

干旱胁迫下坡柳等幼苗质膜相对透性和脯氨酸含量的变化

陈少瑜¹, 郎南军¹, 李吉跃², 贾利强², 吴丽圆¹, 米方佃³

(1. 云南省林业科学院, 云南昆明 650204; 2. 北京林业大学 资源与环境学院, 北京 100083; 3. 西南林学院, 云南昆明 650224)

摘要: 以金沙江干热河谷主要树种坡柳、银合欢和山毛豆幼苗为材料, 通过盆栽苗自然干旱胁迫, 同时以浇水处理为对照, 探讨了干旱胁迫下三树种幼苗叶片的相对含水量、质膜透性以及脯氨酸含量的变化情况。结果表明, 干旱胁迫后三树种叶片的相对含水量、质膜相对透性以及脯氨酸含量都发生了变化, 只是变化的幅度和进程不同。三项生理指标的综合分析及结合其自然表现, 坡柳具有较强的抗旱能力, 其次为银合欢, 最后是山毛豆。

关键词: 干旱胁迫; 质膜相对透性; 脯氨酸; 抗旱能力

中图分类号: Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2006)01-0080-05

Changes of cytomembrane permeability and proline content in leaves of *Dodonaea viscosa*, *Leucaena leucocephala* and *Tephrosia candida* under drought stress

CHEN Shao-yu¹, LANG Nan-jun¹, LI Ji-yue², JIA Li-qiang²,
WU Li-yuan¹, MI Fang-tian³

(1. Yunnan Academy of Forestry, Kunming 650204, China; 2. College of Resources and Environment, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 3. Southwest Forestry College, Kunming 650224, China)

Abstract: *Dodonaea viscosa*, *Leucaena leucocephala* and *Tephrosia candida* seedlings as materials, the changes of relative water content of leaves, cytomembrane permeability and proline content under drought stress were studied while watering seedlings were as the control. The results indicate that relative water content of leaves, cytomembrane permeability and proline content of three species are all changed under natural drought stress. However, extent and process of the changes are different in species. Integrated analysis on physiological indexes of the three species and their growth and distribution in nature, *D. viscosa* shows the strongest adaptability under drought stress, *L. leucocephala* the second, and *T. candida* the last.

Key words: drought stress; cytomembrane permeability; proline; drought-resistant ability

金沙江干热河谷是我国造林极端困难的少数几个地区之一, 多年造林保存率低于 40%, 如何提高

金沙江干热河谷的造林效率、恢复森林植被及森林生态环境成为近年来许多生态和林业科技工作者的

收稿日期: 2004-11-01 修回日期: 2005-04-16

基金项目: 国家“十五”科技攻关课题(2001BA606A-07-01)[Supported by Key Technologies Research and Development Program of State Tenth Five-Year Plan Project(2001BA606A-07-01)].

作者简介: 陈少瑜(1968-), 女, 广东潮州人, 副研究员, 从事林木生理和遗传方面的工作。

重点研究项目,但研究大多侧重于森林土壤、森林生态、植被恢复技术及光合生理等方面(高洁等,1997;李昆等,1999;马焕成等,2002;张建平等,2001;周麟,1998),而对其主要分布的抗旱树种的抗旱生理特性方面未见研究报道。作为抗旱生理研究重要内容之一,质膜相对透性变化和脯氨酸的抗旱机制的研究受到重视,已见许多抗旱植物的相关研究报道(汤章城等,1986;高玉葆等,1999;Ramamjulu等,2000;Nayyar等,2003)。研究认为植物受到干旱胁迫时,质膜受到不同程度的破坏,其透性会发生变化,而不同的植物及品种质膜透性变化的时间和速率有所不同,脯氨酸是氨基酸中最为有效的渗透调节物质,正常情况下,植物体内的脯氨酸含量较低,干旱胁迫时含量便会大大增高,对维持细胞与环境的渗透平衡、稳定生物大分子的结构具有重要作用。

