

干旱胁迫及复水对四个白三叶品种叶片保护酶活性的影响

刘海艳¹, 齐孝辉², 韩雪¹

(1. 黑龙江林业职业技术学院, 黑龙江 牡丹江 157011; 2. 东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:以4个白三叶品种为试材,采用温室盆栽,人工梯度控水,结合实验室技术,研究了干旱胁迫下及复水后对白三叶品种叶片保护酶活性的影响。结果表明:干旱胁迫后,4个品种的SOD、POD和CAT活性均随着干旱胁迫时间的延长,呈现先升高后降低的变化趋势;抗旱性强的小黑龙具有较高的SOD、POD和CAT活性。复水后4个品种的SOD、POD和CAT活性,有不同程度的恢复,其中抗旱性强的小黑龙恢复较好。

关键词:白三叶;干旱胁迫;保护酶活性

中图分类号:S 688.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)05-0104-03

白三叶(*Trifolium repens* L.)是豆科三叶草属多年生草本植物,其颜色翠绿,草姿美观,匍匐茎发达,竞争力强,覆盖能力好,护沙固土,固氮。在国内外白三叶草越来越广泛地应用于草坪生产和环境绿化^[1,2]。黑龙江野生白三叶草资源极为丰富,具有观赏价值高,自繁衍生能力强、适应性强、病虫害少、管理粗放、成本低、见效快等优点。所以有必要积极开展野生白三叶植物资源调查研究,加强资源保护和合理开发利用,为城市绿化和丰富人民生活服务。该试验选取黑龙江尚志帽儿山的野生白三叶品种和3个引进的白三叶品种,通过对白三叶不同品种保护酶活性的测定的研究,以期对白三叶资源的抗旱育种及揭示白三叶品种保护酶系统抗旱协同作用机制提供生理学依据,为生产和栽培提供抗旱品种及有效的水资源利用措施将有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

白三叶品种:小黑龙(Mini Black Dragon, 黑龙江,代码YS)、铺地(Pudi, 澳大利亚,代码PD)、瑞文德(Rivendel, 丹麦,代码RD)、考拉(Koala, 澳大利亚,代码KL)。

1.2 试验方法

试验于2008年3月5日在东北农业大学园艺实验站温室进行。挑选籽粒饱满,大小均匀的白三叶种子,经消毒处理后,用蒸馏水清洗3遍,播种于70 cm×

30 cm×10 cm苗箱内,播种量为10 g/m²。出苗15 d后,每盆选取长势大小一致的白三叶10株,移栽到花盆中,花盆直径20 cm,高15 cm,内装土壤2 kg,土壤有机质含量为4.35 g/kg, pH 7.0,随机排列。设对照与处理2组。对照组:正常浇水保证植株旺盛生长,使对照盆钵的土壤含水量不出现大的波动;处理组:进行干旱胁迫。正常管理生长3个月后,于6月20日开始进行干旱处理。干旱胁迫分6个阶段,设停水0、3、6、9、12 d胁迫处理。停水12 d后进行复水,对停水处理12 d的材料进行正常浇水管理3 d。每处理4个重复,随机排列。每个干旱梯度的取样都在上午7:00~8:00左右,此时取样测定各项指标。

1.3 测定指标及方法

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定:采用Giannopolitis和Ries的方法^[3],在560 nm波长下,以每分钟内抑制光化还原50%的氮蓝四唑(NBT)为1个酶活性单位(Unit);过氧化物酶(POD)活性按Jasdanwala的方法测定^[4],在470 nm波长下,以每分钟内变化0.01为1个酶活性单位(Unit);过氧化氢酶(CAT)活性按Chance和Maehly的方法测定^[5],在240 nm波长下,每隔20 s记录读数,共读取4次,以每分钟酶与H₂O₂作用的吸收值变化0.01为1个过氧化氢酶活力单位(Unit)。每一种酶活性都以蛋白质为基数表示,地上部叶片蛋白的提取采用Bradford的方法^[9]。该试验原始数据的整理采用Excel软件完成。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对白三叶品种细胞内SOD活性影响

超氧化物歧化酶(SOD)能催化超氧阴离子自由基的歧化反应产生无毒分子氧和过氧化氢,控制脂质氧

第一作者简介:刘海艳(1982-),女,本科,助教,现从事草坪建植与养护课程的教学工作。E-mail: hanxue198162@163.com。

收稿日期:2009-11-23

化,减小干旱胁迫造成的膜系统伤害^[6]。从图 1 可看出,干旱胁迫处理后,4 个品种 SOD 活性的动态变化趋势基本相同,均有一个先升高后降低的趋势。在干旱胁迫的初期,4 个品种 SOD 活性均有缓慢增加,在干旱胁迫第 6 天时,KL 品种的 SOD 活性达到了最大值,其它 3 个品种继续大幅度升高。随干旱胁迫时间的延长,在干旱处理的 6~9 d 期间变化最大,KL 品种的 SOD 活性在干旱胁迫的第 6 天后开始下降,其它 3 个品种超氧化物歧化酶的活力持续增加,在干旱胁迫的第 9 天时,表现最高活性,此时 YS 品种的 SOD 活性高于其它 3 个品种,此后 SOD 活性开始下降。说明在一定干旱程度下,各品种是通过提高 SOD 保护酶活性,加强活性氧清除来适应干旱胁迫,而此时的干旱程度,KL 的 SOD 活性已经超出了其保护膜系统受到的伤害范围。复水后各品种的 SOD 活性略有下降,其中 YS 品种的 SOD 活性最接近对照水平,其它各品种的 SOD 活性均低于对照水平。

