

粗壮女贞对持续性干旱及复水的生理响应

吴丽丽, 王德炉*, 李自玉

贵州大学林学院, 贵阳550025

摘要: 为了探讨粗壮女贞(*Ligustrum robustum*)幼苗对持续干旱胁迫的适应能力、恢复能力及生理响应特征, 采用温室盆栽方法模拟土壤干旱条件, 分别对干旱胁迫5、10、15、20和25 d及胁迫后复水5、10、20 d的幼苗渗透调节物质含量、叶片相对电导率(REC)、水分饱和和亏(WSD)、丙二醛(MDA)含量及保护酶活性的变化规律进行研究。结果表明: 干旱胁迫对粗壮女贞叶片生理指标有显著影响, 复水后, 各指标均有向正常水平恢复的趋势。随着干旱时间的延长, 粗壮女贞叶片脯氨酸(Pro)含量、REC、WSD等指标呈增加趋势; 可溶性蛋白质含量、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性呈先升后降的变化, 但两种保护酶活性增幅和响应时间不同, 表现出不同的清除过氧化物功能; MDA含量呈“升-降-升”的波浪式趋势。干旱胁迫的程度不同, 幼苗复水后各指标恢复能力和恢复程度各异, 干旱时间越长, 恢复需要的时间也越长, 各指标恢复时间与干旱程度呈正相关。综合表明, 土壤相对含水量为32.51%是粗壮女贞正常生长所需最低土壤含水量。

关键词: 粗壮女贞; 生理响应; 干旱胁迫; 复水

粗壮女贞(*Ligustrum robustum*)系木犀科(Oleaceae)女贞属植物, 是一种常绿灌木或小乔木, 其叶片含有丰富的黄酮类、萜醌类、皂苷、多糖、鞣质、酚类等成分(刘韶等2003), 可加工成代茶叶的天然保健饮料, 常称贵州苦丁茶, 具有多种药理功效(叶倩等2013; Yi等2016; Seo等2017), 口感独特, 有较高的经济价值, 是我国苦丁茶的主要种类(张永田1994)。粗壮女贞还具生长快、萌蘖能力强、耐修剪等特点, 是荒山绿化和退耕还林的良好造林灌木树种。因其很好的生态效益和经济效益, 在我国西南地区已被用于大面积人工栽培, 成为开展大规模产业化商品生产的木犀科代茶植物。

近年来, 国内外有关冬青科苦丁茶(*Ilex latifolia*)的栽培(刘根林等2003)、加工(肖文军等2000)、生理生化(王宁等2011)、药理研究开发与应用(谢旻皓等2015)等方面研究报道较多, 而女贞属苦丁茶植物的研究报道甚少。女贞属苦丁茶研究还存在着较大不足, 相关的培育、种植技术研究、生理生化研究相对比较少, 尤其水分生理、养分生理、栽培密度、修剪技术等方面研究几近空白, 而这些因子直接影响着女贞属苦丁茶的优质丰产栽培技术及其品质提高。

植物抗逆性研究已成为当前各国科学家研究的热点, 其中以水分逆境最为常见和重要。水分逆境对植物生理活动的影响持久而频繁, 是限制农作物和林木正常生长的主要逆境因子。通过研究不同干旱胁迫处理下植物生长状况及生理生化

反应, 分析其对干旱逆境的响应规律及适应能力, 对苗木的栽培及合理灌溉有重要的指导意义。因此, 本文以三年生粗壮女贞实生苗为实验材料, 采用盆栽控水的方法, 通过持续干旱和复水实验, 研究粗壮女贞对干旱的生理响应, 探索粗壮女贞抗旱机理, 以期对粗壮女贞栽培的合理灌溉和制定粗壮女贞优质丰产及品质提高技术体系提供依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料及设计

实验材料选用三年生粗壮女贞[*Ligustrum robustum* (Roxb.) Blume]实生苗, 选取生长良好、长势一致植株进行持续干旱胁迫, 平均苗高和地径分别为60.2和0.6 cm, 于2016年3月20日盆栽至大棚温室内开始实验处理。实验采用盆栽土培法, 花盆规格: 高28 cm, 上口径26 cm, 下口径24 cm; 土壤pH为7.1, 有机质为18.8%, 速效钾 $3.624 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 速效磷 $43.87 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 碱解氮 $0.2085 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 田间持水量为40.6%。参照潘昕等(2014)的实验设计进行改良, 按照停止灌溉(即干旱)天数设5个处理, 分别为5、10、15、20和25 d, 各干旱时间对应的土壤相对含水量分别为60.84%、45.07%、37.68%、32.51%和26.85%。

