

淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗形态及生理特性的影响

刘超颖¹, 郑明明¹, 熊遂金¹, 曾清华¹, 刘 琨¹, 刘桂东^{1,2*}

(¹赣南师范大学生命科学学院,江西赣州 341000; ²国家脐橙工程技术研究中心,江西赣州 341000)

摘要:【目的】研究淹水胁迫后脐橙植株形态学特征变化并揭示脐橙响应淹水胁迫的生理学机制。【方法】以枳砧‘纽荷尔脐橙’幼苗为材料,进行盆栽土壤淹水胁迫处理,观察其形态学及解剖结构特征变化,并测定叶片和根系活性氧物质变化、抗氧化酶活性、丙二醛含量、可溶性蛋白及可溶性糖等物质变化。【结果】土壤淹水处理20 d内,脐橙幼苗叶片外观形态及微观结构均无明显变化,根系出现裂生型气腔;长期(45 d)淹水后,脐橙幼苗叶片叶脉(上部叶主脉、侧脉以及细脉,下部叶主脉)明显变黄,而脉间相对保持绿色,根系生长受到抑制并伴有发黑现象。淹水胁迫(10 d内)诱导叶片和根系活性氧物质含量增加,随后抗氧化酶系统启动,POD和CAT活性在淹水后15 d均显著高于对照。长期(45 d)淹水胁迫后,叶片抗氧化酶仍维持较高活性,而根系酶活性则显著降低。另外,相同处理条件下,脐橙幼苗根系POD活性远高于叶片,而CAT活性远低于叶片。长期淹水后,叶片和根系的可溶性糖含量均显著高于对照,而可溶性蛋白含量均显著低于对照。【结论】‘纽荷尔脐橙’幼苗不同器官响应淹水胁迫的敏感程度及调控机制存在明显差异,各器官会通过形态结构变化、抗氧化酶活性变化以及渗透调节物质含量变化等协同调控;长期淹水则影响体内代谢过程,诱导叶片和根系出现明显的可见症状,抑制脐橙的生长发育。

关键词:‘纽荷尔脐橙’;淹水胁迫;形态特征;生理特性

中图分类号:S666.1

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2019)10-1494-11

Effect of soil flooding stress on morphological and physiological characteristics of young plants of ‘Newhall Navel Orange’/*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.

LIU Chaoying¹, ZHENG Mingming¹, XIONG Suijin¹, ZENG Qinghua¹, LIU Jun¹, LIU Guidong^{1,2*}

(¹College of Life Sciences, Gannan Normal University, Ganzhou 341000, Jiangxi, China; ²National Navel Orange Engineering Research Center, Ganzhou 341000, Jiangxi, China)

Abstract:【Objective】Soil flooding constitutes a seasonal factor that negatively affects plant performance and crop yield. ‘Newhall Navel Orange’ is the leading citrus cultivar in southern Jiangxi province. It often encounters the waterlogging stress caused by seasonal rainfall during its growth and development period. The present study aims to clarify the changes in morphological characteristics of navel orange plants after flooding treatment, and to reveal the physiological mechanism of navel orange /*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. in response to flooding stress. It is of great significance for timely taking corresponding measures to alleviate the adverse effects of soil flooding stress on the growth, development, fruit yield and quality of navel orange.【Methods】Young ‘Newhall Navel Orange’ /*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. plants with only 1 shoot were transplanted into plastic pots (24 cm diameter × 26 cm height). These pots contained 9.0 kg of soil obtained from a commercial citrus orchard. Waterlogging stress treatments were carried out 3 months after transplanting. Soil flooding was imposed by placing the treated pot into a larger plastic bucket (35 cm diameter × 33 cm height) filled with tap water to 3 cm above the bottoms of the pots. The non-waterlogged pots were well-watered (60% to 80% of field moisture capacity) throughout the experiment. Navel orange plants were sampled after 5, 10, 15, 20 and 45

收稿日期:2019-04-19 接受日期:2019-07-06

基金项目:国家自然科学基金(31701871);江西省教育厅项目(GJJ160957)

作者简介:刘超颖,女,主要从事园艺植物逆境生理研究。Tel:15970897321, E-mail:1329335099@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel:0797-8393068, E-mail:lgd@gnnu.cn

days of the treatments, respectively. The plants were then separated into upper leaf, lower leaf and fine roots. The potted plants were used to compare the effects of waterlogging on the changes of morphology and anatomical structure, reactive oxygen metabolism, antioxidant enzyme activities superoxide dismutase (EC 1.15.1.1), peroxidase (EC 1.11.1.7), catalase (EC 1.11.1.6), oxidative damage in terms of malonaldehyde (MDA) concentration, soluble protein and soluble sugar under full flooding condition.

【Results】The control plants did not show any symptoms throughout the experimental period. Within 20 days of soil flooding treatment, there were no obvious visible symptoms in above-ground plant parts, and the leaf microstructure did not change significantly. The roots showed a schizog-enous air cavity. After long-term (45 days) flooding, the main veins, lateral veins and fine veins of the upper leaves in navel orange plants had obvious yellowing symptoms, while the inter-veins remained relatively green; the lower leaf veins, the main veins turned yellow, the lateral veins turned slightly yellow, and the inter-veins remained green; root growth was inhibited and accompanied with blackening. Compared with the non-waterlogging treatment, waterlogging treatment did not affect the relative chlorophyll content in the lower leaves within 20 d treatment, but significantly increased the relative chlorophyll content in the upper leaves on the 5th day of flooding. Long-term flooding significantly decreased the relative chlorophyll content both in the upper and lower leaves. There was no significant difference in MDA content of upper leaves between the flooded plants and the control within 20 days of treatment. On the 5th day of flooding treatment, the MDA content in the lower leaves was even lower than that of the control. With the prolongation of flooding time, the MDA content increased but remained not significantly different from the control. The content of active oxygen species in leaves and roots was increased by waterlogging stress, and then the antioxidant enzyme system started. The root O₂⁻ concentration increased significantly accompanying with the root MDA content on the 10th day of flooding treatment, indicating that the root cells were damaged and the membrane lipid peroxidation increased. The activity of POD and CAT was significantly higher than that of the control on the 15th day of flooding. After long-term flooding stress, the upper- and lower-leaf antioxidant enzymes maintained high activity and the root enzyme activity decreased significantly. In addition, the POD activity in the roots of navel orange plants was much higher than that in the leaves, and the CAT activity was much lower than that in the leaves. The upper leaves and roots of navel orange plants accumulated more soluble sugar in the early flooding period (5 days), while the lower leaves were less affected by flooding stress. Within 20 days of flooding stress, there were significant organ differences in the response of soluble sugar and soluble protein to waterlogging stress in upper leaves, lower leaves and roots. On the 5th day of flooding treatment, the soluble protein content of the upper leaves increased significantly, while the soluble protein content of roots decreased significantly. On the 10th and 15th days following, the soluble protein content of the lower leaves was significantly lower than that of the control and the roots were significantly higher than that of the control in the soluble protein content. After long-term (45 days) flooding, the soluble sugar content of leaves and roots was significantly higher than that of the control, while the soluble protein content was significantly lower than that of the control.

【Conclusion】With a period of flooding stress to ‘Newhall Navel Orange’/*Poncirus trifoliata* (L.) Raf navel orange plants, the sensitivity and regulation mechanism of different organs in response to flooding stress were significantly different. Each organ would be co-regulated by changes in morphological structure, antioxidant enzyme activities and changes in osmotic adjustment substance content. However, long-term flooding stress would affect the metabolic process within the cell, and would induce obvious visible symptoms in the leaves and the roots, and inhibit the growth and development of the ‘Newhall Navel Orange’/*Poncirus trifoliata* (L.) Raf plants.

