

两种烟草幼苗叶片对不同强度干旱胁迫的生理响应比较

邵惠芳¹, 陈征¹, 许嘉阳², 范艺宽³, 黄五星¹, 张海枫¹, 许自成^{1,*}

¹河南农业大学烟草学院, 郑州450002; ²中国农业大学农学与生物技术学院, 北京100193; ³河南省烟草公司烟草研究所, 郑州472000

摘要:以河南烟区主栽烟草(*Nicotiana tabacum*)品种‘豫烟10号’和‘豫烟12号’为供试材料, 利用聚乙二醇(PEG)-6000渗透胁迫模拟轻度、中度和重度干旱胁迫环境, 研究了烟草抗旱性生理指标对苗期不同程度水分亏缺的响应机制及其与烟株耐旱性的关系。结果表明: (1)相比于对照组, 低浓度PEG胁迫能促进烟草幼苗叶片叶绿素(Chl)含量和抗氧化酶活性提高; 叶片丙二醛(MDA)和过氧化氢(H₂O₂)含量随着干旱程度的加剧持续升高; 重度水分胁迫时, 幼苗叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等保护酶活性以及Chl含量均显著下降。(2)应用隶属函数法对各项抗旱性生理指标进行综合评价, 2个烟草品种苗期抗旱性强弱顺序为‘豫烟12号’>‘豫烟10号’, 总体趋势表现为水分条件越差二者抗旱性差异越明显, ‘豫烟12号’幼苗的各生理生化指标较‘豫烟10号’受干旱影响小, 干旱胁迫下仍保持较强的抗氧化酶活性是‘豫烟12号’耐旱的主要生理原因, 这是不同品种通过自身生理调节来适应外部环境变化的结果。(3)灰色关联分析表明, 各参数与抗旱隶属函数值关联程度顺序依次为MDA>SOD>(Chl a/Chl b)>H₂O₂>CAT>POD>(Chl a+b), 说明叶片内MDA含量、SOD活性和Chl a/Chl b可作为烟草品种苗期抗旱性鉴定的有效指标, 而H₂O₂含量、CAT活性、POD活性和Chl a+b参数可作为抗旱性鉴定参考指标。

关键词:烟草; 干旱胁迫; 生理响应; 抗旱性; 评价

作为一种对植物伤害较大的逆境生态因子, 干旱胁迫显著抑制细胞分裂, 对细胞体积增长的抑制尤为明显, 导致植株叶片生长缓慢, 且脱水破坏细胞膜的有序结构; 导致膜出现龟裂空隙而透性增大, 使得细胞内产生过量自由基, 打破活性氧的代谢平衡系统, 加剧细胞膜脂过氧化程度而损坏膜系统, 损害严重时可导致组织死亡(Upadhyaya等2008; Ma等2015)。植物对干旱胁迫的响应机理一直是植物生理生态研究的热点, 有关干旱胁迫下植物所产生的一系列表观形态和生理指标变化及其与抗旱性的关系等研究已有较多报道(冯慧芳等2011; Li等2013; Sun等2014)。当植株正常生长代谢被干旱抑制时, 表征细胞膜损害程度的丙二醛(malondialdehyde, MDA)和过氧化氢(H₂O₂)含量激增, 叶片内叶绿素(chlorophyll, Chl)含量下降使得植物光合作用被抑制, 而作为细胞酶促防御系统的重要组成部分, 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(oxidase, POD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)等抗氧化酶活性降低。SOD能以超氧阴离子(O₂⁻)为基质发生歧化反应来缓解膜脂过氧化的损伤, POD可清除细胞内有害自由基并降解有毒物质, CAT则可有效分解组织内过量的H₂O₂, 各种抗氧化酶协调运作维持了细胞内低水平的活性氧, 使得植物细胞免受或缓解来自氧化胁迫的伤害(Wang和Bughrara 2008; Bai等2006)。

小麦(*Triticum aestivum*) (任红旭等2001)、玉米(*Zea mays*) (张仁和等2011)和水稻(*Oryza sativa*) (戴高兴等2006)等粮食作物对干旱胁迫的响应机理已有较深入研究, 而烟草(*Nicotiana tabacum*)作为我国最重要的经济作物, 涉及其干旱的研究多局限于聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)-6000浸种萌发或土壤控水胁迫等研究层次上(马文广等2012; 林杰2013), 以PEG-6000溶液水培模拟水分胁迫来研究烟草对干旱的生理应答机制还较少, 至于抗旱性指标变化与抗旱性的关系研究更是少见报道。河南烟区是“浓香型”特色优质烟叶的主要产区, 夏季高温干旱缺水往往会严重损害烟叶品质, 降低初烤烟叶等级; 又因烟草品系繁多且品种间耐旱差异较大等因素, 各种植区的生长状况表现不一, 缺乏系统的品种抗旱性鉴定, 适种栽培应用的盲目性较大(杨铁钊等2004, 2015)。因此, 研究干旱胁迫下烟草的生理生化指标参数变化, 进一步比较烟草品种间抗旱性指标的响应差异并综合评价其耐旱性, 对于抗旱性烟草品种的引育筛选具有现实意义。本文以不同浓度PEG-6000水

收稿 2016-06-12 修定 2016-11-02

资助 国家自然科学基金(31200393)和河南省烟草公司科技攻关项目(HYKJ 201210和HYKJ 201405)。

* 通讯作者(E-mail: zichengxu@126.com)。

培溶液模拟轻度、中度和重度3种程度的干旱胁迫,分析了不同程度水分亏缺对烟草叶片MDA、 H_2O_2 、Chl含量以及SOD、POD、CAT活性等生理指标的影响,探讨了这些参数的变化与抗旱性的关系,最后对供试‘豫烟10号’和‘豫烟12号’品种苗期耐旱性进行了评价比较,以期研究烟草对干旱胁迫的响应机理和筛选烟草耐旱性品种提供参考依据。

材料与方法

1 实验材料

选用河南烟区主栽烟草(*Nicotiana tabacum* L.)品种‘豫烟10号’(Y10)和‘豫烟12号’(Y12)进行室内实验,2015年于河南农业大学作物生理生化实验室人工气候室中育苗。水培器材选用65 cm×42 cm×17 cm的塑料盒,器材底部内置有抽水泵用于循环水溶液通氧,水培箱配套有60孔面板嵌于器材表面以便培育烟苗,水培液采用霍格兰(Hoagland)营养液。

2 实验处理

使用2% (m/V)的次氯酸钠溶液对烟草种子消毒10 min,自来水冲洗并浸种8 h后,将其逐个点入铺有海绵的育苗盘中,每个穴点入2~3粒,然后置于光照培养箱中进行催芽,温度设置为28°C。当烟苗长出2片子叶时,用镊子将其移栽到装有基质的漂浮育苗盘中,移入人工气候室中培养。待烟苗长至4片叶时,选取形态长势一致的烟苗,小心剥落根上的营养基质并洗净根部后,用海绵和定植篮固定幼苗并插入水培箱面板孔上,每孔1株苗,在Hoagland营养液中培养,每2 d换1次营养液,每天通气1次。当烟苗长至五叶一心时,将其分别移入到由Hoagland营养液和PEG-6000调配的浓度为10%、15%和20% (m/V)的3种处理液中进行胁迫,对照一组继续用Hoagland营养液培养。各处理均在人工气候室内进行实验,气候室参数设置为光照强度 $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、昼/夜温度 $(28\pm 2)^\circ\text{C}/(20\pm 2)^\circ\text{C}$ 、湿度 $80\%\pm 5\%$ 。

