

瑞典能源柳无性系保护酶活性对水分胁迫的响应

王贞红^{1,2}, 张文辉¹, 何景峰^{1*}, 周建云¹, 卢彦昌², 郭其强³

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 西藏大学 农学院, 西藏 林芝 860000;
3. 陕西华圣实业(集团)股份有限公司, 陕西 西安 710068)

摘要:为了鉴别不同品种的柳树(*Salix*)耐旱性,对 4 个无性系的 1 a 生硬枝扦插苗进行了控制条件下的土壤干旱胁迫试验,系统测定了超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性、MDA(丙二醛)含量、膜透性。结果表明,在土壤干旱胁迫下,C 号和 2 号抗氧化能力较强,红柳居中,4 号的表现最差。干旱胁迫使各品种 MDA 的含量及膜透性均有不同程度的提高,其中 C 号的 MDA 含量及膜透性比较平稳,4 号变化剧烈。在干旱胁迫下,各品种渗透调节和保持膨压的能力均有提高,但存在差异,以 C 号和 2 号表现较好,红柳居中,4 号较差。应用 Fuzzy 方法,对不同品种的保护酶活性和膜透性在干旱胁迫中的动态进行综合评判,认为不同品种的耐旱性强度次序为:C 号>2 号>红柳>4 号。其中 C 号与 4 号和红柳差异显著($p<0.05$)。

关键词:柳树; 水分胁迫; 保护酶活性; 综合评价

中图分类号:S792.12 文献标识码:A 文章编号:1001-7461(2008)02-0021-03

Water Adaptation and Responses of Cell Defense Enzyme to Young Seedling of Different Clones of *Salix* under the Water Stress

WANG Zhen-hong^{1,3}, ZHANG Wen-hui¹, HE Jing-feng^{1*}, ZHOU Jian-yun¹,
LU Yan-chang², GUO Qi-qiang³

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;
2. College of Agriculture, Tibet University, Linzhi, Tibet 860000, China;
3. Shaanxi Huasheng (Group) Co. Ltd, Xi'an, Shaanxi 710068, China)

Abstract: Differences of the drought-resistance characteristics of various clones of *Salix* were investigated. The changes of superoxide dismutas (SOD) activity, catalase (CAT) activity and malonadehyde(MDA) content, electrolyte leakage in the different species of *Salix* were studied systematically after treated by soil drought stress. The results showed that same condition of soil drought stress, *Salix viminalis* and *Salix dasyclados* exhibited a better performance of anti-oxidation, while *S. purpurea* performed middle, and *S. mesuneko* from north slope of Bashan performed worst. With the development of soil drought stress, there was the accumulation of MDA for different provinces to different extent; Change rate of MDA content and electrolyte leakage were low in *Salix viminalis*, high in *S. mesuneko*, middle in *S. dasyclados* and *S. purpurea*. All species had the abilities to maintain distinction among the species was considerable. *Salix viminalis* and *S. dasyclados* showed a better turgor and osmotic adjustment during the drought stress in given condition. However, the performance in the turgor maintain and the osmotic adjustment, *S. purpurea* performed normally and *S. mesuneko* performed worst. According to fuzzy synthetic evaluation, the drought resistances of different species were evaluated.

Key words: *Salix*; water stress; defense enzyme; synthetic evaluation

②) 收稿日期:2007-06-08 修回日期:2007-09-21
基金项目:国家林业局“948”项目“瑞典速生能源植物柳树及旱地栽培、多功能利用技术引进”(2003-4-08);国家“十一五”科技支撑项目“商品林定向栽培及高效利用技术研究”(2006BAD18B0102)。
作者简介:王贞红(1976-),女,重庆永川人,在读研究生,主要从事森林培育学研究工作。
* 通讯作者:何景峰(1964-),男,陕西武功人,主要从事森林培育方面的科研工作。

