

- 中国农学会遗传资源学会 编
- 中国农业科学院作物品种资源研究所

作物抗逆性 鉴定的原理与技术

● 北京农业大学出版社

作物抗逆性鉴定的原理与技术

中国农学会遗传资源学会 编
中国农业科学院作物品种资源研究所

北京农业大学出版社

责任编辑 朱长玉
封面设计 雷克敬

作物抗逆性鉴定的原理与技术

中国农学会遗传资源学会 编
中国农业科学院作物品种资源研究所

*

北京农业大学出版社出版
(北京市海淀区圆明园西路二号)
北京市西三旗印刷厂印刷
新华书店首都发行所发行

*

787×1092毫米 32开本 10.75印张 240千字
1989年12月第1版 1989年12月第1次印刷
印数: 1,000

ISBN 7-81002-120-6/S·121

定 价: 4.80元

编 者 的 话

对作物生长产生不良影响的环境胁迫 (Enviromental Stress)，主要来自于生物作用和物理化学因素两个方面，后者的研究内容为温度（高温或低温）、水分（不足或过量）辐射、盐分（离子过多或不足）、酸碱度、气体污染、风、压力、声、电磁等等。我国在作物抗逆性研究上目前主要侧重在温度、水分和盐分方面。

在世界范围内，每年因各种环境条件的变化造成局部地区的农业歉收，甚至危及受灾地区人们的安全，特别是经济不发达的国家和地区，抗御自然灾害的能力有限，造成的损失更为严重。抗逆品种的选育为逆境条件下作物生产带来了美好的前景。近年来，各国政府和科研机构都非常注意加强作物品种抗逆性的研究，挖掘利用生物本身的抗逆能力，以抵抗各种逆境的危害。我国是各种自然灾害频繁发生的国家，寒害几乎遍及各地，危害多种作物，15亿亩耕地中竟有3/4的面积遭受不同程度干旱的威胁，盐碱耕地面积约1亿亩，加上其它逆境因素的影响，78%的耕地处于中低产状况，限制了我国农业生产的迅速发展。自1978年全国品种资源工作会议确定了作物品种资源抗逆性鉴定研究课题以来，做了大量工作。为了使这项研究工作深入开展，中国农学会遗传资源学会同中国农业科学院作物品种资源研究所抗逆性鉴定、品质分析研究室于1987年11月25—27日在北京联合召开了农作

物抗逆性鉴定学术讨论会。会上交流论文35篇，其中抗旱性13篇、抗湿性2篇、抗冷性11篇、抗盐碱5篇、其它4篇。这些论文或有理论上的指导意义，或在实际工作中有应用价值。为使这些论文得到更广泛的鉴赏，我们将部分论文汇编成册，供从事和关心作物抗逆性鉴定研究工作的人员参考。由于我们的编纂水平所限，错误和不妥之处在所难免，恳请读者提出宝贵意见并予以指正。

主 编 王洪春

副主编 李胜琳 宋景芝

目 录

作物抗逆性机理与抗逆性鉴定技术	王洪春 (1)
作物品种资源的抗逆性鉴定	张玉良 (21)
水、陆稻叶片鲜重的测定方法及剑叶 鲜重日变化的研究	凌祖铭等 (37)
水、陆稻叶片水势的研究	余荣等 (49)
连续升温电导及其在小麦抗旱性鉴定 中应用的初步探讨	陈毓荃等 (67)
黑龙江省春小麦抗旱品种的主要特点 ——植物学特征和生长动态的研究	金福平等 (83)
高粱种子萌发期耐旱性的快速鉴定及 其原理	王洪春等 (95)
高粱抗旱性状的遗传研究	侯荷亭等 (104)
玉米抗旱性及其鉴定方法的研究 I、玉米苗期抗旱指标的盆栽筛 选和评价	罗淑平等 (116)
II、玉米成株期抗旱指标的筛选 和评价	罗淑平等 (132)
干旱对大豆生育期某些生化特性的 影响	宋英淑等 (144)
莜、燕麦抗旱性直接鉴定法的初步 研究	李成雄等 (152)

