

PEG6000模拟水分胁迫对杉木家系苗木生理生化指标的影响

刘伟新¹ 郑会全² 胡德活² 王润辉²
韦如萍² 晏 姝² 梁瑞友¹

(1. 韶关市曲江区国有小坑林场, 广东 韶关 512600; 2. 广东省森林培育与保护利用重点实验室 / 广东省林业科学研究院, 广东 广州 510520)

摘要 为满足粤北地区对不同杉木 (*Cunninghamia lanceolata*) 优良品系的需求, 选育适应干旱条件的杉木家系, 试验选择了当前在生产上应用较广的 28 个杉木家系, 进行 PEG6000 模拟水分胁迫处理。结果显示, 不同家系、不同处理间的含水率和 SOD 酶活性差异达极显著水平, 其中家系 604、742、763、779 等在干旱胁迫条件下, 有较高的 SOD、POD 和 CAT 酶活性。相关性分析表明, 含水率和 SOD、POD、CAT 3 个酶活性没有明显的相关性特征。采用隶属函数值法进行抗旱性综合评价, 家系 779、604、742、770 和 763 位列前五, 为抗旱性较好的一批家系。

关键词 杉木; 相对含水率; SOD; POD; CAT

中图分类号: S723.1 文献标识码: A 文章编号: 2096-2053 (2018) 02-0019-06

The Effect of PEG-6000 Simulated Drought Stress on the Physiological and Biochemistry Indexes in *Cunninghamia lanceolata* Family

LIU Weixin¹ ZHENG Huiquan² HU Dehuo² WANG Runhui²
WEI Ruping² YAN Shu² LIANG Ruiyou¹

(1. Xiaokeng Forest Farm, Shaoguan, Guangdong 512600, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Silviculture, Protection and Utilization/Guangdong Academy of Forestry, Guangzhou, Guangdong 510520, China)

Abstract Twenty-eight *Cunninghamia lanceolata* families were subjected to PEG-6000 simulated drought stress treatment assay for the selection of drought-tolerance germplasm that were suitable for use in northern Guangdong. The results showed that there have significant differences ($P < 0.01$) of the relative water content and SOD activity among families. Family 604, 742, 763 and 779 had relative high SOD, POD and CAT activity under drought condition. No significant correlations ($P > 0.05$) were observed among relative water content and SOD, POD, CAT activities. According to the subordinate function values, a sequenced drought-tolerant family including 604, 742, 763, 770, 779 was identified.

Key words *Cunninghamia lanceolata*; relative water content; SOD; POD; CAT

* 基金项目: 广东省科技厅公益研究与能力建设项目“红心材杉木良种选育研究”(2016B020201002)和广东林业科技创新项目“杉木第三代种子园营建技术研究”(2017KJCX026)共同资助。

第一作者: 刘伟新(1963—), 男, 工程师, 主要从事森林培育及林业资源管理工作, E-mail: qjxklwx@126.com。

通信作者: 王润辉(1974—), 男, 高级工程师(教授级), 主要从事林木遗传育种研究, E-mail: wrunh@163.com。

杉木 (*Cunninghamia lanceolata*), 是我国特有的用材树种, 在南方各省区广泛分布, 具有悠久的栽培历史。因其木材轻而韧、不变形、易加工、纹理美观、具特殊芳香味、抗虫蛀耐腐, 在广东省粤北地区广泛种植, 成为广东省主要乡土工业用材树种。由于杉木在林业生产上有着重要的地位, 其遗传改良的研究一直倍受重视。自上世纪 70 年代以来, 广东省先后开展了种源试验、优树选择、杂交育种、子代测定、优良家系选择、种子园营建和无性系选育等多方面研究工作^[1], 而在其它方面开展的研究较少。在全球气候变暖不断加剧的大环境下, 我国南方部分林地水分减少、变得更加干旱^[2]。刘爱琴等^[3]研究表明, 不同杉木无性系光合特性对干旱胁迫反应敏感, 随胁迫加剧, 各无性系净光合速率和光饱和点下降, 光补偿点和 CO_2 补偿点增加, 供试无性系光合特性在胁迫条件下表现出明显的生态型差异。因此, 在杉木遗传改良研究取得较大成果的前提下, 开展杉木家系在水分胁迫条件下的生理生化分析, 具有重要的研究价值^[3]。此外, 研究表明, 当植物在干旱胁迫时, 体内活性氧生成大于清除, 于是活性氧大量积累与膜脂反应造成膜伤害。膜损伤的直接后果是膜透性增加和细胞内溶质分子大量外渗^[4], 接着导致细胞器结构异常, 生理代谢受阻。植物体内的过多的活性氧主要由保护酶来清除, 主要包括超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化物酶 (Peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 等, 其中 SOD 起主要作用^[5]。杉木的抗旱性研究工作开展相对较少, 本文研究在正常生长条件和模拟干旱胁迫条件下的杉木家系苗木生理生化指标变化。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在广东省韶关市曲江区国有小坑林场国家级杉木良种基地选择 28 个杉木家系的幼苗 (1 a 生) 作为试验材料, 分别为家系 100、130、180、190、200、604、606、619、627、640、652、653、708、729、731、735、741、742、744、747、757、761、763、765、770、779、785 和 TL5。

