

文章编号: 1001-1498(2010) 01-0044-09

涝渍胁迫对转多基因库安托杨生长及生理性状的影响

李环^{1,2*}, 丁昌俊^{2,3*}, 苏晓华^{2**}, 沈应柏³, 杜克九¹

(1. 河北农业大学林学院, 河北保定 071001; 2. 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091; 3. 北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083)

摘要: 以库安托杨转多基因株系(D5-9、D5-18、D5-19、D5-20、D5-21、D5-24、D5-26)和未转化株系(对照CK)为试材, 研究不同水分处理(水涝胁迫、浸渍胁迫、正常供水)对其生长及生理性状的影响。结果表明: 随着胁迫的加剧, 各株系株高、根系生长和生物量累积呈下降趋势, 而地径生长有所增加。浸渍、水涝胁迫下对照株系的净光合速率均最低, 分别为 11.99 、 $10.37 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 比正常供水分别减少了 14.0% 和 25.6% ; 浸渍胁迫下 D5-26 的净光合速率最高, 为 $13.95 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$; 水涝胁迫下 D5-19 的净光合速率最高为 $12.01 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。蒸腾速率、水分利用效率、气孔限制值、叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量均下降, 叶绿素 a 的降幅小于叶绿素 b, 叶绿素 a/b 值先降后升, 而气孔导度和细胞间隙 CO_2 浓度增大。PS 的实际光化学效率、电子传递速率、潜在光化学活性和最大光化学效率均降低, 初始荧光产量和最大荧光产量增加。涝渍胁迫对所有供试材料的生长及光合、叶绿素荧光等生理性状均有影响, 但对转多基因株系的影响明显较对照小, 且株系间存在差异。以生长、光合参数和叶绿素荧光参数为指标对供试材料进行综合评价, 各株系的抗涝能力从高到低的排序为: D5-26 > D5-19 > D5-18 > D5-21 > D5-9 > D5-20 > D5-24 > CK。

关键词: 杨树; 转多基因; 涝渍胁迫; 生长; 光合作用; 叶绿素荧光

中图分类号: S792.11

文献标识码: A

Effects of Waterlogging Stress on Growth and Physiological Characters in Multiple Transgenic *Populus × euramericana* 'Guariento'

LI Huan^{1,2}, DING Chang-jun^{2,3}, SU Xiao-hua², SHEN Ying-bai³, DU Ke-jiu¹

(1. College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, Hebei, China; 2. Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China; 3. Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: Effects of different water treatments (waterlogging stress, light-waterlogging stress, normal water supply) on growth and physiology of multiple transgenic *Populus × euramericana* 'Guariento' (D5-9, D5-18, D5-19, D5-20, D5-21, D5-24, D5-26) were studied. The results showed that: Along with waterlogging stress intensifying, high growth, root growth and biomass accumulation of the multiple transgenic plants decreased, and the diameter of stem increased. Net photosynthetic rate decreased: The minimum was CK in the light-waterlogging stress treatment ($11.99 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 14.0% lower than normal water supply) and the waterlogging stress treatment ($10.37 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 25.6% lower than normal water supply), whereas the maximum was D5-26 ($13.95 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) in the light-waterlogging stress treatment and D5-19 ($12.01 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) under waterlogging stress.

收稿日期: 2008-05-15

基金项目: 国家 973 项目 (2009CB119107), 国家转基因生物新品种培育科技重大专项 (2009ZX08009-098B)

作者简介: 李环 (1981—), 河北石家庄人, 硕士, 主要研究林木抗逆育种. E-mail: lihuan8112@126.com; 丁昌俊 E-mail: changjund@126.com

* 同等贡献.

** 通讯作者: 研究员, 主要从事林木遗传育种研究. E-mail: suxh@caf.ac.cn

Transpiration rate, water use efficiency, stomatal limit, chlorophyll a content, chlorophyll b content, total chlorophyll content, PS photochemical efficiency, electron transfer rate, potential fluorescence efficiency and maximum fluorescence efficiency of the multiple transgenic plants all decreased, but the reduction of chlorophyll a content was lower than chlorophyll b content. However, stomatal conductance, intercellular CO₂, minimal fluorescence and maximum fluorescence increased. Waterlogging stress suppressed the growth, photosynthesis and chlorophyll fluorescence, and effects of the multiple transgenic plants were lighter and different. Growth, photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters were used to comprehensive evaluation of all the plants, the sequence of waterlogging resistance ability was: D5-26 > D5-19 > D5-18 > D5-21 > D5-9 > D5-20 > D5-24 > CK.

Key words: poplar; multiple transgenic; waterlogging; growth; photosynthesis; chlorophyll fluorescence

水分是决定植物生态系统生产率的首要因素,但水分过多(涝害)或过少(旱害)对植物生长都不利^[1]。我国是一个洪涝灾害比较严重的国家,大约有2/3国土面积存在不同程度的涝害,1.8万 km 的海岸线、众多的江河、面积广阔的湖泊和大型水库,形成了大面积的高水位低湿地、季节性积水地、沼泽地,且每年有增加之势。特别是长江、黄河流域由于生态环境的恶化,洪涝灾害频繁发生,给人民的生命财产带来了巨大损失。林木对环境的改善起着非常重要的作用,但现有抗涝性强的种植材料缺乏。相关文献表明^[2-4],淹水情况下,木本植物各个阶段的生长发育都受到影响,也常常导致植物死亡,从而破坏生态环境。

杨树速生、优质、用途广泛,在生态环境和木材供应方面发挥着重大作用,受到人们的普遍重视。但有关杨树抗涝性的研究较少^[5-6],且集中在形态、生理反应方面,对其抗涝性的评价选择研究尚未见报道。因此,开展杨树抗涝性研究,评价筛选出抗涝能力强的杨树新品系,对于杨树在我国涝害多发地区经济建设及生态保护和恢复中发挥更大作用具有重要意义。通过基因工程手段改良杨树现有良种的抗涝性,可以在短时间内获得理想的种植材料。库安托杨(欧美杨 108)是全国重点推广良种,本研究以利用转基因技术获得的具有抗涝基因(透明颤菌血红蛋白基因 *Vgb*)等多个基因的库安托杨(*Populus × euramericana* 'Guariento')植株为材料,在温室进行涝渍胁迫试验,通过生长、光合作用、叶绿素荧光等生理指标的测定与比较,从中选出综合表现较好的优良株系,为我国涝害频发地区抗涝杨树新品系选育及推广利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究以转枯草杆菌果聚糖蔗糖酶基因

(*SacB*)、透明颤菌血红蛋白基因(*Vgb*)、双价抗蛀干害虫基因(*BtCry3A + OC-*)、调节基因 *JERF36* 及报告基因 *NPT* 等外源基因得到的,经 PCR、Southern 杂交和 *BtCry3A* ELISA 等分子检测含有上述 5 个外源基因的库安托杨抗性植株^[7]为材料,编号为 D5-9、D5-18、D5-19、D5-20、D5-21、D5-24、D5-26。以未转化库安托杨为对照,编号为 CK。

1.2 试验处理

试验在中国林业科学研究院现代化温室内进行,温室顶部有天窗,下雨时关闭,其它时间全部开放,保证空气流通。温室全部由玻璃制成,透光良好,6—9 月份晴天上午 9:00—11:00 室内有效光辐射(*PAR*)约为 800 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,室内 CO₂ 浓度约 380 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。温室内有风扇湿帘、遮阳网等控温设施,平均温度控制在 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

