

干旱对转基因抗虫棉苗期叶片 POD、MDA 和光合速率的影响

唐 薇, 李维江, 张冬梅, 董合忠

(山东棉花研究中心, 济南 250100)

随着耕作制度改革, 棉田不断转移, 我国主要产棉区旱地棉田的比重不断增大, 加之水资源缺乏日益严重。干旱已成为该区棉花生产发展的主要限制因素。干旱通过影响包括光合作用在内的多种生理生化代谢活动, 减缓或抑制棉株体的生长发育, 导致减产已被证实。但过去多集中于常规棉花的研究, 目前就干旱对转基因抗虫棉生长发育生理特性的影响研究甚少。为了进一步了解干旱对棉花生长发育影响的生理学机制, 我们研究了干旱条件下转基因抗虫棉苗期叶片的细胞膜保护酶 POD(过氧化物酶)的活性、膜脂过氧化产物 MDA(丙二醛)含量及光合特性, 为棉花抗旱育种和抗逆栽培提供科学理论依据。

1 材料和方法

供试材料为陆地转基因抗虫棉 33B, 于 5 月 10 日播于装满大田表层干土的塑料盆中, 盆高 5cm, 直径 35cm。待两片子叶展开后定苗, 每盆留苗一株, 同时加入 Hongland 营养液, 待棉苗进入三叶期后, 挂牌标记倒三叶(下称标记叶), 选取长势健壮一致的棉苗分成两组, 一组正常供水作对照, 维持土壤含水量为田间最大持水量的 75%, 另一组干旱处理, 维持土壤含水量为田间最大持水量的 40%(中度干旱), 土壤田间最大持水量为 24%, 用称重法控制土壤含水量。处理 15 天后, 调查棉株的生长情况, 并进行有关生理指标的测定。

1.1 POD 活性和 MDA 含量的测定

取功能叶片 0.3g 左右, 加少许石英沙和预冷的 10%Ca(NO₃)₂ 溶液, 在冰浴中研磨成匀浆后, 转入到 25ml 容量瓶中, 以上述硝酸钙溶液定容, 摇匀放置 30min 后, 用高速冷冻离心机(1800×g, 4℃)离心 10min, 按文献[5]的方法作进一步的处理并测定 470nm 处的吸光度, 计算 POD 的活性。另取功能叶片 0.5g 左右, 加少许石英沙和 5ml 蒸馏水研磨成匀浆后转至试管中, 再加入 0.5%硫代巴比妥酸溶液 5ml, 将试管在沸水浴中煮沸 10min(自试管内溶液出现小汽泡开始计时)后, 立即放入冷水浴中, 冷却后, 以离心机(3000×g)离心 15min, 按文献[5]的方法测定 MDA 含量。

1.2 净光合速率的测定

选晴天以美国 Li-cor 公司生产的 Li-6400 光合测定系统测定标记叶的净光合速率, 自上午 8:00 至下午 18:00, 每 2h 测一次, 其中, 上午 10:00 至下午 14:00 每 1h 测定一次。

结果与分析

2.1 干旱对棉苗生长的影响

干旱处理 15 天后, 干旱对转基因抗虫棉苗期的生长发育有明显的抑制作用, 棉花苗期受干旱后, 地上部的株高增长和叶片扩展皆受抑制, 正常供水条件下, 株高为 20.5cm, 叶面积 19.7cm²。干旱处理的棉花株高 16.2cm, 叶面积 12.9cm², 比对照分别减少 4.3cm、6.8cm², 差异显著。而就地下部根系而言, 干旱能促进主根下扎, 地表 5cm 以下侧根数量 26 条, 明显高于对照的 19 条(表 1)。同时, 干旱条件下棉株的干物质积累量降低, 不论地上部、根系还是总量, 正常供水的干物重都大于干旱处理。

表 1 干旱与正常供水条件下棉苗的生长情况

处理	株高 /cm	叶面积 /cm ²	主根长 /cm	5cm 以下侧 根数量/个	总干重 /g·株 ⁻¹	地上部 /g·株 ⁻¹	根系 /g·株 ⁻¹
干旱	16.2	12.9	38.5	19	0.442	0.380	0.062
对照	20.5	19.7	32.8	26	0.548	0.480	0.068

2.2 干旱对棉苗叶片 POD 活性和 MDA 含量的影响

棉花受干旱后, 叶片细胞内 POD 活性为 129.2 OD₄₇₀·min⁻¹·g⁻¹FW, 较对照的 101.5

$OD_{470} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 明显升高，这是棉株体为抵抗外界胁迫作出的一种生理反应，因为 POD 作为棉株体内的保护酶，可以清除活性氧和过氧化物自由基的活动，以防止超氧化自由基对细胞膜系统的伤害。尽管如此，棉花叶片内仍积累了大量的丙二醛，而丙二醛含量是反映植物体膜脂过氧化程度的一个重要指标，这说明细胞膜系统已受到伤害，质膜透性增大。

2.3 干旱及正常供水条件下棉苗光合速率的日变化

从干旱与正常供水条件下光合速率的日变化（图 1）可以看出，一天中任一测定时间，干旱胁迫处理棉花的光合速率都低于对照处理。在两种处理下，光合午休发生的时间不同，干旱胁迫下，光合速率在上午 10:00 左右达到最大值，自 11:00 时开始减小，上午 12:00 测定时午休已发生，并一直降低。但正常供水情况下，光合速率在上午 11:00 达到最大值，13:00 前后出现午休，表明干旱使光合午休时间提前，光合速率日变化曲线也不同，正常供水情况下，呈双峰曲线，而干旱条件下，光合速率日变化曲线呈现单峰曲线，且下降幅度明显变大。由此可知，在干旱条件下，棉花光合午休是在降低的光合水平上进行。

3 结论

3.1 干旱对棉花苗期 POD 活性及 MDA 含量的影响

干旱可诱导叶片内 POD 活性升高，POD（过氧化物酶）为细胞膜保护酶系统中的主要成员之一，它与超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）联合作用参与清除活性氧及过氧化物自由基的活动，以防止超氧化自由基对细胞膜系统的伤害，对生物膜具保护作用。但 MDA（丙二醛）含量却明显增加，它是膜脂氧化的主要产物之一。其积累是自由基毒害作用的表现，目前已成为判断膜脂过氧化作用的一个重要指标，说明干旱时棉株体内的保护酶系统已无力清除自由基，细胞膜受到严重伤害。有文章报道，POD 在干旱胁迫下，氧化 IAA，使 IAA 总量降低，抑制生长 [7]。本试验结果表明，干旱处理的棉花株高增长和叶片分化、扩展皆受到不同程度的影响，由此可推测，干旱条件下，POD 活性升高的生理学意义，一是清除自由基保护细胞膜，二是氧化 IAA，减缓棉株体的生长。

3.2 干旱对棉花苗期光合速率的影响

干旱对棉花苗期的光合速率影响显著，棉叶光合速率显著降低，棉花光合速率日变化呈单峰线，棉叶自上午 11:00 时，光合速率开始降低，直至光合停止，这种日变化最不利于光合产物的产生，干旱不仅影响光合速率的最大值，而且使光合午休时间提前，光合午休程度加重。午休期间水分利用效率降低，造成水分及光能的更大浪费，这显然对植株的生长是不利的。据文章报道，干旱初期气孔关闭是导致光合速率缓慢下降的主要原因，干旱后期光合速率减小的原因可能是 PSII 光化效率降低所致。（《中国棉花》2002.02）