普通野生稻种质资源苗期耐旱性的

鉴定 刘雪贞 (162)

水稻品种耐冷性及评价策略 李胜琳 (167)

低温对晚籼稻开花结实危害指标的

研究 张旭等 (177)

水稻品种抽穗开花期耐冷性研究 段传嘉 (196)

水稻品种抗冷性鉴定试验报告

..... 吉林省农业科学院水稻研究所 (206)

关于野生稻耐冷性鉴定问题的探讨 吴妙燊等 (213)

野生稻人工气候箱耐冷性鉴定研究

初报 广西农科院野生稻课题组 (226)

冬小麦抗冻性鉴定方法指标及一些

影响因素的研究 赵玉田等 (237)

冬小麦抗寒性鉴定方法 王佩芝等 (249)

作物品种资源耐盐性鉴定方法的研究

..... 中国农科院作物品种资源所 (260)

引进国外水稻种质资源的耐盐性筛选

鉴定 王明珍等 (269)

耐盐水稻80—85不同生育期耐盐性的

研究 秦忠斌等 (279)

冬小麦的耐盐性及根系发育 张宪营等 (289)

糜黍品种的耐盐性鉴定 高俊山等 (297)

小麦孕穗期耐湿性鉴定简易指标的

探讨 蔡士宾等 (307)

芝麻耐湿资源鉴定技术的研究 冯祥运等 (316)

小麦抗穗发芽性鉴定及其机理研究 张海峰 (321)

作物抗逆性机理与抗逆性鉴定技术

王 洪 春

(中国科学院上海植物生理所)

作物抗逆性是研究不同逆境条件下作物继续生长、发育和形成产量的能力，但是在研究工作中存在不少困难，如美国1986年农业发展规划讨论中就提出轻微环境因素变化对农作物产量构成的影响是一个急待研究的重要问题。在研究这类问题时需要精度高的环境控制设备和灵敏的测试手段。过去研究作物的抗逆性多注重研究作物对逆境的忍耐能力，即研究造成作物致死的环境阈值，如抗旱性研究以干旱到作物死亡时的忍耐能力，抗冻性研究致死温度等。这方面的研究为作物抗逆性提供了许多理论和鉴定技术。如果要求作物在逆境下能继续生长、发育和形成产量，可以肯定地说上述的研究结果也只可提供借鉴。

根据国内外有关作物抗逆性研究的进展，可以提出作物抗逆性的图解（图1）。作物处于各种逆境条件下都受到三种胁迫的影响，即脱水胁迫、渗透胁迫和机械胁迫。这时作物总的表现为脱水，同时作物立即产生抗脱水的反应，如增加吸水能力，降低蒸腾作用等表现特性的变化来防止脱水伤害，同时作物体内通过生物膜结构功能、渗透调节作用和抗氧化能力的调整来完成抗脱水伤害。这些作物体内的反应

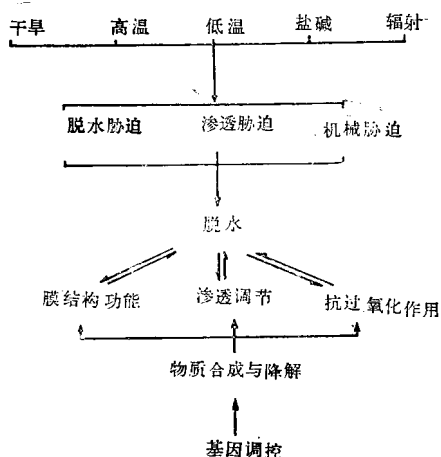


图1 农作物抗逆性的内因图解

是依赖于作物的物质合成和降解来实现的，最终它们受作物基因的调控。

作物在逆境下的生物膜结构功能与阻止或减缓体内物质渗漏和维持膜结合酶的稳定性密切相关；通过细胞的渗透调节作用来调整细胞或组织的渗透势，以防止脱水和保持作物的正常生理功能；较高的抗过氧化能力可阻抑或减轻细胞器功能和结构的破坏。这些机能都是为了稳定和保持逆境下作物的生命活动，但是这些机能完全受基因调控，通过基因表达来实现作物的物质合成和降解，致使上述机能得以进行或变更。为此我将着重讨论抗逆性机理与鉴定技术的关系。

