

不同施氮水平对巨桉幼树耐旱生理特征的影响

胡红玲^{1,2}, 张 健^{1,2*}, 胡庭兴², 涂利华², 泮永祥², 曾凡明², 陈 洪², 吴秀华²

(1 四川农业大学 林学院生态林业研究所, 成都 610000; 2 长江上游林业生态工程四川省重点实验室, 四川雅安 625014)

摘 要: 采用盆栽方法, 研究了巨桉幼树在 N_0 (不施氮)、 N_1 (1.4 g 尿素 · 盆⁻¹)、 N_2 (2.8 g 尿素 · 盆⁻¹) 3 个氮处理水平下, 连续干旱不同时间[分别停水 0(D_0)、3、6、9、12、15、18 d]时巨桉的生理响应。结果显示: (1) 除 D_0 外, 试验期内 N_1 和 N_2 处理的巨桉叶片含水量(LWC)、叶片相对含水量(LRWC)和叶片保水力(LWHC)基本低于 N_0 水平, 尤其在干旱中期最为明显, 表明在干旱胁迫前施氮可能对巨桉叶片水分生理产生负面作用。(2) 干旱初期, 氮处理间的可溶性蛋白(SP)和可溶性糖(SS)含量的差异不大, 而干旱处理后期(9~18 d), N_0 处理的 SP 和 SS 较初期明显增加, 但 N_1 和 N_2 处理相对于 N_0 变化较为平缓, 表明施氮不利于 SP 和 SS 积累; N_1 和 N_2 处理脯氨酸(Pro)含量的增幅随着干旱胁迫时间的延长明显大于 N_0 处理。(3) 随干旱时间延长干旱程度加重, N_1 、 N_2 处理巨桉叶片过氧化氢(H_2O_2)和丙二醛(MDA)含量明显高于 N_0 处理, 表明施氮使得巨桉在干旱条件下水分缺乏更为严重, 产生更多的活性氧(ROS)。(4) 整个干旱处理期内, 施氮并未显著改变巨桉的超氧化物歧化酶(SOD)活性和抗坏血酸(AsA)含量, 但 N_1 和 N_2 的过氧化物酶(POD)活性明显高于 N_0 。(5) 施氮增加了巨桉叶片的色素含量并在干旱初期和中期保持较高水平, 在干旱初期(0~3 d)增加了巨桉叶片的净光合速率(P_n), 但随着干旱时间的延长而迅速下降; 施氮(N_1 、 N_2)的蒸腾速率(T_r)和气孔导度(G_s)在干旱初期均显著小于 N_0 , 但在干旱中后期(6 d 以后)各处理间差异不显著且均处于极低水平。研究表明, 水分充足时施氮有助于增强巨桉的光合同化能力, 促进其生长, 但遇到持续干旱时施氮更易面临水分亏缺, 降低其抵抗干旱的能力, 因此在巨桉人工林的经营管理过程中, 不应在干旱或季节性干旱即将到来之前施氮, 若干旱过程中需施氮则应采取灌溉等途径保证其充足的水分供应。

关键词: 施氮; 干旱胁迫; 生理特性; 巨桉

中图分类号: Q945.79

文献标志码: A

Drought Tolerance Comparison of *Eucalyptus grandis* Saplings under Different Nitrogen Application Levels

HU Hongling^{1,2}, ZHANG Jian^{1,2*}, HU Tingxing², TU Lihua²,

PAN Yongxiang², ZENG Fanming², CHEN Hong², WU Xiuhua²

(1 The Ecological Forestry Institute of Forestry College, Sichuan Agricultural University, Chengdu 610000, China; 2 The Key Laboratory of Ecological Engineering of Sichuan Province, Ya'an, Sichuan 625014, China)

Abstract: A pot experiment was performed to study the drought resistance of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden saplings under different nitrogen (N) application levels. The experiment consisted of two steps, firstly three N treatments (N_0 , supplied no extra urea, and N_1 and N_2 , supplied urea 1.4 and 2.8 g · pot⁻¹, respectively) were carried out in advance for 20 days and afterwards the drought stress[continuous drought for 0 d(D_0), 3, 6, 9, 12, 15 and 18 d] was conducted respectively to each N treatment. The results showed that: (1) Under the drought condition, the leaf water content (LWC), leaf relative water content (LRWC)

收稿日期: 2013-10-09; 修改稿收到日期: 2013-11-22

基金项目: 四川省教育厅项目(13Z A0246); 教育部博士点基金(20125103120018); “十二五”科技支撑计划(2011BAC09B05)

作者简介: 胡红玲(1983—), 女, 博士, 讲师, 主要从事树木生理、森林生态与森林经营管理相关研究。E-mail: littlehhl@163.com

* 通信作者: 张 健, 博士, 教授, 主要从事森林生态学、森林培育学及其相关领域的研究工作。E-mail: sicauzhangjian@163.com

and leaf water retention (LWHC) of saplings in N_1 and N_2 were lower than those in N_0 level, and the differences in the middle stage of drought were most obvious, which indicated that nitrogen application before drought probably led to negative impact to leaf water physiology of *E. grandis* saplings. (2) As for the soluble protein (SP) and soluble sugar (SS), the differences between nitrogen treatments were not significant in the early days of drought, but when drought for 9 ~ 18 d, the increase of SP and SS in N_0 were more obvious than those in N_1 and N_2 , and the change trend of those in N_1 and N_2 were relatively gentle, indicating that nitrogen addition was adverse to the accumulation of SP and SS of *E. grandis* saplings. However the increase rate of proline (Pro) in N_1 and N_2 was higher than that in N_0 with the extension of drought. (3) With the aggravation of drought stress, the contents of H_2O_2 and MDA in *E. grandis* saplings in treatment N_1 and N_2 were obviously higher than those in treatment N_0 , which indicated that nitrogen addition brought about more serious water deficiency of *E. grandis* saplings and produced more reactive oxygen species (ROS). (4) Nitrogen addition did not significantly change SOD activity and AsA content of *E. grandis* saplings in the process of drought stress, but POD activity in N_1 and N_2 was obviously higher than that in N_0 . (5) Nitrogen addition increased the pigment content of *E. grandis* saplings and kept at a higher level and correspondingly the net photosynthesis rate (P_n) was at a high level at the beginning of drought stress (0~3 d), but with drought time prolonged, P_n declined more rapidly, and change trend of transpiration rate (T_r) and Stomatal conductance (G_s) were nearly same as P_n . The results suggested that nitrogen addition could enhance the photosynthesis and assimilation ability of *E. grandis* when soil moisture is sufficient, and promote its growth. However it is more likely to encounter water deficit in face of drought stress and reduce its ability to drought resistance. Thus in the process of management of *E. grandis* plantation, nitrogen addition should not be implemented before the coming of drought or seasonal drought. Otherwise irrigation or some watering measures should be taken.