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理 将参试家系从基质中移出, 用清水将根部洗净, 随后移入盛有 1/2 Hoagland 营

养液的塑料桶 (外壁套上黑色塑料袋) 内水培驯化 2 d。随后, 将参试苗木移入到 -2.0 MPa 聚乙二醇 (PEG-6000) 溶液 (用 1/2 Hoagland 营养液配制 PEG-6000 溶液, PEG-6000 浓度为 300 g/L) 进行模拟干旱胁迫处理 (T), 每个干旱胁迫处理的家系苗木有 3 个重复, 每个重复 3 株苗, 同时以 1/2 Hoagland 营养液培养的相同家系苗木作为对照 (C)^[6-7]。

1.2.2 含水率测定方法 分别摘取干旱胁迫处理和对照幼苗的叶片, 称鲜质量后, 放入烘干箱中烘干 24 h 后, 称叶片干质量^[7], 通过计算转换成每个试验样品的含水率^[8]。每个家系处理有 3 个重复, 每个重复有 3 株苗。

含水率 (%) = (鲜质量 - 干质量) / 鲜质量 $\times 100\%$

1.2.3 生理生化指标测定 SOD、POD、CAT 含量测定试剂盒由苏州科铭生物技术有限公司提供。分别按照 3 种试剂盒的说明书, 测定处理和对照幼苗的生理指标^[9]。

1.3 数据分析

采用 Microsoft Excel 和 SAS 9.1 等软件进行数据分析以及统计^[10-11]。

1.4 抗旱性综合评价

应用隶属函数法对 28 个家系 3 个抗旱指标的隶属值进行累加, 求平均值, 平均值越大, 抗旱性越强^[12]。

$$R(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$$

公式中 $R(X_i)$ 为各杉木家系每个生理生化指标的隶属值, X_i 为指标测定值, $X_{\min}$ 和 $X_{\max}$ 分别为各杉木家系某一指标的最小值和最大值。

2 结果与分析

2.1 含水率和 SOD 酶活性差异分析

按家系和处理双因素对含水率进行方差分析, 结果如表 1 所示。家系和处理的效应极为显著, 而家系与处理间的互作效应不显著, 说明不同家系间含水率差异较大, 达极显著水平 ($P < 0.01$), 不同处理间的含水率差异同样较大, 也达到极显著水平 ($P < 0.01$)。与含水率差异分析相似, SOD 酶活性差异分析结果如表 2 所示。家系、处理以及家系与处理间互作等的效应均达到极显著, 说明不同家系间、不同处理间 SOD 酶差异较大, 达极显著水平 ($P < 0.01$)。

表 1 杉木含水率与 SOD 酶活性方差分析结果
Tab.1 Anova result of water content and SOD enzyme activity

性状 Traits	变异来源 Source of variation	自由度 Freedom	平方和 Sum of square	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value
含水量 Water content	家系	27	3.8125	0.1362	3.29**	<.0001
	处理	1	0.9465	0.9465	22.85**	<.0001
	家系 × 处理	27	1.2012	0.0429	1.04	0.4299
	误差	112	4.5562	0.0414		
SOD 酶活性 SOD activity	家系	27	1045.8972	38.7369	61.4**	<.0001
	处理	1	275.6866	275.6866	436.96**	<.0001
	家系 × 处理	27	174.3729	6.4583	10.24**	<.0001
	误差	112	70.6637	0.6309		

