

干旱胁迫下紫花苜蓿叶片水分代谢与两种渗透调节物质的变化

韩瑞宏¹, 田 华², 高桂娟³, 卢欣石⁴

(1. 华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642; 2. 华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642;
3. 广东教育学院 生物系, 广东 广州 510303; 4. 北京林业大学 资环学院, 北京 100083)

摘要:以陇东(耐旱)、公农1号(耐旱性中等)、BL-02-329(不耐旱)3种抗旱性强弱差异较大的紫花苜蓿为试验材料,对干旱胁迫下其叶片水分代谢与两种渗透调节物质的变化进行研究,结果表明:干旱胁迫下苜蓿叶片水势、叶片相对含水量降低,水分饱和和亏缺增加,总体上3种紫花苜蓿叶片抗旱性强的材料其叶片水势降低的幅度较大,水分饱和和亏缺上升幅度及叶片相对含水量下降幅度较低。干旱胁迫下,可溶性糖及脯氨酸含量上升,2种渗透物质对3种紫花苜蓿均有渗透调节作用。脯氨酸是三种紫花苜蓿主要渗透调节物质,脯氨酸含量的多少及增加的幅度能反映苜蓿的耐旱性。

关键词:干旱胁迫;紫花苜蓿;叶片;水分代谢;渗透调节

中图分类号:S551+.7 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2008)04-0140-05

Change of Water Metabolism and Two Osmotic Adjustment Substances in the Leaves of Alfalfa under Drought Stress

HAN Rui-hong¹, TIAN Hua², GAO Gui-juan³, LU Xin-shi⁴

(1. College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2. College of Agronomy, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
3. Department of Biology, Guangdong Education Institute, Guangzhou 510303, China;
4. Institute of Resources and Environment, University of Forestry of Beijing, Beijing 100083, China)

Abstract: In this study Longdong (strong drought-resistance) Gongnong No 1 (medium drought-resistance) and BL-02-329 (weak drought-resistance) were chosen as experimental material to study the change of water metabolism and two osmotic adjustment substances in the leaves of alfalfa under drought stress. The results showed: the water potential and water relative content in the leaves of alfalfa decreased and water saturated deficit in the leaves of alfalfa increased under drought stress. There were higher decrease extent of water potential and lower decrease extent of water relative content in the leaves of strong drought-resistance alfalfa under drought stress. At the same time the proline content and soluble sugar content increased in the leaves of three alfalfa, the two substances both have adjustive function to three alfalfa under drought stress. Proline is the main adjustment substance and the content and the increase extent can reveal drought-resistant of alfalfa cultivars.

Key words: Drought stress; Alfalfa; Leaf; Water metabolism; Osmotic adjustment.

干旱胁迫是影响植物生长发育的主要因子之一,它对植物生理生态过程产生深刻的影响。干旱胁迫时,植物的水分状况都有共同的表现,就是植物组织含水量下降,植物吸水量降低,蒸腾量减少,但

蒸腾仍大于吸水^[1]。同时,植物也会通过一系列的生理生化变化来适应水分胁迫生境。植物在缺水条件下,体内会主动积累一些溶质,如可溶性糖、脯氨酸等,由于细胞内溶质增多,渗透势下降,植物就可

收稿日期:2008-02-20

基金项目:教育部博士点基金项目(20060022011);中国博士后科学基金(20070410836)

作者简介:韩瑞宏(1974-),女,内蒙古牙克石人,博士,主要从事牧草抗逆性研究工作。

通讯作者:卢欣石(1947-),男,甘肃兰州人,教授,博士,博士生导师,主要从事牧草抗逆性研究工作。

以从外界继续吸水, 维持细胞膨压, 使植物生理过程正常进行^[2]。

紫花苜蓿 (*Medicago sativa*) 是世界分布最广的豆科牧草, 也是我国种植面积最大的人工牧草, 其营养价值丰富, 生物量大、再生性强, 是改良土壤的绿肥植物, 因而被称为“牧草之王”^[3,4]。本研究以耐旱性不同的紫花苜蓿为材料, 研究其在干旱胁迫条件下水分代谢与部分渗透调节物质的变化, 探讨其适应干旱环境的机理, 为耐旱苜蓿的选育提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