Key words: ‘Newhall Navel Orange’; Flooding stress; Morphological; Physiological characteristics

植物生长发育过程会面临各种不利的环境条件,而水涝胁迫是最具有破坏性的不利条件之一^[1]。‘纽荷尔脐橙’是赣南地区主栽品种,在生长发育期遇到季节性降雨引发的涝渍胁迫时有发生,成为该区脐橙生产的主要自然灾害之一。如何减轻土壤淹水胁迫对脐橙生长发育、果实产量和品质的不利影响,是目前脐橙生产亟需解决的问题,而明确淹水胁迫条件下脐橙植株形态学特征变化并揭示脐橙响应淹水胁迫的生理学机制则是解决这一问题的基础和依据。

柑橘淹水胁迫后其水分代谢受到明显影响^[2],PIP水通道蛋白迅速下调表达导致根系导水率下降,淹水也会导致根系汁液的pH值下降,但淹水对叶片水势以及相对含水量没有影响^[3]。激素与水分胁迫关系密切,尤其是ABA。柑橘中,干旱诱导根系和叶片ABA积累,引起一系列适应性反应比如叶片脱落^[4]。淹水也导致叶片中ABA的积累,却使根系中的ABA含量降低^[5]。进一步研究表明这种降低是与PYR/PYL/RCAR受体差异表达有关的胁迫特异性响应^[6]。柑橘幼苗淹水后气孔导度和蒸腾作用明显降低,严重降低了其光合能力并影响幼苗生长以及物质分配。由于吸收和运输遭到破坏,总氮积累量和含量逐渐降低,二氧化碳的同化能力在淹水条件下也显著降低。另外,碳水化合物由叶片到根系的运输受到抑制,导致叶片中淀粉大量积累而根系中则显著降低^[7]。淹水胁迫还会影响一些基因的表达进而影响柑橘对矿质养分的吸收,有研究表明,淹水条件下参与Strategy I植物响应缺铁的基因下调表达,影响了柑橘中铁的吸收与分配^[8]。不同的柑橘砧木品种对水涝胁迫的抗性存在明显差异^[9],而中间砧也被证实对柑橘的淹水耐受性具有明显的影响^[10]。

明确不同作物在土壤淹水条件下的形态学特征变化,有利于正确诊断田间出现的植株淹水胁迫现象。然而,目前关于柑橘淹水胁迫的研究大多集中在柑橘砧木幼苗,迄今有关脐橙淹水胁迫的研究鲜有报道。因此,笔者以‘纽荷尔脐橙’幼苗为材料,通过观察其形态学及解剖结构特征变化,并测定活性氧物质变化、抗氧化酶活性、丙二醛含量、可溶性蛋白及可溶性糖等物质变化,明确淹水胁迫下脐橙幼苗形态变化以及生理生化响应机制。

1 材料和方法

1.1 试验材料及其处理

从赣州市江口无病毒苗圃基地选取生长一致的‘纽荷尔脐橙’(*Citrus sinensis* Osbeck ‘Newhall Navel Orange’)幼苗为试材,砧木为枳[*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]。选取的幼苗砧木茎粗为7~8 mm,仅有1次抽梢,叶片刚完全展开,叶片数9~12枚,2018年5月初盆栽于内径24 cm、深26 cm的塑料花盆中,每盆1株。盆底人工钻取3个直径为0.8 cm的排水孔,基质为普通园土,每盆装干土9 kg,定植时每盆土壤中加入0.4 g KNO₃、1 g Ca(NO₃)₂·4H₂O、1 g MgSO₄·7H₂O和0.2 g NH₄H₂PO₄混匀,随后进行常规水肥管理。

2018年8月初通过“双套盆法”进行盆栽水涝试验,此时脐橙幼苗又有一次新的抽梢,叶片数8~10枚,叶片为刚展开的新叶,本试验中定义为上部叶;刚定植时的叶片此时叶龄为3~4月的成熟叶,本试验中定义为下部叶。对照和淹水处理均为15盆,脐橙苗长势基本一致,随机排列。淹水处理植株浇足水分,并保证水面超过土壤表面3 cm左右,之后每天补充水分,使根系始终处于饱和淹水状态。对照植株在第1次浇足水分后,每3 d补充一定量水分,使土壤含水量整体上保持在最大田间持水量的60%~80%。在处理的前20 d内,每5 d取样1次,此期间淹水处理的叶片并未表现出明显可见症状;淹水45 d后,叶片出现明显可见的症状,此时进行最后一次取样。每次取样前用SPAD仪(SPAD-502,日本)测定叶片相对叶绿素含量,观察记录植株形态特征并拍照。取样时分上部叶、下部叶和根系经液氮速冻后置于-80 ℃冰箱保存备用。

1.2 指标测定及方法

1.2.1 叶片和根显微结构制样和观察 叶片取样:切取上部叶中部的叶脉两侧和叶中脉0.5 cm×0.5 cm大小的材料;根样:距根尖0.5~2 cm处切取3段。将叶样和根段采用FAA固定液固定,做石蜡切片,使用德国生产的Leica RM2016型切片机切片,切片厚度4 μm,使用甲苯胺蓝(TBO)染色3~6 min后,用去离子水清洗,将切片置于烤箱内烘干,中性树胶封片,在尼康光学显微镜(NIKON ECLIPSE C1)下观察各组织微观结构变化,用成像系统(NIKON DS-U3)拍照记录。

1.2.2 生理指标测定 分别取淹水处理后5、10、15、20、45 d的植株,将其分为上部叶、下部叶和根系,用液氮速冻后置于-80 °C超低温冰箱备用。超氧阴离子含量测定参考王爱国等^[11]的方法测定;过氧化氢含量测定采用碘化钾分光光度法^[12];丙二醛含量测定采用TBA法^[13];SOD活性测定采用NBT光还原法^[14];POD活性的测定采用愈创木酚法^[15],以每min吸光度值变化1为一个活性单位(U);CAT活性测定采用紫外分光光度法^[16],以每min吸光度值变化0.1为一个活性单位(U);可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝G-250法^[17];可溶性糖的提取采用80%乙醇在80 °C水浴条件下浸提3次,根据García-Luis等^[18]的方法进行含量测定。

1.3 数据统计分析

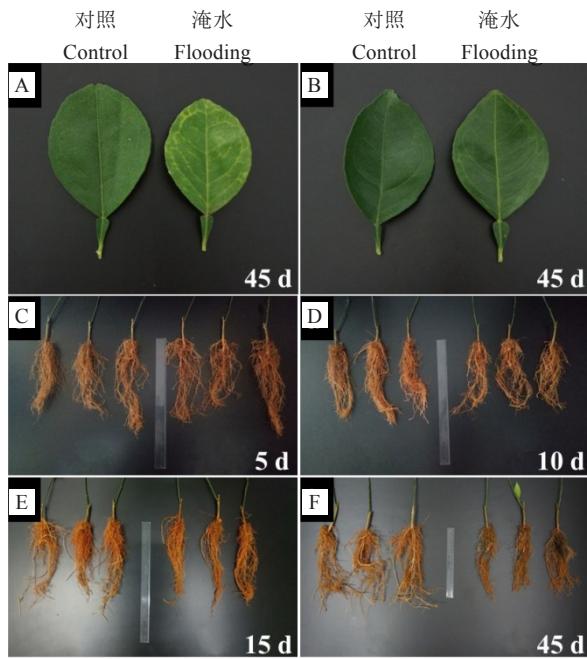
所有数据均用SAS 9.4(SAS Institute, Cary, NC, USA)软件进行统计分析。同一取样时间不同处理之间的比较用独立样本T检验,显著水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 植株外观形态及解剖结构变化

