

## 白刺花幼苗抗旱与耐寒协同响应的生理生化评价

吴丽芳, 魏晓梅\*, 蔡建

曲靖师范学院生物资源与食品工程学院/云南省高校特色果酒技术创新与应用工程研究中心, 云南曲靖 655011

**摘要:** 为探讨白刺花幼苗抗旱与耐寒协同响应的生理生化适应机制, 以白刺花实生苗为材料, 采用盆栽自然干旱及人工控温方法, 分析幼苗抗旱生理, 再以人工低温处理对白刺花抗氧化酶系、细胞膜损伤以及渗透调节的影响。结果表明: 自然干旱胁迫下, 白刺花叶片相对含水量随着干旱时间的增长显著减小, 复水后 2 d 又能恢复生长; 适度的干旱有利于光合色素的积累, 严重时光合色素含量反而降低; 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 3 种保护酶随着干旱时间的延长呈先升后降变化, SOD 和 POD 活性 8 d 时达到峰值, 分别为 458.85、5.30 U/g, 比对照增加 142.53%、68.25%。丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量随干旱增强呈缓慢上升的趋势, 15 d 达到高峰, 峰值为 6.20 mmol/g, 比对照增加 108.75%; 渗透调节物质脯氨酸 (proline, Pro) 含量呈先增后降趋势, 10 d 高达 459.67 mg/g, 比对照增加 226.45%; 干旱胁迫与低温交叉处理, 白刺花叶片光合色素含量明显减小, 3 种保护酶变化与干旱胁迫相似, 呈先升后降变化; MDA 含量随低温胁迫延长呈缓慢上升的趋势, Pro 含量的变化呈上升趋势。不同胁迫时期 3 种保护酶对白刺花抗旱性与耐寒性主导作用不同, 表现为相互协调的作用方式。逆境胁迫下白刺花通过提高抗氧化酶并积累渗透调节物质 Pro 以减轻活性氧对膜伤害; 干旱胁迫可提高白刺花对低温的适应能力, 这种交叉适应性可能与保护酶系和渗透调节能力的增强有关。

**关键词:** 白刺花; 抗旱性; 耐寒性; 协同响应; 生理生化评价

中图分类号: S793 文献标识码: A

## Physiological and Biochemical Evaluation of Synergistic Responses in Drought and Cold Tolerance of *Sophora davidii* seedlings

WU Lifang, WEI Xiaomei\*, CAI Jian

College of Biological Resource and Food Engineering, Qujing Normal University / Yunnan Engineering Research Center of Fruit Wine, Qujing, Yunnan 655011, China

**Abstract:** The purpose of the paper is to investigate the physiological and biochemical mechanism of drought and low temperature stress in *Sophora davidii* seedlings. *S. davidii* seedlings were used as the experimental materials to evaluate the changes of anti-oxidant protective enzyme activities, membrane injury indexes, osmotic adjustment substances in leaves under increasingly severe drought in natural conditions, and late artificial low temperature treated, with pot experiments. The results showed that the relative water content of leaves decreased significantly with the increase of drought time, and the growth could be restored 2 days after rehydration. Moderate drought was beneficial to the accumulation of photosynthetic pigments, but the content of synchromes decreased in severe drought. Superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) activities first increased and then decreased with prolonged drought stress. The peak activity of SOD and POD was 458.85 U/g and 5.30 U/g, respectively on the 8th day, which was 142.53% and 68.25% more than CK respectively. Malondialdehyde (MDA) showed a slow increase with the prolonged drought stress, the peak value was 6.20 mmol/g FW on the 15th day, which was 108.75% higher than that of CK. Osmotic adjustment substances such as proline increased first and then decreased with prolonged drought stress, the peak value was

收稿日期 2022-10-31; 修回日期 2022-11-03

基金项目 云南省科技厅联合基金项目[No. 2019FH001(-061)]; 云南省大学生创新创业训练项目“秋水仙素诱导白刺花突变群体种质创新与鉴定”(No. S202210684036)。

作者简介 吴丽芳(1980—), 女, 硕士, 教授, 研究方向: 植物资源评价与利用。\*同等贡献作者: 魏晓梅(1986—), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 植物资源及植物基因组学。E-mail: wulifang0871@163.com。

459.67 mg/g on the 10th day, which was 226.45% higher than that of CK. Under drought stress and low temperature, photosynthetic pigment content of *S. davidii* leaves decreased significantly, and the changes of three protective enzymes activities (SOD, POD and CAT) increased first and then decreased, which were similar to those under drought stress. Malondialdehyde (MDA) and proline (Pro) showed increase gradually when cold stress continued. Three protective enzymes could play inter-coordinating roles at different stress stages for drought resistance and cold tolerance of *S. davidii*. The study revealed that *S. davidii* positively responded to stress through improved antioxidant enzyme activity and the accumulation of osmotic adjustment substances as proline, which could help to reduce reactive oxygen to the membrane damage. Drought stress could improve the adaptability to low temperature, which may be related to the enhancement of protective enzyme system and osmotic regulation ability.

