

短命植物伊犁郁金香和鸢尾蒜的种子及其幼苗对渗透胁迫的响应

唐安军^{1,2}, 田美华^{2,3}, 龙春林¹

(1 中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204 2 中国科学院研究生院, 北京 100049

3 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南 勐腊 666303)

摘要:早春短命植物鸢尾蒜 (*Ixiolirion tataricum*) 和伊犁郁金香 (*Tulipa illensis*) 是两种优良的野生花卉种质资源。在模拟渗透胁迫的条件下, 分别研究了这两种短命植物种子萌发响应特点及其幼苗脯氨酸含量的变化。结果表明:随着水势的降低, 鸢尾蒜 (*Ixiolirion tataricum*) 和伊犁郁金香 (*Tulipa illensis*) 的种子的萌发率逐渐降低, 乃至丧失萌发力; 与此相反, 其幼苗的脯氨酸含量却增加。可以认为, 它们在萌发阶段对水分胁迫的响应特点决定了其分布和丰富度。

关键词: 短命植物; 渗透胁迫; 种子萌发; 脯氨酸; 干旱适应机制

中图分类号: S 682 2⁺ 63 文献标志码: A 文章编号: 1001-4705(2008)06-0021-04

Osmotic Stress Responses of Seed Germination and Resultant Seedling of Ephemerals of *Ixiolirion tataricum* (Pall.) Herb. and *Tulipa illensis* Rgl

TANG An-jun^{1,2}, TIAN Mei-hua^{2,3}, LONG Chun-lin¹

(1 Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China

2 Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, China)

Abstract The two desert short-lived plants of *Ixiolirion tataricum* and *Tulipa illensis* Rgl are wild perfect flowers. Changes of seedling proline content and seed responses of the two ephemeral plants to simulated osmotic stress in Polyethylene Glycol 8000 (PEG) solutions were investigated. With the decreasing water potential, the final germination percentages of seeds of *I. tataricum* and *T. illensis* significantly decreased from 87% to 0 and 96% to 0, respectively. In contrast, proline content of their seedlings produced by seeds treated by PEG solutions significantly increased. Thus, we included that osmotic stress had significantly effects on both the final germination and seedling proline content of *Ixiolirion tataricum* and *Tulipa illensis*, respectively. Moreover, seed germination success may reflect upon population numbers, affecting the distribution and abundance of the two short-lived plants.

Key words short-lived plant; osmotic stress; germination; proline content; drought-adaptive mechanism

收稿日期: 2008-02-27

基金项目: 国家科技部基础平台项目 (2005 DKA 21006) 和云南省自然科学基金 (30170102)。

作者简介: 唐安军 (1976-), 男, 湖南永州人; 博士研究生, 主要从事种子生理生态和保护生物学研究; E-mail: tanganjun@mail.kib.ac.cn。

通讯作者: 龙春林, E-mail: long@mail.kib.ac.cn。

[5] Beligni MV, Lamattina L. Is nitric oxide toxic or protective? *Trend Plant Sci* 1999, 4: 29-300

[6] Beligni MV, Lamattina L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta* 2000, 210: 215-221

[7] 程红焱, 宋松泉. 植物一氧化氮生物学的研究进展 [J]. 植物学通报, 2005, 22(6): 723-737

[8] 张绪成, 上官周平, 高世铭. NO对植物生长发育的调控机制 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(4): 812-818

[9] 宋松泉, 程红焱, 龙春林, 等. 种子生物学研究指南 [M]. 北京: 科学出版社, 2005: 57-61.

[10] Leshem YY, Haramaty E. The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn. foliage. *J Plant Physiol* 1999, 148: 258-263

荒漠的自然环境在时空上是多变的。自然选择促成了在此生长的植物某些适应机制的发展,以躲避或忍耐时空上不利的环境条件^[1~5]。决定其分布、丰富度和生境特异性的物种特性的分析,是生态学研究的核心^[6]。近来,沙漠植物的种子萌发模式及其幼苗建成策略的研究越发倍受关注^[7~12]。在决定其有限的丰富度和狭窄的分布范围中,植物的繁殖生物学和种子萌发需求起着重要的作用。因此,研究短命植物种子萌发阶段的干旱适应特点,对于深刻了解此类植物建成阶段的生态生理适应特征是十分有意义的。在我国,尤其是新疆,分布着一类重要的植物类群,即短命植物^[13]。除在植物区系和植物地理学研究中具有重要价值外,它们特殊的适应严酷环境的机制的阐明,对生态恢复和种植资源的利用和保存,具有不可替代的作用。