作者结合国家“十五”攻关“金沙江干热河谷严重生态退化区水土流失综合防治技术研究示范”课题,进行了几种抗旱树种生理特性的探索,本文以坡柳(*Dodonaea viscosa*)、银合欢(*Leucaena leucocephala*)和山毛豆(*Tephrosia candida*)等抗旱树种的实生幼苗为研究材料,测定并分析了在干旱胁迫下,幼苗叶片相对含水量、质膜相对透性和脯氨酸含量的变化,对其抗旱特性进行了初探,为干热河谷造林树种的筛选及其抗旱机理的进一步研究提供科学依据和资料。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

研究以坡柳、银合欢和山毛豆三树种 2~3 年生实生幼苗为实验材料。坡柳为无患子科(Sapindaceae)坡柳属(*Dodonaea* Mill.)灌木或小乔木,幼枝或全株被胶状粘液,是金沙江干热河谷广泛分布的优势乡土树种;银合欢为含羞草科(Mimosaceae)银合欢属(*Leucaena* Benth.)的小乔木或灌木,是干热河谷表现良好的引种树种,耐旱、生长迅速、萌发力强,目前已广泛分布于金沙江干热河谷。山毛豆为豆科(Hoarypea)灰毛豆属(*Tephrosia* Pers.)的灌木状草本,也为金沙江干热河谷的乡土树种,具根瘤,有固氮作用,但分布的盖度不很高。

1.2 实验方法

实验前,将以上三树种 2~3 年生幼苗从实验林场移栽至高 40 cm、内径 30 cm 的花盆内,每盆装红

壤耕作层干土 16 kg,正常水肥管理,缓苗 5 个月后,各树种挑选长势良好的幼苗 20 株,充分连续浇水几天使盆栽幼苗达到水分饱和后,各树种分成两组分别同时进行自然干旱和浇水处理。两种处理的盆苗皆放在露天下,其中自然干旱组在指标测定期间不浇水,而浇水处理组则 2 d 充分浇水 1 次。两种处理皆每 2~3 d 取一次样(具体见表 1 中的取样时间),进行生理指标的测定,至干旱处理组大部分植株萎焉。测定的生理指标有叶片相对含水量、质膜相对透性以及主要渗透物质脯氨酸含量。具体测定方法如下:(1)叶片相对含水量的测定:各树种从两个处理组的 20 个单株中随机剪下叶片(每株 2 片,共 40 片)后立刻称鲜重,然后将它们放在烧杯中,暗中放置 24 h 后称饱和重,之后于鼓风烘箱中 80 °C 烘干 48 h,称干重。各处理分别取样测定三组,取平均值为该次取样植物叶片的相对含水量。公式: $RWC(\%) = (\text{鲜重} - \text{干重}) / (\text{饱和重} - \text{干重}) \times 100\%$ 。

(2)质膜相对透性用电导仪法测定(王韶唐,1987)。具体方法为:取 5 mL 蒸馏水置于 10 mL 试管中,测电导率(E_0);各处理组每单株随机取 0.1 g 叶片,放到蒸馏水中,室温放置 3h,测电导率(E_1);之后煮沸 10 min,测电导率(E_2),通过下公式计算各单株的相对电导率(E),同一处理组内各单株电导率的平均值为此处理组的电导率。各处理分别取样测定三组,平均值为该次取样叶片的电导率。公式: $E = (E_1 - E_0) / (E_2 - E_0)$ 。

(3)脯氨酸含量测定采用磺基水杨酸提取,茚三酮比色法(张殿忠等,1990)。具体步骤如下:每个处理组随机取叶片 0.5 g,用 3%磺基水杨酸研磨提取(终体积为 5 mL),匀浆转入玻璃离心管,沸水浴 10 min,冷却后 3 000 r/min 离心 10 min,取上清 2 mL,加入 2 mL 水、2 mL 冰乙酸和 4 mL 2.5%的茚三酮,沸水浴 60 min,冷却加入 4 mL 甲苯,静置后取甲苯相测定 OD_{520} 值。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对叶片相对含水量的影响