对照植株在整个试验过程中无任何可见症状出现。淹水处理40 d左右上部叶开始表现可见的症状,到淹水45 d时,几乎所有叶片表现出可见症状。脐橙幼苗上部叶片的主脉、侧脉以及细脉都出现明显变黄的症状,而脉间组织相对保持绿色(图1-A);下部叶片的叶脉凸出,主脉明显变黄,侧脉略有变黄,脉间保持绿色(图1-B)。淹水处理5 d的根系与对照相比无明显差别(图1-C),淹水处理10 d的根系量明显减少(图1-D),淹水到15 d时,淹水与对照植株根系均有生长,但淹水处理的根系量明显偏少(图1-E)。对照组根系生长旺盛,主根和少数侧根明显增粗,而长期(45 d)淹水导致脐橙幼苗根系严重受损伴有发黑现象(图1-F)。

脐橙叶片上下表皮各由一层生活的细胞组成,淹水处理10 d和15 d的叶片栅栏组织厚度、层数均无明显变化,海绵组织细胞与对照相比也无明显变化(图2-A~D)。淹水胁迫处理45 d的叶片,海绵组织细胞内叶绿体与对照相比显著减少,胞间隙略有增大(图2-E和F)。淹水处理45 d的叶片叶脉相比对照叶片,维管束的纵向直径和体积有所增大,薄壁组织细胞变小、变密($300 \mu\text{m} \times 130 \mu\text{m}$ 视野内细胞数由对照的40增加到淹水的57)(图2-G和H)。



A. 上部叶;B. 下部叶;C~F. 根系。

A. Upper leaf; B. Lower leaf; C~F. Roots.

图1 淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗叶片
和根系外观形态的影响

Fig. 1 Effect of soil flooding on morphological characteristic of leaf and roots in ‘Newhall Navel Orange’ plants

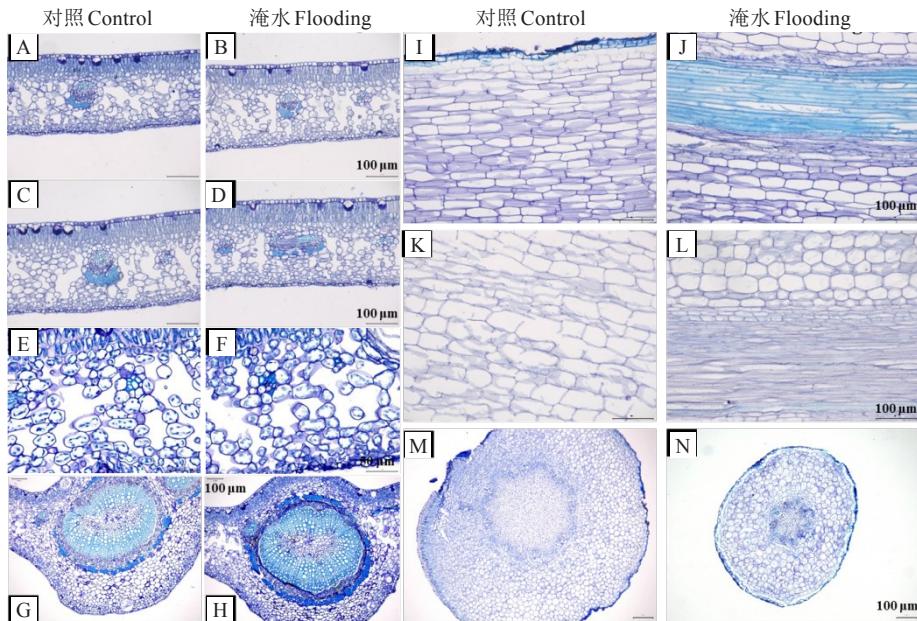
与叶片结构变化相比,脐橙根系在淹水的10 d和15 d结构发生了明显变化,脐橙幼苗淹水胁迫后,根皮层细胞链接松散,细胞结构发生明显变化,出现裂生性气腔,(图2-J和L),而对照根系皮层细胞连接紧密,仅有少量细胞间隙存在(图2-I和K)。在长期淹水胁迫后,根内皮层分化出次生维管组织(图2-N)。

2.2 淹水胁迫对叶片相对叶绿素含量的影响

上部叶为新叶,正常条件下其相对叶绿素含量随时间逐渐增加然后趋于稳定,而淹水处理的上部叶相对叶绿素含量在20 d内无显著变化,淹水初期(5 d)的上部叶相对叶绿素含量高于对照;下部叶为成熟叶,正常条件下其相对叶绿素含量在培养的前20 d内基本保持稳定,且淹水处理的含量与对照无显著差异(图3)。淹水处理45 d后,上部叶和下部叶的相对叶绿素含量与对照相比均显著降低(图3)。

2.3 淹水胁迫对叶片和根系丙二醛含量的影响

脐橙幼苗淹水处理后,上部叶和下部叶MDA含量均表现为随时间延长呈逐渐增加的趋势;对照脐橙幼苗上部叶MDA含量也表现为随时间逐渐增加的趋势,但与淹水处理的无明显差异,而下部叶MDA含量在试验期间一直比较稳定(图4)。长期

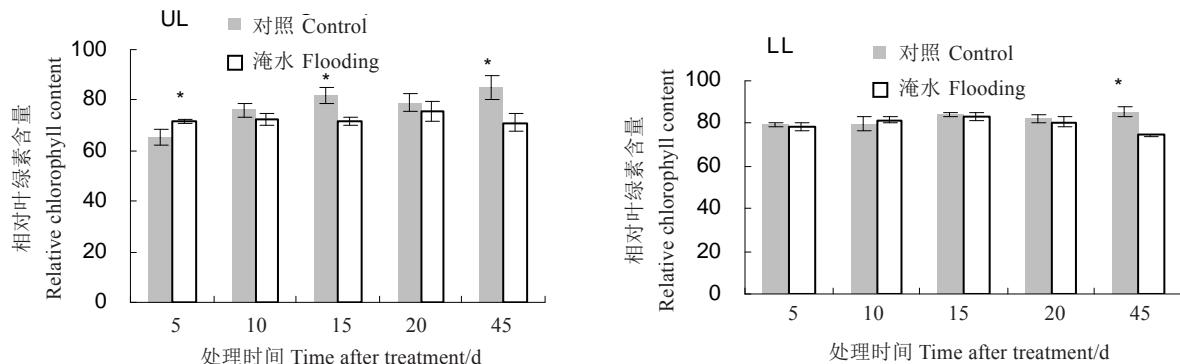


A 和 B 代表处理 10 d 的叶片; C 和 D 代表处理 15 d 的叶片; E 和 F 代表处理 45 d 的叶片; G 和 H 代表处理 45 d 的叶片主脉; I 和 J 代表处理 10 d 的根系纵截面; K 和 L 代表处理 15 d 的根系纵截面; M 和 N 代表处理 45 d 的根系横截面。

A and B represent the leaf after 10 d treatment; C and D represent the leaf after 15 d treatment; E and F represent the leaf after 45 d treatment; G and H represent the mid-vein of leaf after 45 d treatment; I and J represent the longitudinal section of root after 10 d treatment; K and L represent the longitudinal section of root after 15 d treatment; M and N represent the cross section of root after 45 d treatment.

