

# 干旱胁迫下丁二醇诱导对匍匐翦股颖幼苗生理生化指标的影响

李灵章

(深圳市万卉园景观工程有限公司,广东 深圳 518038)

**摘要:**为了研究丁二醇对匍匐翦股颖(*Agrostis stolonifera*)苗期抗旱性的调控效应,以匍匐翦股颖(PennA-4)种子为材料,进行沙培种植,待幼苗生长粗壮均匀时进行丁二醇的处理,5天后用15%的PEG进行模拟抗旱处理,分析苗期植株丙二醛(MDA)、可溶性糖、叶绿素、相对含水量、游离脯氨酸、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的变化规律及与植物抗旱性的关系。研究表明:与干旱胁迫处理相比,诱导处理显著提高了植株叶片相对含水量、脯氨酸以及叶绿素的含量,抑制了匍匐翦股颖中丙二醛(MDA)和可溶性糖的含量,同时提高了超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的活性,并且使过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)的活性有所降低。综上,在干旱胁迫条件下,外施丁二醇可提高翦股颖的抗旱能力,使其能够更好地适应干旱胁迫环境。

**关键词:**匍匐翦股颖;丁二醇;干旱胁迫;生理指标

**中图分类号:**S688.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2020)03-0057-06

**DOI:** 10.13817/j.cnki.cyycp.2020.03.008

水是影响草坪生命活动最重要的环境因子之一。在当前草坪灌溉供水匮乏的形势下,提高草坪草的抗旱性,减少草坪耗水是草坪管理中急需解决的难题<sup>[1]</sup>。匍匐翦股颖(*Agrostis stolonifera*)作为品质高、耐频繁低修剪的重要冷季型禾本科草坪草,耐旱性较弱,养护中需大量用水,草坪质量与使用寿命受到严重影响<sup>[2]</sup>。

近年来,外施化学物质诱导植物抗旱受到人们的关注,植物抗性诱导剂是目前应用较广的一种诱导剂,它是一类新型的生物农药,能激发植物内部免疫机制进而抵御环境胁迫<sup>[3-5]</sup>。PGPR菌的分泌物2,3-丁二醇(2,3-BD),常温下是一种无色无味的透明液体,微

生物常形成异构体混合物。由于其具有安全、无毒等特性,在植物诱导抗性方面获得广泛的关注<sup>[6-7]</sup>。PEG是一种亲水性非常强的大分子聚合物,能够夺取水分,对植物造成渗透胁迫,并在一定程度上阻塞植物的输导组织,利用PEG模拟渗透胁迫已成为植物抗旱性研究的重要手段<sup>[8-9]</sup>。本研究用PEG模拟干旱胁迫,根据前期对不同诱导剂、不同诱导浓度诱导不同品种种子萌发的研究发现,确定最佳诱导剂为2,3-BD、最适浓度200  $\mu\text{mol/L}$ <sup>[10]</sup>,探索丁二醇诱导匍匐翦股颖苗期抗旱性的生理机制,旨在为提高草坪草抗旱性提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

匍匐翦股颖品种 PennA-4 由北京克劳沃草业技术开发中心提供。聚乙二醇(PEG)由上海展云化工有限公司提供,2,3-丁二醇由 sigma 公司提供。

### 1.2 试验设计

本试验采用 PEG-6000 为渗透剂进行干旱胁迫处理。选取颗粒饱满,大小一致的匍匐翦股颖种子若干

收稿日期:2019-09-02; 修回日期:2019-12-09

基金项目:国家重点研发计划“秸秆基料化综合利用技术及标准研究”(2018YFF0213502);深圳市科技计划项目(JCYJ20160331151245672)

作者简介:李灵章(1964-),男,广州梅县人,大专,中级工程师,研究方向为园林景观与植物配置。

E-mail: wanhuiyuan@163.com

进行种植。种植前用无菌水浸泡 5 h,用 70%乙醇溶液浸泡 1 min,10%次氯酸钠浸泡 15 min,无菌水冲洗 6~7 次,种植于纸杯中,自然状态下育苗,每隔 5 d 更换营养液和蒸馏水。选取粗壮、长势一致的幼苗进行诱导,然后进行模拟抗旱处理。用 200  $\mu\text{mol/L}$  的 2,3-BD 进行根部诱导,5 d 后用 15%的 PEG-6000 溶液进行模拟抗旱处理。设 3 个处理:0  $\mu\text{mol/L}$  2,3-D+0% PEG(对照)、15% PEG、200  $\mu\text{mol/L}$  2,3-BD+15% PEG。每个处理均设置 3 个重复。

