西北农业学报 2003, 12(1): 63~ 67
Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica

PEG对烟草幼苗耐低温胁迫能力的生理效应*

张 燕[1], 方 力[1], 姚照兵[2], 冯永新[2]
(1.云南烟草科学研究院生物技术重点实验室,云南昆明 650106;
2.中国科学技术大学经济技术学院,安徽合肥 230052)

摘 要: 用不同浓度 PEG处理 4叶期烟草幼苗,对烟草在低温胁迫期间电解质渗漏率、丙二醛、内源抗氧化剂含量及保护酶活性等生理生化指标的变化进行了测定。结果表明, PEG处理能显著增强烟草幼苗耐低温胁迫能力,提高烟草叶片中内源抗氧化剂(AsA GSH)含量和膜保护酶(SOD和 CAT)活性;在低温胁迫期间,经 PEG处理的幼苗中叶绿素、呼吸速率、可溶性蛋白质、脯氨酸含量均高于对照,电解质渗漏率和膜脂过氧化产物丙二醛积累量低于对照。结果表明,维持较高的膜保护酶活性,提高与抗冷性有关物质含量是 PEG提高烟草幼苗耐低温能力的基础。

关键词: PEG; 烟草幼苗; 低温胁迫; 生理效应
中图分类号: S572 文献标识码: A 文章编号: 1004-1389(2003)01-0063-05

Physiological Effects of PEG on Chilling Resistance of Tobacco Seedlings

ZHANG Yan[1], FANG Li[1], YAO Zhao-bing[2], FENG Yong-xin[2]
(1. Key Laboratory of Biotechnology, Yunnan Academy of Tobacco Science, Kunming 650106, China;
2. University of Science and Technology of China, Hefei 230052, China)

Abstract The tobacco seedlings was treated with different concentrations of PEG solution or water(as control) for three days, and determine the physiological index changes in leaves of tobacco seedlings such as leakage of electrolytes, the content of MDA and the contents of endogenous anyioxidants (AsA and GSH), the activities of membrane protecting enzymes(SOD and CAT) before and after chilling stress. The results indicated that treatment with PEG solution obviously increased the resistance of chilling. It also increase the content of AsA and GSH; The activities of SOD and CAT were increased by PEG and kept high level after chilling stress at 5℃ temperature. During chilling stress, in comparison with the control, the content of chlorophylls, proline and soluble sugar in tobacco seedlings treated with PEG were all increased in varying degrees. The accumulation of malondialdehyde (MAD) and the leakage of electrolytes in increased less in seedlings of PEG treated than that in control seedlings. Therefore, it was suggested that PEG had kept higher the activities of membrane protective enzymes and increased the content of protective substance for cold-tolerance in tobacco seedlings under chilling stress.

Key words PEG; Tobacco seedlings; Chilling stress; Physiological effects

低温引起膜结构的破坏是导致植物冷害损伤和死亡的重要原因[1],增强膜结构的稳定性能提高植物抗冷性。聚乙二醇(PEG)可调控植物抗冷力,修复膜系统,稳定细胞膜结构,提高种子活力及抗逆性,特别是提高植物在低温下的成苗能力[2,3]。早春低温冷害严重影响烟草的产量和品

* 收稿日期: 2002-08-29
作者简介: 张 燕(1963-),女,副研究员,从事烟草栽培与逆境生理研究。电话: 0871-8316659, 8319962 E-mail: yanzhkm@sina.com
© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

质,因此本研究用不同浓度 PEG- 6000处理烟草幼苗,观察经 PEG处理的烟草幼苗对低温胁迫能力的反应,比较冷胁迫前后烟草幼苗中一些生理生化指标的变化,为进一步探讨 PEG在烟草抗冷性生理代谢中的作用提供参考。

1 材料与方法

1.1 PEG处理

以烟草品种 NC89为供试材料,幼苗长至 4叶期时,用 10%、20% PEG喷施叶片,连续喷 3次,对照为蒸馏水,3 d后将处理和对照幼苗各分为两组,一组继续置常温生长室中生长,另一组放入 5℃低温下处理 1~ 5 d,每天取生长一致的幼苗测定有关的生理生化指标,所有指标测定均重复 3次,取平均值。

