

土壤干旱对观赏植物活性氧产生 和抗氧化酶活性的影响

陈 珺^{1,2}, 赖齐贤^{1*}, 何宝龙¹, 贺晓波¹, 曹丽平¹

(1 浙江农林大学, 浙江临安 311300; 2 贵州黔东南州农业科学研究所, 贵州兴义 562400)

摘 要: 采用盆栽试验方法, 考察自然干旱-复水处理下观赏植物红叶石楠、金叶女贞、小叶黄杨和大叶黄杨叶片超氧阴离子自由基(O_2^-)产生速率、丙二醛(MDA)含量以及保护酶(SOD、POD、CAT)活性的变化, 研究各种植物在干旱条件下的活性氧产生与酶促清除过程以及复水后的恢复情况差异, 以揭示植物在逆境条件下的适应策略。结果表明: (1) 自然干旱过程中, 红叶石楠叶片 O_2^- 生成速率呈先降低, 之后明显升高, 而小叶黄杨、金叶女贞、大叶黄杨均先升后降。(2) 干旱提高了 4 种植物的 MDA 含量, 但金叶女贞和大叶黄杨的 MDA 含量变化较小。(3) 干旱下 4 种植物叶片的 SOD 活性增强, 它们的 POD 活性变化不同, 而 CAT 活性均先升高后下降。(4) 复水后, 4 种植物 O_2^- 产生速率和 MDA 含量均降低; 小叶黄杨、金叶女贞、大叶黄杨 SOD 活性上升, 而红叶石楠 SOD 活性下降; 红叶石楠、金叶女贞、大叶黄杨 CAT 活性下降, 而小叶黄杨则上升; 红叶石楠、小叶黄杨、大叶黄杨 POD 活性下降, 而金叶女贞却上升。研究表明, 不同植物对活性氧的清除途径不同; 隶属函数法分析表明 4 种观赏植物在干旱胁迫初期的综合抗旱性表现依次为: 小叶黄杨 > 金叶女贞 > 大叶黄杨 > 红叶石楠。

关键词: 观赏植物; 自然干旱-复水; 酶促清除机制; 逆境生理; 隶属函数

中图分类号: Q945.78

文献标志码: A

Production of Activated Oxygen and Antioxidant Enzyme Activity in Ornamental Species under Drought Stress

CHEN Jun^{1,2}, LAI Qixian^{1*}, HE Baolong¹, HE Xiaobo¹, CAO Liping¹

(1 Zhejiang Agricultural and Forest University, Lin'an, Zhejiang 311300, China; 2 Guizhou Southwest Institute of Agricultural Sciences, Xingyi, Guizhou 562400, China)

Abstract: Four ornamental species were planted in pots as the experimental material. They respectively are: *Photinia fraseri*, *Buxus sinica* (Rehd. et Wils.) Cheng var. *parvifolia* M. Cheng, *Ligustrum × vicaryi* Hort. and *Euonymus japonicus* Thunb. Natural drought-rehydration treatment was carried out in greenhouses. Physiological indicators of plants under drought stress and nature watering were determined, such as superoxide anion production rate, malondialdehyde (MDA), activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) as well as hydrogen peroxide enzyme (CAT). Investigating the generation of active oxygen and its enzymatic elimination process under drought stress and its recovery after rehydration will help us understand plant adaptation strategies to adversity and provide theoretical guidance for the scientific management of ornamental plants. The results showed that: (1) Under nature drought process, O_2^- generating rates of *P. fraseri* increased after shortly declined, while *B. sinica* var. *parvifolia*, *Ligustrum × vicaryi* and *E. japonicus* declined after shortly rising. (2) MDA content increased in *P. fraseri* and *B. sinica*.

收稿日期: 2013-12-27; 修改稿收到日期: 2014-06-16

作者简介: 陈 珺 (1985—), 女, 硕士, 主要从事园艺作物栽培生理与设施园艺研究。E-mail: cjun101@163.com

* 通信作者: 赖齐贤, 博士、教授, 主要从事观赏植物的逆境生理及分子生物学方面研究。E-mail: laiqixian@zafu.edu.cn

ca var. *parvifolia* with little change in *Ligustrum* × *vicaryi* and *Euonymus japonicus*. (3) SOD activity of all the four species increases, while CAT activity declined after firstly increased. No trends were found about POD activity. (4) After rehydration, generation rates of O_2^- and MDA content of all the 4 species declined. SOD activity of *B. sinica* var. *parvifolia*, *Ligustrum* × *vicaryi* and *E. japonicus* increased while *P. fraseri* declined to control levels. CAT activity of *Ligustrum* × *vicaryi* increased, while all the other 3 species declined. As the POD activity, *B. sinica* increases with all the other 3 species declined. SOD and CAT activity promoted the elimination at first in *P. fraseri*. Different pathways for eliminating activated oxygen exist in the 4 ornamental plants. Subordinate function was used to rank their drought tolerance and the order was: *B. sinica* var. *parvifolia* > *Ligustrum* × *vicaryi* > *E. japonicus* > *P. fraseri*.