一、生物膜结构功能

结构和功能是生物膜的两个主要方面。作物在逆境条件

下体内的电解质、氨基酸、有机酸、糖和可溶性蛋白质发生渗漏，膜结合酶会失活。从生物膜特性来说应包括两部分内容：（1）作物种或品种间存在着生物膜结构功能上的差异，因而会呈现不同程度的物质渗漏和结合酶的失活；（2）生物膜损伤程度的不同导致物质渗漏和结合酶失活的程度不同。

1. 生物膜结构功能上的差异 在抗寒性研究中，低温敏感的作物，其物质渗漏量大，反之则小。经过低温锻炼的作物，因膜结构功能发生了变化，因而物质渗漏是比未锻炼者少。这与生物膜结构功能的差异有关，即膜脂中磷脂含量增加、膜脂饱和度增大、膜结合酶活力增强（Yoshida 1984, 1986, Siminovitch 1975, Jian等1982, Palta 1978, 王育启等1984）。在抗旱研究中，抗旱性强的作物其物质渗漏少，反之则大，干旱锻炼后的作物其物质渗漏小。这主要是膜脂饱和度高，阻止了水分子和离子跨膜运输（杨景峰 1982, Fettiplace 1978, 王洪春等1987），在抗高温性的研究中也得到与抗旱性相似的结果。

2. 生物膜伤害的差异 Lyons (1973) 提出了低温伤害的膜相变假说。他指出当低温伤害温度出现时生物膜脂由液晶态变为凝胶态，膜体本身会产生龟裂或通道，因而形成离子渗漏、膜结合酶活力降低和原生质外流，使细胞内的代谢发生紊乱，有毒物质积累，最终使作物死亡。另外，在其它逆境下出现磷脂酶D或自由基催化作用产生膜脂的脱酯化作用，使膜上的磷脂含量降低，并增加游离脂肪酸或产生过氧化产物丙二醛和乙烷，这时生物膜的功能受到损伤，其表现为膜上与离子和有机物质主动运输有关的酶系统失活，导

致物质渗漏。作物在盐渍条件下产生固醇类物质的变化，主要表现为菜油固醇／豆固醇比值下降，离子渗漏增加。抗盐植物的菜油固醇／豆固醇比值大，在盐渍胁迫下其比值几乎不变，离子渗漏少，不抗盐植物正相反。这是由于菜油固醇和胆固醇能溶于膜磷脂层中，并与周围的磷脂连续起来，因之离子渗漏小，豆固醇和谷固醇不溶于膜磷脂层中，所以离子渗漏大。另外也证明磷脂／固醇比值与氯离子跨膜运输有关，即磷脂含量高的作物中氯离子的跨膜运输低。

根据农作物在逆境下生物膜结构功能的变化与抗逆性强弱的关系以及机理研究，可以提出如下几种鉴定技术供大家参考。

组织的相对透性或细胞膜的相对透性，可用电解质渗漏法、可溶性糖渗漏法，可溶性蛋白质和氨基酸渗漏法等来进行相对透性的鉴定。其中电解质渗漏法使用较为广泛，但大批量作物品种鉴定时，仍感手续繁杂，难以使用。与之有关的一种技术——电阻法，即测定逆境下作物活体的电阻变化，可使用FL—3型植物组织电阻仪测定。目前这种电阻仪尚不能进行田间测定，进行适当改装即可应用。估计这是一项极有前途的快速技术。

