



低温处理不同恢复时间高粱幼苗渗透调节相关指标的变化

刘巾瑞^{1,2}, 迟宇新¹, 林俊俊¹, 董洁静¹, 朱广石², 赵长江¹, 聂鑫¹

(1. 黑龙江八一农垦大学 农学院/黑龙江省寒地作物现代栽培及种质改良重点实验室/黑龙江省秸秆资源化利用工程技术研究中心, 黑龙江 大庆 163319; 2. 黑龙江省农垦科学院 作物研究所, 黑龙江 哈尔滨 150038)

摘要:为揭示低温对高粱幼苗生长的影响,以高粱龙杂 17 为研究对象,对三叶一心期高粱幼苗进行 5℃ 低温处理,分别于恢复 1、3、5 和 7 d 取样测定生理生化指标。结果表明:与未处理对照相比,除低温恢复 1 d 的高粱幼苗根冠比显著抑制外,其余处理均表现为显著增加;高粱幼苗的株高和地上鲜重变化在供试时间点均表现为显著抑制。供试时间点脯氨酸和可溶性糖含量基本都增加,其中恢复 1 和 3 d 的高粱幼苗脯氨酸含量显著增加,恢复 3 d 的高粱幼苗可溶性糖含量显著增加。高粱幼苗 TBARS 含量也在整个供试期增加,在恢复 3 和 5 d 显著增加;但过氧化氢含量变化不显著。上述结果表明,低温处理造成了生物膜不同程度的损伤,脯氨酸和可溶性糖等渗透调节在高粱幼苗耐冷的过程中发挥重要作用。

关键词:高粱;低温;渗透调节

高粱具有高产、耐瘠薄、耐旱和耐高温等特点,但是高粱作为喜温作物,在生育的不同时期遭遇冷害对高粱生长发育都有重大影响,高粱播种后遭遇低温常常使种子在土壤中“粉种”,或霉烂

导致萌发率、出苗率降低。而且,低温冷害是黑龙江省的主要气候灾害之一,常发生在 5、6 月的高粱萌发或幼苗生长期,所以高粱低温冷害已经成为影响高粱生产的重要因素之一。

马纯艳等^[1]对两个高粱后代选系耐低温生理生化进行分析,指出耐低温的选系 3853-1 叶片中 SOD 与 CAT 的活性、可溶性糖含量及游离脯氨酸的含量均高于低温敏感的后代选系 3801-2。史红梅等^[2]通过对高粱耐冷材料和冷敏材料进行了低温胁迫下脯氨酸含量分析,指出低温胁迫下脯氨酸的累积能力与品种的抗冷能力呈正相关。

收稿日期:2018-03-13

基金项目:中央引导地方科技发展专项资助项目(ZY 16A06);黑龙江农垦总局科技攻关资助项目(HNK135-02-05)。

第一作者简介:刘巾瑞(1993-),女,在读硕士,从事作物逆境生理方向研究。E-mail:445471830@qq.com。

通讯作者:赵长江(1979-),男,博士,副教授,从事作物逆境生理及秸秆炭化利用研究。E-mail:zhaocj15@126.com。

Effects of Tillage and Straw Returning on Microorganism and Enzyme Activity in Continuous Cropping Corn Field

XU Ying-ying, WANG Jun-he, LIU Yu-tao, WANG Yu-xian, GAO Pan, YANG Hui-ying, FAN Jing-sheng

(Qiqihar Branch, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences/Qiqihar Comprehensive Experiment Station of National Maize Industry System, Qiqihar 161006, China)

Abstract: In order to improve soil structure and improve soil bioactivity, we investigated the effects of different tillage and straw return methods (conventional rotary tillage without straw return, no tillage with straw mulching and deep plowing with straw return) on rhizosphere microbial quantity and enzyme activity by position test. The results showed that each treatment at seedling to silking stage, the rhizosphere microbial quantity and enzyme activity increased rapidly and reached the maximum value at silking stage, which decreased gradually after silking stage. Compared with rotary tillage without straw return, no tillage with straw mulching and deep plowing with straw return increased the microbial number and enzyme activity. And the effects of deep plowing with straw return was more significant, which suggested that effects of deep plowing with straw return on improving soil structure, increasing soil biological activity and promoting maize yield was better.