1.2 耐冷系数鉴定

参照文献 [4~ 6]标准进行冷害分级,冷害指数 = Σ(各级株数× 级数) 总株数

1.3 生理生化指标测定

电解质渗漏率用 DDS- 307型电导率仪测定,以煮沸前后两次电导率之比值计算电解质渗漏率[7];可溶性糖含量用蒽酮比色法测定[8];叶绿素含量用 Arnon法[9]测定;呼吸速率用瓦氏呼吸计[10]测定;脯氨酸含量用酸性茚三酮法[11];丙二醛 (MDA)含量以硫代巴比妥酸法[11]测定; SOD酶活性参照王爱国[12]的方法; CAT酶活性按李柏林和梅慧生[5]的方法测定。以上测定均重复 3次。

2 结果与分析

2.1 PEG对烟草幼苗耐低温胁迫能力的影响

由图 1可见,低温胁迫对烟草幼苗造成了伤害。20% PEG处理幼苗和对照幼苗在低温胁迫第一天都有轻微冷害发生,随着低温时间的延长,幼苗的冷害程度逐渐加深,处理和对照幼苗之间的冷害指数差异增大,经 6 d的低温胁迫, PEG处理幼苗的冷害指数较对照幼苗低,表明幼苗经 PEG处理后冷害程度降低。低温胁迫期间, 20% PEG处理幼苗的萎蔫率和死亡率均较对照幼苗低,低温胁迫 6 d后,对照幼苗的萎蔫率和死亡率分别为 63.7%和 77.2%, PEG处理幼苗的萎蔫率和死亡率为 42.4%和 57.8%。

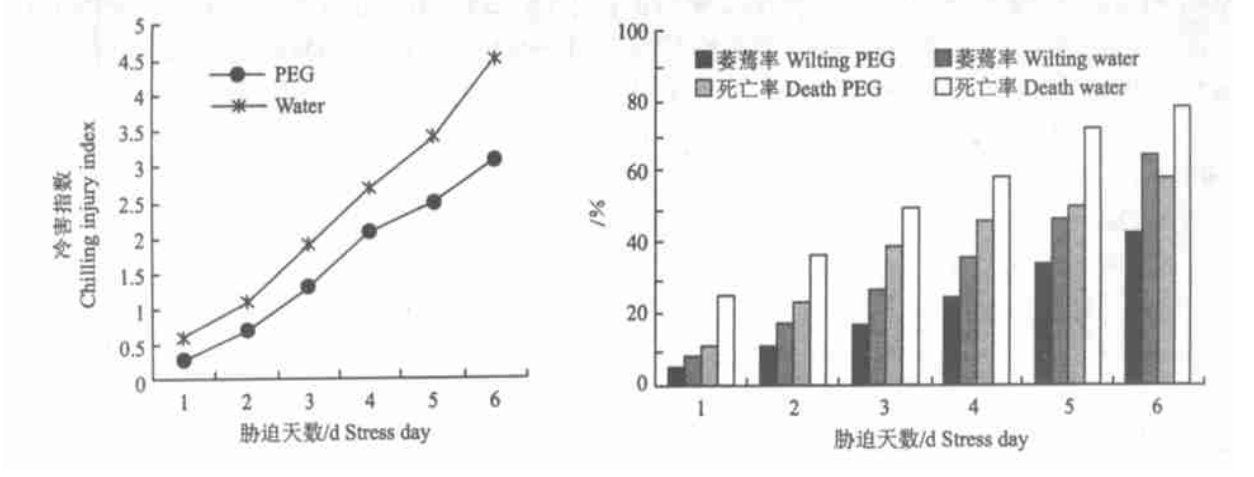
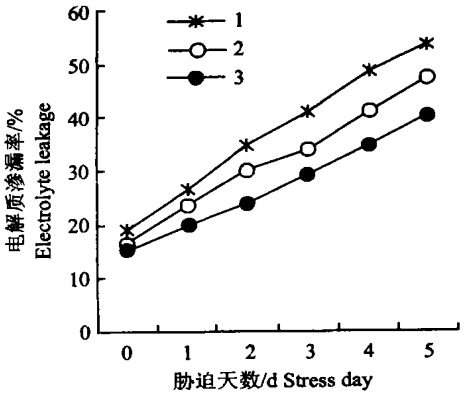


