

# 干旱对毛白杨不同品种幼苗生长 和抗氧化系统的影响

吕艳伟,王光全,孟庆杰,张文会

(聊城大学 生命科学学院,山东 聊城 252059)

**摘要:**为了研究干旱对毛白杨不同品种幼苗的生理生化影响及品种间的差异,以毛白杨的2个品种鲁毛50和易县雌株幼苗为试验材料,研究干旱胁迫对其生长和抗氧化系统的影响以及品种间差异。结果表明:与水分条件良好相比,干旱胁迫显著抑制了2个毛白杨品种株高和基茎的生长速率。2个品种相比,干旱胁迫对鲁毛50的抑制幅度小于易县雌株。干旱胁迫对2个毛白杨品种的抗氧化系统的影响明显不同:干旱胁迫显著累积了易县雌株的丙二醛和过氧化氢含量,同时显著提高了超氧化物歧化酶活性及抗坏血酸过氧化物酶活性水平。但对鲁毛50而言,干旱胁迫对丙二醛、过氧化氢以及2种抗氧化酶几乎没有影响。因此,干旱对2个品种影响不同,鲁毛50比易县雌株表现出更强的抗旱性。

**关键词:**毛白杨;干旱;抗氧化系统;品种差异

**中图分类号:**S792.117

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2013)06-0060-04

目前,随着全球气温变化的加剧,特别是温室效应引起的气温上升,不少地区的蒸发进一步提高,水分短缺明显。因此干旱日趋成为影响植物存活和生长的主要限制因子<sup>[1]</sup>。据统计,全国干旱、半干旱地区面积占国土总面积的52.5%,在这些地区水分供应不足,森林植被稀疏,生态环境恶化,水土流失严重,自然灾害频繁。在造成作物减产的所有胁迫中,干旱的贡献位居首位,相当于其它所有胁迫之和。黄河故道区是由于黄河主流迁徙游动而遗留下来的一个自然环境比较独特的地理单元。这里土壤瘠薄,常年干旱缺水,荒漠化盐碱化情况日益加剧。这种情况势必会影响该区植物的生理生态特性,进而对植物的种群、群落、生态系统乃至整个生物圈产生巨大影响。作为该区主要优势树种毛白杨,研究其对于干旱和盐碱化胁迫的敏感性与品种间的策略性差异,可为该区林业生产、森林经营与管理、环境改良以及其它木本植物的适应性研究提供理论依据。

干旱胁迫能够抑制光合作用并对细胞膜产生伤害,从而改变植物的形态和生物量的积累<sup>[2]</sup>。植物对于干旱胁迫的敏感性在不同的物种、变种,不同发育阶段和不同的实验条件下都是不一样的。为适应干旱胁迫,植物自身发展了一系列适应机

制,包括积累渗透调节物质如脯氨酸、可溶性蛋白质等,产生抗氧化物质清除氧自由基等<sup>[3-4]</sup>。过去关于植物对于干旱胁迫响应的广泛研究开展较多,但研究对象主要集中在农作物或一年生草本植物上,对木本植物的研究很少。与农作物和草本植物不同的是,木本植物大都是多年生植物,对逆境胁迫的响应具有累积性。因此,尽管森林为全球提供了2/3的净初级生产量,但是干旱胁迫对树木研究却相对较少。

毛白杨(*Populus tomentosa* Carr.)是我国特有的乡土树种,具有生长速度快,材质优良,适应性强等特性,一直是黄河流域及华北平原地区用材林、农田林网和城乡绿化树种之一<sup>[6]</sup>。该研究选取了毛白杨的2个不同品种的当年生幼苗为试验材料,采用植物生态学、生理学和生物化学等学科交叉的综合研究方法,研究了干旱对毛白杨的生长和抗氧化系统的影响及品种间差异。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以毛白杨的2个不同品种(鲁毛50和易县雌株)的当年生幼苗为试验材料。

### 1.2 方法

1.2.1 材料培养 2011年3月进行枝条扦插,扦插枝条由山东省冠县毛白杨林场提供。待枝条长势稳定后,从中选择健康、无病虫害、高度基本一致的扦插苗移栽到装满匀质土壤的10 L塑料盆中。移栽前每盆施10 g缓效肥。试验在聊城

收稿日期:2013-02-07

基金项目:山东省高等学校科技计划资助项目(J110LC23)

