

二倍体和四倍体泡桐对干旱胁迫生理 响应差异研究

张晓申^{1,2}, 翟晓巧^{1,3}, 邓敏捷¹, 董焱鹏¹, 赵振利¹, 范国强^{1*}

(1. 河南农业大学 泡桐研究所, 河南 郑州 450002; 2. 郑州市农林科学研究所, 河南 郑州 450005;
3. 河南省林业科学研究院, 河南 郑州 450008)

摘要: 在土壤相对含水量为 75%、55%、40% 和 25% 的盆栽条件下, 研究了二倍体毛泡桐(T2)、二倍体豫杂一号泡桐(TF2)、四倍体毛泡桐(T4)、四倍体豫杂一号泡桐(TF4)对干旱胁迫的生理响应。结果表明, 随着干旱胁迫的增强, 四倍体泡桐与其二倍体泡桐的生理生化指标变化趋势一致, 叶片相对含水量和叶绿素含量呈下降趋势, 四倍体泡桐的叶片相对含水量和叶绿素含量均高于其二倍体; 相对电导率和丙二醛(MDA)含量呈上升趋势, 四倍体泡桐小于其二倍体; 超氧化物歧化酶(SOD)活性、叶片可溶性蛋白质含量呈先升高后降低趋势; 可溶性糖含量和脯氨酸含量均呈升高趋势, 四倍体泡桐高于其二倍体。对 25% 干旱胁迫下泡桐的各项生理指标利用模糊隶属函数法综合分析, 抗旱性大小顺序为 T4>TF4>T2>TF2。

关键词: 二倍体泡桐; 四倍体泡桐; 干旱胁迫; 生理响应

中图分类号: S718.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)11-0118-06

Comparative Studies on Physiological Responses of Diploid *Paulownia* and Its Tetraploid to Drought Stress

ZHANG Xiao-shen^{1,2}, ZHAI Xiao-qiao^{1,3}, DENG Min-jie¹, DONG Yan-peng¹,
ZHAO Zhen-li¹, FAN Guo-qiang^{1*}

(1. Institute of Paulownia, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;
2. Zhengzhou Institute of Agricultural and Forestry Sciences, Zhengzhou 450005, China;
3. Henan Academy of Forestry, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: With relative soil water contents of 75%, 55%, 40% and 25%, the physiological response of diploid *Paulownia tomentosa* (T2), diploid *Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortunei* (TF2) and their tetraploid *Paulownia* (T4, TF4) plants to drought stress were studied. The result showed that the changing trend of leaf physiological and biochemical indexes was consistent between the tetraploids and their diploid *Paulownia* plants with aggravation of drought stress. The water and chlorophyll contents of the leaves went down with aggravation of drought stress, and the water and chlorophyll contents of the tetraploid *Paulownia* plants leaves were higher than those of the diploids. The relative conductivity and content of MDA increased with aggravation of drought stress, with the tetraploid *Paulownia* plants less than the diploid. The SOD activity and soluble protein content increased firstly and decreased afterwards. The contents of soluble sugar and proline increased with aggravation of drought stress, and the tetraploids were higher than its diploid. Based on the leaf physiological indexes in the soil with 25% relative soil water content by a comprehensive analysis of fuzzy membership functions, the order of drought stress tolerance of the

收稿日期: 2013-06-09

基金项目: 河南省杰出人才基金项目(122101110700); 郑州市科技创新团队资金项目(121PCXTD515)

作者简介: 张晓申(1976-), 男, 河南镇平人, 在读博士研究生, 研究方向: 林木生物技术。E-mail: abf1232@163.com

* 通讯作者: 范国强(1964-), 男, 河南禹州人, 教授, 博士, 主要从事林木生物技术研究。E-mail: zlxx64@sohu.com

Paulownia plants was $T4 > TF4 > T2 > TF2$.

