福建农业学报 23(1):63~67,2008
Fujian Journal of Agricultural Sciences
文章编号: 1008-0384(2008)01-0063-05

水分胁迫对闽引圆叶决明(*Chamaecrista rotundifolia*)活性氧代谢的影响

任丽花[1,2], 翁伯琦[2], 黄炎和[3], 王义祥[2], 应朝阳[2]

(1. 福建农林大学生命科学学院, 福建 福州 350002; 2. 福建省农业科学院农业生态研究所, 福建 福州 350013; 3. 福建农林大学资源与环境学院, 福建 福州 350002)

摘 要: 采用人工控水盆栽法研究干旱胁迫对圆叶决明叶片的O_2^-产生速率、MDA含量和细胞质膜透性的变化以及SOD、POD和CAT酶活性的影响, 结果表明: 在干旱胁迫下, 圆叶决明叶片中O_2^-产生速率增加, 细胞膜透性增大, 作为膜脂过氧化产物的MDA含量也随着升高; 不同的保护酶在变化趋势和幅度上有差异, 随着胁迫程度的加深, SOD、POD酶活性上升, CAT活性则在轻度干旱胁迫时较高于其他处理; 随着胁迫时间的延长, SOD、CAT酶活性上升, POD活性则在胁迫第15 d开始下降。

关键词: 圆叶决明; 干旱胁迫; 活性氧代谢
中图分类号: S718 文献标识码: A

Effect of water stress on active oxygen metabolism of *Chamaecrista rotundifolia*.

REN Li-hua[1,2], WENG Bo-qi[2], HUANG Yan-he[3], WANG Yi-xiang[2], YING Zhao-yang[2]

(1. *College of Life Sciences, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian* 350002, *China*; 2. *Agricultural Ecology Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian* 350013, *China*; 3. *College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian* 350002, *China*)

Abstract: Effects of varying soil water content and stress time on the O_2^- production rate, malondialdehyde (MDA) content, plasma membrane permeability (PMP), as well as the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) in the leaves of *Chamaecrista rotundifolia* were studied by using pot experimentation. The results showed that, under drought stress, (a) the O_2^- production rate and PMP increased with decreasing water content in soil, (b) leave MDA content accumulated, and (c) activities of protective enzymes varied. With the increase of stress, the activities of SOD and POD increased. The CAT activity was higher under mild drought stress than the others. With the treatment prolonged, the activities of SOD and CAT increased, but the POD activity started to decrease 15 days after the drought-stress treatment.

Key words: *Chamaecrista rotundifolia*; drought stress; active oxygen metabolism

干旱对植物的影响非常广泛而深刻[1-2], 植物对干旱、半干旱环境具有不同的适应策略和表现方式。其中, 植物在不同立地环境条件下的水分生理生态过程和特征是研究的重点和基础[3-4]。对牧草而言, 干旱是草业生产中常常遇到的问题, 有些优良牧草在漫长的历史进化过程中, 经过对恶劣生长环境的不断适应, 对干旱等胁迫只有从生理、生化和分子水平上产生适应性变化, 形成较强的抗性, 才能增加在逆境下存活的机会[5-7]。目前关于热带、亚热带红壤山地豆科牧草品种抗旱性的研究报道还不多见, 圆叶决明是近年筛选出的适应南方红壤山地种植的多年生热带豆科牧草优良草种, 国内外对圆叶决明的研究主要集中在牧草利用、果园套种及水土保持上[8-14], 对其干旱胁迫下活性氧代谢机理方面的研究仍比较少。本研究通过人工控水模拟试验, 对干旱胁迫下闽引圆叶决明CPI86134叶片的超氧阴离子自由基(O_2^-)产生速率、丙二醛(MDA)含量和细胞质膜透性(PMP)以及保

收稿日期: 2008-01-02 初稿; 2008-02-26 修改稿
作者简介: 任丽花(1977-), 女, 在读博士生, 研究方向: 植物营养与环境生态。
通讯作者: 翁伯琦(1957-), 男, 研究员, 主要从事生态农业技术与生态经济理论研究(E-mail: boqiweng@yahoo.com.cn)。
基金项目: 科技部农业成果转化项目(2007GB2C400151); 福建省科技计划重点项目(2005N029); 福建省财政厅专项资助(STIF-Y01)

护酶（SOD、POD、CAT）活性的变化进行研究，探讨圆叶决明品种的活性氧代谢特性与抗旱性的关系，旨在为圆叶决明抗旱机制以及深入进行山地牧草抗旱性鉴定的研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为闽引圆叶决明（*Chamaecrista rotundifolia*）CPI86134，种子由福建省农业科学院农业生态研究所提供。