作物组织膜脂脂肪酸组分分析，可利用气相色谱技术进行分析。目前已详知水稻干胚膜脂脂肪酸不饱和度与花期抗冷性、小麦干胚膜脂脂肪酸饱和度与灌浆期抗干热风直接有关。此项技术可在室内进行大批量作物种或品种的粗筛，不受生长季节和培养材料的影响、而且样品需要量极少，结果极为可靠。

作物种子或组织的吸水速率、持水力也是一种比较可信

的抗逆性测定技术、其依据是水分子跨膜速率与膜结构密切相关。

二、渗透调节作用

在不同逆境下细胞有降低自身渗透势以保持膨压的能力，并能防止细胞和组织脱水，维持逆境下生理过程的稳定性和持续生长过程。但是参与渗透调节的物质种类甚多，而且因作物种或品种不同而存在明显差异。

在干旱条件下，有的棉花品种累积有机酸（柠檬酸和草酸）为主，比对照增加170—195%，有的棉花品种累积糖为主，比对照增加99.6%（Timpa 1986）。有的小麦品种可累积糖、有机酸和氨基酸，但是只比对照增加20—50%，有的小麦品种只累积有机酸，比对照增加230%，有的小麦品种只累积氨基酸，比对照增加340%（陆茂林 1987）。在渗透调节中以脯氨酸累积研究的最多，但争议也不少，近些年来脯氨酸BA基因在微生物中克隆成功，并获得了高产脯氨酸的抗盐性强的菌株，随之脯氨酸的渗透调节又兴起一个高潮。高等植物渗透调节基因的研究正受到国内外学者的重视。

盐渍条件下氯化钠处理番茄苗时能迅速增加果糖、葡萄糖和蔗糖，它们的累积快，降低也快，盐处理三天时便降到原始水平，糖类的增加可能是生长暂时受到抑制的结果。与糖类一齐累积的有肌醇，三天时达到最高含量，以后能保持这种高水平，同时肌醇含量在不同番茄品种间存在差异（Sacker等1985 表1）。盐生藻在高盐海水中主要累积脯氨酸，用 $^{14}\text{CO}_2$ 饲喂后可以看到参入脯氨酸中的比放射强度为92.7%，说明脯氨酸在盐生藻中起着渗透调节作用，有机物质在渗透

表 1 不同番茄品种在盐处理三天时肌醇含量的变化
(mmol/克干重)

品 种	NaCl100mmol/L	NaCl200mmol/L
79—89(抗盐)	3.14	18.4
对照种(中抗)	2.11	9.1
79—75(不抗)	1.84	2.9

调节中的作用是不可忽视的 (Ahmad 等 1984)。有机物质和无机物质在盐生藻体内渗透势中所占的比重情况如下, 在 -1.07MPa 人工海水中, 无机物质在渗透势中的作用明显增大, 达到 -2.32MPa 。当低于 -1.07MPa 后, 无机物质在渗透势中的作用增加甚微, 为 -2.49MPa 。有机物质的作用却明显增强, 这可说明有机物质在渗透调节中具有重要意义(表2)。

表 2 不同浓度人工海水中盐生小球藻溶质渗透势的分布

人工海水浓度 (%)	渗透势 (-MPa)	无机渗透势 -MPa	%	有机渗透势 -MPa	%	总渗透势 -MPa	%
10	0.27	1.68	86.2	0.27	13.8	1.95	100
50	1.07	2.32	83.5	0.46	16.5	2.78	100
100	2.00	2.49	77.1	0.74	22.9	3.23	100
200	3.93	2.37	53.7	2.04	46.3	4.41	100

小麦在 -1.4MPa 氯化钠处理下, 抗盐品种的叶细胞中含钠离子比不抗盐品种高47%, 原生质内的钠离子量在抗盐品种中为 $0.23\text{mg}/10^6$ 个细胞, 不抗盐品种原生质内钠离子含量为 $0.63\text{mg}/10^6$ 个细胞, 液泡中抗盐品种钠离子含量为 $3.34\text{mg}/10^6$ 个细胞, 不抗盐品种为 $1.80\text{mg}/10^6$ 个细胞, 抗盐品种原生质中的钠离子含量比不抗盐品种低63% (杨延明1984),

