

水分胁迫对 3 种苗木叶片渗透调节物质与保护酶活性的影响

徐莲珍¹, 蔡靖¹, 姜在民², 彭晓邦¹, 苏迅帆¹, 张硕新^{1,3*}

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨陵 712100;
3. 陕西秦岭森林生态系统国家野外科学观测研究站, 陕西 宁陕 711600)

摘要:以 1 a 生刺槐(*Robinia pseudoacacia*)、元宝枫(*Acer truncatum*)和侧柏(*Platycladus orientalis*)苗木为材料,通过盆栽控水试验研究了水分胁迫对 3 种苗木叶片丙二醛含量、渗透调节物质和保护酶活性的影响,并探讨了这些生理指标与其抗旱性的关系。结果表明,随胁迫强度增大,3 种苗木的渗透调节物质游离脯氨酸和可溶性糖含量增加,而可溶性蛋白含量降低;丙二醛(MDA)含量随水分胁迫程度的加剧呈递增趋势;超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性随干旱强度增大,开始增加,而在重度胁迫时,酶活性下降,但水分胁迫时的酶活性始终高于正常水分时。

关键词:水分胁迫;渗透调节物质;保护酶;丙二醛

中图分类号:S718.43 文献标识码:A 文章编号:1001-7461(2008)02-0012-05

Effects of Water Stress on Osmotic Adjustment and Activity of Protect Enzymes in the Leaves of Three Sorts of Seedlings

XU Lian-zhen¹, CAI Jing¹, JIANG Zai-min², PENG Xiao-bang¹, SU Xun-fan¹, ZHANG Shuo-xin^{1,3*}

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;
2. College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;
3. Qinling National Forest Ecosystem Research Station Ningshan, Shaanxi 711600, China)

Abstract: Effects of water stress on the content of malondialdehyde (MDA), osmotic adjustment and protect enzymes in the leaves of one-year-old *Robinia pseudoacacia*, *Acer truncatum* and *Platycladus orientalis* seedlings were studied to determine the relationship between the physiological indices and drought resistance. The results indicated that with the aggravation of water stress, the content of free proline and soluble sugar in the leaves of the three seedlings increased, whereas that of soluble protein decreased; the content of malondialdehyde (MDA) in the leaves tended to be increased with the aggravation of water stress. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) with the aggravation of water stress increased at beginning and then dropped under severe water stress, but the activities of three protect enzymes were always higher than those under normal water condition.

Key words: water stress; osmotic adjustment; protect enzymes; malondialdehyde (MDA)

在西北干旱与半干旱地区,水分是限制树木生存和生长的关键因子。水分胁迫时,植物细胞中活性氧产生与清除之间失去了平衡,引发膜脂过氧化作用。大量证据表明,干旱诱导的膜脂过氧化是造成植物细胞膜受到损伤的主要因素^[1-3]。脂膜过氧化的最终产物丙二醛(MDA)可与细胞膜上的蛋白

质、酶等结合、交联而使之失活,从而破坏了生物膜的结构与功能。已有研究表明干旱胁迫下林木受到的伤害程度与保护酶活性变化密切相关^[4-7]。刘建新等研究表明多裂骆驼蓬耐旱性与其抗氧化酶活性相关,渗透调节物质是构成其耐旱性的重要物质基础^[8]。胡景江^[9]等研究表明在缺水条件下元宝枫体

收稿日期:2007-07-24 修回日期:2007-09-12
基金项目:国家自然科学基金项目(30170766);教育部“优秀青年教师资助计划”项目;“十一五”林业科技支撑计划专题项目“黄土区农林复合系统可持续经营技术研究”(2006BAD03A0503)。
作者简介:徐莲珍(1982-),女,浙江温州人,在读硕士,研究方向为植物生理生态。
* 通讯作者:张硕新。E-mail: sxzhang@nwsuaf.edu.cn