收稿 2018-01-23 修定 2018-04-18

资助 贵州省农业科技攻关项目(黔科合NY字[2007]3040号)、贵州省自然科学基金(黔科合J[2007]2059号)和贵州省优秀科技教育人才省长专项基金(黔省专合字[2006]5号)。

* 通讯作者(1539349567@qq.com)。

每个处理3次重复,每重复9株,对照组为每天浇水(控制在田间持水量的 $80\% \pm 3\%$)。停灌天数期满当日,对各处理和对照取植物样(上部功能叶片,混和作为测定样品)进行指标的测定,并在停灌天数期满当日进行复水,复水后5 d (Rew1)、10 d (Rew2)、20 d (Rew3)进行相关生理指标测定。

1.2 测定方法

1.2.1 脯氨酸含量

脯氨酸(proline, Pro)含量的测定采用酸性茚三酮显色法(王学奎和黄见良2015)。

1.2.2 可溶性蛋白含量

可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法(曹建康等2006)。

1.2.3 丙二醛含量

丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量采用硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)法测定。

1.2.4 叶片抗氧化酶活性

过氧化物酶(peroxidase, POD)活性采用愈创木酚法测定(蔡永萍2014),以每分钟光密度变化表示酶活性大小。

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性测定采用氮蓝四唑(nitroblue tetrazolium, NBT)光还原法(蔡永萍2014),根据SOD抑制NBT在光下的还原作用来确定酶活性的大小。

1.2.5 叶片相对电导率

细胞膜透性通过测定电导率计算其电解质渗出率[叶片相对电导率(relative electrical conductivity, REC)]来表示,参照郝建军等(2007)的测定方法。

1.2.6 水分饱和亏

水分饱和亏(water saturation deficit, WSD)采用饱和称重法(刘祖祺等1994),应用以下公式计算: $WSD = (\text{饱和鲜重} - \text{自然鲜重}) / (\text{饱和鲜重} - \text{干重}) \times 100\%$ 。

1.3 数据处理

用Excel和SPSS 18.0软件对各项指标的差异显著性进行分析,文中所有图表中的数据均为3次重复的平均值 \pm 标准差。

2 实验结果

2.1 对粗壮女贞叶片Pro含量的影响

研究结果(图1)表明,随着干旱时间延长,粗壮

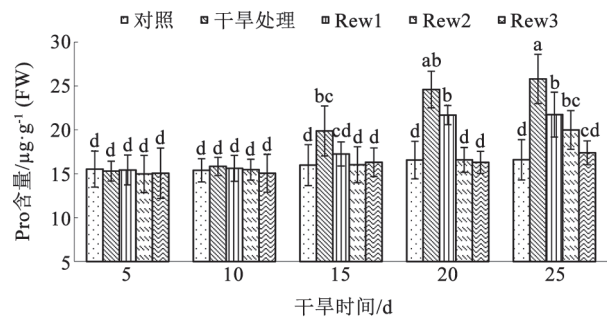


图1 干旱及复水对粗壮女贞叶片Pro含量的影响
Fig.1 Effects of drought and rewatering on Pro content in leaves of *L. robustum*

各柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$),下同。

女贞叶片Pro含量呈上升趋势,在干旱15 d时急剧上升,比对照高出24.4%,并与对照呈显著差异。随着干旱进一步加剧,Pro含量继续增加,在干旱20和25 d时,比对照分别高出了48.5%和55.5%。各处理复水后,粗壮女贞叶片Pro含量总体呈下降趋势,干旱时间越长,下降越多。复水5 d时,干旱5、10和15 d的处理Pro含量恢复到正常水平;复水10 d时,干旱20 d的处理恢复到干旱前水平;复水20 d时,干旱25 d的处理才恢复到正常水平。可见,干旱胁迫时间越长,程度越严重,粗壮女贞叶片中Pro含量恢复到未受损前水平需要时间越长。

2.2 对粗壮女贞叶片可溶性蛋白质含量的影响

图2表明,干旱对粗壮女贞叶片中可溶性蛋白质含量产生了明显影响,其变化规律与Pro含量并不一致。随着干旱时间的延长呈先升后降趋势,在干旱10 d时达到最大值,并与各处理呈显著性差异,此后持续下降,25 d时低于正常水平达到最低

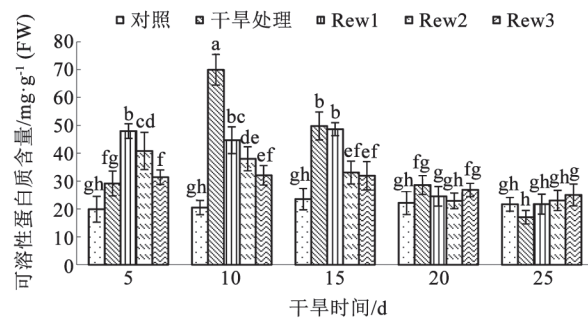


图2 干旱及复水对粗壮女贞叶片可溶性蛋白质含量的影响
Fig.2 Effects of drought and rewatering on soluble protein content in leaves of *L. robustum*