Key words: ornamental plants; natural draught-rehydration; eliminating mechanism under enzymatic promoting; stress physiology; subordinate function

目前干旱已成为植物最易遭受的逆境,严重影响着植物的正常生长发育^[1]。植物在干旱胁迫下最先受到氧化伤害^[2],体内超氧阴离子(O_2^-)、 H_2O_2 等活性氧过量生成。活性氧的大量积累造成细胞膜过氧化产物丙二醛(MDA)大量产生^[3],引发或加剧细胞膜脂质或膜脂过氧化作用,造成膜系统损伤^[4-5]。同时,植物抗氧化保护酶类发挥作用,协同清除细胞内超量生成的活性氧^[6],缓解氧化损伤,维持植物正常的生理代谢。超氧化物歧化酶(SOD)是氧化伤害的第一道防线,存在于植物叶绿体、细胞基质、线粒体、过氧化物酶体、质外体^[7]中催化体内多余的 O_2^- ^[8]歧化生成 H_2O_2 和 O_2 ^[9];过氧化物酶(POD)存在于植物液泡、细胞壁中以 H_2O_2 为底物进行氧化反应^[7],是清除 H_2O_2 的重要酶类^[10];过氧化氢酶(CAT)存在于乙醛酸循环体和线粒体等,受昼夜节律控制,清除光呼吸、乙醛酸循环过程、维管束中多余的 H_2O_2 ^[11]。前人对抗氧化酶类已做了大量工作,但不同抗氧化酶类产生的作用以及作用的时间各异,植物体内清除活性氧的主要途径与过程尚不明确。

室外观赏植物是对干旱敏感的植物种类^[12],干旱除了对生理生长有影响外,也对其观赏效果产生很大影响。对于观赏植物抗旱性的研究,有利于指导树种选择、造景配置、合理植物群落构建,避免因植物搭配不当影响植物生长发育,导致绿化效果差、景观缺失或破损,从而影响整体园林景观的观赏效果。红叶石楠、金叶女贞、小叶黄杨、大叶黄杨因其色彩丰富、鲜艳亮丽而被大量运用于园林绿化、景观塑造等方面,而抗旱性是限制其推广应用的原因之一。开展4种观赏植物抗旱性研究能减少在其运用过程中的绿化用水,节约水资源,还可以指导养护以维持景观。本试验通过自然干旱-复水试验探讨干旱条件下4种植物活性氧、抗氧化酶类的生理变化

进程,分析4种植物间清除活性氧途径的差异,为加深理解植物在逆境条件下的适应策略提供资料。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为红叶石楠(*Photinia fraseri*)、小叶黄杨(*Buxus sinica* (Rehd. et Wils.) Cheng var. *parvifolia* M. Cheng)、金叶女贞(*Ligustrum* × *vicaryi* Hort.)、大叶黄杨(*Euonymus japonicus* Thunb.) 2年生绿化工程苗。

1.2 试验设计

试验于2011年5~11月在浙江临安市浙江农林大学官塘实验大棚中进行。随机选择生长一致,无病虫害的试验材料单株种植于直径27 cm营养钵中,在避雨大棚中进行自然干旱-复水实验。设置干旱胁迫(T)与正常浇水对照(CK)2组处理,每组处理重复3次,每个重复6盆。试验开始后对照组(CK)正常浇水,干旱胁迫组(T)停止浇水,自然干旱10 d后进行复水处理。干旱胁迫期间每2 d采样1次,第5次采样后对处理组进行复水,复水第4天后采样。混合采样法取样,清晨8:00~9:00,清洁待采叶片后摘取重复组每个植株的中上部2~6片完整功能叶,混合后迅速用液氮速冻处理并存放于-80℃冰箱备用。

1.3 测定指标及方法

O_2^- 产生速率测定采用王爱国的方法^[13],含量用 $nmol \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$ 表示;MDA含量测定采用硫代巴比妥酸法^[14],含量用 $mmol \cdot g^{-1}$ 表示。酶促清除系统的酶液提取采用李合生^[15]的方法;SOD活性测定采用NBT比色法测定^[16],活性单位为 $U \cdot g^{-1}$;POD活性测定采用愈创木酚法^[17],活性单位为 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$;CAT活性采用Bailly等^[18]的方法,活性单位为 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$ 。

1.4 数据分析

运用 Excel 2007 进行数据整理与绘图;采用 SPSS 17.0 进行配对样本 t 检验;用隶属函数法对 4 种观赏植物抗旱能力进行综合评定。

隶属函数的基本计算方法为^[19]: $R(x_j) = \frac{X_j - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}}$;如果指标与抗旱性呈负相关,则为: $R(x_j) = 1 - \frac{X_j - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}}$;式中, X_j 为某指标处理组测定值减去其对照组测定值; $X_{\max}$ 和 $X_{\min}$ 分别为所有参试材料某一指标 X_j 的最小值和最大值。将抗旱隶属函数值进行累加,并求其平均值,再根据该平均值大小判断抗旱性强弱。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对 4 种观赏植物超氧阴离子产生速率的影响