Key words: nitrogen addition; drought stress; physiological characteristics; *Eucalyptus grandis*

水分是林木生长发育中最为重要的环境因子之一,决定着林木生长状态以及引种是否成功。但全世界有超过 1/3 的地区处于干旱或半干旱状态^[1-2],而中国水资源短缺问题也日趋严重,其中淡水资源短缺已经影响到了很多地区林木的生长。中国淡水资源分布不均表现在空间和时间两个方面^[3],因此长期或短期水资源缺乏造成的干旱、半干旱或季节性干旱在中国较为普遍^[4],尤其是近年来全球气候变化导致的包括干旱在内的各种极端天气频繁发生^[5],林木耐旱性受到了更加广泛的关注,而科学的水分管理也成为人工林经营成败的关键。

巨桉(*Eucalyptus grandis*)为桃金娘科(Myrtaceae)桉属(*Eucalyptus*)植物,具有速生、优质、丰产的特点,因其生长适应性强、用途广泛、经济价值高而成为世界范围内栽培面积最大的树种,目前广泛用于热带、亚热带造林^[6]。21 世纪以来巨桉在中国四川、福建、云南、广西等省得到大规模栽培,不过有关巨桉的研究多集中在引种栽培技术、养分消耗、生物多样性变化等方面^[7-9],而植物耐旱性研究多针对北方干旱地区造林树种,关于速生用材树种的耐旱性研究还不多见。

氮是限制林木生长的重要因子之一^[10]。巨桉

生长迅速、养分消耗量大,许多林地处于氮限制状态^[11-12],因在巨桉人工林经营管理过程中施氮是非常重要的环节。氮素营养状况对植物抗旱性具有一定影响^[13],一些研究表明干旱胁迫条件下适度氮素营养可促进渗透调节,提高植物细胞酶促防御系统活性,从而增强作物抗旱性^[14-15],但也有研究指出氮素营养会增加作物对干旱的敏感性^[16]。相关研究多集中于作物中^[17-18],在林木中还较少。所以研究氮素对巨桉耐旱性影响,有利于在巨桉人工林经营管理过程中科学控制施氮量和准确掌握施氮时间。

本研究采用盆栽并进行水分控制的方法研究巨桉幼树耐旱性,不同于前人控制土壤水分含量在特定范围的方法^[1,19],而是采用连续停止浇水方式,模拟巨桉施氮后遭遇持续干旱时的生长和生理响应,比较分析不同施氮水平对巨桉耐旱性能及其适应性影响,旨在为干旱或季节性干旱频发地区科学经营巨桉短周期工业原料林提供理论依据和技术参考。

1 材料和方法

1.1 研究区概况

试验于 2011 年在四川省雅安市雨城区四川农业大学科研园区的大棚内进行,地理位置 102°59′

55°E, 29°58'48"N, 海拔 600 m。年平均气温 16.2 °C, 月平均最高温 29.9 °C (7 月), 月平均最低温 3.7 °C (1 月), 年均日照时数 1 039.6 h, 无霜期 298 d, 年平均降雨量 1 774.3 mm。

1.2 试验材料及预处理

试验采用土壤为冲积土, 质地为沙壤, 其田间持水量为 25% (体积含水量), 容重 $1.32 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, 土壤全 N 含量为 $0.132 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。将其充分混匀后平铺晾置 2 d 装盆。因为实验采用巨桉 (*E. grandis*) 幼树, 生长快, 树体较大, 因此选择的花盆内径 30 cm, 高 35 cm, 每盆装土 15 kg。

参试苗木为巨桉组培苗, 由眉山林业局苗圃培育, 苗高 15~20 cm。苗木取回当天, 栽入装好土的塑料盆中, 每盆 1 株。定期浇水, 保证土壤体积含水量在 20% 左右 (约为田间持水量的 80% 左右), 采用便携式土壤水分测定仪 HH2 (ML2x, GBR) 监测土壤含水量。经过一段时间的适应性生长, 待幼苗平均高超过 30 cm (符合四川省《森林资源调查技术规程》规定的幼树标准) 之后选择形态生长相近的植株进行试验。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计 (1) 施氮水平 按照当地苗圃、幼林的一般施肥标准, 试验中年施氮 (尿素) 基本量设为 $200 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ (约合纯氮 $92 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$), 折算到试验所用塑料盆盆口面积上年施尿素约为 5.6 g, 由于本试验持续时间约 3 个月, 故以每盆施入尿素 1.4 g 为基本量。

将巨桉幼苗分为 3 组, 分别进行以下氮处理: N_0 (不施尿素), N_1 (尿素 $1.4 \text{ g} \cdot \text{盆}^{-1}$), N_2 (尿素 $2.8 \text{ g} \cdot \text{盆}^{-1}$), 每组 21 盆。为防止一次性施入氮素过多而造成烧苗和浪费, 在干旱处理前的 20 d 内分 4 次 (每隔 7 d) 施入, 每次施氮量为处理总量的 25%。

(2) 持续干旱处理 在 3 种施氮水平下分别设置 7 个水分处理 (依次持续停水 0、3、6、9、12、15、18 d, 分别记作 D_0 、 D_3 、 D_6 、 D_9 、 D_{12} 、 D_{15} 、 D_{18}), 每一种水氮组合 3 盆。干旱处理具体操作从 2011 年 9 月 1 日开始, 以 3 d 为一个处理期, 第一个处理期 (第 3 天) 对第一个处理停止浇水, 其余 6 个处理正常浇水并进入下一处理期; 第二个处理期 (第 6 天) 对第二个处理停止浇水, 剩下的 5 个处理正常浇水并进入下一处理期; ……; 待所有植株处理完毕, 至此干旱处理结束, 因此从第一个处理至最后一个处理形成一个不同土壤含水量的水分梯度系列, 共 7 个处理期 (18 d), 到 2011 年 9 月 19 日完成。用 HH2 (土

壤水分速测仪) 测定各处理盆中土壤含水量并测定巨桉主要光合生理指标和抗性生理指标等。

1.3.2 测定项目及方法 (1) 水分生理指标 各项水分生理指标采用饱和称重法^[20-22]进行测定。选取各处理植株幼树中上部相同部位、形态相近的成熟叶片, 取下后尽快称其鲜重, 然后用蒸馏水浸泡, 至重量不再增加, 得饱和鲜重, 然后放置于室内, 使其其自然失水 24 h 后称重, 再于 105 °C 下杀青 30 min, 80 °C 下烘至恒重, 即干重。由此:

$$\text{叶片含水量 (LWC)} = (\text{鲜重} - \text{干重}) / \text{干重} \times 100\%$$

$$\text{叶片相对含水量 (LRWC)} = (\text{鲜重} - \text{干重}) / (\text{饱和鲜重} - \text{干重}) \times 100\%$$