Key words: diploid *Paulownia*; tetraploid *Paulownia*; drought stress; physiological response

多倍化既是植物对自然环境适应的结果,也是推动植物进化和物种形成的重要因素^[1]。研究表明,约 70% 的被子植物在进化史中曾发生过一次或多次多倍化过程^[2],多倍体植物与其二倍体通常在植株形态和抗逆性等方面呈现出较大的差异^[3-15]。中国是一个水资源匮乏的国家,干旱及半干旱地区面积约占全国耕地面积的一半,随着气候的变化,干旱及半干旱地区面积会不断扩大,因此,研究植物抗旱性对保护环境、建设美丽中国具有重要的生态和社会意义。泡桐(*Paulownia* spp.)是中国重要的速生用材和绿化树种之一,因其独特的生物学特性,与农作物间作形成独特的生态复合系统,为农作物高产、稳产提供了重要的生态保障。近年来,不同四倍体泡桐的成功诱导^[16-22],一方面扩大了泡桐的遗传背景,另一方面也为筛选抗旱泡桐新品种奠定了基础。采用盆栽控水法,研究二倍体及其四倍体泡桐对不同干旱处理生理响应的差异,以期为四倍体泡桐大面积推广提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料及处理

试验材料为河南农业大学泡桐研究所培养的二倍体毛泡桐(*Paulownia tomentosa*, T2)、二倍体豫杂一号泡桐(*Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortunei*, TF2)及采用秋水仙素诱变的四倍体毛泡桐(T4)和四倍体豫杂一号泡桐(TF4)组培苗。2012 年 4 月 25 日将生长一致的 T2、T4、TF2 和 TF4 试管苗移栽于营养钵内培养 30 d 后,选择生长一致的苗木移至规格为上口径 25 cm、下口径 20 cm,高 20 cm 的塑料盆中,每盆装苗圃熟土 3 kg,每盆 1 株,每个种 12 盆,在室外苗圃随机摆放。采用盆栽控水法进行干旱胁迫处理,盆中土壤的最大持水量在控水前测定,土壤相对含水量采用称重法控制,每天 18:00 称质量、补水。干旱胁迫分轻度(土壤相对含水量 55%)、中度(土壤相对含水量 40%)和重度(土壤相对含水量 25%)处理,以栽植于土壤相对含水量为 75% 的幼苗为对照(CK)。干旱胁迫 15 d 后,分别采集不同干旱胁迫处理植株新梢顶端第 2 对叶片,测量其生理指标,所有指标均重复 3 次,取其平均值。

1.2 测定方法

土壤相对含水量和泡桐叶片相对含水量测定分

别参照鲍士旦^[23]和安玉艳等^[24]的方法,质膜相对透性、超氧化物歧化酶(SOD)活性以及丙二醛(MDA)、可溶性蛋白质、可溶性糖、脯氨酸(Pro)、叶绿素含量等测定参照李合生^[25]的方法。

1.3 数据分析

试验数据采用 Sigmaplot 11.0 绘图(同处理上不同数字表示在 5% 水平差异显著),用 SPSS 16.0 软件进行差异显著性分析和模糊隶属函数^[26]分析。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对泡桐叶片相对含水量和叶绿素含量的影响

图 1 和图 2 表明,随土壤相对含水量的减少,其叶片相对含水量和叶绿素含量逐渐下降。在相同土壤相对含水量条件下,T4 和 TF4 叶片相对含水量均大于其对应的二倍体泡桐,并且叶片相对含水量除对照土壤相对含水量 75% 条件下四倍体与其二倍体差异不显著外,其他水分条件下四倍体与其二倍体均差异显著,叶绿素含量在不同水分处理下四倍体与其二倍体均显著差异。在土壤相对含水量为 25% 条件下,T2、T4、TF2 和 TF4 的叶片相对含水量比 CK 分别减少了 15.71%、14.89%、13.25% 和 12.23%,四倍体泡桐比其二倍体泡桐叶片相对含水量减少慢,保水能力好。在叶绿素含量方面,T4 和 TF4 均大于其二倍体泡桐。在土壤相对含水量为 40% 和 25% 条件下,不同倍性泡桐叶片叶绿素含量差异显著。在土壤相对含水量 25% 时,TF4 叶片相对含水量和叶绿素含量皆最高,分别达到 75.39% 和 3.61 mg/g, T2 最低,分别为 73.12% 和 3.32 mg/g。这可能是 TF4 生长量较 T2 大的原因。