由表 1 可知,在干旱胁迫处理下,4 种观赏植物 O_2^- 产生速率随胁迫时间的变化趋势相同,都表现为先降后升再降。与对照(CK)相比,4 种植物的 O_2^- 产生速率的最大增幅表现为红叶石楠>金叶女贞>小叶黄杨>大叶黄杨,且红叶石楠、金叶女贞、大叶黄杨均在第 8 天增幅最大,小叶黄杨延后 2 d。红叶石楠处理组 O_2^- 产生速率在胁迫过程中始终极显著高于对照($P<0.01$),在第 8 天比对照高出 608.25%,于第 10 天达到最大值;小叶黄杨处理组 O_2^- 产生速率在第 2、4、8、10 天均极显著高于对照;金叶女贞的 O_2^- 产生速率总体显著或极显著高于对照,其在第 8 天的最高增幅极显著高出对照 461.25%;

大叶黄杨 O_2^- 产生速率除第 2 天外也始终高于对照,但在第 6、10 天差异未达到显著水平($P>0.05$),在干旱胁迫第 8 天极显著高出对照 16.82%。复水后,红叶石楠和金叶女贞 O_2^- 速率均有所下降,但仍极显著和显著高于对照,小叶黄杨、大叶黄杨 O_2^- 速率分别有所升高和下降,但均极显著低于对照。以上结果说明干旱加速了 4 种植物 O_2^- 的产生,各植物的变化幅度和时间节点不同,红叶石楠对干旱更加敏感。

2.2 干旱胁迫对植物膜代谢产物丙二醛含量的影响

表 2 显示:4 种植物处理组的 MDA 含量变化趋势都与对照一致,但植物间变化趋势各不相同。其中,小叶黄杨与大叶黄杨的 MDA 含量最大增幅出现在自然干旱胁迫第 8 天,红叶石楠与金叶女贞比前者延后 2 d,它们的最大增幅依次为:53.9%、228.17%、161.84%、110.83%,均显著高于对照($P<0.05$),并表现为大叶黄杨>红叶石楠>金叶女贞>小叶黄杨。红叶石楠处理组 MDA 含量随胁迫时间呈下降-升高-下降-升高的趋势,但含量相对平稳,其在胁迫第 2、4、6 天均极显著高于对照($P<0.01$);小叶黄杨处理组 MDA 含量总体上升,于第 10 天时含量达到最高值($0.1061 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)并极显著高于对照($P<0.01$);金叶女贞处理组 MDA 含量变化趋势表现为下降-上升-下降,且除第 6 天外均显著或者极显著高于对照;大叶黄杨处理组 MDA 含量的变化趋势为下降-上升-下降-上升,且在胁迫第 6~10 天显著或者极显著高于对照。另外,处理组红叶石楠和金叶女贞的 MDA 含量在第 2 天就比对照极显著增加,而小叶黄杨和大叶黄杨

表 1 4 种植物处理组与对照组的超氧阴离子产生速率

Table 1 Comparison of superoxide anion production rate between drought treatment and control/($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)

树种 Species	处理 Treatment	自然干旱(均值±标准差) Natural drought(Mean±SD)					复水 Rehydration
		2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	
红叶石楠 <i>P. fraseri</i>	CK	355.324±1.602A	87.400±0.133A	120.181±1.023A	40.052±0.393A	55.999±0.333A	38.484±1.081A
	T	418.809±1.458B	387.400±3.062B	298.467±1.102B	283.667±3.365B	371.133±0.115B	278.778±0.139B
小叶黄杨 <i>B. sinica</i> var. <i>parvifolia</i>	CK	105.156±0.971B	53.089±0.713A	132.427±0.081a	69.648±3.294A	9.183±0.249A	55.362±0.310B
	T	102.844±0.641A	59.279±0.109B	135.699±1.782a	80.289±1.977B	12.600±0.306B	18.464±0.438A
金叶女贞 <i>Ligustrum</i> × <i>vicaryi</i>	CK	131.133±1.035A	90.600±0.231a	75.728±0.741A	32.146±0.116A	40.633±0.033A	32.954±0.658a
	T	143.333±0.835B	103.467±2.639b	100.193±1.248B	179.267±0.100B	50.647±0.205B	40.072±1.345b
大叶黄杨 <i>E. japonicus</i>	CK	143.722±0.562b	66.422±0.719A	100.691±2.997a	23.702±0.061A	40.535±0.363a	18.337±0.205B
	T	138.456±2.618a	75.789±0.069B	105.534±1.041a	27.617±0.104B	40.585±0.462a	12.266±0.200A

注:CK 为正常浇水对照;T 为自然干旱处理;同种植物同期不同小写和大写字母分别表示处理与对照间在 0.05 和 0.01 水平存在显著性差异($P<0.05$);下同。

Note:CK is ordinary control, while T stands for natural drought treatment. The different lowercase letters and capital letters in the same species mean significant difference between treatment and control at 0.05 and 0.01 level, respectively. The same as below.