### 1.3 测定指标与方法

对照于诱导后 0 d 进行采样,其余两组处理分别于诱导后 15、20、25 d 时进行采样测定(用 D1、D2、D3 表示),采生长状况一致的幼苗叶片进行生理指标测定。丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸比色法<sup>[11]</sup>测定。可溶性糖含量采用蒽酮比色法<sup>[12]</sup>测定。叶绿素含量采用乙醇<sup>[13]</sup>测定。相对含水量采用烘干法测定。游离脯氨酸含量采用酸性茚三酮法<sup>[13]</sup>测定。抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性采用文献<sup>[14]</sup>的方法测定。过氧化物酶(POD)采用愈创木酚法<sup>[15]</sup>测定。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 NTB 光还原法<sup>[15]</sup>测定。过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外分光光度法<sup>[15]</sup>测定。

### 1.4 数据处理

采用 SPSS 19.0 进行数据分析,用平均值以及标准误差表示测定的试验结果,对数据方差分析,用 Duncan 法对各数据进行多重比较;采用 Excel 2013 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 丁二醇诱导对匍匐剪股颖生理指标的影响

自然状态下叶片中 MDA 含量最低,胁迫处理后叶片 MDA 含量明显增加,与对照相比差异显著( $P < 0.05$ )。表明细胞膜氧化程度增加,幼苗所遭受的干旱胁迫增加。诱导处理后,叶片 MDA 含量都明显低于胁迫处理。D1、D2、D3 叶片 MDA 含量诱导处理比胁迫处理分别低 1.21、1.39 和 1.11 倍,且差异显著( $P < 0.05$ )(图 1)。

D1 的可溶性糖含量胁迫处理明显低于对照,但随着胁迫天数的增加叶片可溶性糖含量依次增加为对照的 0.64%、0.68%,且与对照相比差异显著( $P < 0.05$ )(图 2)。丁二醇诱导处理后,可溶性糖含量先下降,后增加。D3 叶片中可溶性糖含量与 D2 相比增加明显,

且差异显著( $P < 0.05$ )。说明丁二醇在干旱条件下会抑制匍匐剪股颖叶片的可溶性糖含量,但随着诱导时间的延长,抑制作用会减弱。

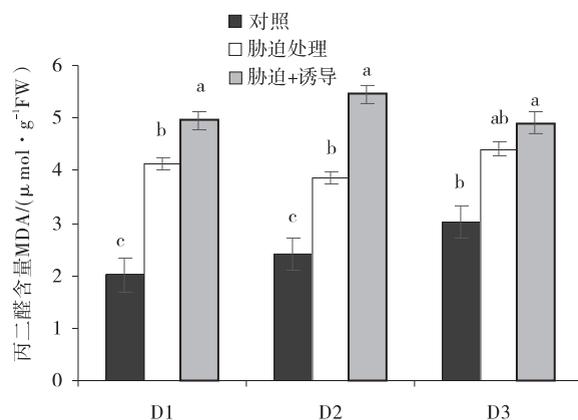


图 1 剪股颖叶片 MDA 含量

Fig. 1 Effect of butanediol on MDA content in bentgrass leaves under drought stress

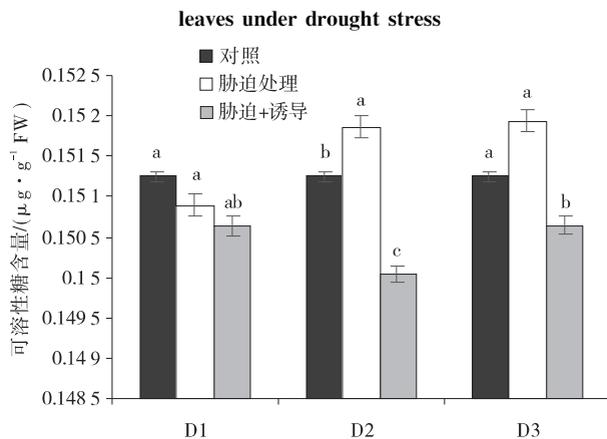


图 2 剪股颖叶片可溶性糖含量

Fig. 2 Effect of butanediol on soluble sugar content in bentgrass leaves under drought stress

