

红壤水分条件对柑橘叶片质膜透性 以及活性氧代谢和保护酶活性的影响^①

周 静^{1,2,4}, 汪 天³, 崔 键^{3,4}, 梁家妮^{3,4}, 胡 锋^{1*}

(1 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095; 2 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008;

3 安徽农业大学, 合肥 230036; 4 中国科学院红壤生态实验站, 江西鹰潭 335211)

摘 要: 通过盆栽柑橘控制盆内红壤不同含水量处理, 研究了不同红壤水分条件对柑橘叶片质膜透性以及活性氧代谢和保护酶活性的影响。结果表明, 柑橘叶片相对电导率在红壤相对含水量 75% 处理时最低, 并与红壤相对含水量呈显著负相关 ($R^2 = 0.8236^*$, $n=50$); 柑橘叶片丙二醛 (MDA) 含量随土壤水分含量的减少而显著增加, 并与红壤相对含水量呈显著负相关 ($R^2 = 0.9051^*$, $n=50$)。柑橘叶片超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot-}$) 生成速率与过氧化氢 (H_2O_2) 含量在不同红壤水分条件下具有相近的变化曲线, 在红壤相对含水量 60% 的处理下达最大值后, 随红壤水分减少或增加均呈下降趋势; $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 并不是引起柑橘在红壤水分亏缺或盈余胁迫状况下氧化伤害的单一原因。随着红壤含水量的变化, 柑橘叶片抗氧化系统处于动态的平衡中, 柑橘叶片超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 酶活性在红壤干旱条件下都保持了较高的活性, 但过氧化氢酶 (CAT) 活性随土壤水分减少却显著降低。

关键词: 红壤; 柑橘; 土壤相对含水量 (SWC); 活性氧; 保护酶

中图分类号: S152.7; S432.3

果树植株对土壤水分条件变化的响应非常复杂, 逆境的土壤水分条件抑制植物生长或对植株的伤害的机理是多方面的, 在土壤水分亏缺或盈余等逆境条件下果树植株体内会发生包括适应性、伤害性和保护性变化^[1-2]。伤害性主要表现在活性氧代谢物质的变化, 保护性主要表现在保护酶活性改变, 其中因活性氧的产生而得不到正常消除是植物在逆境时受到胁迫伤害的重要原因之一^[3]。土壤水分亏缺或盈余促使植株体内活性氧产生加快、明显积累, 对生物大分子和膜系统进行攻击, 造成膜脂过氧化, 使细胞结构受损和功能降低。对于植物活性氧代谢在土壤水分胁迫下的变化, 有许多报道。有学者对活性氧自由基的研究表明, 不同作物或果树, 如小麦、苹果和油梨、芒果等在土壤干旱胁迫下, $O_2^{\cdot-}$ 产生速率以及 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 、 1O_2 含量都会升高, 但变化趋势有所不同^[4-6]。

柑橘是我国亚热带红壤地区栽培最为广泛的水果, 柑橘园多建在水分条件较差的丘陵岗地, 土壤水分往往是制约柑橘生产的主要环境因子^[7]。据研究, 土壤水分条件, 特别是土壤干旱是红壤地区作物产量最主要的限制因素之一^[8-9], 是区域农业发展的瓶

颈^[10]。虽然对于土壤水分胁迫引起植物的膜脂过氧化及保护酶系统等问题已受到普遍重视^[11-12], 在不同水分条件下植物对环境的适应性与抗氧化性的关系受到研究者关注^[9,11-12], 对橘园红壤水分物理性状也进行过研究^[13], 但对红壤不同水分条件下柑橘植株活性氧代谢和保护酶活性的变化等生理生化研究鲜见报道。

本文采用第四纪红黏土发育的红壤和宫川温州蜜柑作为实验材料, 利用盆栽柑橘幼树, 相对精确控制盆内红壤不同含水量处理水平, 研究在不同土壤水分条件下柑橘叶片质膜透性以及活性氧代谢与保护酶活性的变化, 探讨柑橘在不同红壤水分状态下抗氧化适应机制, 对柑橘减轻土壤水分胁迫引起的伤害、提高柑橘对环境的适应性, 以及为柑橘节水灌溉和提高效益的栽培管理模式提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料及试验处理

