

水分胁迫对油茶苗生理生化特性的影响

刁兆龙, 陈辉*, 冯金玲, 刘伟, 王遥

(福建农林大学林学院, 福州 350002)

摘要: 选择一年生油茶优良闽 43 嫁接苗为试验材料进行水分胁迫处理, 在不同时期测得的土壤含水率作为不同处理组, 研究其生理生化指标, 并作出显著性水平分析。结果表明, 叶绿素含量和 POD 活性表现出先上升后下降的趋势, 在胁迫 35 d 时分别达到最大值 $2.16 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $4.91 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 。丙二醛、游离脯氨酸含量和可溶性糖含量整体上表现出逐渐上升的趋势, 并都在胁迫 75 d 时达到最大值, 分别为 $11.64 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $347.90 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.261 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。可溶性蛋白则表现出逐渐下降的趋势, 在胁迫 75 d 时降至最低值 $4.77 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。综上所述, 油茶苗在轻度胁迫时期 (15~25 d) 能够正常生长, 中度胁迫时 (25~45 d) 出现抗逆机制, 重度胁迫时 (45~75 d) 则发生枯萎直至死亡。持续干旱的油茶苗最好能够及时浇水, 以免影响油茶的正常生长。

关键词: 油茶苗; 水分胁迫; 生理生化指标

中图分类号: S727.32

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2014)04-0642-05

Effects of drought stress on physiological and biochemical characteristics of *Camellia oleifera* seedlings

DIAO Zhaolong, CHEN Hui, FENG Jinling, LIU Wei, WANG Yao

(School of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002)

Abstract: One-year-old grafted seedlings of Min-43, one of the excellent species in Fujian province were used in a drought stress test. Different soil moisture contents determined in different periods were used to analyze some physiological and biochemical characteristics of *C. oleifera* seedlings. The results were as follows. Under drought stress condition, chlorophyll content and POD activity in *Camellia oleifera* seedlings at first increased, then decreased. They reached the maximum values of $2.16 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ and $4.91 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, respectively at the 35th days after the drought stress. The content of MDA, free proline, and soluble sugar were increasing in general and reached the highest values of $11.64 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$, $347.90 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ and $0.261 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively at the 75th days, while the soluble protein content was decreasing to the lowest value of $4.77 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ at the 75th days. In conclusion, *C. oleifera* seedlings grew well under the mild drought stress for 15 to 25 days. Under the moderate drought stress for 25 to 45 days, the drought resistance in the plant was induced; under the severe drought stress for 45 to 75 days, the seedlings withered and eventually died. It is important that *C. oleifera* seedlings should be watered on time; otherwise their growth will be affected.

Key words: *C. oleifera* seedlings; drought stress; physiological and biochemical indicators

油茶 (*Camellia oleifera* Abel.) 为世界四大木本油料植物之一, 主要分布于我国秦岭、淮河以南大部分地区, 日本、东南亚有少量分布^[1]。随着国家把食用油安全上升到国家战略的高度^[2], 木本植物油尤其是茶籽油逐渐受到国家的重视, 继而出台了

《全国油茶产业发展规划 (2009-2020)》, 极大的促进了中国油茶产业的发展速度。关于油茶干旱胁迫的研究已有油茶容器苗的保存^[3]、油茶苗的移栽^[4]等, 作者希望通过研究油茶在长期干旱过程中的抗旱机理, 为大田种植的油茶在干旱时期寻找合理的

收稿日期: 2014-02-10

基金项目: 福建省科技平台项目 (2010N2001), 福建省高校产学研重大项目 (2010N5006) 和福建省油茶种苗攻关项目 (hx09007) 共同资助。

作者简介: 刁兆龙, 硕士研究生。E-mail: diaozhaolong@163.com

* 通信作者: 陈辉, 教授。E-mail: zjchchenh@163.com

复水时期提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 供试苗木

试验苗为罗源国有林场苗圃地选择的闽系列优株闽 43 年生油茶嫁接苗。嫁接苗的穗条采自桐口国有林场华南工区种质资源圃中 28 年生的普通油茶优株闽 43 成熟林。嫁接苗所用砧木由普通油茶采集的茶果萌发的根茎提供。