1.2 试验设计

供试植物于2004年4月上旬播种，为了便于控制水分，采用盆栽试验，每盆装山地红壤土4 kg，供试土壤的凋萎含水量为7.65%。播种前用特定根瘤菌拌种，播种深度2~3 cm；所有肥料均作为基肥在装盆时一次性拌匀施入，每公斤土基肥用量为过磷酸钙1.80 g、尿素0.60 g、氯化钾0.60 g，每盆播种30粒左右。出苗期间，隔3~4 d浇1次水，浇水量为田间持水量的75%~80%，在室外培养21 d后间苗，每盆留10株，选取140盆长势较整齐的植株搬入网室内，按Hsiao[15]的标准设轻度、中度、重度干旱胁迫和对照4个处理，各处理的土壤相对含水量分别为60%~65%、45%~50%、30%~35%、75%~80%，每个处理35盆。试验期间每天用感量为0.1 g的电子天平称重补充水分，使其维持在设定的胁迫水平范围内，为使浇水均匀，用移液管缓慢将水滴入土壤中。处理开始每5 d取1次样，每次取样均由主枝顶端向末端沿垂直方向均匀采取，取下新鲜叶片后，立即进行各项生理指标的测定。

1.3 测定项目及其测定方法

O_2^- 产生速率采用羟胺氧化法[16]测定；PMP采用上海植物生理学会[17]的方法，以相对电导率衡量；MDA含量采用硫代巴比妥酸（TBA）显色法[18]测定；SOD活性采用氮蓝四唑（NBT）光化学还原法[19]测定；POD活性采用愈创木酚法[20]测定；CAT活性采用高锰酸钾滴定法[21]测定。

1.4 数据处理方法

统计分析均采用Excel和DPS软件处理。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对圆叶决明叶片 O_2^- 产生速率的影响

O_2^- 伤害植物的机理之一在于参与启动膜脂过氧化或脱脂过程，造成MDA的增加，MDA能与膜上的蛋白质氨基酸残基或核酸反应生成Shiff碱，从而降低膜的稳定性，质膜相对透性增加，促进了膜的渗漏，细胞内物质大量外渗，从而引起组织电导率上升。图1显示，在整个处理过程中，随着干旱时间的延长与程度的加重，圆叶决明叶片 O_2^- 产生速率呈现上升趋势，不同程度干旱处理各取样时间 O_2^- 产生速率均高于对照水平，其中胁迫第10 d，严重干旱胁迫处理 O_2^- 产生速率极显著高于其他处理。随着胁迫时间的延长，不同程度干旱处理 O_2^- 产生速率均有所增加，但变化不显著（$P>0.05$）。

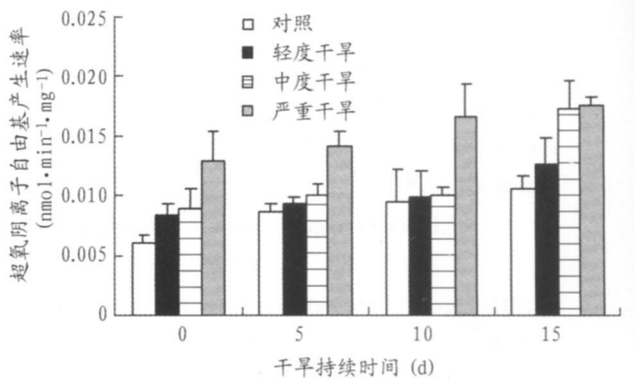

图1 干旱胁迫对圆叶决明叶片超氧阴离子自由基产生速率的影响

Fig 1 Effects of drought stress on oxygen-derived free radicals content in leaves of *C. rotundifolia*

2.2 干旱胁迫对圆叶决明叶片MDA含量的影响

丙二醛是膜质过氧化的产物，是膜系统受到伤害的重要标志之一，干旱胁迫下其积累的多少及变化幅度表明了植物质膜系统的稳定性[22]。研究结果表明（图2），各取样时间胁迫处理的植株叶片中MDA含量均高于对照，且随胁迫程度的加深而增加。随着胁迫时间的延长，各胁迫处理MDA含量略有起伏。胁迫处理第5 d，各处理MDA含量均高于其他胁迫时间的相应值，且胁迫第5 d严重干旱处理MDA含量与其他处理相比差异显著（$P<0.05$）。

