

外源壳聚糖对苹果幼苗生长及抗旱性的影响

杨 峰, 胡景江*, 武杭菊

(西北农林科技大学 生命科学院, 陕西 杨陵 712100)

摘 要:采用盆栽控水的方法研究了干旱条件下壳聚糖(chitosan)对苹果幼苗生长及抗旱性的影响。结果表明:在中度干旱条件下,叶面喷施壳聚糖能提高叶绿素含量和光合速率,增强碳素同化能力,促进游离氨基酸、可溶性糖和脯氨酸等有机渗透调节物质的积累,增强渗透调节能力。壳聚糖能维持或提高保护酶(SOD、CAT)活性,防止或降低细胞膜脂过氧化作用,由此维持正常代谢水平,促进植物的生长,提高抗旱性。壳聚糖对苹果幼苗生长及抗旱性的效应与浓度有关,一定浓度范围内,随壳聚糖浓度增加其效应增强,适宜浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,再增加浓度其作用效果不再增大。

关键词:苹果幼苗;壳聚糖;生长;抗旱性

中图分类号:S718.43

文献标识码:A

文章编号:1001-7461(2007)03-0060-04

Effects of Exogenous Chitosan on Growth and Drought Resistance of Apple Seedlings

YANG Feng, HU Jing-jiang, WU Hang-ju

(College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

万方数据

Abstract: Effects of exogenous chitosan on growth and drought resistance of the apple seedlings studied under water stress was studied using pot-culture experiments simulating soil drought status). The results showed that Treated with exogenous chitosan can raise content of chlorophyll and photosynthetic rate and water use efficiency(WUE), and increase content of organic osmotica (Pro, amino acid and sugars) under middle level drought condition. The activity of SOD and CAT decreased and relative permeability of plasma membrane and content of MDA increased under water stress, but treated with exogenous chitosan gave rise to increasing of SOD and CAT activity and decreasing of MDA content and membrane lipid peroxidation under water stress. This indicated that under water stress chitosan can improve photosynthetic function and maintain normal metabolism and promote growth and enhance drought resistance of the apple seedlings.

Key words: apple seeding; chitosan; growth; drought resistance

壳聚糖(chitosan)又称脱乙酰几丁质,化学名为 β -(1,4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡聚糖(即聚氨基葡萄糖)。壳聚糖是一种天然直链状酰胺类多糖,它是由几丁质(甲壳素)部分或全部脱乙酰基后得到的产物。甲壳素是许多低等动物(虾、蟹和昆虫等)和一些低等植物(真菌、藻类等)的重要成分。每年自然界繁衍产生的甲壳素约为10亿t,是仅次于纤维素的第二大再生资源。在甲壳素大分子中,由于其分子结构

中内外氢键的相互作用,形成了有序的大分子结构,溶解性很差。经过脱乙酰化处理生成的壳聚糖大分子其溶解性提高,特别是分子量低于10 000的低聚水溶性壳聚糖,由于其独特的生理活性和物化性质,使得壳聚糖的应用范围扩大^[1]。20世纪80年以来,甲壳素及其衍生物的研究和应用日益广泛和深入,在污水处理、医药、食品和工业等方面的应用取得了一定的成果^[2]。对其在农林生产中的应用研究也

收稿日期:2006-05-10 修回日期:2006-06-28

基金项目:国家重点基金“西北旱地优质高效栽培技术生理生态研究”(30230230)