各株系插穗采自生长一致的 1 年生苗,大小质量尽可能保持一致,剪成 15 cm 长穗条,于 2007 年 3 月 16 日扦插于塑料盆中,盆高 30 cm,内径 25 cm,基质由草炭土、珍珠岩、沙土以 3:1:1 比例混匀配制。每盆扦插 1 穗,共 72 盆,在充分水肥供应条件下培养。

2007 年 6 月 4 日,苗高约 80 cm 左右时开始涝渍处理,至 9 月 9 日结束。涝渍胁迫试验采用完全随机区组设计,共有正常供水、浸渍胁迫和水涝胁迫 3 个水分处理,8 个株系,每个处理每株系 3 次重复。浸渍胁迫和水涝胁迫处理每塑料盆外再套一塑料盆,并垫上塑料布,使不漏水。每天早晚补足各处理亏缺水分,正常供水保持土壤相对含水量为 70% ~ 80%;浸渍胁迫保持水面与基质齐平,多余水分控制漏出,使土壤水分含量处于充分饱和状态;水涝胁迫用刻度标记保持盆内水面高于基质 2 cm 积水,使土壤水分含量达到过饱和。

1.3 试验方法

1.3.1 生长量与生物量的测定 生长量共测定 2

次,分别于涝渍胁迫试验开始前和结束后,用刻度尺准确测量株高,游标卡尺测量地径,2次结果相减即得胁迫期间生长量。涝渍胁迫试验结束后在株高、地径的测量基础上,从各处理各株系选3株生长中等苗,全株挖出,洗净,分根、茎、叶3部分放入烘箱105℃杀青0.5h,然后80℃烘约72h至恒质量。用1/100电子天平称取各处理各株系干物质质量。

1.3.2 瞬时光合参数的测定 采用LI-6400便携式光合作用测定系统(美国LI-COR公司),分别于处理后第5、11、21、31、51、94天在晴朗无云的上午8:30—11:30测定植物功能叶片的净光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)、气孔导度(G_s)、细胞间隙 CO_2 浓度(C_i)。仪器使用开放式气路,控制 CO_2 浓度为 $400 \mu mol \cdot mol^{-1}$ 左右;测定光为人工光源,光合有效辐射(PAR)为 $800 \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$,环境温度和大气湿度没有特别控制。每处理每株系取第7片功能叶测定,设3次重复。瞬时水分利用效率(WUE_i)及气孔限制值(L_s)按下式计算:

$$WUE_i = P_n / T_r \quad L_s = 1 - C_i / C_a$$

式中: C_a 为空气中 CO_2 浓度,以所有测定结果的均值为指标,分析比较不同处理间的差异。

1.3.3 活体叶绿素荧光参数的测定 采用PAM-2100便携式脉冲调制叶绿素荧光仪(德国WALZ公司),于9月8日涝渍胁迫试验结束前晴朗的上午8:30—11:30测定光适应状态下PSII的实际光化学效率($PSII$)、电子传递速率(ETR);暗适应状态下初始荧光产量(F_0)、最大荧光产量(F_m)、可变荧光(F_v)、PSII的潜在光化学活性(F_v/F_0)及最大光化学效率(F_v/F_m)^[8]。每处理各株系取第7片功能叶测定,设3次重复。

1.3.4 叶绿素含量的测定 每处理各株系分别于处理后第10、20、30、94天取植株第8片功能叶,设3

次重复,遮光保存。叶表面洗净晾干后,立即采用80%丙酮浸提比色法测定叶绿素含量^[9]。

1.3.5 数据分析及数学模型 利用Excel和SPSS16.0统计软件对观测数据进行统计分析,绘图和制表。采用模糊数学中隶属函数法,对各株系的评价指标求其隶属值,对供试各株系进行抗涝能力综合评价,公式如下^[10]:

$$X(\mu) = (X - X_{min}) / (X_{max} - X_{min}) \quad (1)$$

$$X(\mu) = 1 - (X - X_{min}) / (X_{max} - X_{min}) \quad (2)$$

式(1)、(2)中: X 为某株系某一指标的测定值, X_{max} 为某一测定指标的最大值, X_{min} 为该指标中的最小值。若某一指标与抗涝性呈负相关,可通过反隶属函数(公式2)计算其抗涝性隶属函数值。将各指标的具体抗涝隶属值累加,求取各株系的抗涝性平均值^[11],平均值越大,其抗涝性越强。

2 结果与分析

2.1 涝渍胁迫对转多基因库安托杨生长的影响

2.1.1 涝渍胁迫对转多基因库安托杨株高、地径的影响 多数情况下涝渍胁迫抑制了木本植物高生长,但抗涝性强的植物受影响程度较小。从表1可以看出:水涝胁迫处理的各株系株高增长均低于正常供水和浸渍胁迫,D5-18、D5-19、D5-20、D5-21和D5-26在浸渍胁迫处理下平均株高高于正常供水;随着胁迫的加剧,涝渍胁迫对各株系生长的不利影响越来越大。除对照CK和D5-24外,其它各转多基因株系水涝胁迫处理的地径增长高于正常供水;除D5-24外,各转多基因株系在2种胁迫下的平均株高和平均地径均高于对照CK,且生长差异明显。这些表明,转多基因株系的抗涝能力优于对照,不同株系抗涝能力不同。

表1 不同水分胁迫处理下各株系间株高和地径净生长的多重比较

株系	正常供水		浸渍胁迫		水涝胁迫	
	株高/cm	地径/mm	株高/cm	地径/mm	株高/cm	地径/mm
CK	97.8 ±3.4 bc	4.02 ±0.45 b	83.0 ±4.7 c	3.87 ±0.48 c	42.3 ±1.8 c	3.55 ±0.32 cd
D5-9	121.5 ±2.7 abc	5.11 ±0.53 ab	108.9 ±3.3 bc	4.55 ±0.52 bc	80.5 ±5.5 ab	6.04 ±0.49 ab
D5-18	110.6 ±2.6 abc	4.74 ±0.57 ab	128.0 ±3.4 ab	5.45 ±0.17 abc	74.8 ±5.2 ab	7.34 ±0.34 a
D5-19	124.0 ±3.1 ab	4.37 ±0.17 ab	136.3 ±3.8 ab	4.99 ±0.54 bc	79.5 ±5.8 ab	5.78 ±0.61 abc
D5-20	95.1 ±2.8 c	4.11 ±0.28 b	121.0 ±3.8 ab	5.88 ±0.52 ab	72.6 ±5.6 ab	4.76 ±0.62 bcd
D5-21	116.0 ±0.9 abc	5.40 ±0.14 ab	119.6 ±3.9 ab	5.09 ±0.47 bc	64.0 ±3.4 abc	5.85 ±0.36 abc
D5-24	134.6 ±3.0 a	5.71 ±0.61 a	109.9 ±5.2 bc	5.46 ±0.43 abc	52.6 ±2.8 bc	3.04 ±0.31 c
D5-26	114.3 ±3.4 abc	4.64 ±0.27 ab	148.4 ±4.4 ab	6.81 ±0.20 a	89.6 ±4.9 a	6.63 ±0.42 ab