$$\text{叶片保水力 (LWHC)} = 1 - W_k, \text{ 其中 } W_k = \frac{\text{失水重}}{\text{总水重}} \times 100\% = \frac{\text{饱和鲜重} - \text{称重}}{\text{饱和鲜重} - \text{干重}} \times 100\%$$

$$\text{饱和含水量 (LSWC)} = (\text{饱和鲜重} - \text{干重}) / \text{干重} \times 100\%$$

(2) 细胞质膜过氧化程度 细胞质膜过氧化程度用丙二醛 (MDA) 含量衡量, 采用硫代巴比妥酸 (TBA) 加热比色法测定^[23]。

(3) 光合作用与蒸腾作用 叶绿素含量测定参照李得孝等^[24]推荐的混合提取-分光光度法。

净光合速率 (P_n) 及气体交换参数, 用 Li-6400 便携式光合测定系统 (Li-COR 公司, 美国) 于晴天上午 9:00~11:00 测定。选取各处理样株, 在其中部相同部位选择形态相近的功能叶, 测定 P_n 、气孔导度 (G_s)、胞间 CO_2 浓度 (C_i)、蒸腾速率 (T_r)。每处理 6 个重复, 每个重复稳定后读取 5 个数据。

(4) 渗透调节物质 游离脯氨酸 (Pro) 含量采用磺基水杨酸提取, 酸性茚三酮显色法测定^[25]。可溶性糖 (SS) 含量采用蒽酮比色法。可溶性蛋白 (SP) 含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[23]。

(5) 活性氧和抗氧化系统 H_2O_2 含量的测定参考刘俊等^[26]的方法。超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 采用同一提取液测定, 取叶片 0.1 g, 置预冷的研钵中, 加入 8 mL pH 值为 7.0 的磷酸缓冲液研磨成匀浆。然后 2 °C~4 °C $15\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 上清液即为酶提取液。SOD 活性采用硝基四氮唑蓝 (NBT) 还原法^[27]。POD 活性参照愈创木酚法^[23, 25]。抗坏血酸 (AsA) 含量采用孙群等^[28]的钼蓝比色法测定。

1.4 统计分析

采用 Microsoft Office Excel 2007 软件整理数

据和绘制图表, SPSS 16. 0 统计分析软件 (SPSS Inc., USA) 对数据进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 并用最小显著差数法 (LSD 法) 进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 持续干旱条件下栽植盆中土壤水分含量变化

从表 1 可以看出, 随着干旱时间的延长, 各氮处理下, 盆中土壤体积含水量均呈逐渐下降的趋势, 且降低幅度呈现先快后慢的变化规律, 而相同干旱处理下高氮处理 (N_2) 和中氮处理 (N_1) 的土壤含水量始终低于对照 (N_0), 这表明施氮后的巨桉具有更大的耗水量。

2.2 各氮处理巨桉幼树在持续干旱下的水分生理状况

由表 2 可见, N_1 和 N_2 处理叶片含水量 (LWC) 基本低于 N_0 水平。氮处理对照 (N_0) 的 LWC 在干旱 15 d 后才出现显著的大幅下降, 而中氮处理 (N_1) 和高氮处理 (N_2) 的大幅下降分别出现在第 3 天和第 6 天。表明适度施氮 (N_1) 可能有利于改善巨桉水分状况, 但面临持续干旱时 LWC 更容易降低。

叶片相对含水量 (LRWC) 随干旱时间延长总体呈下降趋势, 在整个处理期内, N_1 和 N_2 处理的 LRWC 基本低于 N_0 水平, 在长时间干旱时 (处理 9 d 后) 表现得尤为明显。可见, 增施氮素虽然可能利于改善巨桉体内的水分状况, 但遇到持续干旱时其水分状况更易恶化 (表 2)。

各水平氮处理的叶片保水力 (LWHC) 在持续干旱下均出现连续的波动, 且在整个处理期内, N_1 和 N_2 的 LWHC 并未相对于 N_0 出现明显的变化, 但在干旱较为严重时 (12 d 及以后) N_0 的 LWHC 倾向于高于 N_1 和 N_2 。表明增施氮素可能不利于巨桉抵御严重的水分亏缺 (表 2)。

在处理期间, 3 个氮处理叶片饱和含水量 (LSWC)

随干旱持续时间的波动幅度不大, 可能是在本实验的干旱程度内, 各施氮水平巨桉的叶片细胞在恢复供水后能回到正常水平, 还不至于发生不可逆的变化 (表 2)。

2.3 各氮处理巨桉幼树在持续干旱下的渗透调节物质含量

在干旱胁迫期间, 各氮处理的巨桉叶片可溶性蛋白 (SP) 含量均随干旱时间延长而呈上升趋势, 但是对干旱的响应有所不同, 主要体现在干旱处理的 9~18 d, 此期间 N_0 处理的 SP 含量逐渐上升, 而 N_1 和 N_2 两种施氮水平的 SP 变化平稳。总体而言, SP 含量基本表现为 N_1 和 N_2 处理低于 N_0 处理。表明施氮可能会降低巨桉叶片 SP 含量, 且使其在干旱过程中仍保持在较低水平 (表 3)。

从表 3 可以看出, 各氮处理可溶性糖含量 (SS) 亦随干旱时间延长而呈上升趋势。就相同干旱时间下氮处理间比较而言, 在干旱初期 (0~6 d) 氮处理间差异很小, 干旱中期 (6~12 d) 表现为 $N_2 > N_1 > N_0$, 而干旱后期 (12~18 d) 则是 N_1 和 N_2 小于 N_0 。可见增施氮素可使巨桉在持续干旱状态下叶片内 SS 的积累有所加快, 但响应不如未施氮的强烈。

未受到明显干旱胁迫时 (干旱前 3 d), 氮处理间游离脯氨酸 (Pro) 含量差异不大, 表明施氮本身对巨桉叶片中 Pro 含量并无太大影响。干旱 3 d 以后, N_1 和 N_2 处理 Pro 含量均明显高于 N_0 , 说明施氮后巨桉在面临持续干旱时叶片中更快地积累更多的 Pro, 间接表明施氮使得巨桉在干旱过程中面临的水分亏缺增大 (表 3)。

2.4 各氮处理巨桉幼树在持续干旱下的活性氧代谢及膜脂过氧化状况

由表 4 可见, 总体上巨桉叶片过氧化氢 (H_2O_2) 含量随着干旱时间延长而逐渐上升, 而施氮 (N_1 和 N_2) 的 H_2O_2 上升较 N_0 更为迅速 (特别体现在干旱的第 9 天), 暗示增施氮素使得巨桉在持续干旱下更

表 1 持续性干旱条件下盆中土壤体积含水量

Table 1 The soil volumetric water content in the cultivating pot under continuous drought stress/%

氮处理 Nitrogen treatment	水分处理 Water treatment						
	D ₀	D ₃	D ₆	D ₉	D ₁₂	D ₁₅	D ₁₈
N ₀	21.67±2.23aA	12.28±0.59bA	6.53±0.82cA	5.51±1.12cdA	5.17±0.38cdA	4.13±0.12dA	3.65±0.02dA
N ₁	19.64±1.4aA	10.42±0.07bB	5.12±0.42cA	4.93±0.59cA	4.62±0.34cdA	4.18±0.54cdA	3.47±0.19dA
N ₂	19.4±1.05aA	9.17±0.61bB	5.63±0.24cA	4.9±0.21cA	4.83±0.32cA	3.8±0.15dA	3.4±0.17dA

注: 同行不同小写字母表示不同水分处理之间差异显著 ($P < 0.05$); 同列不同大写字母表示不同氮处理之间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different normal letters in the same line indicate significant differences between different water treatments ($P < 0.05$); Different capital letters in the same list-column indicate significant differences between different nitrogen treatments ($P < 0.05$).