供试土壤: 第四纪红黏土母质发育的红壤, 基本理化性质见表 1。

①基金项目: 中国科学院知识创新领域前沿项目 (ISSASIP0730)、国家科技支撑计划项目 (2006BAD05B09) 和中国科学院知识创新项目 (KSCX1-YW-09-08 和 KZCX2-YW-Y417) 资助。

* 通讯作者 (fenghu@njau.edu.cn)

作者简介: 周静(1963—), 男, 安徽肥西人, 副研究员, 博士研究生, 主要从事土壤生态与节水农业方面研究。E-mail: zhoujing@issas.ac.cn

表 1 供试红壤的基本理化性质^[13]

Table 1 Basic physical and chemical properties of red soil in orange orchard

土层深度 (cm)	黏粒含量 (g/kg)	比表面积 (m ² /g)	体积质量 (g/cm ³)	孔隙度 (%)			土壤阻力 (MPa)	pH 值 (水提)
				总孔隙度	通气孔隙度	持水孔隙度		
0~25	221	160.4	1.26	54.9	23.1	31.8	0.18	4.20
25~60	306	174.6	1.39	46.5	10.5	36.0	0.41	4.42
60~100	345	138.0	1.40	44.1	11.9	32.2	0.36	4.56
100~170	289	—	1.42	43.3	9.9	33.4	0.52	4.58

供试柑橘: 2年生枳 (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) 砧宫川温州蜜柑 (*Citrus unshiu* Marc.cv. Miyagawa Wase) 盆栽幼树。

盆栽柑橘试验在中国科学院红壤生态实验站 (E 116°55', N 28°12') 试验玻璃温室和网室中进行。采用特号签瓦桶盆, 口内径、底内径和内高度分别为 32、27、48 cm, 装满土。2002 年 4 月、2003 年 4 月选择树势一致的柑橘幼树 (宫川温州蜜柑嫁接苗), 每盆移栽一株, 先进行“练苗”培养成活, 当年 11 月进行整枝修剪, 并且每盆施肥相同 (每盆施 0.5 kg 经高温发酵后的花生饼肥和其他土杂堆肥混合有机肥和 0.075 kg 含 N 量 46% 的尿素); 2002 年春季盆栽的幼树供 2003 年试验, 2003 年春季盆栽的幼树供 2004 年试验。

2003 年 4 月和 2004 年 4 月起分别开始按设计的土壤水分处理进行试验。每批试验前, 选主干、分枝、长势、胸径等柑橘生长特征均接近的橘苗 25 盆, 每盆 1 株, 进行水分控制实验。按盆内土壤含水量与最大田间持水量的百分数来表示土壤含水量。采用单因子差异重复试验设计, 设置 5 个红壤水分处理 (每处理 5 个重复): 处理 I (SWC30): 保持盆内 30 cm 深度的红壤含水量为最大田间持水量的 30%; 处理 II (SWC45): 保持盆内 30 cm 深度的红壤含水量为最大田间持水量的 45%; 处理 III (SWC60): 保持盆内 30 cm 深度的红壤含水量为最大田间持水量的 60%; 处理 IV (SWC75): 保持盆内 30 cm 深度的红壤含水量为最大田间持水量的 75%; 处理 V (SWC90): 保持盆内 30 cm 深度的红壤含水量为最大田间持水量的 90%。

每批试验, 除水分处理按试验设计方案不同外, 其他管理如施肥种类、数量、方式和病虫害防治等管理水平一致。试验盆置于能推动的平板车上, 遇上下雨或其他极端气候如大风、冬季气温低于零度时, 推进玻璃温室内, 夏季遇高温天气时, 在网室内用多层黑色遮阳网遮避阳光, 以避免阳光造成高温对幼树的伤害, 其他时间在露地进行生长。

盆内红壤含水量 (SWC) 监测与控制: 各处理得到

设计的红壤含水量后, 用塑料薄膜将盆及土面包住, 以防土面和盆体蒸发; 用 FDR 土壤水分探头 (MP-406, 澳大利亚 ICT 公司生产) 实时观测盆内红壤水分含量, 用烘干法校正 (用管状取样器进行纵向混合取样), 计算出盆内红壤体积含水量 (y) 与土壤水分探针读数 (x) 之间的函数关系如下: $y = -0.0026x^3 + 0.0176x^2 + 0.1985x - 0.2136$, $R^2=0.999$; 再计算成供试红壤质量含水量和相对含水量, 按水分探针读数实时加水, 控制各处理盆内红壤相对含水量在试验设计的范围内。