根据对多个紫花苜蓿种质资源抗旱性的鉴定结果^[5], 选择 3 种抗旱性强弱差异较大的紫花苜蓿: 陇东苜蓿(抗旱性强)、公农 1 号(抗旱性中等)和 BL-02-329(抗旱性弱)为试验材料, 采用盆栽方式, 选用直径为 40 cm、高 30 cm 的塑料盆, 取试验田表层土, 粉碎混匀, 每盆装入等量土壤(15 kg), 每盆播种 20 粒, 待苗齐后间苗, 去弱小苗, 每盆留健苗 10 株。

1.2 试验方法

在苜蓿分枝期开始干旱胁迫。在试验的当天清晨对试验材料浇透水, 然后分为对照和处理 2 组, 对照植株保持正常水分的供应, 处理植株一直保持干旱状态, 在控水的第 12 天对处理植株复水并保持正常水分供应直至试验结束。分别在控水的当天和控

水的第 4, 8, 12 天及复水后的第 4 天对对照和处理植株进行各项指标的测定。

1.3 测定内容

土壤含水量采用烘干称重法测定; 叶水势用小液流法测定^[6]; 叶片相对含水量(RWC)和水分饱和和亏缺(WSD)采用烘干称重法测定^[7]; 可溶性糖采用蒽酮比色法测定^[8]; 脯氨酸的测定采用茚三酮法^[8]。

2 结果与分析

2.1 土壤绝对含水量的变化

试验期间对照土壤绝对含水量在 19.28% ~ 19.69% 间变动, 处理的土壤绝对含水量随干旱胁迫时间的延长逐渐降低, 干旱胁迫前期土壤含水量下降的幅度较大, 后期下降的幅度较小(表 1)。

表 1 对照及控水处理土壤含水量的变化

	and treatment					%
	0 d	4 d	8 d	12 d	16 d	
对照 CK	19.56	19.47	19.69	19.28	19.32	
处理 Treatment	19.37	12.96	9.02	5.87	19.21	

2.2 叶水势、叶片相对含水量与水分饱和和亏缺变化

植物叶水势代表植物水分运动的能量水平, 反映了植物组织水分状况, 它是衡量植物抗旱性能的一个重要生理指标^[9, 10]。植物水势值越低, 植物就越需要水, 吸水能力就越强, 能将土体中贮存的水吸收。由表 2 可以看出, 在适宜水分下 3 种紫花苜蓿叶片水势变化幅度不大。

表 2 正常供水苜蓿叶水势、叶片相对含水量及水分饱和和亏缺的变化

Tab. 2 The change of water potential water relative content and water saturated deficit in leaves of alfalfa under normal water condition

时间/ d	叶水势/ MPa Leaf water potential			叶片相对含水量/ % Leaf water relative content			水分饱和和亏缺/ % Leaf water saturated deficit		
	陇东苜蓿	公农 1 号	BL-02-329	陇东苜蓿	公农 1 号	BL-02-329	陇东苜蓿	公农 1 号	BL-02-329
0	- 0.37	- 0.33	- 0.33	78.14	80.76	83.33	21.86	19.24	16.67
4	- 0.41	- 0.41	- 0.33	80.04	79.43	72.95	19.95	20.57	23.98
8	- 0.37	- 0.33	- 0.29	74.91	75.44	78.81	25.08	22.64	21.19
12	- 0.37	- 0.37	- 0.33	77.65	74.95	73.9	22.34	23.5	22.36
16	- 0.45	- 0.28	- 0.45	78.09	76.75	83.09	21.90	23.25	16.91