**Keywords:** *Sophora davidii*; drought resistance; cold tolerance; synergistic response; physiological and biochemical evaluation

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.10.016

近年来, 极端气候频繁出现, 植物为了能够适应赖以生存的环境, 从形态结构、生理生化、细胞和分子水平等层面均会表现相应的响应。活性氧 (ROS) 产生和积累是植物逆境胁迫下最初反应<sup>[1]</sup>, 正常环境下, 植物细胞 ROS 产生与清除可通过抗氧化酶系统维持在相对动态平衡水平, 当受胁迫时, 这种平衡会遭到破坏而使 ROS 积累导致氧化应激, 进而使生物膜造成损害, 光合受阻, 呼吸作用异常, 酶系统失活等<sup>[2-3]</sup>。为有效控制 ROS 过度积累引起的氧化应激, 植物已进化出酶促系统 (SOD、POD、CAT、APX、DHAR、MDHAR、GPX、GR、GOPX 等) 和非酶促系统 (抗坏血酸、脯氨酸、谷胱甘肽等) 以清除 ROS<sup>[4-5]</sup>, 有研究表明, 适度干旱胁迫下, 白刺花<sup>[6-7]</sup>、胡枝子<sup>[8]</sup>、樟树<sup>[9]</sup>、油茶<sup>[10]</sup>等植物超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 出现上升趋势, 表现相互协调的作用方式; 当干旱加重, 保护酶系统反而下降。然而, 不同学者对不同的植物干旱胁迫下酶活性变化有一些差异, 蒙古莜<sup>[11]</sup>持续升高, 而菜豆树和锯叶竹节树<sup>[12]</sup>反而下降。脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白为干旱胁迫下植物细胞积累的渗透调节物质, 其可能作用机理是维持植物细胞较低的渗透势, 保持水分, 以提高抗逆性<sup>[12]</sup>。丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 是膜质过氧化的产物, 受 SOD 酶活性大小所调节<sup>[13]</sup>, 含量高低反映了膜系统的受损程度, 干旱胁迫下, 增幅越大, 抗旱性越差, 反之, 则抗旱性越强, 其可作为衡量植物耐旱性强弱的重要指标参数<sup>[14]</sup>。

白刺花 (*Sophora davidii*) 又名铁马胡烧、狼牙刺、苦刺花, 为豆科蝶形花亚科苦参属 (APG IV 分类) 灌木, 在当代其主要分布区位于云南、

广西、贵州、西藏、四川等地<sup>[15]</sup>。以往对白刺花抗旱性有许多报道, 王海珍等<sup>[16]</sup>、王红梅等<sup>[17]</sup>、李芳兰等<sup>[18]</sup>、田方等<sup>[19]</sup>从形态特征、渗透调节物质、保护酶系等研究认为, 干旱胁迫时, 白刺花保护酶系能相互配合协同作用, 以降低膜脂过氧化, 维持细胞膜完整性, 具有较强的抗旱性。然而, 以往的研究多集中于利用 PEG 模拟干旱环境对种子萌发或盆栽实验人工控水模拟水分胁迫得到的结果, 对土壤自然缺水的连续观测研究仍相对缺乏, 研究土壤自然干旱的生理生化特征更接近于田间植物干旱的真实响应。植物的抗逆性往往有协同效应, 刘海卿等<sup>[20]</sup>对白菜型冬油菜的研究中得出抗寒性强的品种一般抗旱性也比较强。董绪兵等<sup>[21]</sup>对黄瓜的研究中也得出类似结论, 干旱预处理可诱导黄瓜幼苗对低温胁迫的交叉适应性。植物的“交叉适应”在玉米<sup>[22]</sup>、葡萄<sup>[23]</sup>等已有报道, 而有关白刺花干旱-低温交叉适应的研究尚未见报道。基于此, 本研究采用盆栽试验法, 研究白刺花实生苗自然干旱胁迫处理再进行低温处理后幼苗叶片相对含水量 (relative water content, RWC)、MDA 含量、脯氨酸 (proline, Pro) 含量及抗氧化酶系变化, 旨在探讨干旱-低温协同响应的生理机制, 为抗旱与抗寒性的综合评价提供可借鉴的方法和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

种子采集: 白刺花种子于 2020 年 11 月采集于云南省曲靖市沾益县西平镇九孔桥阳坡面, 连壳采集带回实验室脱壳, 挑选无虫眼饱满的种子于 2021 年 5—12 月种植于曲靖师范学院玻璃温室内。

## 1.2 方法

1.2.1 试验设计 将白刺花种子划破种皮经次氯酸钠消毒后播于直径 25 cm 的黑色塑料育苗袋中，每袋装腐叶土和红壤土各 3 kg，再伴微生物肥 0.5 g，每袋定植 2 株，播后每 2 d 浇水 1 次。

1.2.2 干旱胁迫处理 待实生苗生长 90 d 后采用自然干旱控水处理。在干旱试验前浇透水，盆土渗出水即为达到饱和。停灌后 2、4、6、8、10、12、15 d 对植株进行采样，常规管理为对照。采用随机采样的方法，分别测定叶片相对含水量、叶绿素、Pro、MDA、SOD、POD、CAT 活性，每个指标重复 3 次。试验中，2~4 d 为胁迫初期，6~10 d 为胁迫中期，12~15 d 为胁迫后期。

1.2.3 耐寒性胁迫处理 将经过自然干旱处理过的植株复水后常规管理，再生长 90 d 后采用人工控温方法进行低温胁迫，设置 5 °C 低温于人工气候箱培养，光周期 16 h/8 h，光照强度为 1500 lx，于处理 5、10、20、30 d 进行采样，以未经干旱和低温处理为对照，分别测定 Pro、MDA、SOD、POD、CAT 活性。

1.2.4 指标测定 按照邹琦<sup>[24]</sup>和李合生<sup>[25]</sup>植物生理学实验指导方法测定生理生化指标，磺基水杨酸茚三酮比色法测定 Pro 含量；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；硫代巴比妥酸比色法测定 MDA 含量。紫外可见分光光度计比色法测定叶绿素 a (Chla)、叶绿素 b (Chlb) 和类胡萝卜素 (Car) 的吸收值并计算 Chla、Chlb、Car 和 Chla/Chlb、Chl/Car 含量。称重法测定叶片含水量。