试验水分处理时间为 2003 年 5 月 16 日—10 月 15 日, 2004 年 5 月 16 日—10 月 15 日, 9 月下旬和 10 月上旬采样。所采集柑橘叶片为新梢正常叶片 (约倒数第 4~5 片叶) 作为实验室化学成分分析所用。

1.2 分析检测方法

1.2.1 柑橘叶片伤害指标及活性氧的测定 柑橘叶片质膜透性测定: 参照李振国^[14]的方法。取鲜叶 0.5 g, 用重蒸水漂洗 3 次, 于装有 10 ml 重蒸水的试管中, 震动 2 h 后用 DDS-11A 电导仪测定电导值, 然后煮沸 30 min, 冷却至 25℃ 测定电导值, 每样重复测定 2 次, 按下式计算: 相对电导率 (%) = (煮前电导率/煮后电导率) × 100%。

丙二醛 (MDA) 含量测定: 采用 Herth 等^[15]的方法, 取 0.5 g 鲜叶加入 5 ml 10% 三氯乙酸 (TCA) 研磨至匀浆, 以 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2 ml (对照加 2 ml 蒸馏水), 加入 2 ml 0.6% 硫代巴比妥酸 (TBA, 用 10% TCA 配制) 溶液, 混匀后于沸水浴上反应 15 min, 迅速冷却后再离心。取上清液测定 532、600 和 450 nm 波长下光密度。MDA (μmol/g) (以鲜叶重计) = $6.45(D_{532} - D_{600}) - 0.56D_{450}$ 。

超氧阴离子自由基 (O_2^-) 生成速率测定: 采用羟胺反应法^[16]。反应产物 NO_2^- 与对氨基苯磺酸及 α-萘胺反应生成红色偶氮染料, 在 530 nm 处比色, 由 $[NO_2^-] \times 2$ 得 $[O_2^-]$, 记录样品与羟胺反应时间和样品蛋白含量, 即得样品产生的 O_2^- 生成速率, 以 nmol/(min·g) (以鲜叶重计) 表示。

H₂O₂含量测定: 参照汪天等^[17]的方法。称 0.5 g 柑橘鲜叶, 加入 1.6 ml 预冷的 0.2 mol/L HClO₄冰浴研磨至匀浆后, 于 10000 r/min 离心 5 min (4℃), 取上清液, 加 4 mol/L KOH 调 pH 值为 7.5 后, 再于 10000 r/min 离心 5 min (4℃), 取上清液 1 ml, 加 0.4 ml 显色液 (100 ml 显色液的成分中含 25 μl N, N-二甲基苯胺、10 mg 4-氨基氮替吡啶; 用 0.1 mol、pH 6.5 的磷酸缓冲液配)、0.1 ml 过氧化物酶溶液 (250 U/ml), 充分混匀后立即测定波长 550 nm 处光密度值。以标准 H₂O₂ 浓度作标准曲线求相应 H₂O₂ 值, 以鲜叶重计, 单位 nmol/g 表示。

1.2.2 保护酶的测定 过氧化物酶 (POD) 活性测定: 参照陈贻竹等^[18]的方法并加以改进。取 0.5 g 柑橘鲜叶, 加入 1.6 ml 50 mmol/L PBS (pH 7.8, 内含 0.1 mmol/L EDTA 和 1% PVP), 冰浴研磨至匀浆, 以 10000 r/min 冷冻离心 30 min, 取上清液, 即酶液。在 3 ml 反应体系中含 1.9 ml PBS、1 ml 0.25% 愈创木酚溶液、0.1 ml 酶液。连续记录 25℃ 下 470 nm 吸收值变化, 以每分钟增加 1 OD 值的酶量为一个酶活性单位 U (U/(min·mg)) (以鲜叶蛋白质含量计)。