2.3 干旱胁迫对圆叶决明叶片PMP的影响

从图3可知，随着胁迫程度的加重和胁迫时间的延长，细胞膜透性增大，到胁迫第15 d膜透性增加幅度变小。方差分析结果显示：4个取样时期不同程度干旱胁迫处理植株叶片的细胞膜透性均显著高于对照（$P<0.05$），胁迫第10 d、15 d则极显著高于对照（$P<0.01$）。说明干旱胁迫下圆叶决明细胞膜透性增加，且胁迫程度越重细胞膜透性越大。

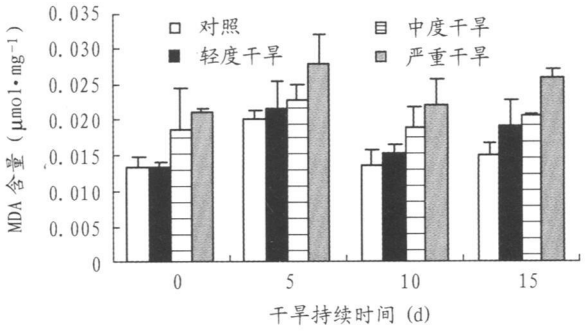

图 2　干旱胁迫对圆叶决明叶片 MDA 含量的影响

Fig. 2　Effects of drought stress on MDA content in leaves of *C. rotundifolia*

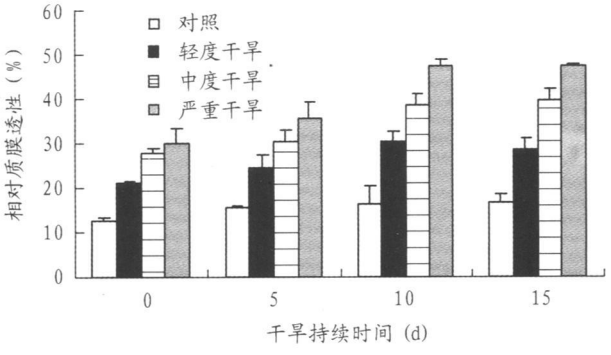

图 3　干旱胁迫对圆叶决明叶片相对质膜透性的影响

Fig. 3　Effects of drought stress on membrane plasma permeability in leaves of *C. rotundifolia*

2.4　干旱胁迫对圆叶决明叶片细胞 SOD 活性的影响

SOD 是植物体内清除活性氧系统的第一道防线，在活性氧的清除系统中发挥着特别重要的作用，从而可能在保护系统中处于核心的地位，其功能是清除 O_2^-。图 4 显示，CPI86134 叶片细胞 SOD 酶活性随胁迫时间的延长和胁迫程度的加重而增强，不同程度干旱处理各取样时间 SOD 酶活性与对照间均存在极显著的差异 ($P< 0.01$)。

2.5　干旱胁迫对圆叶决明叶片细胞 POD 活性的影响

POD 是植物呼吸代谢的末端氧化酶之一，可催化有毒物质的氧化分解，是一种对环境因子比较敏感的酶。图 5 表明，随着土壤相对含水量的降低，圆叶决明叶片细胞的 POD 活性逐渐升高。方差分析表明，4 个取样时间不同程度干旱处理的 POD 酶活性显著高于对照 ($P < 0.05$)。随着胁迫时间的延长，各处理的 POD 活性基本呈现逐渐升高的趋势，胁迫第 15 d 各胁迫处理植株叶片 POD 活性低于胁迫第 10 d，但差异不显著。