值, 受干旱影响敏感程度高于Pro。无论粗壮女贞叶片可溶性蛋白质含量在干旱时是高于还是低于对照, 复水后均有向正常水平恢复的趋势。在复水20 d时, 叶片可溶性蛋白质含量均高于对照, 其中干旱5、10和15 d处理组均与对照达到显著差异, 表明经适度干旱处理的粗壮女贞复水后, 可溶性蛋白质含量可维持在较高水平, 从而提高了植株的抗逆性。

2.3 对粗壮女贞叶片SOD活性的影响

粗壮女贞叶片SOD活性受干旱影响的变化如图3所示。总体上看, 粗壮女贞叶片SOD活性在干旱条件下均显著高于正常水平(对照)。随着干旱时间延长, SOD活性呈先升后降趋势, 在干旱20 d时, SOD活性达到最大值, 是正常水平的1.67倍; 随着干旱胁迫进一步加剧, SOD活性降低, 与最大值相比, 下降了20.87%, 但仍高于对照。复水后各处理SOD活性总体均呈下降趋势, 复水5、10 d时, 各处理SOD活性仍然维持在较高水平, 复水20 d时, 各处理SOD活性趋于一致, 处理间差异不显著, 但仍高于对照; 干旱5、10、15、20、25 d处理组的SOD活性比对照分别高出了2.6%、4.3%、9.1%、12.0%、12.3%, 其中干旱15、20、25 d处理组与对照达到显著水平, 说明经过干旱处理的粗壮女贞其清除自由基的能力提高。

2.4 对粗壮女贞叶片POD活性的影响

图4是粗壮女贞叶片POD活性在不同干旱时间条件下的变化情况。由图可知, 干旱对粗壮女贞叶片POD活性产生了明显影响, 造成了POD活性的升高。随着干旱时间延长, POD活性呈先升高后降低的单峰趋势, 在干旱15 d时达到峰值, 比对照显著性提高348.08%, 此后开始下降, 但始终显

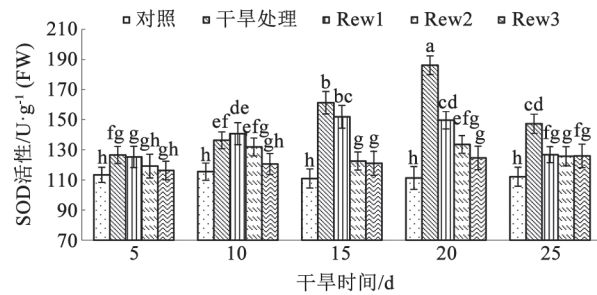


图3 干旱及复水对粗壮女贞叶片SOD活性的影响
Fig.3 Effects of drought and rewatering on SOD activity in leaves of *L. robustum*

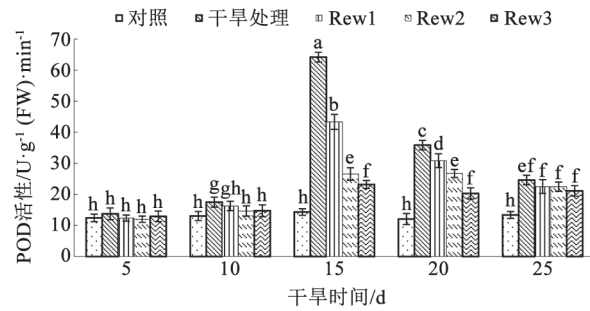


图4 干旱及复水对粗壮女贞叶片POD活性的影响
Fig.4 Effects of drought and rewatering on POD activity in leaves of *L. robustum*

著高于对照。复水后, 各处理POD活性均呈下降趋势。复水5 d时, 干旱5、10 d处理组恢复到正常水平; 干旱15、20、25 d处理组在复水后各阶段POD活性均显著高于对照, 在复水25 d时, 3个处理组的POD活性仍高于正常水平的68.58%、68.21%和58.12%, 且3个处理间无显著差异, 表明干旱锻炼在一定程度上提高了粗壮女贞的抗逆性。

2.5 对粗壮女贞叶片REC的影响

REC是质膜透性表征指标之一, 表示细胞受损害的程度。由图5可看出, 随着干旱程度的加剧, 粗壮女贞叶片的REC上升较快, 表明干旱胁迫对粗壮女贞叶片细胞膜系统造成了直接伤害, REC随着干旱时间的延长而增加, 各处理与对照相比, 分别高出了16.7%、59.1%、73.1%、94.3%和82.4%。复水后, 粗壮女贞叶片REC迅速下降并恢复至正常水平。在复水5 d时, 干旱10、15、20和25 d处理组REC分别比处理值降低了9.8%、13.5%、15.6%、15.4%, 虽仍高于对照, 但在复水20 d时, 各处理均恢复到干旱胁迫前正常水平。同时也可以看出,