图 2 淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗叶片和根系微观结构的影响

Fig. 2 Effect of soil flooding on anatomical structure of leaf and root in ‘Newhall Navel Orange’ plants



UL. 上部叶; LL. 下部叶; *表示同一时间对照和淹水处理间差异显著($p < 0.05$)。下同。

UL. Upper leaf; LL. Lower leaf; Symbol * above the bars indicate significant difference between control and flooding treatments at the same day at $p < 0.05$. The same below.

图 3 淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗叶片相对叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effect of soil flooding on leaf relative chlorophyll content in ‘Newhall Navel Orange’ plants

(45 d)淹水胁迫后,上部叶 MDA 含量显著高于对照,下部叶 MDA 含量与对照相比无显著差异,而根系 MDA 含量则显著低于对照(图4)。

2.4 淹水胁迫对叶片和根系活性氧(O_2^- 和 H_2O_2)含量的影响

2.4.1 超氧阴离子含量变化 如图 5 显示,‘纽荷尔脐橙’幼苗在淹水处理 5 d 时,上部叶 O_2^- 含量与对

照相比显著增加,随淹水胁迫时间的延长(淹水处理 20 d 内),则与对照无显著差异。下部叶在淹水处理的 10 d 才出现显著的增加。淹水处理 5 d 时的根系 O_2^- 含量与对照相比无显著差异,随淹水时间延长根系 O_2^- 含量则显著高于对照。脐橙幼苗长期(45 d)淹水胁迫后,上部叶、下部叶和根系的 O_2^- 含量都显著高于对照。

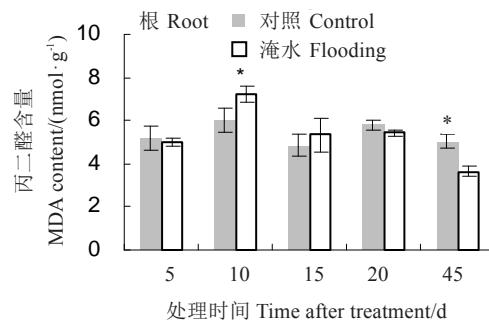
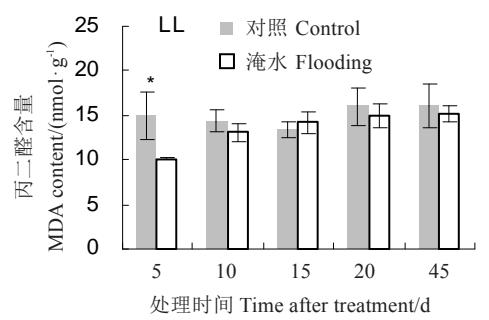
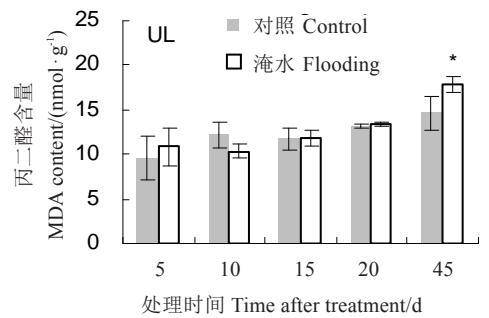


图4 淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗叶片和根系 MDA 含量的影响

Fig. 4 Effect of soil flooding on MDA content in leaf and roots in ‘Newhall Navel Orange’ plants

2.4.2 过氧化氢含量变化 脐橙幼苗淹水处理的20 d内,上部叶和下部叶H₂O₂含量都表现为先增加后降低的趋势。上部叶H₂O₂含量在淹水处理的5、15、20 d都显著高于对照,而在10 d与对照相比无显著差异;下部叶和根系H₂O₂含量在淹水处理的5、10、20 d与对照相比都无显著差异,而下部叶H₂O₂含量在15 d显著高于对照,根系H₂O₂含量则在15 d显著低于对照(图6)。长期(45 d)淹水胁迫后,上部叶和下部叶H₂O₂含量都显著高于对照,而根系H₂O₂含量则显著低于对照(图6)。

2.5 淹水胁迫对叶片和根系抗氧化酶活性的影响

2.5.1 SOD活性变化 在淹水处理的5、10、15 d,上部叶和下部叶的SOD活性与对照相比无显著差异,到淹水20 d时,上部叶和下部叶的SOD活性均显著

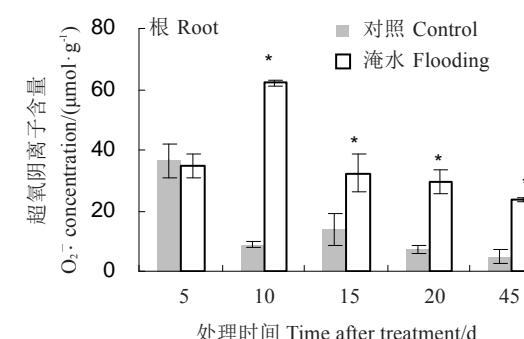
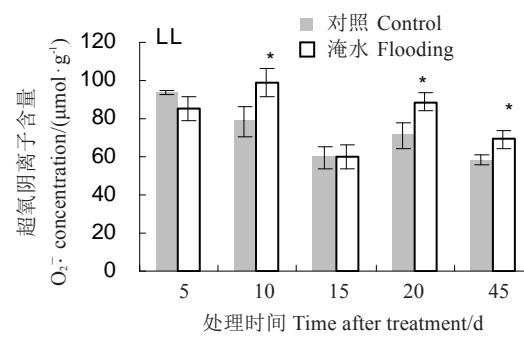
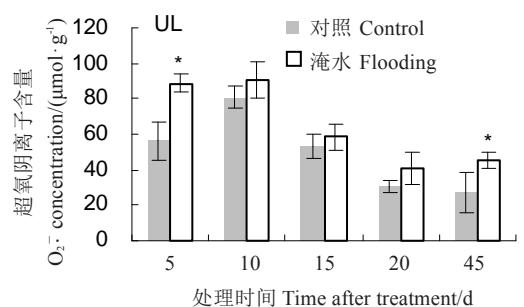


图5 淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗叶片和根系超氧阴离子含量的影响

Fig. 5 Effect of soil flooding on O₂[·] concentration in leaf and roots in ‘Newhall Navel Orange’ plants

低于对照;而根系SOD活性在淹水处理的15 d即表现出显著低于对照(图7)。长期(45 d)淹水胁迫后,上部叶和下部叶基本保持比较稳定的SOD活性,而根系SOD活性进一步降低(图7)。

2.5.2 POD活性变化 ‘纽荷尔脐橙’淹水5 d和10 d,上部叶、下部叶以及根系的POD活性与对照相比均无显著差异,而在淹水的15 d和20 d,上部叶、下部叶以及根系的POD活性均显著高于对照(图8)。长期(45 d)淹水胁迫后,上部叶和下部叶POD活性都显著高于对照,而根系POD活性则显著低于对照(图8)。

