白刺花(Sophoraviciif olia) 适应 土壤干旱的生理学机制

王海珍1,2,梁宗锁1,3,郝文芳3,韩 路2

(1. 中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100; 2. 塔里木大学植物科技学院, 新疆 阿拉尔 843300; 3. 西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 用盆栽的方法人工控制土壤干旱条件,研究白刺花天然实生幼苗适应土壤干旱的生理学机制。结果表明: 随土壤含水量的减少,白刺花叶水势在胁迫前期下降缓慢,随胁迫时间的延长,水势大幅度下降。白刺花通过在叶片内积累大量渗透保护性物质可溶性糖和 K⁺,增加细胞的保水力,维持细胞生长所需膨压。白刺花游离脯氨酸含量变化与水分关系不大,可溶性蛋白质含量随土壤含水量减少而下降,可能是水分胁迫下受伤害的表现。随土壤水分含量的减少,白刺花 SOD 的活性明显升高,POD 活性不高但随胁迫时间延长其活性较稳定,CAT 活性下降但幅度不大,且 CAT 活性变化趋势与 POD 活性相反,说明三个保护酶能够相互配合协同作用,降低膜脂过氧化程度,减少水分胁迫造成的伤害,提高质膜稳定性,维持细胞膜的完整性,表现出很强的抗旱适应性。

关键词: 白刺花;土壤干旱;渗透调节物质;保护酶系;生理机制

中图分类号: Q945.17 文献标识码: A 文章编号: 1000-7601(2005)01-0106-05

自刺花(Sophora viciifolia)又名狼牙刺,为豆科槐属小灌木,茎、叶、果和种子都含有苦参碱、槐果碱、苦豆碱^[1]等多种生物碱,均可药用^[2]。白刺花在黄土丘陵沟壑区向阳山坡、田埂均有大量分布,在阳坡、半阳坡直物群落演替中处于中间灌丛阶段,是阳坡、半阳坡主要的建群灌木,常形成单优群落类型,在自然植物群落演替中,起着"承前启后"的作用,为荒山的建群植物种之一,对黄土丘陵沟壑区生态恢复具有建设性影响。侯庆春等分析了白刺花在黄土丘陵沟壑区植物群落演替中的动态变化及其作用,提出遵循植物群落的演替规律,在不破坏原有植被的情况下,提高造林成活率,提高林分的水土保持效益,促进森林的快速演替。笔者利用盆栽的方法,人工控制土壤水分,研究白刺花适应干旱的生理学机制,为黄土高原植被建设树种的选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用陕西省安塞县安塞水土保持试验站提供的 白刺花(Sophoravicifolia)天然实生幼苗,其平均株 高、地径分别为 23.6 cm、0.57 cm。

1.2 研究方法

1.2.1 试验设计 选择大小基本一致的苗木于

2002 年 3 月 27 日植入高 27 cm、上口径 35 cm、下口径 22 cm 的塑料桶中,每桶 3 株,每桶装过筛原状土 14 kg,土壤为± 4、含水量 10.75%,田间持水量 26%。在桶栽条件下设置 3 个水分处理:适宜水分(C1,70%~75% 田间持水量)、中度干旱(C2,50%~55% 田间持水量)、重度干旱(C3,40%~45% 田间持水量),土壤含水量分别为 18.2%~19.5%、13%~14.3%、10.4%~11.7%。各处理重复 3 次。盆栽桶放置于中国科学院水土保持研究所的可移动防雨棚下,晴天正常照光,栽植苗木后正常浇水使之正常萌芽。生长 2 个月左右即从 6 月 1 日起,开始按试验设计进行水分处理,适宜水分正常浇水;中度干旱和重度干旱处理不浇水,待土壤水分自然消耗至设定标准后,用称重法控制土壤含水量设定范围内,并补充其水分消耗,准确记录加水量。

