

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2019)04-0193-10

遗传育种

PEG-8000模拟干旱胁迫对马铃薯组培苗 叶绿素和类胡萝卜素含量的影响

杨喜珍, 杨利, 覃亚, 刘磊, 杨欢, 谢婉*

(西藏日喀则市农业科学研究所, 西藏 日喀则 857000)

摘要: 为了明确聚乙二醇(PEG-8000)模拟干旱胁迫对彩色和常规马铃薯组培苗叶绿素和类胡萝卜素含量的影响, 以6个马铃薯品种(系)的脱毒组培苗为试验材料, 研究比较了在固体培养基中分别添加5%, 10%, 15%和20% PEG-8000模拟干旱胁迫和对照处理下(不含PEG-8000)培养50 d后组培苗生长生理指标(叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素)的变化。结果表明, 在0~20%PEG浓度下, 马铃薯茎叶中色素含量变化复杂, 彩色马铃薯品种色素相关指标较常规品种对干旱更敏感。叶绿素a较叶绿素b对干旱的反应更为敏感, 类胡萝卜素含量对干旱胁迫的反应较叶绿素更敏感。叶绿素b/a值较其他指标在干旱胁迫下更稳定。在轻度干旱胁迫下, 叶绿素a、b, 总叶绿素含量及类胡萝卜素含量降低, 在中度干旱胁迫下, 叶绿素a、b, 总叶绿素含量及类胡萝卜素含量增加, 彩色马铃薯较常规马铃薯增幅更大, 因此在进行抗旱评价时不宜单采用色素指标。干旱影响导致的色素变化由强到弱为‘D613’>‘东农303’>‘200902’>‘渭薯1号’>‘春薯2号’>‘青薯9号’。

关键词: 马铃薯; 组培苗; PEG-8000; 干旱胁迫; 叶绿素; 类胡萝卜素

Effects of PEG-8000 Stress on Contents of Chlorophyll and Carotenoid of Potato Plantlets *in vitro*

YANG Xizhen, YANG Li, QIN Ya, LIU Lei, YANG Huan, XIE Wan*

(Shigatse Institute of Agricultural Sciences, Shigatse, Tibet 857000, China)

Abstract: Six potato varieties (lines) were stressed by adding 5%, 10%, 15% and 20% (W/V) of PEG-8000 to Murashige-Skoog solid medium, respectively, with no PEG-8000 addition as control to study the effects of simulated drought on chlorophyll content and carotenoid content. After cultured for 50 days, the contents of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids of potato plantlets *in vitro* were measured. The results showed that the contents of pigments in stems and leaves of potatoes varied with the concentration of 0-20% PEG-8000, and the pigments related indexes of colorful potato varieties were more sensitive to drought stress than those of conventional varieties. Under drought stress, carotenoid was more sensitive than chlorophyll and chlorophyll a was more sensitive than chlorophyll b. The chlorophyll b/a value was more stable than other indicators in response to PEG-8000. The contents of chlorophyll-a, chlorophyll-b, the total chlorophyll and carotenoid were decreased in mild drought stress, but increased in medium drought stress. Colorful varieties accumulated more chlorophyll and carotenoid than conventional varieties in medium drought stress. Therefore, it is not appropriate to use pigment index alone to evaluate drought resistance. The drought-induced pigment changes from strong

收稿日期: 2018-03-18

基金项目: 西藏自治区自然科学基金项目(2014ZR-33)。

作者简介: 杨喜珍(1986-), 女, 助理研究员, 从事马铃薯育种及土壤改良技术研究。

*通信作者(Corresponding author): 谢婉, 副研究员, 从事马铃薯遗传育种及高原资源植物利用研究, E-mail: hulixw@163.com。

to weak in the six potato varieties (lines) were as the followings: 'D613' > 'Dongnong 303' > '200902' > 'Weishu 1' > 'Chunshu 2' > 'Qingshu 9'.

Key Words: potato; plantlet *in vitro*; PEG-8000; drought stress; chlorophyll; carotenoid

光合作用可以为植物提供生长及发育所需要的各种有机物质, 在植物的生长和发育过程中起着重要作用^[1]。作物体内叶绿素含量的高低是直接反映其光合能力的重要指标之一, 叶绿素的含量对光合速率和光合产物的形成有着直接影响, 最终影响作物产量和品质的提高^[2,3]。类胡萝卜素是植物体中重要的抗氧化物质, 在减轻和消除由于干旱等逆境引发的活性氧伤害方面直接发挥作用, 同时通过逆境激素 ABA 间接在植物抗旱中发挥作用^[4]。水分亏缺对光合系统的影响十分复杂, 不仅影响叶绿素合成, 也影响光合器官结构及光电子传递系统^[5]。国内外学者对于干旱胁迫下不同植物叶绿素和类胡萝卜素含量的变化进行了大量研究^[6-10]。

马铃薯是中国第四大粮食作物, 对水分的亏缺非常敏感^[11], 干旱是马铃薯生产的重要限制因素^[12], 因而国内外学者在马铃薯抗旱育种和抗旱栽培方面进行了广泛研究^[11-13]。马铃薯块茎产量形成依赖于叶片的光合作用, 水分亏缺可减少功能叶面积和光合速率, 缩短植株绿色体的持续期, 叶绿素含量随干旱胁迫时间的延长而降低, 叶绿素荧光下降, 光合作用降低, 从而造成马铃薯减产^[5]。本试验采用不同浓度聚乙二醇(PEG-8000)模拟干旱胁迫, 研究不同马铃薯品种(系)组培苗叶绿素和类胡萝卜素含量的变化, 旨在阐明马铃薯组培苗不同强度干旱胁迫下幼苗光合色素的变化特点, 为马铃薯抗旱机制的研

究及抗旱品种筛选提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2015年8~12月在西藏自治区马铃薯工程研究中心完成。