2.5.3 CAT活性变化 ‘纽荷尔脐橙’幼苗淹水处理5 d,下部叶CAT活性与对照相比显著增加,而上部叶和根系CAT活性与对照相比均无显著差异;淹水

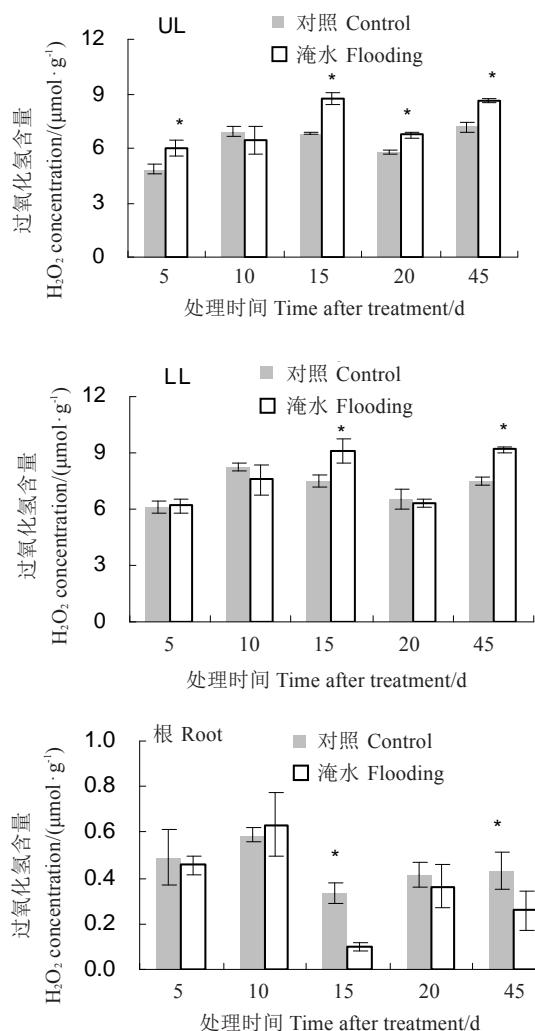


图 6 淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗叶片和根系过氧化氢含量的影响

Fig. 6 Effect of soil flooding on H_2O_2 concentration in leaf and roots in ‘Newhall Navel Orange’ plants

处理 10 d, 上部叶 CAT 活性显著低于对照, 而下部叶和根系均显著高于对照; 淹水处理 15 d, 脐橙幼苗上部叶、下部叶和根系 CAT 活性均显著高于对照; 淹水处理 20 d, 上部叶和下部叶 CAT 活性均显著高于对照, 而根系 CAT 活性则显著低于对照(图 9)。长期(45 d)淹水胁迫后, 上部叶 CAT 活性显著高于对照, 而下部叶和根系 CAT 活性与对照相比均无显著差异(图 9)。

2.6 淹水胁迫对叶片和根系渗透调节物质含量的影响

2.6.1 可溶性糖含量变化 脐橙幼苗开始处理的 20 d 内, 淹水与对照的上部叶和下部叶可溶性糖含量都表现为先增加后降低的趋势(图 10)。幼苗淹水处理的 5 d 和 10 d, 上部叶可溶性糖含量比对照的

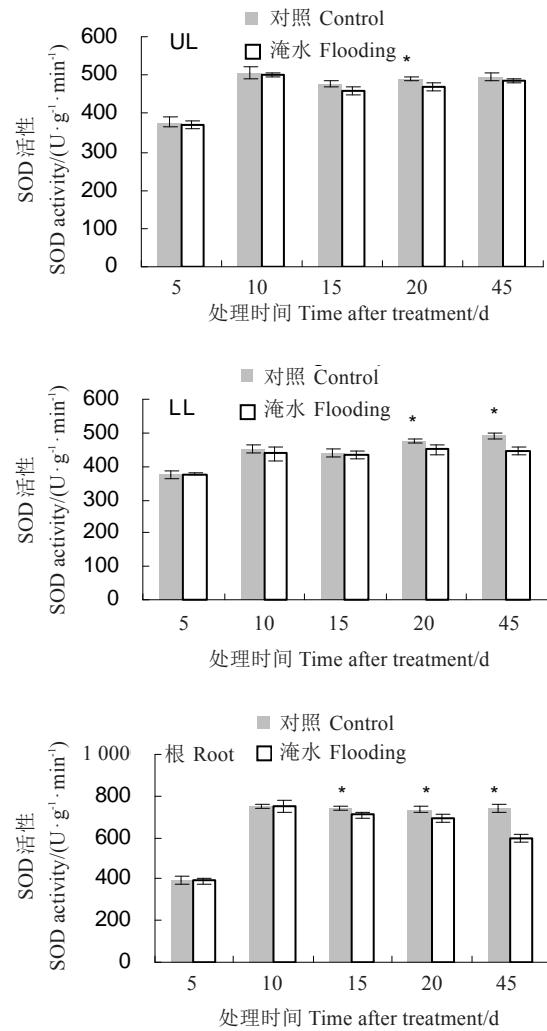


图 7 淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗叶片和根系 SOD 活性的影响

Fig. 7 Effect of soil flooding on POD activity in leaf and roots in ‘Newhall Navel Orange’ plants

显著增加,而在淹水处理的 15 d 和 20 d, 上部叶可溶性糖含量与对照相比无显著差异; 下部叶在淹水处理的第 5 天与对照相比无显著差异, 随后的 10、15、20 d 其可溶性糖含量则高于对照; 在淹水胁迫条件下根系可溶性糖含量增加的程度远大于叶片, 几乎是对照的 2 倍多(图 10)。脐橙幼苗长期(45 d)淹水胁迫后, 上部叶、下部叶和根系的可溶性糖含量都显著高于对照(图 10)。

2.6.2 可溶性蛋白含量变化 如图 11 显示, ‘纽荷尔’脐橙幼苗淹水处理 5 d, 上部叶可溶性蛋白含量与对照相比显著增加, 而在淹水的 10、15 d 与对照相比无明显差异, 20 d 又显著高于对照; 淹水处理 5 d 的下部叶可溶性蛋白含量与对照相比无明显差异, 而淹水 10、15、20 d 后与对照相比则显著降低; 淹水