内的保护酶仍能维持较高的活性水平,减轻了由膜脂过氧化引起的膜伤害。因此,植物体所具有的保护体系、渗透调节功能及其他一些机制是某些抗旱植物在长期进化过程中所演化出的适应干旱的机制和策略,是其能够忍耐长期干旱胁迫的重要物质基础。本研究采用盆栽试验,以干旱和半干旱地区的主要造林树种刺槐(*Robinia pseudoacacia*)、元宝枫(*Acer truncatum*)和侧柏(*Platycladus orientalis*)为研究对象,探讨水分胁迫对 3 个树种渗透调节物质积累与保护酶活性的影响,评价各树种在干旱胁迫条件下的适应能力,进一步了解植物适应干旱的生理生态机制,为西北干旱地区抗旱造林技术和树种的选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 with 处理

试验材料为刺槐(*R. pseudoacacia*)、元宝枫(*A. truncatum*)和侧柏(*P. orientalis*)1 a 生苗木,均取自西北农林科技大学苗圃基地。2007 年 3 月下旬,将苗木移植在口径 26 cm,底径 21 cm,高 26 cm 的塑料桶内,桶内土壤为苗圃表土过筛后和牛粪、沙土按 2:2:1 的比例均匀混合,每桶土重 12 kg,田间持水量为 25%。将苗木置于校园防雨棚内进行培育,经正常水分培育后,选择个体生物量基本一致的苗木进行控水处理。水分处理设置正常供水、轻度胁迫、中度胁迫和重度胁迫 4 个梯度,其土壤含水量分别为田间持水量的 70%~80%,50%~60%,40%~50%和 30%~40%。每个处理 3 个重复。采用人工称重控水的方法补充消耗水量,使土壤水分保持在设定范围内,在控水处理的第 20 d 时测定 3 种苗木叶片的相关生理指标。于 7:00~8:00 取样,采样时选取成熟叶片,每个处理 3 次重复。

1.2 测定方法

1.2.1 游离脯氨酸含量 采用酸性茚三酮法测定^[10]。

1.2.2 可溶性糖含量 采用蒽酮比色法测定^[11]。

1.2.3 可溶性蛋白含量 采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定^[10]。

1.2.4 丙二醛(MDA)含量 采用硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定^[12]。

1.2.5 超氧化物歧化酶(SOD)活性 用氮蓝四唑(NBT)比色法^[11],SOD 酶活性以抑制 50%NBT 反应为 1 个酶活性单位。

1.2.6 过氧化物酶(POD)活性 用愈创木酚显色法^[13],每隔 30 s 记录 1 次,吸光度以每分钟内 A₄₇₀ 每下降 0.1 为 1 个活性单位。

1.2.7 过氧化氢酶(CAT)活性 用紫外吸收法^[10],以每分钟内 A₂₄₀ 每下降 0.1 为 1 个酶活力单位。

1.3 数据处理

用 SPSS11.5 对数据进行统计分析,多重比较采用邓肯氏新复极差法。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫对苗木叶片游离脯氨酸含量的影响

不同水分处理显著影响 3 种苗木叶片脯氨酸积累(表 1)。从表 1 中可看出,随着胁迫强度的增加,刺槐叶片游离脯氨酸含量逐渐升高,且重度胁迫处理的游离脯氨酸含量显著高于正常和轻度胁迫处理($P<0.05$),其他胁迫处理与正常供水条件下没有显著性差异($P<0.05$);元宝枫叶片游离脯氨酸含量先升高后下降,各处理间没有显著性变化($P<0.05$),但是水分胁迫处理后脯氨酸含量均高于正常供水;侧柏叶片游离脯氨酸含量在轻度胁迫时得到了最大累积,而在中度和重度胁迫时较正常供水含量有所下降,但各处理间没有显著性差异($P<0.05$)。从 3 个树种积累脯氨酸情况来看,在相同水分条件下,刺槐对脯氨酸的累积显著大于元宝枫($P<0.01$)和侧柏($P<0.05$),而侧柏和元宝枫之间没有显著差异性($P<0.05$)。

表 1 水分胁迫对 3 种苗木叶片游离脯氨酸含量的影响

Table 1 Effect of water stress on content of free proline in the leaves of three seedlings

处理	游离脯氨酸含量/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)		
	刺槐	元宝枫	侧柏
正常	88.81±23.64	4.99±1.91	65.06±8.19
轻度胁迫	259.29±18.51	21.69±6.03	102.59±12.23
中度胁迫	398.65±20.97	25.65±10.42	75.31±8.53
重度胁迫	904.67±23.32	14.63±10.81	73.15±2.35