### leaves under drought stress

光合色素含量直接影响植物的光合能力,从而影响其生长和发育,尤其是叶绿素含量与植物光合能力的强弱关系更为密切<sup>[16-17]</sup>。D1 的叶绿素含量胁迫处理低于对照组含量,随胁迫天数的增加叶绿素含量逐渐下降,但都高于组叶绿素含量,说明匍匐剪股颖本身具有一定的抗旱能力。丁二醇诱导处理后,不同胁迫时间叶绿素含量与胁迫处理相比增加了 1.123、1.024 和 1.222 倍,且差异显著( $P < 0.05$ )(图 3)。

胁迫处理后,叶片相对含水量分别为 95.02%、80.56%、74.93%,呈下降趋势,且低于对照(图 4)。说明胁迫处理抑制了叶片相对含水量的生成。丁二醇诱导处理后,D1 叶片相对含水量显著低于胁迫处理的相对含水量且差异显著( $P < 0.05$ )。随着诱导天数的延长,叶片相对含水量有增加的趋势,在 D3 时就显著

超过了胁迫处理的叶片相对含水量。表明丁二醇处理能够提高匍匐剪股颖叶片细胞的渗透调节能力,从而促进其保水性,进而抵御干旱胁迫。

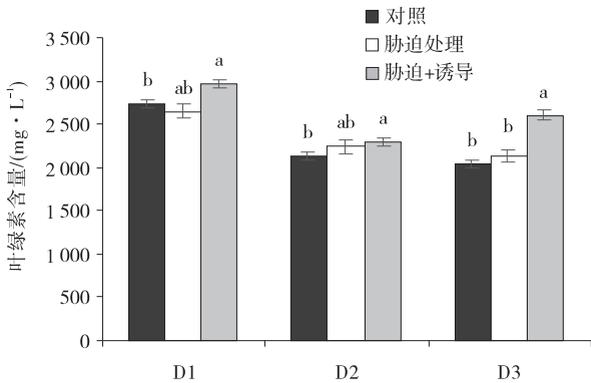


图 3 剪股颖叶片叶绿素含量

Fig. 3 Effect of butanediol on chlorophyll content in bentgrass

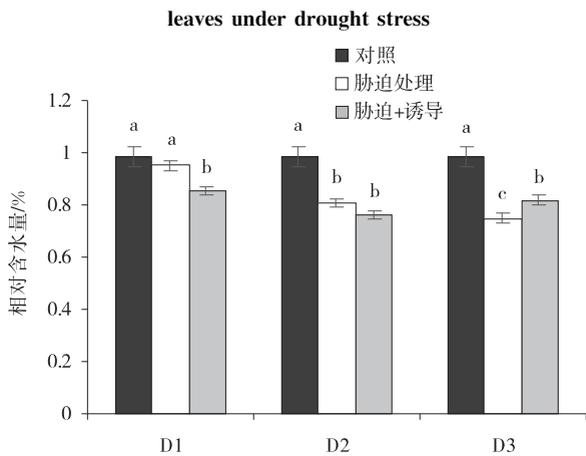


图 4 剪股颖叶片相对含水量

Fig. 4 Effect of butanediol on the relative water content of bentgrass leaves under drought stress

对照与胁迫处理组叶片游离脯氨酸的含量呈增加趋势,且差异显著( $P < 0.05$ )。与对照相比,不同胁迫时间胁迫处理组叶片中游离脯氨酸含量较对照依次增加了 35.73%、62.53%、48.98%。丁二醇诱导处理后,游离脯氨酸的含量呈上升趋势,且都明显高于对照的含量(图 5)。结果表明,在干旱条件下匍匐剪股颖本身具有良好的渗透调节能力和自我修复能力。

## 2.2 丁二醇诱导对匍匐剪股颖酶活性的影响

胁迫处理后,SOD 含量与对照相比呈先增加后降低的趋势。D1 与对照相比有一定的增加趋势,但差异不显著。D2 和 D3 与对照相比呈降低趋势,且都低于对照组,D2 差异不显著,D3 差异显著( $P < 0.05$ ) (图 6)。丁二醇诱导处理后,SOD 含量与胁迫处理相比呈增加趋势。不同胁迫时间丁二醇诱导 SOD 活性比胁