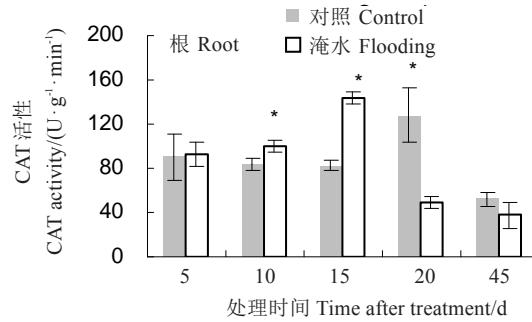
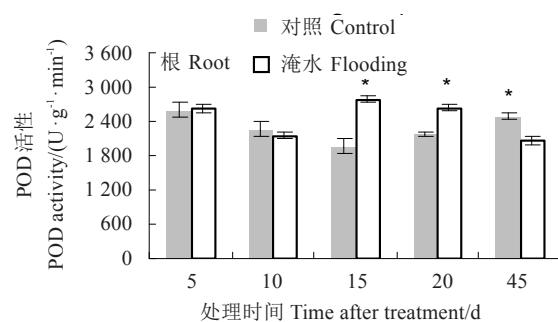
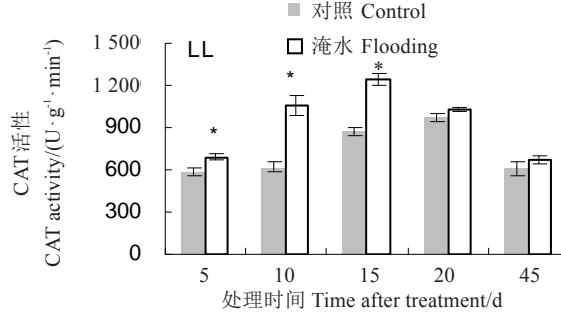
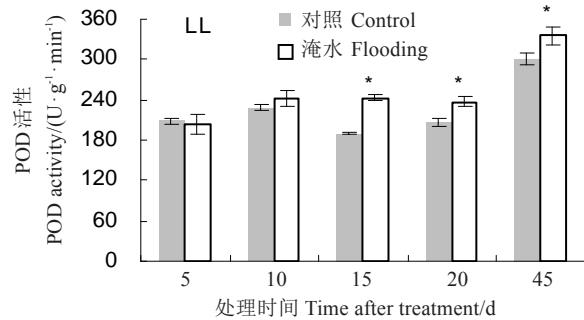
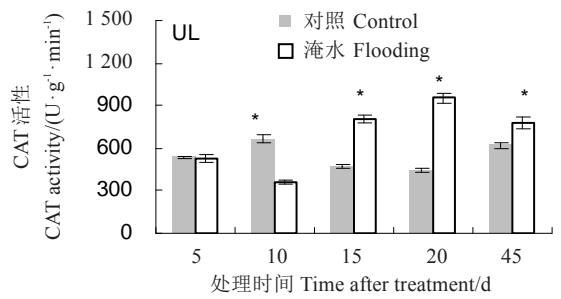
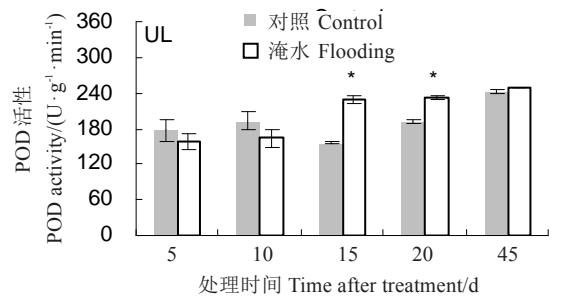


图8 淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗叶片和根系POD活性的影响

Fig. 8 Effect of soil flooding on POD activity in leaf and roots in ‘Newhall Navel Orange’ plants

处理5 d的根系可溶性蛋白含量显著低于对照,淹水处理10 d和15 d后显著高于对照,淹水20 d后与对照相比无显著差异。脐橙幼苗长期(45 d)淹水胁迫后,上部叶、下部叶和根系的可溶性蛋白含量均显著低于对照。

3 讨论

3.1 淹水胁迫对脐橙幼苗形态及解剖结构的影响

柑橘砧木幼苗淹水胁迫后先是叶片中脉黄化,紧接着出现叶片黄化位点,最终导致叶片萎蔫^[19]。本试验结果也表明淹水胁迫首先诱导脐橙叶片的叶脉黄化,而脉间组织相对保持绿色。推测遭受水涝胁迫的柑橘首先出现的可见症状是叶脉黄化而脉间保持绿色,这区别于元素胁迫造成的叶片脉间失

绿^[20]。另外,上部叶出现的可见症状明显比下部叶严重,说明脐橙淹水胁迫后对新叶的影响更严重。

柑橘不同砧木的耐涝能力存在显著差异,据报道红橘在淹水处理的13 d开始出现萎蔫症状^[19],枳柚在淹水处理20 d后开始出现可见症状^[19],枳橙在淹水处理的40 d左右表现出叶片损伤^[21],而资阳香橙在持续涝害胁迫79 d出现涝害症状^[9]。枳和枳橙的耐涝性介于红橘和资阳香橙之间属于耐涝性中等的柑橘砧木^[9]。本研究中枳砧‘纽荷尔脐橙’在淹水20 d内无明显可见症状,淹水40 d后开始出现可见症状,与柑橘砧木淹水胁迫症状出现的时间大体一致。

植物遭受逆境胁迫后,通常会在形态和生理两方面产生一定的适应性调节。本试验中,至少淹水

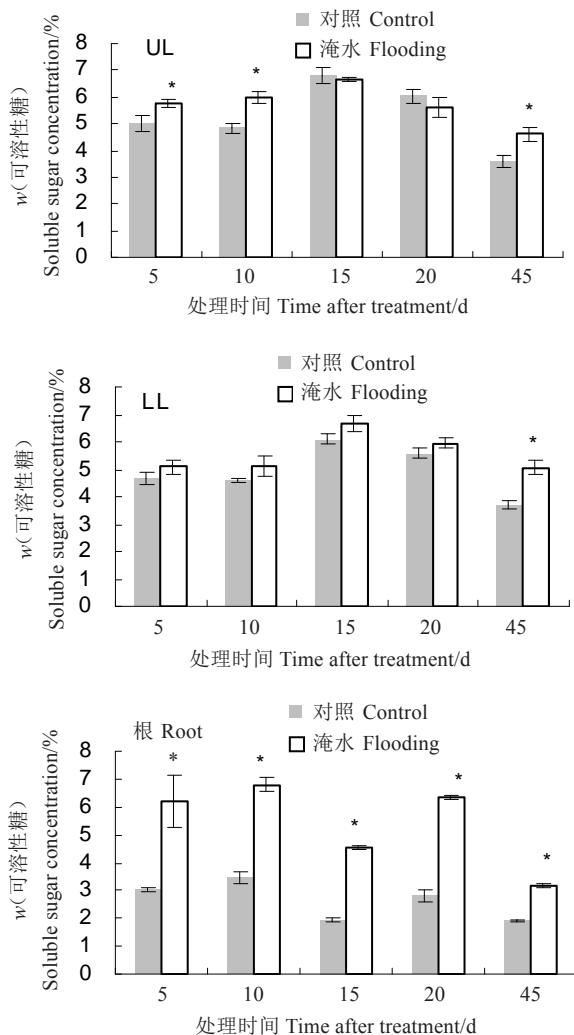


图 10 淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗叶片和根系可溶性糖含量的影响

Fig. 10 Effect of soil flooding on soluble sugar concentration in leaf and roots in ‘Newhall Navel Orange’ plants

15 d 内脐橙叶片微观结构没有出现明显变化,而一些生理指标发生了明显变化,说明淹水后脐橙叶片首先出现生理方面的适应性调节。而根系中既出现裂生性气腔,又出现皮层细胞拉伸变长产生的气腔,推测这些气腔形成脐橙幼苗根系在淹水胁迫下有氧呼吸的重要结构,既可以运输氧气,满足脐橙幼苗根系生理活动对氧气的需求,还可以把根系组织中积累的乙醇、二氧化碳等挥发性化合物从根部向上运输。因此,淹水 20 d 内脐橙幼苗并无明显可见症状。长期(45 d)淹水胁迫后,叶片和根系微观结构发生了明显变化,导致可见症状出现。