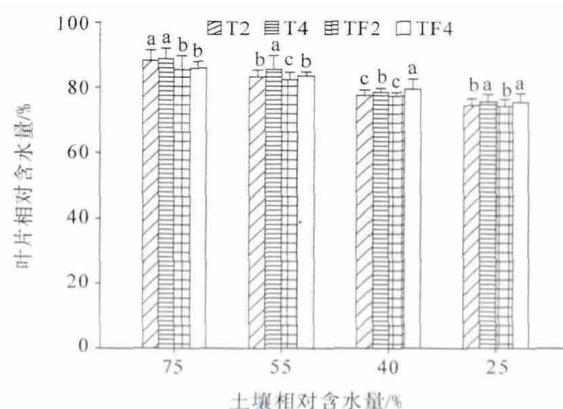


图 1 干旱胁迫对泡桐叶片相对含水量的影响

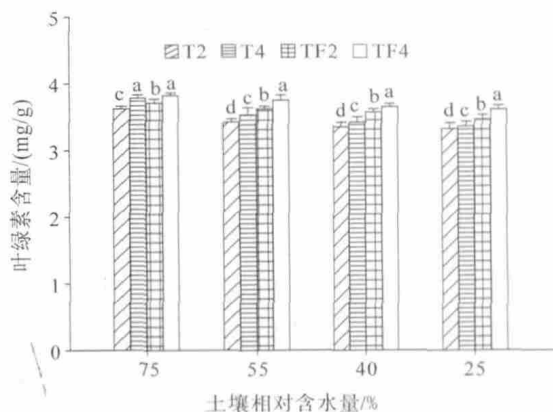


图 2 干旱胁迫对泡桐叶片叶绿素含量的影响

2.2 干旱胁迫对泡桐叶片 SOD 活性和可溶性蛋白质含量的影响

图 3 和图 4 表明, TF2 和 TF4 及 T2 和 T4 叶片 SOD 活性和可溶性蛋白质含量均随土壤相对含水量下降呈现先升高后下降的趋势。随着干旱胁迫程度的加强, 2 种泡桐叶片 SOD 活性和可溶性蛋白质含量分别由其土壤相对含水量为 75% 的最小值达到土壤相对含水量为 40% 的最大值, 然后又开始下降, 并且在相同水分处理下, 四倍体泡桐与其二倍体的叶片 SOD 活性和可溶性蛋白质含量均差异显著。虽然当土壤相对含水量为 25% 时, SOD 活性和

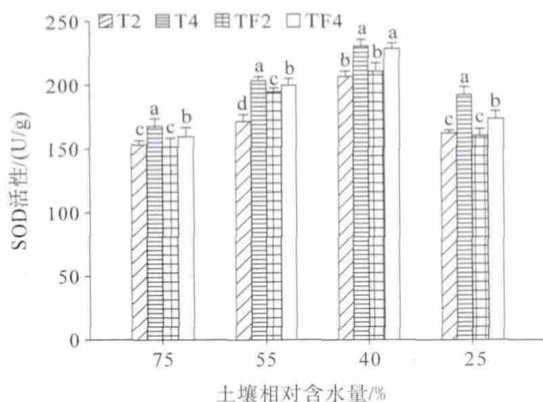


图 3 干旱胁迫对泡桐叶片 SOD 活性的影响

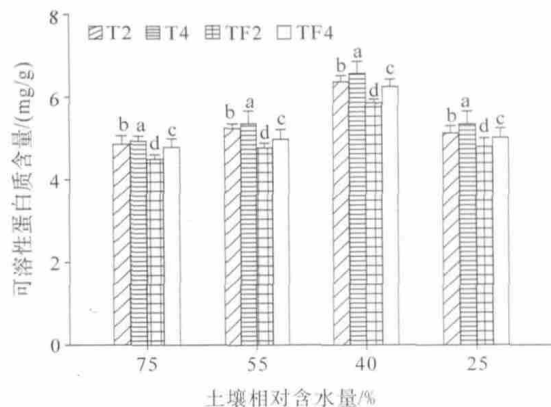


图 4 干旱胁迫对泡桐叶片可溶性蛋白质含量的影响

可溶性蛋白质含量分别为最小和最低, 但仍大于和高于对照。此外, 在相同土壤相对含水量条件下, 2 种四倍体泡桐叶片 SOD 活性和可溶性蛋白质含量均分别大于其二倍体。