1.2 研究方法

1.2.1 处理 试验采用控制水分的方法,对油茶苗进行水分胁迫,通过提前编号并设置相应干旱时段来进行试验,包括对照(0 d)、P1(15 d)、P2(25 d)、P3(35 d)、P4(45 d)、P5(55 d)、P6(65 d)、P7(75 d)共 8 个处理,其中对照组 7 盆,试验组每个处理 1 盆,每盆种植油茶苗 7 棵。

试验场地选择在福建省油茶工程技术研究中心实验室后院的空地上,搭架后用透明薄膜遮雨,控制水分。油茶种植基质为偏酸性红壤土,并选取粒径基本一致的土壤,倒入花盆,土面与盆口保持 5 cm 高左右。试验苗为裸根苗,由罗源国有林场苗圃地取出运至实验室,当天移栽到花盆里。浇透水后,适应一个月。在 7 月 1 日正式试验之前,一次性浇透水(水分从盆底溢出为止)后停止供水,对照组正常每隔 5 d 浇水 1 次,试验组 15 d 后开始测量,每隔 10 d 相应时期的苗木进行测量,并持续至 75 d。对照组从 15 d 至 75 d,每隔 10 d 测 1 次,与试验组相对应。

1.2.2 测定方法 (1)田间土壤最大持水量。环刀法:环刀 3 个装满土后,盖子封口并用胶带封牢,放入盛水的容器内吸水 1 d。次日拿出后,取出用吸水纸拭净表面的水分,转移到铝盒内天平称重 W 。放入烘箱 105℃ 烘干 12 h 左右并重复称重,直至干土恒重 W' 。

$$\text{田间土壤最大持水量} = \frac{W - W'}{W'} \times 1000$$

(2)土壤含水率。测量试验土壤持水量,直接用取土器取出花盆表土以下 10 cm 层的土壤,用铝盒称重 20 g 鲜土,烘箱 105℃ 烘干 12 h 左右并重复称重,直至干土恒重 w 。

$$\text{土壤持水量} = \frac{20 - w}{w} \times 1000$$

土壤含水率=(土壤持水量/田间土壤最大持水量)×100%

(3)生理生化指标测定 将花盆编号为 0, 1,

2, ..., 7, 8 个编号的花盆用于测量生理生化指标,其中 0 号 7 盆。“1, 2, ..., 7”分别在干旱 15 d、25 d、35 d、45 d、55 d、65 d 和 75 d 剪取。“0”号则每次在对应的胁迫时间剪取 1 盆。在指定的日期对指定的油茶苗的叶片进行剪取,并放入编好号的自封袋内超低温冰箱保存备用。

叶绿素含量。从超低温冰箱中取出叶子,每个编号称取 0.2×3 g 去掉叶脉的叶片,95%乙醇研磨过滤,再用 95%乙醇定容至 25 mL 后采用分光光度法^[5]测定。

POD 活性。超低温冰箱取出叶子,每个编号称取 0.5×3 g 去掉叶脉的叶片,20 mmol·L⁻¹ KH₂PO₄ 冰浴研磨后定容至 10 mL,于 4℃ 10000 r·min⁻¹ 离心 15 min,分离上清液后采用愈创木酚法^[6]测定。

丙二醛含量。超低温冰箱取出叶子,每个编号称取 0.3×3 g 去掉叶脉的叶片,5 mL 5% TCA 冰浴研磨后,于 3000 r·min⁻¹ 离心 15 min 分离上清液后采用硫代巴比妥酸法^[6]测定。

游离脯氨酸含量。超低温冰箱取出叶子,每个编号称取 0.3×3 g 去掉叶脉的叶片,3%磺基水杨酸研磨后定容至 10 mL,80℃ 水浴提取 20 min 后采用茚三酮显色法^[5]测定。

可溶性蛋白含量。超低温冰箱取出叶子,每个编号称取 0.5×3 g 去掉叶脉的叶片,50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH7.8)内含 1%聚乙烯吡咯烷酮作为提取介质进行冰浴研磨后定容至 10 ml。取 5 ml 提取液于 4℃ 10000 r·min⁻¹ 离心 15 min,分离上清液后采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[6]测定。