1.2.2 取样方法 在水分处理期间定期取供试苗 木中上部叶片,用保鲜袋带回,部分鲜叶立即置于-40℃超低温冰箱中存放,部分鲜叶用于测定有关 生理指标,剩余叶片80℃下烘干用于测定 K⁺。

1.2.3 酶液制备 称取-40℃超低温冰箱中的鲜叶 0.5g 加 7 ml 预冷的 50 mmol/L、pH 7.8 的磷酸缓冲液(内含 1%聚乙烯吡咯烷酮),冰浴研磨成匀浆,于-4℃下 7 215g 离心 15 min,取上清液,即为

[□] 收稿日期: 2003-10-10

基金项目: 中国科学院西部之光人才基金项目、知识创新项目(KZCX01-6)

で 1 作者 简介: 王海珍(1971-), 女, 甘肃成县人, 讲师, 硕士, 主要从事植物水分生理生态研究。 1 近讯联系人: 梁宗锁, E-mail: Liangzs 819@163. net http://www.cnki.net

酶粗提液,用于保护酶活性和丙二醛(MDA)含量测 定。

1.3 测定指标及方法

- 1.3.1 叶水势及叶片持水力 早上9:00~10: 00 采样, 用小液流法测定叶水势; 离体叶片持水力 用自然干燥称重法。
- 1.3.2 脯氨酸 可溶性糖 可溶性蛋白质含量 氨酸采用磺基水杨酸提取茚三酮显色法测定:可溶 性糖测定采用硫酸蒽酮比色法: 可溶性蛋白质测定 采用考马斯亮蓝 G-250 染色法。
- 1.3.3 保护酶活性 氮蓝四唑光还原法测定 SOD 活性: 愈创木酚显色法测定 POD 活性: 紫外吸收法 测定 CAT 活性。
- 1.3.4 细胞质膜透性 DDS-11A 电导仪测定。

细胞膜相对透性(%)=
$$\frac{L_1}{L_2} \times 100\%$$
 细胞膜伤害率(%)= $\left(1 - \frac{1 - \frac{T_1}{T_2}}{1 - \frac{D_1}{D_2}}\right) \times 100\%$

式中:L1表示叶片杀死前外渗液的电导值:L2 表示叶片杀死后外渗液的电导值: D1 表示对照叶片 杀死前外渗液的电导值; D2 表示对照叶片杀死后外 渗液的电导值; T1 表示处理叶片杀死前外渗液的电 导值; T2表示处理叶片杀死后外渗液的电导值。

以上各项生理指标测定均参照高俊凤主编 植

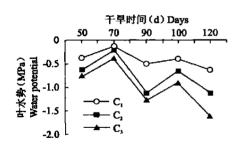


图 1 土壤干旱下白刺花叶水势变化

Fig. 1 Changes of water potential in the leaves of Sophoraviciifolia under soil drought

2.2 不同土壤干旱条件下白刺花叶片游离脯氨酸 及 K⁺ 含量变化

由图 3 可见, 白刺花叶片游离脯氨酸含量随时 间的变化幅度很大。重度干旱下脯氨酸含量持续上 升,适宜水分下脯氨酸也基本上保持较高水平,且高 于干旱条件下的脯氨酸含量。适宜水分下脯氨酸含 量高于干旱条件下可能与蛋白质的活跃合成有关。 白刺花脯氨酸含量变化过程说明其写水分类系,Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

物生理学实验技术》[5]介绍的方法进行。

- 1.3.5 丙二醛(MDA) 硫代巴比妥酸比色法测 定. 具体过程参照上海植物生理研究所主编 现代植 物生理学实验指南》[6]。
- 1.3.6 K⁺ 离子 火焰光度法测定。