3 测定项目与方法

不同处理的烟草幼苗均在干旱处理48 h的时间点进行采样,每个处理挑选5株长势一致的幼苗,剪取每棵烟株完全舒展成熟的第3位至第5位叶片,

避开叶脉剪取同一叶位的叶片,自来水轻轻冲洗叶片表面污物,蒸馏水再冲洗2~3次,叶片残留水分用吸水纸吸干,样品用锡箔纸密封包装标记并置于冰盒中短暂保存,在实验室内测定各项生理生化指标,每个指标均重复实验5次,取其平均值。称取0.5 g鲜叶片于预冷研钵中,加入2 mL事先预冷pH值为7.8的磷酸缓冲液和少量石英砂在冰浴条件下研磨,用缓冲液冲洗研钵2~3次并倒入离心管,定容管内溶液体积至10 mL。在4°C低温下 $40\ 000\times g$ 离心15 min,提取上清液即为酶液,冷藏于4°C冰箱中备用检测。叶片MDA含量用硫代巴比妥酸比色法测定(崔华威2012), H_2O_2 含量测定参考高俊凤(2006)的方法,Chl含量采用分光光度法测定(李合生2000),SOD活性测定采用氮蓝四唑还原法(高俊凤2006),POD活性测定采用愈创木酚显色法(张志良和瞿伟菁2006),CAT活性采用紫外吸收法测定(王学奎2008)。

4 数据处理

柱形图采用Sigmaplot 12.5软件制作。运用SPSS 22.0软件对各处理样本数据进行单因素方差分析,多重比较检验选用最小显著差数法(least significant difference, LSD)法,在5%水平上比较各处理间差异的显著性。

5 综合评价分析

5.1 抗旱评价方法

采用模糊数学隶属函数法(许自成等2008a, b)对烟草品种苗期的抗旱性进行综合评价。设有 n 个烟草品种($n=1, \dots, i$),每个烟草品种有 m 个抗旱性指标($m=1, \dots, j$), D_{ij} 和 W_{ij} 分别表示第 i 个烟草品种、第 j 个抗旱指标的隶属度值和权重系数。

(1)标准化转化原始数据。

抗旱指标与抗旱性呈正相关时:

$$u(x_j) = (x_j - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min}) \quad (1)$$

抗旱指标与抗旱性呈负相关时:

$$u(x_j) = 1 - (x_j - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min}), \quad j=1, 2, \dots, n \quad (2)$$

(2)权重系数(W_j)计算:

$$V_j = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_j)^2}}{\bar{x}_j} \quad (3)$$

$$W_j = \frac{V_j}{\sum_{j=1}^m V_j} \quad (4)$$

(3)隶属函数值(D)计算:

$$D = \sum_{j=1}^n [u(x_j) \times W_j], j=1, 2, 3, \dots, n \quad (5)$$

式中, $u(x)$ 表示数据标准化值, x_{\max} 表示第 j 个指标的最大值, x_{\min} 表示第 j 个指标的最小值, W_j 代表标准差系数, 比较品种最终所得抗旱隶属度值, D 值越大说明其抗旱能力越强(谢贤健等2009)。

5.2 灰色关联分析

利用灰色系统理论中的灰色关联分析模型(Liu等2015; Tsai和Hsu 2010)对抗旱性指标与抗旱性的关联性进行分析。以烟草品种平均抗旱隶属函数值为参考数列 X_0 , 抗旱性评价指标为比较数列 X_j , 则抗旱性指标与品种抗旱性的关联度用 $r(x_0, x_j)$ 表示, 计算公式如下:

$$Y_{(k)} = \frac{1}{1 + |\Delta y_0(k) - \Delta y_j(k)|} \quad (6)$$

$$r(x_0, x_j) = \frac{1}{n-1} \sum_{k=2}^n Y_{(k)}, k=1, 2, \dots, n-1 \quad (7)$$

$$\Delta y_0(k) = y_0^{(k)} - y_0^{(k-1)}, \Delta y_j(k) = y_j^{(k)} - y_j^{(k-1)}, y_i^{(k)} = x_i^{(k)} / x_i^{(1)} \quad (8)$$

式中, $Y_{(k)}$ 为序列 k 时刻的关联系数, $|\Delta y_0(k) - \Delta y_j(k)|$ 为 k 时刻两比较序列的绝对差值, 由关联系数进而计算出参考数列 X_0 与比较序列 X_j 的关联度 r , 若 $r \in (0.6, 1)$, 则认为两序列的关联性强; 若 $r \in (0, 0.5)$, 则两者关联性差(Ye等2009)。

实验结果

各烟草品种生理指标对不同程度水分亏缺的应答敏感度存在明显差异, 这种差异是由烟草品种间自身基因组表达差异所造成的(杨铁钊等2004, 2015)。轻度PEG胁迫下, Y10和Y12叶片生理指标朝利好方向变化, 仍旧保持正常生长代谢活动; 随着PEG胁迫程度加剧, 烟草叶片抗氧化酶体系(SOD、

POD和CAT)不同程度受损, Chl含量下降, MDA和 H_2O_2 含量持续升高, 烟株的生理代谢发生紊乱。

1 干旱胁迫对烟草叶片Chl含量的影响

如表1所示, 对照组中Y12叶片Chl含量略高于Y10, 受到PEG胁迫后2个品种Chl含量有着不同程度的变化, 部分变化存有相似之处。轻度或中度胁迫时, 两烟草幼苗叶片的Chl a 含量、Chl b 含量和Chl $a+b$ 含量均有所增加, 且Y10的变化幅度均大于Y12, 与对照相比差异大都达到显著水平, 这表明适度干旱有利于刺激叶片中Chl含量增加。Y10幼苗受轻度胁迫后, 各Chl含量较对照均显著增加, 其中Chl a 含量上升32.56%, Chl b 和Chl $a+b$ 含量分别增加26.32%和30.36%; 而中度干旱时其叶片Chl含量出现不同程度下降, 以Chl b 下降最为明显, 但与对照差异不显著; 重度胁迫时的Y10 Chl含量进一步下降, 此时Y10和Y12品种间的耐旱差异表现最为明显。Y12在轻度和中度干旱胁迫时各Chl含量均有所增加, 但轻度干旱对其Chl含量增加的贡献并不显著; 在中度胁迫时Y12各Chl含量达到峰值, 与对照相比差异达到显著水平, 此时其Chl a 、Chl b 和Chl $a+b$ 含量分别比对照增加21.64%、14.72%、19.08%, 增加幅度均小于Y10。值得一提的是, Y10与Y12两品种烟草幼苗Chl含量对重度干旱胁迫响应较为一致, 相比对照, 各Chl含量均大幅度下降, 差异达到显著水平。一旦干旱程度足以妨碍幼苗生长发育时, 叶片中Chl便开始降解, 而Chl a /Chl b 比值随着干旱的加深基本上呈增大趋势(表1), 说明幼苗Chl b 受旱后的降解速度可能要快于Chl a 。

2 干旱胁迫对烟草叶片渗透性物质MDA和 H_2O_2 含量的影响

MDA是作物遭受干旱时细胞膜脂过氧化的

表1 不同程度干旱胁迫对烟草幼苗叶片Chl含量的影响

Table 1 Effect on content of chlorophyll in tobacco seedling leaves under drought stress

干旱程度	Chl $a+b$ 含量/[mg·g ⁻¹ (FW)]		Chl a 含量/[mg·g ⁻¹ (FW)]		Chl b 含量/[mg·g ⁻¹ (FW)]		Chl a /Chl b	
	Y10	Y12	Y10	Y12	Y10	Y12	Y10	Y12
对照	8.87±0.11 ^b	10.07±0.22 ^b	5.74±0.31 ^b	6.33±0.22 ^b	3.13±0.11 ^b	3.73±0.05 ^b	1.83	1.70
轻度胁迫	11.57±0.23 ^a	10.56±0.18 ^{ab}	7.61±0.23 ^a	6.75±0.38 ^{ab}	3.95±0.13 ^a	3.82±0.18 ^{ab}	1.93	1.77
中度胁迫	10.18±0.22 ^b	11.99±0.27 ^a	7.24±0.20 ^a	7.70±0.30 ^a	2.93±0.12 ^b	4.28±0.07 ^a	2.47	1.80
重度胁迫	6.38±0.10 ^c	8.62±0.43 ^c	4.20±0.28 ^c	5.35±0.36 ^c	2.19±0.10 ^c	3.26±0.12 ^c	1.92	1.87