表 2 持续干旱对不同氮处理巨桉幼树叶片水分指标的影响

Table 2 Effects of continuous drought stress on leaf water indices of *E. grandis* saplings with different N applications

氮处理 Nitrogen treatment	水分处理 Water treatment	叶片含水量 Leaf water content/%	叶片相对含水量 Leaf relative water content/%	叶片保水力 Leaf water holding capacity	饱和含水量 Leaf saturation water content/%
N ₀	D ₀	67.36±1.63abB	74.88±8.87bcB	0.72±0.10bA	73.43±2.64bB
	D ₃	69.11±0.02aA	84.58±8.84abA	0.44±0.09bcA	72.60±2.07bA
	D ₆	61.04±1.22cA	60.42±4.15dA	0.34±0.08cdA	72.19±1.51bAB
	D ₉	67.90±0.32aA	89.39±4.95aA	0.15±0.03dA	70.30±1.22bcB
	D ₁₂	64.37±1.57bA	65.47±1.21cdA	0.54±0.15bcA	73.39±1.68bA
	D ₁₅	48.71±3.55dA	45.26±8.88eA	0.38±0.04cdA	67.96±2.11cC
	D ₁₈	43.86±2.36cC	22.37±2.43fB	1.24±0.37aA	77.80±0.65aB
N ₁	D ₀	85.31±2.37aA	89.00±1.99aA	0.61±0.05aA	86.72±2.10aA
	D ₃	48.45±4.76cB	70.64±10.24bA	0.23±0.29bcA	57.22±5.12eB
	D ₆	56.64±0.83bA	51.47±6.20cAB	0.51±0.33abA	71.80±2.25cdB
	D ₉	41.20±0.74dB	22.14±3.84eB	0.21±0.05bcA	76.05±3.63bcAB
	D ₁₂	47.00±1.01cB	39.39±9.90dB	0.32±0.03abcB	69.46±6.37dA
	D ₁₅	45.72±0.93cdA	21.83±1.26eB	0.26±0.07bcA	79.43±0.86bA
	D ₁₈	49.58±2.36cB	23.24±2.28eAB	0.14±0.01cB	80.92±1.05abA
N ₂	D ₀	68.51±3.13aB	95.31±2.49aA	0.29±0.11aB	69.55±2.82cB
	D ₃	68.58±1.09aA	70.45±3.52bA	0.44±0.26aA	75.62±0.66abcA
	D ₆	54.14±5.80bcA	39.54±9.27cB	0.20±0.15aA	75.31±0.87bcA
	D ₉	49.45±11.55bcB	23.53±4.20dB	0.34±0.27aA	80.47±4.64abA
	D ₁₂	42.01±12.10cB	23.29±2.51deC	0.32±0.08aB	74.82±9.05bcA
	D ₁₅	26.47±6.25dB	13.55±3.26eB	0.00±0.34bB	72.70±1.75cB
	D ₁₈	55.71±1.86bA	26.63±0.53dA	0.20±0.07aB	82.50±1.34aA

注:相同氮处理下不同小写字母表示不同水分处理之间差异显著($P<0.05$);相同水分处理下不同大写字母表示不同氮处理之间差异显著($P<0.05$);下同。
Note:Different lowercase letters indicate significant differences between different water treatments in same nitrogen treatment ($P<0.05$);Different capital letters indicate significant differences between different nitrogen treatments in same water treatment($P<0.05$);the same as below.

表 3 持续干旱对不同氮处理的巨桉幼树叶片内渗透调节物质含量的影响

Table 3 Effects of continuous drought stress on the osmolytes in leaves of *E. grandis* saplings with different N applications

氮处理 Nitrogen treatment	水分处理 Water treatment	可溶性蛋白含量 The content of soluble protein/(mg·g ⁻¹)	可溶糖浓度 The content of soluble sugar/(nmol·g ⁻¹)	游离脯氨酸浓度 The content of proline/(μg·g ⁻¹)
N ₀	D ₀	5.69±0.24dA	404.87±26.20cA	45.81±0.59dB
	D ₃	5.19±0.15eA	420.42±19.72cA	45.95±0.11dB
	D ₆	6.44±0.30bcA	790.54±10.30bA	49.99±0.78cC
	D ₉	6.09±0.31cdA	763.60±31.64bA	49.94±1.67cC
	D ₁₂	6.69±0.41bA	827.03±32.98bB	48.06±0.35cdC
	D ₁₅	7.38±0.27aA	1 636.41±130.89bcA	67.66±3.80bC
	D ₁₈	7.74±0.09aA	1 890.25±219.72aA	71.66±0.73aC
N ₁	D ₀	4.47±0.46dB	364.61±34.94cA	47.86±0.59dA
	D ₃	5.28±0.40cA	348.56±20.60cB	52.03±0.25dA
	D ₆	6.32±0.17abA	792.50±81.52bA	82.75±3.53cB
	D ₉	6.46±0.41abA	896.50±190.65bA	236.70±5.08aA
	D ₁₂	5.90±0.28bA	1 093.15±56.30bA	159.14±9.55bA
	D ₁₅	6.04±0.22abB	1 268.36±228.89abAB	153.29±7.42bB
	D ₁₈	6.53±0.12aB	1 246.76±280.83aB	150.04±3.04bB
N ₂	D ₀	4.66±0.30cB	399.93±22.93cA	48.06±0.83dA
	D ₃	4.24±0.39dB	417.86±46.04cA	52.87±2.49dA
	D ₆	6.43±0.36aA	900.94±60.24bcA	175.32±5.81bA
	D ₉	6.46±0.06aA	1012.74±186.46bA	197.25±12.29aB
	D ₁₂	5.66±0.90bA	1 146.65±52.15bA	116.78±1.62cB
	D ₁₅	6.19±0.14abB	918.86±263.63bB	208.53±20.86aA
	D ₁₈	6.17±0.24abC	1 262.16±182.80aB	164.50±2.69bA