2.2 水分胁迫对苗木叶片可溶性糖含量的影响

在水分胁迫下,3 个树种叶片可溶性糖含量都较正常供水条件下高,但是变化幅度不一样(图 1)。随着胁迫程度增加,刺槐叶片可溶性糖含量逐渐增加,重度胁迫下可溶性糖含量显著高于正常($P<0.01$)和轻度胁迫($P<0.05$),其他胁迫处理与正常供水条件下没有显著性差异($P<0.05$);在中度水分胁迫下元宝枫可溶性糖含量最高,并显著高于正常水分条件下的含量($P<0.05$);在各个水分条件下,侧柏叶片的可溶性糖含量由高到低的顺序为:重

度胁迫>轻度胁迫>中度胁迫>正常供水,且重度胁迫的可溶性糖含量显著高于正常和中度胁迫条件下($P<0.05$)。在相同水分状况下,元宝枫和侧柏叶片可溶性糖含量均显著高于刺槐($P<0.05$),元宝枫与侧柏在各个水分条件下均无显著性差异($P<0.05$)。

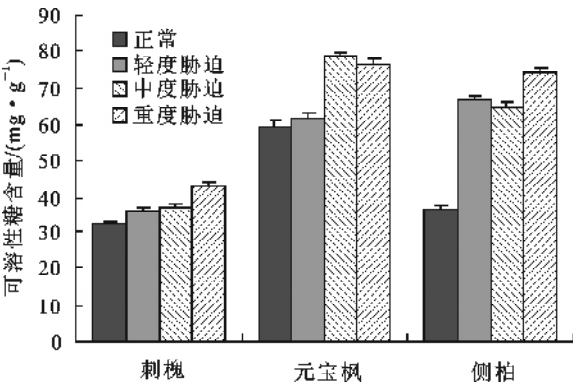


图1 水分胁迫对3种苗木叶片可溶性糖含量的影响

Fig. 1 Effect of water stress on content of soluble sugar in the leaves of three seedlings

2.3 水分胁迫对3种苗木可溶性蛋白含量的影响

苗木可溶性蛋白含量与土壤含水量密切相关(图2)。随着干旱胁迫加剧,刺槐叶片的可溶性蛋白含量呈明显的下降趋势,重度胁迫处理的可溶性蛋白显著低于正常供水和轻度胁迫处理($P<0.05$);元宝枫叶片的可溶性蛋白含量先增加而在重度胁迫时下降并低于正常供水,但各处理间没有显著性变化($P<0.05$);侧柏叶片的可溶性蛋白含量也随着胁迫程度的加剧而下降,但在轻度和中度胁迫时下降幅度较小,中度胁迫时急剧下降,但是各处理间没有显著性差异($P<0.05$)。从3个树种看,重度胁迫下可溶性蛋白均下降到正常供水条件以下。3个树种的各处理间,除了在轻度和重度胁迫下元宝枫的可溶性蛋白显著高于侧柏外,其他处理间没有显著性差异($P<0.05$)。

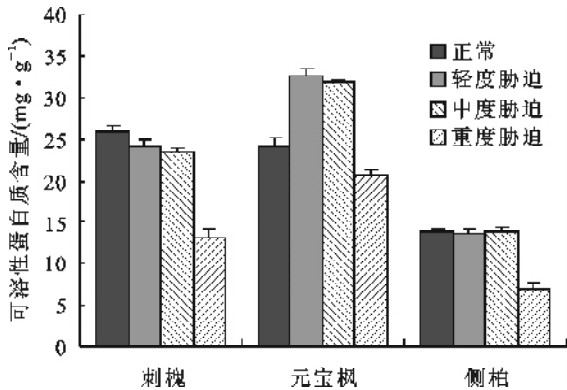


图2 水分胁迫对3种苗木可溶性蛋白含量的影响

Fig. 2 Effect of water stress on content of soluble protein in the leaves of three seedlings