Chl含量数据表示为平均值±标准误差, 样本量 $n=5$, 同列数据用不同小写字母标识表示差异显著($P<0.05$)。

主要产物之一, 具有细胞毒性, 容易引起细胞膜功能的紊乱, 并破坏细胞中的生物功能分子(如酶、蛋白质和核酸等), 其含量高低是反映细胞膜脂过氧化作用强弱和质膜破坏程度的重要指标(张智猛等2013a)。由图1-A看出, 随着干旱胁迫程度的加深, Y10和Y12叶片MDA含量持续增加。经轻度水分胁迫48 h后, Y12幼苗叶片MDA含量比对照上升了11.56%; 而Y10中MDA含量略微减少, 这可能是由Y10叶片保护酶活性此时急剧增强所致。中度

胁迫时, 2个烟草叶片MDA含量均大幅度上升, Y10中MDA含量增幅最为明显, 升至对照的1.74倍, 差异达到显著水平, 而Y12叶片MDA含量相比于轻度胁迫时增加幅度很小, 且与对照水平相近, 这可能是此时Y12叶片中抗氧化酶活性达到峰值所致。重度胁迫时, 2个烟草品种叶片生长发育均受到严重抑制, MDA含量均达到峰值, 与对照差异均达到显著水平, 此时处理烟株叶片严重萎蔫, 生理代谢受到难以逆转的损伤。

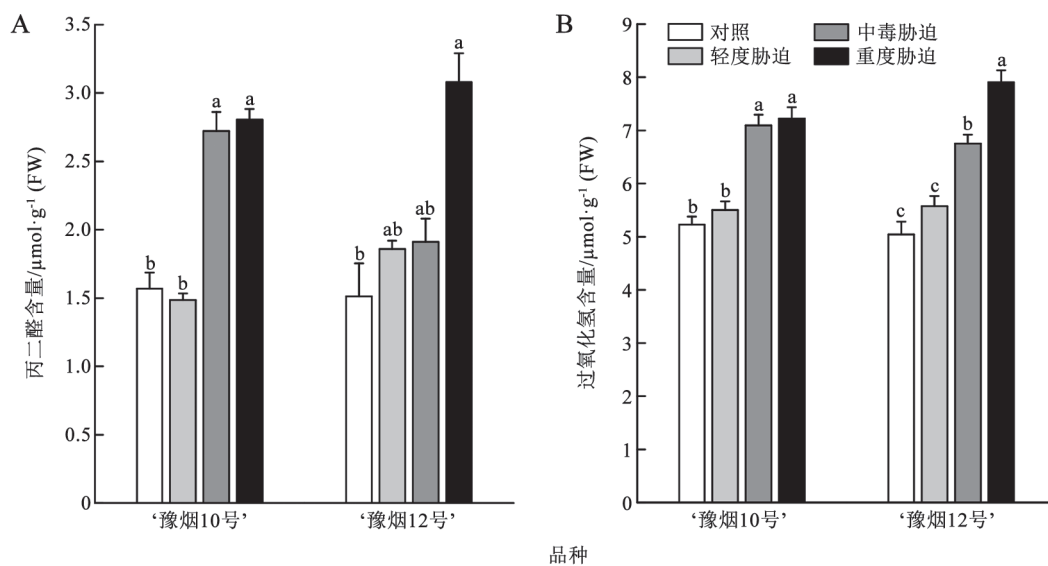


图1 不同程度干旱胁迫对烟草叶片MDA和H₂O₂含量的影响

Fig.1 Effects of different drought stresses on MDA and H₂O₂ contents in tobacco leaves

图中数据表示为平均值±标准误差, $n=5$, 同一品种同一指标各柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P<0.05$), 图2同。

H₂O₂是植物细胞中普遍存在的一种重要活性氧, 其含量的激增也属于植物受旱后过氧化表现(井大炜等2013)。如图1-B所示, PEG-6000胁迫48 h后, 2个烟草幼苗轻度胁迫一组的H₂O₂含量与对照水平相近, 仅出现小幅波动。中度胁迫时, H₂O₂含量急剧升高, Y10处理组比对照增加了35.71%, 显著高于对照, Y12处理组指标变化同样达到显著水平, 较其对照上升了33.94%。重度胁迫时, 2个烟草幼苗H₂O₂参数变化出现分歧, Y10在重度胁迫时的H₂O₂含量和轻度胁迫时几乎持平, 可能与此时Y10幼苗生理代谢受到严重抑制有关, 对进一步的干旱胁迫难以响应; 而Y12品种H₂O₂指标对重度干旱持续响应, 相比于中度干旱, 重度干旱时H₂O₂含量升高了17.05%, 二者差异达到显著, 这说明Y12品种能较长时间维持自身一定水平的抗旱活力, 对

干旱胁迫的耐受力要优于Y10品种。总体来看, H₂O₂和MDA变化趋势基本相一致, 但二者同叶片Chl含量的变化情况却并不统一, Chl含量变化幅度及峰值出现的胁迫程度区间同这两个指标有着分歧。这可能是由于不同生理指标对干旱环境的响应敏感度存在差异所引起的, Chl含量对干旱胁迫响应的敏感度可能比MDA和H₂O₂含量较为迟钝。

3 干旱胁迫对烟草叶片抗氧化酶活性的影响

SOD是膜脂过氧化防御系统的主要保护酶, 作为超氧自由基清除剂, 它能催化活性氧发生歧化反应产生H₂O₂和分子氧, 其活性高低与植物的抗逆性大小有一定的相关性(刘长成等2011)。在适度干旱胁迫下, SOD活性增加能提高植物的抗旱能力, 随着水分胁迫程度的加剧, 烟草叶片SOD活性均呈现先增加后降低的“抛物线”趋势(图2-A)。