作者简介:杨峰(1981-),男,山西晋城人,硕士研究生,主要从事植物水分与抗性生理研究。

* 通讯作者:胡景江(1957-),男,陕西定边人,教授,主要从事植物逆境生理研究工作。

有报道。研究证明,壳聚糖对植物的生长、发育有调节作用^[3~5],可以诱导植物生产广谱抗病性、抑制多种植物病原菌的生长^[6,7],可以提高植物的抗冷性等^[8]。通过研究外源壳聚糖对苹果幼苗生长及抗旱性的影响,为其进一步应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为1 a生“红富士”苹果幼苗,砧木为新疆野苹果。壳聚糖(chitosan)为上海源聚生物科技有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 壳聚糖的降解及回收 壳聚糖按1:20(W/V)比例分散在介质(2%的HAc)中,75℃水浴中搅拌,按 $R=2.0$ (H_2O_2 与糖单元摩尔比)滴加 H_2O_2 ,反应4 h后,调节pH为7.5,过滤,所得滤液即为可溶性壳聚糖溶液^[9]。采用醇沉淀法对可溶性壳聚糖进行回收。可溶性壳聚糖溶液中加入2倍体积的无水乙醇,使可溶性壳聚糖沉淀,静置,待完全沉淀后弃去上清液,取沉淀在40℃以下干燥2 h,然后真空干燥,即获得可溶性壳聚糖样品^[10]。

1.2.2 苹果幼苗处理 实验在西北农林科技大学玻璃温室中进行,采用盆栽控水法对苹果苗进行不同程度干旱处理,盆高30 cm,盆径28 cm,土壤由耕地表土、沙子、底肥(牛粪)组成,比例为7:2:1,盆土重15.5 kg,田间持水量26.5%。盆土入盆时进行消毒,每盆2株幼苗,于2006年3月1日植入盆中,正常灌水,生长8周后,选取生长正常、一致的幼苗,用称重法进行控水处理,定时向盆中补充水分。试验设3个处理。

(1) 正常水分。控制土壤含水量为田间持水量的75%,作为CK1(正常对照)。

(2) 干旱处理。控制土壤含水量为田间持水量的50%,作为CK2(干旱对照)。

(3) 壳聚糖处理。在胁迫条件下喷施壳聚糖,壳聚糖质量浓度分别为20、50、100、150、200 mg·L⁻¹。

以上处理均设5个重复。

待土壤含水量达到设定值时,给干旱处理的苗木喷施壳聚糖,将不同浓度壳聚糖均匀喷施于叶面至欲滴为度,每隔1 d喷1次,共喷3次,CK1、CK2喷施清水。最后一次喷施后1周,测定幼苗生长及抗旱性指标。

1.2.3 测定方法 植株生长状况测定用常规法,用游标卡尺测定植株的高度、地径;叶绿素含量采用分光光度法测定^[11];光合速率、蒸腾速率用CB1101光合测定仪测定,并用二者的比值计算水分利用效率;苹果叶片质膜相对透性采用电导法测定^[12];可溶性糖含量测定用蒽酮比色法^[13];游离脯氨酸(Pro)含量按张殿忠方法测定^[14];丙二醛(MDA)按王根轩等人的方法测定^[15];超氧化物歧化酶(SOD)用氯化硝基四氮唑蓝(NBT)光化还原法测定,以每克鲜叶抑制NBT光化还原50%为一个酶活性单位(u·g⁻¹)^[16];过氧化氢酶(CAT)活性测定用紫外分光光度法^[17],以每克鲜样每分钟使OD₂₄₀降低0.1为一个酶活性单位(u)。

2 结果与分析

2.1 干旱条件下壳聚糖对苹果苗生长的影响

研究表明(表1),中度干旱条件下(土壤含水量为田间持水量的50%),苗木的生长明显受到抑制。与正常对照(CK1)相比,干旱对照(CK2)的高生长量降低了26.77%,地径净增量降低了27.59%。干旱条件下喷施壳聚糖能促进株高和地径的生长,在一定浓度范围内,随壳聚糖浓度增加,生长量增大,壳聚糖浓度为100 mg·L⁻¹时生长量达到最大,株高和地径生长量比干旱对照分别增加了38.77%和35.71%,接近或超过正常对照的生长量。