这一结果可以说明钠离子进入液泡能起到解除原生质盐害同时增加细胞的渗透调节能力，钠离子进入液泡能降低原生质内的钠离子浓度因而维持了原生体功能的稳定性。

在冻害条件下，Siminovitch 等 (1982) 利用低湿空气处理小麦幼芽，由于幼芽脱水而降低了渗透，结果提高了小麦幼芽的抗冻力，朱建军 (1984) 发现当小麦幼芽脱水20%左右时，其渗透势由-0.99MPa下降到-2.65MPa，这时幼芽的抗冻力、抗高温力、抗盐力和抗渗透胁迫力均明显提高，说明作物渗透势在抗逆性中具有不可忽视的作用。在此值得提一下的是渗透势的影响是多方面的。例如正常小麦幼芽在-4~-5℃开始结冰，结冰发生的同时幼芽的TTC相对还原力骤然降低；脱水后渗透势降低的幼芽，其结冰开始的温度下降到-12~-13℃，幼芽的TTC相对还原力并不因结冰而骤然降低，而是随结冰温度的不断下降而逐步降低 (表3)。这似乎可以说明作物的渗透势对酶系统也有良好的保护作用。

表3 不同渗透势小麦幼芽的结冰温度及
TTC相对还原力的变化

品 种	渗透势 (-MPa)	室温	-3 °C	-4 °C	-5 °C	-6 °C
郑引一号	1.02	100	98.5	96.8	8.4*	7.6*
渭麦四号	0.99	100	99.2	16.5*	7.4*	6.4*

品 种	渗透势 (-MPa)	室温	-10 °C	-11 °C	-12 °C	-13 °C	-14 °C	-15 °C	-16 °C
郑引一号	2.65	100	96.7	97.3	93.8	75.6*	54.6*	31.5*	20.3*
渭麦四号	2.75	100	97.9	95.0	71.6*	63.1*	51.8*	32.6*	20.6*

* 表示结冰

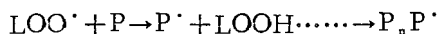
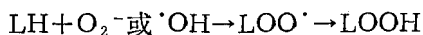
在此还要说明，已有研究证明低温锻炼可以提高作物的抗冷性、抗冻性和抗旱性（Siminovitch等1982），他们认为低温锻炼可使抗寒性基因获得表达，所以能提高抗冷性或抗冻性。但是为什么抗旱性也能增强？另外，干旱锻炼也可以提高抗冷性（Willemot等1979）。我认为这主要与作物体的渗透调节有关。在作物抗逆性鉴定中渗透势是一个较为重要的内因，而且在国内外已受到人们的重视。渗透势的重要作用何在？我提出如下一种解释：渗透调节作用强的作物，其渗透势在逆境下多表现降低，一方面使某些代谢活动受一定程度的抑制，如呼吸作用和光合作用降低，另一方面使某些代谢活动增强，如水解酶和脯氨酸合成有关的酶活力，总的物质合成能力减弱，因而能量消耗也减低，这时的作物抗逆性增强。这种观点在小麦抗冻性上已得到证实。例如小麦不同品种越冬期抗冻性强弱与叶鞘细胞的渗透基值(O_p)有关，抗冻性强的品种渗透基值低，细胞内ATP含量少，细胞ATP酶活力低，这就是一个有力的证明。

根据上述的研究结果，可以提出如下的有关鉴定技术。利用 Stadelmann (1966) 提出的渗透基值方法 (Method of osmotic ground value) 测定作物叶鞘细胞质壁分离时的渗透值，此项技术要求设备比较简单，而且易于掌握。也可利用蒸汽压渗透压计或冰点渗透压计测定作物组织压榨液的渗透势。这些技术测定的是作物在渗透调节中的综合反应，而不受单一物质累积的影响。