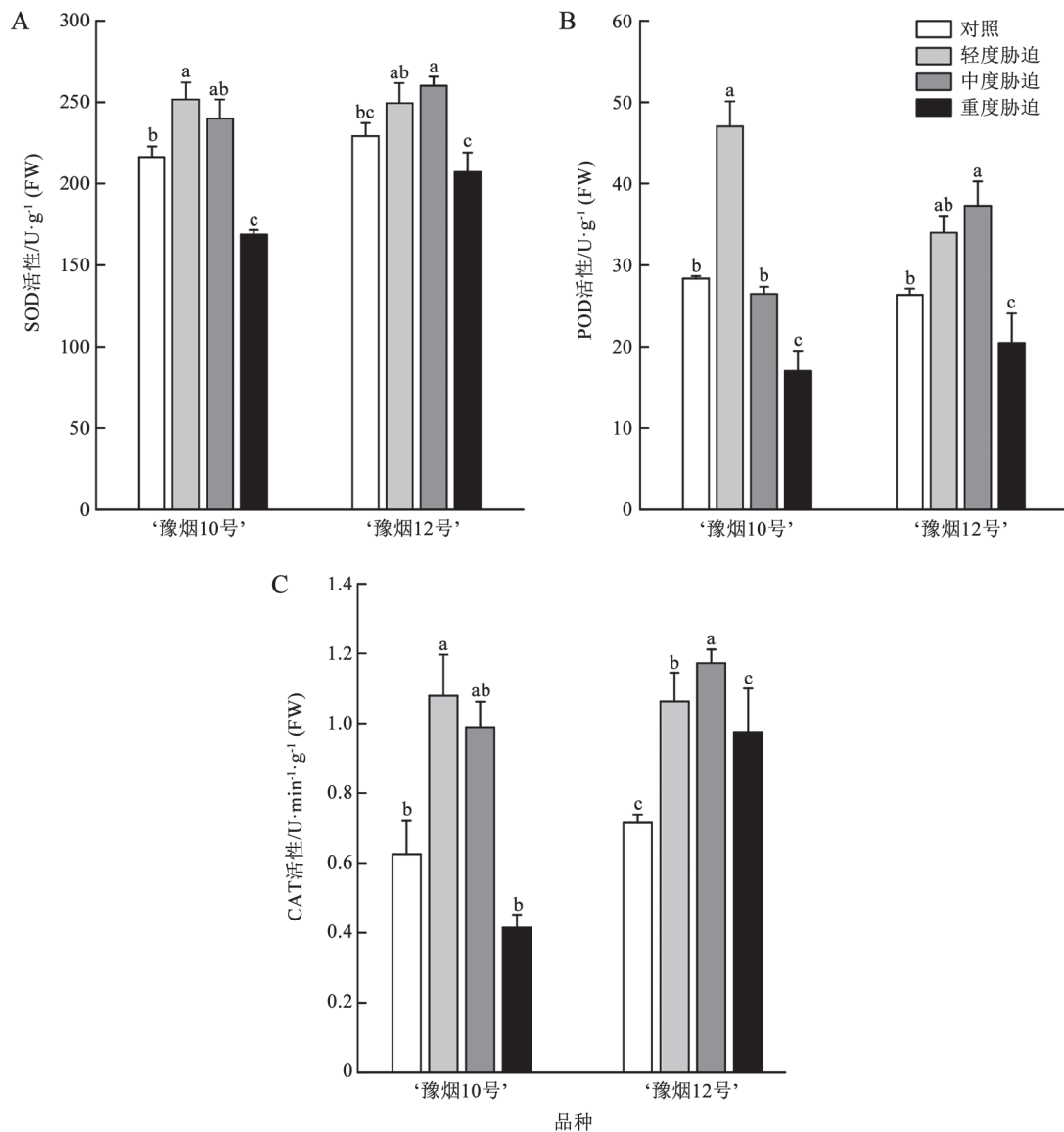


图2 不同程度干旱胁迫对烟草叶片抗氧化酶活性的影响

Fig.2 Effects of different drought stress on protective enzyme activities in tobacco leaves

Y10在轻度胁迫时SOD活性急剧增加并达到峰值,较对照上升了16.31%,差异显著;中度和重度干旱时,其活性均不同程度下降,重度干旱一组较对照显著下降。与Y10不同,Y12叶片SOD活性对不同程度干旱的响应似乎较为迟钝,SOD活性整体水平波动不太明显,先是表现出缓慢增加态势,轻度干旱时与对照无显著差异,活性峰值出现在中度胁迫处理一组,与对照差异显著。

POD也是植物细胞中的一个活性氧保护酶系,对环境变化较为敏感,在逆境胁迫期间或植物器官衰老初期均可表达,可通过氧化相应基质清除

低浓度的过氧化物。但POD作用具有双重性,还可参与活性氧的形成表现为伤害效应(万里强等2010; Worch等2011)。从图2-B看出,2个供试烟草品种叶片POD活性变化同SOD变化基本一致,轻度或中度胁迫时POD活性增加,重度干旱胁迫时,POD活性显著降低。

CAT专一清除留在植株体内的H₂O₂,它协同SOD作用最大限度地减少了羟自由基(·OH)的形成(闫志利等2009)。由图2-C可知,CAT对于干旱胁迫的响应比SOD与POD较为敏感,轻度PEG胁迫导致2种烟草幼苗叶片CAT活性均显著高于对照。Y12

在不同强度干旱处理下CAT活性均高于对照组,但重度胁迫时未达到显著差异。随着干旱强度的加深, CAT活性总体表现出与SOD、POD活性相似的变化趋势,即轻度胁迫时上升,而中度或重度干旱时下降(图2-C)。在胁迫至48 h,各处理烟草叶片CAT活性已降至对照水平。由图2-C还可看出,烟草Y12较Y10叶片CAT活性达到峰值的时间延迟至15%浓度PEG-6000。

4 烟草品种耐旱性综合评价

2个烟草品种的测验生理参数各不相同,采用单一指标评价烟草抗旱性结果片面,且各指标间关系复杂,不同指标对抗旱性贡献的权重比例各异,需对其进行综合分析评价。采用在植物抗旱性评价中常用的模糊隶属函数法,计算实验中7个生理生化指标的平均隶属函数值来对Y10和Y12的抗旱性进行综合评价。如表2所示, Y10和Y12叶片各项生理指标隶属函数值平均值分别为0.401和0.438, 指标隶属度值越大其对应品种抗旱性强,表明Y12抗旱性要优于Y10。

表2 不同程度水分胁迫下2个烟草品种各指标的平均抗旱隶属函数值

Table 2 The subject function values of seven indexes of two tobacco species under different water stresses

测定指标	隶属函数值	
	Y10	Y12
Chl <i>a+b</i> 含量	0.542	0.665
Chl <i>a/Chl b</i>	0.406	0.437
MDA 含量	0.411	0.381
H ₂ O ₂ 含量	0.331	0.408
SOD 活性	0.294	0.385
POD 活性	0.455	0.399
CAT 活性	0.372	0.393
隶属函数平均值	0.401	0.438

5 抗旱性指标与耐旱性的灰色关联分析

由于烟草各抗旱性指标对其耐旱性的贡献大小不同,需根据各指标的权重求出综合评估关联度,进而综合评价供试烟草品种的抗旱性。各指标权重的确定方法可结合当地生态条件,也可采用判断矩阵法求得。将2个烟草品种各抗旱指标的平均隶属函数值与7个抗旱指标视为一个灰色系统,前者作为参考数列 x_0 , $x_0=(0.429, 0.436)$, 抗旱性

指标为比较数列 x_i , 即 $x_{\text{Chl } a+b}=(0.574, 0.663)$, $x_{\text{Chl } a/\text{Chl } b}=(0.428, 0.435)$, ..., $x_{\text{CAT}}=(0.394, 0.391)$ 。对数据进行标准化转化处理后,由公式(1)和(2)计算出各抗旱指标与抗旱性的关联系数、关联度和权重,并按关联度大小进行排序(表3和4)。关联度大小可表明某单一抗旱性指标对干旱的敏感程度,关联度越大说明二者相关程度越高,反之则越低。

表3 供试烟草品种的抗旱性与抗旱性指标的灰色关联系数

Table 3 The grey correlation coefficients of seven drought resistance indexes of two different tobacco species

测验指标	关联系数	
	Y10	Y12
Chl <i>a+b</i> 含量	1.000 0	0.256 3
Chl <i>a/Chl b</i>	0.333 3	0.542 0
MDA 含量	0.687 2	1.000 0
H ₂ O ₂ 含量	0.626 3	0.917 4
SOD 活性	0.457 4	1.000 0
POD 活性	0.333 2	1.000 0
CAT 活性	0.428 3	0.356 1
平均值	0.502 7	0.624 6

表4 供试烟草品种抗旱性指标的灰色关联度和权重系数

Table 4 The grey correlative degrees and weights of seven drought resistance indexes of two different tobacco species

测验指标	灰色关联度	权重	排序
MDA 含量	0.851 2	0.181 6	1
SOD 活性	0.801 6	0.172 3	2
Chl <i>a/Chl b</i>	0.704 6	0.154 4	3
H ₂ O ₂ 含量	0.589 2	0.128 2	4
CAT 活性	0.558 5	0.126 2	5
POD 活性	0.551 4	0.124 2	6
Chl <i>a+b</i> 含量	0.482 9	0.113 1	7