2.3 干旱胁迫对叶片可溶性糖含量和 Pro 含量的影响

图 5 和图 6 表明, 随着土壤干旱胁迫程度的增强, 2 种四倍体及其二倍体泡桐的叶片可溶性糖和 Pro 含量均呈现逐渐增高的趋势, 并且在土壤相对含水量 25% 条件下, 四倍体泡桐叶片的可溶性糖和 Pro 含量与其二倍体泡桐皆差异显著, 四倍体泡桐叶片可溶性糖和 Pro 含量均高于其二倍体。当土壤相对含水量为 25% 时, T4 叶片的可溶性糖含量最高, TF4 叶片的 Pro 含量最高, 分别比 CK 增加 61.54% 和 65.64%。T2 叶片可溶性糖含量最低, 比 CK 增加 63.89%; T2 Pro 含量最低, 比 CK 增加 63.86%。

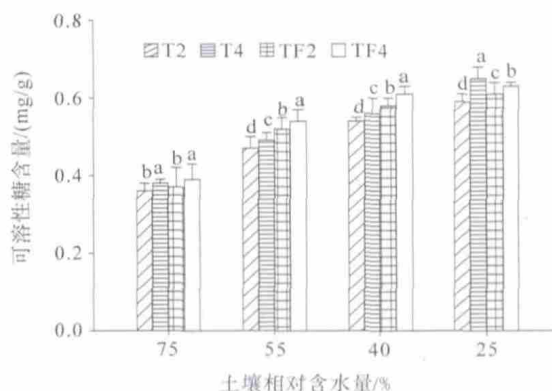


图 5 干旱胁迫对泡桐叶片可溶性糖含量的影响

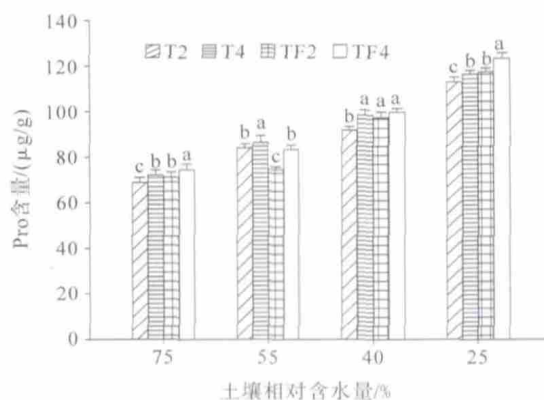


图 6 干旱胁迫对泡桐叶片 Pro 含量的影响

2.4 干旱胁迫对泡桐叶片 MDA 含量和相对电导率的影响

随着土壤干旱胁迫程度的加重, 2 种四倍体及其二倍体泡桐叶片 MDA 含量和相对电导率均逐渐增加, 并且在 25% 水分胁迫下四倍体泡桐与其二倍

体泡桐的叶片 MDA 含量和相对电导率差异显著,二倍体与二倍体之间,四倍体与四倍体之间差异不显著(图 7 和图 8)。此外,在相同土壤相对含水量条件下,四倍体泡桐叶片 MDA 含量和相对电导率均小于其二倍体。在重度干旱条件下,MDA 含量最高的是 TF2(6.72 $\mu\text{mol/g}$),最低的是 T4(6.25 $\mu\text{mol/g}$);相对电导率最小的是 T4(33.57%),最大的是 TF2(36.06%)。