表1 干旱条件下壳聚糖对苹果苗生长的影响

Table 1 Effect of shitosan on growth of apple seeding under drought conditions

壳聚糖质量浓度/(mg·L ⁻¹)	CK1	CK2	20	50	100	150	200
株高增量/cm	14.23	10.42	12.03	13.09	14.46	14.42	14.45
地径增量/cm	0.058	0.042	0.046	0.052	0.057	0.056	0.056

2.2 干旱条件下壳聚糖对苹果苗光合速率及水分利用效率的影响

由表2可知,干旱条件下,苹果苗叶绿素含量、光合速率、水分利用效率均降低,与正常对照相比,

分别降低了6.6%、25.56%和8.05%。用壳聚糖处理后这些指标值明显增大,其中叶绿素含量显著高于正常对照和干旱对照,壳聚糖浓度为100 mg·L⁻¹时,比正常对照增大了29.67%,比干旱对照增

大了 38.83%；光合速率也随壳聚糖浓度增加而升高,浓度为 100 mg · L⁻¹时达到或超过正常水平,比干旱对照增高了 34.63%；干旱条件下苹果苗的蒸腾速率降低,用壳聚糖处理后蒸腾速率没有明显的变化,因此,壳聚糖处理后树苗的水分利用效率明显

增高,其变化趋势与光合速率的相同,壳聚糖浓度为 100 mg · L⁻¹以上时 WUE 基本保持恒定,比干旱对照增高了 30.51%,比正常对照增高了 20%以上。该结果表明干旱条件下喷施壳聚糖可维持或恢复植物的正常代谢水平,提高植物的抗旱性。

表 2 干旱条件下壳聚糖对苹果幼苗光合速率及水分利用效率的影响

Table 2 Effect of shitosan on photosynthetic rate and water use efficiency of apple seeding under drought conditions

壳聚糖质量浓度/(mg · L ⁻¹)	CK1	CK2	20	50	100	150	200
叶绿素含量/(mg · g ⁻¹)	1.227	1.146	1.423	1.508	1.591	1.595	1.595
光合速率/(μmol · m ⁻² · s ⁻¹)	14.072	10.475	11.284	12.556	14.103	14.084	14.095
蒸腾速率/(mmol · m ⁻² · s ⁻¹)	5.046	4.085	4.112	4.203	4.214	4.206	4.209
水分利用效率/(μmol · mmol ⁻¹)	2.789	2.564	2.744	2.987	3.347	3.349	3.349

2.3 壳聚糖对水分胁迫条件下苹果幼苗保护酶活性及膜脂过氧化作用的影响

逆境对植物的伤害与逆境条件下植物保护酶活性降低、氧代谢失调、活性氧积累引起的膜脂过氧化作用直接有关。由表 3 可见,干旱条件下苹果苗的 SOD 和 CAT 保护酶活性明显降低,与正常对照相比,干旱(对照)条件下这 2 种酶的活性分别下降了 45.24% 和 36.98%。干旱处理的同时喷施壳聚糖,可使 SOD 和 CAT 活性升高,且随壳聚糖浓度增加而增大,浓度为 100 mg · L⁻¹时,2 种酶活性接近或超过正常条件下的水平,分别比干旱对照增大了 79.31%和 63.88%。

功能首先受到伤害,细胞膜透性增大。MDA 是膜脂过氧化的产物,其含量的多少可代表膜受损伤的程度,因此膜透性的变化和 MDA 含量的增加反映膜的伤害程度。表 3 表明,干旱处理使膜相对透性增大,MDA 含量增加,其变化幅度(正常对照与干旱对照相比)分别增加了 52.63% 和 80.3%。喷施壳聚糖后,膜相对透性和 MDA 含量降低,壳聚糖浓度为 100 mg · L⁻¹时,膜相对透性和 MDA 含量分别比干旱对照降低了 30.04%和 43.70%,基本恢复到正常条件下的水平。上述结果表明,外源施加壳聚糖能维持或提高保护酶活性,防止或降低膜脂过氧化作用对膜的伤害。