迫处理增加了 0%、0.622%、2.613%,且差异不显著。

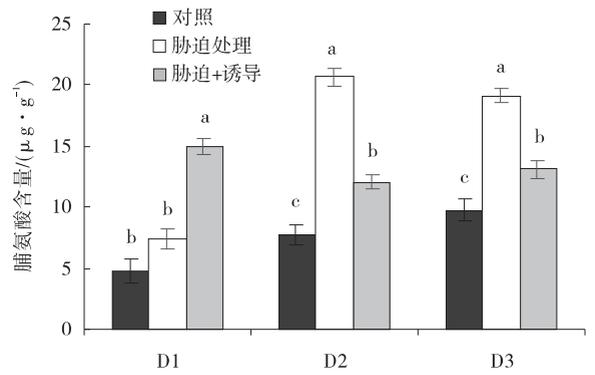


图 5 剪股颖叶片游离脯氨酸含量

Fig. 5 Effect of butanediol on free-lycic acid content in bentgrass

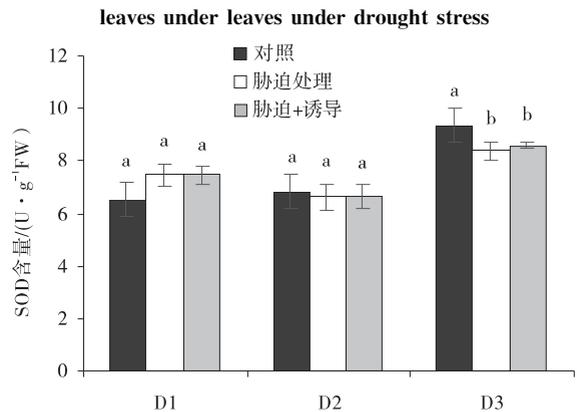


图 6 剪股颖叶片 SOD 含量

Fig. 6 Effect of butanediol on SOD content in bentgrass drought stress

$H_2O_2$  的清除是细胞彻底消除活性氧的关键,CAT 可以将 SOD 等产生的  $H_2O_2$  转化成  $H_2O$ ,与 SOD 协同反应使活性氧维持在较低水平<sup>[18]</sup>。胁迫处理后,匍匐剪股颖叶片中 CAT 活性与对照相比呈先下降后升高再下降的趋势,且差异显著( $P < 0.05$ )。D1 叶片 CAT 活性与对照相比下降了 2.91 倍,D2 增加了 1.75 倍,D3 降低了 1.3 倍。丁二醇诱导后,叶片 CAT 活性呈逐渐上升的趋势,且在 D3 时叶片 CAT 活性明显高于胁迫处理(图 7)。

胁迫处理后,匍匐剪股颖叶片 POD 活性与对照相比有明显的增加趋势,且差异显著( $P < 0.05$ ) (图 8)。丁二醇诱导处理后,叶片 POD 活性呈先上升后下降的趋势。胁迫处理后,D1 叶片 POD 活性比对照低 54.17%,差异显著( $P < 0.05$ )。D2 叶片 POD 活性比对照高 6.15%,差异不显著。D3 叶片 POD 活性比对照高 13.88%,差异不显著。丁二醇诱导后,D2、D3 叶片 POD 活性明显低于胁迫处理。

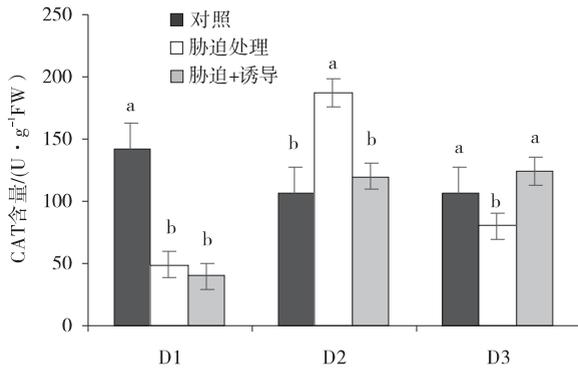


图 7 剪股颖叶片 CAT 含量

Fig. 7 Effect of butanediol on CAT content in bentgrass leaves under drought stress

