的位置释放出来后 ,可以与蛋白质、核酸反应 ,从而丧失功能 ,还可使纤维素分子间的桥键松弛 ,或抑制蛋白质的合成。因此 ,MDA 的积累可能对膜和细胞造成一定的伤害。

丙二醛(MDA) 是常用的膜脂过氧化指标 ,在酸性和高温条件下 ,可以与硫代巴比妥酸(TBA) 反应生成红棕色的三甲川(3 ,5 ,5-三甲基恶唑-2 ,4-二酮) ,其最大吸收波长在 532 nm。但是测定植物组织中 MDA 时受多种物质的干扰 ,其中最主要的是可溶性糖 ,糖与 TBA 显色反应产物的最大吸收波长

在 450 nm ,但 532 nm 处也有吸收。

本试验经过对 3 个品种的甜高粱幼苗进行 2 次 15% PEG 处理 5 d 后 ,BJ-17、BJ-18、M-00110 的 MDA 含量均有明显增加 ,与对照组相比 ,M-00110 的增幅最大 ,是对照组的 63. 33% ;BJ-17 次之 ,是其对照组的 35. 48% ;而 BJ-18 增大的幅度最小 ,只有对照组的 20. 00% ,3 个品系间的差异均达到 0. 01 的极显著水平(表 6)。在渗透胁迫条件下 ,甜高粱幼苗叶片中 MDA 含量上升幅度越小 ,说明该幼苗叶片细胞的质膜因膜脂过氧化作用而受到的损伤越少 ,耐渗透胁迫的能力越强。因此 ,根据这一生理指标的差异 ,可断定 3 个甜高粱品种耐受渗透胁迫的能力依次为: BJ-18 > BJ-17 > M-00110。

表 6 不同甜高粱品种经 PEG 处理后丙二醛含量

Tab. 6 MDA content of different varieties of sweet sorghum by PEG treatment			
品种 Variety	对照组 MDA 含量/($\mu\text{mol/g}$) MDA content of CK	15% PEG 处理后 MDA 含量/($\mu\text{mol/g}$) MDA content by PEG treatment	相对增加量/% Relative growth rate
BJ-17	0. 003 1	0. 004 2	35. 48 Bb
BJ-18	0. 003 0	0. 003 6	20. 00 Cc
M-00110	0. 003 0	0. 004 9	63. 33 Aa

3 讨论

3. 1 通过甜高粱幼苗形态指标的测定说明其耐渗透胁迫的能力

整个植物在生长过程中 ,受到胁迫后会直接影响其生长情况 ,试验过程中 ,在用 15% PEG 对甜高粱幼苗进行两次渗透胁迫以后 ,检测其鲜质量、株高、根长等指标。其鲜质量、株高、根长均有下降趋势。然后通过数据分析软件(SPSS) 得出: 在对照组与处理组之间 ,差异显著。这就说明 ,这些差异是由

于渗透胁迫处理后造成 ,而并非属于个体差异。反之 ,植物在受到渗透胁迫后 ,其鲜质量、株高、根长下降的幅度越小 ,就能说明该种植物的耐渗透胁迫能力越强。

3. 2 通过甜高粱幼苗生理生化指标的测定说明其耐渗透胁迫的能力

在用 15% PEG 对甜高粱幼苗进行 2 次胁迫后 ,检测幼苗叶片的叶绿素含量、细胞质膜透性、脯氨酸含量及丙二醛含量后 ,通过数据分析软件(SPSS) 得出其处理组与对照组的差异显著。其中 ,细胞质膜

透性、脯氨酸含量有丙二醛含量是随着胁迫程度的增大,其含量增大;叶绿素含量随着受胁迫程度的增大而降低,这些生理指标的改变与植物耐受渗透胁迫的能力相一致。因此,根据其受胁迫后各指标的变化幅度比较出不同品种甜高粱的耐渗透胁迫能力的大小。

4 结论

甜高粱在种子萌发阶段耐受 PEG 浓度范围为 0~20%。

在 15% PEG 渗透胁迫条件下,通过对不同品种甜高粱幼苗的鲜质量、株高、根长、叶绿素含量、细胞质膜透性、脯氨酸含量及丙二醛含量等 7 项生理生化指标的检测,得出如下结论:在非生物胁迫下,植株幼苗的鲜质量、株高、根长以及植物叶片叶绿素含量均呈下降趋势,而细胞质膜透性、脯氨酸含量及丙二醛含量均呈上升趋势,其变化幅度与植物自身耐渗透胁迫能力有关,耐受能力越强则变化幅度越小,反之亦然。

通过对上述 7 项生理生化指标的检测分析,得出 BJ-17、BJ-18、M-00110 3 个品种的耐渗透胁迫能力的强弱为:BJ-18 > BJ-17 > M-00110。

参考文献:

- [1] 张福耀,赵威军,平俊爱. 高能作物——甜高粱[J]. 中国农业科技导报, 2006, 8(1): 14-17.
- [2] 谷卫彬,黎大爵. 甜高粱: 高效太阳能转化器[J]. 太阳能, 2004 (4): 12-14.
- [3] Barbantil, Grandis, Vecchia, *et al.* Sweet and fibre sorghum(*Sorghum bicolor* (L.) Moench), energy crops in the frame of environment a protection from excessive nitrogen loads [J]. *Europ J Agronomy*, 2006 (25): 30 - 39.
- [4] Gnansounou, Dauriat, Wymance. Refining sweet sorghum to ethanol and sugar: economic trade-offs in the context of North China [J]. *Bio Resource Technology*, 2005 (96): 885 - 1002.
- [5] 王孟杰. 甜高粱茎秆制取燃料乙醇产业化前景[J]. 中国建设动态(阳光能源) 2007(2): 56 - 58.
- [6] Corlettje, Joneshg, Massaccia, *et al.* Water deficit, leaf rolling and susceptibility to photo inhibition in field grown sorghum [J]. *Physiologia Plantarum*, 1994, 92 (3): 423 - 430.
- [7] Philipaf, Alankk. Stomatal and photosynthetic responses to shade in Sorghum, soybean and eastern gamagrass [J]. *Physiologia Plantarum*, 1995, 94(4): 613 - 620.
- [8] Almudarisma, Jutzi S C. osmotically primed seed and seedling reactions to variations in day/night temperature [J]. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 1999, 182 (4): 217 - 222.
- [9] Claudivan F L, Cambraiajb, Marcoao, *et al.* Changes in growth and in solute concentrations in sorghum leaves and roots during salt stress recovery [J]. *Environmental and Experimental Botany* 2005, 54: 69 - 76.
- [10] Maribol L, Dionisio-Sese, Satoshi T. Antioxidant response of rice seedlings to salinity stress [J]. *Plant Science*, 1998, 135: 1 - 9.
- [11] 职明星, 李秀菊. 脯氨酸测定方法的改进[J]. 河南科技学院学报: 自然科学版, 2005, 33(4): 10 - 12.
- [12] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207 - 210.