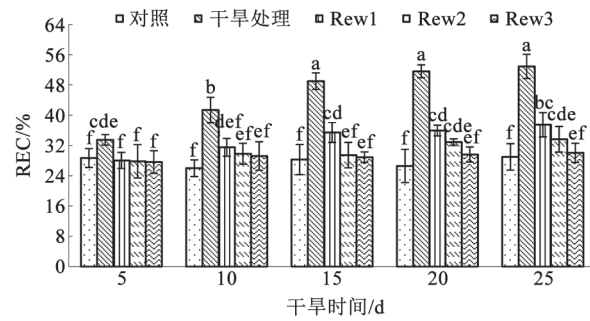


图5 干旱及复水对粗壮女贞叶片REC的影响
Fig.5 Effects of drought and rewatering on REC in leaves of *L. robustum*

恢复正常供水后, 干旱在10 d内, 叶片相对REC 5 d即可恢复至正常水平; 干旱15 d时, 恢复时间增加至15 d; 而干旱20 d以上时, 恢复时间增加至20 d, 可见干旱时间越长, REC恢复至正常水平所需时间也越长。

2.6 对粗壮女贞叶片MDA含量的影响

如图6所示, 干旱对粗壮女贞MDA含量有显著影响, 各处理均显著高于对照, 可见干旱对粗壮女贞的叶片细胞膜造成明显伤害。随着干旱的时间延长, 叶片MDA含量表现为“升高-降低-再升高”的波浪式趋势, 在土壤水分为17.73%时(干旱10 d时)即达到第一个峰值, 随后下降, 在干旱25 d时MDA含量再次增加。复水后各处理MDA含量均呈下降趋势, 但下降的程度各处理间差异明显。干旱15 d内, 通过复水, 20 d时各处理组叶片MDA含量均能恢复到正常水平; 干旱超过15 d后, 复水20 d组仍显著高于对照水平; 干旱20和25 d处理组比对照高出了13.5%和19.3%, 可见适度干旱造成的叶片MDA含量的增加可以恢复到受干旱胁迫前水平, 过度干旱处理对MDA含量累积是不可逆的。

2.7 对粗壮女贞叶片WSD的影响

由图7可知, 干旱造成了粗壮女贞叶片WSD明显增加, 并随着干旱时间延长呈迅速增加趋势, 在10 d时即与对照达到了显著差异; 到干旱25 d时, WSD达到最大值, 比对照高出了116.9%。复水后, WSD快速降低, 复水5 d时, 干旱5、10、15、20和25 d处理组的WSD值分别降低了11.5%、31.2%、32.8%、39.2%和38.3%, 其中, 干旱5和10 d处理组恢复至正常水平; 而干旱15和20 d处理组需要10 d; 干旱25 d组在复水10 d后, WSD仍为36.1%, 显著高

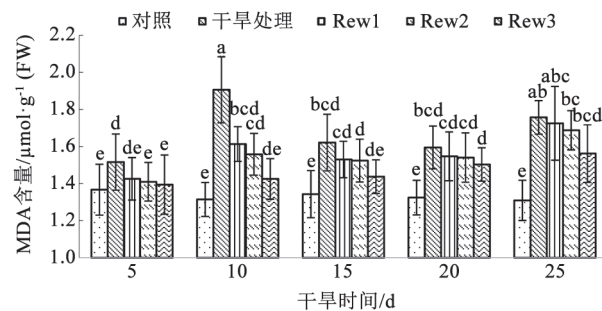


图6 干旱及复水对粗壮女贞叶片MDA含量影响

Fig.6 Effects of drought and rewatering on MDA content in leaves of *L. robustum*