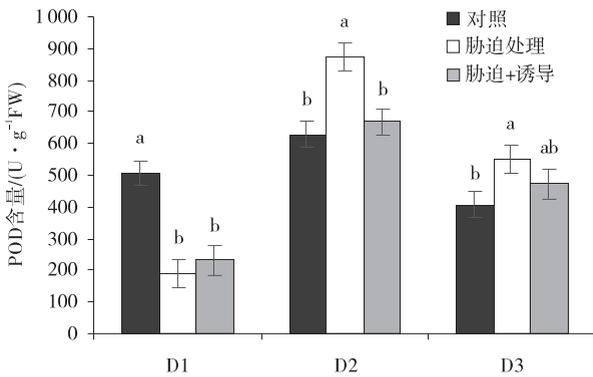


图 8 剪股颖叶片 POD 含量

Fig. 8 Effect of butanediol on POD content in bentgrass leaves under drought stress

胁迫处理后叶片 APX 活性呈先增加后降低的趋势,但叶片 APX 活性都明显高于对照组。丁二醇诱导期间,叶片 APX 含量与胁迫处理相比呈下降趋势,差异显著( $P < 0.05$ ) (图 9)。D2 诱导处理的 APX 活性明显低于胁迫处理。这表明,干旱环境下有利于提高叶片 APX 活性,喷施丁二醇诱导剂后会明显降低干旱条件下叶片中 APX 的活性。

### 3 讨论

MDA 是膜脂过氧化作用的主要产物之一,其含量高低和质膜透性的大小都是膜脂过氧化强弱和质膜破坏程度的重要指标<sup>[19]</sup>。本试验表明匍匐剪股颖受干旱胁迫后,MDA 含量显著高于对照,说明细胞质膜发生了氧化作用,引起质膜正常的生理功能紊乱。孙鏖等<sup>[20]</sup>研究了干旱胁迫下苎麻苗期理化指标也得到了类似的结果。丁二醇诱导后,MDA 含量明显低于胁迫处理。说明丁二醇可以减缓 MDA 的生成,进而降低细胞膜的过氧化作用,减缓干旱胁迫所造成的伤害。

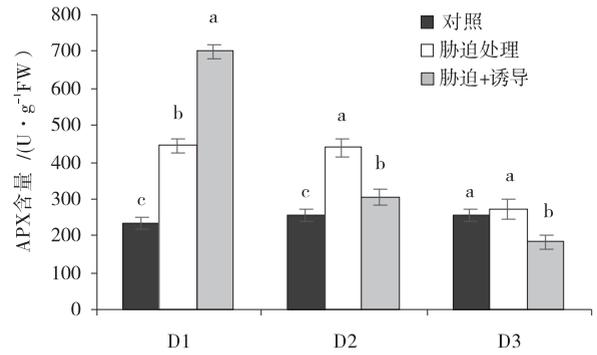


图 9 剪股颖叶片 APX 含量

Fig. 9 Effect of butanediol on APX content in bentgrass leaves under drought stress

可溶性糖既是渗透调节剂,也是合成其他有机溶质的碳架和能量来源,还可在细胞内无机离子浓度高时起保护酶类的作用<sup>[21]</sup>,在盐逆境中其含量的增加对于植物提高细胞汁液浓度、降低细胞水势、增强吸水等功能起着重要促进作用<sup>[22]</sup>。本研究中,干旱胁迫条件下,可溶性糖和游离脯氨酸含量都明显高于对照,所以在干旱环境中,匍匐剪股颖本身可降低细胞渗透势,提高细胞吸水能力,维持细胞膨压,从而抵御干旱胁迫。但丁二醇诱导处理后,匍匐剪股颖幼苗叶片中可溶性糖含量明显低于干旱胁迫处理。这可能是因为 200  $\mu\text{mol/L}$  的丁二醇浓度会影响其生成,使细胞汁液浓度、细胞水势、细胞吸水等功能受到影响,从而影响匍匐剪股颖的抗旱能力。所以不同浓度的丁二醇诱导对匍匐剪股颖生理生化的影响需做进一步的研究。

干旱胁迫能导致植物叶片中叶绿素含量的降低,是因为干旱胁迫不仅影响叶绿素的生物合成,而且加快已经合成的叶绿素分解<sup>[17]</sup>。本试验中,丁二醇诱导处理后,叶绿素含量明显高于胁迫处理,刘思露等<sup>[23]</sup>在干旱胁迫条件下对匍匐剪股颖喷施 GB 也得到类似的结论。说明丁二醇可促进叶绿素的合成或者减缓叶绿素的分解,从而提高叶绿素含量,提高匍匐剪股颖的抗旱能力。