## 1.3 数据处理

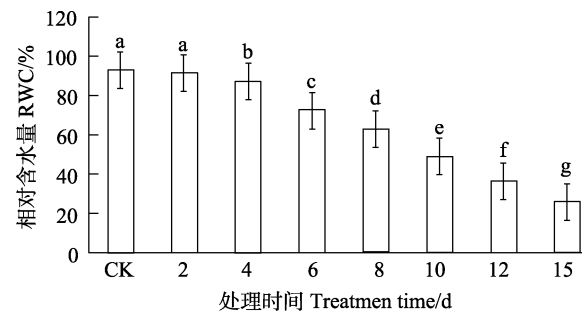
采用 Excel 2016 软件进行数据统计分析，

SPSS Statistics 26 软件进行单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 干旱胁迫下白刺花幼苗生长及叶片含水量变化

白刺花幼苗具有一定的干旱耐受能力，胁迫初期 (2~4 d) 幼苗长势良好，胁迫中期 (6~10 d) 部分叶片卷曲，胁迫后期 (12~15 d) 大部分植株叶片内卷，基部叶片变黄下垂或脱落，叶尖生长点枯萎，当复水 2 d 后，植株又能恢复生长。干旱缺水下白刺花叶片相对含水量变化见图 1，随着干旱时间的延长，叶片相对含水量显著减小，对照组 (CK) 与处理 2 d 内无显著差异，当胁迫 15 d 时，叶片相对含水量最低，仅为 25.83%。



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 1 干旱胁迫下白刺花叶片相对含水量变化

Fig. 1 Changes of relative water content of *S. davidii* leaves in different drought stress period

### 2.2 干旱胁迫下白刺花叶片光合色素含量变化

光合色素是反映植物光合作用能力及营养作用的重要指标之一，表 1 为干旱胁迫下白刺花叶片光合色素 Chla、Chlb、Car、Chl(a+b)、Chla/b、

表 1 干旱胁迫下白刺花叶片光合色素含量变化

Tab. 1 Changes of photosynthetic pigment content of *S. davidii* leaves in different drought stress period mg/g

处理 Treatment	Chla	Chlb	Car	Chl(a+b)	Chla/b	Chl/Car
CK	2.02±0.03 <sup>a</sup>	0.37±0.01 <sup>a</sup>	0.50±0.01 <sup>a</sup>	2.39±0.03 <sup>a</sup>	5.43±0.20 <sup>a</sup>	4.82±0.10 <sup>a</sup>
2 d	2.16±0.04 <sup>ab</sup>	0.38±0.02 <sup>a</sup>	0.51±0.01 <sup>a</sup>	2.54±0.02 <sup>bc</sup>	5.72±0.35 <sup>ab</sup>	5.02±0.12 <sup>ab</sup>
4 d	2.18±0.03 <sup>b</sup>	0.45±0.02 <sup>b</sup>	0.57±0.00 <sup>b</sup>	2.63±0.04 <sup>b</sup>	4.89±0.17 <sup>ac</sup>	4.58±0.08 <sup>a</sup>
6 d	2.22±0.03 <sup>bc</sup>	0.51±0.02 <sup>c</sup>	0.63±0.02 <sup>c</sup>	2.73±0.03 <sup>d</sup>	4.35±0.14 <sup>cd</sup>	4.34±0.14 <sup>a</sup>
8 d	2.34±0.02 <sup>cd</sup>	0.58±0.01 <sup>d</sup>	0.51±0.01 <sup>a</sup>	2.92±0.01 <sup>e</sup>	4.03±0.11 <sup>d</sup>	5.76±0.16 <sup>bc</sup>
10 d	2.42±0.03 <sup>d</sup>	0.49±0.01 <sup>c</sup>	0.45±0.01 <sup>d</sup>	2.91±0.04 <sup>e</sup>	4.94±0.09 <sup>ac</sup>	6.42±0.22 <sup>c</sup>
12 d	2.30±0.04 <sup>bcd</sup>	0.34±0.14 <sup>a</sup>	0.31±0.01 <sup>c</sup>	2.64±0.03 <sup>cd</sup>	6.74±0.41 <sup>e</sup>	8.45±0.30 <sup>d</sup>
15 d	2.28±0.02 <sup>bcd</sup>	0.29±0.00 <sup>e</sup>	0.24±0.01 <sup>f</sup>	2.57±0.02 <sup>bc</sup>	7.94±0.12 <sup>f</sup>	10.91±0.60 <sup>e</sup>

注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

Chl/Car 的变化, Chla、Chlb、Car、Chl(a+b)随干旱胁迫时间延长出现先增后降变化, Chla 出现拐点的时间在 10 d, 而 Chlb 在 8 d, Car 在 6 d, Chla/b 和 Chl/Car 出现增-减-增变化。

### 2.3 干旱胁迫对白刺花叶片抗氧化保护酶系的影响

从图 2A 可以看出, 随着干旱时间延长, 白刺花叶片 SOD 活性呈先升后降趋势, 处理 2~8 d 内, 与 CK 比较, 具有显著性差异, 其中 8 d 时 SOD 活性最高, 达 458.85 U/g, 比对照增加 142.53%; 之后 10~15 d 缓慢下降, 比对照分别增加 107.49%、66.55%、53.72%。

从图 2B 可以看出, 随着干旱时间延长, 白刺花叶片 POD 活性变化与 SOD 活性变化相似, 均呈先升后降的变化趋势, 2~8 d 内具有显著性差异, 8 d 时 POD 活性最高, 达 5.30 U/g, 比对照增加 68.25%; 10~15 d 缓慢下降。

从图 2C 可以看出, 随着干旱时间延长, 白刺花叶片 CAT 活性变化与 POD 活性、SOD 活性变化相似, 均呈先升后降的变化趋势, 各处理间具有显著性差异, 但其拐点出现在 12 d, 其活性高达 105.29 U/g, 比对照增加 733.65%。

3 种保护酶防御系统均表现先升后降的变化趋势, 它们协同清除体内产生的氧自由基, 减少逆境伤害, 提高对环境的适应能力。SOD 和 POD 活性拐点出现在 8 d, 而 CAT 稍滞后, 在 12 d 出现