早春短命植物鸢尾蒜 (*Ixolirion tataricum* (Pall.) Herb.) (Amaryllidaceae) 和伊犁郁金香 (*Tulipa illensis* Rgl.) (Liliaceae), 是两种优良的花卉种质资源^[13~14]。诸多学者对它们的分类、生境^[13]、组织培养^[15]、种子萌发^[16]等方面进行了深入或初步的研究,但有关其种子萌发阶段及其幼苗忍耐水势胁迫的研究,还未见报道。在种子萌发及其幼苗建成的早期阶段,水势是非常重要的制约因素^[13~17]。因此,以早春短命植物鸢尾蒜 (*I. tataricum*) 和伊犁郁金香 (*T. illensis*) 为实验材料,在模拟水势胁迫的条件下,研究了其种子萌发的特点,及其幼苗脯氨酸含量的变化,旨在促进对该类植物在种子萌发阶段响应水分亏缺特点的了解,为其资源的有效利用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材 料

成熟的鸢尾蒜 (*I. tataricum*) 种子于 2006 年 6 月初采集于石河子市的将军山 (44°11' 77"N, 86°5' 16'E, Alt 650~670 m)。在自然生长的种群中,随机地从自然居群的个体上采摘成熟的蒴果,然后将种子从果实中分离出来,充分混匀。带回实验室后,保存于 4℃ 条件下,备用。类似地,在将军山的北面 (44°11' 77"N, 86°5' 16'E, 海拔 628~640 m), 随机地从伊犁郁金香的自然居群的个体 (*T. illensis*) 上采摘成熟的蒴果,然后将种子从果实中分离出来,充分混匀。带回实验室后,保存于 4℃ 条件下,备用。

1.2 方 法

1.2.1 根据 Michel 的方法^[18], 配置不同的聚乙二醇 (Polyethylene Glycol 8000 PEG) 溶液,以模拟 5 个不同的水势 (5℃ 下的水势), 在所有的萌发实验中,在一个培养皿 (直径 9 cm) 中,加 10 ml PEG,并在溶液上放置一层纱布,以防止种子沉入 PEG 溶液中。以加 10 ml 蒸馏水的作为对照。将种子置于纱布上,然后放于萌发箱 (HPG-280 B 光照培养箱,哈尔滨东莲电子仪器有限公司制造) 中,让其萌发。温度为 5℃,光照周期是 14 h/d 光强是 43 μmol/(m²·s) (LI-COR, Inc., Nebraska, U. S. A.)。每两天观测萌发情况,并适时地补充 PEG 溶液或蒸馏水,以胚根突破种皮视为已萌发。萌发后的幼苗,被用来测定其脯氨酸含量。萌发实验持续了 30 d。

1.2.2 幼苗脯氨酸含量的测定

在萌发实验结束后,取其幼苗,参考 Bates 等的方法^[19],提取并测定幼苗的游离脯氨酸含量,以 mg/g (DW) 表示。

1.2.3 数据统计

分析之前,将种子的最终萌发率进行反正弦平方根转换,进行差异性分析。但图 1 和图 2 中显示的数据没有进行转换。用 12.0 SPSS 软件,对不同处理下的 4 个重复的平均数进行了最少差异性 (LSD) 和 Duncan 多重比较检验 ($p=0.05$)。