注:表中不同小写英文字母表示0.05水平差异显著。

2.1.2 涝渍胁迫对转基因库安托杨生物量的影响 在涝渍胁迫条件下, 苗木的生物量积累逐渐下降, 但不同植物下降程度有明显差异^[12]。在本试验中, 各株系对胁迫的反应可分为 2 个明显的类型。D5-18、D5-19、D5-20、D5-26 这 4 个株系的生物量在浸渍胁迫下高于正常供水, 而在水涝胁迫下则显著降低 (D5-26 除外); 其它株系的生物量则随着胁迫的加剧逐渐下降, 其中, D5-26 在水涝与浸渍胁迫下生物量最大, 并且均大于正常供水, 表明 D5-26 对涝渍胁迫具有较强的抗性 (图 1)。总体上, 各转基因株系在胁迫条件下的生物量均高于对照。

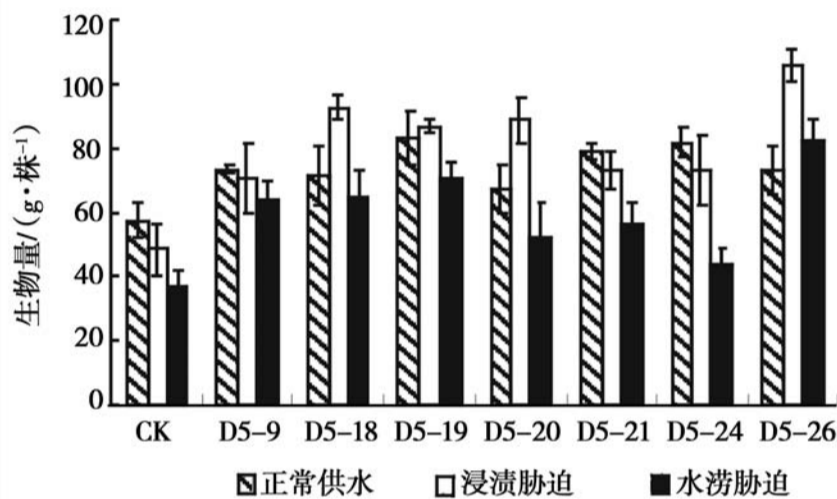


图 1 涝渍胁迫对转基因库安托杨生物量的影响

2.1.3 涝渍胁迫对转基因库安托杨根系生长的影响 涝渍胁迫处理 1 个月后, 各株系在茎基部均长出一些新根。在胁迫处理结束后, 经涝渍胁迫处理的各株系插穗上的皮孔变粗, 形成愈伤组织, 并在茎基部新生了大量的不定根, 以代替大量死亡的老根完成生命活动。由图 2 可看出: 涝渍胁迫对各株系根生长的影响显著, D5-18、D5-20、D5-26 浸渍胁迫处理的根干质量高于正常供水, 其余各株系的根干质量为正常供水 > 浸渍胁迫 > 水涝胁迫 (老根加新根)。对照 CK 胁迫处理的平均根干质量显著低于各转基因株系, 各转基因株系间差异显著。

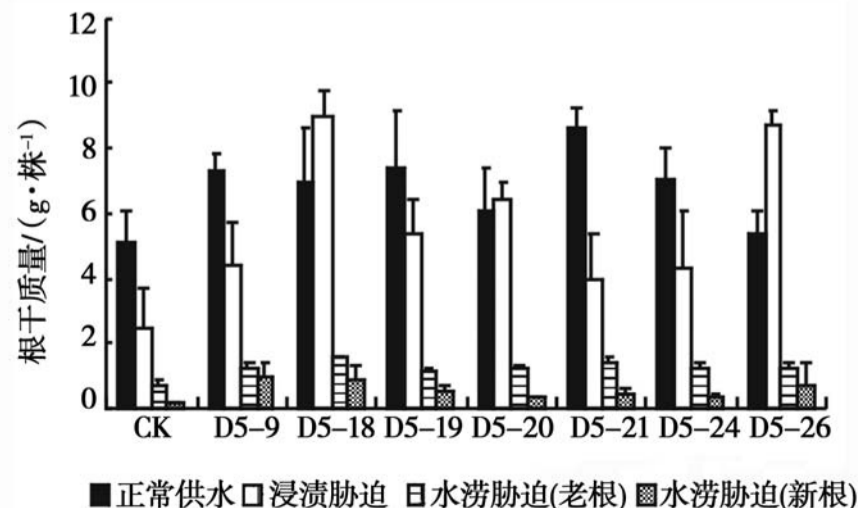


图 2 涝渍胁迫对转基因库安托杨根干质量的影响

2.2 涝渍胁迫对转基因库安托杨光合作用参数的影响

2.2.1 涝渍胁迫时间对转基因库安托杨光合作用参数的影响 由图 3 可看出: 在胁迫处理第 5 天时, 正常浇水的净光合速率 (P_n)、蒸腾速率 (T_r)、气孔导度 (G_s)、胞间 CO_2 浓度 (C_i) 均显著低于其他 2 种胁迫处理, 这可能是由于正常供水提供的土壤水分暂时未能满足生长所需, 而短时间的胁迫处理对生长影响很小。随着时间的延长, 胁迫处理的 P_n 、 G_s 逐渐下降, T_r 先升高后又下降, 而 C_i 略有上升。第 31 天后, 水涝胁迫处理的 P_n 、 T_r 、 G_s 均显著低于正常供水和浸渍胁迫, 而浸渍胁迫和正常供水差异不显著, 且变化规律相同。在正常供水和浸渍胁迫下, 蒸腾速率在第 31 天后有增加, 可能是由于杨树株系经历一段时间水分充足供应后, 以提高蒸腾来抵抗胁迫。

2.2.2 涝渍胁迫对转基因库安托杨净光合速率、蒸腾速率的影响 由图 4 可看出: 随着胁迫的加剧, 供试各株系的净光合速率总体呈下降趋势。浸渍胁迫、水涝胁迫处理下, 对照株系的净光合速率均最低, 分别为 11.99 、 $10.37 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 比正常供水分别减少了 14.0% 和 25.6% , 其中, 浸渍胁迫 D5-26 的净光合速率最高为 $13.95 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 比正常供水处理高 6.7% ; 水涝胁迫 D5-19 的净光合速率最高为 $12.01 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。各株系的蒸腾速率变化不大。在正常供水时, 对照 CK 比各转基因株系具有更高的蒸腾速率。随着胁迫的加剧, 对照株系的蒸腾速率呈下降趋势, 而各转基因株系浸渍胁迫下的蒸腾速率高于正常供水, 水涝胁迫与正常供水相差不大。

2.2.3 涝渍胁迫对转基因库安托杨气体交换参数的影响 由表 2 可看出: 随着胁迫的加剧, 各处理的气孔导度为: 浸渍胁迫 > 水涝胁迫 > 正常供水, 处理间差异不显著; 各处理胞间 CO_2 浓度呈上升趋势, 水涝胁迫和浸渍胁迫显著高于正常供水; 瞬时水分利用效率和气孔限制值均下降, 水涝胁迫处理显著低于正常供水。

从图 5 可知: 各株系间的气孔导度、胞间 CO_2 浓度 (C_i)、瞬时水分利用效率 (WUE_i) 和气孔限制值 (L_s) 差异不显著, 其中, 对照 CK 在各处理中 C_i 最高, 但是 WUE_i 和 L_s 最低。