供试马铃薯品种(系)为‘渭薯1号’、‘东农303’、‘青薯9号’、‘春薯2号’、‘D613’、‘200902’共6个品种(系)的脱毒组培苗。其中‘D613’为中国农业科学院蔬菜花卉研究所提供的彩色马铃薯高代品系, ‘200902’为西藏自治区薯类脱毒中心提供的系统选育品系。‘青薯9号’抗旱性较强^[14-16], 而‘东农303’抗旱性较弱^[17,18]。其他品种(系)的抗旱性不确定。各品种生育特性见表1。

PEG-8000 购于 Amresco 公司, 化学式为 $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$, $n = 108\sim 125$, 纯度99.9%。

1.2 试验方法

1.2.1 PEG培养基制作

参考邓珍等^[19]的方法, 配制0%、5%、10%、15%、20%(W/V)的PEG溶液(含2 mmol/L MES缓冲液), pH调至 5.8 ± 1 , 高压灭菌。之后等体积倒入已灭菌凝固的MS培养基(琼脂7 g/L、蔗糖30 g/L)中, 平衡72 h后, 在无菌工作台上把上层液体从培养瓶中倒掉。所得的固体培养基即为含PEG固体培养基。其中0处理不添加PEG, 设为对照。

表1 品种(系)特性介绍
Table 1 Characteristics of varieties (lines)

品种(系) Variety (line)	生育期(d) Growth duration	块茎性状 Tuber character
渭薯1号 Weishu 1	114	黄皮黄肉
东农303 Dongnong 303	80	黄皮黄肉
青薯9号 Qingshu 9	128	红皮黄肉
200902	97	红皮黄肉
D613	103	玫红皮粉红肉
春薯2号 Chunshu 2	87	黄皮白肉

1.2.2 试验处理

将在常规培养基中预培养长势一致的马铃薯脱毒苗, 按单节茎段剪切到 PEG 培养基中进行培养。每瓶接入 12 个茎段, 每个处理 80 瓶。培养瓶直径 0.65 cm, 内装 40 mL 培养基。培养温度 $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光强 3 000 lx, 每天光照 16 h。培养 50 d 后测定各指标, 每个品种(系)每次取 3 个重复, 每个重复 3 瓶。

1.2.3 叶绿素及类胡萝卜素含量测定

取新鲜干净试验材料, 剪碎称取 0.1 g, 加入少量石英砂和微量 CaCO_3 , 加入 2~3 mL 无水乙醇研磨成匀浆, 再加入 10 mL 无水乙醇研磨至组织变成白色, 静置 3~5 min。滤纸和漏斗用无水乙醇湿润后, 将提取液过滤到 25 mL 棕色容量瓶里, 用无水乙醇反复冲洗研钵和漏斗, 定容到刻度线^[20]。使用 UV-5800 型紫外可见分光光度计测定 665, 649 和 470 nm 的 OD 值, 空白组为无水乙醇溶液。

结果计算:

$$\text{Ca} = 13.95 \times \text{OD}_{665} - 6.88 \times \text{OD}_{649}$$

$$\text{Cb} = 24.96 \times \text{OD}_{649} - 7.32 \times \text{OD}_{665}$$

$$\text{Ct} = \text{Ca} + \text{Cb}$$

$$\text{Ch} = (1\,000 \times \text{OD}_{470} - 2.05\text{Ca} - 114.8\text{Cb})/245$$

叶绿素含量 = [色素浓度(C) × 提取液体积 × 稀释倍数]/样品鲜重(或干重)

式中: Ca 为叶绿素 a 浓度; Cb 为叶绿素 b 浓度;

Ct 为总叶绿素浓度; Ch 为类胡萝卜素浓度。

1.2.4 数据分析

数据统计和作图采用 Excel 2013 进行。方差分析、邓肯氏多重比较和因子分析采用 SPSS 20。采用平均隶属函数法进行综合分析。

隶属函数值公式为: $U_i = (X_i - X_{i\min}) / (X_{i\max} - X_{i\min})$

式中: U_i 为第 i 个指标的隶属函数值; X_i 为第 i 个指标的原始数据; $X_{i\max}$ 和 $X_{i\min}$ 为样品组中第 i 个指标的最大值与最小值^[21]。

$$\text{相对指标} = (\text{处理指标} / \text{对照指标}) \times 100\%^{[19]}$$

2 结果与分析

2.1 不同浓度 PEG 胁迫对马铃薯试管苗叶绿素 a 含量的影响

由表 2 看出, ‘D613’ 叶绿素 a 含量随 PEG 浓度升高而升高, 分析 ‘D613’ 以外的其他品种(系), 在 5% PEG 胁迫下, 各品种(系)叶绿素 a 含量均较对照低, ‘东农 303’ 降低幅度最大。在 10% PEG 胁迫下, ‘东农 303’ 和 ‘200902’ 叶绿素 a 含量继续降低, 而 ‘渭薯 1 号’、‘青薯 9 号’ 和 ‘春薯 2 号’ 叶绿素 a 含量回升。在 15% PEG 胁迫下, 各品种(系)叶绿素 a 含量均较 10% PEG 胁迫下升高, 其中 ‘渭薯 1 号’、‘D613’、‘青薯 9 号’ 和 ‘春薯 2 号’ 的叶绿素 a 含量超过对照。20% PEG 胁迫下, ‘200902’ 和 ‘春薯 2 号’

表 2 不同浓度 PEG 胁迫下马铃薯试管苗叶绿素 a 含量(mg/g FW)

Table 2 Chlorophyll-a contents of potato plantlets *in vitro* under different PEG concentrations