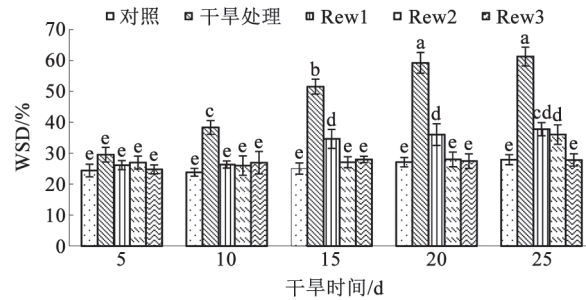


图7 干旱及复水对粗壮女贞叶片WSD的影响

Fig.7 Effects of drought and rewatering on WSD in leaves of *L. robustum*

于对照; 在复水20 d时, 才恢复到正常水平。由此可见, 受到干旱胁迫越严重, 叶片WSD恢复到正常水平需要的时间也越长。

3 讨论

Pro是细胞中的一种防脱水剂, 可作为反映植物抗逆性的参考性生理指标(Arakawa和Timasheff 1985), 但目前关于Pro与植物抗旱性之间的关系仍存在争议。有研究认为干旱胁迫下Pro积累量与抗旱性呈正相关(汤章城1983; 洪震等2016)。也有研究认为, Pro累积是干旱胁迫产生的结果, 且积累量与品种的抗旱性无关(Liu和Zhu 1997; 卢少云等2003; 王邦锡等1989)。但Pro在逆境中对植物细胞渗透调节具有重大意义, 干旱胁迫下Pro是作为渗透调节物质和防脱水剂而起作用的, 通过调节作用降低细胞水势和保持膨压(Hsiao 1973; 汤章城1984)。本实验研究表明: 随着干旱时间延长, 叶片Pro含量呈升高趋势, 而复水后降低, 说明植株的水分状态决定体内的脯氨酸水平, 缺水时粗壮女贞通过积累Pro来增加细胞浓度, 降低渗透势, 增强吸水保水能力。复水后, 水势升高, Pro含量随之降低并逐渐达到正常水平, 进一步说明了Pro对植物细胞的渗透调节具有重大意义。

可溶性蛋白会给细胞内的束缚水提供一个结合衬质, 以增加植物组织束缚水含量, 提高细胞的保水力, 起到脱水保护剂的作用(张明生等2003)。在逆境条件下植物通过增加可溶性蛋白质的合成来直接参与适应逆境的过程, 高含量的可溶性蛋白可使细胞维持较低的渗透势, 抵抗干旱胁迫带来的伤害(范苏鲁等2011; 安玉艳等2011)。本实验

研究表明: 可溶性蛋白质随着干旱时间的延长呈先升后降趋势, 在干旱10 d时, 可溶性蛋白质含量是对照的3.4倍, 可见适度干旱使可溶性蛋白质转化量增加, 以增强对干旱胁迫的抵抗能力, 随着干旱进一步加剧, 含量迅速下降, 干旱25 d时, 可溶性蛋白质含量低于对照, 这可能是干旱引发缺氧导致植物体内产生大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)对可溶性蛋白质造成严重破坏的结果(康俊梅等2005)。各处理复水后, 可溶性蛋白质含量维持较高水平, 产生了补偿效应, 进而提高了粗壮女贞的抗逆性。

植株受旱后其生理等方面产生一系列适应性变化, 恢复供水后, 同样产生恢复和修复作用。一般认为, 植物受到水分胁迫后, 抗旱性强的植物持水能力较好, WSD较小。本研究表明: 粗壮女贞叶片在WSD高于54.5%时发生萎蔫。复水20 d后, 各处理均恢复到正常水平。干旱25 d的处理, 复水10 d时, 植株外观与对照一致, 在此期间叶片WSD降低了25.2%, 说明粗壮女贞根系在干旱胁迫过程中未受到较大的损伤, 仍具有较强的吸水能力, 也说明了粗壮女贞具有较强的抗旱能力。

干旱胁迫会破坏植物体内ROS产生与清除的相对平衡状态, 诱导膜脂过氧化作用加剧, 引起植物体内ROS积累, 导致细胞伤害现象(王宝山1988)。植物保护酶系统主要包括SOD和POD, 其主要功能是清除自由基, 增强植物抗逆性(罗银铃等2014)。本实验研究结果表明干旱可显著提高粗壮女贞叶片SOD与POD活性, 以加大对ROS的清除力度, 维持正常生理活动。随着干旱时间延长, POD、SOD均呈先升高后降低趋势, 但各干旱处理的酶活性都显著高于对照, 可见, 粗壮女贞可通过自身的调节机制, 维持较高的抗氧化酶活性, 及时清除ROS自由基, 保护膜结构和功能的完整, 以适应干旱环境, 这与喜树(*Camptotheca acuminata*) (张文婷等2009)和皂角(*Gleditsia sinensis*) (李燕等2006)对胁迫产生的反应规律研究结果一致。复水后, 其POD、SOD活性总体降低, 但各干旱处理酶活性仍维持较高的水平且高于对照, 说明粗壮女贞对干旱有较强的适应性。