第一作者简介:吕艳伟(1982-),女,山东省莱芜市人,博士,副教授,从事植物胁迫生理研究。E-mail:lvyanwei@luc.edu.cn。

大学生命科学学院试验基地温室大棚内进行。在枝条上的幼叶展开前开始干旱处理,试验中每个扦插苗均保留1个芽。温室大棚内白天温度范围为11~31℃,夜间温度范围为10~16℃,相对湿度为40%~80%。

1.2.2 干旱处理 采用2因素的完全随机设计:2品种(鲁毛50和易县雌株)×2水分梯度(田间持水量的100%和50%)。每处理20盆,每盆1株,为了防止土壤水分的蒸发或渗漏,用塑料袋将盆中土壤密封,其上端在苗木的基茎处系紧。另外,设置10个盆为对照,即以木棒代替树苗栽在盆中,并用塑料袋密封,隔天称重浇水。处理过程中用称重法控制盆中土壤湿度。处理时间从2011年5月初到9月底。各种生理生化指标的测定在8月中旬进行。每品种每处理中随机选取5株,每株选取从上到下的第3至第5片完全展开的叶作为生理生化指标的测定样品。

1.2.3 测定指标及方法 该试验需要测定5个指标。

(1)生长速率的测定。试验处理开始后每隔10 d测定植株的高度和基茎,记录植株的生长变化。

(2)丙二醛(MDA)含量的测定。叶片测定样品约0.3 g,在6 mL 10%三氯乙酸中研磨,然后在12 000 g离心10 min。取上清液2 mL,再加入2 mL 0.6%硫代巴比妥酸(TBA),充分反应后将装有反应液的试管沸水浴30 min,然后在冰浴中迅速冷却。然后在10 000 g下离心10 min,取上清液用分光光度计( Unicam UV-330, USA)测定其在440、532及600 nm的吸光度。MDA含量计算参考<sup>[7]</sup>。

(3)H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的测定。利用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>与钛离子形成有色的[TiO(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)]<sup>2+</sup>配合离子(特异吸收峰在410 nm)的原理对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量进行测定。称取0.3 g叶片于6 mL 5%三氯乙酸中研磨成匀浆。定容至10 mL。提取液在10 000 g室温下离心10 min。取上清液1 mL加入0.1 mL 20% TiCl<sub>4</sub>的浓盐酸液,再加入0.2 mL浓氨水。5 000 g,室温下离心10 min。沉淀用3 mL 1 mmol·L<sup>-1</sup>硫酸充分溶解后,置紫外可见分光光度计上测定410 nm处吸光度值。用标准过氧化氢溶液(0~1 mmol·L<sup>-1</sup>)按以上方法<sup>[8-9]</sup>做标准曲线。

(4)抗氧化系统的研究。超氧化物歧化酶(SOD, EC 1.15.1.1)活性测定<sup>[10]</sup>:取约0.3 g材料于3 mL提取缓冲溶液[50 mmol·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>缓冲液, pH7.0, 含1 mmol·L<sup>-1</sup>

EDTA, 0.05% (V/V) Triton X-100, 2% (W/V) 不溶性聚乙烯吡咯烷酮]中研磨成匀浆。经过10 000 g离心20 min,取上清液进行酶活性测定。利用SOD抑制氮蓝四唑(NBT)在光下被O<sub>2</sub>还原的反应。反应液为含13 mmol·L<sup>-1</sup>甲硫氨酸, 75 μmol·L<sup>-1</sup>氯化硝基四氮唑蓝, 16.7 μmol·L<sup>-1</sup>核黄素, 0.1 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA的50 mmol·L<sup>-1</sup>磷酸缓冲液(pH7.8)。在波长560 nm处,检测吸光度值。SOD活性以每毫克蛋白抑制NBT光化还原的50%为一个酶活性单位(U)。

(5)抗坏血酸过氧化物酶(APX, EC 1.11.1.11)活性测定。利用APX在H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>存在的条件下使抗坏血酸量减少的原理测定酶活性。取约含80 μL的酶提取液加入3 mL酶反应液中(50 mmol·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>缓冲溶液, pH7.0, 含1 mmol·L<sup>-1</sup>抗坏血酸和2.5 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)中,充分混匀。于紫外-可见分光光度计上读取290 nm处吸光度值在2 min内每2 s中的变化。计算每分钟内每毫克蛋白转化的抗坏血酸量(摩尔消光系数为2.8 mmol·L<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>),用以表示酶活性的大小<sup>[11]</sup>。