如表3和4所示,各项抗旱性指标与烟草幼苗抗旱性的关联顺序依次为:MDA>SOD>Chl *a/Chl b*>H₂O₂>CAT>POD>Chl *a+b*。其中MDA和SOD灰色关联度在0.8~0.9区间, Chl *a/Chl b*的关联度则在0.7~0.8, 而H₂O₂、CAT、POD和Chl *a+b*的关联度在0.4~0.6之间,远低于其他抗旱性指标的关联度。结果表明,MDA和SOD指标与供试烟草品种的抗旱性关联最为紧密,可作为其抗旱能力鉴定的首选生理指标; Chl *a/Chl b*与供试烟草品种的耐旱性相关性次之,可作为抗旱能力鉴定的重要指

标; 而 H_2O_2 、CAT、POD和Chl $a+b$ 这4个指标对幼苗抗旱能力影响较小, 可以作为次要的抗旱性鉴定指标。

讨 论

1 植物抗旱性相关生理生化指标的变化

不同植物适应干旱胁迫的方式多种多样, 具有不同的抗旱机制或多种抗旱机制协同发挥作用(Mao等2004)。已有研究报道(张卫星等2008; 张盼盼等2012; Srivastava和Srivastava 2014), 作为植物细胞膜脂过氧化的主要产物, MDA能够交联糖类、脂类、蛋白质及核酸, 通过影响细胞膜蛋白来调节细胞对离子的吸收积累和活性氧代谢系统的平衡, 其含量的多少可直接反映出组织膜质过氧化程度, 抗旱能力强的植物受旱后其MDA含量增幅较小; H_2O_2 的富集也是细胞膜脂过氧化的一种表现, 由其引发的“膜相变”可影响植株正常的生理代谢功能, 不同强度干旱胁迫处理后, 其含量变化态势同MDA高度相似。叶片Chl含量的高低在一定程度上能决定叶片进行光合作用的强弱, 水分亏缺能导致植物光合能力和叶片含水量下降, 前者导致叶片Chl含量下降, 后者引起单位鲜重的Chl含量相对升高, 过度缺水会降解叶片中的Chl, 但适度的干旱反而会刺激叶片Chl含量增加(李永华等2012; 李州等2014), 如能在适度干旱下保持植株叶片Chl含量的稳定性甚或有所提高, 将有助于其在干旱逆境中的生长代谢(冯慧芳等2011)。范苏鲁等(2011)研究认为干旱胁迫可分解叶片中的Chl, 随着水分亏缺程度的加深, 抗旱性强的植物Chl含量降低的幅度会随之变小。本研究对于Chl含量的变化也得出相似的结论, Chl含量在干旱胁迫时与植株的耐旱性关联密切, 随着干旱胁迫强度加深, 叶片光合作用被显著抑制, Chl开始降解, 但本实验中2个烟草品种叶片的Chl含量总体波动幅度较小, 轻度水分胁迫阶段其含量甚至出现上升的情况, 原因是水分亏缺导致烟草叶片含水量下降, Chl呈现出相对浓缩的状态, 造成单位鲜重中Chl含量相对增加, 还可能与烟株对环境因子的补偿和超补偿效应有关(范苏鲁等2011), 这与冯慧芳等(2011)的研究结论有相似之处。

此外, SOD、POD和CAT是植物内在的保护

酶系统, 它们既有分工又有合作, 在植物抗逆代谢中起着重要的防护作用, 抗旱能力强的植株往往能维持较高水平的抗氧化酶活性和Chl含量。Kolarovič等(2009)研究表明, 抗旱型玉米品种苗期受短时间水分胁迫后, 其叶片SOD、POD和CAT抗氧化酶活性得到显著提高, 植株的生长受到明显正向刺激效果。而保护酶体系中SOD更受重视, 冯佰利(2005)则认为SOD保护酶的累积量在植物逆境和衰老生理代谢中起着主导的作用, 这与本文烟草抗旱性指标对抗旱能力贡献大小的筛选结果相吻合。烟草是对外界环境较为敏感的一种经济作物, 本实验结果表明, 烟草幼苗随着PEG胁迫强度的加剧, 叶片中抗氧化酶活性大致呈现出“先升后降”的变化规律, MDA和 H_2O_2 含量均持续增加, 轻度或中度胁迫时叶片MDA和 H_2O_2 含量增加幅度较小, 这可能是受SOD、POD和CAT等保护酶活性在此胁迫区间活性上升的影响。因此, 维持植株体内较高水平的抗氧化酶活性可作为一种缓解干旱胁迫的调控措施。就此而言, 各抗旱性生理生化指标有着一定的相关性, 对PEG胁迫响应表现出不同程度的敏感性, 适度的干旱胁迫有利于刺激烟草幼苗更好地发挥自身保护酶体系, 一旦水分胁迫过度, 叶片失水将打破细胞内外水分平衡, 造成细胞质膜透性加大, 细胞膜脂过氧化程度加剧, 抗氧化酶体系的酶活性受到严重抑制, 其清除组织内过量自由基, 缓解细胞膜脂过氧化程度的能力终被削弱。

2 烟草苗期抗旱性鉴定指标的综合评价

作物的抗旱性是由多因素交互形成的一个复杂综合性状, 不同作物的抗旱机制存在着差异, 某种作物在特定地区的抗旱性是由自身的生理结构特性以及生长发育进程与所处环境变化相配合的程度决定的(张智猛等2011; Goncalves等2011)。此外, 不同抗旱性生理指标对作物干旱胁迫响应的敏感度表现不一, 由此对作物耐旱能力的综合量化评价就显得颇为复杂, 采用任何单个指标评价抗旱性的结果显得单一片面, 与实际情况吻合度较差, 应从形态、生理生化指标中筛选出与抗旱性关系密切的几个主要抗旱性指标并进行综合评判才更贴合实际生产(Monneveux等2006; 张智猛等2013 b)。目前报道的抗旱性综合评价方法主

要有灰色关联分析法、隶属函数法、聚类分析法、主成分分析法、权重系数矩阵分析法等(张智猛等2011; 贾艳红等2006; 郭数进等2014; 田山君等2014)。本文同时采用隶属函数法和灰色关联分析法对河南烟区主栽品种‘豫烟10号’和‘豫烟12号’进行了苗期抗旱性生理指标的筛选与评价, 由于模糊数学中的隶属函数综合评价方法简单可行, 充分考虑到各评价指标与抗旱性的关联性以及指标隶属度值与抗旱能力的相关程度, 评价结果具有较强的可信性(田治国等2011)。结论表明, MDA、SOD和Chl *a*/Chl *b*指标可以作为鉴定烟草苗期抗旱性强弱的有效指标, 而H₂O₂、CAT、POD和Chl含量可作为辅助鉴定指标, 这与研究者(张盼盼等2012; 张智猛等2011; 郭郁频等2014)在其他作物上的研究结论基本相一致, 可进一步应用于烟草品种苗期抗旱性评价来加以验证。不同作物品种生理指标对干旱胁迫响应敏感度存在着差异, 这种差异可能是其自身生物学特性对干旱胁迫响应的机理不同所造成, 或者是PEG-6000溶液对指标具有影响作用的临界浓度值不同(种培芳等2011; 孙艳茹等2015)。在本实验多项检测指标中, ‘豫烟12号’相比‘豫烟10号’的抗旱性指标变化幅度较小, 更容易维持自身的保护酶活性, 其对干旱胁迫应答的迟钝表现暗示‘豫烟12号’在水分匮乏环境下抗逆能力较强, 隶属函数法对供试烟草品种各项抗旱性鉴定指标的综合评价也表明, ‘豫烟12号’抗旱能力要优于‘豫烟10号’。灰色关联分析是依据比较数列与参考数列几何形状的相似程度来判断因素间关联程度(Li等2014; Cui等2012), 此法能解决线性关系不明确的问题, 通过该模型分析可从多个抗旱性生理指标中筛选出与作物抗旱性关系紧密的指标, 进而采用有效鉴定指标综合评价作物的抗旱能力, 使得鉴定结果更贴合实际(Cui等2012; Liu等2013)。本研究结果显示, 供试烟草幼苗的MDA、SOD和Chl *a*/Chl *b*指标与抗旱性的关联度都在0.7~0.9区间, 在进行抗旱性评价时应优先考虑应用; 而H₂O₂、POD、CAT和Chl *a+b*指标与抗旱隶属度值的关联度虽较小, 但这几个指标的关联度值较为相近, 间接说明这些指标在烟草的抗旱性中相互制约, 相互依赖, 综合调节着烟草品种的内在抗旱机制, 从而使烟株适应外界的