快地积累活性氧(ROS),可能是施氮更容易使植株水分匮乏造成的。

3个氮处理的巨桉叶片丙二醛(MDA)含量在干旱开始(0 d)时近乎相同,并均随干旱时间的延长而逐渐上升。总体上,面临持续干旱,MDA含量表现为N₁和N₂处理明显高于N₀处理。可见,施氮处理的巨桉在干旱过程中可能遭受到了更严重的膜脂过氧化损伤,这与H₂O₂反映的结果一致(表4)。

2.5 各氮处理巨桉幼树在持续干旱条件下的抗氧化系统状况

由表5可见,N₀和N₁处理的超氧化物歧化酶(SOD)活性随着干旱时间的延长而呈逐渐上升的趋势,而N₂处理的SOD活性在整个干旱胁迫过程中基本没有明显变化。总体上看,施氮并未明显促进巨桉的SOD活性,较多的氮(N₂)还使得其SOD对于干旱表现得不敏感。

表5显示,3种氮处理下巨桉过氧化物酶(POD)活性随着干旱时间延长而先上升后下降。其中,N₁和N₂处理POD活性在未受干旱胁迫时(D₀)就明显高于N₀,并在3和6 d时出现了明显的增长高峰,随着干旱时间的延长仍明显高于N₀。表明增施氮素不仅使巨桉具有较高的POD活性,且使其在持续干旱下的POD活性也处于较高的水平。

表4 持续干旱对不同氮处理巨桉幼树叶片的过氧化氢和丙二醛含量的影响

Table 4 Effects of continuous drought stress on the contents of H₂O₂ and MDA in leaves of *E. grandis* saplings with different N applications

氮处理 Nitrogen treatment	水分处理 Water treatment	H ₂ O ₂ 含量 The content of H ₂ O ₂ /(μmol·g ⁻¹)	MDA 浓度 The content of MDA/(nmol·g ⁻¹)
N ₀	D ₀	72.59±15.41cA	21.99±0.69cA
	D ₃	78.78±9.30cA	25.57±1.91cA
	D ₆	104.98±12.06bA	34.16±2.43bA
	D ₉	92.19±10.39bcA	26.00±0.93bB
	D ₁₂	111.79±9.04bA	40.23±4.01bA
	D ₁₅	138.40±21.98bcA	34.91±2.83bcA
	D ₁₈	155.18±11.87aA	55.15±6.46aA
N ₁	D ₀	75.36±3.48dA	20.55±1.85cA
	D ₃	70.09±6.40dA	18.31±1.34cB
	D ₆	118.03±17.84cA	38.37±4.00bA
	D ₉	172.42±26.72aA	43.71±2.97bA
	D ₁₂	112.81±24.08cA	45.14±10.08bA
	D ₁₅	128.91±9.59bcA	50.14±13.13abA
	D ₁₈	155.94±32.52abA	58.29±8.97aA
N ₂	D ₀	69.18±9.94cA	21.93±2.72cA
	D ₃	82.42±2.58bcA	24.55±1.75cA
	D ₆	110.44±32.55bcA	38.79±4.37bcA
	D ₉	203.53±99.19aA	50.33±12.40bA
	D ₁₂	150.95±22.13abA	47.10±2.37bA
	D ₁₅	131.39±20.84abcA	47.40±13.67bA
	D ₁₈	153.03±20.06abA	75.26±16.73aA

表5 持续干旱对不同氮处理的巨桉幼树叶片内SOD、POD活性及抗坏血酸含量的影响

Table 5 Effects of continuous drought stress on SOD,POD activities and AsA content in leaves of *E. grandis* saplings with different N applications

氮处理 Nitrogen treatment	水分处理 Water treatment	SOD 酶活性 SOD activity/(U·g ⁻¹)	POD 酶活性 PDO activity/(U·g ⁻¹)	抗坏血酸含量 Ascorbic acid content/(mg·g ⁻¹)
N ₀	D ₀	1 029.03±82.79eB	9.77±1.92abC	4.68±0.15dA
	D ₃	1 070.76±95.44deA	13.79±5.91aB	4.37±0.11dA
	D ₆	1 207.63±59.19bcA	7.91±5.22abcC	5.57±0.24cA
	D ₉	1 157.48±33.58cdA	5.26±1.12bcdB	5.38±0.28cA
	D ₁₂	1 256.86±11.94bcA	1.29±2.24dB	6.75±0.32aA
	D ₁₅	1 293.86±44.97abA	1.99±3.97cdA	6.39±0.05abA
	D ₁₈	1 385.08±40.80aA	1.32±2.29dB	6.09±0.36bA
N ₁	D ₀	939.47±38.56cB	35.07±3.10bB	4.14±0.11abB
	D ₃	775.55±164.83dB	68.47±18.19aA	3.70±0.19cB
	D ₆	1 158.93±35.71bA	42.07±6.47bB	3.69±0.34cB
	D ₉	1 281.15±40.44aA	13.00±8.96cAB	3.89±0.22bcB
	D ₁₂	1 263.61±9.27abA	31.33±10.32bA	4.17±0.27abB
	D ₁₅	1 317.56±12.87aA	5.24±2.97cA	4.26±0.13abB
	D ₁₈	1 247.23±21.16abB	10.52±7.50cA	4.43±0.25aB
N ₂	D ₀	1 166.21±13.84abA	47.57±0.76bA	4.00±0.17aB
	D ₃	1 151.90±37.00abA	66.97±5.89aA	4.09±0.21aA
	D ₆	1 207.56±19.80abA	78.34±18.57aA	3.17±0.34bB
	D ₉	1 184.82±130.60abA	21.71±7.96cA	4.07±0.17aB
	D ₁₂	1 127.63±87.60bB	21.50±3.40cA	4.44±0.20aB
	D ₁₅	1 201.20±44.22abB	10.45±9.70cdA	4.11±0.25aB
	D ₁₈	1 263.65±59.59aB	4.62±1.17dAB	4.27±0.37aB

各氮处理的抗坏血酸(AsA)含量在干旱初期有所降低,之后呈缓慢上升趋势。其中,N₀处理的AsA含量上升幅度较大;N₁和N₂处理的AsA在试验期内无明显变化。总体上,在干旱处理过程中,N₁和N₂差异较小,且均明显低于N₀水平。可见,施氮使得巨桉叶片内AsA含量降低,且在干旱过程中反应不敏感且一直处于较低水平(表5)。

2.6 各氮处理巨桉幼树在持续干旱下的光合生理状况

由表6可见,在N₀处理中,叶绿素(Chl)含量一直处于较低水平,而N₁和N₂处理使受胁迫的植株在干旱中期(6~12 d)Chl含量极显著高于N₀($P<0.01$)。与此同时,3个氮处理下类胡萝卜素(Car)随干旱时间的变化趋势与Chl的变化几乎相同。

表7显示,随着干旱的持续,3个氮处理巨桉叶片的 P_n 不断降低。但是,中氮(N₁)和高氮(N₂)处理的 P_n 在干旱前期(0~3 d)的下降幅度明显高于对照氮处理(N₀),即面临干旱时下降得更快。总体上,在干旱胁迫过程中,各氮处理的 P_n 表现为:N₀>N₁>N₂。