图 1 显示, 控水条件下, 3 种紫花苜蓿叶水势均下降。胁迫的初期, 叶片水势下降的幅度大致相同。随着胁迫时间的延长, 叶片水势降低的幅度为陇东苜蓿> 公农 1 号> BL-02-329。在控水的第 12 天, 陇东、公农 1 号及 BL-02-329 叶片水势较控水第 8 天分别下降 40.25%, 38.66%, 29.66%。复水后 3 种紫花苜蓿叶片水势有所回升, 但仍低于对照。在干旱胁迫下, 3 种紫花苜蓿通过叶水势大幅度降低来增强其吸水能力以维持生长所需的膨压。叶水势的降低, 不仅与叶片相对含水量降低有关, 还可能是由于

脯氨酸、可溶性糖等渗透调节物质的大量积累所致。

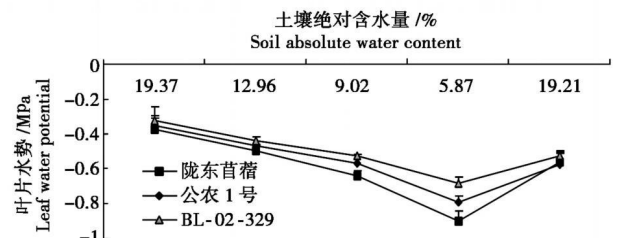


图 1 水分胁迫及复水对苜蓿叶片水势的影响
Fig. 1 Effect of water stress and rewetting on water potential of alfalfa leaves

叶片相对含水量(RWC)和水分饱和亏缺(WSD)是公认的一对能较好地反映植物水分状况的生理指标, RWC 是指示叶片保水力的一个常用指标, WSD 是衡量叶片水分状况的一个重要指标, 当植物体内水分供应不足, 水分代谢受到抑制时, WSD 可反映出植物的需水状况, WSD 越大说明水分亏缺越严重。本试验结果表明(图 2), 正常供水情况下苜蓿叶片 RWC 和 WSD 变化不大。水分胁迫下 3 种紫花苜蓿

叶片的 RWC 均有不同程度的下降, 而 WSD 却有不同幅度的上升: 抗旱品种陇东苜蓿在水分胁迫下 WSD 上升慢, 上升幅度低, RWC 下降慢, 下降幅度小; 抗旱性中等的公农 1 号和抗旱性差的 BL-02-329 在水分胁迫下 WSD 上升快, 上升幅度较高, RWC 下降快, 下降幅度大。复水后 3 种紫花苜蓿叶片相对含水量增高, 水分饱和亏缺降低, 但均未达到对照水平。

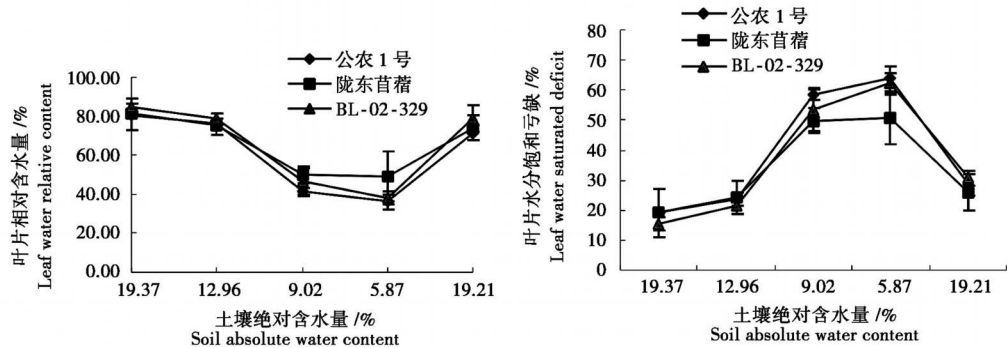


图 2 正常供水、水分胁迫及复水对苜蓿叶片相对含水量及水分饱和亏缺的影响

Fig. 2 Effect of normal water condition water stress and rewatering on water relative content and water saturated deficit in alfalfa leaves