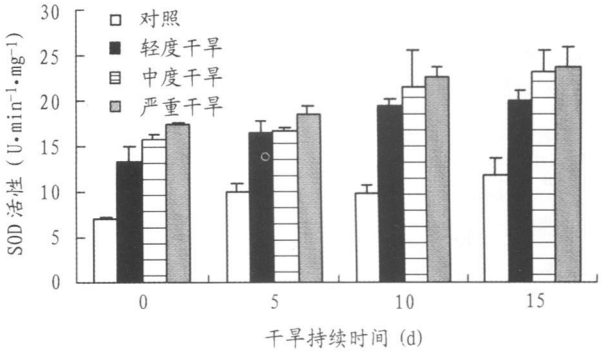

图 4　干旱胁迫对圆叶决明叶片 SOD 活性的影响

Fig. 4　Effects of drought stress on SOD activity in leaves of *C. rotundifolia*

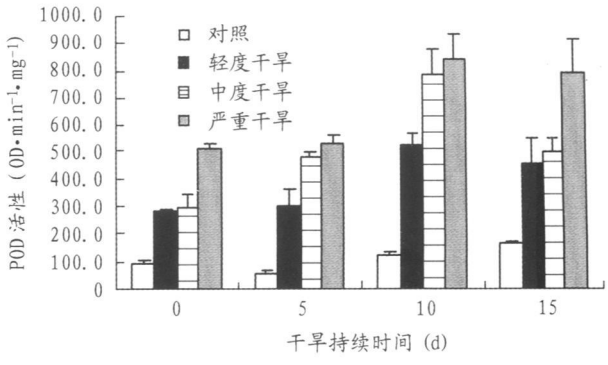

图 5　干旱胁迫对圆叶决明叶片 POD 活性的影响

Fig. 5　Effects of drought stress on POD activity in leaves of *C. rotundifolia*

2.6　干旱胁迫对圆叶决明叶片细胞 CAT 活性的影响

CAT 能够清除植物组织中的 H_2O_2，限制潜在的活性氧伤害。图 6 显示，随着土壤相对含水量的降低，不同胁迫处理的叶片细胞 CAT 活性均高于对照，但轻度干旱胁迫处理高于中度和严重干旱胁迫处理。随着胁迫时间的延长，各处理的圆叶决明叶片 CAT 活性亦逐渐增强，这与 O_2^- 产生速率的变化趋势一致。但胁迫前期 (第 0 d 和第 5 d) 变化不显著；当胁迫持续到第 10 d 后，各处理的植株叶片 CAT 活性与胁迫前期相比存在显著差异 ($P< 0.05$)。说明植株 O_2^- 产生速率升高，引起 CAT 活性的增强以有效地清除体内活性氧，提高植物的抗旱性。

3　讨　论

由于生物体处于一种活动状态，水分胁迫条件下活性氧代谢的动态变化更能够反映出一个品种的耐旱特性。在正常情况下，植株体内自由基的产生和清除处于动态平衡状态。在植株遭受干旱胁迫

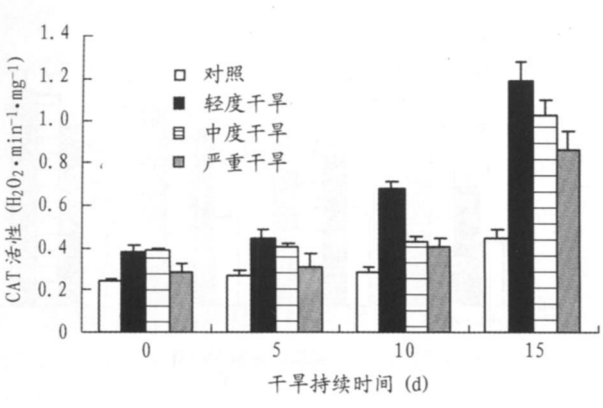

图 6 干旱胁迫对圆叶决明叶片 CAT 活性的影响

Fig 6 Effects of drought stress on CAT activity in leaves of *C. rotundifolia*

时，体内自由基增多，当超过了伤害“阈值”，膜脂中的不饱和脂肪酸双键在自由基冲击下发生过氧化作用：过氧化过程又会产生新的自由基，进而促进膜脂的过氧化，使膜完整性的破坏加重。膜脂过氧化重要产物之一 ***MDA***，它可与细胞膜上的蛋白质、酶等结合、交联使之失活，从而破坏生物膜的结构与功能，是有细胞毒性的物质，对许多生物大分子均有破坏作用，人们常以 ***MDA*** 作为判断膜脂过氧化作用的一种主要指标。本研究结果表明：随土壤水分胁迫的加重，圆叶决明叶片 O_2^- 产生速率、MDA 含量和细胞质膜相对透性增加；随着胁迫时间的延长，O_2^- 产生速率及膜透性均增加，说明不同程度的土壤干旱都会加剧叶片细胞膜的脂质过氧化作用，而且干旱程度越重，膜脂过氧化水平越高。在干旱胁迫条件下，圆叶决明 MDA 含量随胁迫时间的延长呈现增加—减少—增加的趋势，这种过程反映了圆叶决明在经受干旱胁迫时其体内膜系统的防御过程：开始受干旱胁迫时膜系统受到破坏，导致 MDA 含量增加，植物接受到干旱胁迫的信号，启动自身的干旱胁迫防御系统，抗旱能力增强，MDA 含量下降；但植物对干旱的耐受力是有限度的，一旦超过了这个限度，膜系统再次受到破坏，MDA 含量增加。这也说明了保护酶系统酶不同程度地起到缓解伤害的作用，抑制了氧自由基离子的进一步积累和对膜的伤害，这与韦小丽等[23]的研究结果一致。

