DOI: 10.5846/stxb201212101774

吴敏,张文辉,周建云,马闯,韩文娟.干旱胁迫对栓皮栎幼苗细根的生长与生理生化指标的影响.生态学报,2014,34(15):4223-4233.

Wu M, Zhang W H, Zhou J Y, Ma C, Han W J.Effects of drought stress on growth, physiological and biochemical parameters in fine roots of *Quercus variabilis* Bl. seedlings.Acta Ecologica Sinica,2014,34(15):4223-4233.

干旱胁迫对栓皮栎幼苗细根的生长与生理生化指标的影响

吴 敏,张文辉*,周建云,马 闯,韩文娟

(西北农林科技大学 西部环境与生态教育部重点实验室, 杨陵 712100)

摘要:为了揭示栓皮栎幼苗对干旱环境的适应能力,采用盆栽实验方法,设置对照、轻度、中度和重度干旱处理,研究了栓皮栎(*Quercus variabilis* Bl.)幼苗小细根(0.0<*D*≤0.5mm)和大细根(0.5<*D*≤2mm)的生长及生理生化指标对长期持续干旱胁迫的响应。结果显示:胁迫处理 120d 后,与对照相比,轻度胁迫促进细根数量、长度、表面积、体积和干物质量的增加,而中度和重度胁迫抑制细根生长;干旱胁迫下小细根数量和长度大于大细根,而大细根表面积、体积和干物质量显著大于小细根。干旱导致细根相对含水率、活力下降(P <0.001),丙二醛(MDA)含量增加(P <0.001);大细根相对含水率和活力高于小细根,但小细根中 MDA 含量显著高于大细根。与对照相比,轻度胁迫可以积累更多渗透调节物质(脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白),并保持更高的抗氧化酶活性(超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX));中度胁迫则导致 POD 和 APX 活性的降低;而重度胁迫抑制了可溶性蛋白的积累和 CAT、POD、APX 活性的增加;与大细根相比,小细根渗透调节物质和抗氧化酶活性显著减少。当干旱强度超过中度胁迫时,栓皮栎幼苗细根生长和生理生化适应性降低;小细根对干旱环境的变化更敏感,寿命更短。实验中,即使在重度胁迫下也未发生根系严重脱水和幼苗死亡的现象,表明栓皮栎幼苗有较强的干旱忍受能力,适合在半干旱区植被恢复重建与造林工程中应用。

关键词:干旱胁迫;栓皮栎;细根;生长;生理生化

Effects of drought stress on growth, physiological and biochemical parameters in fine roots of *Quercus variabilis* Bl. seedlings

WU Min, ZHANG Wenhui*, ZHOU Jianyun, MA Chuang, HAN Wenjuan

Key Laboratory of Environment and Ecology of Education Ministry in West China, Northwest A & F University, Yangling 712100, *China*

Abstract: Drought is a major limitation to plant survival and growth, which also has adverse effects on revegetation and reforestation practice. *Quercus variabilis* Bl., a deciduous broad leaf tree, is an important forest species and timber resource, and is often used in cork production, tannin extraction, and edible fungi cultivation in China. Especially in semi-arid regions of Northwestern China, it plays a key role in soil remediation, erosion control, and in the economical and ecosystemic development. In order to exposit drought adaptive mechanisms of this species seedlings, we investigated the effects of drought stress on growth, dry mass production, physiological and biochemical responses of thin fine roots (0.0<*D*≤0.5mm) and thick fine roots (0.5<*D*≤2mm) of this species seedlings. Three-month-old seedlings were implemented a potted experiment for 120 days with control, light, moderate and severe drought treatment, respectively, in a temperature-controlled greenhous. Results showed that: compared to control, the number, root length, surface area, volume, and dry mass of fine roots increased at light drought stress, whereas these parameters decreased at moderate and severe drought stress. The number and length of thin fine roots were higher than those of thick fine roots, while the surface area, volume, and dry mass of thick fine roots were higher than those of thin fine roots. Drought induced a decrease in relative water

基金项目:林业公益性行业科研专项(201004011); 国家自然科学基金项目(30872018)

收稿日期:2012-12-10; **网络出版日期**:2014-03-03

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: wenhui614614@sohu.com

content and vigor of fine roots, as well as a increase in malondialdehyde (MDA) content (P <0.001). The relative water content and vigor of thick fine roots were higher than those of thin fine roots, but MDA content of thin fine roots was higher than that of thick fine roots. Compared to control, both the accumulations of osmolytes (including free proline, soluble sugar and soluble protein), and activities of antioxidant enzymes (including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) and ascorbate peroxidase (APX)) increased at light drought stress, while the activities of POD and APX declined at moderate drought stress. The content of soluble protein and activities of CAT, POD and APX all reduced at severe drought stress. Moreover, accumulations of osmolytes and activities of antioxidant enzymes of thin fine roots were significant lower than those of thick fine roots under four drought stress treatments. When drought strength exceed moderate drought stress, the reduction in root growth, dry mass, physiological and biochemical adaptability for *Q. variabilis* Bl. seedlings started to occur. And thin fine roots with shorter life were more sensitive than thick fine roots. The fact that there was no serious dehydration of roots and seedlings death even under severe drought treatment, indicates this species has strong drought tolerance ability and has a great potential for vegetation restoration and reforestation in semiarid regions.

Key Words: drought stress; *Quercus variabilis* Bl.; fine roots; growth; physiology and biochemistry

全球气候变化与局部干旱化是干旱、半干旱地区植被恢复和造林成败的关键因素[1]。植物应对干旱胁迫的生理生化响应是植物生态学热点。其中土壤水分状况与植物细根关系的研究更是受到人们的重视。植物细根(直径≤2 mm)作为根系中生理功能最活跃的部分[2-3],有着巨大的吸收表面积,是植物吸收水分和养分的主要器官[2]。当干旱来临时,细根最先感知,并迅速产生化学信号向上传递促使气孔关闭,以减少水分散失[4-5]。一部分研究表明干旱抑制根系的生长,包括抑制细根的扩展,加速细根的衰老,降低细根的寿命,最终将导致植物水分利用效率降低,如紫花苜蓿(*Medicago sativa* L)[6]、挪威云杉(*Picea abies*)[7]、水曲柳(*Fraxinus mandshurica*)[8];而另一部分研究则表明干旱可以促进根系生长,包括增加细根数量,表面积,会促使其积累更多的渗透调节物质,提高酶活性,从而提高植物水分利用效率,如橄榄(*Olea europaea* L.)[9-10]、冬青栎(*Quercus ilex* L.)[11]、柔毛栎(*Quercus pubescens* Willd)[12]。

其实植物根系的细根可以按照不同直径,划分成若干等级,不同等级的细根对干旱的敏感性均存在差异[12]。分析不同等级细根及其生理生化指标对干旱胁迫的响应,可能对评价植物干旱的耐受性更有意义[2,12]。然而,细根的生长发育主要发生在地下,目前对其认识和理解还远不能满足生产和实践的需求。因此,通过控制实验,研究植物不同等级细根生长及生理生化指标对干旱胁迫的响应,对阐明植物对干旱的适应机制和适应能力具有重要意义。