植物组织在受到干旱胁迫时,细胞膜的结构和

表 3 干旱条件下壳聚糖对苹果幼苗保护酶活性及膜脂过氧化作用的影响

Table 3 Effect of shitosan on the activity of SOD and CAT and permeability of plasma and content of MDA of apple seeding under drought conditions

壳聚糖质量浓度/(mg · L ⁻¹)	CK1	CK2	20	50	100	150	200
SOD 活性/(u · g ⁻¹)	1 723.0	943.6	1 423.0	1 567.0	1 692.0	1 684.0	1 689.0
CAT 活性/(u · g ⁻¹)	210.4	132.6	154.3	195.4	217.3	210.5	210.8
膜相对透性/%	13.3	20.3	18.1	16.7	14.2	14.3	14.3
MDA 含量/(μmol · g ⁻¹)	6.6	11.9	11.2	8.8	6.7	6.7	6.7

2.4 壳聚糖对水分胁迫条件下苹果幼苗叶片中有机渗透调节物质含量的影响

在中度干旱条件下,苹果苗中游离氨基酸、可溶性糖、脯氨酸含量均增高(CK1 与 CK2 相比)。其中,游离氨基酸含量增加了 158.97%,可溶性糖含量增加了 28.28%,脯氨酸含量增加了 436.0%(表 4),表明该苹果品种具有一定渗透调节能力。喷施壳聚糖后,3 种有机渗透调节物质含量进一步升高,并与壳聚糖浓度相关,浓度达到 100 mg · L⁻¹以上时,

3 种渗透调节物质的含量达到相对稳定状态。此时与正常对照和干旱对照相比,游离氨基酸含量分别增加了 244.88%和 33.17%,可溶性糖含量分别增加了 125.32%和 75.65%,脯氨酸含量分别增加了 748.0%和 58.21%。与干旱对照相比,喷施壳聚糖后,可溶性糖含量增加最为显著,这与施加壳聚糖能改善或提高光合作用、促进糖类物质的积累有关。渗透调节物质含量的增加能降低组织的水势,增强植物的吸水能力,提高抗旱性。

表4 干旱条件下壳聚糖对苹果树苗有机渗透调节物质含量的影响
Table 4 Effect of shitosan on content of soluble organic osmoticum ofapple seeding under drought conditions

壳聚糖质量浓度/(mg·L ⁻¹)	CK1	CK2	20	50	100	150	200
游离氨基酸含量/(mg·g ⁻¹)	2.34	6.06	6.68	7.45	8.07	7.85	7.89
可溶性糖含量/(mg·g ⁻¹)	7.78	9.98	12.43	15.72	17.53	17.48	17.49
脯氨酸含量/(mg·g ⁻¹)	0.75	4.02	4.68	5.56	6.36	6.27	6.28

3 结论与讨论

近年来甲壳素及其衍生物在农林业生产上的作用引起了人们极大的兴趣。Cuero1991年首次报道利用壳聚糖处理种子能提高番茄植株叶绿素含量^[18];Freepos用2%壳聚糖喷涂小麦种子后,分蘖数增加,亩产增加34.1%^[19]。关于壳聚糖对作物的作用机理还不完全清楚,以前认为壳聚糖含氮,可以不断向作物提供氮素;近来则认为壳聚是一种生长调节物质,能增加禾谷类作物的分蘖能力,调节根、茎、叶和花的生长发育。

干旱条件下维持一定水平或接近正常水平的光合速率是耐旱植物的重要生理特征之一。研究表明,干旱条件下苹果苗的光合速率、水分利用效率、叶绿素含量均降低,喷施壳聚糖可使这些指标值明显提高,接近或超过正常水平。说明壳聚糖能提高作物的抗旱性。