柳属植物属于杨柳科柳属,全世界现有 520 种,中国 257 种,主产东北、西北、西南地区。乔木或灌木,适应性强,从赤道到北极都有分布。适应性很强、生长快,容易繁殖、萌芽能力强,遗传改良潜力巨大,抗病虫危害、无需使用化学农药或除草剂。柳树作为能源植物,具有较大的经济效益、生态效益。欧洲、北美先后都大面积引种,扩大应用范围。我国从 2003 年也开始引进了瑞典培育专用能源植物。但是,将柳树植物作为能源植物进行大面积推广的研究和报道尚少。本文通过对引进的瑞典能源柳在经过 1 a 的适应生长后长势较好的柳树无性系 C 号、2 号、4 号与陕南地区灌木柳树无性系红皮柳进行比较,为开发我国北方地区的优良树种提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验在陕西杨陵西北农林科技大学林业科学研究所温室内进行。选取瑞典能源柳 C 号(*Salix viminalis*)、2 号(*Salix dasyclados*)、4 号(*Salix mesuneko*)和陕北的红皮柳(*Salix purpurea*)1 a 生硬枝扦插苗为试验材料,其平均苗高依次为 53.6、49.7、66.4、56.3 cm,地径依次为 0.75、0.96、0.89、0.81 cm。每无性系为 1 组,共 4 组;每组 10 盆,每盆栽 2 株;盆直径 40 cm,高 40 cm。待幼苗恢复生长 2 个月后进行土壤水分胁迫试验。

1.2 方法

1.2.1 水分胁迫试验 试验期间,所有盆栽苗置于温室内,控制灌水,不同无性系的盆内土壤含水量通过苗盆称重校正,使各盆内土壤含水率同步稳定下降,保持室内相对稳定的光照和湿度;在全部叶片约 1/3 出现枯萎时停止胁迫。分别在轻度胁迫、中度胁迫、重度胁迫 3 个阶段。其中轻度胁迫是标志为盆中土壤相对含水量为 19%~15%,中度胁迫土壤相对含水量为 14%~7%,重度胁迫土壤相对含水量在 7%以下。胁迫结束后,将存活植株浇足水,使它们在正常土壤含水量的情况下生长。

在各阶段取各无性系幼苗叶片测定酶活性、膜透性和水分关系参数,同时测定土壤含水量。各无性系处理相同。土壤由沙子、耕地表层土、腐殖质组成,比例 1:2:1。土壤的田间持水量 30.01 g(水/100 g 烘干土)。试验期日均气温 25.8℃,空气相对湿度 63%。

1.2.2 测定时间与取样部位 酶活性与水分关系参数测定同时取样于 8:00~9:00。用单刃刀片取

完全展开的成熟、健康叶片用于酶活性及水分关系参数测定。

1.2.3 酶活性等指标的测定 酶液制备时,取叶片鲜重 0.5 g,加少量石英砂和 5 mL 预冷的磷酸缓冲液($0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH=7.8 冰浴研磨,双层纱布过滤,4℃、10 000 g 离心 2 min,上清液转入 10 mL 刻度试管中定容,于冰箱中保存备用。超氧化物歧化酶(SOD)活性按王爱国等^[1]的方法测定;过氧化氢酶(CAT)活性采用高锰酸钾滴定法测定^[2];丙二醛(MDA)含量按林植芳^[3]等的方法测定;质膜相对透性按李锦树^[4]等的方法测定。各无性系每一指标测定均重复 3 次,取平均值。

1.2.4 数据处理 数据分析利用 SPSS 统计软件进行相关分析和方差分析;用 Duncan 法进行多重比较检验^[5],应用 Fuzzy 数学隶属函数的方法对不同无性系的水分关系和保护酶、膜透性参数进行综合分析。

2 结果与分析

SOD、CAT 是细胞膜系统的保护酶,在植物受到干旱胁迫时,对保持体内代谢平衡有重要作用^[1-2]。从图 1 中看出,柳树 4 个无性系随着干旱胁迫增加,SOD、CAT 的活性变化随着干旱胁迫的发展均呈现先升高后降低的基本势态。但是,在不同胁迫期,无性系间有差异。在干旱胁迫的各阶段,C 号的 SOD、CAT 酶活性均明显高于其他 3 个无性系,表明其具有较强的适应干旱胁迫的能力。总体看,红柳和 2 号的适应干旱胁迫的能力次于 C 号,而 4 号表现最差。干旱胁迫前正常供水阶段,红柳和 2 号的 SOD、CAT 差异不显著,说明在胁迫初期,红柳和 2 号对于干旱的适应能力较为相似。