3.2 淹水胁迫对细胞膜及抗氧化系统的影响

淹水胁迫最主要的影响是缺氧而导致植物氧化代谢失调,以 SOD、POD 和 CAT 为主的抗氧化酶系统

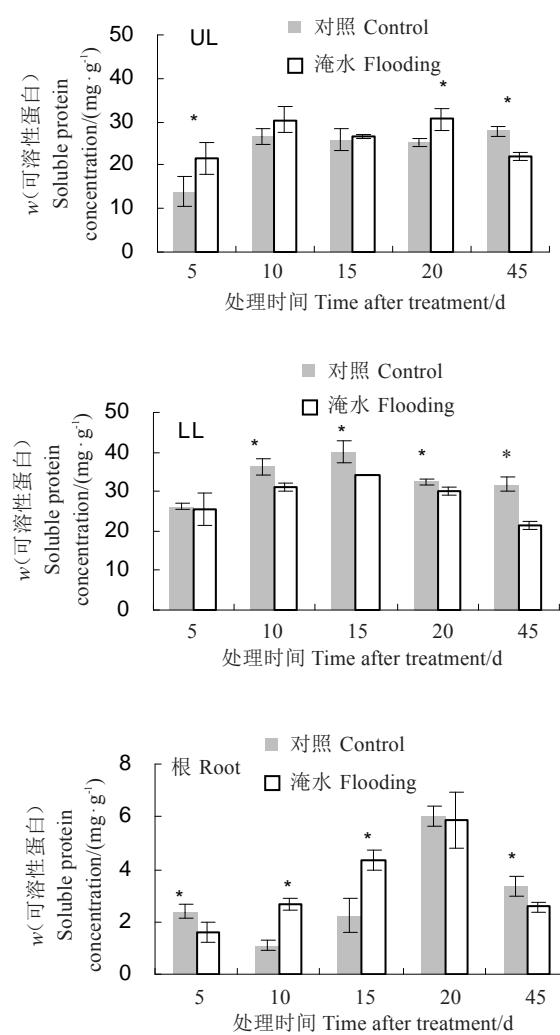


图 11 淹水胁迫对‘纽荷尔脐橙’幼苗叶片和根系可溶性蛋白含量的影响

Fig. 11 Effect of soil flooding on soluble protein concentration in leaf and roots in ‘Newhall Navel Orange’ plants

遭到破坏,清除氧自由基的能力降低,致使活性氧积累引起细胞损伤^[1]。丙二醛(MDA)含量高低是膜脂过氧化程度的一个重要指标^[22]。对小麦的研究结果表明,淹水使 MDA 含量增加,加剧了膜脂过氧化作用^[23]。而本研究中,根系 O₂⁻含量在淹水处理的第 10 天大幅度增加,与之相对应的是根系 MDA 含量明显增加,说明此时根系细胞受到损伤,膜脂过氧化程度增加。上部叶在淹水处理 20 d 内 MDA 含量与对照相比无显著差异,在淹水处理的 5 d,下部叶 MDA 含量甚至低于对照,随淹水时间的延长,MDA 含量增加但与对照仍无显著差异,说明淹水处理 20 d 内脐橙叶片细胞膜损伤程度不大,因此在外观上与对照相比无明显症状。Arbona 等^[21]报道枳橙苗在淹水处理 15 d 内 MDA 含量与对照相比也无显著变

化。本研究中叶片 POD 和 CAT 在淹水处理的 20 d 仍然保持很高的活性,而 SOD 活性也在淹水处理 15 d 后才出现下降。已有研究证实抗氧化酶活性的高低与柑橘抗淹水能力密切相关^[19]。因此,推测淹水胁迫下能较长时间保持高抗氧化酶活性是脐橙幼苗具有一定耐淹能力的原因之一,但尚需进一步证实。

3.3 淹水胁迫对渗透调节物质的影响

可溶性糖是植物体内重要的有机渗透调节物质之一,也是反映植物体内碳水化合物代谢的重要指标。多种非生物胁迫均会导致植物体内可溶性糖含量发生明显变化,而淹水胁迫条件下可溶性糖含量的增加,可以调节细胞渗透势,维持细胞正常膨压,被认为是植物响应淹水胁迫的一种适应性机制^[24]。本研究中,‘纽荷尔脐橙’幼苗上部叶和根系在淹水初期(5 d 内)即积累了更多的可溶性糖,且由于根系直接接触淹水土壤,可溶性糖含量增加的程度远远高于叶片。考虑到淹水初期脐橙叶片和根系外观形态及微观结构并无显著变化,推测淹水胁迫后脐橙叶片和根系可溶性糖含量的快速增加对于调节细胞渗透势、维持淹水初期相对正常的结构具有重要的生理意义。

可溶性蛋白也是植物体内一种重要的渗透调节物质^[24]。上部叶、下部叶和根系可溶性蛋白含量对淹水胁迫的反应存在明显差异。在淹水处理 5 d 时,上部叶可溶性蛋白含量即显著增加,此时下部叶无明显变化,而根系则显著下降。在随后的 10 d 和 15 d,下部叶可溶性蛋白含量显著低于对照而根系则显著高于对照。上述结果说明,脐橙幼苗在淹水胁迫条件下可溶性蛋白含量的变化存在器官间的差异,即氮会在不同器官间进行重新分配。与可溶性糖的变化相反,长期(45 d)淹水后,叶片和根系的可溶性蛋白含量显著低于对照。有研究表明,随淹水时间的持续,氮的吸收和转运受到抑制,柑橘幼苗的氮积累量和含量均逐渐下降^[7],从而使可溶性蛋白的合成减少。

3.4 不同器官对淹水胁迫的响应差异

在淹水初期(5 d),上部叶相对叶绿素含量、O₂⁻含量、H₂O₂含量、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量与对照相比均显著增加,而此时抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性并无明显变化;下部叶相对叶绿素含量、O₂⁻含量、H₂O₂含量、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量与对照相比均无显著差异,但 CAT 活性显著增加,

MDA 含量则显著下降;根系活性氧物质含量、抗氧化酶活性及 MDA 含量均无明显变化,可溶性糖含量则显著增加,而可溶性蛋白含量显著下降。因为上部叶为刚展开的新叶,其对水分胁迫的适应性更敏感,因此物质含量很快发生变化。下部叶为成熟叶,器官建造已经完成,淹水初期对其影响较小。根系在淹水 5 d 时除了可溶性糖和可溶性蛋白发生变化外,其余测定的生理指标均无明显变化,但在淹水 10 d 时,超氧阴离子含量急剧增加,MDA 含量也显著增加,说明此时根系结构已开始受到影响。长期淹水(45 d)胁迫后,根系抗氧化酶活性已明显下降,而叶片抗氧化酶整体上仍保持了较高的活性。结果表明,不同器官对淹水胁迫的响应存在显著差异。一方面,不同叶龄叶片结构的可塑性存在差异^[25];另一方面,脐橙幼苗根系 POD 活性远高于叶片,而 CAT 活性远低于叶片,即不同抗氧化酶活性在不同器官中差异显著,可能也是造成不同器官对淹水胁迫响应差异的原因之一。

参考文献 References:

- [1] 潘澜,薛立.植物淹水胁迫的生理学机制研究进展[J].生态学杂志,2012,31(10): 2662-2672.
PAN Lan, XUE Li. Plant physiological mechanisms in adapting to waterlogging stress: A review[J]. Chinese Journal of Ecology, 2012, 31(10): 2662-2672.
- [2] CHAUDHARY S, KUSAKABE A, MELGAR J C. Phytophthora infection in flooded citrus trees reduces root hydraulic conductance more than under non-flooded condition[J]. Scientia Horticulturae, 2016, 202: 107-110.
- [3] RODRÍGUEZ-GAMIR J, ANCILLO G, GONZÁLEA-MAS M C, PRIMO-MILLO E, IGLESIAS D J, FORNER-GINER M Á. Root signaling and modulation of stomatal closure in flooded citrus seedlings[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 49 (6): 636-645.
- [4] DE OLLAS C, HERNANDO B, ARBONA V, GÓMEZ-CADENAS A. Jasmonic acid transient accumulation is needed for abscisic acid increase in citrus roots under drought stress conditions[J]. Physiologia Plantarum, 2013, 147(3): 296-306.
- [5] ARGAMASILLA R, GÓMEZ-CADENAS A, ARBONA V. Metabolic and regulatory responses in citrus rootstocks in response to adverse environmental conditions[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2013, 33(2): 169-180.
- [6] ARBONA V, ZANDALINAS S I, MANZI M, GONZÁLEZ-GUZMÁN M, RODRIGUEZ P L, GÓMEZ-CADENAS A. Depletion of abscisic acid levels in roots of flooded Carrizo citrange (*Poncirus trifoliata* L. Raf. × *Citrus sinensis* L. Osb.) plants is a stress-specific response associated to the differential expression of PYR/PYL/RCAR receptors[J]. Plant Molecular Biology, 2017, 93(6): 623-640.
- [7] MARTÍNEZ- ALCÁNTARA B, JOVER S, QUIÑONES A, FORNER-GINER M Á, RODRÍGUEZ-GAMIR J, LEGAZ F, PRIMO-MILLO E, IGLESIAS D J. Flooding affects uptake and

- distribution of carbon and nitrogen in citrus seedlings[J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169(12): 1150-1157.
- [8] MARTÍNEZ-CUENCA M R, QUIÑONES A, PRIMO-MILLO E, FORNER-GINER M Á. Flooding impairs Fe uptake and distribution in citrus due to the strong down-regulation of genes involved in Strategy I responses to Fe deficiency in roots[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0123644.
- [9] 黄翼. 水分胁迫下7种柑橘砧木品种的抗逆性评价[D]. 重庆: 西南大学, 2014.
- HUANG Yi. Tolerance evaluation for seven citrus rootstock cultivars under water stress[D]. Chongqing: Southwest University, 2014.
- [10] GIMENO V, SYVERTSEN J P, SIMON I, MARTINEZ V, CÁMARA-ZAPATA J M, NIEVES M, GARCIA-SANCHEZ F. Interstock of 'Valencia' orange affects the flooding tolerance in 'Verna' lemon trees[J]. HortScience, 2012, 47(3): 403-409.
- [11] 王爱国, 罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(6): 55-57.
- WANG Aiguo, LUO Guanghua. Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants[J]. Plant Physiology Communications, 1990, 26(6): 55-57.
- [12] CHAKRABARTY D, DATTA S K. Micropropagation of gerbera: lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities during acclimatization process[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2008, 30(3): 325-331.
- [13] KUMAR G, KNOWLES N R. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free-radical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum*) seed-tubers[J]. Plant Physiology, 1993, 102(1): 115-124.
- [14] BEAUCHAMP C, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels[J]. Analytical Biochemistry, 1971, 44(1): 276-287.
- [15] QUINTANILLA-GUERRERO F, DUARTE-VÁZQUEZ M A, GARCÍA-ALMENDAREZ B E, TINOCO R, VAZQUEZ-DUHALT R, REGALADO C. Polyethylene glycol improves phenol removal by immobilized turnip peroxidase[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(18): 8605-8611.
- [16] AEBI H. Catalase *in vitro*. In: Packer L (ed) Methods in enzymology[M]. Orlando: Academic Press, 1984: 121-126.
- [17] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [18] GARCÍA-LUIS A, OLIVEIRA M E M, BORDÓN Y, SIQUEIRA D L, TOMINAGA S, GUARDIOLA J L. Dry matter accumulation in citrus fruit is not limited by transport capacity of the pedicel[J]. Annals of Botany, 2002, 90(6): 755-764.
- [19] HOSSAIN Z, LÓPEZ-CLIMENT M F, ARBONA V, PÉREZ-CLEMENTE R M, GÓMEZ-CADENAS A. Modulation of the antioxidant system in citrus under waterlogging and subsequent drainage[J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166(13): 1391-1404.
- [20] HÄNSCH R, MENDEL R R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl) [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12(3): 259-266.
- [21] ARBONA V, HOSSAIN Z, LÓPEZ-CLIMENT M F, PÉREZ-CLEMENTE R M, GÓMEZ-CADENAS A. Antioxidant enzymatic activity is linked to waterlogging stress tolerance in citrus [J]. Physiologia Plantarum, 2008, 132(4): 452-466.
- [22] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(2): 84-90.
- CHEN Shaoyu. Injury of membrane lipid peroxidation of plant cell[J]. Plant Physiology Communications, 1991, 27(2): 84-90.
- [23] 蔡永萍, 陶汉之, 张玉琼. 土壤渍水对小麦开花后叶片几种生理特性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(2): 110-114.
- CAI Yongping, TAO Hanzhi, ZHANG Yuqiong. The effect of soil waterlogging on several physiological characters of wheat leaf after flowering[J]. Plant Physiology Communications, 2000, 36(2): 110-114.
- [24] 王华, 侯瑞贤, 李晓锋, 朱红芳, 朱玉英, 侯喜林. 浸水胁迫对不结球白菜渗透调节物质含量的影响[J]. 植物生理学报, 2013, 49(1): 29-33.
- WANG Hua, HOU Ruixian, LI Xiaofeng, ZHU Hongfang, ZHU Yuying, HOU Xilin. Effects of waterlogging stress on contents of osmotic adjustment substances in Pak-choi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* Makino) [J]. Plant Physiology Journal, 2013, 49(1): 29-33.
- [25] 曲桂敏, 李兴国, 赵飞, 王鸿霞, 束怀瑞. 水分胁迫对苹果叶片和新根显微结构的影响[J]. 园艺学报, 1999, 26(3): 147-151.
- QU Guimin, LI Xingguo, ZHAO Fei, WANG Hongxia, SHU Huairui. Effect of water stress on microstructure of apple leaves and new-born roots[J]. Acta Horticulturae Sinica, 1999, 26(3): 147-151.

欢迎订阅 2020 年《中国果树》

《中国果树》是中华人民共和国农业农村部主管、中国农业科学院果树研究所主办的技术类期刊,是中国科技核心期刊、全国中文核心期刊。曾荣获第二届国家期刊奖提名奖、农业部优秀科技期刊奖、全国优秀农业期刊一等奖等多项奖励。主要报道我国果树科研新成果、新技术、新优品种,交流果树生产先进经验,普及果树科学技术知识,提供国外果树科技信息等。双月刊,单月10日出版,每期定价10.00元,全年6期共60.00元,全国各地邮局均可订阅,邮发代号:8-106。也可直接汇款至编辑部订阅,免收邮费,如需挂号,每期另加3元;订10套以上挂号邮寄,免收挂号费。

目前,《中国果树》编辑部为进一步扩大期刊的宣传力度,提高杂志影响力,建成开通了“中国果树”微信公众平

台。我们将通过“中国果树”微信公众号向关注的读者发布本刊每期精品文章、果树产业动态资讯和学术会议信息等内容,汇聚新闻、技术、产品、市场等内容,全方位为果树产业服务。公众号每月发布4次内容,每次4~8篇文章。

欢迎扫描二维码关注,也欢迎向本刊及公众号投稿。

地 址:125100 辽宁省兴城市兴海南街98号中国农业科学院果树研究所《中国果树》编辑部

电 话:(0429)3598131 3598276

传 真:(0429)3598132

E-mail:zggsbjb@vip.163.com(编辑部)、
zggsgbb@126.com(广告部)

网 址:www.zggskj.com