可溶性糖含量。超低温冰箱取出叶子,每个编号称取 0.5×3 g 去掉叶脉的叶片,剪碎放入 50 mL 三角烧瓶,加蒸馏水 20 mL 封口后于沸水浴中提取 30 min,冷却过滤并定容至 100 mL 后采用蒽酮比色法^[5]测定。

1.3 数据分析

试验数据用 Kingsoft Excel 2013 进行数据及图表处理,用 DPS14.0 软件进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫对油茶苗叶绿素的影响

叶绿体是植物进行光合作用的场所,叶绿素是参与光合作用的主要色素。通过观察叶绿素含量的变化,可以了解植物体进行光合作用的强弱^[7]。因此,在水分胁迫中,叶绿素含量是一个非常重要的指标。图 1 可以看出,整个水分胁迫时期,叶绿素的含量整体呈现先上升后下降的趋势。研究测得

结果：P1~P3 时期，试验组的叶绿素含量由 1.18 mg·g⁻¹ 增长到了 2.16 mg·g⁻¹，达到最高点后开始下降。降至 P5 时期的 1.46 mg·g⁻¹ 略高于同时期对照组的 1.35 mg·g⁻¹ 之后则低于对照组并继续降低至 P7 时期最小值 0.98 mg·g⁻¹。显著性水平分析显示，试验组整个时期与同时期的对照组比较均表现差异极显著 ($P<0.01$)。

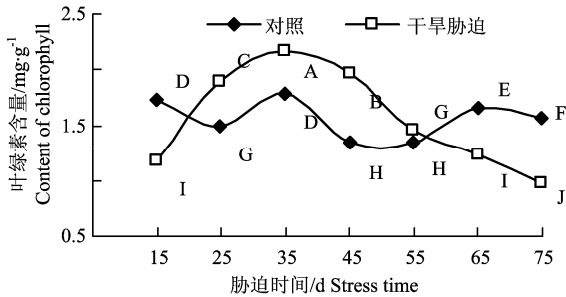


图 1 油茶苗叶绿素含量与胁迫时间

Figure 1 Chlorophyll content in *C. oleifera* seedlings and drought stress time

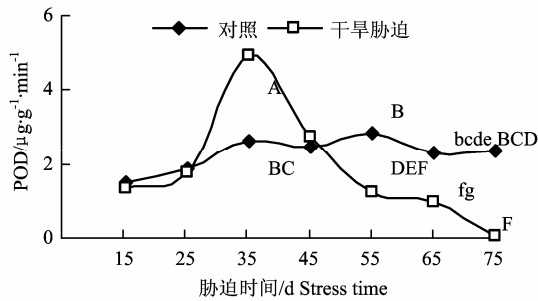


图 2 油茶苗 POD 活性与胁迫时间

Figure 2 POD activity in *C. oleifera* seedlings and drought stress time

2.2 水分胁迫对油茶苗 POD 活性的影响

植物体内 POD 作为解毒物质,用于分解过氧化氢^[8],防止其对细胞的氧化,以减少对机体的损害,过氧化氢是植物体在抗逆境过程中产生的代谢物。通过测量 POD 的活性,可以判断出植物体受到水分胁迫的程度。研究测得:在水分胁迫下,POD 活性的整个变化过程呈现先升高后降低的趋势,且随着胁迫程度的加重,POD 活性接近失活。其中在 P3 时期,试验组的 POD 活性达到最大值 4.91 μg·g⁻¹·min⁻¹,比同期对照组的活性高出 85.74%;在 P4 时期,试验组的 POD 活性降至略高于同期对照组的活性后继续降低,并逐渐降至 P7 时期的最低值 0.07 μg·g⁻¹·min⁻¹(见图 2)。显著性水平分析显示,P3、P5 和 P7 时期的试验组 POD 活性与同期对照组比较差异极显著 ($P<0.01$),P6 时期的试验组 POD