栓皮栎(*Quercus variabilis* Bl.)是重要珍贵用材树种和软木、栲胶资源树种。分布跨越 22 个省区(22°—42°N, 99°—122°E)是我国华北、西北、华南、西南地区主要成林树种,也是黄土高原半干旱区,落叶阔叶林的建群种,在当地涵养水源、保持水土和维持生态平衡方面发挥着巨大作用[13]。栓皮栎林受人为破坏严重,不少地区的天然林已沦为残败次生萌生林,矮林化现象明显,生态和经济效益降低,稳定性受到破坏[14]。通过营林措施,促进高品质林木结实和实生幼苗发育是改善林分品质的根本途径[15]。野外实地调查发现,尽管渭北黄土高原半干旱区的栓皮栎林结实量大,但实生幼苗数量稀少[13-14]。前期研究发现:种子发育成幼苗是栓皮栎生活史中最脆弱阶段,死亡率高,定居率低[16]。干旱可能是限制栓皮栎幼苗长发育和定居关键因素,但是目前就栓皮栎幼苗对干旱环境适应能力及适应机制的研究还十分缺乏[17]。而栓皮栎实生苗是否可以通过影响细根生长发育过程及其生理生化反应去适应干旱生境? 此类研究还未见报道。这可能是从根本上阐明栓皮栎实生幼苗适应干旱机理的重要方面。

本文用盆栽方法人工模拟土壤干旱条件,设置对照、轻度、中度和重度 4 个水平的干旱处理,经历 120 天持续胁迫,测定不同干旱胁迫强度下当年生栓皮栎幼苗小细根(0.0<D≤0.5 mm)及大细根(0.5<D≤2 mm)[12, 18]的生长参数,大小细根的活力、渗透调节物质和抗氧化酶活性;分析了不同直径等级的细根生长及其生理生化指标对干旱胁迫响应过程,

目的是阐明栓皮栎幼苗对干旱环境适应能力和机制,为半干旱区栓皮栎造林、植被恢复工程提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

2010 年 10 月初在黄土高原的延安市黄龙县东南部的白马滩林场采用了优势树木对比法[19],在保护较好的天然林生态系统和散生木中选取优良母树,分别标记、采种,带回。并选择大小相近、健康饱满的种子(坚果)沙藏(4℃)备用。试验所用的土壤为混和土,即采种地土壤(褐土):河床细沙:腐殖质的土,按照体积分数 1:2:1 比例混合。土壤基本理化性质:田间最大持水量 34%,pH 值为 7.42,容重 1.03 g/cm^3,土壤有机质、全氮、全磷和全钾含量分别为 46.89、1.48、0.82 g/kg 和 28.47 g/kg。土壤经过烘干(80℃)到恒重,每盆均装入等量过筛的混合土 12.4 kg。栽培容器选用上口径 32cm,下口径 23cm,高 28cm 的塑料花盆。试验在陕西杨陵西北农林科技大学苗圃温室大棚中进行(34°16′ 56.24″ N, 108°4′ 27.95″ E),试验期棚内昼夜温度分别为 25 和 14℃,光强为 800 μmol · m^{-2} · s^{-1},相对湿度保持在(65±5)%。于 2011 年 3 月开始播种育苗,每盆播沙藏后的种子 5 粒,共 10 盆;2011 年 4 月待幼苗出现 2—3 片真叶,平均高度达 6 cm 时间苗,每盆留健壮幼苗 1 株,共 40 株;为保证幼苗健康生长,育苗期间供水量维持在田间持水量的 80%。

1.2　试验设计

2011 年 5 月 18 日待幼苗生长至 5 — 6 片叶子,株高(15.4±0.13) cm 时,开始停止浇水 10d(2011 年 5 月 28 日)左右,待各盆土壤水分通过蒸发下降至预设的 4 个水分梯度,开始干旱胁迫试验。试验设置 4 个水分处理为:(1)正常供水,田间持水量的 80%(CK);(2)轻度干旱,田间持水量的 60%(LD);(3)中度干旱,田间持水量的 40%(MD);(4)重度干旱,田间持水量的 20%(SD);与其对应盆内土的实际含水量分别维持在(28.2±1.9)%、(21.1±0.6)%、(14.6±1.2)%和(6.8±0.7)%。每个处理 10 盆。采用称重法控制土壤水分含量,隔天浇水 1 次,每次浇水时间从 18:00 开始。所有盆土表面覆盖 3—4cm 厚的石英砂以降低水分蒸发。

2011 年 9 月 28 日(胁迫 120d)待栓皮栎幼苗生长速度减缓时,停止干旱胁迫,采取收获法取样。将每个处理的 10 株幼苗根系连同土壤从桶中取出,小心去除根系表面的大块泥土,迅速装入塑料袋中,保存在装有冰块的塑料桶内,带回实验室。将根系与地上部分分离,置于 2—4℃冰水(去离子水)中小心洗净;将每个处理的其中 7 株幼苗的根系保存于超低温冰箱中(-80℃),用于细根生理生化指标测定;另外 3 株用于细根形态指标、干物质量和相对含水率的测定。

1.3　测定指标及方法

1.3.1　形态、相对含水率和干物质量的测定

(1)形态指标测定　每个处理的幼苗洗净的完整根系先用扫描仪 EPSON V7000(Epson company, Japan)扫描成图片,再将图片导入专业的根系分析软件 Win-RHIZO Pro 2007a (Regent Instruments, Canada)进行分析。依据根系分析软件的结果,直径(D)≤2.0mm 的细根被划分为 2 个等级, 0.0<D≤0.5mm 小细根和 0.5<D≤2.0mm 大细根[12, 18];同时,大小细根的数量、长度、根表面积、根体积也被分别输出。此外,根据 Pregitzer 等[20]方法,位于根系分支顶端即距根茎基部最远的根为 1 级根,它的母根为 2 级根,依次类推到 3 级、4 级根(主根);小细根(0.0<D≤0.5 mm)一般位于第 1—2 级根,大细根(0.5<D≤2.0mm)一般位于 3 级根和 4 级根的先端即在盆底部主根的根尖部[12]。

(2)相对含水率测定　先分别测定大小细根鲜重,再将其置于 4℃完全黑暗的环境中吸水 24h 后测量饱和重,最后置于 80℃烘箱中 48 h 后测得干重;计算相对含水率(%) = [(鲜重-干重)/(饱和重-干重)] × 100。

(3)干物质量的测定　将幼苗所有大小细根,在 80℃下烘至衡重(48h),分别称得大小细根干重。

1.3.2　生理生化指标测定

测定各处理超低温冰箱中冷藏的幼苗的大小细根活力,采用 TTC 染色法[21];丙二醛(MDA)含量测定,采用硫代巴比妥酸法[21];游离脯氨酸含量测定,采用酸性茚三酮显色法[21];可溶性糖含量测定,采用蒽酮法[21];可溶性蛋白测定,采用考马斯亮蓝 G-250 染色法[21];超氧化物歧化酶(SOD)活性测定,采用氮蓝四唑法,以抑制氮蓝四唑光氧化还原 50%时