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性测定: 参照 Giannopolitis 和 Ries^[19]的方法。酶液提取同过氧化物酶 (POD) 活性测定。在 3 ml 反应体系中含 2.2 ml PBS (pH 7.8, 50 mmol/L)、0.2 ml 核黄素 (VB₂, 60 μmol/L)、0.2 ml 甲硫氨酸 (Met, 195 mmol/L)、0.1 ml EDTA (3 μmol/L)、0.2 ml 氮蓝四唑 (NBT, 1.125 mmol/L)、0.1 ml 酶液。以不加酶液 (用缓冲液代替) 照光管为对照, 在 4000 Lux 下光照 20 min, 测定其在 560 nm 处的光密度值, 以抑制 NBT 光化还原 50% 为一个酶活性单位 U (U/(min·mg)) (以鲜叶蛋白质含量计)。

过氧化氢酶 (CAT) 活性测定: 采用 Dhindsa 等^[20]的方法并加以改进, 取 0.5 g 柑橘鲜叶, 加 1.6 ml 50 mmol/L PBS (pH 7.0, 内含 1.0 mmol/L DTT 和 1% PVP), 冰浴研磨至匀浆, 以 10000 r/min 冷冻离心 30 min, 取上清液, 即酶液。在 3 ml 反应体系中含 1.9 ml PBS (pH 7.0, 50 mmol/L)、1.0 ml H₂O₂ (45 mmol/L)、0.1 ml 酶液, 连续记录 25℃ 下 240 nm 吸收值变化, 以每分钟减少 0.1 OD 值为一个酶活性单位 U (U/(min·mg)) (以鲜叶蛋白质含量计)。

抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性测定: 采用 Nakano 和 Asada^[21]的方法测定, 并加以改进。取柑橘鲜叶 1 g 剪碎, 按 1:3 (W/V) 加入预冷的 50 mmol/L K₂HPO₄-KH₂PO₄ 缓冲液 (pH 7.0, 内含 0.1 mmol/L EDTA-Na₂) 进行研磨提取后, 用 2 层纱布过滤, 滤液

以 10000 r/min 离心 10 min, 上清液为酶粗提取液。用预先制备的 2.8 ml 反应混合液 (含 50 mmol/L K₂HPO₄-KH₂PO₄ 缓冲液 (pH 7.0)、0.1 mmol/L EDTA-Na₂ 和 0.3 mmol/L AsA), 加入 0.1 ml 酶粗提取液和 0.1 ml 的 0.06 mmol/L H₂O₂。加入 H₂O₂ 后立即在 20℃ 下测定 10 ~ 30 s 内的 OD₂₉₀ 值变化, 以单位时间 (h) 内 AsA 减少量表示酶活性 (mmol/(g·h)) (以鲜叶蛋白质含量计)。

蛋白含量测定: 参照 Bradford^[22]的方法。以缓冲液配制牛血清白蛋白标准溶液, 制作标准曲线。

1.2.3 计算统计方法 数据用 Excel 2003 和 SAS 9.0 软件分析统计。结果所用数据为 2 年各指标项分析数据的平均值, 单位以鲜叶重计。

2 结果与分析

2.1 红壤水分条件对柑橘叶片丙二醛 (MDA) 含量及细胞质膜透性的影响

植物细胞中丙二醛 (MDA) 含量和以相对电导率表示的细胞质膜透性作为伤害指标被广泛应用于植物逆境生理中^[3]。MDA 是膜脂过氧化的末端产物, 其含量高低是判断膜脂过氧化程度的重要指标; 细胞质膜透性也是反映细胞膜受伤害程度的直接指标^[23]。

供试红壤不同土壤水分处理条件下, 柑橘叶片细胞质膜透性变化和 MDA 含量见图 1。随土壤水分含量的减少, 柑橘叶片中 MDA 含量显著增加。MDA 含量与土壤水分相对含量呈显著负相关 ($R^2 = 0.9051^*$, $n = 50$)。邓肯差异显著性检验表明 SWC75 以下的土壤水分各处理间 MDA 含量差异显著, 其中 SWC30 和 SWC45 处理下, MDA 含量分别与 SWC75 处理之间差异极显著; 但 SWC75 处理与 SWC90 处理两组间柑橘叶片 MDA 含量差异不显著。SWC30、SWC45、SWC60 土壤水分处理柑橘叶片中 MDA 含量分别是 SWC75 处理的 160.0%、131.8% 和 111.8%。土壤水分越低, 柑橘叶片积累的 MDA 量越多, 表明土壤水分亏缺可能使柑橘叶片造成了干旱伤害, 而且伤害程度与土壤水分减少的程度呈正比。