2.4 水分胁迫对3种苗木叶片MDA含量的影响

MDA是植物细胞过氧化作用的产物之一,其含量的高低在一定程度上能反应脂膜过氧化作用水平和膜结构的受害程度及植物的自我修复能力^[14]。在水分胁迫下,3个树种叶片中的MDA含量都呈上升趋势(图3),但各处理间没有显著性变化($P<0.05$)。刺槐和侧柏叶片的MDA含量随着胁迫程度的增加而逐渐升高,而元宝枫在重度胁迫时较中度胁迫有所下降。3个树种中,元宝枫叶片MDA含量在相同水分条件下显著大于刺槐和侧柏($P<0.05$)。

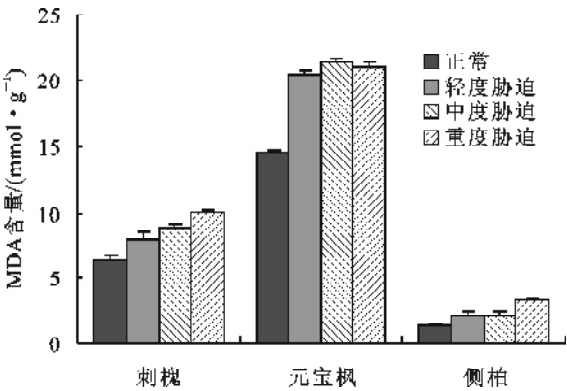


图3 水分胁迫对3种苗木叶片MDA含量的影响

Fig. 3 Effect of water stress on content of MDA in the leaves of three seedlings

2.5 水分胁迫对3种苗木叶片SOD、POD和CAT活性的影响

从水分胁迫下3种苗木叶片的SOD、POD和CAT活性测定结果(表2)可看出,水分胁迫下,3个树种叶片SOD活性均高于正常水分时活性。在重度胁迫时,刺槐和侧柏叶片SOD活性较中度胁迫有所下降,而侧柏叶片SOD活性明显增加并显著高于正常供水和轻度胁迫条件下的活性($P<0.05$)。在相同水分条件下,刺槐叶片SOD活性最大,其次是元宝枫,各树种间均存在显著性差异($P<0.01$)。

从POD活性来看,水分胁迫下,3个树种叶片POD活性均高于正常水分时的活性,但是各处理间不存在显著差异性($P<0.05$)。重度胁迫时,刺槐叶片POD活性最大,而元宝枫和刺槐此时活性较轻度和中度胁迫时小,但始终都高于正常水分时活性。在相同水分条件下,刺槐叶片POD活性显著高于元宝枫和侧柏($P<0.05$),在轻度和重度胁迫时达到了极显著差异($P<0.01$)。

随着胁迫程度的加剧,3个树种CAT活性呈现出先升高后下降的趋势,但是水分胁迫下的活性始终高于正常水分时,各处理间没有显著差异性($P<0.05$)。水分胁迫下,刺槐和侧柏叶片CAT活性在中度胁迫时达到最大,而在重度胁迫时较另2个胁迫

迫有所下降;元宝枫在轻度胁迫时 CAT 活性时最大,随着胁迫程度加剧,活性逐渐下降,但仍高于正常水分时活性。在相同水分条件下,刺槐叶片 CAT

活性最大,侧柏活性最低,在正常供水和中度胁迫条件下刺槐叶片 CAT 活性显著高于侧柏($P<0.05$)。

表 2 水分胁迫下 3 种苗木叶片的 SOD、POD 和 CAT 活性

Table 2 Activities of SOD, POD and CAT in the leaves of three seedlings under water stress				
保护酶	处理	刺槐	元宝枫	侧柏
SOD 活性/ ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	正常	974.92±25.07	749.29±11.33	117.97±8.01B
	轻度胁迫	1 354.59±34.79	921.19±25.09	162.58±19.35
	中度胁迫	1 218.43±50.46	928.15±25.92	219.11±11.30
	重度胁迫	1 112.63±32.71	813.81±18.09	441.93±28.00
POD 活性/ ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	正常	1 149.20±32.78	192.30±5.84	9.44±3.32
	轻度胁迫	2 913.34±47.66	324.80±23.28	52.04±3.07
	中度胁迫	1 341.66±54.81	375.97±20.14	13.28±2.11
	重度胁迫	3 310.20±150.56	238.55±20.30	20.77±2.08
CAT 活性/ ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	正常	484.98±50.98	490.82±35.21	134.86±14.44
	轻度胁迫	747.03±54.42	677.63±29.15	252.78±8.43
	中度胁迫	758.01±33.78	640.25±19.87	255.09±14.61
	重度胁迫	706.49±23.43	508.73±16.10	211.76±6.59