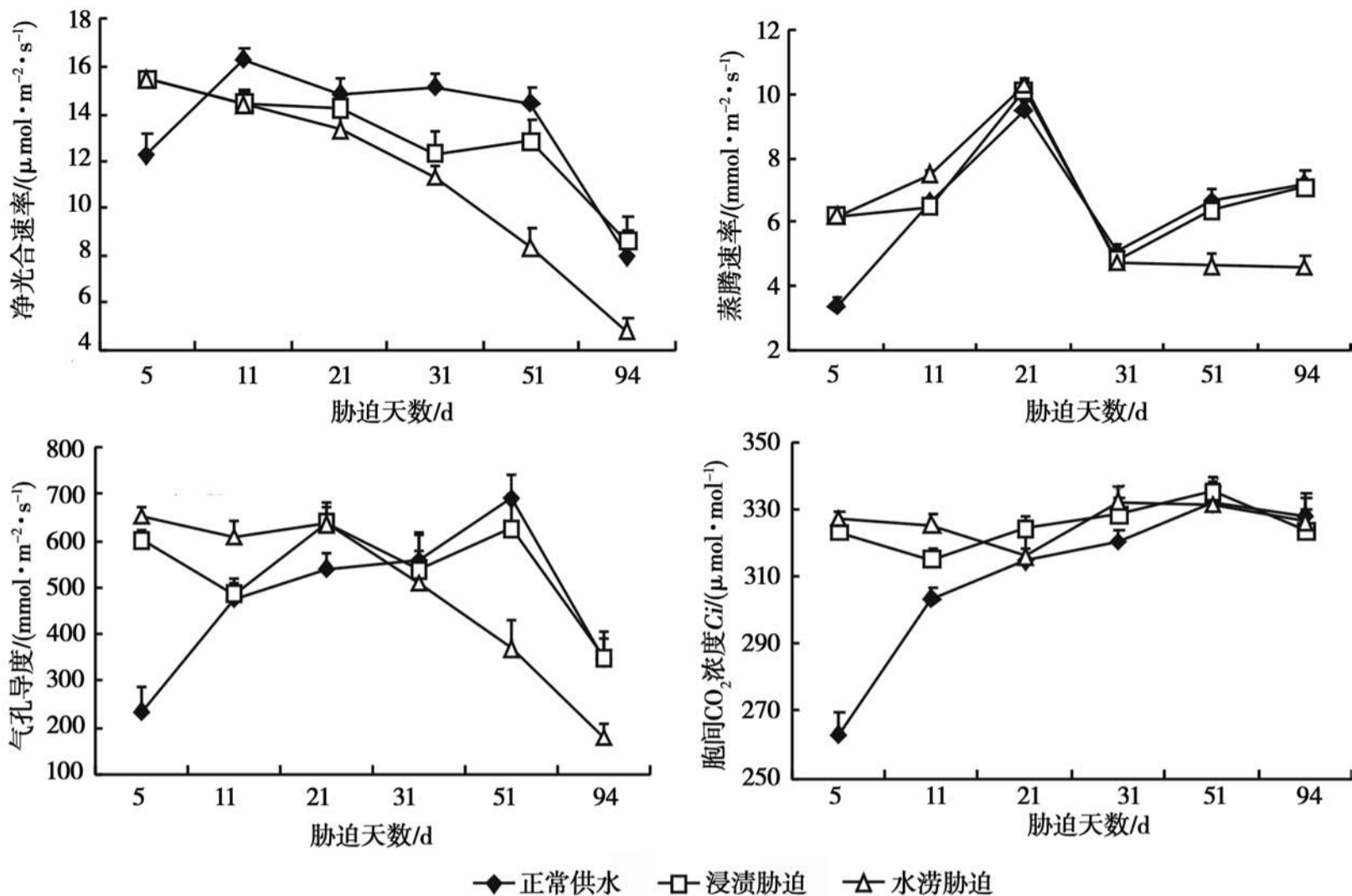


图 3 涝渍胁迫下转多基因库安托杨光合作用参数的变化

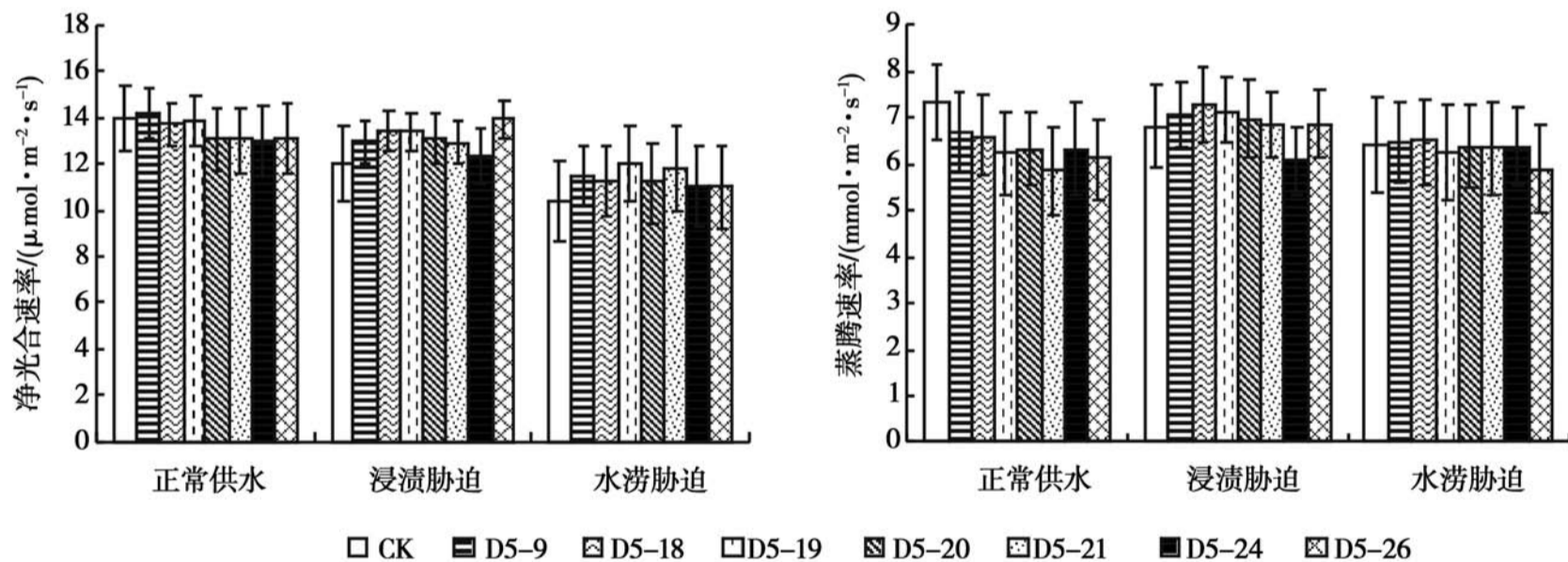


图 4 涝渍胁迫对转多基因库安托杨净光合速率及蒸腾速率的影响

表 2 各处理间气体交换参数的比较

处理	气孔导度 / ($\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	胞间 CO_2 浓度 / ($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)	瞬时水分利用效率 / ($\mu\text{mol}\cdot\text{mmol}^{-1}$)	气孔限制值 / %
正常供水	474.6 ± 24.2 a	310.2 ± 3.8 b	2.41 ± 0.14 a	22.45 ± 0.94 a
浸渍胁迫	544.8 ± 16.7 a	325.3 ± 1.1 a	2.04 ± 0.08 a	18.77 ± 0.29 a
水涝胁迫	495.7 ± 26.5 a	328.7 ± 1.0 a	1.90 ± 0.08 b	17.83 ± 0.25 b