干旱环境。作物抗旱能力不仅与抗旱生理生化指标有关, 还与干旱胁迫发生的时期也有密切关系。本研究仅对烟草苗期抗旱相关生理生化指标进行了筛选评价, 仍需综合考虑表观形态指标对干旱的响应变化, 此外, 这些指标在烟草团棵期、旺长期和成熟期等大田生育时期抗旱性鉴定的研究还有待深入研究。

参考文献

- Bai LP, Sui FD, Ge TD, Sun ZH, Lu YY, Zhou GS (2006). Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize. *Pedosphere*, 16 (3): 326–332
- Cui H (2012). The effects of chilling and drought stress on germination and seedling growth and the research on improving chilling and drought tolerance in tobacco (PhD thesis). Hangzhou: Zhejiang University (in Chinese With English abstract) [崔华威 (2012). 低温干旱胁迫对烟草种子发芽和幼苗生长的影响及提高其抗寒抗旱性的研究(博士论文). 杭州: 浙江大学]
- Cui J, Liu S, Xie N (2012). Novel grey decision making model and its numerical simulation. *Trans Nanjing Univ Aeronaut Astronaut*, 29 (2): 112–117
- Dai GX, Ke Qin P, Lang Tao X, Guo Fu D (2006). Effect of drought stress simulated by PEG on malonaldehyde, proline contents and superoxide dismutase activity in low potassium tolerant rice seedlings. *Chin J Rice Sci*, 20 (5): 557–559 (in Chinese with English abstract) [戴高兴, 彭克勤, 萧浪涛, 邓国富(2006). 聚乙二醇模拟干旱对耐低钾水稻幼苗丙二醛、脯氨酸含量和超氧化物歧化酶活性的影响. *中国水稻科学*, 20 (5): 557–559]
- Fan SL, Yuan ZH, Feng LJ, Wang XH, Ding XM, Zhen HL (2011). Effects of drought stress on physiological and biochemical parameters of *Dahlia pinnata*. *Chin J Appl Ecol*, 22 (3): 651–657 (in Chinese with English abstract) [范苏鲁, 苑兆和, 冯立娟, 王晓慧, 丁雪梅, 甄红丽(2011). 干旱胁迫对大丽花生理生化指标的影响. *应用生态学报*, 22 (3): 651–657]
- Feng BL, Gao XL, Wang CF, Zhang SW, Li SX (2005). Leaf senescence and active oxygen metabolism of different-type wheats under drought. *Chin J Eco-Agric*, 13 (4): 74–76 (in Chinese with English abstract) [冯佰利, 高小丽, 王长发, 张嵩午, 李生秀 (2005). 干旱条件下不同温型小麦叶片衰老与活性氧代谢特性的研究. *中国生态农业学报*, 13 (4): 74–76]
- Feng H, Xue L, Ren X, Fu J, Zheng W, Shi X (2011). Physiological responses of four broadleaved seedlings to drought stress simulated by PEG. *Acta Ecol Sin*, 31 (2): 371–382 (in Chinese with English abstract) [冯慧芳, 薛立, 任向荣, 傅静丹, 郑卫国, 史小玲(2011). 4种阔叶幼苗对PEG模拟干旱的生理响应. *生态学报*, 31 (2): 371–382]
- Gao J (2006). *Plants Physiology Experimentation Guidance*. Beijing: Higher Education Press (in Chinese) [高俊凤(2006). *植物生理学实验指导*. 北京: 高等教育出版社]
- Goncalves WG, Costa AC, Lima DP, Silva AA, Megguer CA (2011). Membrane permeability and relative water content in nuts plants

- submitted to fast water deficit. *Global Sci Technol*, 4 (1): 131–139
- Guo SJ, Li WY, Ma YY, Zhao H, Qiao L, Li GQ (2014). Comprehensive evaluation of low-temperature tolerance in soybean cultivars of different eco-types at seedling stage in Shanxi Province. *Chin J Plant Ecol*, 38 (9): 990–1000 (in Chinese with English abstract) [郭数进, 李玮瑜, 马艳芸, 赵恒, 乔玲, 李贵全(2014). 山西不同生态型大豆品种苗期耐低温性综合评价. *植物生态学报*, 38 (9): 990–1000]
- Guo Y, Mi F, Yan L, Ren Y, Lü S, Fu B (2014). Physiological response to drought stresses and drought resistances evaluation of different Kentucky bluegrass varieties. *Acta Pratacult Sin*, 23 (4): 220–228 (in Chinese with English abstract) [郭郁频, 米福贵, 闫利军, 任永霞, 吕世杰, 伏兵哲(2014). 不同早熟禾品种对干旱胁迫的生理响应及抗旱性评价. *草业学报*, 23 (4): 220–228]
- Jia Y, Zhao J, Nan Z (2006). Ecological safety assessment of grassland based on entropy-right method: a case study of Gansu pastoral area. *Chin J Ecol*, 25 (8): 1003–1008 (in Chinese with English abstract) [贾艳红, 赵军, 南忠仁, 赵传燕, 王胜利(2006). 基于熵权法的草原生态安全评价——以甘肃牧区为例. *生态学杂志*, 25 (8): 1003–1008]
- Jing DW, Xing SJ, Du ZY, Liu FC (2013). Effects of drought stress on the growth, photosynthetic characteristics, and active oxygen metabolism of poplar seedlings. *Chin J Appl Ecol*, 24 (7): 1809–1816 (in Chinese with English abstract) [井大炜, 邢尚军, 杜振宇, 刘方春(2013). 干旱胁迫对杨树幼苗生长、光合特性及活性氧代谢的影响. *应用生态学报*, 24 (7): 1809–1816]
- Kolarovič L, Valentovič P, Luxová M, Gašparíková O (2009). Changes in antioxidants and cell damage in heterotrophic maize seedlings differing in drought sensitivity after exposure to short-term osmotic stress. *Plant Growth Regul*, 59 (1): 21–26
- Li H (2000). *Principle and Technology of Plant Physiological and Biochemical Experiments*. Beijing: Higher Education Press, 25–46 (in Chinese) [李合生(2000). *植物生理生化实验原理和技术*. 北京: 高等教育出版社, 25–46]
- Li Y, Liu S, Xu L (2014). Efficiency evaluation method for product cooperative development based on grey incidence analysis and DEA. In: Gruver WA, Chen CLP (eds). *Proceedings 2014 IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics (SMC)*. Piscataway, New Jersey: Institute of Electrical and Electronics Engineers, Inc., 1670–1674
- Li YF, Zheng Y, Jagadeeswaran G, Sunkar R (2013). Characterization of small RNAs and their target genes in wheat seedlings using sequencing-based approaches. *Plant Sci*, 203: 17–24
- Li YH, Lu Q, Wu B, Zhu YJ, Liu DJ, Zhang JX, Jin ZH (2012). A review of leaf morphology plasticity linked to plant response and adaptation characteristics in arid ecosystems. *Chin J Plant Ecol*, 36 (1): 88–98 (in Chinese with English abstract) [李永华, 卢琦, 吴波, 朱雅娟, 刘殿君, 张金鑫, 靳占虎(2012). 干旱区叶片形态特征与植物响应和适应的关系. *植物生态学报*, 36 (1): 88–98]
- Li Z, Wang X, Peng D, Peng Y (2014). Effects of Na⁺ on antioxidant defence and accumulation of osmoregulatory substances in white clover under water deficit stress. *Acta Pratacult Sin*, 23 (5): 175–183 (in Chinese with English abstract) [李州, 王晓娟, 彭丹丹, 彭燕(2014). Na⁺对水分胁迫下白三叶抗氧化防御和有机渗透调节物质的影响. *草业学报*, 23 (5): 175–183]
- Lin J (2013). *Drought resistance identification and evaluation of tobacco* (Master's thesis). Yangling: Northwest A&F University (in Chinese with English abstract) [林杰(2013). *烟草品种抗旱性鉴定与评价*(硕士论文). 杨凌: 西北农林科技大学]
- Liu CC, Liu YG, Guo K (2011). Ecophysiological adaptations to drought stress of seedlings of four plant species with different growth forms in karst habitats. *Chin J Plant Ecol*, 35 (10): 1070–1082 (in Chinese with English abstract) [刘长成, 刘玉国, 郭柯(2011). 四种不同生活型植物幼苗对喀斯特生境干旱的生理生态适应性. *植物生态学报*, 35 (10): 1070–1082]
- Liu L, Chen JH, Wang GM, Lao DZ (2013). Multi-attributed decision making for mining methods based on grey system and interval numbers. *J Cent South Univ*, 20 (4): 1029–1033
- Liu S, Forrest JYL, Yang Y (2015). *Grey System: Thinking, Methods, and Models with Applications*. In: Zhou M, Li HX, Weijnen M (eds). *Contemporary Issues in Systems Science and Engineering*. Hoboken, New Jersey: Wiley-IEEE Press, 153–224
- Ma WG, Cui HW, Li YP (2012). Physiological characteristics of 20 tobacco cultivars under drought stress and assessment of their drought tolerance at germination and seedling stages. *Seed*, 31 (2): 25–30 (in Chinese with English abstract) [马文广, 崔华威, 李永平, 郑昀晔, 王洋, 秦国臣, 胡晋(2012). 20个烟草品种干旱胁迫下发芽和苗期生理特性及抗旱性评价. *种子*, 31 (2): 25–30]
- Ma XL, Xin ZY, Wang ZQ, Yang QH, Guo SL, Guo XY, Cao LR, Lin TB (2015). Identification and comparative analysis of differentially expressed miRNAs in leaves of two wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes during dehydration stress. *BMC Plant Biol*, 15 (1): 21
- Mao Z, Jiang H, Wang Y, Zu Y, Voronin PY (2004). Water balance of birch and larch leaves and their resistance to short and progressive soil drought. *Russ J Plant Physiol*, 51 (5): 697–701
- Monneveux P, Sanchez C, Beck D (2006). Drought tolerance improvement in tropical maize source population. *Evid Prog*, 46 (1): 180–191
- Ren HX, Chen X, Wang YF (2001). Changes in antioxidative enzymes and polyamines in wheat seedlings with different drought resistance under drought and salt stress. *Acta Phytoecol Sin*, 25 (6): 709–715 (in Chinese with English abstract) [任红旭, 陈雄, 王亚馥(2001). 抗旱性不同的小麦幼苗在水分和盐胁迫下抗氧化酶和多胺的变化. *植物生态学报*, 25 (6): 709–715]
- Srivastava S, Srivastava M (2014). Morphological changes and antioxidant activity of *Stevia rebaudiana* under water stress. *Am J Plant Sci*, 5 (22): 3417–3422
- Sun F, Guo G, Du J, Guo W, Peng H, Ni Z, Sun Q, Yao Y (2014). Whole-genome discovery of miRNAs and their targets in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biol*, 14: 142
- Sun Y, Shi Y, Chen G, Yan H (2015). Evaluation of the germination characteristics and drought resistance of green manure crops under PEG stress. *Acta Pratacult Sin*, 24 (3): 89–98 (in Chinese with English abstract) [孙艳茹, 石屹, 陈国军, 闫慧峰(2015). PEG模拟干旱胁迫下8种绿肥作物萌发特性与抗旱性评价. 草