PEG 浓度 PEG concentration	渭薯 1 号 Weishu 1	东农 303 Dongnong 303	青薯 9 号 Qingshu 9	200902	D613	春薯 2 号 Chunshu 2
0(CK)	0.62 ± 0.10 ab	1.18 ± 0.23 a	0.77 ± 0.07 bc	0.82 ± 0.23 a	0.56 ± 0.35 b	0.74 ± 0.20 a
5%	0.44 ± 0.16 b	0.56 ± 0.18 b	0.66 ± 0.04 c	0.71 ± 0.16 a	0.57 ± 0.16 b	0.62 ± 0.07 a
10%	0.58 ± 0.13 ab	0.55 ± 0.06 b	0.83 ± 0.09 bc	0.50 ± 0.23 a	0.70 ± 0.12 b	0.64 ± 0.16 a
15%	0.65 ± 0.28 ab	0.62 ± 0.04 b	0.90 ± 0.21 ab	0.69 ± 0.23 a	0.93 ± 0.10 ab	0.76 ± 0.06 a
20%	0.97 ± 0.21 a	0.78 ± 0.14 b	1.05 ± 0.0 a	0.64 ± 0.23 a	1.14 ± 0.18 a	0.72 ± 0.16 a
均值 Mean	0.67	0.74	0.82	0.67	0.78	0.70
标准差 SD	0.24	0.27	0.15	0.21	0.29	0.13
变异系数(%) CV	35.71	36.99	18.80	31.92	37.08	19.05

注: 表中平均值后数据是标准差, 同列不同小写字母表示处理平均数差异显著($P < 0.05$)。下同。

Note: Data after average value is standard deviation. Means with different small letter(s) in the same column mean significant difference ($P < 0.05$). The same below.

的叶绿素a含量较15%PEG胁迫下略降低,其他品种持续升高,其中‘D613’、‘渭薯1号’和‘青薯9号’叶绿素a含量超过对照,分别是对照的2.05、1.55和1.37倍。变异系数最大的为‘D613’,其次是‘东农303’,最小为‘青薯9号’。

2.2 不同浓度PEG胁迫对马铃薯试管苗叶绿素b含量的影响

由表3看出,除‘D613’叶绿素b鲜样含量随PEG浓度升高而升高,其他品种(系)均表现为先降低后升高的趋势。分析‘D613’以外的其他品种(系),在5%PEG胁迫下,各品种(系)叶绿素b含量均低于对照,‘东农303’降低幅度最大,其次是‘渭薯1号’。在10%PEG胁迫下,‘东农303’和‘200902’

叶绿素b含量继续降低,而‘渭薯1号’、‘青薯9号’和‘春薯2号’叶绿素b含量回升。在15%PEG胁迫下,各品种(系)叶绿素b含量均较10%PEG胁迫下升高,其中‘渭薯1号’、‘青薯9号’的叶绿素b含量超过对照。20%PEG胁迫下,‘200902’和‘春薯2号’的叶绿素b含量较15%PEG胁迫下略降低,其他品种持续升高,其中‘渭薯1号’和‘青薯9号’叶绿素b含量超过对照。

2.3 不同浓度PEG胁迫对马铃薯试管苗类胡萝卜素含量的影响

由表4看出,除‘D613’类胡萝卜素含量随PEG浓度升高而升高,其他品种(系)均表现为先降低后升高的趋势。分析‘D613’以外的其他品种(系),在

表3 不同浓度PEG胁迫下马铃薯试管苗叶绿素b含量(mg/g FW)

Table 3 Chlorophyll-b contents of potato plantlets *in vitro* under different PEG concentrations

PEG 浓度 PEG concentration	渭薯1号 Weishu 1	东农303 Dongnong 303	青薯9号 Qingshu 9	200902	D613	春薯2号 Chunshu 2
0(CK)	0.17 ± 0.03 ab	0.31 ± 0.06 a	0.21 ± 0.02 bc	0.23 ± 0.07 a	0.15 ± 0.09 c	0.20 ± 0.07 a
5%	0.12 ± 0.05 b	0.17 ± 0.04 b	0.17 ± 0.00 c	0.21 ± 0.03 a	0.15 ± 0.04 c	0.17 ± 0.02 a
10%	0.17 ± 0.06 ab	0.16 ± 0.04 b	0.26 ± 0.02 ab	0.16 ± 0.09 a	0.20 ± 0.03 bc	0.17 ± 0.05 a
15%	0.19 ± 0.08 ab	0.22 ± 0.04 ab	0.26 ± 0.09 ab	0.19 ± 0.09 a	0.26 ± 0.02 ab	0.20 ± 0.03 a
20%	0.28 ± 0.07 a	0.24 ± 0.05 ab	0.32 ± 0.01 a	0.17 ± 0.05 a	0.31 ± 0.07 a	0.19 ± 0.06 a
均值 Mean	0.19	0.22	0.24	0.19	0.21	0.18
标准差 SD	0.07	0.07	0.06	0.07	0.08	0.04
变异系数(%) CV	38.30	30.19	23.91	34.68	37.66	24.06

表4 不同浓度PEG胁迫下马铃薯试管苗类胡萝卜素含量(mg/g FW)

Table 4 Carotenoid contents of potato plantlets *in vitro* under different PEG concentrations

PEG 浓度 PEG concentration	渭薯1号 Weishu 1	东农303 Dongnong 303	青薯9号 Qingshu 9	200902	D613	春薯2号 Chunshu 2
0(CK)	0.04 ± 0.01 ab	0.02 ± 0.01 b	0.05 ± 0.01 bc	0.06 ± 0.02 a	0.02 ± 0.02 c	0.06 ± 0.04 a
5%	0.02 ± 0.00 b	0.02 ± 0.00 b	0.05 ± 0.01 c	0.05 ± 0.01 a	0.03 ± 0.01 c	0.05 ± 0.02 a
10%	0.03 ± 0.02 ab	0.02 ± 0.00 b	0.06 ± 0.01 bc	0.05 ± 0.03 a	0.04 ± 0.01 bc	0.06 ± 0.02 a
15%	0.04 ± 0.02 ab	0.04 ± 0.00 a	0.09 ± 0.03 ab	0.07 ± 0.03 a	0.07 ± 0.01 b	0.06 ± 0.01 a
20%	0.06 ± 0.02 a	0.04 ± 0.00 a	0.10 ± 0.04 a	0.07 ± 0.04 a	0.12 ± 0.02 a	0.09 ± 0.04 a
均值 Mean	0.04	0.03	0.07	0.06	0.06	0.07
标准差 SD	0.02	0.01	0.03	0.03	0.04	0.03
变异系数(%) CV	52.56	33.44	39.45	45.15	67.05	40.92