与对照相比,干旱胁迫过程中,各树种叶片的相对含水量皆出现下降的趋势,但不同的树种其下降的时间和速率不同,具体见表 1 和图 1。

表 1 可以看到,三毛豆叶片相对含水量在干旱

胁迫处理的第 9 天开始明显下降,且下降速率较快,由开始胁迫处理的 74.66% 下降到第 15 天的 48.8%,第 15 天时,受胁迫山毛豆叶片的相对含水量仅为对照的 67.2%,下降速率为 2.19% 每天。银合欢叶片相对含水量从胁迫处理的第 13 天开始出现明显下降,由开始的 70.45% 到第 17 天实验结束降到 52.46%,第 17 天胁迫处理为对照的 73.7%,

下降速率为 1.55% 每天。坡柳叶片相对含水量从第 11 天开始下降,但下降速率比较平缓,从开始实验的 66.77% 下降到第 21 天的 45.3%,下降速率为 1.51%,第 21 天胁迫处理为对照的 68.2%。根据各树种胁迫处理后出现叶片相对含水量下降的时间及下降速率,将三个树种叶片的保水能力进行了排序,由强到弱依次为:坡柳、银合欢、山毛豆(表 2)。

表 1 三树种干旱胁迫期间叶片相对含水量的变化

Table 1 Changes of leaf relative water content of 3 species seedlings during drought stress (RWC)(%)

树种 Species	胁迫时间 Water stress time (d)										
	0	4	7	9	11	13	15	17	19	21	
山毛豆(W) <i>Tephrosia candida</i>	74.66±0.48	75.35±1.17	73.17±1.58	72.22±0.94	71.46±1.09	74.68±1.11	72.64±0.46				
山毛豆(D) <i>T. candida</i>	73.27±0.10	74.36±1.31	71.69±0.90	68.64±0.63	63.94±1.72	58.30±0.59	48.80±1.40				
D/W(%)	98.14	98.68	97.78	95.0	89.2	78.1	67.2				
银合欢(W) <i>Leucaena leucocephala</i>	70.70±0.81	70.95±0.79	70.61±0.42	70.77±0.67	71.10±0.61	70.46±0.72	70.87±0.82	71.21±0.24			
银合欢(D) <i>L. leucocephala</i>	70.45±0.61	70.29±0.79	70.45±0.82	70.52±0.67	70.42±0.20	69.50±1.13	58.88±0.42	52.46±2.41			
D/W(%)	99.5	99.1	99.77	99.6	99.0	98.6	85.9	73.7			
坡柳(W) <i>Dodonaea viscosa</i>	66.77±0.47	64.63±0.87	68.21±0.77	66.03±0.47	65.32±0.06	65.43±0.35	65.11±0.26	65.56±0.34	65.83±0.54	66.42±0.41	
坡柳(D) <i>D. viscosa</i>	65.09±1.64	63.56±0.81	65.07±0.39	65.19±0.21	63.86±0.85	59.50±0.10	55.56±0.76	48.92±1.06	46.34±1.06	45.30±1.59	
D/W(%)	97.48	98.1	95.40	98.72	98.5	90.94	82.3	74.6	70.4	68.2	

W:表示浇水处理;D:表示干旱处理;RWC:表示相对含水量。

W: Stands for watering treatment; D: Stands for water stress treatment; RWC: Stands for relative water content.

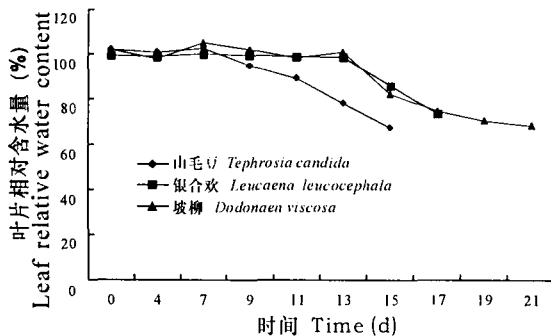


图 1 干旱胁迫期间相对含水量变化

Fig. 1 Changes of leaf relative water content during water stress

2.2 干旱胁迫对质膜相对透性的影响

由图 2 看出,三个树种与各自的对照相比,质膜的相对透性(电导率)都随着胁迫的加深而增大,但增加的速率和幅度不同。其中,山毛豆和银合欢两树种电导率的变化较一致,到胁迫的第 15 天,两树种干旱处理的电导率为对照的 280% 左右,到第 17 天,银合欢的电导率达到了对照的 451.32%,而坡柳的电导率在整个胁迫过程中变化则比较平缓,至