活性与同期对照组比较差异显著 ($P<0.05$)。其他时期试验组与对照组比较差异不显著。

2.3 水分胁迫对油茶苗 MDA 的影响

MDA 是植物抗逆境的产物,通常用于判断膜系统的损伤程度。通过对油茶苗 MDA 含量测定结果显示:试验组油茶苗在水分胁迫的各个时期,MDA 整体随胁迫程度的加剧而增加(见图 3),含量由 P1 时期的最小值 4.04 mmol·g⁻¹,到 P7 时期的最大值 11.64 mmol·g⁻¹,增加了 2.88 倍。各个胁迫时期 MDA 含量与同期对照组相比分别增长了 12.33%、0.72%、35.31%、31.28%、48.76%、88.24% 和 172.15%。显著性水平分析显示,P6、P7 时期的试验组 MDA 含量与同期对照组比较差异极显著 ($P<0.01$),P5 时期的试验组 MDA 含量与同期对照组比较差异显著 ($P<0.05$),其他时期试验组与对照组比较差异不显著。

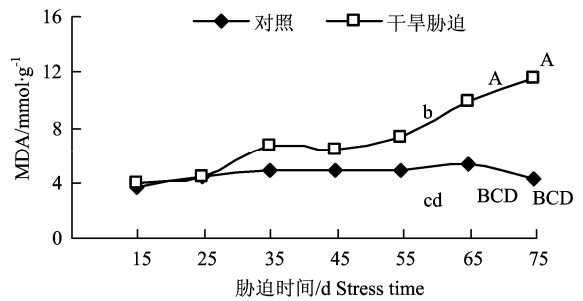


图 3 油茶苗 MDA 含量与胁迫时间

Figure 3 MDA content in *C. oleifera* seedlings and drought stress time

2.4 水分胁迫对油茶苗游离脯氨酸的影响

游离脯氨酸在植物体内主要起到维持细胞渗透压平衡的作用^[9]。水分胁迫使细胞失水,打破了渗透压的稳定,游离脯氨酸的含量也会有所积累,并且水分散失的越多,脯氨酸积累的就越多。由图 4 可见,游离脯氨酸的含量整体呈逐渐增长的趋势,在 P6~P7 时期含量急剧增加。研究测得:P1 时期,试验组的游离脯氨酸含量最小为 109.04 μg·g⁻¹,比同期对照组高出 40.3%;P7 时期的游离脯氨酸含量最大达到了 347.90 μg·g⁻¹,比同期对照组高出 309.87%,P7 时期的游离脯氨酸含量比 P1 时期增加了 3.19 倍。其中,P2 时期到 P3 时期含量略微有所下降,分别为 152.87 μg·g⁻¹ 和 147.50 μg·g⁻¹,在这之后则持续增加。显著性水平分析显示,试验组整个时期与同时期的对照组比较均表现差异极显著 ($P<0.01$)。

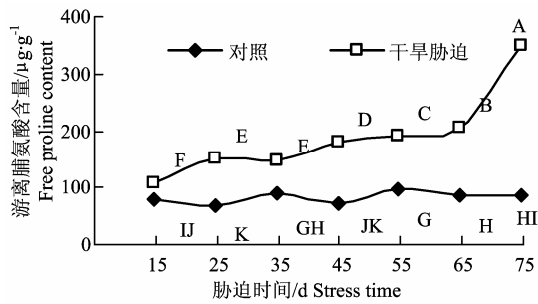


图 4 油茶苗游离脯氨酸与胁迫时间

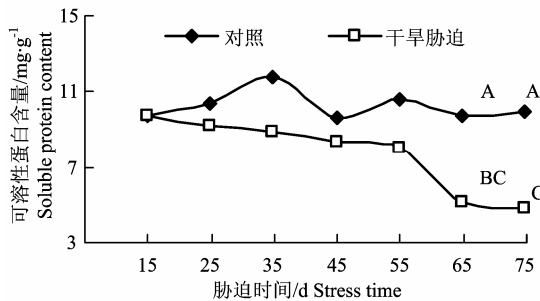
Figure 4 Free proline content in *C. oleifera* seedlings and drought stress time

图 5 油茶苗可溶性蛋白含量与胁迫时间

Figure 5 Soluble protein content in *C. oleifera* seedlings and drought stress time