Keywords: tillage; straw returning to field; maize; rhizosphere microorganism; enzymatic activity

张海燕等^[3]研究指出用 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水杨酸(SA)溶液缓解或降低了低温胁迫伤害,对种子萌发、根系发育、幼苗生长有明显的促进作用,过高或过低浓度 SA 均对供试指标产生不同程度的抑制。

本研究通过对低温处理高粱在不同恢复时间生长和渗透相关生理生化指标的分析,揭示高粱响应低温胁迫的生理生化机制,为北方高粱高产栽培提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为高粱(*Sorghum bicolor*)杂交品种龙杂 17,黑龙江省农业科学院作物育种研究所培育。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验于 2016-2017 年在黑龙江省寒地作物现代栽培及种质改良重点实验室进行。选取大小一致、饱满、且无破损的高粱杂交品种龙杂 17。将种子用 10% 的次氯酸钠消毒 10 min,蒸馏水冲洗干净后浸种 72 h,播种于营养土(花卉土与蛭石按 1:1 混合)中,生长室培养(昼夜温度为 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}/20 \text{ }^{\circ}\text{C}$,光照 12 h)。培养 10 d 的高粱幼苗移到 $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 温室低温处理 3 d,分别在恢复 1、3、5 和 7 d 取样进行表型和指标测定,分别记为 R1、R3、R5、R7。低温处理为 LT、未处理对照记为 CK。

1.2.2 测定项目与方法 ①生长指标。每个处理分别取 9 株幼苗,测定株高和根长,以及地上部分和地下根部鲜重,比计算根冠比。

②硫代巴比妥酸反应物(TBARS)含量。参照 Hodges 等^[4]的方法测定 TBARS 含量。取 0.5 g 幼苗鲜样品,加入 5 mL 5% 的三氯乙酸(TCA)研磨成匀浆,于 $12\,000 \times g$ 离心 15 min,取 2 mL 上清液加入 2 mL 含 0.5% 硫代巴比妥酸(TBARS)的 20% TCA 溶液,沸水浴 15 min,上清液分别于 450、532、600 nm 处比色。

③相对电导率。相对电导率参照 Lutts 等^[5]的方法并改进。取 1 cm 胚芽,用去离子水洗净,放入试管中,加 10 mL 去离子水, $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 浸泡 24 h,用电导率仪测定各组浸出液电导率 A;然后将试管置于沸水中 20 min,再冷却至初始温度,测电导率 B,相对电导率(%) = $A/B \times 100$ 。

④过氧化氢含量。参照 Velikova 等^[6]的方

法测定 H_2O_2 。取 0.5 g 幼苗鲜样品,加入 5 mL 0.1% TCA 冰浴研磨, $12\,000 \times g$ 于 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min,取 1~2 mL 上清液加入 0.5 mL $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸钾缓冲液(pH7.0)及 1 mL 的 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 KI 于 390 nm 处比色,用 1 mL 0.1% TCA 代替上清液作为对照。

⑤脯氨酸及可溶性糖含量。参照 Bates 等^[7]方法测定游离脯氨酸,取 0.5 g 鲜样品,加入加 5 mL 3% 的磺基水杨酸溶液研磨,于 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取 2 mL 上清液加 2 mL 冰醋酸 2 mL 酸性茚三酮试剂,沸水浴 30 min,冷却后加入 4 mL 甲苯,上清液分别于 520 nm 比色。可溶性糖按照蒽酮比色法测定,取 0.5 g 鲜样品,加入 10 mL 蒸馏水,沸水浴 20 min,将上清液倒入 100 mL 容量瓶定容。取 1 mL 待测液加 5 mL 蒽酮(1 g 蒽酮溶于 1 L 的 80% 浓硫酸),煮沸 10 min,测定 620 nm 吸光值。