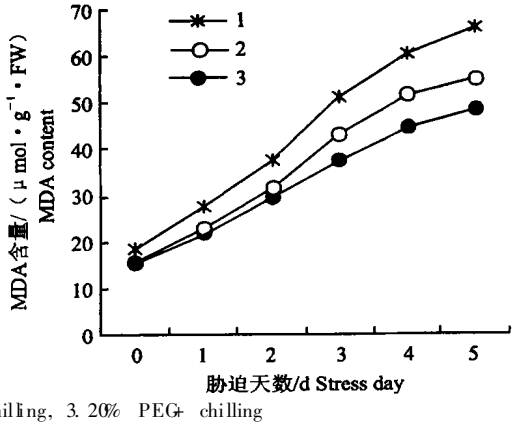
图 1 PEG处理对烟草幼苗耐低温胁迫能力的影响

Fig. 1 Effect of PEG on chilling resistance of tobacco seedlings

2.2 PEG对烟草幼苗质膜相对透性和丙二醛含量的影响

图 2显示,低温胁迫下烟草幼苗电解质渗漏率增高,但 PEG处理幼苗不仅电解质渗漏率低于对照,而且增加的幅度也明显较对照缓慢,胁迫 5 d后, 10% PEG和 20% PEG处理幼苗中电解质渗漏率分别比对照幼苗低 19%和 27%,表明 PEG对细胞质膜具有良好的保护作用。低温胁迫使烟草幼苗膜脂过氧化作用增强,其代谢产物 MDA增加。由图 3可见,对照叶片 MDA含量增长较快, PEG处理叶片的 MDA含量增长较慢,随低温持续时间的延长, PEG处理叶片的 MDA含量与对照差异加大,以 20% PEG处理效果较好,其叶片 MDA含量最低。低温胁迫下叶片 MDA含量变化与电解质渗漏率变化趋势相似,经新复极差法测验,处理间差异均达极显著水平。





1. Water+ chilling, 2. 10% PEG+ chilling, 3. 20% PEG+ chilling

图 4~图 7中的 1 2 3同此。1, 2 and 3 of Fig. 4~ Fig. 7 are same as Fig. 2 and Fig. 3

2 低温胁迫下 PEG对烟草幼苗电解质渗漏率的影响

Fig. 2 Effect of PEG on the electrolytic leakage in tobacco seedlings under chilling stress

图 3 低温胁迫下 PEG对烟草幼苗 DNA含量的影响

Fig. 3 Effect of PEG on content of MDA in tobacco seedlings under chilling stress

2.3 PEG对烟草叶片叶绿素含量的影响

表 1结果表明,低温使叶绿素含量降低,随低温天数的增加叶绿素含量逐渐减少,低温对 chlb的破坏较 chla严重,导致 chla/chlb的比值增大。幼苗经不同浓度 PEG处理后,其叶片的叶绿素含量均不同程度的高于对照,低温胁迫 5 d后, PEG处理幼苗叶片叶绿素含量较低温处理前分别降低了 47. 8%和 40. 3% ,而对照幼苗叶绿素降低了 60. 4% ,表明 PEG对叶绿素有一定的保护作用,因而减缓了叶绿素在低温下的分解速度。

表 1 PEG处理对低温胁迫下烟草幼苗叶片叶绿素含量的影响

Table 1 Effect of PEG on the content chlorophyll in tobacco seedlings under chilling stress

胁迫天数 /d Stress day	Chl/(mg·g⁻¹·FW)			Chl/(mg·g⁻¹·FW)			Chl/(mg·g⁻¹·FW)			Chl a/Chl b		
	Water	10% PEG	20% PEG	Water	10% PEG	20% PEG	Water	10% PEG	20% PEG	Water	10% PEG	20% PEG
0	1. 82aA	1. 82aA	1. 86aA	1. 28aA	1. 26aA	1. 30aA	0. 54aA	0. 56aA	0. 56aA	2. 37	2. 25	2. 32
1	1. 58bB	1. 73bB	1. 77bB	1. 15bB	1. 21bB	1. 23bB	0. 43bB	0. 52bB	0. 54bA	2. 67	2. 33	2. 27
2	1. 31cC	1. 52cC	1. 59cC	0. 97cC	1. 07cC	1. 13cC	0. 34cC	0. 43cC	0. 46cB	2. 85	2. 53	2. 45
3	1. 16dD	1. 33dD	1. 42dD	0. 88dD	0. 97dD	1. 02dD	0. 28dD	0. 36dD	0. 40dC	3. 14	2. 69	2. 56
4	0. 98eE	1. 18eE	1. 30eE	0. 75eE	0. 89eE	0. 96eE	0. 23eE	0. 29eE	0. 34eD	3. 26	3. 07	2. 82
5	0. 72fF	0. 95fF	1. 11fF	0. 56fF	0. 73fF	0. 84fF	0. 21fE	0. 22fF	0. 27fE	3. 50	3. 31	3. 03

注: Duncan氏新复极差法测验(SSR法),不同大写字母和小写字母分别表示在 0. 01和 0. 05水平上差异显著。

Note: Duncan's test (SSR), the different capital and small letters indicated significance at 0. 01 and 0. 05 level respectively.