MDA 和膜透性与抗旱性的关系密切,水分胁迫导致 MDA 积累和膜透性增大^[1-2]。随着干旱胁迫发展,柳树不同无性系的 MDA 和膜透性有不同程度增加。其中 4 号的 MDA 含量和膜透性在不同胁迫阶段均较高,无性系和 2 号较低,C 号最低(图 1)。值得注意的是 C 号在重度胁迫前 MDA 和膜透性都维持较低水平,重度胁迫以后才迅速上升,而其他无性系基本为持续上升,说明 C 号在干旱胁迫达到相当严重的程度时膜透性才受到较大破坏。红柳和 2 号在干旱轻度胁迫时,其 MDA 含量和膜透性差异不显著,说明红柳和 2 号在干旱胁迫程度较低时,细胞膜脂过氧化及膜透性对胁迫的响应比较一致。

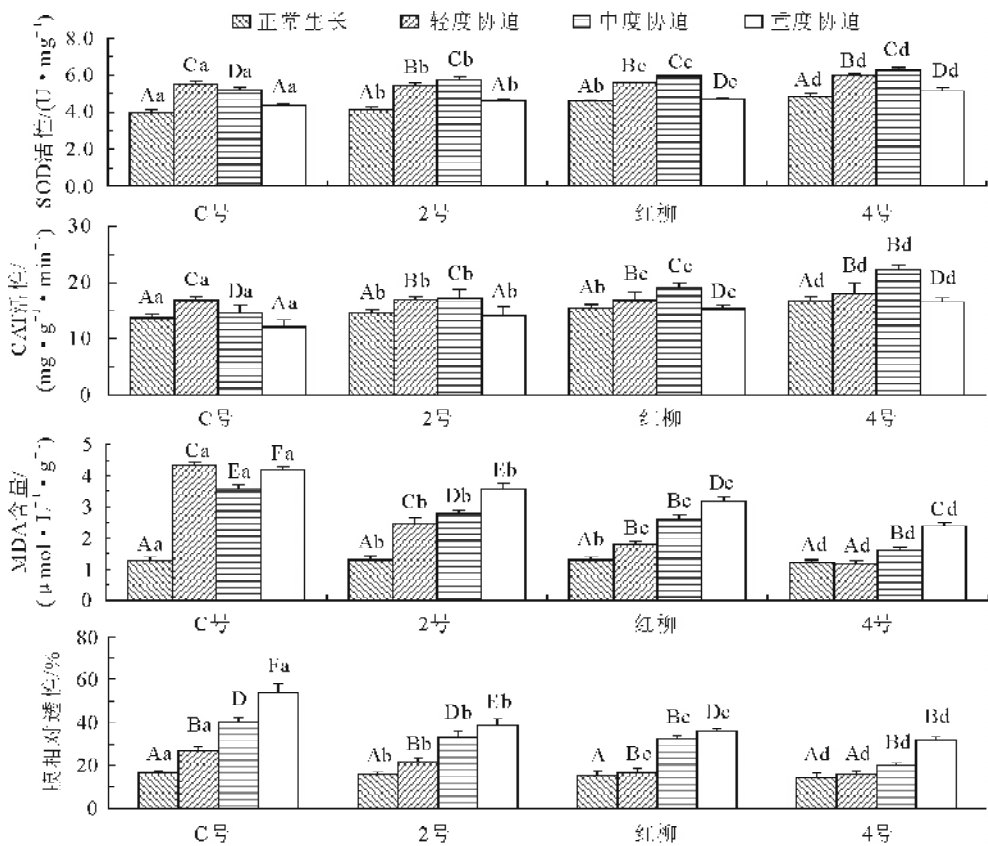


图 1 土壤干旱胁迫对不同无性系柳树 SOD 及 CAT 活性和 MDA 含量及膜透性的影响

Fig. 1 Effect of soil drought stress on MDA content and electrolyte leakage and activities of SOD and CAT of different *Salix*
注:图中数据为 3 次测定平均值±1 个标准误。经过单因素方差分析,大写字母不同,表示种内不同胁迫阶段有显著差异(P<0.05;小写字母不同,表示相同胁迫阶段不同种源间有显著差异(P<0.05))