的酶量为 1 个活力单位(U)[21];过氧化氢酶(CAT)活性测定,采用紫外吸收法测定,以每分钟内引起 OD_{240}变化 0.01 的酶量为 1 个活力单位(U)[21];过氧化物酶(POD)活性测定,采用愈创木酚氧化法,以每分钟内引起 OD_{470}变化 0.01 的酶量为 1 个活力单位(U)[21];抗坏血酸过氧化物酶(APX)测定,以每分钟内引起 OD_{290}变化 0.01 的酶量为 1 个活力单位(U)[22]。测量仪器使用 UV-1700(Shimadzu, Japan)型分光光度计,每个指标 3 个重复取其平均值。

1.4 数据统计与分析

采用双因素方差分析(Two-way ANOVA)方法,分析干旱胁迫处理强度、直径等级以及二者的交互作用对栓皮栎细根的生长和生理生化特征的影响。分别对大小细根的生长和生理生化参数采用单因素方差分析(One-way ANOVA)比较不同干旱胁迫处理强度之间的差异性,平均数之间的多重比较采用 LSD(Least significant difference)检验。所有数据统计使用 SPSS 16.0 统计软件进行。图形处理使用 Origin7.5。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下栓皮栎幼苗细根形态、相对含水率和干物质量的变化

不同干旱胁迫下栓皮栎幼苗小细根($0.0<D\leqslant 0.5$ mm)和大细根($0.5<D\leqslant 2.0$mm)数量、长度、表面积及体积的变化均是:轻度>对照>中度>重度胁迫处理(图 1)。分别对比各干旱组与对照组的小细根形态参数发现:轻度干旱胁迫下只有小细根数量显著增加了 6.51%($P<0.05$);中度和重度胁迫均抑制了小细根数量、长度、表面积及体积的增加,且在重度胁迫下小细根的数量、长度、表面积及体积较对

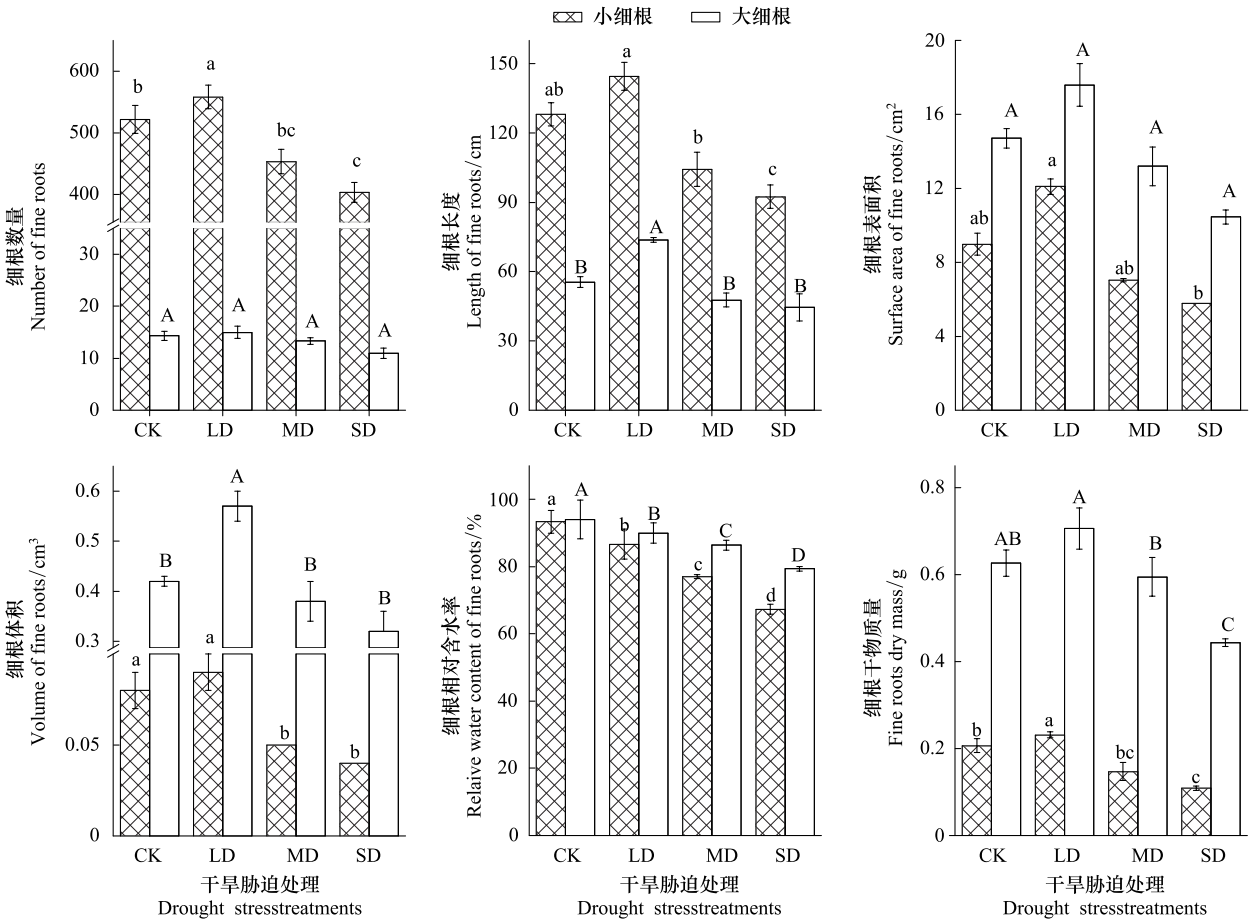

图 1 不同干旱胁迫下栓皮栎幼苗细根形态、相对含水率和干物质量的变化

Fig.1 Changes of morpha, relative water content and dry mass in *Q. variabilis* Bl.seedlings of fine roots under different drought stress (means ± S. E., $n=3$)

CK:对照,LD:轻度干旱,MD:中度干旱,SD:重度干旱; 不同大小字母分别表示大小细根在干旱分梯度之间差异显著($P<0.05$)

照分别显著减少了 22.73%、27.86%、35.52% 和 50.00%。而分别对比各干旱组与对照组的大细根形态参数发现:轻度胁迫下只有大细根的长度和体积分别显著增加了 24.85%和 26.32%($P<0.05$);而在中度和重度胁迫下大细根的数量、长度、表面积及体积均比对照组减少,但减少的差异均不显著($P>0.05$)。进一步对比大小细根的形态变化发现(图 1):在各干旱处理下小细根的数量和长度均大于大细根,而大细根的表面积和体积大于小细根。此外,干旱处理和直径等级的交互作用对细根长度($P=0.232$)与表面积($P=0.962$)均无显著的影响(表 1)。