延后到第 6 天才比对照组极显著增加。复水后,处理组红叶石楠、大叶黄杨的 MDA 含量降低但仍高于对照,而小叶黄杨与金叶女贞 MDA 含量均极显著低于对照。以上结果说明干旱下 4 种植物 MDA 含量呈动态变化,没有随干旱加剧表现出规律性的累积现象,且干旱对小叶黄杨的膜伤害最小。

2.3 干旱胁迫对 4 种植物抗氧化酶活性的影响

2.3.1 SOD 活性 干旱胁迫下,4 种植物处理组与对照组叶片 SOD 活性的变化趋势较为一致,都总体表现为先升后降(表 3)。其中,红叶石楠、小叶黄杨和大叶黄杨叶片 SOD 活性均在干旱胁迫第 6 天达到最大峰值,红叶石楠极显著($P<0.01$)高于对照 74.16%,小叶黄杨显著高于($P<0.05$)对照 14.89%;金叶女贞叶片延后 2 d SOD 活性达到最高值($145.28\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$),比同期对照高出 34.60%,但无显著性差异。小叶黄杨、金叶女贞和大叶黄杨的 SOD 活性均在胁迫第 10 天时下降到最低值,而同期红叶石楠却表现为上升,但上升幅度较小。复水后,小叶黄杨、金叶女贞和大叶黄杨的 SOD 活性均有所升高,其中小叶黄杨仍显著低于($P<0.05$)对照 18.79%,金叶女贞 SOD 活性($137.00\text{ U}\cdot$

g^{-1})比对照极显著升高了 32.66%($P<0.01$);同期红叶石楠 SOD 活性下降到接近对照水平。以上结果说明干旱下 4 种植物的 SOD 被激活,但在后期 SOD 活性均受到了不同程度的抑制。

2.3.2 CAT 活性 CAT 是清除植物体内过氧化氢的重要酶类。从表 4 可看出,4 种植物叶片 CAT 活性变化总趋势一致,都表现为升高-降低-升高。其中,红叶石楠处理组在第 2 天出现最大增幅且极显著高出对照 666.81%($P<0.01$)。红叶石楠、金叶女贞、大叶黄杨均在第 4 天达到最大活性值,小叶黄杨延后 4 d 升高到最大值;同时小叶黄杨、大叶黄杨出现最大增幅且分别显著高于对照 91.82%、72.67%($P<0.05$)。金叶女贞于第 6 天达到最大增幅且显著高于对照 331.97%($P<0.05$),随后活性下降,到第 10 天 CAT 活性又上升。复水后,红叶石楠、金叶女贞、大叶黄杨的 CAT 活性有所下降,仅小叶黄杨活性上升,但 4 种植物活性值均高于同期对照,且小叶黄杨、大叶黄杨与对照差异达到极显著水平($P<0.01$)。以上结果说明干旱下,4 种植物 CAT 活性变化的幅度和时间节点存在差异。

2.3.3 POD 活性 干旱处理下,仅小叶黄杨表现

表 2 4 种植物处理组与对照组的丙二醛含量

Table 2 Comparison of MDA content between drought treatment and control/(mmol · g⁻¹)

树种 Species	处理 Treatment	自然干旱(均值±标准差) Natural drought(Mean±SD)					复水 Rehydration
		2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	
红叶石楠 <i>P. fraseri</i>	CK	0.088±0.001A	0.045±0.003A	0.067±0.007A	0.052±0.008a	0.039±0.009a	0.032±0.003A
	T	0.098±0.002B	0.095±0.002B	0.102±0.002B	0.090±0.010a	0.103±0.004b	0.082±0.003B
小叶黄杨 <i>B. sinica</i> var. <i>parvifolia</i>	CK	0.044±0.003b	0.036±0.004a	0.040±0.100A	0.040±0.001a	0.086±0.003A	0.058±0.005B
	T	0.042±0.002a	0.048±0.008a	0.055±0.001B	0.058±0.008b	0.106±0.002B	0.014±0.003A
金叶女贞 <i>Ligustrum</i> × <i>vicaryi</i>	CK	0.087±0.002A	0.043±0.008a	0.104±0.011a	0.051±0.001A	0.015±0.003a	0.109±0.007B
	T	0.134±0.001B	0.072±0.001b	0.112±0.002a	0.066±0.001B	0.032±0.100b	0.066±0.003A
大叶黄杨 <i>E. japonicus</i>	CK	0.115±0.006a	0.076±0.003a	0.082±0.001A	0.022±0.006a	0.092±0.002a	0.066±0.001a
	T	0.113±0.001a	0.079±0.002a	0.143±0.008B	0.073±0.010b	0.110±0.002b	0.073±0.004a