- 业学报, 24 (3): 89–98]
- Tian S, Yang S, Sun F, Yuan J (2014). Screening in Southwest China of drought-resistant varieties of maize at the seedling stage. *Acta Pratacult Sin*, 23 (1): 50–57 (in Chinese with English abstract) [田山君, 杨世民, 孔凡磊, 袁继超(2014). 西南地区玉米苗期抗旱品种筛选. *草业学报*, 23 (1): 50–57]
- Tian ZG, Wang F, Zhang WE, Zhao XM (2011). Drought-resistance evaluation of marigold cultivars based on multiple statistics analysis. *Chin J Appl Ecol*, 22 (12): 3315–3320 (in Chinese with English abstract) [田治国, 王飞, 张文娥, 赵秀明(2011). 多元统计分析方法在万寿菊品种抗旱性评价中的应用. *应用生态学报*, 22 (12): 3315–3320]
- Tsai MS, Hsu FY (2010). Application of grey correlation analysis in evolutionary programming for distribution system feeder reconfiguration. *IEEE Trans Power Syst*, 25 (2): 1126–1133
- Upadhyaya H, Panda SK, Dutta BK (2008). Variation of physiological and antioxidative responses in tea cultivars subjected to elevated water stress followed by rehydration recovery. *Acta Physiol Plant*, 30 (4): 457–468
- Wan L, Li X, Shi Y, He F, Jia Y (2010). A study on the response and on the comparison of physiological and biochemical indexes of four *Lolium perenne* varieties under PEG stress. *Acta Pratacult Sin*, 19 (1): 83–88 (in Chinese with English abstract) [万里强, 李向林, 石永红, 何峰, 贾亚雄(2010). PEG胁迫下4个黑麦草品种生理生化指标响应与比较研究. *草业学报*, 19 (1): 83–88]
- Wang JP, Bughrara SS (2008). Evaluation of drought tolerance for *Atlas fescue*, perennial ryegrass, and their progeny. *Euphytica*, 164: 113–122
- Wang X (2006). *Principle and Technology of Plant Physiological and Biochemical Experiments*. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press (in Chinese) [王学奎(2006). *植物生理生化实验原理和技术*. 第2版. 北京: 高等教育出版社]
- Worch S, Rajesh K, Harshavardhan VT, Pietsch C, Korzun V, Kuntze L, Börner A, Wobus U, Röder MS, Sreenivasulu N (2011). Haplotyping, linkage mapping and expression analysis of barley genes regulated by terminal drought stress influencing seed quality. *BMC Plant Biol*, 11: 1
- Xie X, Lan D, Bai J (2009). A comprehensive assessment of drought-resistance of three wild rocky-slope grasses. *Acta Pratacult Sin*, 18 (4): 75–80 (in Chinese with English abstract) [谢贤健, 兰代萍, 白景文(2009). 三种野生岩生草本植物的抗旱性综合评价. *草业学报*, 18 (4): 75–80]
- Xu ZC, Li YY, Bi QW, He JW, Li JP (2008b). Evaluation on climatic feasibility of tobacco-growing areas in Hubei and its similarity to that of foreign tobacco-growing areas. *Acta Ecol Sin*, 28 (8): 3832–3838 (in Chinese with English abstract) [许自成, 黎妍妍, 毕庆文, 何结望, 李进平(2008b). 湖北烟区烤烟气候适生性评价及与国外烟区的相似性分析. *生态学报*, 28 (8): 3832–3838]
- Xu ZC, Li YY, Xiao HQ, Wang L (2008a). Evaluation of ecological factors and flue-cured tobacco quality in tobacco-growing areas in southern Hunan, China. *J Plant Ecol*, 32 (1): 226–234 (in Chinese with English abstract) [许自成, 黎妍妍, 肖汉乾, 王林(2008a). 湘南烟区生态因素与烤烟质量的综合评价. *植物生态学报*, 32 (1): 226–234]
- Yan ZL, Niu JY, Xi LL, Zhou HY, Jiang J, Liu JH (2009). Effect of soil water on protective enzyme activity and membrane lipid peroxidation in pea. *Chin J Eco-Agric*, 17 (3): 554–559 (in Chinese with English abstract) [闫志利, 牛俊义, 席玲玲, 周海燕, 蒋娟, 刘建华(2009). 水分条件对豌豆保护酶活性及膜脂过氧化的影响. *中国生态农业学报*, 17 (3): 554–559]
- Yang T, Zhang X, Yin Q, Wu Y, Xue G (2015). Breeding of flue-cured tobacco variety Yuyan 10 and characters thereof. *Acta Tabac Sin*, (3): 48–56 (in Chinese with English abstract) [杨铁钊, 张小全, 殷全玉, 武云杰, 薛刚(2015). 烤烟新品种豫烟10号的选育及特征特性. *中国烟草学报*, (3): 48–56]
- Yang TZ, Yin QY, Ding YL, Zhang YM (2004). Relationships between ozone injury and stoma parameters and activities of antioxidant enzyme. *Acta Phytoecol Sin*, 28 (5): 672–679 (in Chinese with English abstract) [杨铁钊, 殷全玉, 丁永乐, 张玉梅(2004). 烟草气孔特性、抗氧化酶活性与臭氧伤害的关系. *植物生态学报*, 28 (5): 672–679]
- Ye CX, Wu SQ, Qin ZQ (2009). Grey correlation degree analysis of factors affecting the consumption of farmers. *Asian Agric Res*, 1 (11–12): 56–60
- Zhang PP, Feng BL, Wang PK, Gao XL, Gao JF, Song H, Zhang XD, Chai Y (2012). Study on identification of drought-resistance indexes at seedling stage in broomcorn millet under PEG stress. *J China Agric Univ*, 17 (1): 53–59 (in Chinese with English abstract) [张盼盼, 冯佰利, 王鹏科, 高小丽, 高金锋, 宋慧, 张小东, 柴岩(2012). PEG胁迫下糜子苗期抗旱指标鉴定研究. *中国农业大学学报*, 17 (1): 53–59]
- Zhang RH, Xue JQ, Pu J, Zhao B, Zhang XH, Zheng YJ, Bu LD (2011). Influence of drought stress on plant growth and photosynthetic traits in maize seedlings. *Acta Agron Sin*, 37 (3): 521–528 (in Chinese with English abstract) [张仁和, 薛吉全, 浦军, 赵兵, 张兴华, 郑友军, 卜令铎(2011). 干旱胁迫对玉米苗期植株生长和光合特性的影响. *作物学报*, 37 (3): 521–528]
- Zhang WX, Zhu DF, Zhao Z, Lin XQ, Zhang YP, Chen HZ (2008). Response of malondialdehyde content in leaves and yield traits of super hybrid rice to water deficit. *Chin J Rice Sci*, 22 (6): 661–664 (in Chinese with English abstract) [张卫星, 朱德峰, 赵致, 林贤青, 张玉屏, 陈惠哲(2008). 超级杂交稻叶片丙二醛含量以及产量性状对水分亏缺的响应. *中国水稻科学*, 22 (6): 661–664]
- Zhang Z, Qu W (2006). *Plants Physiology Experimentation Guidance*. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press (in Chinese) [张志良, 瞿伟菁(2006). *植物生理学实验指导*. 第3版. 北京: 高等教育出版社]
- Zhang Z, Song W, Ding H, Ci D, Kang T, Ning T, Dai L (2013b). The responses of leaf osmoregulation substance and protective enzyme activity of different peanut cultivars to non-sufficient irrigation. *Acta Ecol Sin*, 33 (14): 4257–4265 (in Chinese with English abstract) [张智猛, 宋文武, 丁红, 慈敦伟, 康涛, 宁堂原, 戴良香(2013b). 不同生育期花生渗透调节物质含量和抗氧化酶活性对土壤水分的响应. *生态学报*, 33 (14): 4257–4265]
- Zhang ZM, Dai LX, Song WW, Ding H, Ci DW, Kang T, Ning TY, Wan SB (2013a). Effect of drought stresses at different growth stages on peanut leaf protective enzyme activities and osmoreg-