表 1　栓皮栎幼苗细根形态、相对含水率和干物质量的双因素方差分析

Table 1　Tow -way ANOVA of morpha, relative water content and dry mass in *Q. variabilis* Bl.seedlings of fine roots

	F					
	数量 Number	长度 Length	表面积 Surface area	体积 Volume	含水率 Relative water content	干物质量 Dry mass
处理 Treatment	8.472**	14.718***	7.638**	15.065***	132.848***	18.244***
直径等级 Diameter class	1489.965***	173.650***	28.632***	479.182***	87.325***	511.086***
处理×直径等级 Treatment ×diameter class	7.688**	1.586ns	0.094ns	7.794**	9.749**	3.329*

*** 表示极显著差异($P<0.001$);** 表示极显著差异($P<0.01$);* 表示显著差异($P<0.05$);ns 无显著相差异($P>0.05$)

干旱胁迫极显著的降低大小细根的相对含水率:对照>轻度>中度>重度干旱胁迫处理(图 1,$P<0.001$)。在各干旱处理下均是大细根相对含水率高于小细根(图 1)。而干旱处理、直径等级及二者的交互作用分别对细根相对含水率产生极显著影响(表 1,$P<0.001$,$P<0.01$)。

轻度胁迫下大小细根干物质量分别较对照增加了 13.08%和 10.66%,而中度和重度胁迫均限制大小细根干物质量的增加,且重度胁迫抑制作用更明显(图 1)。此外,干旱处理、直径等级均对细根干物质量产生极显著影响($P<0.001$);二者的交互作用也对其产生显著影响(表 1,$P<0.05$)。

2.2　干旱胁迫下栓皮栎幼苗细根丙二醛(MDA)含量的变化

本试验中用 MDA 含量来衡量细根脂质过氧化程度(图 2)。干旱胁迫引起大小细根 MDA 含量极显著增加($P<0.001$)。与对照相比,轻度、中度、重度处理的小细根MDA的含量分别增加了60.34%、

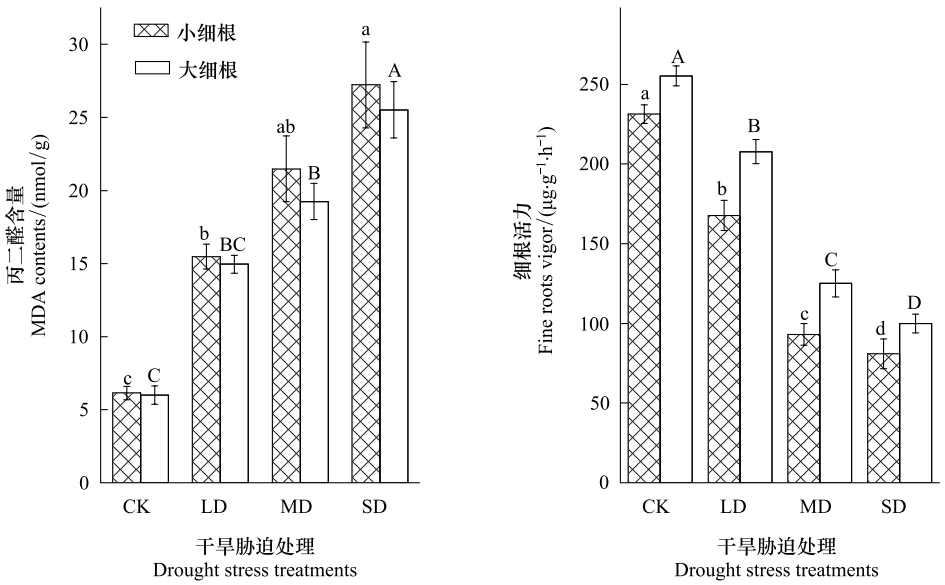

图 2　不同干旱胁迫下栓皮栎幼苗细根丙二醛含量和活力变化

Fig.2　Changes of MDA and vigor in *Q. variabilis* Bl. seedlings of fine roots under different drought stress (means±S. E., $n=3$)

71.41%和 77.44%;轻度、中度、重度处理的大细根 MDA 的含量分别增加了 59.85%、68.80%和 76.47%。虽然不同直径等级的细根对 MDA 含量影响并不显著(表 2,$P=0.222$),但各处理下均是小细根中 MDA 含量高于大细根(图 2)。此外,干旱处理与直径等级的交互作用对 MDA 含量的影响也不显著(表 2,$P=0.958$)。

2.3 干旱胁迫下栓皮栎幼苗细根活力的变化

大小细根活力均随干旱强度的增加而极显著下降(图 2,$P<0.001$)。与对照相比,轻度、中度、重度处理的小细根活力分别降低了 27.48%、59.74%和 65.01%;而轻度、中度、重度处理的大细根活力较对照分别降低了 18.63%、50.99%和 60.86%。对比各干旱处理下的大小细根活力,均是大细根活力显著高于小细根活力(表 2,图 2),而干旱处理及直径等级的交互作用对细根活力产生极显著的影响(表 2,$P<0.001$)。

2.4 干旱胁迫下栓皮栎幼苗细根渗透调节物质的变化

干旱胁迫引起大小细根游离脯氨酸含量极显著增加(图 3,$P<0.001$)。与对照相比,轻度、中度和重度处理的小细根游离脯氨酸含量分别增加了 33.11%、15.83%和 9.01%;大细根游离脯氨酸含量分别增加了 33.32%、22.31%和 12.43%。各干旱处理下均是大细根游离脯氨酸含量显著高于小细根(表 2,图 3)。但干旱处理与直径等级的交互作用对其影响并不显著(表 2,$P=0.870$)。

干旱胁迫也引起大小细根中可溶性糖含量极显著增加(图 3,$P<0.01$):中度>轻度>重度>对照处理。各干旱处理下均是大细根中可溶性糖含量高于小细根(图 3)。但不同直径等级的细根对可溶性糖含量的影响并不显著(表 2,$P=0.078$),干旱处理与细根直径等级的交互作用也对其影响并不显著(表 2,$P=0.910$)。

干旱胁迫下大小细根中可溶性蛋白含量的变化均是:轻度>中度>对照>重度干旱胁迫处理,但重度干旱与对照之间无显著差异(图 3)。各干旱处理下均是大细根中可溶性蛋白含量高于小细根(图 3)。而干旱处理、直径等级及其二者的交互作用均对细根中可溶性蛋白含量产生极显著的影响(表 2,$P<0.001$,$P<0.01$)。