3 结论与讨论

树木的 SOD、CAT 活性和 MDA 及膜透性参数相互协调,共同反映树木对干旱胁迫适应能力。SOD、CAT 的活性和 MDA 含量及膜透性是评价植物抗逆性的指标。SOD、CAT 的活性与植物抗逆性有关系,在适度逆境诱导下 SOD、CAT 的活性增加以提高植物适应力。在强度的胁迫试验中,酶活性一般随胁迫增加而增加,或者是先增加后降低的基本势态。本研究表明,柳树不同无性系均属于后者在一定干旱胁迫范围内,无性系通过酶活性增加,提高适应干旱胁迫的能力。但是当胁迫超出了无性系的忍耐范围,保护酶不但不再增加,反而下降,说明不同无性系忍耐干旱胁迫的能力是有限的。4 个无性系在干旱胁迫到中度胁迫时, SOD、CAT 的活性下降,这可能也是其忍耐干旱临界值。不同无性系的 MDA 含量及膜透性几乎随干旱胁迫发展而增加,这与其他抗逆性研究结果比较相似^[6-7]。不同无性系间存在的差异说明,在长期与当地水热和土壤等环境条件适应中,不同无性系已经形成了各自比较特殊耐旱机理。在干旱胁迫中,不同生理参数的

协调性,保证了植物忍耐干旱能力的有效性。

SOD、CAT 的活性和 MDA 含量及膜透性在评价不同无性系柳树耐旱性方面表现出较为一致结果。杨敏生等^[6]在研究白杨杂交种无性系抗寒性生理指标动态分析,以及其他相关研究^[7]都说明这 4 个指标可以较好地反应植物的对逆境的适应能力。本研究用这 4 个指标在评价柳树不同无性系耐旱性方面也表现出比较稳定的特点,说明植物体内保护酶系统和膜透性是检验植物抗逆性的重要指标。植物体内保护酶系统和膜透性是由遗传特性决定的,而遗传特性是植物长期进化适应形成,因此,保护酶系统和膜透性指标具有稳定的遗传基础。在未来丰产林栽培和森林经营中应该注意利用这些参数。

植物的任何遗传性状都是受体内 DNA 决定,而 DNA 的表达要通过酶系统和生理代谢机理来实现的。在干旱胁迫下,具有不同耐旱特性的植物在其生长、生理和生化特征方面会表现出来,因此,单一耐旱性指标难于判断植物对干旱综合适应能力^[6]。本研究对应用 Fuzzy 数学隶属函数综合评判的方法,对保护酶活性、膜透性及渗透调节等生理和

[7] 汪贵斌,曹福亮,游庆方,等. 盐胁迫对 4 树种叶片中 K^{+} 和 Na^{+} 的影响及其耐盐能力的评价[J]. 植物资源与环境学报,2001,10(1):30-34.

[8] 王军,权太勇,夏光敏. 盐胁迫下小麦体细胞杂种与亲本小麦幼苗的生长量和 Na^{+} 、 K^{+} 含量比较[J]. 热带亚热带植物学报,2004,12(4):355-358.

[9] 王素平,郭世荣,周国贤,等. $NaCl$ 胁迫下黄瓜幼苗体内 K^{+} 、 Na^{+} 和 Cl^{-} 分布及吸收特性的研究[J]. 西北植物学报,2006,26(11):2 281-2 288.

[10] CLARE C,JENNIFER A F,JANUSZ J Z. Effects of $NaCl$ and Na_2SO_4 on red-osier dogwood (*Cornus stolonifera* Michx) seedlings *Sylvie Renault*[J]. Plant and Soil,2001,233:261-268.

[11] ML Y L. Effects of Na_2SO_3 on the activities of antioxidant enzymes in geranium seedlings[J]. Phytochemistry,2002,59:493-499.