由表7可知,3种氮处理的巨桉叶片 T_r 均随干旱时间延长而快速下降,在干旱6 d时就达到各自的最低水平;在整个处理期内,N₁与N₂间 T_r 差异

表6 持续干旱对不同水分处理的巨桉幼树叶片光合色素含量的影响

Table 6 Effects of continuous drought stress on photosynthetic pigments in leaves of *E. grandis* saplings with different N applications

氮处理 Nitrogen treatment	水分处理 Water treatment	叶绿素总量 The content of Chl /(mg·g ⁻¹)	类胡萝卜素含量 The content of Car /(mg·g ⁻¹)
N ₀	D ₀	2.02±0.10bC	0.46±0.01eC
	D ₃	2.08±0.11bB	0.50±0.02cdB
	D ₆	2.14±0.09bC	0.54±0.01bC
	D ₉	1.79±0.10cB	0.47±0.02deC
	D ₁₂	1.20±0.07dC	0.33±0.03fB
	D ₁₅	2.76±0.12aA	0.70±0.02aA
	D ₁₈	2.09±0.16bA	0.51±0.03bcA
N ₁	D ₀	2.60±0.07dA	0.59±0.01dA
	D ₃	2.78±0.11cdA	0.63±0.03cdA
	D ₆	3.49±0.14bB	0.76±0.02bB
	D ₉	4.01±0.28aA	0.81±0.03abB
	D ₁₂	4.22±0.17aA	0.85±0.04aA
	D ₁₅	2.91±0.13cA	0.67±0.04cA
	D ₁₈	1.89±0.10eA	0.39±0.04eB
N ₂	D ₀	2.39±0.04dB	0.55±0.03bB
	D ₃	2.51±0.17dA	0.58±0.04bA
	D ₆	4.16±0.08aA	0.84±0.02aA
	D ₉	4.00±0.06abA	0.87±0.01aA
	D ₁₂	3.86±0.15bB	0.86±0.01aA
	D ₁₅	2.88±0.10cA	0.59±0.01bB
	D ₁₈	2.03±0.13eA	0.42±0.03cB

表7 持续干旱对不同氮处理巨桉幼树净光合速率、蒸腾速率和气孔导度的影响

Table 7 Effects of continuous drought stress on net photosynthetic rate,transpiration rate and stomatal conductance of *E. grandis* saplings with different N applications

氮处理 Nitrogen treatment	水分处理 Water treatment	净光合速率 $P_n/(\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$	蒸腾速率 $T_r/(\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$	气孔导度 $G_s/(\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$
N ₀	D ₀	10.60±0.39aB	10.30±0.10aA	5.09±0.16aA
	D ₃	9.25±1.13bA	5.69±1.29bA	0.70±0.64bA
	D ₆	2.24±0.07dA	0.50±0.11cA	0.02±0.00cA
	D ₉	2.04±0.17deA	0.52±0.04cA	0.02±0.00cA
	D ₁₂	3.96±0.42cA	0.76±0.10cA	0.05±0.04cA
	D ₁₅	1.33±0.12eA	0.00±0.00cB	0.00±0.00cB
	D ₁₈	1.21±0.30eA	0.00±0.00cB	0.00±0.00cB
N ₁	D ₀	12.68±0.75aAB	8.57±1.98aA	2.95±1.96aAB
	D ₃	4.89±0.05bB	1.41±0.05bB	0.06±0.00bA
	D ₆	1.34±0.16cB	0.08±0.07cB	0.00±0.00bC
	D ₉	0.86±0.24cdB	0.03±0.02cC	0.00±0.00bC
	D ₁₂	0.99±0.11cdB	0.06±0.06cC	0.00±0.00bB
	D ₁₅	0.77±0.07dB	0.04±0.00cB	0.00±0.00bB
	D ₁₈	0.48±0.10dB	0.14±0.06bcA	0.01±0.00bAB
N ₂	D ₀	13.48±1.75aA	8.56±2.40aA	1.90±1.09aB
	D ₃	4.07±0.14bB	1.67±0.22bB	0.09±0.01bA
	D ₆	1.07±0.16cB	0.36±0.06bA	0.02±0.00bB
	D ₉	0.42±0.04cC	0.20±0.02bB	0.01±0.00bB
	D ₁₂	0.58±0.15cB	0.20±0.04bB	0.01±0.00bAB
	D ₁₅	0.20±0.05cC	0.21±0.04bA	0.01±0.00bA
	D ₁₈	0.17±0.09cB	0.17±0.01bA	0.02±0.01bA

不大,且均低于 N_0 (表 7)。

表 3 显示,3 种氮处理的巨桉叶片 G_s 也随干旱时间延长而迅速降低,在干旱处理的 6 d 后均近乎为零。而在干旱处理的前 6 d 内, G_s 均表现为 $N_0 > N_1 > N_2$ (表 7)。可见增施氮素可能减小巨桉叶片的气孔开度和蒸腾作用,并使其在持续干旱下保持在较低水平。

3 讨 论

3.1 施氮有助于改善巨桉水分状况,使其生理代谢更为活跃

施氮在农林业生产上是一项重要的增产措施,对于生长迅速,需肥量较高的巨桉来说更是如此。施氮有利于增加叶片含水量^[29],增加植物光合同化能力^[30],促进某些抗氧化酶活力^[15],并在一定程度上缓解干旱对植物的胁迫伤害^[30-31]。就本研究结果看,若水分充足,施氮能增加巨桉的 LWC 和 LRWC,说明单纯施氮有助于改善巨桉的水分状况。另外,在未受到干旱胁迫时,巨桉的光合色素含量、 P_n 以及 POD 活力均有所增加,体现了施氮后巨桉的生理代谢变得更为活跃。但正因施氮对巨桉生长的促进作用,可能使其在面临持续干旱时变得更为敏感。

3.2 施氮巨桉若面临持续干旱叶片水分更易亏缺,光合能力和气体交换能力受到抑制

本研究中施氮巨桉的 LWC 和 LRWC 在持续干旱过程中更易降低并保持在较低水平,叶片保水力也较低。同时其光合色素含量、 P_n 、 G_s 和 T_r 在干旱条件下也更易降低。这可能是因为增施氮素的巨桉整株叶面积以及代谢活动受到促进,蒸腾耗水较多,其 LWC、LRWC 在持续干旱过程中更易降低并保持在较低水平,加之其 LWHC 本身较小,不利于叶片水分保持,这就造成了其光合色素含量、 P_n 、 G_s 和 T_r 在干旱条件下更易降低。因此总的来看,在水分充足条件下施氮可提高巨桉代谢活力,改善其水分状况而促进其生长,但是正因如此,也加快了巨桉对水分的消耗,使之在面临持续性干旱的时候更易造成水分亏缺,最终其同化生产能力也更易受到干旱的影响而降低。