拐点, 且 CAT 活性变化比 SOD 和 POD 活性起伏大, 推测 3 种保护酶防御系统协同作用, 维持活性氧在相对低的变化范围, 以维持细胞膜的完整性。

### 2.4 干旱胁迫对白刺花叶片膜伤害程度的影响

从图 2D 可以看出, 随着干旱时间延长, 白刺花叶片 MDA 含量具有显著差异。随着干旱胁迫程度的增强, MDA 含量呈缓慢上升的趋势, 15 d 时达到高峰, 峰值为 6.20 mmol/g, 比对照增加 108.75%。

### 2.5 干旱胁迫对白刺花叶片渗透调节的影响

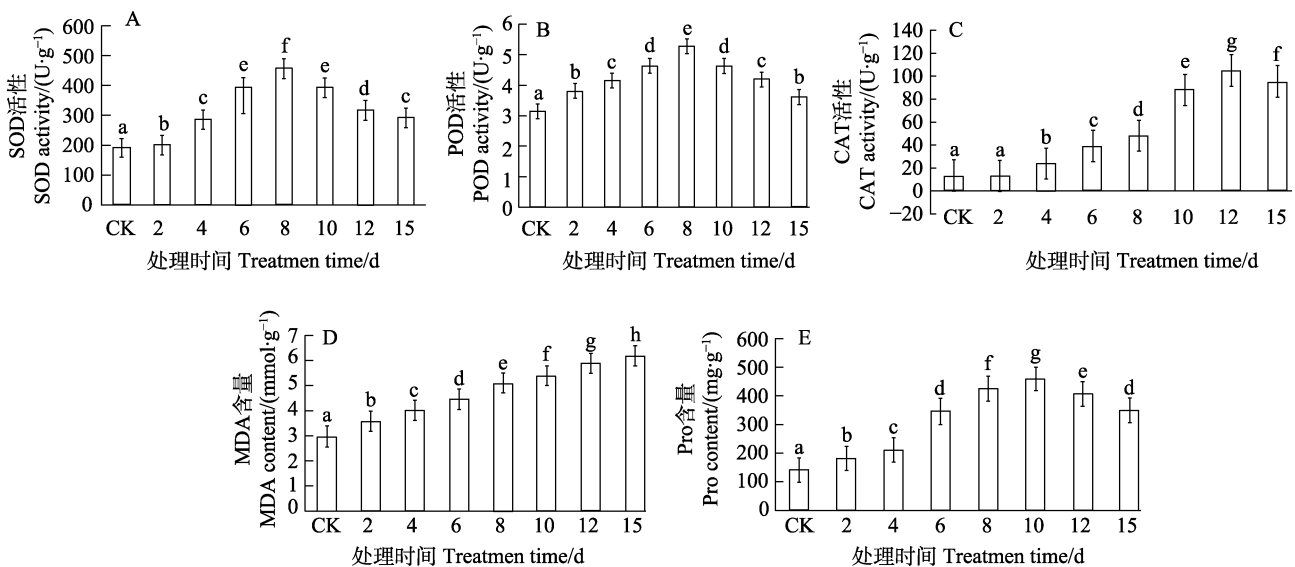
Pro 是植物渗透调节物质之一, 对原生质具有保护与保水作用, 干旱胁迫时能够防止细胞体内水分散失。如图 2E 所示, Pro 含量的变化呈先增后降的变化趋势, 胁迫初期上升缓慢, 胁迫中期变化明显。与 CK 相比, 2~12 d 具有显著差异, 10 d 出现峰值, 高达 459.67 mg/g, 比对照增加 226.45%, 之后缓慢下降。

### 2.6 低温胁迫下白刺花叶片光合色素含量变化

低温胁迫下白刺花叶片光合色素含量的变化与干旱胁迫不同(表 2), 随着低温处理时间的延长, Chla、Chlb 和 Chl(a+b)呈下降变化, Chla/b 变化相反, 呈上升趋势, 而 Car 呈先升后降趋势。反映了低温胁迫会降低植物的光合作用。

### 2.7 低温胁迫对白刺花叶片抗氧化保护酶系的影响

从图 3A 可以看出, 随着低温胁迫时间延长,



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 2 干旱胁迫下白刺花叶片相关生理指标变化

Fig. 2 Changes of related physiological indexes of *S. davidii* leaves in different drought stress period

表 2 低温胁迫下白刺花叶片光合色素含量变化

Tab. 2 Changes of photosynthetic pigment content of *S. davidii* leaves in different cold stress period mg/g

处理 Treatment	Chla	Chlb	Car	Chl(a+b)	Chla/b	Chl/Car
CK	2.35±0.04 <sup>a</sup>	0.58±0.01 <sup>a</sup>	0.63±0.02 <sup>a</sup>	2.94±0.05 <sup>a</sup>	4.04±0.04 <sup>a</sup>	4.64±0.16 <sup>a</sup>
2 d	2.20±0.01 <sup>b</sup>	0.53±0.03 <sup>b</sup>	0.62±0.03 <sup>a</sup>	2.73±0.03 <sup>b</sup>	4.17±0.18 <sup>a</sup>	4.43±0.23 <sup>ab</sup>
5 d	2.08±0.01 <sup>c</sup>	0.42±0.01 <sup>c</sup>	0.70±0.00 <sup>b</sup>	2.51±0.02 <sup>c</sup>	4.93±0.14 <sup>bc</sup>	3.56±0.04 <sup>c</sup>
10 d	1.84±0.03 <sup>d</sup>	0.40±0.01 <sup>c</sup>	0.56±0.01 <sup>c</sup>	2.24±0.02 <sup>d</sup>	4.57±0.16 <sup>ab</sup>	3.98±0.02 <sup>bc</sup>
20 d	1.56±0.01 <sup>e</sup>	0.29±0.01 <sup>d</sup>	0.47±0.02 <sup>d</sup>	1.86±0.01 <sup>e</sup>	5.35±0.26 <sup>c</sup>	4.00±0.20 <sup>bc</sup>
30 d	1.32±0.04 <sup>f</sup>	0.22±0.02 <sup>e</sup>	0.41±0.01 <sup>d</sup>	1.54±0.05 <sup>f</sup>	6.05±0.25 <sup>d</sup>	3.74±0.12 <sup>c</sup>

注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ( $P<0.05$ ).