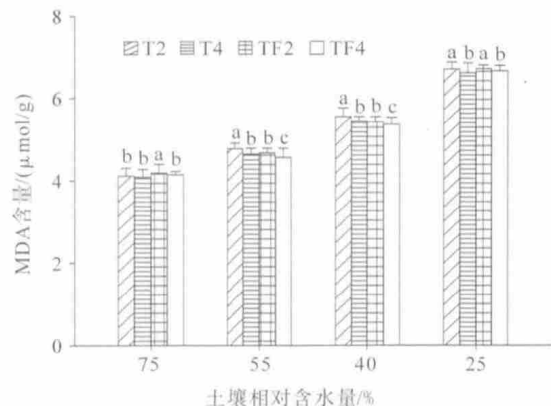


图 7 干旱胁迫对泡桐叶片丙二醛含量的影响

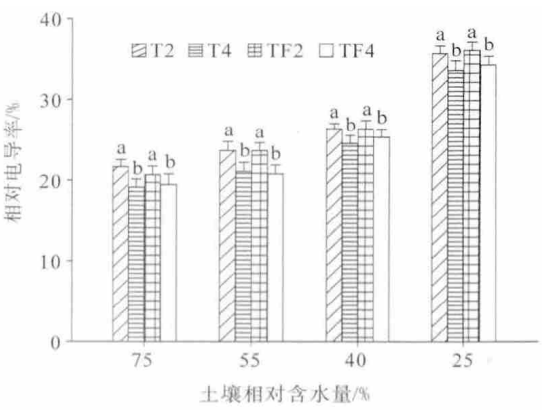


图 8 干旱胁迫对泡桐叶片相对电导率的影响

2.5 四倍体泡桐抗旱性的综合评价

对土壤相对含水量 25%条件下 2 种四倍体及其二倍体泡桐的叶片相对含水量、相对电导率和 SOD 活性等 8 项生理指标进行模糊隶属函数分析,并对其抗旱性进行综合评价(表 1)。结果表明,2 种二倍体及其四倍体泡桐的抗旱性由大到小顺序为 T4>TF4>T2>TF2,也就是说,四倍体泡桐的抗旱性均大于其二倍体,T4 的抗旱性最强,TF2 的抗旱性最弱。

表 1 四倍体及其二倍体泡桐抗旱性的综合评价

种类	相对含水量	相对电导率	SOD 活性	可溶性蛋白质含量	Pro 含量	可溶性糖含量	叶绿素含量	MDA 含量	隶属函数均值	排序
T2	0.018 9	0.014 1	0.007 1	0.102 7	0.058 1	0.000 0	0.000 0	0.009 8	0.026 3	3
T4	0.112 0	0.089 7	0.108 4	0.171 1	0.083 4	0.103 2	0.038 3	0.098 3	0.100 5	1
TF2	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.034 4	0.097 1	0.000 0	0.016 4	4
TF4	0.098 6	0.065 2	0.044 9	0.075 3	0.116 2	0.068 8	0.201 2	0.049 2	0.089 9	2

3 讨论

自然界中,多数植物为适应非生物胁迫都会在形态学和生理生化等方面发生变化^[27-30]。在干旱胁迫条件下,叶片相对含水量越大,叶片发生萎蔫的可能性越小,植物的抗旱性越强^[31-34]。研究表明,植物品种抗旱性越强,细胞内 Pro 和可溶性糖含量越高,同时产生较多的可溶性蛋白质,或者一些不溶性蛋白质转化为可溶性蛋白质越多^[35],MDA 含量越低^[36-37]、SOD 活性较强^[38-40],使细胞维持较低的渗透势,达到阻止细胞膜解离,增强细胞保水能力,稳定细胞结构,从而能够正常进行生理生化代谢的目标。本研究中,四倍体及其二倍体泡桐在干旱胁迫下叶片的生理变化与前人的研究结果一致^[8-13,26,36,41-43]。此外,植物在不同环境、生长发育期及生理条件下,其抗旱能力及方式不同,因此,很难用单一的生理指标来真实地反映其抗旱性^[44]。

考虑到泡桐多种生理指标的共同作用,因此将测定的 8 项指标用模糊数学隶属函数法进行了综合分析。结果表明,四倍体泡桐抗旱性均大于其二倍体泡桐。造成四倍体泡桐抗旱性较其二倍体强的原因,一方面可能与四倍体泡桐的基因剂量效应^[7,43]、核质不平衡^[1,45]和核 DNA 发生表观遗传变化有密切关系;另一方面与四倍体泡桐叶片显微结构的特性有一定联系^[46]。至于四倍体泡桐较其二倍体抗旱能力强的分子机制将在以后的文章中给予报道。

参考文献:

[1] Comai L. The advantages and disadvantages of being polyploidy[J]. Nature,2005,6:836-846.
[2] Masterson J. Stomatal size in fossilplants;evidence for polyploidy in majority of angiospers[J]. Science,1994, 264:421-424.
[3] Xiong Y C, Li F M, Zhang T. Performance of wheat