3.3 施氮巨桉若面临持续干旱促进游离脯氨酸积累,稍抑制可溶性蛋白质、可溶性糖的积累

植物在遇到干旱胁迫时,其体内通常通过积累渗透调节物质,减少叶片内自由水的比例,降低其渗透势以便增强从外界吸收水分的能力,从而维持正

常生理活动的需要^[32-33]。本文结果也体现了这一点,3 种氮处理的 SP、SS 和 Pro 均表现为随着干旱时间的延长而呈上升趋势。但施氮后,若水分条件充足,则并不影响巨桉叶片中 SS 和 Pro 含量,SP 含量在施氮后还有所降低。如果遇到持续性干旱,则在干旱过程中 SP 含量保持更低水平,SS 含量上升速度有所加快,但在干旱后期仍低于未施氮组,而 Pro 含量积累更快且处于较高的水平。因此,施氮主要通过积累更多的 Pro 来增强巨桉在遭遇干旱时的水分调节能力,以尽可能的维持膨压,这也间接说明施氮的巨桉在干旱过程中面临更为严峻的水分亏缺现象。至于施氮巨桉在干旱后期(15~18 d)SS 含量明显低于不施氮巨桉,可能是其 P_n 较大幅度地下降,同化产物减少更快,也就影响到 SS 含量。也有可能是施肥加重了巨桉干旱后期的胁迫程度,而当干旱胁迫超过一定范围时渗透调节作用就减小了^[34-35]。

3.4 施氮巨桉若面临持续干旱时更易受到活性氧伤害

通常情况下,植物体内 H_2O_2 、MDA 随着干旱胁迫时间的延长而不断增加^[36-38]。本研究中 3 种氮处理的巨桉在受到干旱胁迫时 H_2O_2 、MDA 的积累也呈现这一变化规律(表 4)。施氮后,若水分条件充足,巨桉叶片内 H_2O_2 含量与不施氮相比并无明显差异,但是在持续干旱条件下却明显积累较多。另外,在干旱过程中,施氮的巨桉叶片内膜脂过氧化最终产物 MDA 也处于明显较高的水平。显然,施氮使得巨桉在面临干旱时体内产生更多的 ROS,并使其膜脂过氧化伤害加重,这可能正是施氮使得巨桉在遇到干旱时水分亏缺更严重的原因。

植物体内抗氧化酶活性和抗氧化剂含量的高低,一方面反映其耐旱性,另一方面也反映了其受逆境胁迫的程度^[39-40]。本研究中,施氮的巨桉本身对 SOD 活性影响不大,并降低了 AsA 含量以及提高了 POD 活力,在面临持续干旱时,施氮巨桉的 SOD 对干旱反应更不敏感,AsA 也处于相对较低的水平,说明施氮并未通过诱导 SOD 活性的升高以及调动更多的 AsA 来增强巨桉的抗旱性,但是其 POD 对干旱具有更明显的响应而在干旱过程中处于较高水平,可能有助于缓解 H_2O_2 的伤害,但如前述 H_2O_2 和 MDA 的反应来看,施氮后 POD 在干旱下的积极响应所起的清除 ROS 的作用似乎不大,难以避免或缓解其在持续干旱过程中 H_2O_2 和 MDA 的积累。

综上可知,增施氮素可通过改善水分状况,增强光合同化能力等方式促进巨桉生长,但如果面临持续干旱,则会加快水分亏缺,抑制光合能力,同时造成更严重的氧化伤害,最终影响其生长。所以,施氮

反而会降低巨桉的抗旱能力。因此,建议在巨桉人工林经营过程中,尤其是对于巨桉幼、中龄林,季节性干旱来临前最好不要施氮。如若施氮,则应该在干旱过程中通过灌溉等途径来弥补水分的不足。

参考文献:

- [1] GUO W H, LI B, HUANG Y M, *et al.* Effects of different water stress on eco-physiological characteristics of *Hippophae rhamnoides* seedlings[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, **45**(10): 1 238—1 244.
- [2] LUO Q H(罗青红), LI ZH J(李志军). Study achievements of water physiological ecology and drought-resistance of trees[J]. *Journal of Tarim University*(塔里木大学学报), 2005, **17**(2): 29—33(in Chinese).
- [3] GAO Y L(高艳玲). Thinking of sustainable utilizing water resource of China[J]. *Journal of Environmental Management College of China*(中国环境管理干部学院学报), 2002, **12**(1): 42—44(in Chinese).
- [4] DUAN H X(段海霞), WANG S P(王素萍), FENG J Y(冯建英). The drought status of China in 2011 and its impact and causes[J]. *Journal of Arid Meteorology*(干旱气象), 2012, **30**(1): 136—147(in Chinese).
- [5] CASPER B B, FORESTH I N, WAIT D A. A stage-based study of drought response in *Cryptantha flava* (Boraginaceae): gas exchange, water use efficiency, and whole plant performance[J]. *American Journal of Botany*, 2006, **93**(7): 977—987.
- [6] WANG H G(王晗光), ZHANG J(张 健), YANG W SH(杨婉身), *et al.* A research on the allelopathic substances in root system and root system soil of *Eucalyptus grandis*[J]. *Journal of Sichuan Normal University*(Nat. Sci. Edi.)(四川师范大学学报·自然科学版), 2006, **29**(3): 368—371(in Chinese).
- [7] CHEN Q B(陈秋波). A review of researches on biodiversity in *Eucalyptus plantations*[J]. *Chinese Journal of Tropic Crops*(热带作物学报), 2001, **22**(4): 82—90(in Chinese).
- [8] FENG M S(冯茂松), ZHANG J(张 健), ZHONG Y(钟 宇). Vector diagnosis of nutrient balance of *Eucalyptus grandis* fast-growth plantation[J]. *Scientia Silvae Sinicae*(林业科学), 2006, **42**(2): 56—62(in Chinese).
- [9] LIU Y(刘 洋), ZHANG J(张 健), CHEN Y M(陈亚梅), *et al.* Effect of nitrogen and phosphorus fertilization on biomass allocation and C:N:P stoichiometric characteristics of *Eucalyptus grandis* seedlings[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*(植物生态学报), 2013, **37**(10): 933—941(in Chinese).
- [10] GRACIANO C, GUIAM? T J J, GOYA J F. Impact of nitrogen and phosphorus fertilization on drought responses in *Eucalyptus grandis* seedlings[J]. *Forest Ecology and Management*, 2005, **212**(1—3): 40—49.
- [11] SIDDIQUI M T, SHAH A H, TARIQ M A. Effects of fertilization and water stress on *Eucalyptus camaldulensis* seedlings[J]. *Journal of Tropical Forest Science*, 2008, **20**(3): 205—210.
- [12] PINKARD E A, BAILLIE C, PATEL V, *et al.* Effects of fertilising with nitrogen and phosphorus on growth and crown condition of *Eucalyptus globulus* Labill. experiencing insect defoliation[J]. *Forest Ecology and Management*, 2006, **231**(1—3): 131—137.
- [13] LÜ J L(吕金岭), WU R G(吴儒刚), FAN Y Q(范业泉), *et al.* Relationship between fertilization and drought resistance of crop under drought condition[J]. *Acta Agri culturae Jiangxi*(江西农业学报), 2012, **24**(2): 6—10(in Chinese).
- [14] ZHU W Q(朱维琴), WU L H(吴良欢), TAO Q N(陶勤南). Effects of nitrogen nutrition on soluble osmotic in rice plants in response to drought stress[J]. *Journal of Zhejiang University*(Agriculture and Life Science)(浙江大学学报·农业与生命科学版), 2003, **29**(5): 479—484(in Chinese).
- [15] ZHU W Q(朱维琴), WU L H(吴良欢), TAO Q N(陶勤南). Effects of different nitrogen nutrition on the growth and autioxidant characteristics of rice (*Oryza sativa* L.) stressed by drought[J]. *Plant Nutrition and Fertilizes Science*(植物营养与肥料学报), 2006, **12**(4): 506—510(in Chinese).
- [16] ZHANG S Q(张少岐), SHAN L(山 仑), XUE Q W(薛青武). Effect of nitrogen and phosphorous nutrition on water relation of spring wheat[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*(植物营养与肥料学报), 2000, **6**(2): 147—151(in Chinese).
- [17] JIN W W(金微微), WANG Y(王 炎), ZHANG H H(张会慧), *et al.* Effects of different nitrogen rate on the functions of flue-cured tobacco seedlings photosystem II under drought stress[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*(南京农业大学学报), 2012, **35**(4): 21—26(in Chinese).
- [18] ZHANG R H(张仁和), GUO D W(郭东伟), ZHANG X H(张兴华), *et al.* Effects of nitrogen on photosynthesis and antioxidant enzyme