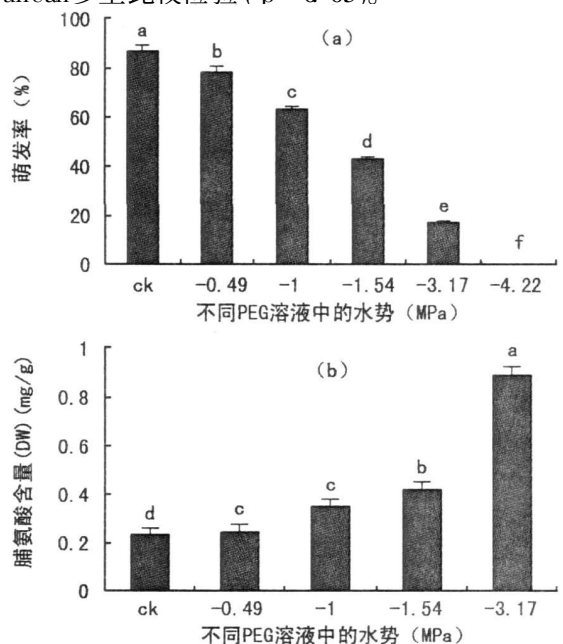


图 1 在 5℃ 和 14 h/d 的光照条件下,经 PEG 溶液处理后的 (a) 鸢尾蒜种子的最终萌发率和 (b) 幼苗的脯氨酸含量

注:各平均数上的不同小写字母表示有显著性差异 ($p < 0.05$)。下同。

2 结果

在水分胁迫中,水势对鸢尾蒜 (*I. tataricum*) 和伊犁郁金香 (*T. illensis*) 种子的萌发有非常显著的影响。就鸢尾蒜而言,其种子在对照 (0 MPa) 下的萌发率为 87%,随着水势的降低 (从 -0.49 MPa 到 -4.22 MPa),其萌发逐渐降低,直至萌发率为 0 不同水平对萌发率的胁迫效应非常显著 ($F=758.32$ $p=0.000<0.01$) (图 1 a)。同样地,伊犁郁金香的种子在水分供应充足 (0 MPa) 时的萌发率为 96%,随着处理溶液水势的降低,种子的萌发率迅速下降;在 -4.22 MPa 时,种子已不再萌发。处理间的萌发率的差异十分显著 ($F=929.85$ $p=0.000<0.01$) (图 2 a)。

幼苗脯氨酸的含量强烈地受渗透胁迫的影响。在鸢尾蒜 (*I. tataricum*) 幼苗中,游离脯氨酸的含量随胁迫程度的增加而显著增加 ($F=8.79$ $p=0.001<0.01$),即从对照条件下的 0.23 mg/g (DW) 增加到 0.89 mg/g (DW) (图 1 b)。相似地,在伊犁郁金香 (*T. illensis*) 幼苗中,游离脯氨酸的含量也随渗透胁迫程度的增强而增加,其差异相当明显 ($F=251.01$ $p=0.000<0.01$)。从 0.49 mg/g (DW) (ck) 增加到 1.06 mg/g (DW) (-1.54 MPa); 当水势再降低到 -3.17 MPa 时,其含量却下降到 0.71 mg/g (DW) (图 2 b)。