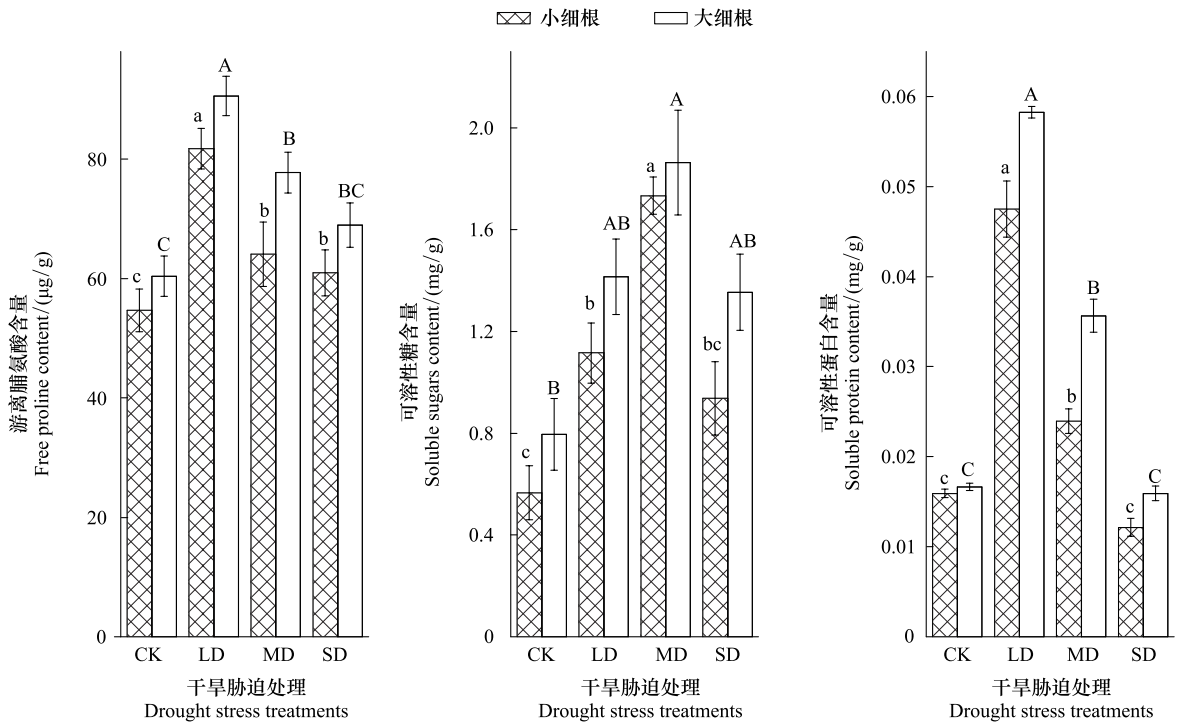

图 3 不同干旱胁迫下栓皮栎幼苗细根游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量的变化

Fig.3 Changes of free proline, soluble sugar and soluble protein contents in *Q. variabilis* Bl. seedlings of fine roots under drought stress (means±S. E., $n=3$)

2.5　干旱胁迫下栓皮栎细根抗氧化酶活性的变化

SOD、CAT、POD 和 APX 为植物体内重要的抗氧化酶。干旱胁迫引起大小细根 SOD 活性显著增加(图 4,$P<0.05$),与对照相比,轻度、中度和重度处理的小细根 SOD 活性分别增加了 29.45%、26.79%和 12.381%,而大细根 SOD 活性分别增加了 35.96%、29.25%和 17.59%。干旱胁迫引起栓皮栎幼苗大小细根的 CAT 活性显著变化(图 4,$P<0.01$),与对照相比,重度处理导致大小细根 CAT 活性分别降低了 15.85%和 26.75%,而轻度和中度干旱胁迫均引起大小细根 CAT 活性增加,且轻度胁迫下其活性增加更快。大小细根 POD 和 APX 活性的变化:轻度>对照>中度>重度干旱胁迫处理(图 4)。各处理下均是大细根中抗氧化酶活性高于小细根(图 4)。

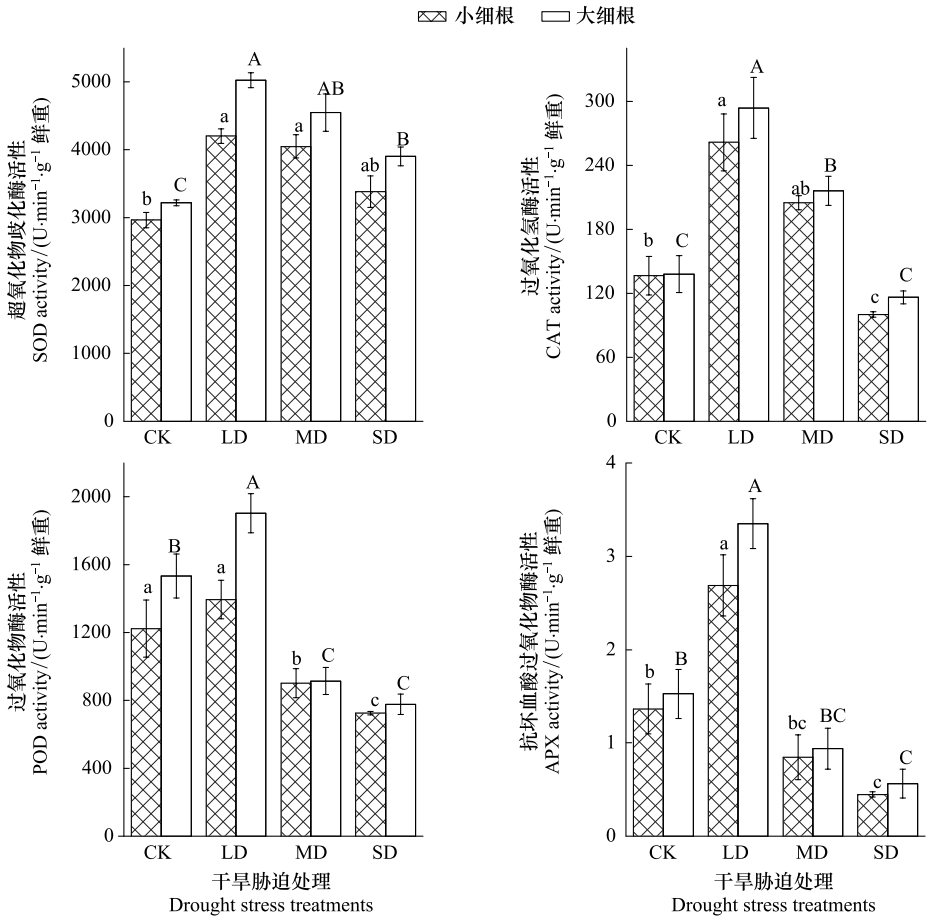

图 4　不同干旱胁迫下栓皮栎幼苗细根抗氧化酶活性的变化

Fig.4　Changes of antioxidant enzymes activities in *Q. variabilis* Bl. seedlings of fine roots under drought stress (means±S. E., $n=3$)

表 2　栓皮栎幼苗细根活力、丙二醛、渗透调节物质及抗氧化酶的双因素方差分析

Table 2　Tow-way ANOVA of vigor, MDA, osmolytes, and antioxidant enzymes in *Q. variabilis* Bl.seedlings of fine roots