2.4 PEG对烟草叶片呼吸速率、可溶性蛋白质和脯氨酸含量的影响

低温初期,不同 PEG处理幼苗和对照幼苗的呼吸速率都呈上升趋势,随低温持续时间的延长,对照幼苗呼吸速率下降较快,而 PEG处理幼苗其呼吸速率下降的速度和幅度均低于对照(表 2)。与

表 2 PEG处理对低温下烟草幼苗呼吸速率、可溶性糖和脯氨酸含量的影响

Table 2 Effect of PEG on respiratory rate and the content of proline and soluble sugar in tobacco seedlings under chilling stress.

胁迫天数 /d Stress day	呼吸速率 /(O_2 mol·h⁻¹·g⁻¹·FW) Respiratory rate			脯氨酸 /(mg·g⁻¹·FW) Proline content			可溶性糖含量 /(mg·g⁻¹·FW) Soluble sugar content		
	Water	10% PEG	20% PEG	Water	10% PEG	20% PEG	Water	10% PEG	20% PEG
0	4. 41bB	4. 55cC	4. 73bB	3. 15fF	3. 23fF	3. 18fF	2. 42fF	2. 52fF	2. 60fF
1	6. 15aA	5. 75aA	5. 46aA	5. 11dD	4. 64eE	5. 48eE	2. 55eE	2. 84eE	3. 33eE
2	3. 96cC	5. 25bB	4. 84bB	4. 86eE	5. 33dD	6. 08dD	2. 71dD	3. 19dD	3. 74dD
3	3. 35dD	4. 21dD	3. 85cC	5. 34cC	5. 91cC	6. 61cC	3. 33cC	3. 66cC	4. 11cC
4	2. 66eE	3. 04eE	3. 32dD	6. 08bB	6. 36bB	7. 24bB	3. 89bB	4. 22bB	4. 56bB
5	2. 16fF	2. 44fF	2. 73eE	6. 43aA	6. 88aA	7. 67aA	4. 14aA	4. 56aA	5. 08aA

注: Duncan氏新复极差法测验(SSR法),不同大写字母和小写字母分别表示在 0. 01和 0. 05水平上差异显著。

Note: Duncan's test (SSR), the different capital and small letters indicated significance at 0. 01 and 0. 05 level respectively.

此相反,低温胁迫期间幼苗中可溶性糖含量和脯氨酸含量随低温时间的延长而增加(表 2),尤其是脯氨酸的含量显著增加,对照幼苗脯氨酸含量呈现先增后降再稳步增长趋势,不同浓度 PEG处理的幼苗脯氨酸含量随低温胁迫时间的延长逐步增加,低温胁迫 5 d后,对照幼苗中脯氨酸含量较低温胁迫前增加了 104.13%,PEG处理的幼苗脯氨酸含量分别增长了 113.03%和 141.19%。脯氨酸和可溶性糖含量与植物抗冷性有密切关系。

2.5 PEG处理对烟草幼苗内源抗氧化剂含量的影响

抗坏血酸(AsA)和还原型谷胱甘肽(GSH)是植物体内重要的抗氧化性物质,能清除活性氧,降低过氧化伤害。图 4结果表明,低温胁迫 1 d,不同处理幼苗叶片中抗坏血酸含量均有所上升,随低温胁迫时间的延长,其含量也不断下降。PEG处理幼苗叶片中抗坏血酸含量的下降趋势较对照缓慢。低温胁迫下还原型谷胱甘肽含量的变化趋势与抗坏血酸变化相似(图 5)。低温胁迫 5 d后,对照幼苗中抗坏血酸和还原型谷胱甘肽含量分别较低温胁迫前降低了 59.33%和 71.98%,不同浓度 PEG处理幼苗中抗坏血酸含量分别降低了 42.34%和 26.92%,还原型谷胱甘肽含量分别降低了 61.36%和 47.39%,该结果也表明还原型谷胱甘肽对低温胁迫比较敏感。经新复极差法测验,处理间差异达极显著水平。