结果与分析

2.1 不同土壤干旱条件下白刺花叶水势及离体叶 片持水力变化

植物叶水势代表植物水分运动的能量水平, 反 映了植物组织水分状况, 是衡量植物抗旱性的一个 重要生理指标[7]。由图 1 可见, 白刺花叶水势在土壤 中度及重度干旱 50 d 时下降幅度不大,但随胁迫时 间的延长,叶水势大幅度下降。在干旱胁迫 90 d(即 8月底)降至低谷后快速回升,胁迫120 d(10月初) 又下降,整个水势变化图形呈 M"形,且无论在哪种 水分条件下趋势均一致。水势如此剧烈的变化说明 树种叶水势的变化除受土壤水分含量直接影响外, 还受自身调节能力的影响。

图 2 是白刺花离体叶片含水量变化趋势图, 可 以看出,在干旱胁迫 45 d 时,不同土壤水分条件下 离体叶片保水力差异不大, 离体 10 h 叶片相对含水 量仍然保持在35%以上,且彼此相差不大,保持相 同的变化趋势。说明其叶片失水速率很慢,具有很强 的持水力。

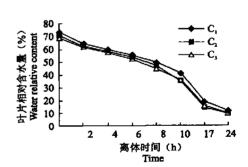


图 2 土壤干旱下白刺花离体叶片含水量变化(处理 45 d)

Fig. 2 Changes of water content in the excised leaves of Sophoraviciffolia under soil drought (45 day treatment)

大,不能作为白刺花的抗旱生理指标。

K⁺ 是渗透调节物质中一种重要的无机离子, 在 水分胁迫时含量增加^[8,9]。K⁺与气孔调控有关,主要 参与调节保卫细胞的渗透势。图 4 表明白刺花在重 度干旱前期 K⁺ 含量有所增加, 随胁迫时间延长中 度干旱下 K^{\dagger} 也同样增加, 但后期 K^{\dagger} 含量均下降, 可能与K⁺的再分配转移有关。

2.3 不同土壤干旱条件下白刺花保护酶活性变化

植物体内的保护酶防御体系包括超氧化物歧化 酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶 (CAT),它们协同清除体内产生的自由基,减少逆 境伤害。自刺花的 SOD 活性较高, 其活性在土壤干 旱下急剧升高,然后下降到与适宜水分下相当的水 平; 而适宜水分下 SOD 活性一直呈上升趋势(图 5)。自刺花 POD 活性始终不高, 适宜水分下 POD 的 活性也呈波状变化、推测POD对苗木自身生长节律 进程较为敏感。中度干旱下 POD 活性稳定, 重度干 旱下在中后期能保持较高的活性(图 6)。

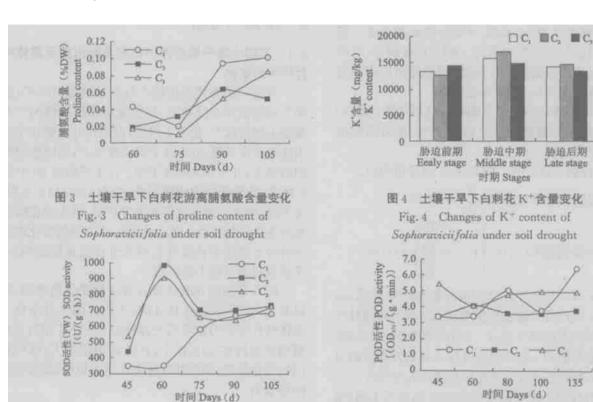


图 5 土壤干旱下白刺花 SOD 活性变化 Fig. 5 Changes of SOD activity of Sophoravicii folia under soil drought

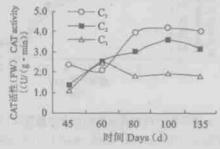


图7 土壤干旱下白刺花 CAT 活性变化 Fig. 7 Changes of CAT activity of Sophoravicii folia under soil drought