[12] FLOWERS T J,HAJIBAGHERI M A. Salinity tolerance in *Hordeum vulgare*;ion concentrations in root cells of cultivars differing in salt tolerance[J]. Plant and Soil,2001,231:1-9.

[13] LUO QY,YU B J,LIU Y L. Differential sensitivity to chloride and sodium ions in seedlings of *Glycine max* and *G. soja* under $NaCl$ stress[J]. Journal of Plant Physiology,2005,162:1 003-1 012.

[14] CHARTZOULAKIS K,LOUPASSAKI M,BERTAKI M,et al. Effects of $NaCl$ salinity on growth,ion content and CO_2 assimilation rate of six olive cultivars[J]. Scientia Horticulturae,2002,96:235-247.

[15] ASHRAF M,AHMAD S. Influence of sodium chloride on ion accumulation,yield components and fibre characteristics in salt-tolerant and salt-sensitive lines of cotton (*Gossypium hirsutum* L)[J]. Field Crops Research,2000,66:115-127.

[16] NIGEL W M W,PAUL C E B. The effect of increasing salinity on the growth and ion content of three non-halophytic wetland macrophytes[J]. Aquatic Botany,1997,58:73-88.

[17] 王红玲,阿不来提·阿不都热依木,齐曼. Na_2SO_4 胁迫下狗牙根 K^{+} 、 Na^{+} 离子分布及其抗盐性的评价[J]. 中国草地,2004,26(5):37-42.

[18] 刘志华,赵可夫. 盐胁迫对獐茅生长及 Na^{+} 和 K^{+} 含量的影响[J]. 植物生理与分子生物学报,2005,31(3):311-314.

[19] YEO A R,FLOWERS T J. Accumulation and localization of sodium ions within the shoot of rice (*Oryza sativa*) varieties differing in salinity resistance[J]. Physiol Plant Copenhagen,1982,56:343-348.

[20] MUNNS R. Effect of high external $NaCl$ concentrations on ion transport within the root of *Lupinus albus*[J]. Plant cell and Environment,1998,11:283-289.

[21] 邱念伟,杨洪兵,丁顺华,等. 植物根部的拒 Na^{+} 作用与叶片 Na^{+} 含量的相关性分析[J]. 曲阜师范大学学报,2001,27(1):65-68.

[22] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:121-123.

[23] 王宝山,赵可夫. 小麦叶片中 Na^{+} 、 K^{+} 提取方法的比较[J]. 植物生理学通讯,1995,31(1):50-52.

[24] ZHAO K F,FAN H,SONG J,et al. Two Na^{+} and Cl^{-} Hyperaccumulators of the Chenopodiaceae[J]. Journal of Integrative Plant Biology,2005,47(3):311-318.

(上接第 23 页)

生化参数进行综合分析,这无疑比单个参数更能反映不同品种对干旱环境的适应能力。从结果看,这种方法在本研究中达到了预期效果。杨敏生等^[6]用同样的方法对毛白杨双杂交无性系抗旱性进行了鉴定分析,也得到了满意的结果,说明这种方法也具有一定的普通性。

参考文献:

[1] 王爱国,罗广华,邵从本,等. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究[J]. 植物生理学报,1983,9(1): 77-84.

[2] 李柏林,梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系[J]. 植物生理学报,1989,15(1): 6-12.

[3] 林植芳,李双顺,林桂珠,等. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系[J]. 植物学报,1984,26(6): 605-615.

[4] 李锦树,王洪春,王文英,等. 干旱对玉米叶片细胞膜透性及膜脂的影响[J]. 植物生理学报,1983,9(3):223-229.

[5] 卢纹岱. SPSS for Windows 统计分析[M]. 北京: 电子工业出版社,2000.

[6] 杨敏生,裴保华,于冬梅. 水分胁迫对毛白杨杂种无性系苗木维持膨压和渗透调节能力的影响[J]. 生态学报,1997,17(4):364-367.

[7] 曹慧,王孝威,曹琴,等. 水分胁迫下新红星苹果超氧化物自由基累积和膜脂过氧化作用[J]. 果树学报,2001,18(4):196-199.