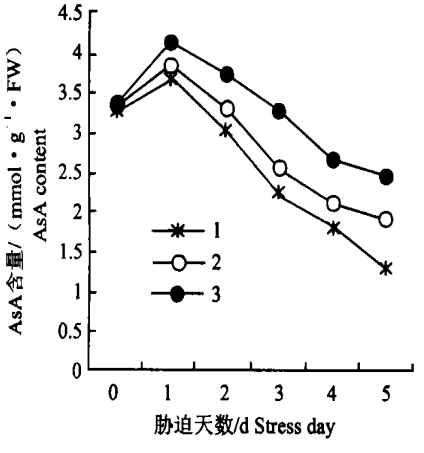


图 4 低温胁迫下 PEG对烟草幼苗抗坏血酸(AsA)含量的影响

Fig. 4 Effect of PEG on content of AsA in tobacco seedlings under chilling tress

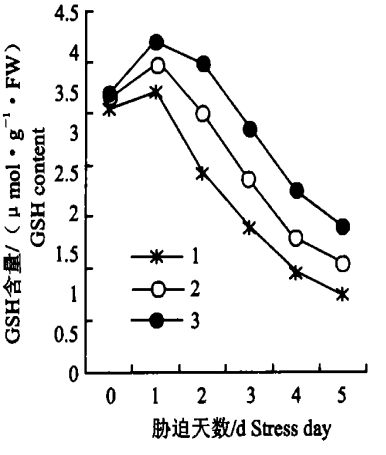


图 5 低温胁迫下 PEG对烟草还原型谷胱甘肽(GSH)含量的影响

Fig. 5 Effect of PEG on content of GSH in tobacco seedlings under chilling stress

2.6 PEG对烟草叶片 SOD和 CAT活性的影响

SOD和 CAT是防止氧自由基对细胞膜伤害的关键酶,对清除低温下自由基伤害起重要作用。图 6和图 7结果显示,虽然处理和对照幼苗 SOD和 CAT活性在低温胁迫后均下降,但经不同浓度 PEG处理的幼苗在低温胁迫下,其 SOD酶活性均不同程度的高于对照。与此同时,经不同浓度 PEG处理的幼苗,其 CAT的活性也高于对照。低温胁迫 5 d后,不同浓度 PEG处理幼苗的 SOD活性分别比对照高 9.12%和 21.64%,CAT活性比对照高 12.8%和 23.82%。说明 PEG对维持烟草幼苗中较高的 SOD和 CAT活性有一定的促进作用。经新复极差法测验,处理间差异达极显著水平。