注：表中数字为各株系的平均值，不同英文字母表示 0.05 水平差异显著。

2.3 涝渍胁迫对转多基因库安托杨叶绿素荧光参数的影响

由表 3 可看出：随着胁迫的加剧，PS 的实际光化学效率 (PS)、电子传递速率 (ETR)、潜在光化学活性 (Fv/Fo) 和最大光化学效率 (Fv/Fm) 均显著下降，初始荧光产量 (Fo) 和最大荧光产量 (Fm) 显

著上升。由表 4 看出：各株系的 PS 、 ETR 、 Fo 、 Fm 、 Fv/Fm 差异不显著，其中 D5-9、D5-19、D5-20 和 D5-26 的 PS 、 ETR 高于对照 CK，D5-18、D5-19、D5-20、D5-21 和 D5-24 和 D5-26 的 Fv/Fo 和 Fv/Fm 显著高于 CK。

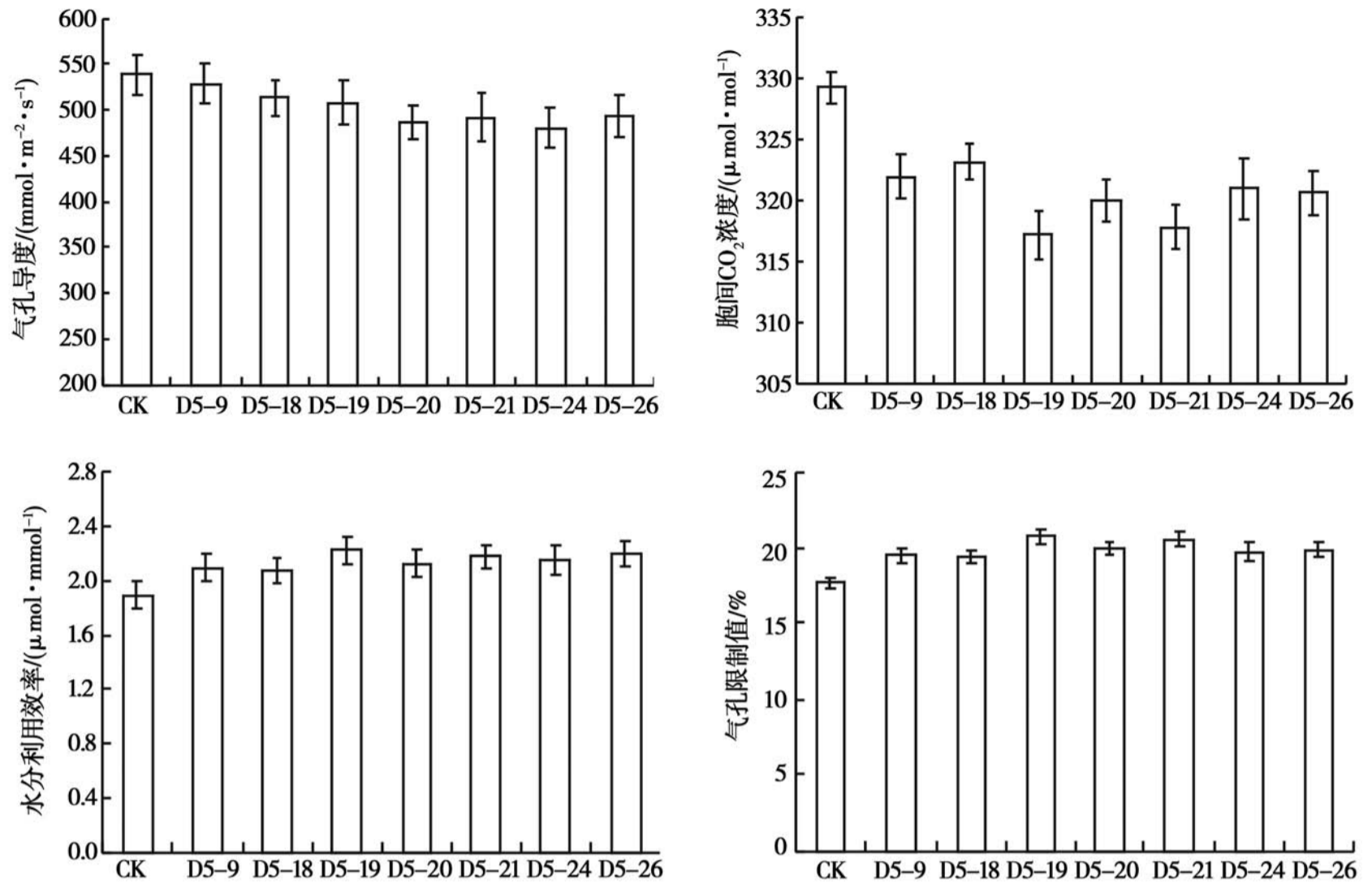


图 5 各株系间气体交换参数的比较

表 3 各处理间活体叶绿素荧光参数的比较

处理	电子传递速率 (<i>ETR</i>)	实际光化学效率 (<i>PS</i>)	初始荧光产量 (<i>Fo</i>)	最大荧光产量 (<i>Fm</i>)	可变荧光 (<i>Fv</i>)	潜在光化学活性 (<i>Fv/Fo</i>)	最大光化学效率 (<i>Fv/Fm</i>)
正常供水	42.34 ± 8.43 a	0.31 ± 0.11 a	0.47 ± 0.08 c	2.47 ± 0.14 b	2.00 ± 0.12 ab	4.30 ± 0.58 a	0.81 ± 0.03 a
浸渍胁迫	36.58 ± 9.52 b	0.28 ± 0.11 a	0.51 ± 0.07 b	2.55 ± 0.03 a	2.04 ± 0.07 a	4.05 ± 0.64 a	0.80 ± 0.03 a
水涝胁迫	23.74 ± 5.97 c	0.17 ± 0.07 b	0.60 ± 0.09 a	2.55 ± 0.02 a	1.95 ± 0.09 b	3.32 ± 0.57 b	0.76 ± 0.03 b