2.5 水分胁迫对油茶苗可溶性蛋白的影响

可溶性蛋白在植物胁迫中,也是一个重要的考量指标。图 5 显示,油茶苗水分胁迫试验组的可溶性蛋白的含量整体低于对照组,在 P1 时期,可溶性蛋白含量基本与对照组相当。试验组整体呈下降的趋势。研究测得:干旱胁迫使油茶苗可溶性蛋白含量从 P1 时期的 $9.7 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 下降至 P7 时期的 $4.77 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,整个胁迫时期,试验组的可溶性蛋白含量比对照组分别减少了 0.11%、11.84%、24.39%、13.33%、24.23%、47.52%和 51.91%。显著性水平分析显示, P6 和 P7 时期的可溶性蛋白含量与同期对照组比较差异极显著 ($P<0.01$),其他时期试验组

与对照组比较差异不显著。

2.6 水分胁迫对油茶苗可溶性糖的影响

可溶性糖在植物细胞中同样作为渗透调节物质,在胁迫试验中作为参考指标被测量。在油茶苗整个水分胁迫过程中可溶性糖的含量表现为逐渐上升的趋势(见图 6)。研究测得: P1 时期,试验组可溶性糖含量最小为 $0.103 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,较同时期对照组的 $0.118 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 略小。随着胁迫程度的不断加剧,可溶性糖含量逐渐升高,并在 P7 时期,其含量达到最大值 $0.261 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。整个胁迫时期可溶性糖含量较同期对照组增加了一 12.71%、55.21%、63.96%、113.19%、171.62%、138.71%和 196.59%。显著性水平分析显示,试验组整个胁迫时期与同时期的对照组比较均表现差异极显著 ($P<0.01$)。

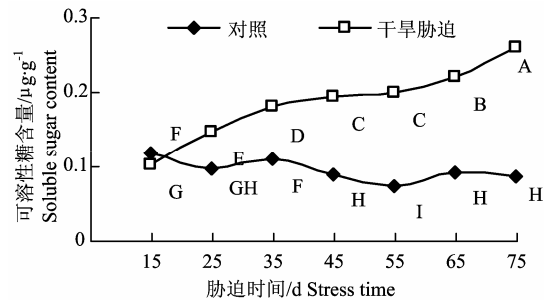


图 6 油茶苗可溶性糖与胁迫时间

Figure 6 Soluble sugar content in *C. oleifera* seedlings and drought stress time

2.7 水分胁迫下土壤含水率的变化情况

土壤含水率测量的结果如表 1。从表 1 可以看出,随着人为控水时间的延长,花盆中土壤水分含量呈现逐渐下降的趋势,而油茶苗各生理生化指标的变化正是由于土壤含水率的变化所致。随着土壤含水率的不断减少,水分胁迫程度逐渐加剧,导致油茶苗叶片各指标随之改变。

表 1 油茶苗水分胁迫试验时间与土壤含水率

Table 1 Stress time and soil moisture content

胁迫时间/d Stress time	15	25	35	45	55	65	75
土壤含水率/% Soil moisture content	57.18	48.25	45.12	41.53	39.02	34.55	25.14

3 小结与讨论

本试验中,随着土壤含水率的不断降低,水分胁迫程度不断加剧,试验组油茶苗各指标较同期对照组均表现显著、极显著水平。通常认为植物随着水分胁迫的加剧,叶绿素含量会不断的减少^[10-12]。

而本试验结果表明,油茶在 P1~P3 时期,叶绿素含量不降反升,从 P3 时期叶绿素含量才开始逐渐下降。再次验证了油茶是耐旱耐瘠薄树种^[1],在干旱的初期可以通过自身的机制调节适应逆境。POD 活性先上升后降低的变化则与曹志华等^[4]关于油茶苗、张冬梅^[13]关于佛甲草 (*Sedum lineare* Thunb.)

和陈庆华^[14]关于大豆 (*Glycine max*) 受水分胁迫时的 POD 活性变化的研究结果一致。MDA 含量的变化表明, 油茶苗苗木在水分胁迫 P1~P5 时期膜系统受损较轻, MDA 含量上升缓慢, P5~P7 时期细胞膜遭到严重破坏, 内含物大量渗出, 导致 MDA 含量急剧升高, 这与马书燕等^[15]关于柔枝松幼苗 (*Pinus flexilis*) 在受到水分胁迫时 MDA 含量变化的结论一致。油茶苗游离脯氨酸含量总体上升的变化结果与刘玉英^[16]的研究结果一致。有研究表明, 随着水分胁迫的加剧, 植物可溶性蛋白含量呈增加的趋势, 但也有表明可溶性蛋白含量随着胁迫的加剧含量逐渐下降^[10], 这与本试验的结果一致, 干旱使油茶苗体内蛋白质的合成受阻, 可溶性蛋白含量总体上呈现逐渐下降的趋势。可溶性糖含量在油茶苗水分胁迫试验中, 由于细胞膜的破坏使渗透调节物质含量随着水分的散失总体呈现上升的趋势, 这与刘玉英^[16]的研究结果一致。