白刺花叶片 SOD 活性呈先升后降趋势,各处理间具有显著性差异,其中 10 d 时, SOD 活性最高,达 431.72 U/g。与干旱胁迫相比较,胁迫初期至中期(2~10 d) SOD 活性上升较快,说明经干旱处理后再经低温胁迫,短期内能够积累较多的 SOD,反映出对低温较高耐性。

从图 3B 可以看出,随着低温胁迫时间的延长,白刺花叶片 POD 活性变化与 SOD 活性的变化相似,均呈先升后降的变化趋势,除 10~20 d 无显著差异外,其余时间下均具有显著性差异,20 d 时,POD 活性最高,达 5.70 U/g,与干旱胁迫相比较,胁迫初期(2~5 d) POD 活性上升相对较快。

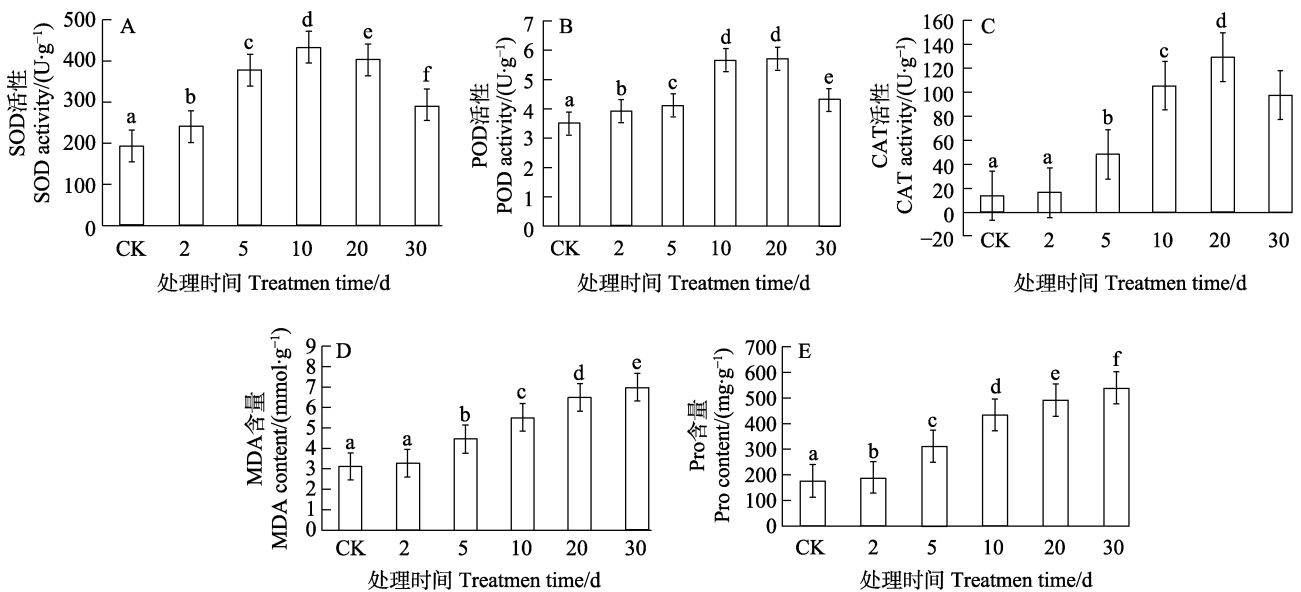
从图 3C 可以看出,随着低温胁迫时间延长,白刺花叶片 CAT 活性变化与 POD 活性、SOD 活性的变化相似,均呈先升后降的变化趋势,各处

理间具有显著性差异,但其拐点出现在 20 d,其活性高达 129.4.29 U/g。与干旱胁迫相比较,胁迫初期变化较慢,10 d 以后,积累较多。

低温胁迫下 3 种保护酶防御系统变化与干旱胁迫相似,均表现先升后降变化,从胁迫初期中看出,低温胁迫下 SOD、POD 和 CAT 活性物质的上升比干旱胁迫快,说明适当干旱胁迫能够提高白刺花的耐寒性。

### 2.8 低温胁迫对白刺花叶片膜伤害程度的影响

MDA 含量的高低可直接反映逆境胁迫下细胞膜氧化的程度,由图 3D 可以看出,随着低温胁迫时间延长,MDA 含量呈缓慢上升的趋势,且各胁迫时间下白刺花叶片 MDA 含量差异显著,30 d 达到顶峰,为 7.01 mmol/g,比对照增加了 126.13%。



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P<0.05$ ).

图 3 低温胁迫对白刺花叶片相关生理指标变化

Fig. 3 Changes of related physiological indexes of *S. davidii* leaves in different cold stress period

## 2.9 低温胁迫对白刺花叶片渗透调节的影响

Pro 为重要的渗透调节物质,可以调节细胞渗透势和冰点,提高植物抗寒性。如图 3E 所示,不同处理时间内 Pro 含量的变化呈上升趋势,各处理时间内 Pro 含量具有显著性差异。胁迫初期上升缓慢,胁迫中期至后期变化显著。与对照相比,30 d 时,增加了 208.40%。