5%PEG胁迫下,各品种(系)类胡萝卜素含量均低于对照,‘渭薯1号’降低幅度最大,其次是‘春薯2号’。在10%PEG胁迫下,各品种(系)较5%PEG胁迫下类胡萝卜素含量回升。在15%PEG胁迫下,除‘春薯2号’,其他各品种(系)类胡萝卜素含量均较10%PEG胁迫下升高且超过对照。20%PEG胁迫下,各品种(系)类胡萝卜素含量均超过对照,‘D613’的类胡萝卜素含量是对照的5.52倍,其次是‘青薯9号’,为对照的1.86倍,最低的是‘200902’,为对照的1.13倍。

2.4 不同浓度PEG胁迫对马铃薯试管苗总叶绿素含量的影响

由表5看出,除‘D613’总叶绿素含量随PEG浓度升高而升高,其他品种(系)均表现为先降低后升

高的趋势。分析‘D613’以外的其他品种(系),在5%PEG胁迫下,各品种(系)总叶绿素含量均低于对照,‘东农303’降低幅度最大,其次是‘渭薯1号’。在10%PEG胁迫下,‘东农303’和‘200902’总叶绿素含量继续降低,而‘渭薯1号’、‘青薯9号’和‘春薯2号’总叶绿素含量回升。在15%PEG胁迫下,各品种(系)总叶绿素含量均较10%PEG胁迫下升高,且‘渭薯1号’、‘青薯9号’和‘春薯2号’超过对照。20%PEG胁迫下,‘渭薯1号’和‘青薯9号’总叶绿素含量超过对照。

2.5 不同浓度PEG胁迫对马铃薯试管苗胡萝卜素/总叶绿素比值的影响

由表6看出,胡萝卜素/总叶绿素的比值变化趋

表5 不同浓度PEG胁迫下马铃薯试管苗总叶绿素含量(mg/g FW)
Table 5 Total chlorophyll contents of potato plantlets *in vitro* under different PEG concentrations

PEG 浓度 PEG concentration	渭薯1号 Weishu 1	东农303 Dongnong 303	青薯9号 Qingshu 9	200902	D613	春薯2号 Chunshu 2
0(CK)	0.79 ± 0.12 ab	1.49 ± 0.29 a	0.98 ± 0.08 bc	1.05 ± 0.30 a	0.70 ± 0.44 b	0.94 ± 0.27 a
5%	0.55 ± 0.20 b	0.72 ± 0.21 b	0.83 ± 0.04 c	0.92 ± 0.19 a	0.72 ± 0.19 b	0.79 ± 0.09 a
10%	0.75 ± 0.19 ab	0.72 ± 0.10 b	1.08 ± 0.11 bc	0.66 ± 0.33 a	0.90 ± 0.14 b	0.81 ± 0.20 a
15%	0.84 ± 0.36 ab	0.84 ± 0.08 b	1.16 ± 0.30 ab	0.87 ± 0.32 a	1.19 ± 0.12 ab	0.96 ± 0.09 a
20%	1.25 ± 0.28 a	1.02 ± 0.19 ab	1.37 ± 0.01 a	0.81 ± 0.29 a	1.45 ± 0.24 a	0.91 ± 0.23 a
均值 Mean	0.86	0.96	1.06	0.86	0.99	0.88
标准差 SD	0.31	0.34	0.21	0.28	0.37	0.18
变异系数(%) CV	36.20	35.11	19.75	32.27	37.10	19.93

表6 不同浓度PEG胁迫下马铃薯试管苗类胡萝卜素/总叶绿素
Table 6 Carotenoid/total chlorophyll of potato plantlets *in vitro* under different PEG concentrations

PEG 浓度 PEG concentration	渭薯1号 Weishu 1	东农303 Dongnong 303	青薯9号 Qingshu 9	200902	D613	春薯2号 Chunshu 2
0(CK)	0.044 ± 0.007 ab	0.021 ± 0.009 b	0.056 ± 0.011 a	0.055 ± 0.006 a	0.030 ± 0.008 c	0.063 ± 0.025 a
5%	0.034 ± 0.009 b	0.032 ± 0.007 ab	0.054 ± 0.005 a	0.057 ± 0.005 a	0.042 ± 0.009 bc	0.069 ± 0.013 a
10%	0.038 ± 0.012 ab	0.030 ± 0.006 ab	0.055 ± 0.006 a	0.069 ± 0.017 a	0.050 ± 0.006 b	0.077 ± 0.015 a
15%	0.050 ± 0.005 a	0.045 ± 0.004 a	0.068 ± 0.020 a	0.081 ± 0.014 a	0.059 ± 0.010 b	0.061 ± 0.015 a
20%	0.050 ± 0.004 a	0.052 ± 0.021 a	0.068 ± 0.023 a	0.078 ± 0.026 a	0.093 ± 0.011 a	0.091 ± 0.027 a
均值 Mean	0.043	0.036	0.060	0.068	0.051	0.072
标准差 SD	0.010	0.015	0.014	0.017	0.022	0.020
变异系数(%) CV	22.21	40.82	23.59	25.41	42.51	27.76