3 结论与讨论

植物体在长期进化过程中形成了酶促和非酶促 2 大类保护系统以清除活性氧,减轻或避免活性氧对细胞造成的伤害,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)等抗氧化酶类和脯氨酸等渗透调节物质。渗透调节是植物在干旱胁迫下降低渗透势和维持一定膨压,抵御干旱胁迫的重要生理对策^[15]。本研究结果表明:(1)随着干旱程度的加剧,3 种苗木叶片的脯氨酸和可溶性糖含量均呈增加趋势。这说明,在干旱胁迫下,幼苗叶片的渗透调节能力逐渐增强,这是对水分胁迫的一种适应性反应。在相同水分条件下,刺槐的脯氨酸含量显著高于侧柏和元宝枫,而侧柏和元宝枫的可溶性糖含量显著高于刺槐,这可能是不同树种受到干旱胁迫时起主导作用的渗透调节物质不一样,脯氨酸和可溶性糖之间具有相互补偿的作用。有研究发现,可溶性糖的积累可能是脯氨酸下降的补偿策略^[16-19],其机理有待进一步探讨。(2)植物体内的可溶性蛋白质大多是参与各种代谢的酶类,在受到干旱胁迫时,它们会发生一定的变化,测定其含量是了解植物抗逆性的一个重要指标^[20-21]。本研究中,随着水分胁迫的加剧,刺槐和侧柏叶片可溶性蛋白含量逐渐降低,元宝枫叶片可溶性蛋白含量在重度胁迫时明显下降,且低于正常水分时的含量。史玉炜^[20]等研究发现水分胁迫使 RNA 转录和翻译受到抑制,造成蛋白质的合成量减少,导致总蛋白含量下

降。而孙国荣^[11]等认为可溶性蛋白质在含量上发生变化的同时,往往也伴随着蛋白质组分的变化,这种质变的作用可能在抗旱机理上起更大的作用。对于本研究中 3 种苗木在水分胁迫下是否合成了新的蛋白质,有待进一步探索。(3)随着水分胁迫程度的加剧,3 种苗木叶片 MDA 含量逐渐增加,说明水分胁迫造成了 3 种苗木的膜脂过氧化,而且胁迫程度越高,膜脂过氧化作用越明显,这与曹慧^[22]等的研究结果是一致的。因此,陈少裕^[23]认为 MDA 含量的变化是质膜损伤程度的重要标志之一。(4)水分胁迫下,3 种苗木叶片保护酶活性都较正常水分条件下的高,但不同树种的不同水分处理酶活性都有所不同。3 种酶在重度胁迫时都表现出活性的下降,说明保护酶系统在重度胁迫时酶活性受到了抑制,已无法有效地清除活性氧,而造成了膜脂过氧化使膜系统受到了破坏,MDA 含量升高。陈善福^[24]等研究发现,在干旱胁迫下,抗旱性强的植物保护酶活性较高,因而能有效地清除活性氧,抑制膜脂过氧化。但本研究中,3 种苗木中刺槐的酶活性最高,侧柏的最低,而对于 MDA 含量侧柏的最低,元宝枫的最高,说明不同植物酶活性对干旱胁迫的反应敏感程度存在差异,侧柏的酶活性低并不能说明侧柏膜脂过氧化程度高,这可能是在干旱胁迫下侧柏主要通过非酶系统来抑制膜脂过氧化。已有研究表明,这些保护酶系的表达量和渗透调节物质的积累量与植物对逆境胁迫的抗性具有相关性,最终体现为植物对水分胁迫的适应或产生抗性^[25-26]。关于水分胁迫下 3 种苗木渗透调节物质的积累和保护酶系统共

同进行调节的机制以及它们之间的关系,有待进一步研究。

参考文献:

[1] 武宝轩,格林托德. 小麦幼苗中超氧化物歧化酶活性与幼苗脱水耐受力相关研究[J]. 植物学报,1985,27(2):152-160.