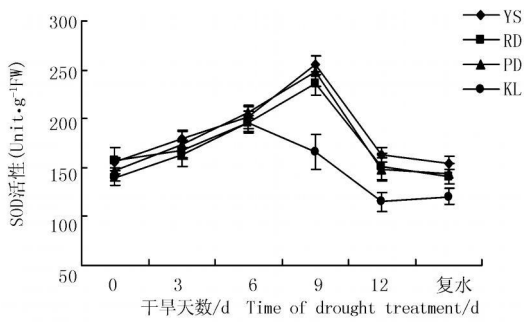


图 1 不同干旱处理下 4 个白三叶品种 SOD 活性的变化

2.2 干旱胁迫对白三叶品种细胞内 POD 活性的影响

由于不同植物本身的抗旱能力不同,POD 活性变化幅度存在很大差别,故可以将干旱胁迫条件下 POD 活性变化幅度作为品种间抗旱能力判断的生理指标^[7]。从图 2 可以看出,随着土壤含水量的下降,各品种 POD 活性的变化趋势基本相同,均呈现先增加后降低的趋势。在干旱胁迫初期,POD 活性增加较慢,品种间差异较小。干旱胁迫 3 d 后,POD 活性大幅度增加;在干旱胁迫的第 6 天时,4 个品种 POD 活性均达到最大值。随着干旱胁迫强度的进一步增加,4 个品种 POD 活性都表现出大幅度下降的趋势,在干旱胁迫第 12 天时,各品种 POD 活性降低到最低点。复水后,各品种细胞内过氧化物酶活性均有不同程度的上升,但上升幅度都很小,其中 KL 品种上升幅度最小,YS 品种高出对照水平, RD、PD 品种略低于对照水平。

2.3 干旱胁迫对 4 个白三叶品种细胞内 CAT 活性的影响

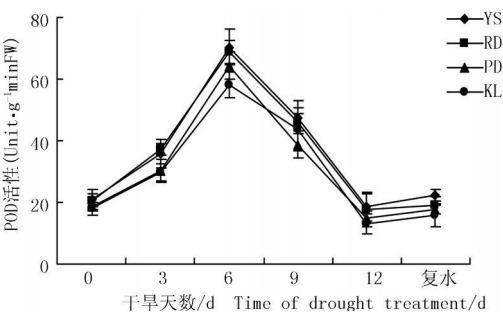


图 2 不同干旱处理下 4 个白三叶品种 POD 活性的变化

影响

过氧化氢酶(CAT)可清除植物体内的 H₂O₂,使需氧生物体免受 H₂O₂ 的毒害,使活性氧维持在一个较低水平上,可以减缓活性氧积累降低膜脂过氧化水平及其它伤害过程的发生,使植株维持较正常的生长发育,过氧化氢酶(CAT)在植物抗性中可能发挥重要作用^[8]。由图 3 可知,在整个干旱胁迫过程中,4 个品种的 CAT 活性变化各不相同。在干旱胁迫处理的前 3 d,YS 和 RD 品种 CAT 活性大幅度升高,其中 YS 品种升高幅度大于 RD;PD 和 KL 品种 CAT 活性缓慢下降。随着干旱胁迫程度的加重,总体都呈下降趋势,且下降幅度逐渐增大。在干旱胁迫第 12 天时,4 个品种 CAT 活性都达到了最低值,但 YS 品种 CAT 活性仍然高于其它 3 个品种,PD 和 RD 活性比较低,KL 居中,说明 YS 在保护膜系统免受自由基伤害上强于其它 3 个品种。复水后,4 个品种的 CAT 活性都有不同程度的上升,其中只有 YS 品种 CAT 活性恢复到对照水平,其它 3 个品种恢复幅度较小。

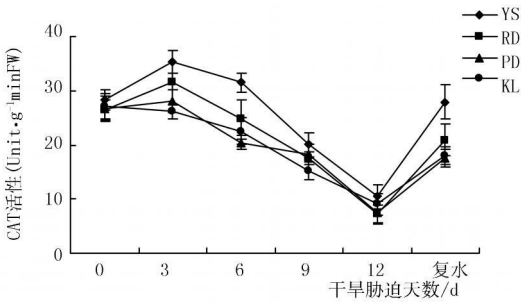


图 3 不同干旱处理下 4 个白三叶品种 CAT 活性的变化

3 结论与讨论

在正常生长状态下的 4 个白三叶品种的 SOD 活性存在着显著差异,其中 RD 和 YS 品种的 SOD 活性较高,PD 和 KL 品种的 SOD 活性低。干旱胁迫处理后,4 个品种 SOD 活性动态变化的趋势基本相同。在整个水