- ulation substances content. *Acta Agron Sin*, 39 (1): 133–141 (in Chinese with English abstract) [张智猛, 戴良香, 宋文武, 丁红, 慈敦伟, 康涛, 宁堂原, 万书波(2013a). 干旱处理对花生品种叶片保护酶活性和渗透物质含量的影响. *作物学报*, 39 (1): 133–141]
- Zhang ZM, Wan SB, Dai LX, Song WH, Chen J, Shi YQ (2011). Estimating and screening of drought resistance indexes of peanut. *Chin J Plant Ecol*, 35 (1): 100–109 (in Chinese with English abstract) [张智猛, 万书波, 戴良香, 宋文武, 陈静, 石运庆(2011). 花生抗旱性鉴定指标的筛选与评价. *植物生态学报*, 35 (1): 100–109]
- Zhong P, Su S, Li Y (2011). Comprehensive evaluation of drought resistance of *Reaumuria soongorica* from four geographical populations. *Acta Pratacult Sin*, 20 (5): 26–33 (in Chinese with English abstract) [种培芳, 苏世平, 李毅(2011). 4个地理种群红砂的抗旱性综合评价. *草业学报*, 20 (5): 26–33]

Physiological responses of two tobacco cultivar leaves to different drought stresses during seedling stage

SHAO Hui-Fang¹, CHEN Zheng¹, XU Jia-Yang², FAN Yi-Kuan³, HUANG Wu-Xing¹, ZHANG Hai-Cong¹, XU Zi-Cheng^{1,*}

¹College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; ²Agronomy and Biotechnology College, China Agricultural University, Beijing 100193, China; ³Tobacco Research Institute of Henan Provincial Tobacco Company, Zhengzhou 472000, China

Abstract: Drought is one of the numerous environmental factors which seriously affects the growth and development of plants, and it is becoming more severe in many regions of the world due to climate change. To examine physiological responses of tobacco seedling to polyethylene glycol (PEG) stress and provide theoretical basis for evaluating drought resistance and screening tobacco species, the physiological and biochemical indexes of two tobacco cultivars were investigated under the conditions of light drought (LD), intermediate drought (ID) and severe drought (SD). The results show that malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H₂O₂) contents were significantly increased than those of the control, while activities of protective enzymes and chlorophyll contents were obviously increased and then significantly decreased under the ID or SD treatments. The enzyme activities in ‘Yuyan 10’ increased more strongly than those in ‘Yuyan 12’. Meanwhile, MDA content in ‘Yuyan 10’ changed more obviously than that in ‘Yuyan 12’, which may be related to the enhanced enzyme activity during droughts, more exactly, a strong negative correlativity between MDA content and enzyme activities was shown under water stress. Subordinate function of drought-resistance and its correlation with drought-resistance indexes of tobacco species were used for a quantitative evaluation of comprehensive drought-resistance. The capabilities of drought-resistance for two different tobacco species were in the order ‘Yuyan 12’ > ‘Yuyan 10’. There was a significant tendency that drought-resistant varieties were more easily adapted to water stress environment than drought-susceptible varieties, and the slight variations of index only occurred in the drought-resistant varieties. The grey correlative degree of drought-resistance with other physiological indexes was in the rank of MDA content, SOD activity, H₂O₂ content, Chl *a*/Chl *b*, POD activity, CAT activity and Chl *a+b* content. Therefore, the SOD activity, MDA content and Chl *a*/Chl *b* can be used as effective indicators for the identification of drought resistance, while H₂O₂ content, CAT activity, POD activity and Chl *a+b* content can be used for reference indicators at seedling stage for tobacco species.

Key words: tobacco; drought stress; physiological response; drought resistance; evaluation

Received 2016-06-12 Accepted 2016-11-02

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31200393), and the Science and Technology Project of Henan Province Tobacco Company (Grant Nos. HYKJ 201210 and HYKJ 201405).

*Corresponding author (E-mail: zichengxu@126.com).