叶片相对含水量是反映植物水分状况,研究植物抗旱性的重要指标。其高低在一定程度上反映了植株叶片保水能力的强弱<sup>[24]</sup>。本研究中,丁二醇明显缓解了匍匐剪股颖叶片中相对含水量的下降,并在处理 25 d 时显著高于干旱胁迫处理的相对含水量。说明丁二醇提高了植物细胞的渗透调节能力,减轻和修复叶片的受损,使匍匐剪股颖积累了更多对干旱逆境的防御能力,提高了匍匐剪股颖的抗旱能力。

干旱胁迫下植物体内对自由基清除的抗氧化系统有2类,可分为酶类和非酶类;而抗氧化保护酶系统又包含了SOD、CAT、POD、APX等各种酶类,这些酶可清除植物体因环境胁迫生成的过氧化产物和阻止自由基的形成。逆境中保护酶活性增强或维持较高的水平,才能清除活性氧自由基,防止自由基对生物膜结构和功能的破坏<sup>[25]</sup>,从而提高植物的抗旱性。本研究发  
现,丁二醇诱导后,匍匐翦股颖幼苗叶片SOD含量与胁迫处理相比呈增加趋势,并渐渐高于胁迫处理,SOD可使O<sub>2</sub>发生歧化转化成H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,再由CAT和POD分解进行后续工作<sup>[26]</sup>。从而防止自由基对生物膜结构和功能的破坏,维持膜系统的完整,提高植物的抗旱能力。丁二醇诱导后,APX的活性呈先上升后降低的趋势,并且发现诱导后APX活性低于胁迫处理。可能是APX为了防止过量活性氧对植株产生伤害,同时又确保活性氧在杀菌、细胞壁增强、诱导植物体内植保素合成以及诱导防卫基因表达等植物抗病反应中发挥作用<sup>[27]</sup>。SOD、CAT、POD及APX活性变化的不一致性反映了匍匐翦股颖在遭受干旱胁迫时各酶之间复杂的内在关系和协同作用。可见,植物体内保持着各种酶的平衡,通过调动各种酶和整个防御系统来抵抗由于干旱胁迫引起的氧化伤害,减少活性氧的累积,降低膜伤害程度,进而使植物表现出更强的抗旱能力。

## 4 结论

在干旱胁迫条件下分析匍匐翦股颖植株的生理生化指标,初步探究匍匐翦股颖的抗旱机制。结果表明,诱导剂丁二醇可缓解干旱胁迫对匍匐翦股颖的伤害,使匍匐翦股颖表现出多种抗旱机制,这对提高匍匐翦股颖的抗旱性具有重要意义。