1.2.3 数据分析 采用 Excel 2003 对数据进行统计分析,采用 SPSS 19.0 做单因素方差分析,其中数据均为 3 或 3 次以上重复的平均值。

2 结果与分析

2.1 低温处理对高粱幼苗表型的影响

从表 1 可以看出,与未处理对照相比,低温处理 3 d 后恢复 1、3、5、7 d 的高粱幼苗的株高和地上鲜重变化趋势基本同步,即低温处理各恢复时间均发生显著抑制;根长和地下鲜重变化趋势不尽同步,其中地下根长从恢复 3 d 开始表现显著抑制,地下鲜重仅在恢复 7 d 表现显著抑制。从根冠比来看,低温处理 3 d 高粱幼苗,除恢复 1 d 显著抑制外,其余恢复时间均表现为显著增加。

2.2 低温对高粱幼苗脯氨酸含量的影响

如图 1 所示,与正常对照相比,低温处理 3 d 后分别恢复 1、3、5 和 7 d 的高粱幼苗脯氨酸含量变化不尽相同,其中恢复 1 和 3 d 的高粱幼苗脯氨酸含量显著增加,恢复 5 和 7 d 的高粱幼苗脯氨酸含量变化不显著。

2.3 低温对高粱幼苗可溶性糖含量的影响

如图 2 所示,与正常对照相比,低温处理 3 d 后分别恢复 1、3、5 和 7 d 的高粱幼苗可溶性糖含量变化不尽相同,恢复 1、3 和 5 d 的高粱幼苗可溶性糖含量增加,恢复 7 d 的高粱幼苗可溶性糖含量下降。其中,仅有恢复 3 d 的高粱幼苗可溶性糖含量显著增加。

表 1 低温处理不同恢复时间高粱幼苗生长指标

Table 1 Growth index of sorghum seedlings at different recovery times under low temperature treatment

处理 Treatment	株高/cm Plant height	根长/cm Root length	地上鲜重/g Shoot fresh weight	地下鲜重/g Root fresh weight	根冠比 Root-shoot ratio
CK1	16.44±1.80 c	12.63±1.39 d	0.12±0.03 bc	0.04±0.02 d	0.27±0.10 c
LT1	11.31±1.62 e	13.52±2.22 cd	0.07±0.02 e	0.04±0.02 cd	0.24±0.18 ab
CK3	16.70±1.47 c	15.29±1.85 bc	0.14±0.04 bc	0.04±0.02 d	0.26±0.10 c
LT3	13.80±1.30 d	13.16±1.19 d	0.09±0.02 de	0.04±0.02 cd	0.49±0.14 ab
CK5	18.59±0.83 b	17.43±3.10 a	0.15±0.02 b	0.05±0.01 cd	0.31±0.06 c
LT5	15.99±1.00 c	13.10±2.14 d	0.12±0.02 bc	0.07±0.03 ab	0.59±0.18 a
CK7	25.03±2.92 a	16.56±2.10 ab	0.19±0.04 a	0.09±0.03 a	0.46±0.10 b
LT7	15.98±1.79 c	14.22±1.37 cd	0.11±0.02 cd	0.06±0.02 bc	0.53±0.09 ab

不同小写字母代表 0.05 水平差异显著性,下同。
Different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level,the same below.