土壤相对含水量小于 75% 的条件下, 柑橘叶片细胞质膜透性随土壤水分的减少而显著增大, 相对电导率在 SWC75 处理时为最低值, 但当土壤相对含水量增加到 90% 时, 柑橘叶片相对电导率又有增加趋势。柑橘叶片相对电导率与土壤水分相对含量呈显著负相关 ($R^2 = 0.8236^*$, $n = 50$)。显著性检验表明, 其他各水分处理下柑橘叶片相对电导率分别与 SWC75 处理

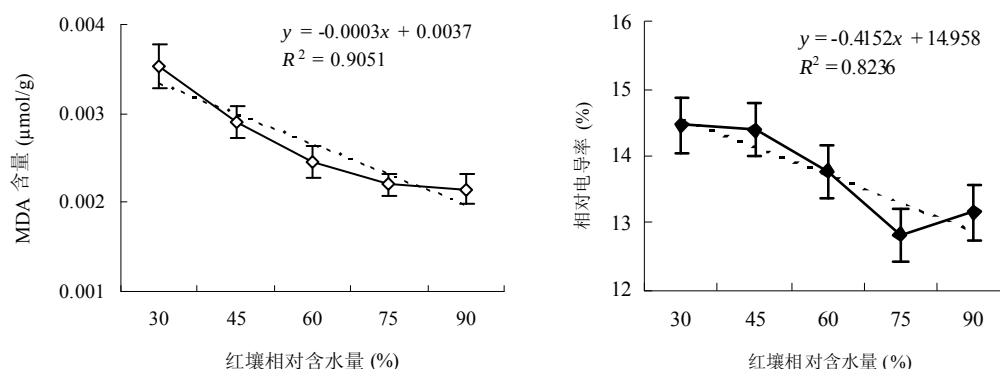


图1 红壤水分对柑橘叶片中MDA含量及细胞质膜透性的影响

Fig. 1 Effects of red soil moisture on cytoplasm membrane permeability and MDA content in citrus leaves

间差异显著。表明不仅土壤水分亏缺,而且土壤水分盈余也会造成柑橘叶片细胞质膜透性增加,柑橘叶片细胞会受到因土壤水分的盈亏而造成的胁迫伤害。

2.2 红壤水分条件对柑橘叶片超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)生成速率和过氧化氢(H_2O_2)含量的影响

氧是活细胞中自由基反应的主要促进者,而且本身就具有自由基的性质,其中超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢分子(H_2O_2)和羟自由基($\cdot OH$)是构成植物体内

主要的氧化伤害物质^[24]。从图2中可知,在红壤相对含水量60%的处理(SWC60)时,柑橘叶片中 $O_2^{\cdot-}$ 生成速率和 H_2O_2 含量都达到最大值,而在SWC30处理时, $O_2^{\cdot-}$ 生成速率最小,与最大值相比,减少了16.6%。综合图1看出,虽然随着土壤相对含水量的减少,柑橘叶片超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)生成速率和 H_2O_2 含量都呈下降的趋势,但MDA含量则显著增加,表明柑橘叶片脂质过氧化加重,说明 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 并不是造成柑橘叶片在红壤缺水环境下受氧化胁迫的单一原因。