表 3 4 种植物处理组与对照组的超氧化物歧化酶活性

Table 3 Comparison of SOD activity between drought treatment and control/(U · g⁻¹)

树种 Species	处理 Treatment	自然干旱(均值±标准差) Natural drought(Mean±SD)					复水 Rehydration
		2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	
红叶石楠 <i>P. fraseri</i>	CK	50.692±1.152a	55.626±0.366A	65.694±2.375A	54.227±3.069a	50.414±0.555A	52.746±0.172a
	T	52.825±0.265a	72.657±2.282B	114.411±1.953B	67.915±3.865b	69.628±1.963B	54.329±2.466a
小叶黄杨 <i>B. sinica</i> var. <i>parvifolia</i>	CK	45.746±0.845a	59.366±0.567A	69.385±0.100a	64.117±0.781a	40.588±3.162a	51.957±1.565b
	T	44.967±0.188a	63.272±0.870B	79.717±1.984b	66.672±1.501a	38.118±2.434a	42.195±3.428a
金叶女贞 <i>Ligustrum</i> × <i>vicaryi</i>	CK	76.047±1.725a	91.538±1.165a	105.186±0.660a	107.946±1.148a	60.427±1.953a	103.274±0.585A
	T	82.359±0.591b	93.780±0.311a	122.285±5.258b	145.286±15.072a	66.353±2.923a	137.005±0.857B
大叶黄杨 <i>E. japonicus</i>	CK	105.052±0.102a	131.356±1.161a	157.175±6.898a	144.731±1.243a	83.965±1.168B	150.028±8.619a
	T	106.351±0.572a	135.182±0.604b	161.652±6.561a	152.599±2.306b	77.204±0.713A	131.541±2.452a

为一直上升的趋势且是 4 种植物中最高的,而红叶石楠的活性最低;干旱处理初期,各种植物 POD 活性大小顺序为:小叶黄杨>大叶黄杨>金叶女贞>红叶石楠(表 5)。其中,红叶石楠处理组 POD 活性随处理时间呈先升后降的趋势并始终高于同期对照,其活性最大值及最大增幅均出现在第 6 天,与对照相比活性极显著增高了 750.37%($P<0.01$);小叶黄杨处理组 POD 活性最大值出现在第 8 天显著高于对照($P<0.05$),最大增幅出现在第 10 天且与对照相比显著增高了 48.51%;金叶女贞处理组

POD 活性变化表现为下降-升高-下降-升高的趋势,其活性最大值、最大增幅与红叶石楠一样同在第 6 天,与对照相比极显著地增高了 224.05%($P<0.01$);大叶黄杨处理组的 POD 活性变化为先下降后升高,于第 6 天下降到最低点,此时极显著低于对照水平 58.53%,随后开始上升,于第 10 天达到最高值。复水后,各植物 POD 活性大小表现为小叶黄杨>金叶女贞>大叶黄杨>红叶石楠;小叶黄杨复水后 POD 活性有所下降但仍显著高于对照,金叶女贞则急剧提高且极显著高于对照($P<0.01$),红叶

表 4 4 种植物处理组与对照组的过氧化氢酶活性

Table 4 Comparison of CAT activity between drought treatment and control/(U · g⁻¹ · min⁻¹)

树种 Species	处理 Treatment	自然干旱(均值±标准差) Natural drought(Mean±SD)					复水 Rehydration
		2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	
红叶石楠 <i>P. fraseri</i>	CK	0.022±0.001A	0.216±0.100a	0.103±0.059a	0.150±0.001a	0.158±0.038a	0.132±0.024a
	T	0.171±0.022B	0.237±0.045a	0.138±0.005a	0.184±0.008b	0.193±0.020a	0.161±0.009a
小叶黄杨 <i>B. sinica</i> var. <i>parvifolia</i>	CK	0.142±0.096a	0.090±0.008a	0.093±0.015a	1.342±0.055a	0.525±0.018a	0.667±0.022A
	T	0.065±0.004a	0.172±0.014b	0.164±0.115a	1.602±0.440a	0.649±0.012b	0.826±0.018B
金叶女贞 <i>Ligustrum</i> × <i>vicaryi</i>	CK	0.977±0.862a	0.376±0.080a	0.102±0.022A	0.175±0.020a	0.226±0.035a	0.164±0.039a
	T	0.073±0.008a	0.561±0.083a	0.442±0.023B	0.286±0.002b	0.429±0.015b	0.350±0.043a
大叶黄杨 <i>E. japonicus</i>	CK	0.346±0.175a	0.625±0.068a	0.338±0.020a	0.476±0.088a	0.454±0.044a	0.439±0.021A
	T	0.433±0.034a	1.068±0.141b	0.363±0.062a	0.582±0.068a	0.663±0.031b	0.540±0.035B