势不一致, ‘D613’随PEG浓度升高而升高, ‘渭薯1号’和‘青薯9号’呈现出先降低后升高的趋势, ‘200902’呈现出先升高后略降低的趋势。在5%PEG下, ‘渭薯1号’和‘青薯9号’的比值分别是对照的0.75和0.97倍, 而‘东农303’的增幅最大, 是对照的1.50倍。在20%PEG下, ‘东农303’和‘D613’分别是对照的2.45和3.09倍, 而‘渭薯1号’和‘青薯9号’分别是对照的1.12和1.22倍。

2.6 不同浓度PEG胁迫对马铃薯试管苗叶绿素b/a的影响

由表7看出, 在0~20%PEG, 各品种(系)叶绿素b/a浓度的值变化略微呈先升高后降低的趋势, 与总叶绿素含量的变化趋势相反。对照处理中, ‘青薯9号’的比值最大, ‘D613’比值最小, 分别为0.280

和0.262。其中‘200902’的变异系数最大, 为12.47%, ‘D613’变异系数最小, 为5.74%。

2.7 马铃薯试管苗各生长指标在不同浓度PEG胁迫下变异分析

为筛选鉴定不同品种马铃薯组培苗对于干旱胁迫反应的最佳PEG浓度, 分析了不同浓度PEG下各指标在不同品种间的变异系数(表8)。各指标在不同PEG浓度下的变异系数不同, 叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素和类胡萝卜素/总叶绿素变异系数在对照下最大, 类胡萝卜素变异系数在5%PEG下最大, 为46.33%, 在15%PEG下最小。为综合考虑相同PEG浓度下各指标的变异性, 采用隶属函数法对各指标的变异系数进行转换, 分别计算各指标的隶属函数值, 比较平均隶属函数值, 值越大, 说明变异越大。

表7 不同浓度PEG胁迫下马铃薯试管苗叶绿素b/叶绿素a

Table 7 Chlorophyll-b/chlorophyll-a of potato plantlets *in vitro* under different PEG concentrations

PEG浓度 PEG concentration	渭薯1号 Weishu 1	东农303 Dongnong 303	青薯9号 Qingshu 9	200902	D613	春薯2号 Chunshu 2
0(CK)	0.272 ± 0.025 a	0.274 ± 0.017 a	0.280 ± 0.030 a	0.279 ± 0.015 a	0.262 ± 0.008 ab	0.263 ± 0.016 a
5%	0.285 ± 0.022 a	0.323 ± 0.042 a	0.265 ± 0.019 a	0.303 ± 0.025 a	0.272 ± 0.010 ab	0.267 ± 0.022 a
10%	0.293 ± 0.029 a	0.310 ± 0.035 a	0.310 ± 0.015 a	0.296 ± 0.061 a	0.285 ± 0.011 a	0.262 ± 0.035 a
15%	0.289 ± 0.014 a	0.336 ± 0.044 a	0.267 ± 0.035 a	0.267 ± 0.048 a	0.288 ± 0.015 a	0.264 ± 0.026 a
20%	0.285 ± 0.009 a	0.326 ± 0.032 a	0.296 ± 0.014 a	0.266 ± 0.014 a	0.258 ± 0.022 b	0.260 ± 0.030 a
均值 Mean	0.285	0.314	0.283	0.282	0.273	0.263
标准差 SD	0.019	0.037	0.027	0.035	0.016	0.023
变异系数(%) CV	6.72	11.86	9.54	12.47	5.74	8.61

表8 不同浓度PEG下品种间各指标的变异系数(%)

Table 8 Coefficients of variation under different PEG concentrations

指标 Index	0(CK)	5%	10%	15%	20%
叶绿素a Chlorophyll-a	27.92	16.16	18.58	17.29	22.54
叶绿素b Chlorophyll-b	27.41	18.18	20.08	15.02	24.69
类胡萝卜素 Carotenoid	42.52	46.33	36.73	32.61	35.85
总叶绿素 Total chlorophyll	27.79	16.44	18.75	16.31	22.87
类胡萝卜素/总叶绿素 Carotenoid/total chlorophyll	36.56	30.49	33.30	21.08	26.11
叶绿素b/a Chlorophyll-b/chlorophyll-a	2.82	8.00	6.10	9.59	9.40
平均隶属函数值 Average subordinate function value	0.787 05	0.439 90	0.400 15	0.182 68	0.571 24
排序 Ranking	1	3	4	5	2

综合表2~8的结果可以看出, 对照的变异系数最大, 说明在不含PEG的处理中, 不同品种由于遗传基础不同即使在完全相同的生长条件下生长也不一致; 在含有PEG的培养基中, 马铃薯组培苗受到干旱胁迫生长受到影响, 各生理指标发生变化, 20%PEG胁迫下的平均隶属函数值较5%、10%和15%PEG胁迫下的值高, 表明在20%PEG胁迫下品种之间测得的指标值差异较大。

通过各指标的变异系数比较, 发现类胡萝卜素、类胡萝卜素/总叶绿素的变异系数较大, 说明这2个指标对干旱较敏感, 而叶绿素b/a变异系数较小, 说明该指标在干旱胁迫下可以保持一定的稳定性。

2.8 马铃薯试管苗各生长指标在不同浓度PEG胁迫下变异分析

计算分析各品种(系)指标在不同浓度PEG间的变异系数的隶属函数值(表9), 在0~20%PEG浓度梯度不同, 各指标的变异系数的隶属函数值不同, 叶绿素a变异系数的隶属函数值‘D613’最大, ‘青薯9号’最小, 类胡萝卜素变异系数的隶属函数值‘D613’最大, ‘东农303’最小。采用平均隶属函数值法对各品种(系)的指标变异系数进行综合分析, 从结果可以看出, 变异系数的隶属函数值从大到小依次为‘D613’、‘东农303’、‘200902’、‘渭薯1号’、‘春薯2号’和‘青薯9号’。平均隶属函数值越大, 说明该品种(系)受胁迫影响导致的生理生长变化越大。

表9 不同品种(系)各指标变异系数的隶属函数值
Table 9 Subordinate function value of coefficients of variation under different PEG concentrations