逆境对植物的伤害与逆境条件下氧代谢失调,活性氧积累引起生物膜过氧化导致膜伤害有关,因此逆境条件下SOD、CAT等清除活性氧的保护酶活性变化与植物的抗逆性密切相关。研究表明,干旱条件下苹果苗的SOD和CAT酶活性明显降低,膜透性和MDA含量增加,干旱处理的同时喷施壳聚糖,可使SOD和CAT活性恢复到接近正常条件下的水平,膜相对透性和MDA含量变化与保护酶活性的变化表现出了极好的一致性。该结果表明,壳聚糖提高作物抗旱性的机理之一是能维持或提高保护酶活性,防止或降低膜脂过氧化作用对膜的伤害。

干旱条件下壳聚糖处理能改善植物的光合性能,增强碳素同化能力,通过有机物质的积累增强渗透调节能力和吸水能力,防止或降低膜脂过氧化作用,维持正常代谢水平,促进植物的生长。

参考文献:

[1] 邱澄宇. 壳聚糖几种降解方法的比较研究[J]. 食品科学, 2004, 25(增): 51-53.
[2] 夏文水, 陈洁. 甲壳素的特性及制备[J]. 无锡轻工业学院学报, 1994, 30(4): 20-24.

[3] 师素云, 薛启汉, 陈游, 等. 羧甲基壳聚糖对玉米的生理调节功能初探[J]. 中国农业大学学报, 1997, 2(5): 1-6.
[4] 赵惠芝. 壳聚糖对向日葵种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 河北农业技术师范学院学报, 1999 (6): 37-39.
[5] 胡景江, 左仲武, 刘彦超. 壳聚糖对油松种子萌发及幼苗生理生化特性的影响[J]. 西北林学院学报, 2003, 18(4): 21-24.
[6] Hirano S. Hitinase activity of some seeds during their germination process, and its induction by treating with chitosan and derivatives[A]. In: Skjark B G. Proceedings, 4th International Conference on Chitin and Chitoean[C]. USA. 1988. 743-774.
[7] 于汉寿. 水溶性壳聚糖对水稻恶苗病和油菜菌核病的作用[J]. 江苏农业科学, 1998(5): 38-40.
[8] 李茂富, 李绍鹏, 赵伟峰. 壳聚糖提高香蕉幼苗抗性的效应[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(4): 464-466.
[9] 覃彩芹, 肖玲, 杜于民, 等. 过氧化氢氧化降解壳聚糖的可控性研究[J]. 武汉大学学报, 2000, 46(2): 195-198.
[10] 张未. 低分子量壳聚糖的制备及其最优回收方法的初步研究[J]. 中山大学研究生学刊(自然科学、医学版), 2005, 26(2): 33-36.
[11] 高俊凤. 植物生理学实验指导书[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006. 74-753.
[12] 高俊凤. 植物生理学实验指导书[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006. 208-210.
[13] 西北农业大学植物生理生化教研组. 植物生理学实验指导[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1987. 51-55.
[14] 张殿忠, 汪沛洪, 赵云. 测定小麦叶片中脯氨酸含量的方法[J]. 植物生理学通讯, 1990(4): 62-65.
[15] 王根钊, 杨成德, 梁厚果. 蚕豆针叶发育与衰老过程中超氧化物歧化酶活性与丙二醛含量变化[J]. 植物生理学报, 1989, 15(1): 13-17.
[16] 王爱国, 罗广华, 邵从本. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究[J]. 植物生理学通讯, 1983(1): 77-83.
[17] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000. 36-38.
[18] 胡景江, 左仲武. 外源多胺对油松幼苗生长及抗旱性的影响[J]. 西北林学院学报, 2004, 19(4): 5-8.
[19] Cuero G. N-Carboxymethylchitosan; uptake and effect on chlorophyll production, water potential and biomass in tomato plants[J]. Food Biotechnology, 1991 (5): 95-103.
[20] Freepons D. Enhancing food production with chitosan seed-coating technology[A]. In: Donald F. Application of chitin and chitosan[C]. Lancaster: Technomic Publishing Company Inc, 1997. 129-139.