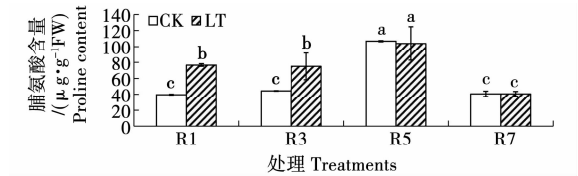


图 1 低温处理不同恢复时间高粱幼苗脯氨酸含量变化

Fig. 1 Changes of proline content in sorghum seedlings under low temperature treatment at different recovery times

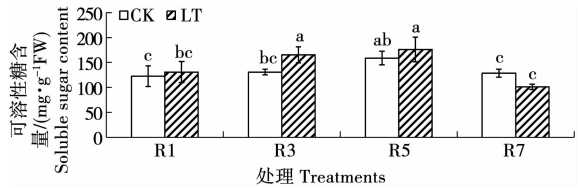


图 2 低温处理不同恢复时间高粱幼苗可溶性糖含量变化

Fig. 2 Changes of soluble sugar content in sorghum seedlings treated with low temperature for different recovery times

2.4 低温对高粱幼苗 TBARS 含量的影响

硫代巴比妥酸反应物(TBARS)是反映细胞膜损伤程度的重要指标。如图 3 所示,随着供试

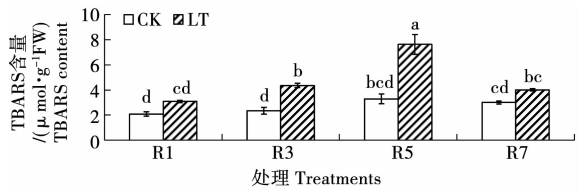


图 3 低温处理不同恢复时间高粱幼苗 TBARS 含量变化

Fig. 3 Changes of TBARS content in sorghum seedlings treated with low temperature for different recovery times

恢复时间的延长,与正常对照相比,低温处理 3 d 后分别恢复 1 d、3 d、5 d 和 7 d 的高粱幼苗丙二醛含量均不同程度增加,其中恢复 3 d(LT3)和 5 d(LT5)高粱幼苗丙二醛的含量较同期生长对照显著增加。

2.5 低温对高粱幼苗相对电导率的影响

如图 4 所示,与正常对照相比,低温处理 3 d 后分别恢复 1 d、3 d、5 d 和 7 d 高粱幼苗相对电导率变化不尽相同,其中恢复 1 d 的高粱幼苗相对电导率增加,恢复 3 d 和 7 d 高粱幼苗电导率降低,但各恢复处理差异均不显著。

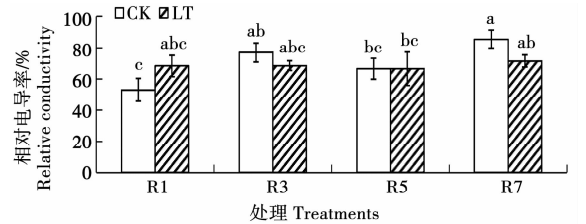


图 4 低温处理不同恢复时间高粱幼苗相对电导率的变化

Fig. 4 Changes of relative conductivity of sorghum seedlings under low temperature treatment at different recovery times

2.6 低温对高粱幼苗过氧化氢含量的影响

如图 5 所示,与正常对照相比,低温处理 3 d 后分别恢复 1 d、3 d、5 d 和 7 d 的高粱幼苗过氧化氢含量变化不尽相同,其中恢复 1 d 和 3 d 的高粱幼苗过氧化氢含量增加,恢复 5 d 和 7 d 的高粱幼苗过氧化氢含量降低,但变化都不显著。

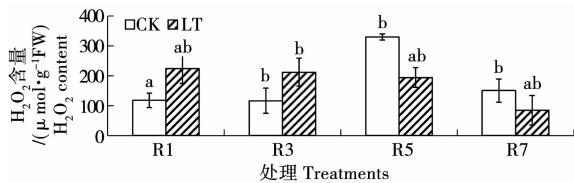


图5 低温处理不同恢复时间高粱幼苗过氧化氢含量变化

Fig. 5 Changes of hydrogen peroxide content in sorghum seedlings treated with low temperature for different recovery times