SOD、POD、CAT 等酶被公认为是植株体内的主要保护酶，参与活性氧的代谢。通常情况下，细胞保护酶活性较高，可以有效地清除细胞内的各种活性氧自由基。大量研究表明，植物的抗旱性与其体内保护酶系统对活性氧的清除能力直接相关[24]。不同的植物材料、水分胁迫方式及胁迫强度，保护酶活性变化动态是各不相同的，因此许多学者在不同植物上的研究结果颇为不同。本试验中随着土壤水分胁迫的加重，SOD、POD 酶活性上升，CAT 则在轻度干旱时酶活性最高。随着胁迫时间的延长，SOD、CAT 酶活性上升，这可能是圆叶决明在受到干旱胁迫后所产生的一种反馈结果，有利于清除或减少氧自由基的积累，缓解膜脂过氧化；POD 活性在胁迫 10 d 后呈下降的趋势，推测可能是自由基的过量生成，超出了防御系统的清除能力。这时植株对水分胁迫的适应性调节作用虽在减弱，但其活性仍大于胁迫前期的水平。

参考文献：

[1] 王霞，侯平，尹林克. 植物对干旱胁迫的适应机理 [J]. 干旱区研究，2001，18 (2)：42- 46.
[2] 宋松泉，王彦荣. 植物对干旱胁迫的分子反应 [J]. 应用生态学报，2002，13 (8)：1037- 1044.
[3] 应朝阳，吕亮雪，翁伯琦. 草坪草干旱胁迫研究进展 [J]. 福建农业学报，2006，21 (3)：262- 267.
[4] 徐炳成，山仑，李凤民. 半干旱黄土丘陵区五种植物的生理生态特征比较 [J]. 应用生态学报，2007，18 (5)：990- 996.
[5] 邓雄，李小明，张希明，等. 4 种荒漠植物气体交换特征的研究 [J]. 植物生态学报，2002，26 (5)：605- 612.
[6] 郭克贞，何京丽. 牧草抗旱机理与节水灌溉技术研究 [J]. 灌溉排水，1995，14 (3)：20- 23.
[7] 谭云，叶庆生，李玲. 植物抗旱过程中 ABA 生理作用的研究进展 [J]. 植物学通报，2001，18 (2)：197- 201.
[8] 李振武，陈敏健，林忠宁，等. 圆叶决明对土杂鸡生产性能和生化指标的影响 [J]. 福建农业学报，2006，21 (3)：231- 234.
[9] 罗涛，江枝和，翁伯琦，等. 不同用量圆叶决明栽培巨大口蘑对其产量与氨基酸含量的影响 [J]. 中国生态农业学报，2005，13 (3)：65- 68.
[10] 文石林，徐明岗，黄平娜. 红壤丘陵区圆叶决明新品种的适应性研究 [J]. 草业学报，2001，10 (4)：92- 100.
[11] 翁伯琦，黄东风，熊德中，等. 施用硒肥对圆叶决明生长、酶活性及其叶肉细胞超显微结构的影响 [J]. 生态学报，2004，24 (12)：2810- 2817.
[12] 翁伯琦，黄东风，熊德中，等. 硒肥对豆科牧草圆叶决明生长和植株养分含量及其固氮能力的影响 [J]. 应用生态学报，2005，16 (6)：1056- 1060.
[13] 占志雄，邱良妙，傅建炜，等. 不同牧草覆盖枇杷园节肢动物群落的结构和动态 [J]. 福建农林大学学报：自然科学版，2005，34 (2)：162- 167.
[14] 黄毅斌，陈志彤，陈恩，等. 决明属牧草研究进展 [J]. 福建农业学报，2006，21 (3)：257- 261.
[15] HSIAO T C. Plant responses to water stress [J]. Ann Rev Plant Physiol，1973，24：519.
[16] 王爱国，罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系 [J]. 植物生理学通讯，1990，26 (6)：55- 57.

[17] 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 67- 69.

[18] 西北农业大学植物生理生化教研组. 植物生理学实验指导 [M]. 西安: 陕西科技出版社, 1987: 92- 93.

[19] 朱广廉, 钟诲文, 张爱琴. 植物生理学试验 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1990: 242- 248.

[20] 华东师范大学生物系植物生理教研组. 植物生理学试验指导 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1980: 143- 144.

[21] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 165- 167.

[22] 刘正鲁, 朱月林, 胡春梅, 等. 氯化钠胁迫对嫁接茄子生长、抗氧化酶活性和活性氧代谢的影响 [J]. 应用生态学报, 2007, 18 (3): 537- 541.

[23] 韦小丽, 徐锡增, 朱守谦. 水分胁迫下榆科 3 种幼苗生理生化指标的变化 [J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2005, 29 (2): 47- 50.

[24] PRICE A H, HENDRY G A F. Iron catalyzed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals [J]. Plant cell Environ, 1999, 14: 477- 481.

(责任编辑: 翁志辉)