2.2 生理生化指标变化

对照材料 (C) 和处理材料 (T) 的 SOD 酶活性的差异图如下图 1。图 1 结果显示, 经 PEG 干旱胁迫的处理材料与未经干旱胁迫处理的对照材料相比较, 大部分都呈现 SOD 酶活性提高, 如 100、130、190、604、606、619、627、640、653、708、729、731、741、742、744、757、761、763、770、779、785 等家系; 少量呈现出 SOD 酶活性下降的情况, 包括家系 180、200、652、735、747、TL5 等家系。有研究表明, 在水分胁迫下, 抗性强的植物 SOD 等保护酶仍能维持

较高活性, 防止了活性氧积累, 减轻了膜脂过氧化引起的膜伤害, 因此 SOD 保护酶的活性水平与抗旱性密切相关^[13]。本研究中, 家系 604、742、763、779 等经模拟干旱胁迫处理后, 有较高的 SOD 酶活性, 初步显示出较好的抗旱性。

参试家系的 POD 酶活性的差异如图 2 所示, 结果如 SOD 酶相似, 除 130、180、741 和 757 共 4 个家系外, 其余的 24 个家系都呈现出经 PEG 干旱胁迫处理材料 (T) 的 POD 酶活性大于没有经过 PEG 干旱胁迫处理的对照材料 (C)。家系 604、742、763、765、770 和 779 酶活性较高, 显示出

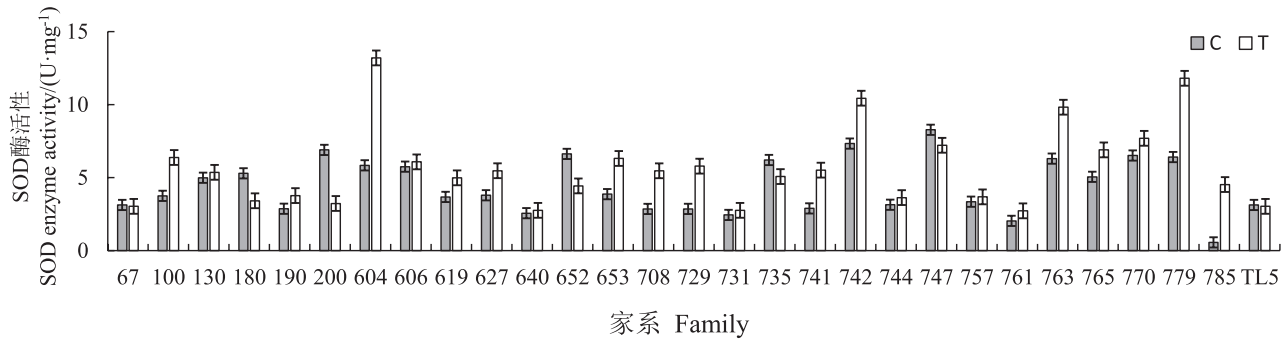


图 1 PEG 干旱胁迫对杉木各家系 SOD 酶活性的影响
Fig. 1 Effects of drought stress simulated by PEG6000 to SOD enzyme activity

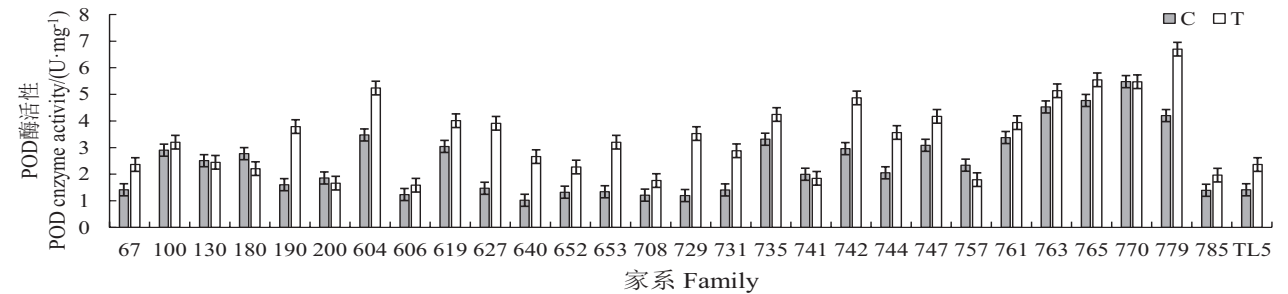


图 2 PEG 干旱胁迫对杉木各家系 POD 酶活性的影响
Fig. 2 Effects of drought stress simulated by PEG6000 to POD enzyme activity