指标 Index	渭薯1号 Weishu 1	东农303 Dongnong 303	青薯9号 Qingshu 9	200902	D613	春薯2号 Chunshu 2
叶绿素a Chlorophyll-a	0.925 05	0.995 08	0	0.717 72	1	0.013 68
叶绿素b Chlorophyll-b	1	0.436 41	0	0.748 44	0.955 52	0.010 42
类胡萝卜素 Carotenoid	0.568 88	0	0.178 82	0.348 41	1	0.222 55
总叶绿素 Total chlorophyll	0.948 13	0.885 30	0	0.721 61	1	0.010 37
类胡萝卜素/总叶绿素 Carotenoid/total chlorophyll	0	0.916 75	0.067 98	0.157 64	1	0.273 40
叶绿素b/a Chlorophyll-b/chlorophyll-a	0.145 62	0.909 36	0.564 64	1	0	0.426 45
平均隶属函数值 Average subordinate function value	0.597 95	0.690 48	0.135 24	0.615 64	0.825 92	0.159 48
排序 Ranking	4	2	6	3	1	5

3 讨 论

一般认为对水分胁迫敏感性高的品种总叶绿素含量变幅较大, 抗旱性差^[19]。聂华堂^[20]认为抗旱性越强的树种干旱胁迫下叶绿素含量降幅越小。冯淑华^[21]研究发现植物在水分胁迫时, 叶绿素含量增加。杨宁等^[22]研究高山离子芥试管苗幼苗发现, PEG胁迫下叶片总叶绿素含量呈现先升高后下降的趋势。抗艳红等^[23]利用PEG处理正常生长的马铃薯组培苗4 d后发现各处理单位面积上叶绿素含量随胁迫程度增加表现出下降的趋势, 随胁迫强度加大, 叶绿素含量又有所回升, 这与本研究的结果相似。本研究中

‘D613’叶绿素a含量、叶绿素b、总叶绿素含量随PEG浓度升高而升高, 其他品种(系)均表现为先降低后升高的趋势。马玉花等^[24]研究亦发现肋果沙棘(*Hippae neu-rocpa*)叶片叶绿素a、b及总叶绿素含量从对照到轻度胁迫有微量降低, 随着干旱胁迫程度的加剧, 总体均呈现上升趋势。分析原因可能是不同的植物抗旱机制不同, 叶绿素对干旱胁迫的反应不同, 彩色马铃薯植株的叶绿素含量对干旱的反应与常规品种不一样。常规马铃薯品种叶绿素出现先降低后升高的趋势, 其中抗旱性强的品种在低强度干旱胁迫下叶绿素含量降幅小, 在高强度干旱胁迫下叶绿素含量增幅大。分析原因可能是轻度干旱

胁迫下胁迫减弱叶片叶绿素的生物合成过程,同时加速叶绿素分解,使叶绿素含量有减小的趋势。随着干旱胁迫强度加大,时间延长,植株叶片含水率降低,叶片组织液浓缩而使叶片单位面积叶绿素的浓度增加。张丽莉等^[25]研究发现,干旱胁迫后马铃薯组培苗叶绿体变形甚至解体。可以推测,植株在轻度或短暂的干旱胁迫下由于叶绿素合成的减缓及叶绿素的解体会直接造成叶绿素含量降低,随着干旱胁迫的加重及干旱时间的延长,植株通过自身调节机制,如叶片含水量的降低,叶片组织液浓缩,甚至是反馈性的提高叶绿素合成速率,以提高单位面积的叶绿素含量,减缓单位面积光合速率降低的速度,从而维持机体生长所需要的能量合成。实际生产中,作物在受到一定程度的干旱胁迫后亦有表现出叶色更绿更暗的现象。而随着胁迫强度的进一步提高,在20%PEG下,‘春薯2号’和‘200902’的叶绿素a、b及总叶绿素含量又出现下降,分析原因,可能是该品种的抗旱体系受到更程度的伤害,通过提高单位面积的叶绿素含量减缓单位面积光合速率降低速度的机制已经被破坏。推测随着胁迫时间的延长,或者PEG浓度的更高,其他品种的叶绿素含量也会出现降低的现象。文爱华等^[8]自然失水胁迫处理米槁(*Cinnamomum migao* H. W. Li)22 d发现随着胁迫时间的增加,叶绿素a、b含量呈先降低后升高再降低的趋势。

本试验中,类胡萝卜素含量除‘D613’随PEG浓度升高而升高,其他品种(系)均表现为先降低后升高的趋势。其趋势与叶绿素含量变化较接近,但其相对降幅和相对增幅都较叶绿素大,说明类胡萝卜素含量对干旱胁迫的反应比叶绿素更敏感。常规品种类胡萝卜素出现先降低后升高的趋势,其中抗旱性强的品种在低强度干旱胁迫下含量降幅小,在高强度干旱胁迫下含量增幅大。分析原因可能是轻度干旱胁迫下胁迫减弱叶片类胡萝卜素的生物合成过程,使类胡萝卜素含量有减小的趋势,随着干旱胁迫强度加大,时间延长,植株叶片含水率降低,叶片组织液浓缩,同时诱导了类胡萝卜素相关基因的表达而使叶片单位面积类胡萝卜素的浓度增加。文爱华等^[8]研究亦发现米槁的类胡萝卜素含量随干旱胁迫时间的增加先下降后上升。有研究证明干旱胁迫