表 5 4 种植物处理组与对照组的过氧化物酶活性

Table 5 Comparison of POD activity between drought treatment and control/(U · g⁻¹ · min⁻¹)

树种 Species	处理 Treatment	自然干旱(均值±标准差) Natural drought(Mean±SD)					复水 Rehydration
		2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	
红叶石楠 <i>P. fraseri</i>	CK	0.161±0.007a	0.174±0.019a	0.124±0.018A	0.326±0.028a	0.215±0.006a	0.213±0.053a
	T	0.166±0.040a	0.237±0.051a	1.052±0.097B	0.416±0.012b	0.251±0.021a	0.246±0.001a
小叶黄杨 <i>B. sinica</i> var. <i>parvifolia</i>	CK	12.501±0.138a	10.064±1.570a	12.798±0.468A	13.693±1.558a	14.520±0.986a	14.491±0.837a
	T	12.038±0.386a	13.133±0.773b	17.543±0.018B	18.025±0.027b	21.564±1.280b	19.377±0.215b
金叶女贞 <i>Ligustrum</i> × <i>vicaryi</i>	CK	2.914±0.208a	1.054±0.135A	3.318±0.790A	2.423±0.598a	4.937±0.030a	6.758±0.086A
	T	2.842±0.142a	2.670±0.175B	10.753±0.156B	5.516±0.099b	5.479±0.131b	11.612±0.191B
大叶黄杨 <i>E. japonicus</i>	CK	6.603±0.411a	3.926±0.201a	8.533±0.131B	7.738±0.155a	7.244±0.950a	7.058±0.391a
	T	6.644±0.156a	4.253±0.378a	3.539±0.463A	7.773±0.295a	8.628±0.275a	6.691±0.238a

表 6 4 种观赏植物生理指标的平均隶属函数值

Table 6 Synthetically membership function value of four ornamental plants

评价指标 Evaluation index	红叶石楠 <i>P. fraseri</i>	小叶黄杨 <i>B. sinica</i> var. <i>parvifolia</i>	金叶女贞 <i>Ligustrum</i> × <i>vicaryi</i>	大叶黄杨 <i>E. japonicus</i>
超氧阴离子产生速率 O ₂ ⁻ production rate	0.295 1	0.963 5	0.848 7	0.968 7
丙二醛含量 MDA content	0.412 4	0.749 2	0.618 6	0.577 4
超氧化物歧化酶活性 SOD activity	0.437 5	0.163 0	0.337 3	0.154 1
过氧化氢酶活性 CAT activity	0.707 7	0.723 4	0.678 9	0.758 4
过氧化物酶活性 POD activity	0.392 1	0.627 7	0.545 9	0.334 1
隶属函数均值 Subordinate function values	0.449 0	0.645 4	0.605 9	0.558 5
排序 Orders	4	1	2	3

石楠没有明显变化且与对照相近,大叶黄杨则下降到低于对照水平。以上结果表明 4 种植物 POD 活性基数的差异很大,且随胁迫时间的变化规律各不相同。

2.4 4 种植物抗旱性综合评价

植物的抗旱性是一个综合反应,利用模糊数学的隶属函数法对 4 种植物短期干旱的抗旱性进行综合评价,用每种植物的各项指标隶属度的平均值作为植物抗旱能力综合鉴定标准,该值越大,抗旱性越强^[20]。结果如表 6 所示:红叶石楠、小叶黄杨、金叶女贞和大叶黄杨的隶属函数平均值分别为 0.449 0、0.645 4、0.605 9 和 0.558 5,干旱初期 4 种植物抗旱能力从大到小的顺序为:小叶黄杨>金叶女贞>大叶黄杨>红叶石楠。

3 讨 论

植物能够综合协调自身的生理代谢以应对环境变化,它对环境胁迫的适应方式分为避逆性、抗逆性和耐逆性^[21-22]。其产生原因有三:植物的遗传规律和环境因子共同影响植物的抗旱性表现;在不同时期、不同地点其抗旱性都会发生变化;不同植物的抗旱性也会表现出差异。植物在干旱胁迫下,各保护酶同时或不同时地发挥作用,根据伤害部位、伤害类型启动调节物质来缓解氧化伤害。正常情况下,植物体内的活性氧含量不同,诱导 SOD 活性的底物浓度也各不相同,氧化伤害的部位和活性氧产生途径的差异导致清除途径也不完全相同。