三、抗过氧化作用

过氧化作用具有较复杂的内容，在作物抗逆性研究中一

般指膜脂的过氧化作用。Elstner (1982) 指出膜脂过氧化是膜脂不饱和脂肪酸发生的一系列自由基反应，由非脂性超氧化物自由基引发膜脂不饱和脂肪酸产生自由基反应，形成脂氢过氧化物 (LOOH)，LOOH 是极不稳定的物质，可自发地或受金属离子催化发生均裂而形成脂自由基 $\text{LOO}^\cdot$ 或 $\text{LO}^\cdot$ ， $\text{LOO}^\cdot$ 和 $\text{LO}^\cdot$ 极活跃，能进一步引起膜脂氧化，也能使蛋白质脱氢形成蛋白质自由基 ($\text{P}^\cdot$)，二个蛋白质自由基形成 $\text{PP}^\cdot$ 以至 $\text{P}_n\text{P}^\cdot$ 。LOOH 也可产生丙二醛 (China 1981, Paul 1982, Dhindsa 1981)，丙二醛可将蛋白质交联起来形成蛋白质交联



物 ($\text{P}_{\text{NHCH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{NP}}$)。这就会使膜蛋白质变性，导致细胞受害和死亡。

低温条件下的许多研究已经证实受冷害后作物体内的丙二醛含量增加，同时看到细胞内的超氧化物歧化酶 (SOD) 活力降低，在低温光照下这种反应更为明显 (刘鸿先等 1985)。在干旱条件下小麦抗旱品种的叶片质膜受害轻，不抗旱品种受害重。抗旱品种的丙二醛含量增加少，12 小时后丙二醛含量开始下降，SOD 活性增加快；不抗旱品种丙二醛含量增加多，而且持续增加，SOD 活性增加缓慢。在正常小麦幼苗叶片中抗旱品种的 SOD 活性比不抗旱品种高 (王宝山 1986)。盐胁迫下水稻不同品种的表现也不相同，不抗盐品种的丙二醛含量增加多，抗盐品种却增加的少，两者间的差异与日俱增 (汪宗立等 1986)。

除上述 SOD 之外，氧化型谷胱甘肽还原酶也有防止膜脂过氧化的作用。因为谷胱甘肽还原酶可将 GSSH 还原为还原型

谷胱甘肽，它也可以清除自由基的毒害。Burke等(1985)在棉花幼苗上证明不同品种间谷胱甘肽还原酶活力是不同的。品种间谷胱甘肽还原酶活力虽都随干旱而增强，但品种间的增加幅度是明显不同的(表4)。上面叙述了自然状态下作

表4 不同棉花品种叶片中GSSG还原酶活力的差异

品 种	上位叶		中位叶		下位叶	
	对照	干旱	对照	干旱	对照	干旱
T ₂₅ (不抗旱)	19.50	39.85	13.04	24.60	10.61	22.97
T ₁₈₅ (抗旱)	9.01	31.55	8.27	40.41	12.06	23.77

物体内自由基产生的过氧化作用，尚缺乏直接证据，即自由基究竟起多大作用？Senaratna等(1984, 1985)采用人工补加自由基反应物的技术来研究自由基对膜脂的过氧化作用。他们在大豆胚轴制备的微粒体悬浮液中添加黄嘌呤和黄嘌呤氧化酶，反应过程中产生尿酸和超氧化物自由基。研究结果看到经人工自由基处理后的微粒体中脂肪酸组分无变化，但是磷脂/固醇比值降低，游离脂肪酸/磷脂比值增大(表5)，证明过氧化作用表现为脱酯化作用加强，磷脂被催化使极性端基脱落，脂肪酸从膜上游离下来。这样膜系统会受到严重

表5 自由基处理对大豆胚轴微粒体膜脂的影响

种子浸水时间 (小时)	自由基处理	相变温度 (°C)	磷脂/固醇 (mol/mol)	游离脂肪酸/磷脂 (mol/mol)
6	—	7	57	0.052
6	+	14	51	0.088
36	—	9	52	0.043
36	+	40	30	0.212