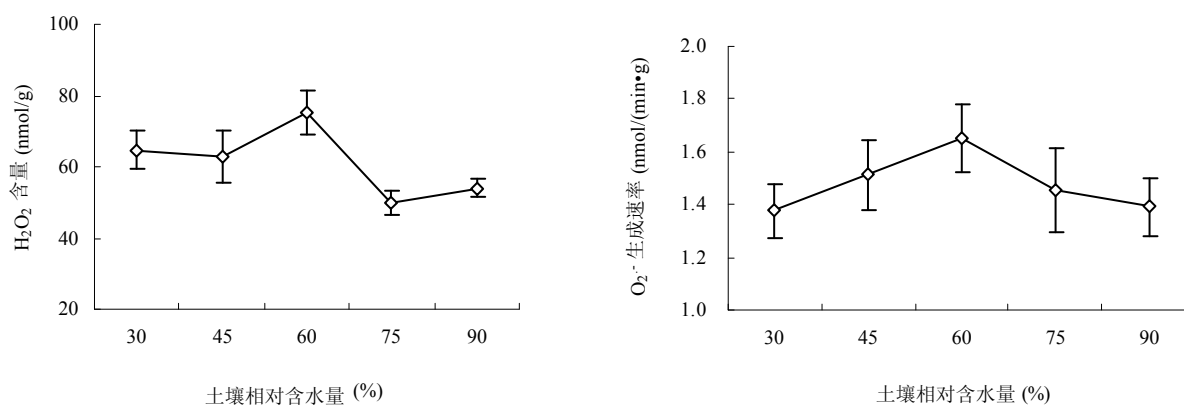


图2 红壤水分条件对柑橘叶片中活性氧代谢的影响

Fig. 2 Effects of red soil moisture on active oxygen species in citrus leaves

2.3 不同红壤水分对柑橘叶片保护酶活性的影响

从图3可知,在供试红壤相对含水量75%(SWC75)处理时,柑橘叶片中SOD的生成速率为最大值,随着土壤水分的下降,SOD有下降的趋势,在SWC30处理时虽有所回升,但与SWC75处理时最大值差异显著,减少了16.18%。SOD与 $O_2^{\cdot-}$ 的变化无明显线性相关(R^2

$= 0.063$, $n = 50$),说明柑橘叶片体内SOD可能不是 $O_2^{\cdot-}$ 的诱导酶,而与叶片的生长环境如土壤水分条件等有关;不同红壤水分条件下,POD、APX活性的变化均与红壤相对含水量具有一定的负相关($R^2 = 0.4948$, $n = 50$; $R^2 = 0.7212$, $n = 50$);POD、APX与叶片中 H_2O_2 的含量间无线性相关($R^2 = 0.0338$, $n =$

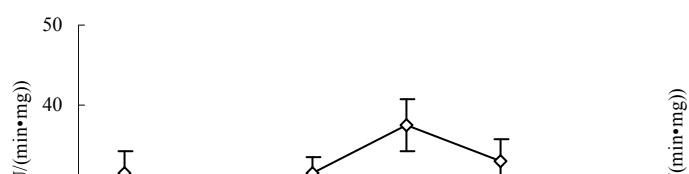


图3 红壤水分条件对柑橘叶片保护酶活性的影响

Fig. 3 Effects of red soil moisture on activities of protective enzymes of citrus leaves

50; $R^2 = 0.005$, $n = 50$), 说明柑橘叶片中POD和APX可能不是 H_2O_2 的诱导酶, 但也与叶片的生长环境如土壤水分条件等有关。而在红壤相对含水量 60% (SWC60) 以下处理时, CAT呈直线下降, SWC30 处理比SWC60 处理柑橘叶片中CAT活性减少了 79.64%。说明随着土壤含水量的变化, 柑橘叶片抗氧化系统处于动态的平衡中, 红壤土壤水分亏缺胁迫时, 相对提高了柑橘叶片SOD、POD、APX活性, 却显著降低了CAT活性。

3 讨论

植物的抗氧化作用是植物自身适应性调节的一个重要方面, 而在不同的环境条件下, 不同的植物有着不同的抗氧化机制。当植物体受到氧化胁迫时, 植物体内活性氧的产生与清除之间所维持的动态平衡被打破, 随着胁迫时间的延长和胁迫程度的加重, 活性氧清除系统的功能逐渐降低, 而活性氧积累越来越多, 最终使细胞膜膜质过氧化并发生自由基链式反应, 形成丙二醛 (MDA), 使细胞膜流动性下降, 膜功能受到

伤害, 膜透性增加, 导致植物的生长受到损害。因而MDA的积累和细胞质膜透性的增加是植物在逆境胁迫下受伤害的指标^[25]。

本实验中, 红壤相对含水量在 75% 及以下的处理, 柑橘叶片细胞质膜透性随土壤水分含量的减少而显著增大, 柑橘叶片相对电导率在红壤相对含水量 75% 处理时为最低值。柑橘叶片相对电导率与红壤水分相对含量呈显著负相关 ($R^2 = 0.8236^*$, $n = 50$); 同时, 红壤水分盈余也会造成柑橘叶片细胞质膜透性增加。而且不同红壤水分处理条件下, 柑橘叶片丙二醛 (MDA) 含量随土壤水分含量的减少而显著增加, 并且与红壤相对含水量呈显著负相关 ($R^2 = 0.9051^*$, $n = 50$)。供试红壤含水量越低, 柑橘叶片积累的MDA量越多。