注: 表中数字为各株系的平均值, 不同英文字母表示 0.05 水平差异显著。

表 4 各株系间活体叶绿素荧光参数的比较

株系	电子传递速率 (<i>ETR</i>)	实际光化学效率 (<i>PS</i>)	初始荧光产量 (<i>Fo</i>)	最大荧光产量 (<i>Fm</i>)	可变荧光 (<i>Fv</i>)	潜在光化学活性 (<i>Fv/Fo</i>)	最大光化学效率 (<i>Fv/Fm</i>)
CK	30.52 ± 3.48 a	0.24 ± 0.03 a	0.61 ± 0.04 a	2.54 ± 0.02 a	1.92 ± 0.04 b	3.25 ± 0.24 c	0.76 ± 0.01 b
D5-9	36.15 ± 5.45 a	0.30 ± 0.06 a	0.54 ± 0.02 b	2.49 ± 0.06 a	1.95 ± 0.04 ab	3.68 ± 0.12 bc	0.78 ± 0.01 a
D5-18	32.59 ± 3.89 a	0.23 ± 0.03 a	0.52 ± 0.03 b	2.52 ± 0.03 a	2.00 ± 0.02 ab	3.95 ± 0.24 ab	0.79 ± 0.01 a
D5-19	34.88 ± 3.59 a	0.26 ± 0.04 a	0.50 ± 0.02 b	2.53 ± 0.03 a	2.03 ± 0.02 a	4.14 ± 0.22 ab	0.80 ± 0.01 a
D5-20	37.39 ± 4.02 a	0.27 ± 0.04 a	0.50 ± 0.03 b	2.53 ± 0.03 a	2.03 ± 0.03 a	4.11 ± 0.22 ab	0.80 ± 0.01 a
D5-21	33.85 ± 3.85 a	0.24 ± 0.03 a	0.49 ± 0.02 b	2.53 ± 0.03 a	2.04 ± 0.03 a	4.22 ± 0.19 a	0.81 ± 0.01 a
D5-24	32.50 ± 3.33 a	0.24 ± 0.04 a	0.53 ± 0.02 b	2.55 ± 0.01 a	2.02 ± 0.02 a	3.87 ± 0.17 ab	0.79 ± 0.01 a
D5-26	35.88 ± 2.66 a	0.26 ± 0.03 a	0.55 ± 0.05 b	2.52 ± 0.03 a	1.98 ± 0.05 ab	3.91 ± 0.38 ab	0.78 ± 0.02 a

注: 表中数字为各处理的平均值, 不同英文字母表示 0.05 水平差异显著。

2.4 涝渍胁迫对转多基因库安托杨叶片叶绿素含量的影响

对不同水分胁迫下各株系叶绿素含量测定结果的均值分析表明(图 6): 随着时间的延长, 各处理的叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量、总叶绿素含量和叶绿素 a/b 的比值均呈下降趋势, 叶绿素 a 的下降幅度大于叶绿素 b; 但在胁迫处理近 90 d 时, 除水涝胁迫外,

其它处理各指标显著上升, 可能是植株经历胁迫后, 抗涝机制启动, 在其所能承受的胁迫范围内, 叶绿素降解减缓, 同时又有新的叶绿素合成, 导致叶绿素含量有所上升。各处理间差异显著, 为正常供水 > 浸渍胁迫 > 水涝胁迫, 可见涝渍胁迫会使叶片的叶绿素含量降低。

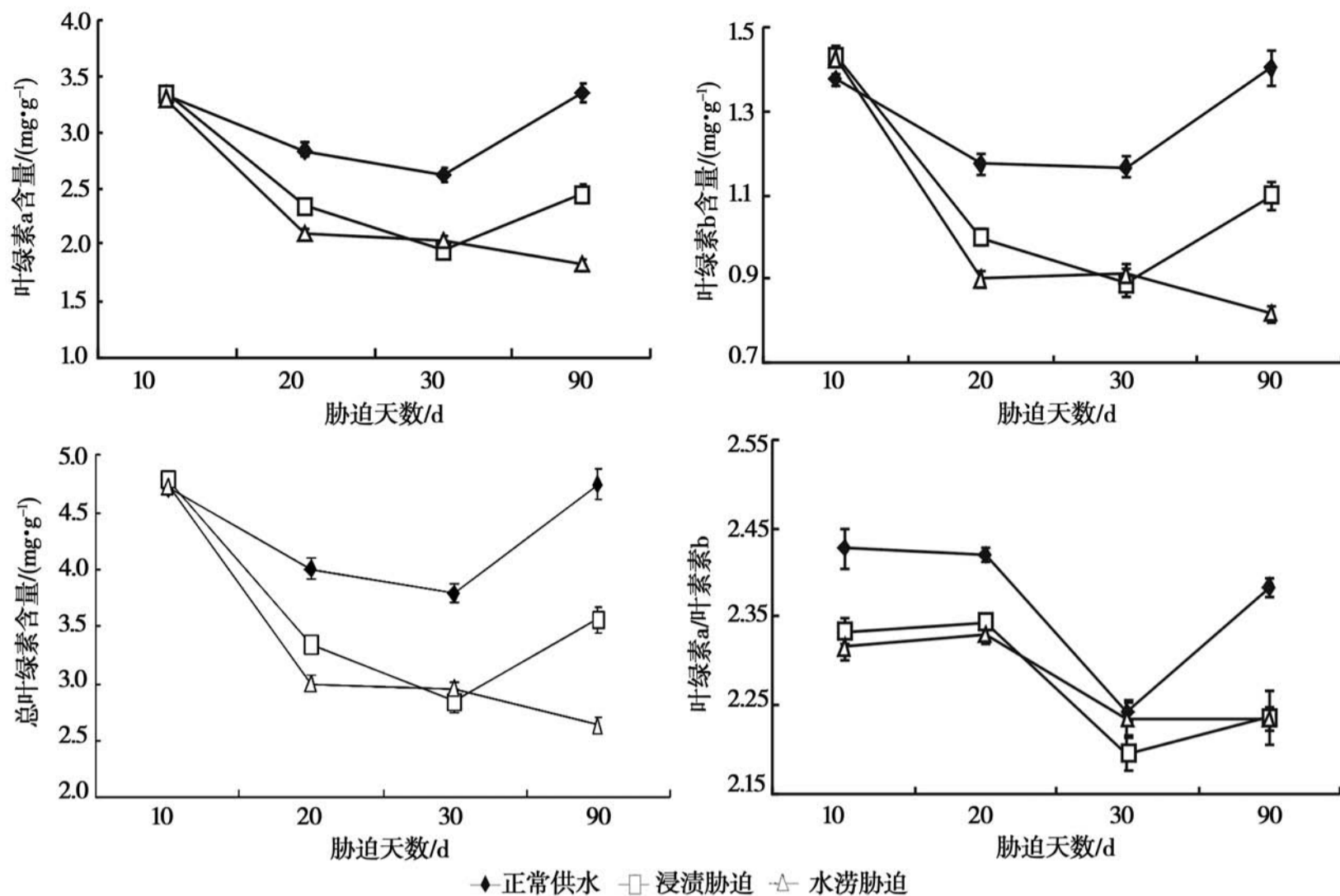


图6 不同水分处理转多基因库安托杨叶片叶绿素含量的变化

2.5 转多基因库安托杨株系抗涝性综合评价

通过隶属函数计算综合值,将综合值的平均值作为抗涝生理反应与适应能力综合指数,对库安托杨各株系的抗涝性进行分析评价,其抗涝能力从高到低的排序为: D5-26 > D5-19 > D5-18 > D5-21 > D5-9 > D5-20 > D5-24 > CK(表5)。这个结果与各转多基因株系对涝渍胁迫的生理反应与适应能力表现基本一致。转多基因株系比未转多基因株系 CK 具有较强的抗涝能力,且各转多基因株系间存有差异,因此,可通过进一步的试验观察,筛选出适宜大面积推广种植的抗涝杨树新品系。