植物体内活性氧清除系统的变化是植物对环境响应的综合体现。干旱胁迫会加剧氧的还原,形成氧化胁迫。超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)是氧化胁迫下最先生成的活性氧之一,是 H_2O_2 的主要来源^[23]。干旱胁迫将加剧植物体内活性氧的积累,超氧阴离子产生速率升高产生的大量 $O_2^{\cdot-}$,易穿过细胞膜与细胞质内的物质发生反应作为 H_2O_2 的前体及主要来源,加剧细胞氧化损伤^[24]。而细胞膜氧化的产物 MDA 含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度^[25]。本试验 4 种植物在干旱胁迫下保护酶活性增强,防御性提高,其中红叶石楠对于干旱响应快速,在干旱初期 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率大幅度上升,且整个干旱胁迫期均与对照呈极显著差异($P<0.01$),同时启动了受底物($O_2^{\cdot-}$)浓度影响的诱导酶 SOD^[26],使 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率在第 2 天上升后就大幅下降并控制在一定范围,表明红叶石楠 SOD 活性的启动浓度高(418.809 $nmol \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$)、清除能力强;第 2 天 CAT 活

性极显著高于对照,POD 活性变化较小,说明生成的 H_2O_2 应主要来自光呼吸或乙醛酸循环体;在高浓度 $O_2^{\cdot-}$ 条件下,红叶石楠 MDA 含量变化幅度较小,膜伤害无大幅度增加,说明除了保护酶系统外,非酶促保护系统可能也发挥了作用;从高活性氧浓度和 MDA 含量变化来看,红叶石楠耐受性强,对于干旱的适应更加偏向于耐旱型植物。小叶黄杨 SOD 表现出能同步清除 $O_2^{\cdot-}$ 的现象;MDA 含量变化与 POD、CAT 活性变化趋势大致相同,而 POD 和 CAT 均对 H_2O_2 具有清除作用,因此认为导致小叶黄杨受到膜伤害的活性氧主要为 H_2O_2 ;依据小叶黄杨较高的保护酶活性和较低的 MDA 含量来看,其具有很好的抗旱和复水后调节能力。金叶女贞 SOD 活性大小受 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率影响,与 POD、CAT 协同清除活性氧,缓解干旱带来的氧化损伤。大叶黄杨的 MDA 含量与 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率变化趋势同步,认为此时的膜氧化伤害主要来自超氧阴离子;根据 MDA 含量变化可以看出 SOD、CAT、POD 分别在各时间节点发挥作用,但在干旱后期大叶黄杨过高浓度的 $O_2^{\cdot-}$ 可能已抑制了 SOD 活性,SOD 清除能力减弱;已有报道指出,干旱胁迫下玉米 POD 主要清除 SOD 的歧化产物(H_2O_2),CAT 是 POD 的后备^[27],大叶黄杨在干旱下过多的 $O_2^{\cdot-}$ 转化为 H_2O_2 ,激发 CAT、POD 活性;CAT 活性升高幅度大于 POD,以进一步增强了对 H_2O_2 的清除力度。

根据模糊隶属函数对 4 种观赏植物抗旱性的综合评价结果表明:小叶黄杨抗旱性最强,其次为金叶女贞和大叶黄杨,红叶石楠的抗旱性最弱。4 种观赏植物中,正常供水的红叶石楠活性氧的基数水平较高,对活性氧的忍耐力也相对提高,可能是红叶石楠对于干旱胁迫的适应方式更侧重于耐逆性而不表现出较强的抗旱性。金叶女贞在干旱初期抗旱性较强,SOD 能快速反应同步清除 $O_2^{\cdot-}$,从而减少进一步的伤害,同时其叶片蜡质层较薄从空气中获取水分的能力较高也能在短期缓解干旱胁迫程度。

此外,植物对于干旱的适应性可分为几个阶段。在干旱初期,植物通过抗旱性能积极地调动体内的抗氧化机制和气孔调节等清除多余的活性氧及有害物质解除干旱带来的损伤,但耐逆性植物不会表现出极强的抗性。随着干旱程度的加剧,植物的抗旱性减弱,进入到耐受阶段以维持干旱与生长的动态平衡,此时植物的抗氧化机制等仍发挥作用,但已不能表现出明显抗性。随着干旱持续,植物体内代谢紊乱,不能进行正常的生理代谢活动,活性氧、丙二

醛等有害物质的不断积累将导致植物被动生存,直到超过某一阈值导致植物死亡,该阈值可作为植物的最迟复水点。在最迟复水点之后复水,不会缓解

植物干旱对植物的伤害。植物从抗旱性到耐旱性的拐点是植物浇水的最佳时期,了解植物在干旱条件下各时期的转变及节点可为精准灌溉节水提供参考。

参考文献:

- [1] SHAN CH J(单长卷), HAN R L(韩蕊莲), LIANG Z S(梁宗锁). Antioxidant properties of four native grasses in Loess Plateau under drought stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*(生态学报), 2012, **32**(4): 1 174—1 184(in Chinese).
- [2] BARRY H, JOHN M C G. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease[J]. *Biochem. J.*, 1984, **219**(1): 1—14.
- [3] MA X J(马旭俊), ZHU D H(朱大海). Functional roles of the plant superoxide dismutase[J]. *Hereditas*(遗传), 2003, **25**(2): 225—231(in Chinese).
- [4] SALIN M L. Toxic oxygen species and protective system of the chloroplast[J]. *Physiologia Plantarum*, 1987, **72**: 681—689.
- [5] ZHANG J, KIRKHAM M B. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid and propyl gallate[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1996, **149**: 489—493.
- [6] LYUDMILA S S, KLIMENTINA D, TATYANA P, *et al.* Antioxidative protection and proteolytic activity in tolerant and sensitive wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties subjected to long-term field drought[J]. *Plant Growth Regulator*, 2009, **58**: 107—117.
- [7] INES C, NATALIA C, TEREZINHA de F F, ANA C C. Differential responses between mature and young leaves of sunflower plants to oxidative stress caused by water deficit[J]. *Ciência Rural*, Santa Maria, 2010, **40**(6): 1 290—1 294.
- [8] ZHAO L Y(赵丽英), DENG X P(邓西平), SHAN L(山 仑). The response mechanism of active oxygen species removing system to drought stress[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2005, **25**(2): 413—418(in Chinese).
- [9] TONG F D(童富淡), HU J SH(胡家恕), CHEN J H(陈进红), *et al.* Effect of the different methods of rice nursery on activity of superoxide dismutase, ion leakage of rice leaves and root growing power[J]. *Journal of Zhejiang University*(Agriculture and Life Sciences)(浙江大学学报·农业与生命科学版), 1997, **23**(6): 682—686(in Chinese).
- [10] ZHANG Q(张 强), LI J L(李建龙), YAN J(晏 箭), *et al.* Effects of temperature stress on the enzymes related to metabolism of active oxygen in subtropical turf grasses[J]. *Pratacultural Science*(草业科学), 2004, **21**(10): 83—86(in Chinese).
- [11] HILDE W, CHRISTIAN L, CHRISTINE T, *et al.* Differential expression of catalase genes in *Nicotiana plumbaginifolia* (L.) [J]. *Plant Biology*, 1994, **1**(91): 10 450—10 454.
- [12] MORALES A C G, PINO B M T, POZOC del A. Phenological and physiological responses to drought stress and subsequent rehydration cycles in two raspberry cultivars[J]. *Scientia Horticulturae*, 2013, **162**: 234—241.
- [13] WANG A G(王爱国), LUO G H(罗广华). Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 1990, **26**(6): 55—57(in Chinese).
- [14] ZHAO SH J(赵世杰), XU CH CH(许长城), ZOU Q(邹 琦), *et al.* Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 1994, **30**(3): 207—210(in Chinese).
- [15] 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: 164—169.
- [16] BEYER W F, FRIDSOVICH I. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of changes in conditions[J]. *Analytical Biochemistry*, 1987, **161**: 559—566.
- [17] 华东师范大学生物系植物生理教研组. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1980: 143—147.
- [18] BAILLY C, BINAMAR A, CORBINEAU F. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging[J]. *Physiologia Plantarum*, 1996, **97**(1): 104—110.
- [19] LI F W(李复伟), CHEN CH(陈 超), YIN Q(尹 琼), *et al.* Physiological and biochemical characteristics of four shrubs under soil drought stress[J]. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*(山地农业生物学报), 2012, **31**(4): 317—328(in Chinese).
- [20] LIU H R(刘红茹), FENG Y ZH(冯永忠), WANG D X(王得祥), *et al.* Drought resistance evaluation and leaf structures of ten species of broad-leaved ornamental plants in Yan'an urban area[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2012, **32**(10): 2 053—2 060(in Chinese).
- [21] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 389—430.
- [22] 李 博, 杨 持, 林 鹏. 生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 15—41.
- [23] DAT J, VANDENABEELE S, VRANOVA E, *et al.* Dual action of the action oxygen species during plant stress responses[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2000, **57**(5): 779—795.
- [24] SLESAL I, LIBIK M, KARPINSKA B, *et al.* The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signaling in response to environmental stresses[J]. *Acta Biochim.*, 2007, **54**: 39—50.
- [25] WANG S(王 松), CAI Y F(蔡艳飞), LI ZH L(李枝林), *et al.* Effect of different light intensities on photosynthetic characteristics of *Rhododendron* 'Furnivall's daughter' [J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2012, **32**(10): 2 095—2 101(in Chinese).
- [26] LI W(李 威), ZHAO Y S(赵雨森), ZHOU ZH Q(周志强), *et al.* Effects of drought stress and rehydration on chlorophyll fluorescence characteristics and antioxidant enzyme activities in leaves of *Taxus cuspidata* [J]. *Journal of Desert Research*(中国沙漠), 2012, **1**(32): 113—117(in Chinese).
- [27] SHEN X Y(沈秀瑛), XU SH CH(徐世昌), DAI J Y(戴俊英). Effects of drought on the activities of SOD, CAT and acid phosphatase in maize leaves[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯), 1995, **31**(3): 183—186(in Chinese).