分动态变化过程中,在 SOD 活性的变化曲线上,KL 的 SOD 活性一直低于其它 3 个品种,变化幅度最小,而 YS 均高于其它 3 个引进品种,变化幅度最大。说明在变水条件下,YS 品种 SOD 活性响应积极,具有相对较强清除活性氧和修复适应能力。

随着干旱胁迫时间的延长,4 个品种细胞内 POD 活性变化趋势基本相同,均呈现先增加后降低的趋势。在整个干旱胁迫过程中,YS 品种 POD 活性变化的幅度最大,在 POD 活性的总体变化曲线上一直高于其它 3 个品种,KL 品种 POD 活性变化的幅度最小,RD 和 PD 品种变化幅度居中。说明 YS 品种 POD 保护酶能在干旱胁迫的情况下保持较高的活性。复水后,4 个品种的过氧化物酶活性均有不同程度的上升,但上升幅度都很小,其中 YS 品种的 POD 活性恢复的最好,其它 3 个品种均未达到干旱处理前的活性水平。

在正常生长状态下,4 个品种细胞内 CAT 的基础活性存在显著差异。在干旱胁迫处理的前 3 d,YS 和 RD 品种 CAT 的活性大幅度升高,其中 YS 品种升高幅度大于 RD;PD 和 KL 品种 CAT 活性缓慢下降。随着干旱胁迫时间的延长,CAT 的活性总体都呈下降趋势,且下降幅度逐渐增大。在干旱胁迫到第 12 天时,4 个品种细胞内 CAT 的活性都达到了最低值,但 YS 品种 CAT 的活性仍然高于其它 3 个品种,PD 和 RD 较低,KL 居中。复水后,4 个品种细胞内 CAT 的活性都有不同程度的上升,其中只有 YS 品种的细胞内 CAT 活性恢复到对照水平,其它 3 个品种恢复幅度都较小。

干旱胁迫处理后,4 个品种的 SOD、POD 活性均随

着干旱处理时间的延长,呈现先升高后降低的变化趋势,但各品种的变化幅度不同;在整个干旱胁迫过程中,YS 的 SOD、POD 活性始终高于其它品种。在干旱胁迫处理的前 3 d,YS 和 RD 品种的 CAT 活性升高;PD 和 KL 品种 CAT 的活性缓慢下降,随着干旱胁迫程度的加重,总体都呈下降趋势,但 YS 品种 CAT 的活性仍然高于其它品种,酶活性的大小与品种的特性有关,活力的持久性才能更体现品种的抗旱性。

参考文献

- [1] 蔡海露,李旭辉,王洁琼,等.白三叶绿化草坪的建植与养护[J].农业服务,2007(1):97-98.
- [2] 陈志彤,应朝阳,林永生,等.白三叶的栽培技术与利用价值[J].福建农业科技,2005(6):45-46.
- [3] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase [J]. Occurrence in higher Plant [J]. Plant Physiol, 1977, 59(2): 309-314.
- [4] Jasdarwala R T, Singh Y D, Chiony J J. Auxin metabolism in developing cotton hairs [J]. J. Exp. Bot, 1997, 28: 1111-1116.
- [5] Chance B, Maehly A C. Assay of catalase and peroxidase [J]. Meth. Enzymol, 1955(2): 764-775.
- [6] 毕会涛,黄付强,邱林,等.干旱胁迫对灰枣保护性酶活性及膜脂过氧化的影响[J].中国农学通报,2007,23(2):151-155.
- [7] 杨占彪.兰州市南北两山四种绿化树种抗旱特性研究[D].兰州:甘肃农业大学硕士学位论文,2006.
- [8] 沈秀瑛,徐卉昌,戴俊英.干旱对玉米叶 SOD、CAT 及酸性磷酸酯酶活性的影响[J].干旱地区农业研究,2005,23(1):56-60.
- [9] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Anal. Biochem, 1976, 72: 248-254.

Effect of Drought and Water Recovers on Protective Enzymes Activities of 4 White Clovers

LIU Hai-yan¹, QI Xiao-hui², HAN Xue¹

(1. Heilongjiang Forestry Vocational Technical College, Mudanjiang, Heilongjiang 157011; 2. Horticulture College of Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: 4 cultivars white clover were used in this experiment. They were planted in pots in a greenhouse and the atmospheric humidity was artificially controlled. Protecting Enzyme Activity of 4 Cultivars white clover under drought stress and water recovers. The results indicated that under drought stress, SOD, POD, CAT activity of 4 cultivars with the drought treatment time prolonged showed first increasing then decreasing. Drought resistance of the Mini Black Dragon have a high SOD, POD and CAT activity. After water again, SOD, POD, CAT activity of the cultivars intracellular in varying degrees of recovery, which Mini Black Dragon recover better.

Key words: white clover; drought stress; protecting enzyme activity