## 3 讨论

植物在干旱胁迫时,外部叶片最初明显表现失水萎蔫,相对含水量降低。白刺花实生苗生长 90 d 进行自然断水后,处理早期无明显变化,后期基部叶片脱落或变黄,叶尖下垂,叶片卷曲,复水 2 d 后能恢复生长,表现出较强的抗旱性。高温干旱与低温冷害往往相伴存在,白刺花成熟植株为落叶灌木,而幼苗期冬季不落叶,为常绿植株,其叶片结构及代谢生理对冬季低温的适应能力必发生较大变化以维持细胞稳态来支持正常的生长发育。抗氧化酶系在植物逆境下其防御氧化胁迫伤害方面则发挥着重要作用,为适应环境避免自身伤害,植物主动或被动调动抗氧化酶系(SOD、POD、CAT)或非抗氧化酶系,它们之间以互相协调的作用方式共同清除活性氧和氧自由基,降低膜质过氧化产生的 MDA,减缓其伤害从而提高抗耐性<sup>[6]</sup>。在抗氧化酶中,SOD 主要是把  $O_2^-$  转换成  $H_2O_2$  和  $O_2$ ,然后  $H_2O_2$  被 POD 和 CAT 清除<sup>[26]</sup>。因此,多数研究认为,干旱胁迫初期,SOD、POD、CAT 一般呈上升趋势,随着胁迫增强,超出其忍耐范围,则会下降<sup>[6-10]</sup>。本研究也得出相一致的结论,干旱胁迫下白刺花幼苗叶片 SOD、POD、CAT 呈先升后降变化,SOD 和 POD 干旱胁迫 8 d 时达到 458.85 U/g 和 5.30 U/g 峰值,而后开始下降;而 CAT 在胁迫初期(2 d 时)与对照比较,无显著差异,呈缓慢上升变化,12 d 出现峰值,之后下降,3 种酶出现高峰时间有差异,这说明 3 种酶对不同干旱胁迫时期的敏感性不同,同时也反映出其在清除活性氧的作用途径及功能上具有差异性,但它们之间为相互协调的作用方式<sup>[27]</sup>。干旱处理可诱导植物幼苗对低温的抗性已有诸多报道,梁小红等<sup>[28]</sup>对多年生黑麦草的干旱-低温交叉适应研究得出,中度干旱后可使低温下的叶片相对含水量、叶绿素含量降幅减小,而脯氨酸和抗氧化酶活性增加。徐义群等<sup>[29]</sup>对茶树的研究中也得出,经 PEG-6000 预处理的

茶苗低温胁迫下,叶片中抗氧化酶活性、渗透物质积累明显增加。本研究中,干旱胁迫后再进行低温处理,白刺花叶片 SOD、POD、CAT 三种抗氧化酶与干旱胁迫时变化相似,均表现先升后降。与干旱胁迫相比较,胁迫初期至中期(2~10 d) SOD 活性上升较快,10 d 达到高峰。POD 活性胁迫初期(2~5 d)上升相对较快,20 d 高达 5.70 U/g, CAT 胁迫初期变化较慢,10 d 以后明显上升,20 d 其活性高达 129.429 U/g。

MDA 是膜脂过氧化的终产物,含量的高低反映出细胞膜脂过氧化作用强弱和膜脂受破坏的程度。本研究中,随着干旱胁迫增强,MDA 含量缓慢上升,15 d 达到高峰,为 6.20 mmol/g,比对照增加 108.75%。干旱-低温胁迫下,胁迫初期(2 d 内),与对照比较无明显差异,随着胁迫时间增长,MDA 含量缓慢上升,30 d 达到顶峰,为 7.01 mmol/g,比对照增加 126.13%。表明在长时间胁迫下,植物的抗氧化酶系统保护能力减弱,加重细胞的膜脂过氧化程度,致使 MDA 含量增加。

植物受逆境胁迫时,除了保护酶系统作为清除氧自由基和活性氧为保护屏障外,植物体内也会主动积累一些渗透调节物质如脯氨酸和可溶性糖等来提高对细胞的保水和持水能力以对生物膜起保护作用<sup>[30]</sup>。本研究中,干旱胁迫下,Pro 含量呈先增后降趋势,胁迫初期上升缓慢,胁迫中期变化明显,10 d 达到高峰,为 459.67 mg/g,之后缓慢下降。干旱-低温胁迫下,各处理时间内具有显著差异,呈上升趋势,30 d 达到 538.5 mg/g,表明白刺花通过积累脯氨酸提高细胞的渗透调节能力,提高抗寒性,这与其他许多研究结果一致<sup>[21,28]</sup>。但脯氨酸在植物抗旱、耐寒性中的作用还存在争议,在对拟南芥<sup>[31]</sup>、大丽花<sup>[32]</sup>等证实脯氨酸与植物的抗性能力成正比,而李燕等<sup>[33]</sup>对皂角干旱胁迫研究和 WANNER 等<sup>[34]</sup>对拟南芥抗冷性研究发现,脯氨酸含量的升高对抗性的提高没有直接作用,可能是代谢上的被动表现或生理机能紊乱,而非适应性反应。因此,脯氨酸作为抗旱生理指标的调控机理仍需进一步求证。

## 参考文献

- [1] JAJIC I, SAMA T, STRZALKA K. Senescence, stress, and reactive oxygen species[J]. *Plants*, 2015, 4(3): 393-411.
- [2] LUSHCHAK V I. Adaptive response to oxidative stress:

- Bacteria, fungi, plants and animals[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2011, 153: 175-190.
- [3] 王福祥, 肖开转, 姜身飞, 曲梦宇, 连玲, 何炜, 陈丽萍, 谢华安, 张建福. 干旱胁迫下植物体内活性氧的作用机制[J]. *科学通报*, 2019, 64(17): 1765-1779.  
WANG F X, XIAO K Z, JIANG S F, QU M Y, LIAN L, HE W, CHEN L P, XIE H A, ZHANG J F. Mechanisms of reactive oxygen species in plants under drought stress[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2019, 64(17): 1765-1779. (in Chinese)
- [4] WRZACZEK M, BROSCHÉ M, KANGASJÄRVI J. ROS signaling loops-Production, perception, regulation[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2013, 16(5): 575-582.
- [5] SCHMITT F J, RENGER G, FRIEDRICH T, KREALAVSKI V D, ZHARMUKHAMEDOV S K, LOS D A, KVZNETSOV V V, ALLAKHVERDIEV S I. Reactive oxygen species: re-evaluation of generation, monitoring and role in stress-signaling in phototrophic organisms[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1837: 835-848
- [6] 何建社, 张利, 刘千里, 朱欣伟, 刘兴良, 冯秋红, 罗达, 史作民. 岷江干旱河谷区典型灌木对干旱胁迫的生理生化响应[J]. *生态学报*, 2018, 38(7): 2362-2371.  
HE J S, ZHANG L, LIU Q L, ZHU X W, LIU X L, FENG Q H, LUO D, SHI Z M. Physiological and biochemical response of typical shrubs to drought stress in the Minjiang river dry valley[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(7): 2362-2371. (in Chinese)
- [7] 张宇君, 尚以顺, 王普昶, 丁磊磊, 张文, 邹超. 干旱胁迫下保水剂对盘江白刺花幼苗生长和生理特性的影响[J]. *草业学报*, 2020, 29(7): 90-98.  
ZHANG Y J, SHANG Y S, WANG P C, DING L L, ZHANG W, ZHOU C. Effects of supper absorbent polymers on growth and physiological characteristics of *Sophora viciifolia* vs. Panjiang seedlings under drought stress[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, 29(7): 90-98. (in Chinese)
- [8] 曾继娟, 朱强, 岑晓斐, 李双喜. 胡枝子幼苗对干旱胁迫的生理响应[J]. *北方农业学报*, 2022, 50(2): 53-60.  
ZENG J J, ZHU Q, CEN X F, LI S X. The physiological response of lespedeza bicolor seedlings under drought stress[J]. *Journal of Northern Agriculture*, 2022, 50(2): 53-60. (in Chinese)
- [9] 王卓敏, 郑欣颖, 薛立. 樟树幼苗对干旱胁迫和种植密度的生理响应[J]. *生态学杂志*, 2017, 36(6): 1495-1502.  
WANG Z M, ZHENG X Y, XUE L. Physiological responses of *Cinnamomum camphora* seedlings to drought stress and planting density[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2017, 36(6): 1495-1502. (in Chinese)
- [10] 申帅帅, 姚广龙, 于靖, 杨华庚, 吴友根. PEG 诱导的干旱胁迫对海南油茶苗期生理特性的影响[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(17): 5806-5815.  
SHEN S S, YAO G L, YU J, YANG H G, WU Y G. Effects of PEG induced drought stress on physiological characteristics of *Camellia Oleifera* hainan at seedling stage[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(17): 5806-5815. (in Chinese)
- [11] 丁龙, 赵慧敏, 曾文静, 李晴, 汪洋, 王四清. 五种西北旱区植物对干旱胁迫的生理响应[J]. *应用生态学报*, 2017, 28(5): 1455-1463.  
DING L, ZHAO H M, ZENG W J, LI Q, WANG Y, WANG S Q. Physiological responses of five plants in northwest China arid area under drought stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(5): 1455-1463. (in Chinese)
- [12] 黄威龙, 李洁, 薛立, 列志暘. 4 种绿化幼苗对干旱胁迫的生理响应[J]. *中南林业科技大学学报*, 2016, 36(7): 36-40.  
HUANG W L, LI J, XUE L, LIE Z Y. Physiological respond of seedlings of four greening species to drought resistance[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2016, 36(7): 36-40. (in Chinese)
- [13] 韩忠明, 胥苗苗, 王云贺, 张涛, 韩梅, 杨利民. 干旱胁迫对防风叶片保护酶活性、渗透调节物质含量及药材品质的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2016, 37(6): 91-97.  
HAN Z M, XU M M, WANG Y H, ZHANG T, HAN M, YANG L M. Effect of drought stress on leaf protective enzyme activities, contents of osmoregulation substances and quality of *Saposhnikovia divaricata*[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2016, 37(6): 91-97. (in Chinese)
- [14] 冯慧芳, 薛立, 任向荣, 傅静丹, 郑卫国, 史小玲. 4 种阔叶幼苗对 PEG 模拟干旱的生理响应[J]. *生态学报*, 2011, 31(2): 371-382.  
FENG H F, XUE L, REN X R, FU J D, ZHENG W G, SHI X L. Physiological responses of four broadleaved seedlings to drought stress simulated by PEG[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(2): 371-382. (in Chinese)
- [15] 王露露, 伊力哈木·亚尔买买提. 基于 MaxEnt 模型的中国特有灌木物种白刺花的潜在适生区预测[J]. *生态学杂志*, 2021, 40(10): 3114-3124.  
WANG L L, YILIHAMU YAERMAIMAITI. Prediction of potential suitable areas for a Chinese endemic shrub *Sophora davidii* using the MaxEnt Model[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2021, 40(10): 3114-3124. (in Chinese)
- [16] 王海珍, 梁宗锁, 郝文芳, 韩路. 白刺花(*Sophora viciifolia*) 适应土壤干旱的生理机制[J]. *干旱地区农业研究*, 2005(1): 106-110.  
WANG H Z, LIANG Z S, HAO W F, HAN L. Physiological mechanism of *Sophora viciifolia* to soil drought[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2005(1): 106-110. (in Chi-