	F-value								
	细根活力 Vigor of fine roots	丙二醛 MDA	脯氨酸 Proline	可溶性糖 Soluble sugars	可溶性蛋白 Soluble protein	超氧化物歧化酶 SOD	过氧化氢酶 CAT	过氧化物酶 POD	抗坏血酸过氧化酶 APX
处理 Treatment	81733.081 ***	60.519 ***	19.066 ***	10.308 **	293.673 ***	36.774 ***	15.097 ***	30.755 ***	43.518 ***
直径等级 Diameter class	16440.084 ***	1.582ns	11.328 **	3.540ns	42.028 ***	14.875 **	0.603ns	8.678 **	2.375 ns
处理×直径等级 Treatment × diameter class	1250.886 ***	0.101ns	0.236ns	0.178ns	6.590 **	1.042 *	0.106 ns	2.421ns	0.650ns

ns 无显著相差异($P>0.05$)

处理、直径等级均对细根 SOD 活性产生极显著影响($P<0.001$,$P<0.01$),且二者之间也具有明显的

交互作用(表 2,$P<0.05$)。处理也均对细根 CAT 和 APX 活性产生极显著影响($P<0.001$),而直径等级以及处理和直径等级的交互作用则均未对 CAT 和 APX 活性产生显著影响(表 2)。处理、直径等级均对 POD 活性产生极显著影响($P<0.001$,$P<0.01$),但二者之间并没有明显的交互作用(表 2,$P=0.104$)。

3 讨论与结论

植物根系形态变化是生理生化变化的外在表象,而形态发生变化也必然会引起内在生理生化指标的变化,二者的变化是相辅相成共同作用抵抗逆境[23]。本研究发现:长期持续干旱胁迫除了使栓皮栎幼苗细根形态发生变化,其生理生化反应也了发生变化,具体表现在根细胞发生脂质过氧化、细根活力、渗透调节物质的积累以及抗氧化酶活性的变化,但其变化趋势并不总是一致的,且这些指标变化在不同直径等级细根间也存在差异。

大量研究表明:随着土壤水分含量的减少,植物生长中心必然向根系转移,使根系增长,并增加根表面积及其在土壤中所占的体积[5, 24]。而细根的数量、长度、表面积、体积可作为综合衡量根系质量的一个标准,这些指标的增加或下降,可用于反映苗木根系在干旱条件下吸水能力的增强或减弱[25]。本研究发现:干旱胁迫下的栓皮栎幼苗大小细根生长并非都表现为单一的被促进或抑制,而是与胁迫程度有关;轻度干旱对大小细根的数量、长度、表面积以及体积的增加具有促进作用,而中度和重度干旱则抑制了大小细根的生长。这一结论暗示:与其它胁迫梯度相比,轻度干旱可以促进栓皮栎根系的分枝,使得单位体积上细根数量增多、表面积增大对增加根系吸收能力极为有利,这也是栓皮栎降低水分消耗、避免和忍耐水分亏缺的适应策略。Cortina[26]也发现:乳香黄连木(*Pistacia lentiscus* L.)在受到适度的干旱胁迫时,会迅速扩展细根的长度及表面积,通过细根形态的塑造使其避免干旱环境的危害。

本研究观察到大小细根干物质量的积累均受干旱胁迫程度的影响,轻度干旱胁迫下细根的干物质量均比对照组提高,中度干旱下细根干物质量开始发生下降,而重度干旱则导致其干物质量更显著的降低。可能是中度和重度干旱降低了栓皮栎幼苗光合碳固定的能力,碳向根系分配减少,最终导致细根干物质积累量的降低。Ogbonnaya 等[27]研究结果也证实:植物根的生长依赖于地上部分碳水化合物供应,在干旱环境下,由于光合产物积累下降而导致向根部供应的碳水化合物短缺,从而限制了根的干物质的累积。

植物在遭受干旱胁迫时,细胞膜发生过氧化作用而受到损伤,MDA 是脂质过氧化作用的产物之一,是检测膜损伤程度的公认指标[28]。根系活力直接影响植物对矿质营养和水分的吸收利用,从而对植物的生长发育起决定性作用[8]。本研究中,随干旱胁迫程度的加深,大小细根中 MDA 含量显著升高,同时大小细根活力呈显著下降,说明干旱使栓皮栎幼苗发生脂质过氧化,质膜遭到不同程度的损害,并导致其活力下,对细根吸水能力产生不同程度的负面影响。特别是重度胁迫下 MDA 含量增加最快,而活力下降最快,导致细根生长发育迅速减慢,如细根的数量、长度、干物质量等减少,表明重度胁迫严重影响了细根对矿质营养和水分的吸收能力,并导致植物代谢紊乱,其修复能力下降,如保护酶活性、可溶性蛋白含量下降,最终将导致细根发生衰老甚至死亡[8]。

干旱环境下植物也会通过主动积累渗透调节物质,如游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白的大量积累,来提高细胞液浓度,从而维持细胞膨压,防止原生质过度脱水,为正常生命活动创造条件[29-30]。而且抗旱性越强,游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量越高[31],但在重度胁迫下游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量可能下降[8, 32]。本研究显示:干旱胁迫下栓皮栎幼苗大小细根的游离脯氨酸和可溶性糖累积量总是高于对照组,表明干旱胁迫下栓皮栎幼苗的细根可以通过积累游离脯氨酸和可溶性糖来提高根系的吸水能力,增加细胞的渗透调节能力,从而在叶水势大幅度下降的同时降低渗透势[17],维持幼苗正常生长所需的膨压,这是栓皮栎幼苗在干旱环境下的一种保护性反应。除渗透调节作用外,游离脯氨酸还具有防止蛋白质结构受到破坏以及稳定酶结构与活性的功能[31]。当栓皮栎幼苗细根受到轻度干旱胁迫时,积累了更多的游离脯氨酸,在很大程度上也保证了它们具有较高的抗氧化保护酶活性(SOD、CAT、POD 和 APX)。Liu

等[33]对我国西南部喀斯特地貌生境下的两种灌木和4种乔木的干旱研究也发现游离脯氨酸含量和SOD、CAT、POD活性均存在显著正相关性,说明干旱胁迫下植物体内脯氨酸的积累有助于活化抗氧化酶系统。另外,本研究也显示:在重度干旱胁迫下,栓皮栎幼苗大小细根的可溶性蛋白含量减少。一方面可能是由于蛋白酶的活性升高,使其水解加快,降解后的蛋白形成了脯氨酸等其他具有调节功能的氨基酸;另一方面可能由于细胞体内积累大量活性氧,从而损伤了DNA的复制过程,使细胞蛋白质和核酸的合成能力减弱[34]。而卫星等[8]也认为细根内蛋白质合成能力减弱可能是造成干旱胁迫下蛋白质含量下降,细根活力减弱,发生衰老死亡的又一重要因素。