3 结论与讨论

与未处理对照相比,低温处理后恢复 1 d, 3 d, 5 d 和 7 d 的高粱幼苗的株高和地上鲜重变化趋势基本同步,表现为显著抑制,与恢复 1 d 和 3 d 的高粱幼苗脯氨酸含量显著增加,以及恢复 3 d 的高粱幼苗可溶性糖含量显著增加,而且供试期间高粱幼苗相对电导率变化不明显,表明渗透调节在高粱幼苗耐低温的过程中发挥重要作用。上述结论与马纯艳等^[1]和史红梅等^[2]前人研究基本一致。

另外,高粱幼苗 TBARS 含量整个恢复期均表现增加,且在恢复 3 d 和 5 d 显著增加,表明生物膜在不同恢复期均受到伤害;但是高粱幼苗过

氧化氢含量仅在恢复 1 和 3 d 增加,与生物膜的损伤不完全同步,表明造成生物膜的损伤的原因还可能与其它种类的活性氧。

参考文献:

- [1] 马纯艳,李玥莹,邹建秋,等.低温对高粱后代选系苗期生理生化的影响[J].沈阳农业大学学报,2006,37(2):147-150.
- [2] 史红梅,张桂香,张海燕,等.低温胁迫对高粱幼苗脯氨酸积累的影响[J].山西农业科学,2014,42(9):945-947
- [3] 张海燕,史红梅,杨彬,等.外源水杨酸对高粱耐冷性的影响[J].天津农业科学,2017,23(5):19-22.
- [4] Hodges D M, Delong J M, Forney C F, et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substance assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds [J]. *Planta*, 1999, 207: 604-611.
- [5] Lutts S, Kinet J M, Bouharmont J. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars differing in salinity resistance[J]. *Ann Bot*, 1996, 78:389-398.
- [6] Velikova V I, Edreva Y A, Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants-protective role of exogenous polyamines [J]. *Plant Sci*, 2000, 151: 59-66.
- [7] Bates L S, Waldren R P, Teare I D. Rapid determination of free proline for water-stress studies[J]. *Plant Soil*, 1973, 39:205-207.

Variations of Osmotic Adjustment-related Indexes in Different Recovery Time of Sorghum Seedlings Treated at Low Temperature

LIU Jin-rui^{1,2}, CHI Yu-xin¹, LIN Jun-jun¹, DONG Jie-jing¹, ZHU Guang-shi², ZHAO Chang-jiang¹, NIE Xin¹

(1. College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Modern Crops Cultivation and Germplasm Improvement, Heilongjiang Engineering Technology Research Center for Crop Straw Utilization, Daqing 163319, China; 2. Crops Institute of Heilongjiang Land Reclamation Academy of Sciences, Harbin 150038, China)

Abstract: In order to reveal the effects of low temperature on the growth of sorghum seedlings, the three-leaf with one new leaf sorghum Longza 17 seedlings were treated with low temperature at 5 °C, and they were restored and collected at 1, 3, 5 and 7 d, respectively. The indicators of growth and physiological and biochemical function were analyzed. The results showed that compared with the untreated controls, except for the root-shoot ratio of sorghum seedlings under 1 d recovered was significant suppression, the other treatments showed a significant increase; the plant height and fresh weight of above ground of sorghum seedlings were significantly inhibited at the time tested. The contents of proline and soluble sugar always increased. Among them, the proline content significantly increased at 1 and 3 d, and the content of soluble sugar significantly increased at 3 d. The contents of TBARS in sorghum seedlings also increased during the whole period tested, and significant increase showed at 3 and 5 d. However, the contents of hydrogen peroxide remained unchanged significantly. The above results indicated that low temperature treatment caused the various degree damage of membranes, and osmotic adjustment materials such as proline, played an important role in tolerance to low temperature of sorghum seedlings.

Keywords: *sorghum bicolor*; low temperature; osmotic adjustment

(本文作者还有郭怀刚、聂鑫,单位同第一作者。)