2.3 水分胁迫下可溶性糖含量的变化

可溶性糖是水分胁迫下植物体内的渗透调节物质, 可以增加细胞原生质浓度, 从而起到抗脱水作用。在正常供水条件下, 3 种紫花苜蓿叶片可溶性糖含量变化不大(图 3-A)。水分胁迫下, 3 种紫花苜蓿叶片可溶性糖含量均增加, 但增加的趋势不同: BL-02-329 叶片可溶性糖含量升高, 但增加的幅度较小; 陇东苜蓿叶片可溶性糖的含量表现出缓慢升高-急剧升高-缓慢下降的趋势, 即在控水第 4 天有小幅度的增加, 控水的第 8 天升高幅度较大, 达到 4.09 mg/g, 在控水的第 12 天又有小幅度的下降; 公农 1 号叶片可溶性糖含量随着干旱胁迫的加强, 增加幅度也随之变大, 在控水的第 12 天含量达到最大

值为 4.44 mg/g, 超过了同期的陇东苜蓿。复水后陇东苜蓿和公农 1 号叶片可溶性糖含量与对照接近, BL-02-329 叶片可溶性糖含量略高于对照。方差分析表明, 陇东苜蓿叶片可溶性糖含量在各处理间差异极显著, 并同时与复水后第 4 天的叶片可溶性糖含量间差异极显著($p < 0.01$), 公农 1 号的方差分析结果与陇东苜蓿一致, 而 BL-02-329 在各处理间差异不显著($p > 0.05$)(图 3-B)。说明水分胁迫下, 可溶性糖对抗旱性强的陇东苜蓿和抗旱性中等的公农 1 号渗透调节作用明显, 通过细胞内可溶性糖含量的增加, 降低了原生质的渗透势, 有利于细胞从外界的介质中继续吸水, 以维持其正常的代谢活动。但对抗旱性弱的 BL-02-329 渗透调节作用不明显。

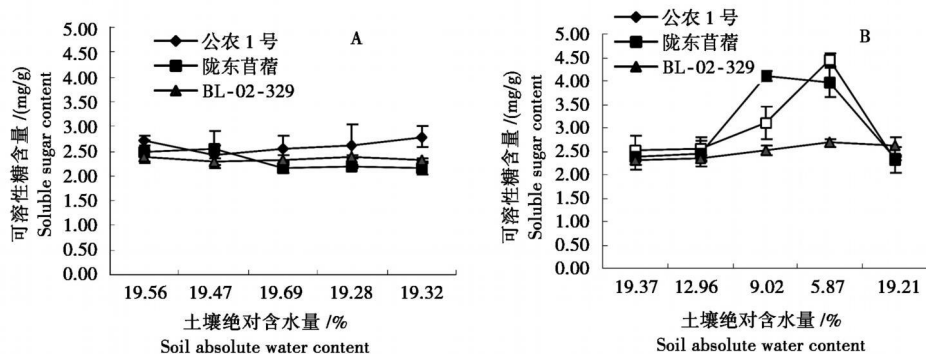


图 3 正常供水、水分胁迫及复水对苜蓿叶片可溶性糖含量的影响

Fig. 3 Effect of normal water condition, water stress and rewatering on soluble sugar content in alfalfa leaves

2.4 水分胁迫下脯氨酸(Pro)含量的变化

大量研究表明, 干旱条件下植物体内游离脯氨

酸大量累积。脯氨酸是无毒的中性溶质, 具有易于水合的趋势或具有较强的水合能力, 是细胞中的一

种防脱水剂,在植物受旱时它的增加有利于细胞或组织的持水,防止脱水^[11]。本试验中的3种紫花苜蓿在正常供水条件下叶片 Pro 也有小幅度的波动,其中,陇东苜蓿在 0.018 0~0.059 1 mg/g 间变动,公农 1 号在 0.031 2~0.068 0 mg/g 间变动, BL-02-329 在 0.015 5~0.028 7 mg/g 间变动(图 4A)。水分胁迫条件下,叶片游离脯氨酸含量均比对照有不同程度增加,控水的第 4 天和第 8 天陇东苜蓿叶片 Pro 含量分别是对照的 3.50 和 8.58 倍,公农 1 号叶片 Pro 的含量分别是对照的 3.73 和 8.51 倍, BL-02-329 叶片 Pro 含量增长量较低,仅为对照的 1.84 倍和 4.03 倍。随着干旱胁迫的进一步加剧,3 种紫花苜蓿 Pro 含量急剧上升,在控水的第 12 天陇东苜蓿、公农 1 号和 BL-02-329 分别上升为对照的 155.818、