第 21 天才为对照的 201.70%,说明坡柳膜系统抗干旱损伤的能力更强些。

2.3 干旱对脯氨酸含量的影响

在整个干旱胁迫过程中,三树种脯氨酸含量变化的趋势相似,都是胁迫前期含量变化不大,到胁迫后期增加,不同树种增加的速度不同。如图 3 所示,山毛豆和坡柳的脯氨酸含量在胁迫的第 13 天陡然增大,分别为对照的 809.1% 和 366.3%,之后,山毛豆的脯氨酸含量平稳,而坡柳则仍在上升,至第 21 天达到了对照的 2047.8%。银合欢脯氨酸含量的变化在整个胁迫过程中虽然也是上升趋势,但表现得比较平缓,第 15 天为对照 159.3%,第 17 天为对照的 208.7%。

3 小结与讨论

(1)相对含水量指标反映了树木叶片的保水能力,干旱胁迫下,抗旱性强的树种往往比抗旱性弱的树种叶片含水量下降要迟缓,以维持植物体生理生化的正常运转(Marshall 等,2000)。叶片相对含水

量的测定结果表明坡柳叶片具有较强的保水能力，其次是银合欢，最后为山毛豆。也就是说坡柳在减

少失水、保持吸水、保持膨压等综合保水能力方面强于另外两树种。

表 2 三树种叶片保水力的排序

Table 2 Orders for water conservation of 3 species seedlings

树种 Species	RWC 明显下降 Days RWC decreasing obviously	实验结束 The end days	实验结束时(D/W) D/W of RWC in end days (%)	下降幅度 Decrease range (%)	下降速率 Decrease rate (%/day)	保水排序 Orders of keeping water
山毛豆 <i>Tephrosia candida</i>	第 9 天	第 15 天	67.2	32.8	2.19	3
银合欢 <i>Leucaena leucocephala</i>	第 13 天	第 17 天	73.3	26.3	1.55	2
坡柳 <i>Dodonaea viscosa</i>	第 11 天	第 21 天	68.2	31.8	1.51	1

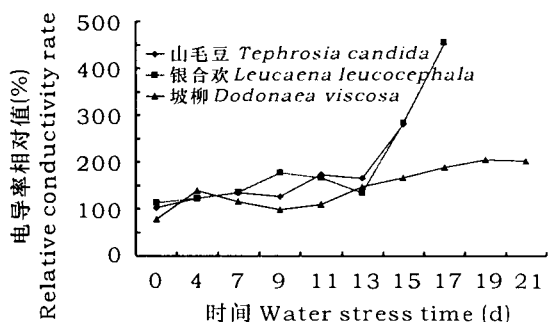


图 2 干旱胁迫对电导率的影响

Fig. 2 Effects of water stress on relative conductivity rate

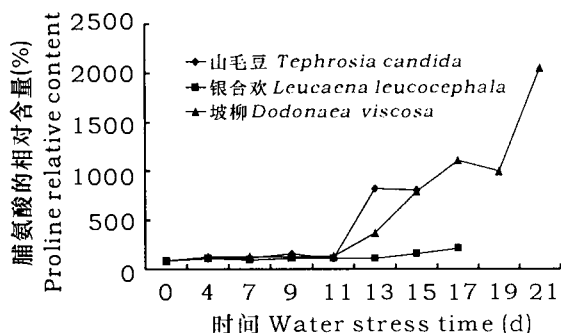


图 3 干旱胁迫对脯氨酸含量的影响

Fig. 3 Effects of water stress on proline relative content

(2)当植物受到干旱胁迫时,质膜受到不同程度的破坏,进而膜的透性(电导率)会增大(王洪春等,1981),不同的植物及品种膜透性变化的时间和速率有所不同,因而常常用测定电导率变化情况的方法来判别植物组织受伤害的程度并作为鉴定其抗旱能力的一个指标,通常耐旱品种比不耐旱品种具有较低的电解质外渗率(刘彦琴等,1997;章崇玲等,2000)。本项研究结果,坡柳的电导率在整个干旱胁迫中变化最为平缓,说明坡柳的膜系统抵御干旱损