通过分析以上各指标在水分胁迫过程中的数据变化可以推断, 油茶苗在水分胁迫过程中, 叶绿素含量、POD 活性呈现先上升后下降的趋势, MDA 含量、游离脯氨酸含量和可溶性糖含量呈现逐渐上升的趋势, 可溶性蛋白含量呈现逐渐下降的趋势。土壤含水率在 57.18%~48.25% (如表 1) 之间 (即水分胁迫 15 d 至 25 d) 时, 属于轻度干旱水平, 此胁迫时期对于油茶苗的影响很小。在时土壤含水率为 48.25%~41.53% 之间 (即 25 d 至 45 d) 时属于中度干旱水平, 这一时期油茶苗表现出了较为复杂的变化过程。在 41.53%~25.14% 之间 (即 45 d 至 75 d) 时的土壤含水率属于重度干旱水平, 这段时期的油茶苗叶片出现干瘪萎缩, 并向枯萎转变。数据上, 则表现出剧烈的变化, POD 活性迅速地降至最低点直至失活, 丙二醛含量、游离脯氨酸和可溶性糖含量均有较大幅度的增长, 可溶性蛋白含量降低明显。也说明了这段时期的油茶苗的生长状况非常严重。综上, 说明油茶是一类抗旱性很强的树种, 但仍有一定的耐旱极限。上山种植时, 遇到长时期干旱情况, 仍需及时浇水。

参考文献:

- [1] 庄瑞林. 中国油茶[M]. 北京: 中国林业出版社, 2008.
- [2] 潘学清. 食用油安全上升到国家战略高度[EB/OL]. 农博种业 (2008.5.12)[2013.12.22]. <http://Seed.aweb.com.cn/2008/0512/104850140.shtml>.
- [3] 胡娟娟, 曹志华, 束庆龙, 等. 失水程度及基质重对油茶容器苗生长和生理特性的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2012, 39(2): 243-246.
- [4] 曹志华, 张四七, 刘春, 等. 油茶移栽苗失水程度对生理生化特性的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38(3): 444-447.
- [5] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [6] 孙群, 胡景江. 植物生理学研究技术[M]. 杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2006.
- [7] 邱磊, 申晓慧. 大豆不同时期不同节位叶绿素含量的研究[J]. 黑龙江农业科学, 2009(1): 26-28.
- [8] 南芝润, 范月仙. 植物过氧化氢酶的研究进展[J]. 安徽农学通报, 2008, 14(5): 27-29.
- [9] 林金科. 水分胁迫对茶树光合作用的影响[J]. 福建农业大学学报, 1998, 27(4): 423-427.
- [10] 赵雅静, 翁伯琦, 王义祥, 等. 植物对干旱胁迫的生理生态响应及其研究进展[J]. 中国稻麦科技, 2009(2): 45-50.
- [11] 王新建, 何威, 杨淑红, 等. 干旱胁迫下 4 种楸树嫁接苗叶绿素含量的变化[J]. 经济林研究, 2008, 26(1): 20-24.
- [12] 庞艳梅. 水分胁迫对大豆生长发育、生理生态特征及养分运移的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008: 16-18.
- [13] 张冬梅. 干旱胁迫下佛甲草生理生化变化的研究[J]. 河北林果研究, 2007(2): 207-209.
- [14] 陈庆华. 干旱胁迫对大豆苗期叶片保护酶活性和膜脂过氧化作用的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(14): 6396-6398.
- [15] 马书燕, 李吉跃, 彭祚登. 干旱胁迫对柔枝松幼苗丙二醛含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(4): 2099-2100.
- [16] 刘玉英, 徐泽, 罗云米. 干旱胁迫对不同茶树品种生理特性的影响[J]. 西南农业学报, 2010, 23(2): 387-389.