白刺花 SOD 的活性很高但 POD 的活性不高, 可能暗示其清除 H2O2 还有 CAT 的参与。CAT 可 以将H2O2直接转化为H2O,与SOD协同反应,使 活性氧维持在较低的水平[13]。由图7可见,白刺花 的 CAT 活性在中度干旱下一直呈上升趋势, 但在 重度干旱下先上升后下降, 刚好与POD 活性变化相 反。C综合分析 POD 和 CATe以及 SOD 活性变化情Publis 易条件下。随于早时间的延长和胁迫程度加大。可溶t

图 6 土壤干旱下白刺花 POD 活性变化 Fig. 6 Changes of POD activity of Sophoravicii folia under soil drought

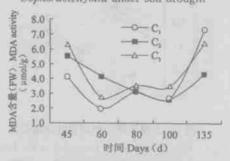


图 8 土壤干旱下白刺花 MDA 含量变化 Fig. 8 Changes of MDA content of Sophoravicii folia under soil drought

况, 我们可以认为自刺花的 POD 和 CAT 是协同作 用的,能够高效清除 H2O2, 确保膜脂过氧化水平较 低,以维持细胞膜的完整性。

不同土壤干旱条件下白刺花可溶性糖及蛋白 质含量变化

可溶性糖是一种较为有效的渗透保护剂。在干

性糖含量增加。在水分处理60 d 时测定的可溶性糖 和可溶性蛋白质含量见表 1。由表 1 可见, 在土壤干 旱条件下, 白刺花可溶性糖含量增加很多, 中度和重 度干旱下其含量分别是适宜水分下的 3.09 和 3.78 倍;随土壤水分含量减少,白刺花可溶性蛋白质含量 降低。说明干旱胁迫下,蛋白质的合成受阻或蛋白质 分解加速,导致含量下降,其含量变化可能是土壤干 旱造成的伤害反应。

2. 5 不同土壤干旱条件下白刺花叶细胞质膜稳 定性

由图 8 可以看出,在水分胁迫处理 45 d 时,白 刺花 MDA 含量较适宜水分下有所提高,且重度干 旱下高于中度干旱下的水平。随时间延续,干旱条件 下 MDA 上升后总体呈下降趋势, 且重度干旱下的 变化趋势与适宜水分下相似; 中度干旱下 MDA 含 量变化幅度较小,且后期维持在最低水平,表明白刺 花对中等程度的干旱具有较强的适应性。用电导仪 测定细胞外渗液电导率的变化可以反映出质膜受伤 害的程度。由表 1 可看出, 在水分处理 60 d 后不同 叶片的电导率随土壤水分含量的减少, 叶细胞膜相 对透性的增加幅度很大,在45%左右。但从细胞膜 伤害率来看, 白刺花在土壤干旱下的细胞伤害率却 很低, 平均仅为 2.76%, 即使在严重干旱下也仅为 2.84%,表现出极强的膜稳定性。结合保护酶活性变 化可以认为,在保护酶系的协同作用下降低了白刺 花体内的活性氧含量, 使膜脂过氧化程度较低, 膜完 整程度高,伤害率低。

表 1 土壤干旱下白刺花可溶性糖、可溶性蛋白质含量及细胞膜稳定性 Table 1 Soluble sugar content, protein content and cell membrane permeability of Sophora viciffolia under soil drought

处 理 Treatment	细胞膜相对透性 Membrane permeability of cell (%)	伤害率 Injury ratio (%)	可溶性糖含量(DW) Soluble sugar content (%)	可溶性蛋白质(FW) Soluble protein (mg/g)
C_1	37.82	0.00	0. 26	32. 26
C_2	54.50	2. 68	0. 79	28. 37
C_3	55.49	2. 84	0. 97	24. 29