植物在干旱胁迫条件下, 体内产生的ROS会对细胞膜系统造成伤害, 从而破坏细胞膜双层结

构, 导致大量溶质渗出(王启明等2005)。细胞膜透性与植物抗逆性强弱有关, 叶片REC是衡量细胞膜透性的重要指标。众多学者认为(宋海鹏等2010; 李力等2014; 张露婷等2011) REC与MDA含量呈正相关, 而本研究表明细胞膜透性不单受MDA含量变化影响, 还与细胞内有机溶质有关。本研究表明: 随着干旱时间延长, 粗壮女贞叶片细胞膜透性迅速增大, 对细胞膜系统造成损害。研究发现在干旱10 d时, REC增幅较大, 并显著高于对照, 这可能与同期的酶活性及可溶性蛋白质含量变化有关。复水后, 粗壮女贞叶片REC迅速下降, 回落到与对照组相平衡的状态, 说明粗壮女贞对受损的叶片细胞膜系统有一定的修复能力, 但干旱胁迫越深, REC恢复至正常水平所需时间也越长, 这种修复能力也就越弱。

MDA是具有细胞毒性的物质, 主要破坏细胞膜系统, 植物在衰老或遇逆境伤害时含量增加。大量研究表明, MDA含量会随着干旱胁迫时间的延长而逐渐升高(潘昕等2014; 苏寒之等2014; 张兰等2017; 武燕奇和郭素娟2017), 其积累越多表明植物组织的保护能力越弱。本实验中, 干旱胁迫显著提高了粗壮女贞叶片MDA的积累, 随着干旱的时间延长, 叶片MDA含量表现为“升高-降低-再升高”的趋势, 反映了粗壮女贞对干旱胁迫的适应过程。在干旱胁迫初期MDA含量增加, 说明膜系统受到伤害, 为了避免进一步伤害, 植物体内的保护机制开始启动。干旱15 d时POD活性达到最高, 对膜脂过氧化物的清除力度较大, 此时MDA含量下降。但是植物自身抗逆系统是有限度的, 随着水分胁迫加剧, 超出了植物本身的防御能力, 再到干旱25 d时POD降低, 膜脂过氧化加剧, MDA含量再次增加, 这与杜仲(*Eucommia ulmoides*)幼苗的研究结果中的反应规律一致(刘红云等2007)。复水后, MDA含量总体呈下降趋势, 可能是POD活性增强, 防止膜脂氧化的结果; 复水20 d时, 干旱20、25 d处理组的MDA含量显著高于对照, 说明重度干旱锻炼后MDA含量难以恢复正常水平, 这可能与植物内在代谢机制有关。

综上可分析出粗壮女贞对干旱胁迫的生理响应过程为: 当干旱胁迫发生时, 粗壮女贞MDA含量随即迅速上升, 在干旱10 d时达到最高, 对细胞膜

系统进行破坏,导致叶片REC大幅增长,同时,粗壮女贞体内SOD、POD活性以及可溶性蛋白、Pro含量亦迅速上升,其中调节细胞渗透势的可溶性蛋白质达到了最大值,可见渗透调节是粗壮女贞抵制干旱胁迫的第一层保护系统;干旱15 d时,SOD、POD活性和Pro含量继续上升,而专门清除MDA的POD活性达到最高,迫使粗壮女贞体内MDA含量下降,此后REC增幅趋于平稳,膜系统伤害降低,由此可见,酶系统是粗壮女贞的第二道防御系统;此后由于胁迫的进一步加深,干旱20 d时,MDA又开始回升,致使膜系统进一步损伤,调节细胞渗透势的可溶性蛋白质含量降低,专门清除MDA的POD含量也降低,即使SOD含量上升也无法有效清除自由基;25 d时,渗透调节系统(可溶性蛋白质)及酶系统(SOD、POD)防御能力降低,MDA含量大幅增加,虽然Pro含量继续上升,但也无法阻止干旱胁迫带来的伤害。各处理复水后,除干旱20和25 d的MDA含量外其他各指标均恢复到正常水平。由此,经干旱胁迫和复水实验得出,可将干旱20 d即土壤相对含水量为32.51%作为粗壮女贞栽培所需最低含水量的一个临界点。

参考文献(References)