87.743 和 37.203 倍,含量分别达到了 2.990、2.734、1.616 mg/g。方差分析结果显示,控水第 12 天,3 种紫花苜蓿叶片 Pro 含量与控水的 4、8 d 及复水后第 4 天的含量间差异极显著($p < 0.01$)。复水后 3 种紫花苜蓿 Pro 含量均有较大幅度的降低,但陇东苜蓿和公农 1 号 Pro 含量仍为对照的 5.53 和 4.09 倍, BL-02-329 叶片 Pro 含量接近对照(图 4B)。由以上数据分析可知,随着干旱胁迫的加剧,苜蓿植株体内脯氨酸含量大量增加,抗旱性强的品种更是以成百倍的速度增加,表明,脯氨酸是紫花苜蓿主要渗透调节物质,脯氨酸含量的多少及增加的幅度能反映苜蓿的抗旱性。干旱逆境下,3 种紫花苜蓿游离脯氨酸含量的增加能提高原生质的亲水性,有助于细胞组织持水和防止脱水能力,增强其抗旱性。

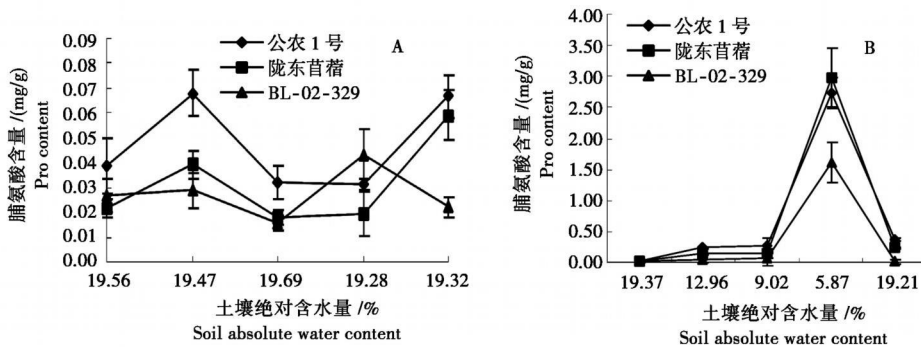


图 4 正常供水、水分胁迫及复水对苜蓿叶片脯氨酸含量的影响

Fig. 4 Effect of normal water condition, water stress and rewatering on Pro content in alfalfa leaves

3 讨论

植物的抗旱性与植株的水分状况紧密相关,这是由于植株的水分状况关系到细胞膨压,酶的活性,无机盐的吸收,有机物的分解、合成、转化、运输和新器官的形成。本试验研究表明,在土壤干旱胁迫进程中,苜蓿叶片水势降低,说明吸水能力在逐步增强,总体上,抗旱性强的苜蓿较抗旱性差的苜蓿叶水势降低的幅度大。叶水势的降低一方面是由于叶片相对含水量降低引起的,但从二者在胁迫中降低的幅度来看,水势的降低还可能与叶片中溶质如可溶性糖等的增加有关,因为在控水的第 12 天测得水势下降的幅度远远高于叶片相对含水量下降的幅度。

渗透调节是植物适应水分胁迫的一种重要机制。使植物在水分胁迫下通过积累溶质,降低渗透势,维持膨压,从而使体内各种与膨压有关的生理过程正常进行^[12]。本研究表明,在干旱胁迫进程中,3 种紫花苜蓿的 2 种主要渗透调节物质(有机)呈上升趋势,总量逐渐增加,这表明紫花苜蓿可以通过渗透调节作用来适应干旱逆境。但在控水的第 12 天测得陇东苜蓿可溶性糖含量停止积累,表明虽然可溶