1.2.4 数据处理 试验数据采用SPSS 11.5进行单因素方差分析,若处理间差异显著,则利用Duncan's 进行处理间的多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫对毛白杨不同品种幼苗生长速率的影响

干旱胁迫对毛白杨的2个品种鲁毛50和易县雌株的株高和基茎生长速率均有显著抑制。但同易县雌株相比,干旱胁迫对鲁毛50的影响相对较小,鲁毛50比易县雌株表现出更强的抗旱性(见图1)。

### 2.2 干旱胁迫对毛白杨不同品种幼苗MDA和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的影响

环境对膜的伤害程度,人们常用丙二醛(MDA)的变化来评价。丙二醛可以反映膜脂的氧化程度。结果表明,同水分充足的条件相比,干旱胁迫显著积累了易县雌株的丙二醛和过氧化氢含量。但干旱胁迫对鲁毛50的丙二醛和过氧化氢含量却几乎没有影响(见图2)。

### 2.3 干旱胁迫对毛白杨不同品种幼苗的抗氧化酶活性的影响

同水分充足的条件相比,干旱胁迫显著提高了易县雌株的超氧化物歧化酶活性和抗坏血酸过氧化物酶活性水平。但干旱胁迫对鲁毛50的2个指标却几乎没有影响(见图3)。

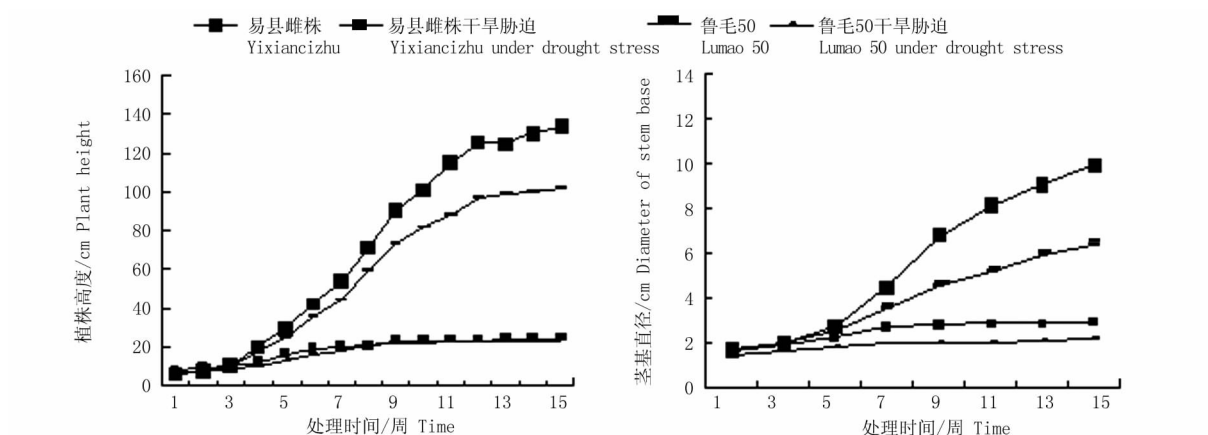


图1 干旱胁迫对毛白杨不同品种生长速率的影响

Fig.1 The effects of drought on growth rate of different varieties of *Populus tomentosa*

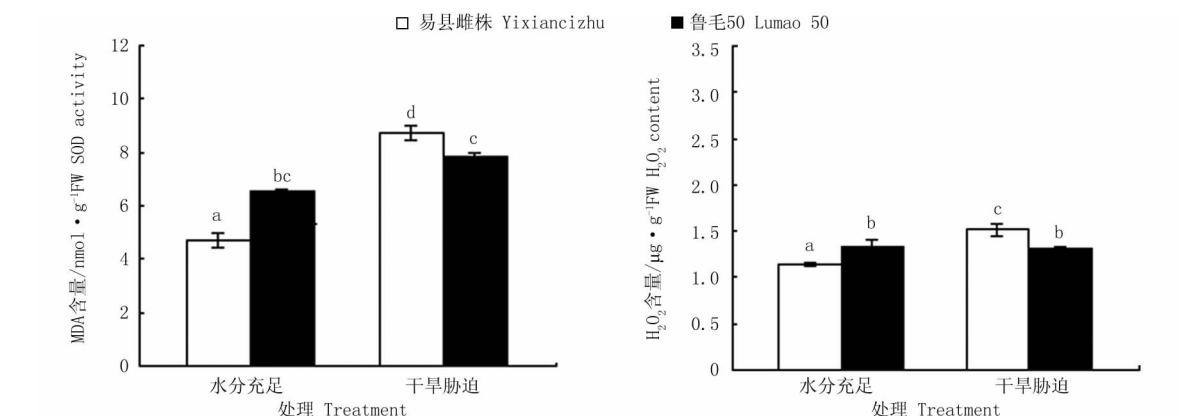


图2 干旱胁迫对毛白杨不同品种幼苗的MDA和H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量的影响

Fig.2 The effects of drought on MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content of different varieties of *P. tomentosa*