### 参考文献:

- [1] 余叔文,汤章城.植物生理与分子生物学[M].北京:科学出版社,1998.
- [2] 孙吉雄.草坪学[M].北京:中国农业出版社,1995.
- [3] 邢家华,陈定华.植物化学诱抗剂[J].浙江化工,2002,33(3):51-52.
- [4] Durrat W E, Dong X. Systemic acquired resistance[J]. Annual Review of Phyto-pathology, 2004, 42: 185 - 209.
- [5] Vallad G E, Goodman R M. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture[J]. Crop Science, 2004, 44(6): 1920-1934.
- [6] Ryu C M, Farag M A, Hu C H, et al. Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2004, 134(3): 1017-26.
- [7] Song H H, Lee S J, Moon J H, et al. GacS-Dependent Production of 2R, 3R-Butanediol by *Pseudomonas chlororaphis* O6 Is a Major Determinant for Eliciting Systemic Resistance Against *Erwinia carotovora* but not Against *Pseudomonas syringae* pv. tabaci in Tobacco [J]. Mol Plant Microbe Interact. 2006, 19(8): 924-930.
- [8] 马俊会,杨华瑞,许喜堂,等. PEG-6000胁迫对小麦三叶期蛋白表达的影响[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(5): 858-862.
- [9] 朱教君,康宏樟,李智辉.不同水分胁迫方式对沙地樟子松幼苗光合特性的影响[J]. 北京林业大学学报, 2006, 28(2): 57-63.
- [10] 马源,刘兴菊,马晖玲.干旱胁迫下丁二醇诱导对不同翦股颖品种种子萌发特性的影响[J]. 甘肃农业大学报, 2018, 53(1): 137-143.
- [11] 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.
- [12] 邹琦.植物生理生化实验指导[M].北京:中国农业出版社,2007.
- [13] 刘新.植物生理学实验技术[M].北京:中国农业出版社,20015.
- [14] 张力军,樊金娟.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业科学技术出版社,2007.
- [15] 王忠.植物生理学[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [16] 刘建福. NaCl胁迫对澳洲坚果叶片生理生化特性的影响[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2007, 32(4): 25-29.
- [17] 王宝山,赵可夫,邹琦.作物耐盐机理研究进展及提高作物抗盐性的对策[J]. 植物学报, 1997(S1): 26-31.
- [18] Bowler C, Inze D M V M. Superoxide Dismutase and Stress Tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology, 1992, 43(1): 83-116.
- [19] Ming L, Wang G. Effect of Drought Stress on Activities of Cell Defense Enzymes and Lipid Peroxidation in *Glycyrrhiza uralensis* Seedlings[J]. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(4): 503-507.
- [20] 孙麇,邓荟芬,刘海林,等.干旱胁迫对苧麻苗期理化指标的影响[J]. 草地学报, 2016, 24(3): 577-580.
- [21] 李捷,崔永涛,柏延文,等.两种枸杞对干旱胁迫的生理响应及抗旱性评价[J]. 甘肃农业大学学报, 2019, 54(5): 79-87.

- [22] Yokoi S, Bressan R A, Hasegawa P M. Salt Stress Tolerance of Plants[R]. Jircas Working Report, 2002. 系统对水分胁迫的反应[J]. 西北植物学报, 2002, 22(2): 285—290.
- [23] 刘思露, 杨鹏, 尹淑霞. 外源甜菜碱对匍匐翦股颖的抗旱性调控作用分析[J]. 草业学报, 2015, 24(3): 80—88. [26] 耿志卓, 丁立人, 逯亚玲, 等. 外源水杨酸对不同水分胁迫下分枝期紫花苜蓿生长和生理特性的影响[J]. 草地学报, 2016, 24(2): 369—376.
- [24] 孙铁军, 苏日古嘎, 马万里, 等. 10种禾草苗期抗旱性的比较研究[J]. 草业学报, 2008, 17(4): 42—49. [27] 陈利锋, 叶茂炳, 陈永幸, 等. 抗坏血酸与小麦抗赤霉病性的关系[J]. 植物病理学报, 1997, 27(2): 113—118.
- [25] 王娟, 李德全, 谷令坤. 不同抗旱性玉米幼苗根系抗氧化

## Effects of butyldiol induction on physiological and biochemical characteristics of *Agrostis stolonifera* under drought stress

LI Ling-zhang

(Wanhui Landscape Engineering Co. Ltd, Shenzhen 518038, China)

**Abstract:** The effect of butanediol on the regulation of drought-resistance at the seedling stage of bentgrass (PennA-4) was studied. The seedlings treated with butanediol for 5 days were used for simulated drought treatment with 15% PEG. The variation of malondialdehyde (MDA), soluble sugar, chlorophyll, relative water content, free proline, ascorbate peroxidase (APX), peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) was investigated and their relationship with drought resistance was analyzed. The results showed that compared with the drought stress treatment, the relative water content, proline content and chlorophyll content in leaf were significantly increased after induction treatment, but the contents of malondialdehyde (MDA) and soluble sugar were decreased. The activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were increased, and the activities of peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX) were decreased. Under the drought stress conditions, the butanediol application can improve the drought resistance of creeping bentgrass.

**Key words:** creeping bentgrass; butanediol; drought stress; physiological indicator

### 更正声明

我刊2017年第37卷第4期刊出的论文《黑龙江地区晚春播青贮玉米品种的生产性能及适应性评价》，因编辑疏忽，将原文章的摘要、材料和方法中1.3试验方法、结果与分析中2.2不同青贮玉米品种生物产量(表4)、讨论中3.2生物产量和结论中的单位均修改为了“ $\text{hm}^2$ ”，但数值未进行相应修改。现将文章上述中“ $\text{hm}^2$ ”全部修改为“ $667\text{m}^2$ ”，特此更正，并向作者表示歉意。