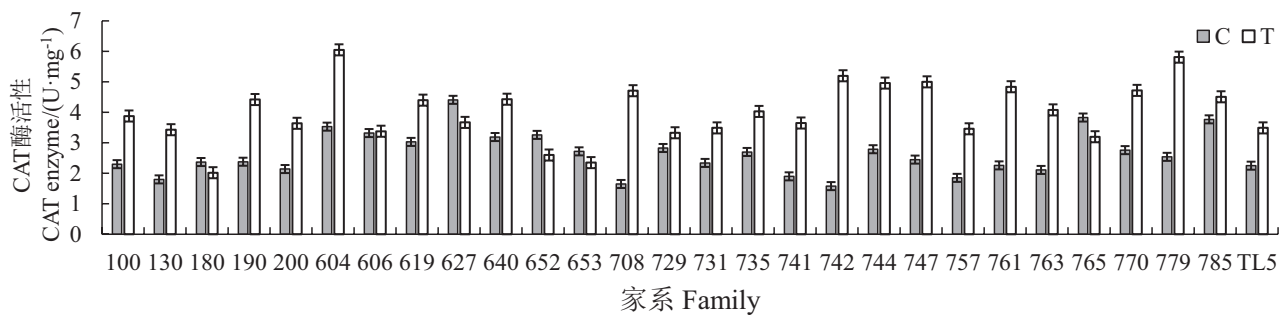


图 3 PEG 干旱胁迫对杉木各家系 CAT 酶活性的影响

Fig. 3 Effects of drought stress simulated by PEG6000 to CAT enzyme activity

较强的抗旱性。

CAT 酶活性的差异如图 3 所示，图 3 显示的结果如图 2 和图 1 相似，大部分经 PEG 干旱胁迫的处理材料（T）的 CAT 酶活性都大于对照材料（C），两种试验材料的 CAT 酶活性都较高的家系比较多，如包括了 190、604、619、640、708、742、744、747、761、770、779 等 11 个家系，都具有较高的 CAT 酶活性，也应该有较好的抗旱性。

2.3 相关性分析

各个生理生化指标包括含水率、SOD 酶活性、POD 酶活性和 CAT 酶活性的相关性分析见下表 2，从表中的分析结果可知，对照材料（C）和处理材料（T）的生理生化指标的相关性都呈现正相关，但只有对照材料（C）中的 SOD 酶活性和 POD 酶活性的相关系数为 0.4015，达到显著水平，说明杉木家系苗木无论在正常条件下或在模拟干旱胁迫条件下，生理生化指标的相关程度都较不显著，含水率和 SOD、POD、CAT 等 3 个酶活性含量水平差别较大，没有明显的相关规律性特征，这也说明了杉木抗旱性机理较为复杂。

2.4 杉木家系抗旱性综合评价

采用隶属函数值法对杉木家系的抗旱性进行综合评价，结果如下表 3 所示。按隶属函数公式

分别计算 SOD、POD 和 CAT 3 个酶活性的隶属函数值，然后计算每个家系的平均值，根据平均值进行排序获得每个家系抗旱性相对大小。参试的 28 个杉木家系的抗旱性由大到小的顺序为：779>604>742>770>763>747>765>619>735>744>761>627>100>190>729>708>785>640>130>653>741>606>731>TL5>757>200>652>180。其中，779、604、742、770 和 763 等家系分别排列在前五位，为较抗旱家系。

3 结论与讨论

杉木是我国南方地区特有的用材树种，在我国有着悠久的栽培和利用历史，经过长期的自然选择及适应过程，其个体发育的生理生化机制是能完美的适应山地的干旱条件的。但由于杉木家系的源地生境情况存在一定的差异，不同个体间的干旱适应能力是有一定差异的^[14]。本研究，试验材料在自然生长条件下，家系间苗木含水率差异没有达到显著水平，但经人工模拟干旱胁迫处理后，苗木的含水率的差异程度达到了显著水平，证明杉木不同家系在同样的干旱胁迫条件下，从机体中失去的水分是不同的。在正常生长和水分胁迫两种条件下，杉木家系苗木的含水率的不