伤的能力更强一些。

(3)渗透调节是植物适应干旱胁迫的一种重要的生理机制,植物通过代谢活动增加细胞内的溶质浓度,降低渗透势,维持膨压,从而使体内各种与膨压有关的生理过程正常进行(魏良明等,1997),参与渗透调节的溶质主要有脯氨酸、可溶性糖、甜菜碱等有机溶质和 K^+ 、 Ca^{2+} 等无机离子(周琦,1994),不同植物参与渗透调节的物质不同。其中对于植物体内脯氨酸的积累在植物逆境中的生理意义有大量的研究报道,比如作为细胞渗透调节物质、稳定生物大分子结构(汤章成,1984);在干旱胁迫下植物内源脯氨酸可能具有清除活性氧的作用(蒋明义等,1997)。尽管对于许多植物来说,脯氨酸积累在逆境中的生理作用或生理作用的机理还不完全清楚,但有报道认为在干旱胁迫下脯氨酸含量的升高有利于植物对干旱胁迫的抵抗(汤章成,1984),耐旱品种通常比不耐旱品种具较强的积累脯氨酸的能力。本项研究中,干旱胁迫后,与对照相比各树种幼苗叶片中的脯氨酸含量都有明显的增长,说明脯氨酸在这三种树种干旱胁迫过程中对干旱的抵御有一定的作用。其中又以坡柳最为显著,到实验结束时脯氨酸含量比对照增长了 2 047.8%,坡柳较强的抗旱能力与其较强的脯氨酸积累能力可能有一定关系。

(4)从干旱胁迫后三个树种叶片的相对含水量、质膜透性以及脯氨酸含量变化等方面综合来看,坡柳的抗旱性强于银合欢和山毛豆。这与它在自然界中的分布与生长状况也是相符的,坡柳是金沙江干热河谷的一种乡土树种,广泛分布于干热河谷,说明其有很强的适应干热河谷环境的能力。银合欢是引种树种,目前也广泛分布于干热河谷,长势良好,对干旱、高温环境也表现了很好的适应能力。山毛豆也是金沙江干热河谷的乡土树种,但盖度不是很高,说明它也具有一定的抗旱能力,可是值得重视的是山毛豆具根瘤,其固氮作用对土壤的改良有一定意义。

(5)植物的抗旱性是由多种因素共同作用构成的一个复杂的综合性状,受多种因素的影响,各种因素又存在相互的联系,因此仅仅根据某一方面的指标判断植物的抗旱能力都将是片面的,应从多方面并结合其实际分布及生长状况进行综合评定。本文从干旱胁迫后三个树种叶片的相对含水量、质膜透性以及脯氨酸含量变化等方面对它们的抗旱能力进行了初步探讨,并为进一步的抗旱机理的深入研究提供资料。

参考文献:

- 王洪春. 1981. 植物抗性生理[J]. 植物生理学通讯, 17(2): 72-81.
- 王韶唐. 1987. 植物生理学实验指导[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 149-151.
- 汤章成. 1984. 逆境条件下植物脯氨酸的积累及其可能的生理学意义[J]. 植物生理学通讯, (1): 15-21.
- 周琦. 1994. 作物抗旱生理生态研究[M]. 山东: 科学技术出版社, 84.
- Gao J(高洁), Liu CK(刘成康), Zhang SY(张尚云). 1997. The estimation on drought tolerance of main silvicultural species in the dry-hot river valley of Yuanmou(元谋干热河谷主要造林植物的耐旱性评估)[J]. *J Southwest For Coll* (西南林学院学报), 17(2): 20-29.
- Gao YB(高玉葆), Ren AZ(任安芝), Liu F(刘峰), et al. 1999. Proline accumulation of leaves of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) in response to different types and levels of water stress: a physiological ecology aspect(黑麦草叶内游离脯氨酸含量对于不同类型和强度的水分胁迫的生理生态响应)[J]. *Acta Phytoecol Sin*(植物生态学报), 23(3): 193-204.
- Jiang MY(蒋明义), Guo SC(郭绍川), Zhang XM(张学明). 1997. Proline accumulation in rice seedlings exposed to oxidative stress in relation to antioxidation(氧化胁迫下稻苗体内积累的脯氨酸的抗氧化作用)[J]. *Acta Phytophysiol Sin* (植物生理学报), 23(4): 347-352.
- Li K(李昆), Zheng JM(曾觉民). 1999. A study on transpiration of some tree species planted in hot and arid valley of Jinsha River(金沙江干热河谷主要造林树种蒸腾作用研究)[J]. *For Res*(林业科学研究), 12(3): 244-250.
- Liu YQ(刘彦琴), Zhang FX(张丰雪), Yang MS(杨敏生). 1997. Application of conductance rate in appraising drought-resistance of hybrid clones of white poplar(电导率在白杨杂种无性系耐旱鉴定中的应用)[J]. *Hebei J For Orchard Res* (河北林果研究), (4): 301-305.
- Ma HC(马焕成), Jack A. Mcconchie, Chen DQ(陈德强). 2002. The drought resistance of *Acacia* and *Eucalyptus* in Yuanmou dry-hot valley Yunnan Province(元谋干热河谷相思树种和桉树类抗旱能力分析)[J]. *For Res*(林业科学研究), 15(1): 101-104.
- Marshall J, Rutledge R, Blumwald E, et al. 2000. Reduction in turgid water volume in jack pine, white spruce and black spruce in response to drought and paclobutrazol[J]. *Tree Physiol* 20: 701-707.
- Nayyar H, Walia D P. 2003. Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid[J]. *Biologia Plantarum*, 46(2): 275-279.
- Ramamjulu S, Sudhakar C. 2000. Proline accumulation during dehydration in two mulberry genotypes with contrasting drought tolerance[J]. *Plant Physiol*, 157: 81-87.
- Tang ZC(汤章成), Wang YQ(王育启), Wu YH(吴亚华), et al. 1986. The difference in proline accumulation between the seedlings of two varieties of sorghum with different drought resistance(不同抗旱品种高粱苗中脯氨酸积累的差异)[J]. *Acta Phytophysiol Sin*(植物生理学报), 12(2): 154-162.
- Wei LM(魏良明), Jia LR(贾了然), Hu XA(胡学安), et al. 1997. Advance in studies on the physiology and biochemistry of maize drought resistance(玉米抗旱性生理生化研究进展)[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*(干旱地区农业研究), 15(4): 66-71.
- Zhang CL(章崇玲), Zeng GP(曾国平), Chen JX(陈建勋). 2000. Effects of drought stress on the protective enzymes activities and membrane lipid peroxidation in leaves of *Brassica pardchinensis* L. H. Bailey(干旱胁迫对菜苔叶片保护酶活性和膜脂过氧化的影响)[J]. *J Plant Res Environ*(植物资源与环境学报), 8(4): 23-26.
- Zhang DZ(张殿忠), Wang PH(汪沛洪), Zhao HX(赵会贤). 1990. Determination of the content of free proline in wheat leaves(测定小麦叶片游离脯氨酸含量的方法)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), (4): 62-65.
- Zhang JP(张建平), Wang DJ(王道杰), Yang Z(杨忠), et al. 2001. Study on the increase and decrease of forest area and eco-environmental change in Yuanmou dry-hot valley(元谋干热河谷森林消长与生态环境变化研究)[J]. *J Desert Res*(中国沙漠), 21(1): 79-88.
- Zhou L(周麟). 1998. Initial study on vegetation rehabilitation in Yuanmou dry-hot valley(云南元谋干热河谷植被恢复初探)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报), 18(3): 450-456.