- nese)
- [17] 王红梅, 包维楷, 李芳兰. 不同干旱胁迫强度下白刺花幼苗叶片的生理生化反应[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(6): 757-762.  
WANG H M, BAO W K, LI F L. Physiological and biochemical responses of two-years-old *Sophora davidii* seedling leaves to different water stresses[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2008, 14(6): 757-762. (in Chinese)
- [18] 李芳兰, 包维楷, 吴宁. 白刺花幼苗对不同强度干旱胁迫的形态与生理响应[J]. 生态学报, 2009, 29(10): 5406-5416.  
LI F L, BAO W K, WU N. Morphological and physiological responses of current *Sophora davidii* seedlings to drought stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(10): 5406-5416. (in Chinese)
- [19] 田方, 陈锡, 王普昶, 钟理, 欧二绶. 微生物菌剂对白刺花苗期抗旱酶系及生理生化指标的影响[J]. 植物生理学报, 2022, 58(2): 435-446.  
TIAN F, CHEN X, WANG P C, ZHONG L, OU E L. Effect of microbial agents on resistant enzyme system and biochemical indexes of drought resistance in *Sophora davidii*[J]. *Plant Physiology Journal*, 2022, 58(2): 435-446. (in Chinese)
- [20] 刘海卿, 孙万仓, 刘自刚, 武军艳, 钱武, 王志江, 郭仁迪, 马骊, 侯献飞, 刘林波. 北方寒旱区白菜型冬油菜抗寒性与抗旱性评价及其关系[J]. 中国农业科学, 2015, 48(18): 3743-3756.  
LIU H Q, SUN W C, LIU Z G, WU J Y, QIAN W, WANG Z J, GUO R D, MA L, HOU X F, LIU L B. Evaluation of drought resistance and cold resistance and research of their relationship at seedling stage of winter rapeseed (*Brassica campestris* L.) in cold and arid regions in north China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(18): 3743-3756. (in Chinese)
- [21] 董绪兵, 毕焕改, 刘业霞, 于军辉, 艾希珍. 黄瓜幼苗干旱-低温交叉适应与渗透调节的关系[J]. 中国农业科学, 2011, 44(2): 335-340.  
DONG X B, BI H G, LIU Y X, YU J H, AI X Z. Relationship between cross adaptation to drought-low temperature and osmoregulation in cucumber seedlings[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(2): 335-340. (in Chinese)
- [22] JAVIER P J, JOSÉ I J, MANUEL S D. Chilling of drought-hardened and non-hardened plants of different chilling-sensitive maize lines changes in water relations and ABA contents[J]. *Plant Science*, 1997, 122(1): 71-79.
- [23] 张俊环, 张国强, 刘悦萍, 黄卫东. 温度逆境交叉适应过程中葡萄幼苗质膜  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 的细胞化学定位与活性变化[J]. 中国农业科学, 2006, 39(8): 1617-1625.  
ZHANG J H, ZHANG G Q, LIU Y P, HUANG W D. Cytochemical localization and changes in activity of plasma membrane  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase in young grape (*Vitis vinifera* L. cv. Jingxiu) plants during cross adaptation to temperature stresses[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(8): 1617-1625. (in Chinese)
- [24] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.  
ZOU Q. Instruction in plant physiological experiment[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000. (in Chinese)
- [25] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.  
LI H S. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2001. (in Chinese)
- [26] CAVALCANTI F R, JOSÉ TADEU A O, MARTINS-MIRANDA A S, VIÉGAS R A, JOAQUIM ALBENÍSIO G S. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves[J]. *New Phytologist*, 2004, 163(3): 563-571.
- [27] SELOTE D S, KHANNA C R. Drought acclimation confers oxidative stress tolerance by inducing coordinated antioxidant defense at cellular and subcellular level in leaves of wheat seedlings[J]. *Physiol Plantarum*, 2006, 127: 494-506.
- [28] 梁小红, 艾非凡, 钟天秀, 韩烈保. 多年生黑麦草对干旱-低温交叉适应的生理响应[J]. 草业学报, 2016, 25(1): 163-170.  
LIANG X H, AI F F, ZHONG T X, HAN L B. Cross adaptation under drought and low temperature stress in perennial ryegrass[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(1): 163-170. (in Chinese)
- [29] 徐义群, 胡哲, 胡月朦, 江昌俊, 李娟, 李叶云. 干旱-低温交叉适应性对茶树抗寒性的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(1): 1-6.  
XU Y Q, HU Z, HU Y M, JIANG C J, LI J, LI Y Y. Effect of cross adaptation of drought-low temperature on cold resistance of tea plants (*Camellia sinensis*)[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2020, 47(1): 1-6. (in Chinese)
- [30] 李轶冰, 杨顺强, 任广鑫, 冯永忠, 张强, 李鹏. 低温处理下不同禾本科牧草的生理变化及其抗寒性比较[J]. 生态学报, 2009, 29(3): 1341-1346.  
LI Y B, YANG S Q, REN G X, FENG Y Z, ZHANG Q, LI P. Changes analysis in physiological properties of several gramineous grass species and cold resistance comparison on under cold stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(3): 1341-1346. (in Chinese)
- [31] XIN Z, BROWSE J. Eskimolmutants of *Arabidopsis* are constitutively freezing tolerant[J]. *Proceedings of the Na-*

- tional Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(13): 7799-7804.
- [32] 范苏鲁, 苑兆和, 冯立娟, 王晓慧, 丁雪梅, 甄红丽. 干旱胁迫对大丽花生理生化指标的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(3): 651-657.  
FAN S L, YUAN Z H, FENG L J, WANG X H, DING X M, ZHEN H L. Effects of drought stress on physiological and biochemical parameters of *Dahlia pinnata*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(3): 651-657. (in Chinese)
- [33] 李燕, 孙明高, 孔艳菊, 薛立. 皂角苗木对干旱胁迫的生理生化反应[J]. 华南农业大学学报, 2006, 27(3): 66-69.  
LI Y, SUN M G, KONG Y J, XUE L. Physiological and biochemical responses of *Gleditsia sinensis* seedlings to drought stress[J]. Journal of South China Agricultural University, 2006, 27(3): 66-69. (in Chinese)
- [34] WANNER L A, JUNTILA O. Cold induced freezing tolerance in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 1999, 120(7): 391-399.