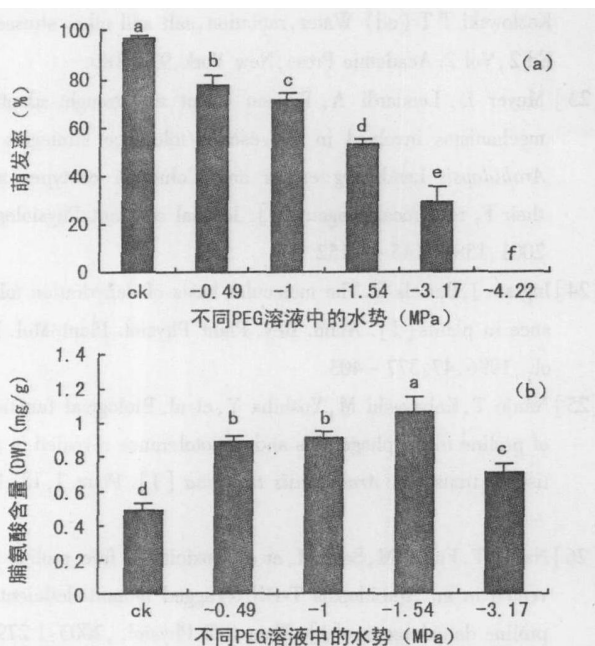


图 2 在 5℃ 和 14h/d 的光照条件下,经 PEG 溶液处理后的 (a)伊犁郁金香种子的最终萌发率和 (b)幼苗的脯氨酸含量

3 讨论

毋庸置疑,在许多植物 (尤其是某些沙漠植物) 生

活史中,种子萌发阶段是非常重要的。胁迫环境对种子萌发和幼苗建成的动态施加了一种强烈的影响^[6]。在干旱或半干旱环境中,植物必须适应这种胁迫而存活。耐胁迫的植物都有一套形态和生理特征使其得以存活于胁迫条件下^[20, 21]。植物的干旱适应策略是在环境选择压力下形成和发展的。在自然条件下,干旱逃避、避免和忍耐是植物应对水分胁迫的三大主要类型^[22, 23]。在沙漠干旱环境中,干旱逃避是多种植物的一种适应策略。干旱忍耐是大多数原始的陆地植物具有的机制,这种机制能确保它们在极其严酷的脱水胁迫下存活^[24]。一种或其他策略的联合可以赋予植物干旱适应的能力。

就本研究而言,在对照水势下,鸢尾蒜和伊犁郁金香的萌发率分别是 87% 和 96%;随着水势的降低 (即胁迫程度的增加),二者的萌发率急剧下降 (图 1 a 图 2 a)。可见,萌发介质中水分有效获得性严重影响种子的萌发。种子不能正常地萌发,势必影响幼苗的建成和生长。鸢尾蒜和伊犁郁金香幼苗增加的脯氨酸,一定程度上说明了其抗旱特性,但其耐旱性显然被局限在一定范围的水势内,超出耐旱的临界点,幼苗是无法存活的。在它们的生境中,年降水量在 200 mm 左右,且集中在春节 (降雨) 和冬季 (降雪),夏季十分干旱,气温和地温相对较高。这样,种子的春季萌发 (即萌发的低温性) 则是与其生境特点十分一致的 (不同温度下的萌发率数据,在此没有表示)。

在植物防御机制中,除 ABA、多胺、甜菜碱、LEA 蛋白和过聚糖等渗透调节物外,脯氨酸被认为起着多种作用,如作为渗透调节剂、亚细胞结构的稳定剂、自由基的清除物能量贮存器和胁迫相关的信号^[25]。相反地,过量的脯氨酸也导致生长受抑制,这表明过量的脯氨酸也是有害的,尽管脯氨酸在胁迫下具有保护功能^[26]。在水分胁迫下,植物体内脯氨酸含量增加是比较普遍的^[29],但如果胁迫程度超过了植物的耐受极限,植物代谢紊乱,如蛋白质合成下降或脯氨酸氧化受阻、膜脂过氧化加剧等现象,从而死亡^[27]。在本研究中,在较高程度的胁迫 (-4.22 MPa) 下,种子不萌发的现象 (图 1 a 图 2 a) 表明该胁迫已超出了种子的耐受能力。而且,在水势从 -1.54 MPa 增加到 -3.17 MPa 时,伊犁郁金香幼苗的脯氨酸含量有所下降,但仍然高于对照。这也说明脯氨酸含量的大量积累是渗透胁迫致害的表现。

在准噶尔盆地的荒漠中,冬春多雨雪,夏季干旱炎热。与其他短命植物一样,多年生短命植物鸢尾蒜和伊犁郁金香在夏初便完成了其生活史,然后以鳞茎和

种子度过不良环境^[13]。可见,它们适应干旱的策略是多样性的,从而得以延续种族。

当然,在渗透胁迫中,除了脯氨酸含量的变化外,这两种早春短命植物的种子和幼苗的其他代谢变化与生态适应机制需要深层次地定量的研究,从而更全面地阐明短命植物耐旱机制。

参考文献:

- [1] Cohen D. Optimizing reproduction in a randomly varying environment when a correlation may exist between the conditions at the time a choice has to be made and the subsequent outcome [J]. *J Theor Biol*, 1967, 16: 1–14.
- [2] Baskin C C, Baskin J M. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination [M]. 1998 Academic Press.
- [3] Brown J S, Venable D L. Evolutionary ecology of seedbank annuals in temporally varying environments [J]. *Am. Nat*, 1986, 127: 31–47.
- [4] Rees M. Delayed germination of seeds: a look at the effects of adult longevity, the timing of reproduction, and population age/structure [J]. *Am. Nat* 1994, 144: 43–64.
- [5] Venable D L, Brown J S. The selective interactions between dispersal, dormancy, and size as adaptations for reducing risk in variable environments [J]. *Am. Nat* 1988, 131: 360–384.
- [6] Valverde T, Quijas S, Lopez-Vilavencio M. Population dynamics of *Mammillaria agnemma* Haworth (Cactaceae) in a lava-field in Central Mexico [J]. *Plant Ecology*, 2004, 170: 167–184.
- [7] Zhang Tao, Tian Chang-yan, Sun Yu, et al. Soil seed bank of ephemerals in the Gurbantunggut Desert Area [J]. *Arid Land Geography*, 2006, 29 (5): 675–681 [in Chinese].
- [8] Ramirez-Padilla C A, Valverde T. Germination responses of three congeneric cactus species (*Neobuxbaumia*) with differing degrees of rarity [J]. *Journal of Arid Environments* 2005, 61: 333–343.
- [9] Huang Zhen-ying, Guterman Y. Comparison of germination strategies of *Artemisia ordosica* with its two congeners from deserts of China and Israel [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2000, 42 (1): 71–80.
- [10] Guterman Y. *Seed germination in Deserts Plants*. Berlin: Springer-Verlag, 1993.
- [11] Danin A. *Plants of Desert Dunes*. Berlin: Springer-Verlag, 1996.
- [12] Pan Wei-bin, Huang Pei-you. The ecology of four ephemeral plants [J]. *Acta Phytocologica Sinica*, 1995, 19 (1): 85–91 [in Chinese].
- [13] Mao Zu-mei, Zhang Dian-min. The conspectus of ephemeral flora in northern Xinjiang [J]. *Arid Zone Research*, 1994, 11 (3): 1–26.
- [14] Yin Lin-ke, Zhang Juan, Wei Yan, et al. Plant germplasm diversity and their conservation in Xinjiang province [J]. *Arid Zone Research*, 2004, 21 (supplement): 5–8 [in Chinese].
- [15] Xu Hui-xia, Liu Tong Pan Zhi-bin, et al. *Tulipa illensis* seeds [J]. *Plant Physiology Communications*, 2004, 40 (2): 213 [in Chinese].
- [16] Chen Fang, Liu Tong, Zhou Ling-ling. Research on the biological and germination characters of *Wild Tulipa* [J]. *Journal of Shijiazhuang University (Natural Science)*, 2001, 5 (3): 197–200 [in Chinese].
- [17] Ren Jun, Tao Ling, Liu Xin-min. Effects of water supply on seed germination of soil-bank in desert vegetation [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44 (1): 124–126.
- [18] Michel B. Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutions [J]. *Plant Physiol*, 1983, 72: 66–70.
- [19] Bates L S, Walderen R P, Teare D. Rapid determination of free proline for water stress studies [J]. *Plant Soil*, 1973, 39: 205–207.
- [20] Villagra P E, Cavagnaro J R. Water stress effects on the seedling growth of *Prosopis argentina* and *Prosopis alata* [J]. *Journal of Arid Environments*, 2006, 64: 390–400.
- [21] Oriens G H, Solbrig O T. A cost-income model of leaves and roots with special reference to arid and semiarid areas [J]. *The American Naturalist* III, 1977: 677–689.
- [22] Levitt J. Responses of plants to environmental stress [M]. In: Kozlowski T T (ed). *Water, radiation, salt and other stresses*. Ed 2, Vol 2. Academic Press, New York, 93–186.
- [23] Meyer D, Leonardi A, Brisson G, et al. Drought-adaptive mechanisms involved in the escape/tolerance strategies of *Arabidopsis Landsberg erecta* and *Columbia* ecotypes and their F_1 reciprocal progeny [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2001, 158: 1145–1152.
- [24] Ingram J, Bartels D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1996, 47: 377–403.
- [25] Nanjo T, Kobayashi M, Yoshida Y, et al. Biological functions of proline in morphogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant J*, 1985, 18: 185–193.
- [26] Nanjo T, Fujita M, Seki M, et al. Toxicity of free proline revealed in an *Arabidopsis* T-DNA-Tagged mutant deficient in proline dehydratase [J]. *Plant Cell Physiol*, 2003, 1: 279–291.
- [27] Berjak P. Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms [J]. 2006, 16: 1–15.