表 2 生理生化指标的相关分析结果

Tab. 2 Correlative analysis of all tested characters

生理生化指标 Physiological indexes	含水率 Water content	SOD 酶活性 SOD activity	POD 酶活性 POD activity	CAT 酶活性 CAT activity
含水率 Water content		0.0350	0.0455	0.0187
SOD 酶活性 SOD activity	0.0386		0.3025	0.1662
POD 酶活性 POD activity	0.1838	0.4015*		0.2370
CAT 酶活性 CAT activity	0.0124	0.0004	0.1384	

注：下三角为对照材料（C）生理生化指标相关系数；上三角为处理材料（T）生理生化指标相关系数。* 表示相关性达显著水平（ $P<0.05$ ）。Note: Relationship coefficient of contrasts in below triangle, relationship coefficient of treatments in above triangle, * represents significant level ($P<0.05$).

表 3 杉木家系抗旱性综合评价

Tab. 3 Comprehensive assessment of drought resisting for improved varieties of *C. lanceolata*

家系 Improved varieties	SOD 隶属函数值 SOD subordinate function values	POD 隶属函数值 POD subordinate function values	CAT 隶属函数值 CAT subordinate function values	平均值 Average	抗旱性排序 Drought resisting ranking
100	0.3488	0.3163	0.4615	0.3756	13
130	0.2518	0.1685	0.3499	0.2567	19
180	0.0659	0.1220	0.0000	0.0626	28
190	0.0996	0.4311	0.5955	0.3754	14
200	0.0481	0.0153	0.4020	0.1551	26
604	1.0000	0.7143	1.0000	0.9048	2
606	0.3202	0.0000	0.3375	0.2192	22
619	0.2158	0.4742	0.5906	0.4268	8
627	0.2623	0.4553	0.4094	0.3757	12
640	0.0032	0.2103	0.5980	0.2705	18
652	0.1630	0.1339	0.1439	0.1469	27
653	0.3425	0.3163	0.0819	0.2469	20
708	0.2619	0.0342	0.6675	0.3212	16
729	0.2922	0.3796	0.3251	0.3323	15
731	0.0032	0.2534	0.3648	0.2071	23
735	0.2241	0.5198	0.4988	0.4142	9
741	0.2661	0.0507	0.4045	0.2404	21
742	0.7365	0.6417	0.7891	0.7224	3
744	0.0866	0.3875	0.7295	0.4012	10
747	0.4287	0.5063	0.7395	0.5581	6
757	0.0913	0.0410	0.3573	0.1632	25
761	0.0000	0.4600	0.6998	0.3866	11
763	0.6776	0.6943	0.5112	0.6277	5
765	0.3985	0.7749	0.2928	0.4887	7
770	0.4742	0.7607	0.6700	0.6350	4
779	0.8666	1.0000	0.9404	0.9357	1
785	0.1719	0.0741	0.6179	0.2879	17
TL5	0.0293	0.1519	0.3648	0.1820	24

同变化是否与抗旱性有关还需要深入的探讨。

植物抗旱生理研究表明,干旱胁迫导致植物体内的活性氧等自由基的含量增加,从而引起的细胞膜伤害,这种学说越来越受到人们的认可^[3]。植物体内的活性氧等自由基主要依赖保护酶和抗氧化物质来完成,清除系统包括 SOD、CAT、POD 等多个酶系统,正常生理情况下,清除系统维持着自由基生成与消除的动态平衡;但当植株遇干旱环境时,随着活性氧的增加,SOD 等酶活性也会增加,以达到清除体内过多的活性氧自由

基的效果,但当干旱胁迫程度超过一定限度时,抗旱性较差的品种的 SOD 酶活性就会下降^[15-16],富春元等^[8]的研究显示,在低 PEG 浓度的胁迫处理情况下,抗旱品种和不抗旱品种都呈现 SOD、CAT 和 POD 等酶活性增加,但在高 PEG 浓度的胁迫处理下,不抗旱品种的 SOD、CAT 和 POD 等酶活性不增加,并呈现下降;而抗旱品种的 SOD、CAT 和 POD 等酶活性随着 PEG 浓度的增加而增加。本研究没有开展多个 PEG 处理浓度试验,而直接应用较高的 PEG 浓度(300 g/L)进行胁迫