- An Y, Liang Z, Hao W (2011). Growth and physiological responses of the *Periploca sepium* Bunge seedlings to drought stress. *Acta Ecol Sin*, 31 (3): 716–725 (in Chinese with English abstract) [安玉艳, 梁宗锁, 郝文芳(2011). 杠柳幼苗对不同强度干旱胁迫的生长与生理响应. *生态学报*, 31 (3): 716–725]
- Arakawa T, Timasheff SN (1985). The stabilization of proteins by osmolytes. *Biophys J*, 47 (3): 411–414
- Cai Y (2014). *Theoretical and Experimental Plant Physiology*. Beijing: China Agricultural University Press, 121–129 (in Chinese) [蔡永萍(2014). *植物生理学实验指导*. 北京: 中国农业大学出版社, 121–129]
- Cao J, Jiang W, Zhao Y (2006). *Theoretical and Experimental Guidance in Fruit and Vegetables Postharvest Physiology*. Beijing: China Light Industry Press, 68–70 (in Chinese) [曹建康, 姜微波, 赵玉梅(2006). *果蔬采后生理生化实验指导*. 北京: 中国轻工业出版社, 68–70]
- Fan SL, Yuan ZL, Feng LJ, et al (2011). Effects of drought stress on physiological and biochemical parameters of *Dahlia pinnata*. *Chin J App Ecol*, 22 (3): 651–657 (in Chinese with English abstract) [范苏鲁, 苑兆和, 冯立娟等(2011). 干旱胁迫对大丽花生理生化指标的影响. *应用生态学报*, 22 (3): 651–657]
- Hao JJ, Kang ZL, Yu Y (2007). *Experimental Techniques of Plant Physiology*. Beijing: Chemical Industry Press (in Chinese) [郝建军, 康宗利, 于洋(2007). *植物生理学实验技术*. 北京: 化学工业出版社]
- Hong Z, Lian F, Liu S, et al (2016). Physiological response of three native garden ground cover plant seedlings to increasing drought stress. *J Zhejiang A & F Univ*, 33 (4): 636–642 (in Chinese with English abstract) [洪震, 练发良, 刘术新等(2016). 3种乡土园林地被植物对干旱胁迫的生理响应. *浙江农林大学学报*, 33 (4): 636–642]
- Hsiao TC (1973). Plant response to water stress. *Ann Rev Plant Physiol*, 24: 519–570
- Kang JM, Yang QC, Fan FC (2005). Effects of drought stress on induced protein in the different drought resistance alfalfa leaf. *Acta Agrestia Sin*, 13 (3): 199–202 (in Chinese with English abstract) [康俊梅, 杨青川, 樊奋成(2005). 干旱对苜蓿叶片可溶性蛋白的影响. *草地学报*, 13 (3): 199–202]
- Li L, Liu Y, Wang M, et al (2014). Physiological response mechanism of three kinds of *Acer rubrum* L. under continuous high temperature and drought stress. *Acta Ecol Sin*, 34 (22): 6471–6480 (in Chinese with English abstract) [李力, 刘玉民, 王敏等(2014). 3种北美红枫对持续高温干旱胁迫的生理响应机制. *生态学报*, 34 (22): 6471–6480]
- Li Y, Sun MG, King YJ, et al (2006). Physiological and biochemical responses of *Gleditsia sinensis* seedlings to drought stress. *J South China Agr Univ*, 27 (3): 66–69 (in Chinese with English abstract) [李燕, 孙明高, 孔艳菊等(2006). 皂角苗木对干旱胁迫的生理生化反应. *华南农业大学学报*, 27 (3): 66–69]
- Liu G, Li X, Liang Z, et al (2003). Techniques of tissue culture and *in vitro* clonal propagation of *Ilex latifolia*. *For Res*, 16 (4): 439–443 (in Chinese) [刘根林, 李晓储, 梁珍海等(2003). 优良保健树大叶冬青组培扩繁的研究. *林业科学研究*, 16 (4): 439–443]
- Liu HY, Liang ZS, Liu SM, et al (2007). Effect of progressive drying and rewatering on protective enzyme activities and osmoregulatory molecules in leaves of *Eucommia ulmoides* seedling. *J Northwest For Univ*, 22 (3): 55–59 (in Chinese with English abstract) [刘红云, 梁宗锁, 刘淑明等(2007). 持续干旱及复水对杜仲幼苗保护酶活性和渗透调节物质的影响. *西北林学院学报*, 22 (3): 55–59]
- Liu J, Zhu JK (1997). Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 114 (2): 591–596
- Liu S, Qin Y, Du F (2003). Studies on chemical components in leaf of *Ilex latifolia*. *China J Chin Mater Med*, 28 (9): 44–46 (in Chinese) [刘韶, 秦勇, 杜方麓(2003). 苦丁茶化学成分研究. *中国中药杂志*, 28 (9): 44–46]
- Lu S, Chen S, Chen S, et al (2003). Responses of proline content and activities of enzymes in warm-season turfgrasses