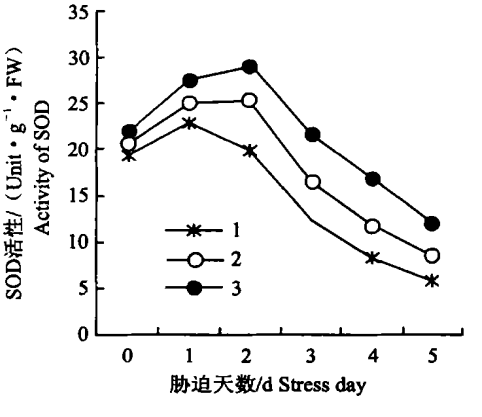


图 6 低温胁迫下 PEG对烟草幼苗叶片中 SOD酶活性的影响

Fig. 6 Effect of PEG on SOD activity in tobacco seedlings under chilling stress

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

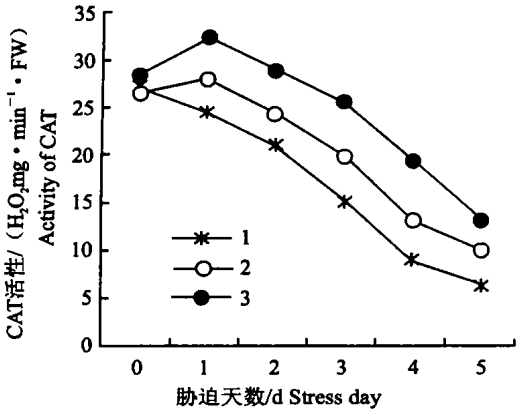


图 7　低温胁迫下 PEG对烟草幼苗叶片中 CAT酶活性的影响

Fig. 7　Effect of PEG on CAT activity in tobacco seedlings under chilling stress

3　讨　论

植物的抗冷性与植物细胞对活性氧的清除能力密切相关。在正常条件下,植物体内活性氧的产生和清除维持动态平衡。本试验中,低温胁迫诱导烟草幼苗产生过多活性氧,引起膜脂过氧化作用加剧,MDA含量升高,细胞膜系统因脂质过氧化作用而受损害,导致细胞膜透性增大。细胞膜透性和膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)之间呈正相关,相关系数 r= 0.9358。同时低温又使烟草体内清除活性氧的保护物质(AsA和 GSH)含量下降,保护酶(SOD和 CAT)系统活性降低,影响了活性氧清除系统对过多活性氧的清除能力。烟草幼苗经 PEG处理后细胞膜相对透性降低,抗坏血酸和还原性谷胱甘肽含量提高,SOD和 CAT酶活性上升,说明细胞清除体内自由基的能力增强,膜脂过氧化作用减轻,提高了烟草幼苗耐低温胁迫的能力。

低温胁迫能引起水稻幼苗叶绿体类囊体膜结构发生瓦解,叶绿素含量降低[1]。PEG处理减缓了烟草幼苗叶绿素的分解和破坏,这意味着 PEG对叶绿体膜结构可能有一定的保护作用,较好地保护了叶绿素。植物体内可溶性糖和脯氨酸含量与多数植物抗冷性密切相关[13]。PEG处理增加了烟草幼苗中可溶性糖和脯氨酸等与抗冷性有关的物质含量,有利于提高细胞液浓度,降低冰点,维持细胞的结构和调节渗透压,使烟草对低温胁迫具有一定的抗性和保护作用。

以上试验结果表明,烟草的低温伤害与细胞膜系统脂质过氧化作用和活性氧清除系统活性的降低存在密切关系,这一点与前人的研究结果一致[14]。PEG处理能提高烟草幼苗耐低温胁迫能力的原因是其提高了烟草幼苗对活性氧的清除能力,维持了细胞膜结构的稳定性,增加了与抗冷性有关的物质含量,从而增强了烟草幼苗耐低温胁迫能力,提高其抗冷性。

参考文献:

[1] 刘鸿先,王以柔,郭俊彦.低温对植物细胞膜系统伤害机理的研究[J].中国科学院华南植物研究所集刊,1989,5:31~38.

[2] 吕小红,傅家瑞.聚乙二醇渗调处理提高花生种子活力和抗寒性[J].中山大学学报,1990,29(1):63~69.

[3] 陈秉初,吴美仙,汪永康. PEG预处理对早稻种子活力和抗寒能力的影响[J].植物生理学通讯,1992,28(3):198~201.

[4] 于贤昌,邢禹贤,马 红,等.不同砧木与接穗对黄瓜嫁接苗抗冷性的影响[J].中国农业科学,1998,31(2):41~47.

[5] 李柏林,梅慧生.燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系[J].植物生理学报, 1989,(15):6~9.

[6] 樊志成,贾洪玉,郭洪芸,等.西葫芦耐冷性生理指标研究[J].园艺学报,1999,26(5):309~313.

[7] 李锦树,王洪春.王文英,等.干旱对玉米叶片细胞膜透性及膜脂的影响[J].植物生理学报,1983,(9):223~227.

[8] 张宪政.作物生理研究法[M].北京:农业出版社,1992.195~200.

[9] 苏正淑,张宪政.几种测定植物叶绿素含量的方法比较[J].植物生理学通讯,1989,(5):77~78.

[10] 薛应龙.植物生理学实验[M].北京:高等教育出版社,1985.90~95.

[11] 朱广廉,钟诲文,张爱琴.植物生理学实验[M].北京:北京大学出版社,1990.51~249.

[12] 王爱国,罗广华.大豆种子超氧物歧化酶的研究[J].植物生理学报,1988,9(1):77~80.

[13] 林海馨.植物冷害与细胞生理[M].厦门:厦门出版社,1994.131~132.

[14] 刘鸿先,曾韶西,王以柔,等.低温对不同耐寒力的黄瓜幼苗子叶各细胞器的超氧物歧化酶的影响[J].植物生理学报,1985,11(1):48~57.

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net