- crops with different chromosome ploidy: root-sourced signals, drought tolerance, and yield performance[J]. *Planta*, 2006, 224: 710-718.
- [4] 孟凡娟, 王秋玉, 王建中, 等. 四倍体刺槐的抗盐性[J]. *植物生态学报*, 2008, 32(3): 654-663.
- [5] Meng H B, Jiang S S, Hua S J, *et al.* Comparison between a tetraploid *Turnip* and its diploid *Progenitor* (*Brassica rapa* L.): the adaptation to salinity stress [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2011, 10: 363-375.
- [6] Saleh B, Allarto T, Dambier D, *et al.* Tetraploid *citrus* rootstocks are more tolerant to salt stress than diploid [J]. *C R Biologies*, 2008, 331: 703-710.
- [7] Chandra A, Dubey A. Effect of ploidy levels on the activities of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase, superoxide dismutase and peroxidase in *Cenchrus* species grown under water stress[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2010, 48: 27-34.
- [8] Katrijn V L, Soraya C, Franca H V, *et al.* Influence of ploidy level on morphology, growth and drought susceptibility in *Spathiphyllum wallisii* [J]. *Acta Physiol Plant*, 2011, 33: 1149-1156.
- [9] Li W L, Berlyn G P, Ashton P S. Polyploids and their structural and physiological characteristics relative to water deficit in *Betula papyrifera* (Betulaceae) [J]. *Am J Bot*, 1996, 83: 15-20.
- [10] Ntuli N R, Zobolo A M. Effect of water stress on growth of colchicine induced polyploid *Coccinia pal-mata* and *Lagenaria sphaerica* plants [J]. *Afr J Biotechnol*, 2008, 7: 3548-3652.
- [11] Pustovoitova T N, Eremin G V, Rassvetaeva E G, *et al.* Drought resistance, recovery capacity, and phytohormone content in polyploid plum meave [J]. *Russ J Plant Physiol*, 1996, 43: 232-235.
- [12] Li W D, Biswas D K, Xu H, *et al.* Photosynthetic responses to chromosome doubling in relation to leaf anatomy in *Lonicera japonica* subjected to water stress [J]. *Funct Plant Biol*, 2009, 36: 783-792.
- [13] Liu S Y, Chen S M, Chen Y, *et al.* In vitro induced tetraploid of *Dendranthema nankingense* (Nakai) Tz-vel. shows an improved level of abiotic stress tolerance [J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 127: 411-419.
- [14] Huang Y M, Chou H M, Wang J C, *et al.* The distribution and habitats of the *Pteris fauriei* complex in Taiwan [J]. *Taiwania*, 2007, 52(1): 49-58.
- [15] Sugiyama S. Differentiation in competitive ability and cold tolerance between diploid and tetraploid cultivars in *Lolium perenne* [J]. *Euphytica*, 1998, 103: 55-59.
- [16] 范国强, 曹艳春, 赵振利, 等. 白花泡桐同源四倍体的诱导 [J]. *林业科学*, 2007, 43(4): 30-36.
- [17] 范国强, 杨志清, 曹艳春, 等. 毛泡桐同源四倍体的诱导 [J]. *植物生理学通讯*, 2007, 43(1): 109-111.
- [18] 范国强, 魏真真, 杨志清. 南方泡桐同源四倍体的诱导及其体外植株再生 [J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2009, 37(10): 83-90.
- [19] 范国强, 杨志清, 曹艳春, 等. 秋水仙素诱导兰考泡桐同源四倍体 [J]. *核农学报*, 2006, 20(6): 473-476.
- [20] 范国强, 翟晓巧, 魏真真, 等. 豫杂一号泡桐体细胞同源四倍体诱导及其体外植株再生 [J]. *东北林业大学学报*, 2010, 38(12): 22-26.
- [21] 赵振利, 何佳, 赵晓改, 等. 泡桐 9501 体外植株再生体系的建立及体细胞同源四倍体诱导 [J]. *河南农业大学学报*, 2011, 45(1): 59-65.
- [22] Tang Z Q, Chen D L, Zhang J S, *et al.* In vitro induction and identification of tetraploid plants of *Paulownia tomentosa* [J]. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 2010, 102: 213-220.
- [23] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [24] 安玉艳, 梁宗锁, 韩瑞莲. 黄土高原 3 种乡土灌木的水分利用与抗旱适应性 [J]. *林业科学*, 2011, 47(10): 8-15.
- [25] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 134-263.
- [26] 黄承玲, 陈训, 高贵龙. 3 种高山杜鹃对持续干旱的生理响应及抗旱性评价 [J]. *林业科学*, 2011, 47(6): 48-55.
- [27] Mittler R. Abiotic stress, the field environment and stress combination [J]. *Trends Plant Sci*, 2006, 11: 15-19.
- [28] Niinemets U, Valladares F. Tolerance to shade, drought, and waterlogging of temperate northern hemisphere trees and shrubs [J]. *Ecol Monogr*, 2006, 76: 521-547.
- [29] Pasternak T, Rudas V, Geert P, *et al.* Morphogenic effects of abiotic stress: reorientation of growth in *Arabidopsis thaliana* seedlings [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2005, 53: 299-314.
- [30] Sardella B A, Matey V, Cooper J, *et al.* Physiological, biochemical and morphological indicators of osmoregulatory stress in 'California' Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* \times *O. urolepis hornorum*)