- activities of maize leaf under drought stress[J]. *Journal of Maize Sciences*(玉米科学),2012,**20**(6):118—122(in Chinese).
- [19] SHARIAT A, ASSAREH M H. Effects of drought stress on pigments, prolin, soluble sugar and growth parameters on four eucalyptus species[J]. *Pajouhesh and Sazandegi*, 2008, **21**(78):139—148.
- [20] GINDABA J, ROZANOV A, NEGASH L. Response of seedlings of two Eucalyptus and three deciduous tree species from Ethiopia to severe water stress[J]. *Forest Ecology and Management*, 2004, 201:119—129.
- [21] 刘祖琪, 张石诚. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994:84—123.
- [22] ZHANG X R(张孝仁), XU X Y(徐先英). Comparative test in resistance to drought and wind erosion between 8 *Calligonum* species[J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*(干旱区资源与环境), 1992, **6**(4):55—62(in Chinese).
- [23] 熊庆娥. 植物生理学实验教程[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2003:72—73, 85—86, 126—127.
- [24] LI D X(李得孝), GUO Y X(郭月霞), YUAN H Y(员海燕), *et al.* Determine methods of chlorophyll from maize[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*(中国农学通报), 2005, **21**(6):153—155(in Chinese).
- [25] 李合生, 孙 群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000:164—165, 258—260.
- [26] LIU J(刘 俊), LÜ B(吕 波), XU L L(徐朗莱). An improved method for the determination of hydrogen peroxide in leaves[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*(生物化学与生物物理进展), 2000, **27**(5):548—551(in Chinese).
- [27] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006:211.
- [28] 孙 群, 胡景江, 王渭玲, 等. 植物生理学研究技术[M]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学出版社, 2006:172.
- [29] LI D R(李德荣), CHENG J F(程建峰), DONG W D(董闻达), *et al.* Effects of different nitrogen application rates on the yield, leaf total nitrogen and water content of *Paspalum notatum* Flüge[J]. *Acta Agrestia Sinica*(草地学报), 2005, **13**(1):63—65(in Chinese).
- [30] YU X F(于显枫), GUO T W(郭天文), ZHANG R ZH(张仁陟), *et al.* Effects of water and nitrogen interacting on gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters of spring wheat[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*(西北农业学报), 2008, **17**(3):117—123(in Chinese).
- [31] GUAN J F(关军锋), LI G M(李广敏). Effects and mechanism of fertilization under drought[J]. *Chinese Journal of Eco-agriculture*(中国生态农业学报), 2002, **10**(1):59—61(in Chinese).
- [32] PENG L X(彭立新), LI D Q(李德全), SHU H R(束怀瑞). Osmotic adjust action of plant under osmotic stress[J]. *Tianjin Agricultural Sciences*(天津农业科学), 2002, **8**(1):40—43(in Chinese).
- [33] BABITA M, MAHESWAN M, RAO L M, *et al.* Osmotic adjustment, drought tolerance and yield in castor (*Ricinus communis* L.) hybrids[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2010, **69**(3):243—249.
- [34] ZHANG SH G(张士功), LIU G D(刘国栋), LIU G L(刘更另). Plant nutrition and drought resistance of crops[J]. *Bulletin of Botany*(植物学通报), 2001, **18**(1):64—69(in Chinese).
- [35] HU J J(胡景江), WEN J L(文建雷), WANG SH Q(王姝清). Effect of soil drought stress on osmotic adjustment ability of maple leaves[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报), 2004, **24**(10):1 832—1 836(in Chinese).
- [36] BAI J, GONG C M, KANG H M, *et al.* Examination of antioxidative system's responses in the different phases of drought stress and during recovery in desert plant *Reaumuria soongorica* (Pall.) Maxim[J]. *Journal of Plant Biology*, 2009, **52**(5):417—425.
- [37] BAI J(白 娟), GONG CH M(龚春梅), WANG G(王 刚), *et al.* Antioxidative characteristics of *Reaumuria soongorica* under drought stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报), 2010, **30**(12):2 444—2 450(in Chinese).
- [38] JUBANY-MARI T, MUNNE-BOSCH S, ALEGRE L. Redox regulation of water stress responses in field-grown plants. Role of hydrogen peroxide and ascorbate[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, **48**(5):351—358.
- [39] XIE Y J(谢亚军), WANG B(王 兵), LIANG X H(梁新华), *et al.* Effect of drought stress on active oxygen metabolism and activities of protective enzymes of licorice seedlings[J]. *Journal of Agricultural Sciences*(农业科学研究), 2008, **29**(4):19—22(in Chinese).
- [40] HUANG G F(黄高峰), WANG L H(王丽慧), FANG Y H(方云花). Effects of drought stress on protective enzyme activity and membrane lipid per-oxidation of leaf in *Helianthus tuberosus* L. seedling[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*(西南农业学报), 2011, **24**(2):552—555(in Chinese).