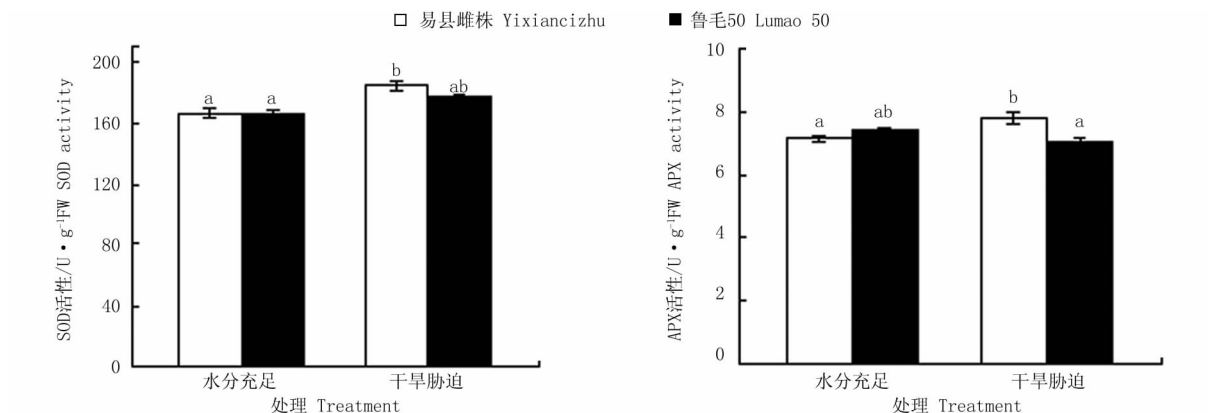


图3 干旱胁迫对毛白杨不同品种幼苗的SOD和APX活性的影响

Fig.3 The effects of drought on SOD and APX activities of different varieties of *P. tomentosa*

### 3 结论与讨论

植物对于干旱胁迫的一个早期反应就是避旱机制:通过调整生长速率如降低株高、基径和生物量积累等,该研究中,干旱显著地抑制毛白杨2个品种的株高和基茎的生长速率,类似的结果在其它

树种和相同树种中均有报道<sup>[12-13]</sup>。与易县雌株相比,鲁毛50在干旱条件下株高和基茎生长速率下降幅度较小,表现出较强的抗旱性。该研究结果也表明2个毛白杨品种分别采用了不同的响应策略来适应干旱胁迫。前期大量研究表明,植物采用的生长策略是植物生产力、抗胁迫能力及自

身竞争能力之间的一种平衡<sup>[14-15]</sup>。研究结果与生态进化模型的预期是一致的。

干旱胁迫导致了毛白杨不同品种幼苗氧化胁迫的发生,过氧化氢的积累以及丙二醛增加所预示的膜脂的过氧化可以证明氧化胁迫的存在。植物要清除过氧化氢等的破坏作用需要一系列抗氧化物质的存在,而且抗氧化系统的活性及响应方式对植物抵抗逆境具有重要意义<sup>[16]</sup>。因此,对植物这种保护策略的研究被认为是植物适应环境状况非常重要的指标,特别是对树木而言。在该研究中,易县雌株幼苗在干旱胁迫下过氧化氢和MDA的累积也被证实。另一方面,在干旱胁迫下,鲁毛50同易县雌株相比,有更高的SOD和APX酶活性,表明这一种群拥有较强的抗氧化能力<sup>[17]</sup>。这一结论被鲁毛50具有较低的MDA和过氧化氢含量更进一步证实。

植物在长期的进化过程中,在其体内逐渐发展了一个胁迫反应中心系统,它可以被多种环境胁迫所激活,通过同一机制来调控生长速率及物质分配,如国内外较多研究表明在干旱、盐胁迫等逆境情况时植物会激活其抗氧化体系来防御活性氧的伤害<sup>[18-19]</sup>。而该研究中干旱处理易县雌株的活性氧累积( $H_2O_2$ 含量)及膜脂过氧化程度(MDA的含量)较鲁毛50严重,而SOD和APX酶活性也高于鲁毛50,这就说明了在干旱条件下,鲁毛50的抗氧化防御系统能力较强,所受到的活性氧伤害也较轻。