下马铃薯 β -胡萝卜素羟化酶1基因表达增加,推测干旱会诱导类胡萝卜素的合成^[26]。

张明生和谈锋^[27]提出叶绿素a/b比值可以判断植物的抗旱能力。张武^[28]研究认为干旱地区马铃薯叶片中叶绿素b/a比值与品种抗旱性呈极显著正相关,比值越大品种抗旱性越强。本试验中各品种(系)对照间的叶绿素b/a值差异不大,是否与抗旱性相关有待进一步考证。各品种(系)叶绿素b/a值在不同PEG处理间的变异系数较其他指标的变异系数小,说明该指标较其他指标在干旱下更稳定。黄承建等^[29]研究亦发现苧麻受长时间严重干旱胁迫对叶绿素a/b值影响很小。牟筱玲和鲍啸^[30]在对棉花的研究中亦发现叶绿素a/b比值基本不变。在本研究中,b/a值变化略微呈先升高后降低的趋势,与总叶绿素含量的变化趋势相反,总叶绿素先降低后升高,说明在总叶绿素含量降低的过程中,叶绿素a浓度降低更快,而在总叶绿素含量升高的过程中,叶绿素a升高的速度更快,表明叶绿素a比叶绿素b对干旱的反应更为敏感。这与马玉花等^[24]研究发现肋果沙棘叶片在严重干旱下叶绿素a相对叶绿素b变化更大的结果相一致。

本研究中类胡萝卜素/总叶绿素值的比值整体有升高的趋势,这与许丽颖^[31]对李树的研究结果一致。抗旱性越强的品种,比值越稳定,抗旱性越弱的品种,受干旱胁迫比值升高越高。分析原因为抗旱性越强的品种,叶绿素较类胡萝卜素的含量稳定,在轻度干旱胁迫下,2种色素的含量降幅越小,其中类胡萝卜素比叶绿素含量下降更快,所以比值降低,而在中度干旱胁迫下,叶绿素和类胡萝卜素含量上升,类胡萝卜素含量上升更快,所以比值升高。而抗旱性越弱的品种,轻度干旱胁迫下,2种色素的含量受影响,降幅越大,其中类胡萝卜素较叶绿素下降慢,所以比值升高,在中度胁迫下,叶绿素和类胡萝卜素含量上升,类胡萝卜素含量上升更快,所以比值持续升高。在色素含量上升过程中,抗旱性强的品种比值较稳定,而抗旱性差的品种该比值升高幅度大,推测原因可能是抗旱性差的品种较抗旱性强的品种中叶绿素含量增高的速度比类胡萝卜素增高的速度更慢。

邓珍等^[19]研究认为,固体培养下15%PEG-8000

浓度下品种间差异最大,是鉴定马铃薯品种组培苗对干旱胁迫反应的最佳浓度。李志燕^[32]认为,固体培养条件下8%PEG-6000浓度为鉴定和评价不同马铃薯品种之间耐旱性强弱的最佳浓度。王谧^[14]研究认为,浓度为5%PEG-6000下马铃薯生长指标变化达到显著差异。本研究结果为固体培养下20%PEG-8000胁迫下培养40 d能更好地反应马铃薯组培苗受PEG模拟干旱胁迫后各品种之间叶绿素和类胡萝卜素含量变化的差异。

不同品种受干旱影响后各指标的变异系数不同,可能与不同品种抗旱机制不同有关。‘D613’在干旱条件下会积累更多的叶绿素和类胡萝卜素,类胡萝卜素的积累比叶绿素更多,或许在干旱胁迫下,彩色品种利用增加色素来应对逆境的机制更发达,而常规品种其他抗旱机制更发达。其他各品种(系)的叶绿素和类胡萝卜素含量在低浓度PEG胁迫下有轻度的下降趋势,而‘D613’并没有体现,推测是彩色品种色素含量变化对干旱更敏感,在极轻度的干旱胁迫下就会使色素含量降低,随之诱导了色素的加速合成,这个极轻度的干旱胁迫或许比5%PEG更低,未在本试验设置范围内。本研究中各品种(系)在受干旱胁迫时所导致的叶绿素和类胡萝卜素相关指标变化程度与抗旱综合评价的结果并不完全一致,彩色品种‘D613’的变化最大,抗旱综合评价其抗旱性最强,而其他常规品种(系)结果相反,整体呈现出抗旱性强的品种受干旱导致的指标变化程度小,而抗旱性弱的品种受影响大,所以对彩色马铃薯和常规马铃薯进行抗旱评价时如果单采用色素指标,并不能全面综合反映出植株的抗旱性。

马铃薯干旱胁迫下生理变化过程复杂,并且随着胁迫强度和胁迫时间的变化而有所不同,因此无法简单的用某一项或者几项生理值的变化作为抗旱性鉴定的指标。因此,今后抗旱鉴定工作的重点应从分子水平上阐明马铃薯抗旱机制,选用正确的综合性抗旱评价方法,提高马铃薯抗旱性鉴定的科学性和准确性。

[参 考 文 献]

[1] 孙洪助,林春波,孙文华,等.光质对作物光合作用影响的研究

进展[J].安徽农业科学,2015,43(23):14-16.