干旱胁迫下,植物体内产生过量的活性氧,引起膜脂质过氧化,导致膜系统受到破坏[34]。植株体内存在抗氧化防御体系,其中SOD、CAT、POD和APX是重要的抗氧化酶,可以清除植物体内产生的活性氧,而整个抗氧化系统的防御能力变化取决于这几种酶彼此协调共同作用的结果[35-36]。本研究表明:在干旱胁迫下,栓皮栎幼苗细根SOD活性升高,表明SOD对干旱胁迫反应更敏感,对O_2^-的歧化能力增强。O_2^-是细胞衰老过程中最先大量产生的活性氧分子,是引发细胞氧化还原状况改变的信号[35]。SOD控制着抗氧化酶系统中水-水循环的开始,在清除活性氧中起着关键的作用,它可以将O_2^-转化为H_2O_2,但所转化的H_2O_2需通过CAT、POD、APX等其他抗氧化酶清除[37]。本研究也显示:在轻度胁迫下,细根CAT、POD和APX活性均保持增加;中度胁迫下POD和APX的活性开始出现下降;而在重度干旱胁迫下,CAT、POD和APX的活性均出现不同程度的下降,表明随着干旱胁迫程度的加强,细胞抗氧化能力逐渐减弱,膜脂质氧化伤害程度增加,细根的活力下降,导致其生长发育缓慢,对干旱的适应能力也明显下降[38]。

不同直径细根受土壤环境要素的响应程度存在差异,其差异性直接影响根系的固着和吸收功能[23]。研究栓皮栎小细根($0.0<D\leqslant0.5$ mm)和大细根($0.5<D\leqslant2.0$mm)对干旱胁迫响应的分析表明:在各干旱胁迫环境下大细根总是保持较高的干物质量、相对较大的表面积和体积,导致大细根吸水能力和水分利用效率增强,从而使大细根保持了较高的相对含水率,增加抗氧化酶的活性,降低脂质过氧化程度[39]。与大细根相比,小细根总是保持着更低的渗透调节能力和抗氧化酶活性,且小细根的丙二醛含量更高,活力更低,表明小细根对干旱环境的变化更敏感。本研究还发现:栓皮栎幼苗的小细根一般位于1级、2级根,是大细根的子根,是根分支系统中产生较晚的根系,一方面其具有数量大,长度增加快的优点来帮助根系在土壤中占据更多的空间位置,增强根系对周围水分的吸收能力;另一方面其具有发达的皮层薄壁组织,也具有更高的N浓度,呼吸代谢旺盛,吸收及消耗土壤中更多的养分和水分,寿命比高级根短,对土壤环境变化反应也更敏感[20]。Hishi[40]也证实随着胁迫时间的延长,1级根各酶活性下降幅度也均大于2级根,说明1级根抗氧化酶系活性较2级根减少更明显,发生膜质过氧化的可能性也更高。

综合分析表明,干旱胁迫强度对当年生栓皮栎幼苗大小细根的生长、干物质量的累积和生理生化反应均产生了显著的影响,且对小细根的影响更显著。轻度胁迫(土壤含水率(21.1 ± 0.6)%)总是促进大小细根的生长发育,提高了根系渗透调节和抗氧化能力;尽管在中度胁迫(土壤含水率(14.6±1.2)%)下细根可以保证较高的渗透调节作用,但其部分抗氧化酶系活性(如POD、APX)已经开始发生下降,最终也导致其生长、干物质量累积开始发生下降;而重度胁迫(土壤含水率(6.8±0.7)%)严重抑制了细根的生长、干物质量、可溶性蛋白含量及CAT、POD和APX的活性,导致其细根中MDA含量增加最快,活力下降最快。然而,在重度胁迫结束时,幼苗并未死亡,且大小细根可以通过积累游离脯氨酸和可溶性糖调节根细胞的吸水能力,使大小细根相对含水率分别不低于79%和67%。这说明栓皮栎当年生幼苗具有较强的干旱适应能力,适合应用在黄土高原等半干旱区退化生态系统植被恢复重建与造林工程中。因此,自然生境下栓皮栎幼苗数量少,天然更新缺乏不能简单的归因于干旱胁迫限制幼苗存活。应该充分考虑自然生境下生物与非生物环境的共同作用,如栓皮栎种子淀粉含量高受虫害、动物取食的影响较为严重,影响了土壤种子库的有效种子的输入;并且干旱是否会对栓皮栎种子萌发造成影

响,进而影响幼苗更新,都还需要进一步在自然条件下展开系统的研究。

References:

[1] Bouwman A, Van Vuuren D P, Derwent R G, Posch M. A global analysis of acidification and eutrophication of terrestrial ecosystems. Water, Air, & Soil Pollution, 2002, 141(1): 349-382.

[2] Finér L, Ohashi M, Noguchi K, Hirano Y. Factors causing variation in fine root biomass in forest ecosystems. Forest ecology and management, 2011, 261(2): 265-277.

[3] Nadelhoffer K J. The potential effects of nitrogen deposition on fine-root production in forest ecosystems. New Phytologist, 2000, 147(1): 131-139.

[4] Curt T, Prévosto, B. Rooting strategy of naturally regenerated beech in Silver birch and Scots pine woodlands. Plant and Soil, 2003, 255(1): 265-279.

[5] Meinen, C, Hertel D, Leuschner C. Biomass and morphology of fine roots in temperate broad-leaved forests differing in tree species diversity: is there evidence of below-ground overyielding? Oecologia, 2009, 161(1): 99-111.

[6] Li W R, Zhang S Q, Ding S Y, Shan L. Root morphological variation and water use in alfalfa under drought stress. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(19): 5140-5150.

[7] Majdi H, Andersson P. Fine root production and turnover in a Norway spruce stand in northern Sweden: effects of nitrogen and water manipulation. Ecosystems, 2005, 8(2): 191-199.

[8] Wei X, Wang Z Q, Zhang G Z, Chen H B, Wang J. Physiological and biochemical responses of different order roots in *Fraxinus mandshurica* Seedlings to drought stress. Scientia Silvae Sinicae, 2009, 45(6): 16-21.

[9] Ahmed C B, Rouina B B, Sensoy S, Boukhris M, Abdallah F B. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Environmental and experimental botany, 2009, 67(2): 345-352.

[10] Dichio B, Margiotta G., Xiloyannis C, Bufo S A, Sofo A, Cataldi T R I. Changes in water status and osmolyte contents in leaves and roots of olive plants (*Olea europaea* L.) subjected to water deficit. Trees-Structure and Function, 2009, 23(2): 247-256.

[11] Chiatante D, Iorio A D, Scippa G. Root responses of *Quercus ilex* L. seedlings to drought and fire. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, 2005, 139(2): 198-208.

[12] Antonino D I, Antonio M, Gabriella S S, Donato C. Fine root growth of *Quercus pubescens* seedlings after drought stress and fire disturbance. Environmental and experimental botany, 2011, 74(2): 272-279.

[13] Zhang W H, Lu Z J. A study on the biological and ecological property and geographical distribution of *Quercus variabilis* population. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2002, 22(5): 1093-1101.