3 结论与讨论

植物对干旱胁迫的一种反应是通过许多生理生 化代谢途径,在细胞质中合成和积累非毒性的渗透 保护剂(Osmoprotectants)或亲和性溶质 (Compatible solutes)[15,16], 这种生理生化代谢途径 的主要特征是产生渗透物质和特定蛋白, 以控制细 胞的离子和水流[17,18]。在水分胁迫下这些渗透物质 主要是有机小分子物质,如氨基酸、ABA、可溶性 糖、甜菜碱等,还有无机离子如 K⁺、Ca²⁺等,其中一 些渗透保护剂在植物中能够保护酶和细胞膜免受高 盐浓度的伤害, 另一些则能防止活性氧的伤害[16]。 研究最广泛的亲和性溶质是脯氨酸,但脯氨酸能否 作为抗旱生理指标,不同研究以不同的材料得出不 同的结论。白刺花在黄土区自然分布较广泛,表现出 很强的抗旱适应性。本试验通过测定白刺花相关生 理指标, 初步探讨白刺花适应干旱的生理学机制。

白刺花在土壤干旱条件下可以通过在体内积累 大量可溶性糖和 K⁺, 增强气孔的调节能力, 增加细 胞的渗透调节能力。胁迫前期白刺花叶水势下降缓 慢,可使叶片中积累更多的可溶性糖,随胁迫时间的 延长,在水势大幅度下降的同时使渗透势降低,可以 维持植株正常生长所需的膨压[12],说明积累可溶性 糖是白刺花在水分亏缺时的保护性反应。对白刺花 游离脯氨酸含量变化研究表明其与水分关系不关、Publi敏感、不仅与水分关系失。还与树种P苗米的生长状

不能作为白刺花抗旱的生理指标。本试验结果表明, 白刺花可溶性蛋白含量随土壤含水量减少而下降, 可能是水分胁迫下受到伤害的表现。这一结果与阎 秀峰[11]、孙国荣[10]对红松、白桦幼苗在干旱胁迫下 的研究结果类似。可溶性蛋白质含量变化因不同树 种而有差异,不能仅通过蛋白质含量高低来断定树 种的抗旱性。因为在水分胁迫条件下,在蛋白质含量 变化的同时,往往也伴随着蛋白质组分的变化,这种 质变的作用很可能在抗旱过程中起着更大的作 用[10]。

在适应环境条件变化时, 植物总有一套产生与 清除活性氧的平衡机制,包括酶性和非酶性的防御 体系, 若这种平衡被打破则会发生膜脂过氧化, 进一 步造成更大的伤害。SOD 是防御超氧阴离子自由基 对细胞伤害的抗氧化酶, 其活性高低是植物抗旱性 的重要指标 $^{[19]}$ 。SOD可以将 O_2 · 歧化成 H_2O_2 ,从而 影响植物体内 O2 和 H2O2 浓度, 所以 SOD 可能在 保护酶系统中处于核心地位。白刺花SOD的活性很 高但 POD 的活性不高, CAT 活性刚好与 POD 活性 变化趋势相反、综合 SOD、POD 和 CAT 活性变化 规律,可以说白刺花的保护酶系相互配合协同作用, 能够高效清除 H2O2, 确保较低的膜脂过氧化水平, 以维持细胞膜的完整性,降低膜伤害率,表现出很强 的抗旱适应性。影响酶活性的因素很多,酶活性变化 况、生育进程、叶片的成熟度等有关。所以不能单以一种或两种酶活性的高低来判定植物的抗旱性强弱,还要结合其它生理指标综合评价,否则会造成偏差。白刺花在土壤干旱条件下的细胞伤害率很低,平均仅为2.76%,表现出极强的膜稳定性。结合保护酶活性变化可以认为,在保护酶系的协调作用下,白刺花体内的活性氧水平很低,使细胞膜脂过氧化程度较低,膜的完整程度高,伤害率低,从而对干旱表现出较强的适应性,这也是白刺花能够广泛分布于黄土高原的生理原因。白刺花的耗水量高峰期与黄土区的降雨高峰期同步,抗旱性强,生长期长,生长量大,可利用白刺花快速恢复生态系统。

参考文献:

- [1] 蒋冬梅. 白刺花未成熟果实生物碱成分的提取[J]. 海南医 学院 学报, 2000, 6(3): 161-162.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海人民出版社, 1986.
- [3] 薛智德, 侯庆春, 韩蕊莲, 等. 黄土丘陵沟壑区白刺花促进生态恢复的研究[J]. 西北林学院学报, 2002, 17(3): 26-29.
- [4] 侯庆春, 韩蕊莲, 李宏平. 关于黄土丘陵典型地区植被建设中有 关问题的研究. 土壤水分状况及植被建设区划[J]. 水土保持研 究, 2000, 7(2): 102-109.
- [5] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安: 世界图书出版社, 2000.
- [6] 上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [7] 阮成江,李代琼. 黄土丘陵区沙棘气孔导度及其影响因子[J].

- 西北植物学报, 2001, 21(6): 1078-1084.
- [8] 李德全, 邹 琦, 程炳嵩. 土壤干旱下不同抗旱性小麦品种的渗透调节物质[J]. 植物生理学报, 1992, 18(1): 37-44.
- [9] 高爱丽, 赵秀梅, 秦 鑫. 水分胁迫下小麦叶片渗透调节与抗旱性的关系[J]. 西北植物学报, 1991, 11(1): 58-63.
- [10] 孙国荣,张 睿,姜丽芬,等.干旱胁迫下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.
- [11] 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.
- [12] 李天红,李绍华. 水分胁迫地苹果苗木结构性碳水化合物组分含量的影响[J]. 中国农学通报, 2002, 18(4): 35-39.
- [13] 王宝山. 生物自由基与植物膜伤害[J]. 植物生理学通报, 1999, (2): 12-16.
- [15] Nuccio M L, Rhodes D R, Mcneil S D, et al. Metbolic engineering of plants for osmotic stress resistance [J]. Current Opinion Plant Biol, 1999, (2): 128-134.
- [16] Smimoff N. Plant resistance to environmental stress[J]. Current Opinion Biotech, 1998, (9): 214-219.
- [17] Ohnert H J, Nelson D E, Jensen R G. Adaptations to environmental stresses[J]. The Plant Cell, 1995, 7: 1099-1111.
- [18] Bohnert H J, Jensen R C. Strategies for engineering waterstress tolerance in plants [J]. Trends in Biotechnology, 1996, (14):89-97.
- [19] Bowler C. Van Montagu, Inze D. Superoxide dismutase and stress tolerance[J]. Ann Rer plant Physiol plant mol Biol, 1992, (43):83.

Physiological mechanism of Sophoraviciifolia to adapt to soil drought

WANG Hai-zhen^{1,2}, LIANG Zong-suo^{1,3}, HAO Wen-fang³, HAN Lu²

(1. Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Science and Ministry of Water Resources, Yangling, Shaanx 712100, China; 2. Institute of Plants Science and Technology of Tarim University, Alar, Xinjiang, 843300, China; 3. College of Life Science of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: With pot culture experiments simulating different soil drought, physiological mechanism of Sophoraviciif olia seeding to adapt to soil drought was studied. The result showed that water potential of Sophoraviciif olia decreased slowly in the early stage of stress and the soil water content and later water potential decreased sharply with time. It accumulated much osmotic regulating substances (soluble sugar, K^+) to increase leaf water retaining capability and maintain growth turgor. It was not related to Pro change and siol water. Soluble sugar content decreased with soil water decrease and it could be injured under soil drought. SOD activity rose significantly and POD activity keptstable with stress time and CAT activity decreased. Change trend of CAT was not same as that of POD. It demonstrated that three-cell defense enzymes could cooperate to reduce lipid peroxidation degree, decrease cell wound, promote protoplasm membrane stability and maintain cell membrane integrity. Sophoraviciifolia has stronger drought resisting adaptability.

Key words: Sophoraviciifolia; soil drought; osmotic regulating substance; lipid peroxidation; physiological mechanism