在不同红壤水分处理条件下, 柑橘叶片 H_2O_2 含量与 O_2^- 生成速率具有相近的变化曲线, 在红壤相对含水量 60% 的处理下达最大值后, 随红壤水分下降或增加而降低。但柑橘叶片丙二醛 (MDA) 含量随土壤水分含量的减少而显著增加, 并且与红壤相对含水量呈显

著负相关,说明 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 并不是引起柑橘在红壤水分亏缺或盈余胁迫状况下氧化伤害的单一原因。

植物体内为保证各种功能的正常运行,对潜在活性氧伤害有着精细而复杂的防御体系。这包括酶类、抗氧化剂和光呼吸。 SOD (超氧化物歧化酶)是唯一以 $O_2^{\cdot-}$ 为底物的酶类,它是生物细胞普遍存在的金属酶,催化 $O_2^{\cdot-}$ 的歧化反应,生成氧和水; POD (过氧化物酶)和 CAT (过氧化氢酶)可以去除生理系统中的 H_2O_2 ,并且有相似的机理^[26];而 APX (抗坏血酸过氧化物酶),是叶绿体中清除 H_2O_2 的关键酶,通过抗坏血酸-谷胱甘肽循环,移去叶绿体中的 H_2O_2 ,同时,使植物中两种重要的抗氧化物质 AsA (抗坏血酸)和 GSH (谷胱甘肽)得以再生^[27]。

本实验中,红壤水分减少虽然相对提高了柑橘叶片 SOD 、 POD 、 APX 的活性,但这些酶活的变化与相关活性氧的变化并不呈一定的相关性,所以这些酶可能不是相关活性氧的诱导酶。供试土壤上柑橘 SOD 、 POD 、 APX 的活性与土壤水分含量有关,随土壤水分下降而上升,而 CAT 活性随土壤水分下降而显著降低,表明红壤上栽培的柑橘可以通过提高自身的抗氧化酶的活性来适应土壤水分的变化, CAT 在抗氧化系统中所起的作用却要低于前3种酶。说明随着红壤含水量的变化,柑橘叶片抗氧化系统处于动态的平衡中,柑橘叶片 SOD 、 POD 、 APX 酶活性在红壤干旱条件下都保持了较高的活性,但 CAT 活性随土壤水分下降却显著降低。

参考文献:

- [1] 曹慧, 兰彦平, 王孝威. 果树水分胁迫研究进展. 果树学报, 2001, 18(2): 110-114
- [2] 刘国琴, 樊卫国. 果树对水分胁迫的生理响应. 西南农业学报, 2000, 13(1): 101-106
- [3] 王爱国. 植物的氧代谢 // 余叔文, 汤章城主编. 植物生理与分子生物学. 北京: 科学出版社, 1998: 366-389
- [4] 张峰, 杨颖丽, 何文亮. 水分胁迫及复水过程中小麦抗氧化酶的变化. 西北植物学报, 2004, 24(2): 205-209
- [5] 姚允聪, 张大鹏, 王有年. 水分胁迫条件下苹果幼苗叶绿体抗氧化代谢研究. 果树科学, 2000, 17(1): 1-6
- [6] 贾虎森, 潘秋红, 蔡世英. 水分胁迫下油梨幼苗活性氧代谢对光合作用的影响. 热带作物学报, 2001, 22(1): 48-54
- [7] 石雪晖, 刘昆玉, 杨国顺, 吕长平, 王淑英, 罗川惠. 低温胁迫对柑橘离体叶片质膜透性和MDA及V-C含量的影响. 湖南农业大学学报, 1997, 23(1): 36-40
- [8] 张士功, 刘国栋, 刘更另. 植物营养与作物抗旱性. 植物学通报, 2001, 18(1): 64-69
- [9] 李建武, 王蒂, 雷武生. 干旱胁迫对马铃薯叶片膜保护酶系统的影响. 江苏农业科学, 2007(3): 100-103
- [10] 李智念, 王光明, 曾之文. 植物干旱胁迫中的ABA研究. 干旱地区农业研究, 2003, 21(2): 99-104
- [11] 尤海洋, 罗新义. 干旱胁迫对披碱草属植物保护酶活性的影响. 当代畜牧, 2007(8): 40-42
- [12] 蓝祖庆, 陈本建, 许炳森, 叶振华, 陈平. 淹水对粤选1号匍匐剪股颖保护酶活性的影响. 草原与草坪, 2007(3): 8-11
- [13] 姚贤良. 华中丘陵红壤的水分问题 IV. 橘园红壤的水分状况. 土壤学报, 1998, 35(2): 210-217
- [14] 李振国. 植物细胞质膜透性的测定 // 中国科学院上海植物生理研究所、上海植物生理学会编. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999: 302-303
- [15] Heath RL, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys., 1986, 125: 189-198
- [16] 罗广华, 王爱国. 植物体内氧自由基的测定和清除 // 中国科学院上海植物生理研究所、上海市植物生理学会编. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999: 308-309
- [17] 汪天, 王素平, 郭世荣. 低氧胁迫下黄瓜幼苗根系多胺代谢的变化. 园艺学报, 2005, 32(3): 433-437
- [18] 陈贻竹, 帕特森 B. 低温对植物超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢水平的影响. 植物生理学报, 1988, 14(4): 323-328
- [19] Giannopolitis CN, Ries SK. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedling. Plant Physiol., 1977, 59: 315-318
- [20] Dhindsa RS, Plumb-Dhindsa P, Thorpe TA. Leaf senescence correlated with increase levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels dismutase and catalase. J. Exp. Bot., 1982, 32: 91-101
- [21] Nakano Y, Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant & Cell Physiology, 1981, 22: 867-880
- [22] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 1976, 72: 248-254
- [23] 朱晓军, 梁永超, 杨劲松, 姜运生. 钙对盐胁迫下水稻幼苗抗氧化酶活性和膜质过氧化作用的影响. 土壤学报, 2005, 42(3): 453-459
- [24] 宋纯鹏. 植物衰老生物学. 北京: 北京大学出版社, 1998: 30-57
- [25] 汪天, 胡晓辉, 郭世荣. 外源多胺对低氧胁迫下黄瓜幼苗根系活性氧及保护酶活性变化的影响. 农业工程学报, 2005, 21(增

- 刊): 67-71
- [26] 郑荣梁. 自由基生物学. 北京: 高等教育出版社, 1992: 172-191
- [27] Fryer MJ. The antioxidant effects of thylakoid vitamin E. *plant Cell Environ.*, 1992, 15: 381-392

Effects of Red Soil Moisture on Content of Reactive Oxygen Species and Activities of Protective Enzymes of Citrus (*Citrus Unshiu* Marc.) Leaves

ZHOU Jing^{1,2,4}, WANG Tian³, CUI Jian^{3,4}, LIANG Jia-ni^{3,4}, HU Feng¹

(1 College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 3 Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;

4 Red Soil Ecological Experiment Station, Chinese Academy of Sciences, Yingtan, Jiangxi 335211, China)

Abstract: The cytoplasm membrane permeability (CMP), reactive oxygen species (ROS) and the activities of protective enzymes (APX, CAT, POD and SOD) of citrus (*Citrus unshiu* Marc.cv.) leaves under different red soil moisture treatments (levels) were studied. The results showed that malondialdehyde (MDA) and CMP of citrus leaves increased evidently and superoxidation of lipid metabolism also aggravated as soil relative water content (SWC) reduced. Both MDA content and CMP were significantly correlated with SWC ($R^2 = 0.9051^*$ and 0.8236^* , $n = 50$, respectively). Both superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$) producing rate and H_2O_2 content reduced with the decrease of soil water content. However, this was not the single reason that $O_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 led to the oxidative damage of citrus leaves under red soil drought conditions. The anti-oxidation system of citrus leaves was in the homeostasis as SWC changed. The activities of SOD, POD and APX remained high under the deficit of soil water, while CAT activity decreased rapidly with the decrease of SWC.

Key words: Red soil, Citrus, Soil water content (SWC), Reactive oxygen species, Protective enzymes