[14] Han Z X, Zhang W H, Shan L. Trait differentiation and geographical variability of *Quercus variabilis* community. Acta Botanica Boreale-Occidentalia Sinica, 2005, 25(9): 1848-1853.

[15] Willson M F. Plant Reproductive Ecology. New York: USA Press, 1983

[16] Fu H G, Yu G M. The Cultivation and Utilization of *Quercus variabilis*. Beijing: China Forestry Publishing House, 1986: 66-74.

[17] Zhang W H, Duan B L, Zhou J Y, Liu X Y. Water relations and activity of cell defense enzymes to water stress in seedling leaves of different provenances of *Quercus variabilis*. Acta Phytoecologica Sinica, 2004, 28(4): 483-490.

[18] Ma X D, Zhu C G, Li W H. Response of root morphology and biomass of *Tamarix ramosissima* seedlings to different water irrigations. Chinese Journal of Plant Ecology, 2012, 36(10): 1024-1032.

[19] Shen X H. Forest tree breeding. Beijing: China Forestry Publishing House, 1990: 23-30.

[20] Pregitzer K S, DeForest J L, Burton A J, Allen M F, Ruess R W, Hendrick R L. Fine root architecture of nine North American trees. Ecological Monographs, 2002, 72(2): 293-309.

[21] Li H S. Plant Physiology and Biochemistry experimental principles and techniques. Beijing: Higher Education Press, 2000: 148-219.

[22] Arakawa N, Tsutsumi K, Sanceda N G., Kurata T, Inagaki C. A Rapid and Sensitive Method for the Determination of Ascorbic Acid Using 4, 7-Diphenyl-1, 10-Phenanthroline. Agricultural Biological Chemistry, 1981, 45: 1289-1290.

[23] Pierret A, Doussan C, Capowiez Y, Bastardie F, Pagès L. Root functional architecture: a framework for modeling the interplay between roots and soil. Vadose Zone Journal, 2007, 6(2): 269-281.

[24] Coleman M. Spatial and temporal patterns of root distribution in developing stands of four woody crop species grown with drip irrigation and fertilization. Plant and Soil, 2007, 299(1): 195-213.

[25] Trubat R, Cortina J, Vilagrosa A. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* (L.). Trees-Structure and Function, 2006, 20(3): 334-339.

[26] Cortina J, Green J J, Baddeley J A, Watson C A. Root morphology and water transport of *Pistacia lentiscus* seedlings under contrasting water supply: A test of the pipe stem theory. Environmental and Experimental Botany, 2008, 62(3): 343-350.

[27] Ogbonnaya C, Nwalozie M C, Roy-Macauley H, Annerose D J M.

Growth and water relations of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) under water deficit on a sandy soil. Industrial Crops and Products, 1998, 8(1): 65-76.

[28] Hodges D M, DeLong J M, Forney C F, Prange R K. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyan in and other interfering compounds. Planta, 1999, 207(4): 604-611.

[29] Eissenstat D, Yanai R. The ecology of root lifespan. Advances in Ecological Research, 1997, 27: 1-60.

[30] Silva E N, Ferreira-Silva S L, Viégas R A, Silveira J A G. The role of organic and inorganic solutes in the osmotic adjustment of drought-stressed *Jatropha curcas* plants. Environmental and Experimental Botany, 2010, 69(3): 279-285.

[31] Chaves M, Oliveira M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. Journal of Experimental Botany, 2004, 55(407): 2365-2384.

[32] Patakas A, Nikolaou N, Zioziou E, Radoglou K, Noitsakis B. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. Plant Science, 2002, 163(2): 361-367.

[33] Liu C, Liu Y, Guo K, Fan D, Li G., Zheng Y, Yu L, Yang R. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. Environmental and Experimental Botany, 2011, 71(2): 174-183.

[34] Song C P. Plant senescence biology. Beijing: Peking University Press, 1998: 29-65.

[35] Buchanan B B, Gruissem W, Jones R L. Biochemistry & molecular biology of plants. Hoboken: John Wiley & Sons Ltd Press, 2000: 567-674

[36] Sun C H, Li Y, He H Y, Sun D X, Du W, Zheng X. Physiological and biochemical responses of *Chenopodium album* to drought stresses. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(10): 2556-2561.

[37] Asada K. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annual review of plant biology, 1999, 50(1): 601-639.

[38] Ji P F, Xue B, Liu Z H, Shang J J. Relationship between changes of physiological-biochemical characteristic of grape roots under drought -stress and drought-resistant. Northern Horticulture, 2012, 4(4): 17-20.

[39] Shi Y, Wen Z M, Gong S H. Comparisons of relationships between leaf and fine root traits in hilly area of the Loess Plateau, Yanhe River basin, Shaanxi Province, China. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(22): 6805-6814.

[40] Hishi T. Heterogeneity of individual roots within the fine root architecture: causal links between physiological and ecosystem functions. Journal of Forest Research, 2007, 12(2): 126-133.

参考文献:

[6] 李文娆, 张岁岐, 丁圣彦, 山仑. 干旱胁迫下紫花苜蓿根系形态变化及与水分利用的关系. 生态学报, 2010, 30(19): 5140-5150.

[8] 卫星, 王政权, 张国珍, 陈海波, 王婧. 水曲柳苗木不同根序对干旱胁迫的生理生化反应. 林业科学, 2009, 45(6): 16-21.

[13] 张文辉, 卢志军. 栓皮栎种群的生物学生态学特性和地理分布研究. 西北植物学报, 2002, 22(5): 1093-1101.

[14] 韩照祥, 张文辉, 山仑. 栓皮栎种群的性状分化与地理变异性研究. 西北植物学报, 2005, 25(9): 1848-1853.

[16] 傅焕光, 于光明. 栓皮栎栽培与利用. 北京: 中国林业出版社, 1986: 66-74.

[17] 张文辉, 段宝利, 周建云, 刘祥君. 不同种源栓皮栎幼苗叶片水分关系和保护酶活性对干旱胁迫的响应. 植物生态学报, 2004, 28(4): 483-490.

[18] 马晓东, 朱成刚, 李卫红. 多枝柽柳幼苗根系形态及生物量对不同灌溉处理的响应. 植物生态学报, 2012, 36(10): 1024-1032.

[19] 沈熙环. 林木育种学. 北京: 中国林业出版社, 1990: 23-30.

[21] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 148-219.

[34] 宋纯鹏. 植物衰老生物学. 北京: 北京大学出版社, 1998: 29-65.

[36] 孙存华, 李扬, 贺鸿雁, 孙东旭, 杜伟, 郑曦. 藜对干旱胁迫的生理生化反应. 生态学报, 2005, 25(10): 2556-2561.

[38] 冀鹏飞, 薛斌, 刘志华, 尚晶晶. 干旱胁迫下葡萄根系的生理生化变化与抗旱性的关系. 北方园艺, 2012, 4(4): 17-20.

[39] 施宇, 温仲明, 龚时慧, 黄土丘陵区植物叶片与细根功能性状关系及其变化. 生态学报, 2011. 31(22): 6805-6814.