性糖可作为陇东苜蓿的渗透调节物质,但其渗透调节作用是有限度的。

在干旱胁迫下,作为胞质渗透调节剂,脯氨酸积累的多少与植物抗逆性有关,可作为抗逆性筛选的指标,但也有研究表明,逆境下脯氨酸的积累是植物受伤害的结果,不宜作为抗性筛选的指标^[13-16]。本试验结果分析得出:处于分枝期的苜蓿在干旱胁迫条件下,抗旱性强的品种游离脯氨酸含量大且增加的幅度大,表明脯氨酸是 3 种紫花苜蓿主要渗透调节物质,其含量的多少及增加的幅度能反映苜蓿的抗旱性,抗旱性强的苜蓿品种较抗旱性差的苜蓿积累脯氨酸的能力强。

在整个水分胁迫处理中,脯氨酸与可溶性糖的累积进程不同,很可能两者之间具有相互补偿的作用,陇东苜蓿在控水的第 12 天可溶性糖含量降低时,脯氨酸含量达到最大,脯氨酸在干旱后期的大量积累可能是可溶性糖下降的补偿策略,这一结论与王霞^[17]在柽柳,张美云^[18]在野生大豆及赵黎芳^[19]在扶芳藤上的研究结论一致。本试验中, BL-02-329 渗透调节物质以脯氨酸为主,陇东和公农 1 号可溶性糖和脯氨酸均是重要的渗透调节物质。

由于本试验只测定了可溶性糖、脯氨酸两种主要渗透调节物质的变化, 其他有机和无机渗透调节物质在渗透调节中起的作用还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 孙国荣, 张 睿, 姜丽芬, 等. 干旱胁迫下白桦(*Betula platyphylla*) 实生苗叶片的水分代谢与部分渗透调节物质的变化[J]. 植物研究, 2001, 21(3) : 413– 415.
- [2] 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.
- [3] 韩德梁, 王彦荣. 紫花苜蓿对干旱胁迫适应性的研究进展[J]. 草业学报, 2005, 14(6) : 7– 13.
- [4] 张春荣, 李 红, 夏立江, 等. 镉、锌对紫花苜蓿种子萌发及幼苗的影响[J]. 华北农学报, 2005, 20(1) : 96– 99.
- [5] 韩瑞宏, 卢欣石, 高桂娟, 等. 紫花苜蓿抗旱性主成分及隶属函数分析[J]. 草地学报, 2006, 14(2) : 142– 146.
- [6] 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.
- [7] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [8] 邹 奇, 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [9] 阮成江, 李代琼. 黄土丘陵区沙棘气孔导度及其影响因素[J]. 西北植物学报, 2001, 21(6) : 1078– 1084.
- [10] 王海珍, 梁宗锁, 韩蕊莲, 等. 土壤干旱对黄土高原乡土树种水分代谢与渗透调节物质的影响[J]. 西北植物学报 2004, 24(10) : 1822– 1827.
- [11] 王朝云, 揭雨成. 水分胁迫对红麻生理特性和产量的影响[J]. 作物学报, 1995, 21(6) : 746– 751.
- [12] Morgan J M. Osmotic adjustmeng in spikelets and leaves of wheat[J]. Exp Bot, 1980, 31: 655– 665.
- [13] 汤章城, 王育启, 吴亚华. 不同抗旱品种高粱苗中脯氨酸积累的差异[J]. 植物生理学报, 1986, 12: 154– 162.
- [14] Liu J P, Zhu J K. Proline accumulation and salt-stress induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 1997, 114(2) : 591– 596.
- [15] 刘娥娥, 宗 会, 郭振飞, 等. 干旱、盐和低温胁迫对水稻幼苗脯氨酸含量的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2000, 8(3) : 235– 238.
- [16] 张 智, 夏宜平, 徐伟伟. 两种观赏草的自然失水胁迫初步研究[J]. 园艺学报, 2007, 34(4) : 1029– 1032.
- [17] 王 霞, 侯 平, 伊林克, 等. 水分胁迫对柽柳植物可溶性物质的影响[J]. 干旱区研究, 1999, 16(2) : 6– 11.
- [18] 张美云, 钱 吉, 郑师章. 渗透胁迫下野生大豆游离脯氨酸和可溶性糖的变化[J]. 复旦学报: 自然科学版, 2001, 40(5) : 558– 561.
- [19] 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.