众所周知,植物在长期的进化过程中,形成了一系列适应周围环境的机制<sup>[20]</sup>,因此研究中所观察到的干旱胁迫下2个品种在生长和抗氧化系统反应的不同,表明2个品种在胁迫中分别采用了不同的适应机制。因此,在山地恢复及植树造林方面建议使用具有更强抗性的毛白杨,这样更有利于适应将来严峻的气候变化。

#### 参考文献:

- [1] 彭珂珊,徐宣斌,胡普辉,等.干旱是西部地区生态系统受损的关键因素[J].石家庄经济学院学报,2002(3):257-261.
- [2] Khalil A A M, Grace J. Acclimation to drought in *Acer pseudo-platanus* L. (Sycamore) seedlings[J]. J. Exp. Bot., 1992, 43: 1591-1602.
- [3] Timothy J T, Tuskan G A, Gebre G M, et al. Drought resistance of two hybrid *Populus* clones grown in a large-scale plantation[J]. Tree Physiol., 1998, 18: 653-658.
- [4] Kronfub G, Polle A, Tausz M, et al. Effects of ozone and mild drought stress on gas exchange, antioxidants and chloroplast pigments in current-year needles of young Norway spruce (*Picea abies* L., Karst.) [J]. Trees, 1998, 12: 482-489.
- [5] Ramanjulu S, Bartels D. Drought and desiccation-induced modulation of gene expression in plants[J]. Plant Cell Environ., 2002, 25: 141-151.
- [6] 朱莉飞,王华芳.毛白杨研究现状[J].黑龙江农业科学, 2010(6):155-157.
- [7] Hodges D M, DeLong J M, Forney C F, et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds [J]. Planta, 1999, 207: 604-611.
- [8] Brennan T, Frekel C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear[J]. Plant Physiol., 1977, 59: 411-416.
- [9] 刘俊,吕波,徐朗莱.植物叶片中过氧化氢含量测定方法的改进[J].生物化学与生物物理进展,2000,27(5):548-551.
- [10] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase in higher plants[J]. Plant Physiol., 1977, 59: 309-314.
- [11] Knorzer O C, Durner J, Boger P. Alterations in the antioxidative system of suspension-cultured soybean (*Glycine max*) cells induced by oxidative stress[J]. Physiol. Plant., 1996, 97: 388-396.
- [12] Yin C, Duan B, Wang X, et al. Morphological and physiological responses of two contrasting Poplar species to drought stress and exogenous abscisic acid application[J]. Plant Sci., 2004, 167: 1091-1097.
- [13] Zhang X, Wu N, Li C. Physiological and growth responses of *Populus davidiana* ecotypes to different soil water contents[J]. J. Arid Environ., 2005, 60: 567-579.
- [14] Xu Z, Zhou G. Nitrogen metabolism and photosynthesis in *Leymus chinensis* in response to long-term soil drought[J]. J. Plant Growth Regul., 2006, 25: 252-266.
- [15] Yamaguchi K, Takahashi Y, Berberich T, et al. A protective role for the polyamine spermine against drought stress in Arabidopsis [J]. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2007, 352: 486-490.
- [16] Correia M J, Osório M L, Osório J, et al. Influence of transient shade periods on the effects of drought on photosynthesis, carbohydrate accumulation and lipid peroxidation in sunflower leaves[J]. Environ. Exp. Bot., 2006, 58: 75-84.
- [17] Lu Y, Duan B, Li C. Physiological responses to drought and enhanced UV-B radiation in two contrasting *Picea asperata* populations [J]. Can. J. For. Res., 2007, 37: 1253-1262.
- [18] Sarkar D, Pandey S K, Sud K C, et al. In vitro characterization of manganese toxicity in relation to phosphorus nutrition in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Plant Sci., 2004, 167: 977-986.
- [19] Jebara S, Jebara M, Limam F, et al. Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress[J]. J. Plant Physiol., 2005, 162: 929-936.
- [20] Li C, Wang K. Differences in drought responses of three contrasting *Eucalyptus microtheca* F. Muell. populations[J]. For. Ecol. Manage., 2003, 179: 377-385.