- [2] 胡恒觉,黄高宝.新型多熟种植研究[M].兰州:甘肃科学技术出版社,1999:49-210.
- [3] 由继红,陆静梅.钙对低温胁迫下小麦幼苗光合作用及相关生理指标的影响[J].作物学报,2002,28(5):693-696.
- [4] 白志英,李存东,孙红春,等.干旱胁迫对小麦叶片叶绿素和类胡萝卜素含量的影响及染色体调控[J].华北农学报,2009,24(1):1-6.
- [5] 谢婉,郑维列.马铃薯抗旱评价指标及方法[J].西藏农业科技,2015,37(4):27-35.
- [6] 代英超,徐奎源.珍稀濒危植物莖叶紫金牛对持续干旱的生理响应[J].生态学报,2015,35(9):2954-2959.
- [7] 吴顺,张雪芹,蔡燕.干旱胁迫对黄瓜幼苗叶绿素含量和光合特性的影响[J].中国农学通报,2014,30(1):133-137.
- [8] 文爱华,刘济明,高攀,等.自然干旱胁迫对米槁幼苗叶片显微结构及叶绿素含量的影响[J].北方园艺,2015(14):62-66.
- [9] 刘玉英,易红华,徐泽.干旱胁迫对不同茶树品种叶绿素含量的影响[J].南方农业,2007,1(1):68-70.
- [10] 牟筱玲,鲍啸.土壤水分胁迫对棉花叶片水分状况及光合作用的影响[J].中国棉花,2003,3(9):9-10.
- [11] 白雅梅.马铃薯的需水特性及水分胁迫对其生理特性的影响[J].马铃薯杂志,1999,13(2):117-120.
- [12] 何华,陈国良,赵世伟.水肥配合对马铃薯水分利用效率的影响[J].干旱地区农业研究,1999,17(2):59-66.
- [13] Gopal J, Iwama K. *In vitro* screening of potato against water-stress mediated through sorbitol and polyethylene glycol [J]. Plant Cell Reports, 2007, 26(5): 693-700.
- [14] 王谧.马铃薯抗旱指标研究及抗旱性鉴定[D].西宁:青海大学,2014.
- [15] 李亚杰.不同马铃薯品种根系提水能力与抗旱性研究[D].兰州:甘肃农业大学,2013.
- [16] 王舰,蒋福祯,周云,等.优质抗旱马铃薯新品种青薯9号选育及栽培要点[J].农业科技通讯,2009(2):89-90.
- [17] 李建武,王蒂.水分胁迫对马铃薯试管苗抗氧化酶活性的影响[J].北方园艺,2008(1):7-9.
- [18] 徐建飞,刘杰,卞春松,等.马铃薯资源抗旱性鉴定和筛选[J].中国马铃薯,2011,25(1):1-6.
- [19] 邓珍,徐建飞,段绍光,等.PEG-8000模拟干旱胁迫对11个马铃薯品种的组培苗生长指标的影响[J].华北农学报,2014(5):99-106.

- [20] 聂华堂. 芒果叶片抗旱性鉴定初步研究 [J]. 热带作物研究, 1993 (4): 56-59.
- [21] 冯淑华. 三叶草对于干旱胁迫的反应及适应性研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012.
- [22] 杨宁, 王程亮, 李宜珅, 等. 高山离子芥试管苗在 PEG-6000 模拟干旱条件下的生理响应 [J]. 广西植物, 2015, 35(1): 77-83.
- [23] 抗艳红, 龚学臣, 田再民, 等. 聚乙二醇处理马铃薯脱毒试管苗的生理反应 [J]. 江苏农业科学, 2011, 39(2): 162-164.
- [24] 马玉花, 高英, 周至远, 等. 干旱胁迫对肋果沙棘幼苗生理指标及膜特性的影响 [J]. 青海大学学报: 自然科学版, 2013, 31(2): 1-5.
- [25] 张丽莉, 王庆祥, 石瑛, 等. 干旱胁迫对马铃薯叶肉和茎部细胞超微结构的影响 [J]. 沈阳农业大学学报, 2015, 46(1): 91-95.
- [26] 范敏, 金黎平, 黄三文, 等. 干旱胁迫对马铃薯类黄酮和类胡萝卜素合成关键酶基因表达的影响 [J]. 园艺学报, 2008, 35(4): 535-542.
- [27] 张明生, 谈锋. 甘薯可溶性蛋白、叶素素及 ATP 含量变化与品种抗旱性关系的研究 [J]. 中国农业科学, 2003, 36(1): 13-16.
- [28] 张武. 马铃薯叶绿素含量、CAT 活性与品种抗旱性关系的研究 [J]. 农业现代化研究, 2007, 28(5): 622-624.
- [29] 黄承建, 赵思毅, 王龙昌, 等. 干旱胁迫对苧麻叶绿素含量的影响 [J]. 中国麻业科学, 2012, 23(4): 208-212.
- [30] 牟筱玲, 鲍啸. 土壤水分胁迫对棉花叶片水分状况及光合作用的影响 [J]. 中国棉花, 2003, 3(9): 9-10.
- [31] 许丽颖. 干旱胁迫与遮荫对李树不同品种叶片色素形成的影响 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2007.
- [32] 李志燕. PEG-6000 胁迫下马铃薯耐旱指标的筛选 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2015.



大庆金辉农业科技开发有限公司

金辉农业

大庆金辉农业科技开发有限公司成立于2012年3月15日, 是一家以农业科技开发、农业机械设备、化肥研发与销售、农业技术推广及技术咨询为经营项目的民营企业, 公司总部位于大庆国家级高新技术产业开发区。公司以服务三农为宗旨, 以质量和诚信求生存, 以科技创新求发展, 以广交天下朋友为理念, 以农民增收为己任, 始终以从事农业生产者的市场需求为导向, 以解决生产中出现的实际问题为立足之本。公司本着“节约就是增效”的观念, 针对马铃薯生产中存在的实际问题, 提出了从播种到收获的全程高效低成本技术方案。重点技术方案有盐碱地种植解决方案; 防治早(晚)疫病、炭疽病、黑痣病等高效、低成本防病方案。除草剂药害(前茬、封闭及苗后除草剂使用不当引起的药害)的专用方案; 合理施肥技术方案。主要推广的技术有“药肥一体化”防病技术、“水肥一体化”施肥技术、“全程立体化”平衡施肥技术。主要产品有“信丰圆”马铃薯大、中微量元素水溶肥, 有机生物肥, 专用氮钾追肥; “金辉壮秧”“金辉促根”“农福保”等水肥一体化专用肥; “曙卫士”微生物拌种剂; “薯飘香”“施保宁”“薯留香”等专用叶面肥; “薯平安”解药害专用产品; “金绒一号”盐碱地专用肥以及马铃薯专用杀菌剂等系列产品。可为初次进入马铃薯领域的广大种植户们提供全程技术指导服务。

微信公众号: 大庆金辉农业科技开发有限公司

网址: www.dqjhny.com

联系电话: 0459-6280535

邮箱: dqjhny@163.com