[2] 蒋明义,荆家海,王韶唐. 水分胁迫与植物膜脂过氧化[J]. 西北农业大学学报,1991,19(2):88-94.

[3] 阎秀峰,李晶,祖元刚. 干旱胁迫对红松幼苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 生态学报,1999,19(6):850-854.

[4] 叶功富,陈如凯,张水松,等. 水分胁迫对木麻黄细胞膜稳定性和细胞保护酶影响的研究[J]. 福建林业科技,1999,26(增):6-8.

[5] 王孟本,冯彩平,李洪建,等. 树种保护酶活性与 PV 曲线水分参数变化的关系[J]. 生态学报,2000,20(1):173-176.

[6] 王霞,侯平,尹林克,等. 土壤水分胁迫对桉柳体内膜保护酶及膜脂过氧化的影响[J]. 干旱区研究,2002,19(3):17-20.

[7] 孙国荣,彭永臻,阎秀峰,等. 干旱胁迫对白桦实生苗保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 林业科学,2003,39(1):165-167.

[8] 刘建新,赵国林. 干旱胁迫下骆驼蓬抗氧化酶与渗透调节物质的变化[J]. 干旱地区农业研究,2005,23(5):127-131.

[9] 胡景江,顾振瑜,文建雷,等. 水分胁迫对元宝枫膜脂过氧化作用的影响[J]. 西北林学院学报,1999,14(2):7-11.

[10] 高俊凤. 植物生理学试验技术[M]. 西安:世界图书出版社,2000:137-202.

[11] 西北农业大学植物生理生化教研室. 植物生理实验指导[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1987:51-55.

[12] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 上海:科学出版社,1999.

[13] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:258-260.

[14] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯,1991,27(2):84-90.

[15] 刘桂茹,陈秀珍,段文倩. 水分胁迫下小麦叶片渗透调节能力与品种抗旱性的关系[J]. 河北农业大学学报,2002,25(2):1-3.

[16] 孙国荣,张睿,姜丽芬,等. 干旱胁迫下白桦实生苗叶片的水分代谢与部分渗透调节物质的变化[J]. 植物研究,2001,21(3):413-415.

[17] 王霞,侯平,尹林克. 水分胁迫对桉柳植物可溶性糖的影响[J]. 干旱地区研究,1999,16(2):6-11.

[18] 张美云,钱吉,郑师章. 渗透胁迫下野生大豆游离脯氨酸和可溶性糖的变化[J]. 复旦大学学报:自然科学版,2001,40(5):558-561.

[19] 赵黎芳,张金政,张启翔,等. 水分胁迫下扶芳藤幼苗保护酶活性和渗透调节物质的变化[J]. 植物研究,2003,23(4):437-442.

[20] 史玉炜,王燕凌,李文兵,等. 水分胁迫对刚毛柳可溶性蛋白、可溶性糖和脯氨酸含量变化的影响[J]. 新疆农业大学学报,2007,30(2):5-8.

[21] 王海珍. 黄土高原 4 个乡土树种耗水规律与抗旱特性的研究[D]. 陕西 杨陵:西北农林科技大学,2003.

[22] 曹慧,王孝威,曹琴,等. 水分胁迫下新红星苹果超氧物自由基积累和膜脂过氧化作用[J]. 果树学报,2001,18(4):197-199.

[23] 陈少裕. 膜脂过氧化与植物逆境胁迫[J]. 植物学通报,1989,6(4):211-217.

[24] 陈善福,书庆尧. 植物耐干旱胁迫的生物学机理及其基因工程研究进展[J]. 植物学通报,1999,16(5):555-560.

[25] LIMA A L S, DAMATTA F M, PINHEIRO H A, et al. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions [J]. Environ Exp. Bot., 2002, 47(3):239-247.

[26] FERNÁNDEZ R J, WANG M, REYNOLDS J F. Morphological changes mediate plant responses to water stress. A steady-state experiment with two C₄ grasses [J]. New Phytol, 2002, 155:79-88.