处理, 根据 SOD 酶活性在对照材料 (C) 和处理材料 (T) 的测定结果显示, 优良家系 604、742、763 和 779 经高浓度 PEG 胁迫处理后, SOD 酶活性大幅增加, 表现出较高的抗旱特性。在 POD、CAT 酶活性的测定中, 上述 4 个优良家系也表现出经高浓度 PEG 胁迫处理后, POD、CAT 酶活性提高的抗旱特性。因此, 根据对照材料 (C) 和试验材料 (T) 的 SOD、CAT 和 POD 等酶活性测定结果, 把家系 604、742、763 和 779 认定为抗旱性好的优良家系。采用隶属函数对杉木家系抗旱性综合评价结果也证实了上述观点, 抗旱性由大到小前五位为 779、604、742、770 和 763, 在根据 SOD、POD 和 CAT 酶活性测定数据评选出的 4 个抗旱家系的基础上, 增加了 770 家系, 这也说明了隶属函数能利用多指标数据信息, 得出更综合的评价。

参考文献

- [1] 阮梓材. 广东省杉木良种论文集[M]. 广州: 广东省科技出版社, 2012.
- [2] 李原圆, 李英能, 苏人琼, 等. 中国农业水危机及其对策[M]. 北京: 中国国家科学技术委员会农村科技司, 1997: 52 - 54.
- [3] 刘爱琴, 冯丽贞. 干旱胁迫对杉木无性系光合特性的影响[J]. 福建林学院学报, 1998(3): 46-49.
- [4] DHINDSA R S, WANDCKAYI M. Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defence against lipid peroxidation[J]. J Exp. Bota., 1981, 32(126): 79-91.
- [5] 王俊刚, 陈国仓, 张承. 水分胁迫对2种生态型芦苇 (*Phragmites communis*) 的可溶性蛋白含量、SOD、POD、CAT活性的影响[J]. 西北植物学报, 2002, 22(3): 561-565.
- [6] 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.
- [7] 符明联, 李根泽, 杨清辉, 等. PEG6000模拟干旱胁迫处理在筛选油菜抗(耐)旱材料中的应用初析[J]. 中国农业科技导报, 2009, 11(S2): 60-62.
- [8] 富春元, 张淑娟, 鱼昭君, 等. PEG模拟干旱胁迫对叶缘裂刻小白菜生理特性的影响[J]. 西北农业学报, 2014, 23(5): 139-145.
- [9] 顾福根, 赵林川, 朱成, 等. 盐胁迫对绿豆下胚轴氧化还原态的影响[J]. 植物生理学报, 2013, 49(10): 1-6.
- [10] 王润辉, 胡德活, 郑会全, 等. 杉木无性系生长和材性变异及多性状指数选择[J]. 林业科学, 2012, 48(3): 45-50.
- [11] 王润辉, 胡德活, 郑会全, 等. 杉木2.5代种子园开花物候遗传变异分析[J]. 西南林业大学学报, 2012, 33(4): 25-28.
- [12] 李树斌, 丁国昌, 曹光球, 等. 不同杉木无性系模拟胁迫下抗旱性综合评价[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2012, 41(5): 491-496.
- [13] MCKERSIE B D, CHEN Y R, BEUS M, et al. Superoxide dismutase enhance tolerance of freezing stress intrans genetic alfalfa (*Medicago sativa*) [J]. Plant Physical, 1993, 103: 1155-1163.
- [14] 叶志宏, 施季森, 翁玉榛, 等. 杉木种源地理变异的影响因子及性状遗传、相关的选择[J]. 南京林业大学学报, 1991, 15(2): 7-10.
- [15] 姜慧芳, 任小平. 干旱胁迫对花生叶片SOD活性和蛋白质的影响[J]. 作物学报, 2004, 30(2): 169-174.
- [16] 刘娥娥, 汪沛洪, 郭振飞. 柏物的干旱诱导蛋白[J]. 植物生理学通讯, 2001(2): 155-160.