3 结论与讨论

3.1 涝渍胁迫对转多基因库安托杨生长形态的影响

涝渍胁迫对转多基因库安托杨植株的生长产生了不利影响,但植株不同部位对胁迫的时间响应不同。前人研究表明,涝渍环境对植物的影响首先作用于根系,然后使植株在生长、形态等方面发生变化^[13,14]。在涝渍情况下,由于胁迫超过了转多基因库安托杨所能承受的程度,土壤严重缺氧,导致根细胞受到严重伤害,根系活力下降,生长受阻,从而影响了植株地上部分如株高、叶片的生长,引起生长和

生物量的下降。生长和生物量降低的多少反映植物体受胁迫影响的程度。涝渍胁迫条件下,为了适应改变了的环境,转多基因库安托杨植株形成皮孔和不定根^[15],以降低氧气在体内的运输扩散阻力,增加吸氧面积,使得根系组织及根系从周围土壤中获得更多的氧气^[16],从而尽量减轻缺氧的胁迫。

不同库安托杨株系受涝渍胁迫的影响程度不同,转多基因株系的抗涝能力强于未转多基因株系。转入库安托杨植株的透明颤菌血红蛋白基因(*Vgb*)是目前研究的比较成熟的能够增加供氧的抗涝基因,主要在低氧环境下表达^[17]。在涝渍胁迫期间,由于根系缺氧,转入的 *Vgb* 基因被激活,使得转多基因株系的株高、地径生长和生物量累积高于未转多基因株系,在生长方面表现出较强的抗涝性。由于受多种因素影响,转入基因的表达量存在差异,各转多基因株系的抗涝能力不一致。这表明,利用转基因技术将抗逆基因转入现有优良林木品种,从而选育出抗性强林木品种是可行的。

3.2 涝渍胁迫对转多基因库安托杨光合生理性状的影响

涝渍胁迫对转多基因库安托杨光合作用和蒸腾作用的影响显著。转多基因库安托杨净光合速率和蒸腾速率在涝渍胁迫下均出现下降趋势。净光合速

表 5 各株系生长、生理指标隶属函数评价值

株系	处理	株高	地径	生物量	Pn	Tr	$WUEi$	Ls	Fv/Fm	综合评价	位次
CK	正常供水	0.264 7	0.246 4	0.194 1	0.676 0	0.615 6	0.363 2	0.216 3	0.496 2	0.384 1	8
	浸渍胁迫	0.202 2	0.183 3	0.146 7	0.658 1	0.443 2	0.393 8	0.347 0	0.209 2	0.322 9	8
	水涝胁迫	0.032 8	0.262 3	0.100 1	0.552 9	0.441 6	0.507 5	0.317 7	0.495 9	0.338 9	8
	平均	0.166 6	0.230 7	0.147 0	0.629 0	0.500 1	0.421 5	0.293 7	0.400 4	0.348 6	8
D5-9	正常供水	0.682 3	0.544 7	0.493 2	0.700 3	0.527 1	0.457 4	0.340 7	0.681 1	0.553 4	4
	浸渍胁迫	0.482 0	0.351 1	0.427 2	0.742 4	0.474 1	0.451 9	0.402 0	0.312 5	0.455 4	7
	水涝胁迫	0.649 3	0.658 9	0.509 6	0.637 9	0.448 2	0.577 0	0.463 0	0.821 0	0.595 6	2
	平均	0.604 5	0.518 2	0.476 7	0.693 5	0.483 1	0.495 4	0.401 9	0.604 9	0.534 8	5
D5-18	正常供水	0.490 6	0.442 0	0.453 6	0.655 9	0.515 0	0.435 1	0.326 7	0.786 9	0.513 2	6
	浸渍胁迫	0.688 6	0.578 3	0.710 9	0.783 2	0.503 1	0.490 5	0.476 2	0.774 9	0.625 7	2
	水涝胁迫	0.557 0	0.865 4	0.523 2	0.619 2	0.451 6	0.549 4	0.392 7	0.621 4	0.572 5	4
	平均	0.578 7	0.628 6	0.562 6	0.686 1	0.489 9	0.491 7	0.398 5	0.727 7	0.570 5	3
D5-19	正常供水	0.725 4	0.343 3	0.679 7	0.673 0	0.465 9	0.489 7	0.395 6	0.941 6	0.589 3	2
	浸渍胁迫	0.778 7	0.463 3	0.635 4	0.784 7	0.490 1	0.496 5	0.492 6	0.696 0	0.604 7	4
	水涝胁迫	0.632 3	0.617 4	0.614 6	0.678 1	0.420 7	0.655 4	0.591 8	0.705 9	0.614 5	1
	平均	0.712 1	0.474 7	0.643 2	0.711 9	0.458 9	0.547 2	0.493 3	0.781 2	0.602 8	2
D5-20	正常供水	0.216 7	0.272 0	0.370 4	0.599 7	0.475 4	0.435 1	0.328 3	0.903 8	0.450 2	7
	浸渍胁迫	0.612 4	0.685 3	0.659 4	0.757 2	0.464 4	0.504 0	0.530 7	0.757 1	0.621 3	3
	水涝胁迫	0.521 1	0.454 3	0.338 5	0.615 8	0.436 2	0.595 6	0.512 2	0.675 6	0.518 7	6
	平均	0.450 1	0.470 5	0.456 1	0.657 6	0.458 7	0.511 6	0.457 1	0.778 8	0.530 1	6
D5-21	正常供水	0.584 5	0.622 0	0.604 9	0.598 2	0.414 2	0.485 8	0.418 2	0.870 7	0.574 8	3
	浸渍胁迫	0.598 6	0.487 2	0.460 7	0.740 1	0.444 5	0.469 8	0.456 0	0.639 0	0.537 0	6
	水涝胁迫	0.382 3	0.627 8	0.390 5	0.661 1	0.430 0	0.624 3	0.507 0	0.884 2	0.563 4	5
	平均	0.521 8	0.579 0	0.485 4	0.666 5	0.429 6	0.526 6	0.460 4	0.798 0	0.558 4	4
D5-24	正常供水	0.911 2	0.706 5	0.652 4	0.590 0	0.479 5	0.468 9	0.337 9	0.746 8	0.611 7	1
	浸渍胁迫	0.492 9	0.580 0	0.458 6	0.687 7	0.342 2	0.560 7	0.628 3	0.679 3	0.553 7	5
	水涝胁迫	0.197 7	0.181 8	0.206 1	0.605 5	0.434 8	0.537 6	0.327 3	0.684 2	0.396 9	7
	平均	0.533 9	0.489 4	0.439 0	0.627 7	0.418 8	0.522 4	0.431 2	0.703 4	0.520 7	7
D5-26	正常供水	0.554 2	0.415 5	0.488 0	0.600 1	0.448 8	0.458 1	0.327 6	0.948 9	0.530 2	5
	浸渍胁迫	0.909 7	0.916 4	0.872 7	0.832 2	0.447 5	0.563 7	0.543 2	0.815 4	0.737 6	1
	水涝胁迫	0.795 3	0.750 8	0.788 8	0.604 0	0.370 6	0.615 1	0.461 7	0.240 3	0.578 3	3
	平均	0.753 1	0.694 2	0.716 5	0.678 8	0.422 3	0.545 6	0.444 2	0.668 2	0.615 4	1