- exposed to hypersaline water[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 207: 1399-1413.
- [31] 陈昕, 徐宜凤. 干旱胁迫对石灰花楸幼苗生长和生理指标的影响[J]. 福建林学院学报, 2011, 31(4): 330-334.
- [32] 徐飞, 郭卫华, 徐伟红, 等. 刺槐幼苗形态、生物量分配和光合特性对干旱胁迫的响应[J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(1): 24-30.
- [33] Amri E, Shahsavari A R. Response of lime seedlings (*Citrus aurantifolia* L.) to exogenous spermidine treatments under drought stress[J]. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2010, 4: 4483-4489.
- [34] 田胃, 左小容, 梁宗锁. 黄土高原 3 种优势种对干旱胁迫的生理响应及其抗旱性评价[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(6): 18-23.
- [35] Skriver K, Mundy J. Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress[J]. Plant Cell, 1990, 2: 503-512.
- [36] 冯祥元, 于柱英, 种培芳. 不同种源地云杉的苗期抗旱性评价[J]. 甘肃农业大学学报, 2012, 47(1): 95-102.
- [37] 常燕虹, 武威, 刘建朝. 干旱胁迫对文冠果树苗某些生理特征的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2012, 30(1): 170-174.
- [38] Bowler C, Slooten L, Vandenbranden S, et al. Mangane superoxide dismutase can reduce cellular damage mediated by oxygen radicals in transgenic plants[J]. Embo Journal, 1991, 10: 1723-1732.
- [39] Mckersie B D, Chen Y, Beus M. Superoxide dismutase enhances tolerance of freezing stress in transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.) [J]. Plant Physiol, 1993, 103: 1155-1163.
- [40] 高婷, 张文辉. 不同瑞典能源柳无性系对干旱胁迫的生理响应[J]. 西北植物学报, 2012, 32(4): 739-744.
- [41] 王琰, 陈建文, 狄晓艳. 水分胁迫下不同油松种源 SOD, POD, MDA 及可溶性蛋白比较研究[J]. 生态环境学报, 2011, 20(10): 1449-1453.
- [42] 徐莲珍, 蔡靖, 姜在民, 等. 水分胁迫对 3 种苗木叶片渗透调节物质与保护酶活性的影响[J]. 西北林学院学报, 2008, 23(2): 12-14.
- [43] Niwa Y, Sasaki Y. Plant self-defense mechanisms against oxidative injury and protection of the forest by planting trees of triploids and tetraploids[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2003, 55: 70-81.
- [44] Ismail T, Melike B, Fili Z, et al. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought tolerant *P. acutifolius* Gray and drought sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress [J]. Plant Science, 2005, 168: 223-231.
- [45] Chen Z J. Molecular mechanisms of polyploidy and hybrid vigor[J]. Trends Plant Sci, 2010, 15: 57-71.
- [46] 张晓申, 翟晓巧, 范国强, 等. 四倍体泡桐叶片显微结构观察及其抗逆性分析[J]. 河南农业大学学报, 2012, 46(6): 646-650.