率的下降首先是由于根系缺氧导致库安托杨叶片气孔关闭,增大 CO_2 向叶片扩散的阻力。随着胁迫的加剧,转多基因库安托杨叶片 PS 的原初光能转化效率和潜在活性降低,其潜在光合活力受到抑制,光合电子传递及光合磷酸化受阻,净光合速率降低。叶肉细胞光合活性的降低成为光合下降的决定因素^[18]。叶绿素含量的降低是光合作用减弱的主要原因之一^[19]。转多基因库安托杨叶绿素含量与光合能力呈相同变化趋势,其叶片叶绿素含量的下降,在一定程度上影响了叶片的光合能力。涝渍胁迫使转多基因库安托杨叶绿素 a 和叶绿素 b 含量持续降低,二者比值也显著下降,但前者的下降幅度较大。叶绿素的降解是植物叶片对涝渍的生化响应^[20]。由于叶绿素 a 更多地结合在光系统反应中心上,而

叶绿素 b 主要结合在捕光色素蛋白复合物上^[21],因此表明,转多基因库安托杨受到涝渍胁迫后,通过叶片叶绿素 a 与叶绿素 b 的含量变化来调节光合作用机制,以维持其高于未转多基因库安托杨的光合能力。

3.3 林木抗涝性评价指标

生长量、生物量累积、光合参数、叶绿素荧光参数是林木抗涝性评价的可靠指标。植物的抗涝能力主要取决于形态结构和生理代谢对缺氧的适应能力;抗涝性不同的林木在涝渍胁迫下,其形态特征、生长和生理代谢差异明显。生长量、生物量累积等生长表现是植物抗涝能力的最直接体现。光合作用是植物体内重要的代谢过程,其强弱对于植物生长发育及抗逆性都具有重要的影响^[22];但不同的树种

在涝渍胁迫下光合作用的变化规律不同,如衣英华等^[23]就得出了与本研究不同的结果。因此,可用光合作用参数作为评价林木抗涝性的指标,但应考虑树种的差异。研究表明^[24,25],抗涝能力不同的植物在涝渍胁迫下,其叶绿素荧光参数PS 实际光化学效率、电子传递速率、潜在光化学活性和最大光化学效率差异明显。因此,叶绿素荧光动力学参数可用作植物光合作用与环境关系的内在探针^[26];然而林木抗涝机制复杂,林木对涝渍胁迫的抗性是多方面协同调节的结果,必须深入研究林木形态结构、生长、生理生化反应,进一步阐明林木抗涝性机理,综合分析各指标的变化和相互关系,建立准确可靠的林木抗涝性品种评价筛选体系,从而为林木抗涝性育种提供科学依据。

3.4 抗涝性杨树新品系筛选

本研究综合分析涝渍胁迫对转多基因库安托杨生长、光合作用参数、叶绿素荧光参数等指标的影响,通过隶属函数评价得出各株系抗涝能力从高到低的排序为: D5-26 > D5-19 > D5-18 > D5-21 > D5-9 > D5-20 > D5-24 > CK。转多基因库安托杨株系比未转基因株系具有较强的抗涝能力,且转基因株系间抗涝能力存在差异,这与其实地的抗涝表现一致。供试转多基因杨树株系生长表现良好,抗涝能力强,通过进一步的大田试验鉴定,可作为我国涝害频发地区抗涝杨树新品系选育的育种材料。

参考文献:

- [1] 胡田田,康绍忠. 植物淹水胁迫响应的研究进展[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2005,34(1):18-24
- [2] 卓仁英,陈益泰. 木本植物抗涝性研究进展[J]. 林业科学研究,2001,14(2):215-222
- [3] Melissa S B, Katharine A P, Russell S. Influence of newly imposed salinity and waterlogging on *Eucalyptus gracilis* in South Australia [J]. *Tree Physiology*, 2005, 25: 1339-1346
- [4] Vicent Arbona, Zahed Hossain, Mar á F, *et al.* Antioxidant enzymatic activity is linked to waterlogging stress tolerance in citrus[J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 132: 452-466
- [5] 王 生. 淹水胁迫对杨树无性系苗期生长及生理的影响[J]. 云南林业科技,1998(2):28-33
- [6] 曹福亮,罗伯特·法门. 人工淹水处理对美洲黑杨生理特性的影响[J]. 南京林业大学学报,1993,17(2):18-24
- [7] Wang J G, Su X H, Ji L L, *et al.* Multiple transgenes *Populus × euramericana* 'Guaiento' plants obtained by biolistic bombardment [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2007, 52(2):224-230
- [8] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51:659-668
- [9] 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,2000:134-137
- [10] 王 萍,王 荣,刘庆华,等. 几个牡丹品种耐涝性的比较[J]. 华中农业大学学报,2008,27(2):309-312
- [11] 杨敏生,裴保华,朱之悌. 白杨双交杂种株系抗旱性鉴定指标分析[J]. 林业科学,2002,38(6):36-42
- [12] 唐罗忠,徐锡增,方升佐. 土壤涝渍对杨树和柳树苗期生长及生理性状影响的研究[J]. 应用生态学报,1998,9(5):471-474
- [13] Ahmed S, Nawata E, Hosokawa M, *et al.* Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging[J]. *Plant Science*, 2002, 163: 117-123
- [14] 张培通,徐立华,杨长琴,等. 涝渍对棉花产量及其构成的影响[J]. 江苏农业学报,2008,24(6):785-791
- [15] Colmer T D. Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep water rice [J]. *Annals of Botany*, 2003, 91: 301-309
- [16] Thomas A L, Guerreiro S M C, Sodek L. Aerenchyma formation and recovery from hypoxia of the flooded root system of nodulated soybean[J]. *Annals of Botany*, 2005, 97: 1191-1198
- [17] 李义良. 转基因杨树的分子检测及抗逆性评价[D]. 北京:北京林业大学,2007
- [18] 寇伟锋,刘兆普,陈铭达,等. 不同浓度海水对油葵幼苗光合作用和叶绿素荧光特性的影响[J]. 西北植物学报,2006,26(1):73-77
- [19] 隆小华,刘兆普,蒋云芳,等. 海水处理对不同产地菊芋幼苗光合作用及叶绿素荧光特性的影响[J]. 植物生态学报,2006,30(5):827-834
- [20] Fernandez M D. Changes in photosynthesis and fluorescence in response to flooding in emerged and submerged leaves of *Pouteria orinocoensis*[J]. *Phosynthetica*, 2006, 44(1):32-38
- [21] 陈芳清,郭成圆,王传华,等. 水淹对秋华柳幼苗生理生态特征的影响[J]. 应用生态学报,2008,19(6):1229-1233
- [22] 惠红霞,许 兴,李前荣. 外源甜菜碱对盐胁迫下枸杞光合功能的改善[J]. 西北植物学报,2003,23(12):2137-2142
- [23] 衣英华,樊大勇,谢宗强,等. 模拟淹水对枫杨和栓皮栎气体交换、叶绿素荧光和水势的影响[J]. 植物生态学报,2006,30(6):960-968
- [24] 冯建灿,胡秀丽,毛训甲. 叶绿素荧光动力学在研究植物逆境生理中的应用[J]. 经济林研究,2002,20(4):14-18,30
- [25] 罗 俊,张木清,林彦铨,等. 甘蔗苗期叶绿素荧光参数与抗旱性关系研究[J]. 中国农业科学,2004,37(11):1718-1721
- [26] 温国胜,田海涛,张明如,等. 叶绿素荧光分析技术在林木培育中的应用[J]. 应用生态学报,2006,17(10):1973-1977