- to soil drought stress. *Acta Horti Sin*, 30 (3): 303–306 (in Chinese) [卢少云, 陈斯平, 陈斯曼等(2003). 三种暖季型草坪草在干旱条件下脯氨酸含量和抗氧化酶活性的变化. *园艺学报*, 30 (3): 303–306]
- Luo YL, Bi TJ, Su ZL, et al (2014). Physiological response of *Kalanchoe tubiflora* leaves to drought stress and rewatering. *J Trop Subtrop Bot*, 22 (4): 391–398 (in Chinese with English abstract) [罗银玲, 毕廷菊, 苏志龙等(2014). 棒叶落地生根对干旱与复水的生理响应. *热带亚热带植物学报*, 22 (4): 391–398]
- Pan X, Qiu Q, Li J, et al (2014). Physiological indexes of six plant species from the tibetan plateau under drought stress. *Acta Ecol Sin*, 34 (13): 3558–3567 (in Chinese with English abstract) [潘昕, 邱权, 李吉跃等(2014). 干旱胁迫对青藏高原6种植物生理指标的影响. *生态学报*, 34 (13): 3558–3567]
- Seo HL, Baek SY, Lee EH, et al (2017). *Ligustrum lucidum* fructus inhibits hepatic injury and functions as an antioxidant by activation of AMP-activated protein kinase *in vivo* and *in vitro*. *Chemico-Biol Interact*, 262: 57–68
- Su H, Jin J, Zhu Z (2014). Effects of drought stress on physiological characteristics of *Quercus rubra* seedlings. *J Northeast For Univ*, 42 (8): 34–39 (in Chinese with English abstract) [苏寒之, 金建邦, 祝遵凌(2014). 干旱胁迫对北美红栎幼苗生理特性的影响. *东北林业大学学报*, 42 (8): 34–39]
- Tang ZC (1983). Plant responses and adaptability to water stress. *Plant Physiol Commun*, (3): 24–29 (in Chinese with English abstract) [汤章城(1983). 植物对水分胁迫的反应和适应性. I. 抗逆性的一般概念和植物的抗涝性. *植物生理学通讯*, (3): 24–29]
- Tang ZC (1984). Plant proline accumulation and its meaning in stress condition. *Plant Physiol Commun*, (1): 15–21 (in Chinese with English abstract) [汤章城(1984). 逆境条件下植物脯氨酸的累积及其可能的意义. *植物生理学通讯*, (1): 15–21]
- Wang BS (1988). Biological free radicals and membrane damage of plants. *Plant Physiol Commun*, (2): 12–16 (in Chinese with English abstract) [王宝山(1988). 生物自由基与植物膜伤害. *植物生理学通讯*, (2): 12–16]
- Wang BX, Huang JC, Wang H, et al (1989). The correlation of proline accumulation and drought resistance in various plants under water stress condition. *Plant Physiol J*, (1): 46–51 (in Chinese with English abstract) [王邦锡, 黄久常, 王辉等(1989). 不同植物在水分胁迫条件下脯氨酸的累积与抗旱性的关系. *植物生理学报*, (1): 46–51]
- Wang L, Wu J, Xia PY, et al (2011). Physiological responses of *Ilex latifolia* to low temperature and its cold tolerance. *J South China Agr Univ*, 32 (3): 82–86 (in Chinese with English abstract) [王宁, 吴军, 夏鹏云等(2011). 大叶冬青对低温胁迫的生理响应及抗寒性分析. *华南农业大学学报*, 32 (3): 82–86]
- Wang QM, Xu XC, Wu SG, et al (2005). The effect of drought stress on the content of osmotic adjusting substance in leaves and cell membrane permeability of different soybean varieties in seedling period. *Seed*, 24 (8): 9–12 (in Chinese with English abstract) [王启明, 徐心诚, 吴诗光等(2005). 干旱胁迫对不同大豆品种苗期叶片渗透调节物质含量和细胞膜透性的影响. *种子*, 24 (8): 9–12]
- Wang X, Huang J (2015). Principles and Techniques of Plant Physiological and Biochemical Experiments. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 274–277 (in Chinese) [王学奎, 黄见良(2015). 植物生理生化实验原理与技术. 第3版. 北京: 高等教育出版社, 274–277]
- Wu Y, Guo S (2017). Physiological response of Chinese varieties of drought stress and evaluation of drought resistance. *J Northeast For Univ*, 45 (1): 20–24, 29 (in Chinese with English abstract) [武燕奇, 郭素娟(2017). 5个板栗品种对干旱胁迫的生理响应及抗旱性评价. *东北林业大学学报*, 45 (1): 20–24, 29]
- Xiao WJ, Yang WL, Gong ZH (2000). Processing techniques of fresh leaves of *Ilex kudingcha* C. J. Tseng. *J Hunan Agr Univ*, 26 (4): 278–281 (in Chinese with English abstract) [肖文军, 杨伟丽, 龚志华(2000). 苦丁茶鲜叶加工技术研究. *湖南农业大学学报*, 26 (4): 278–281]
- Xie M, Wang Q, Xu D, et al (2015). Comparative study of the effects on colonic microbiota fermentation *in vitro* of extracts from *Ilex kudingcha* C. J. Tseng and 3,5-dicaffeoylquinic acid. *J Food Sci*, 36 (17): 124–129 (in Chinese with English abstract) [谢旻皓, 王晴川, 徐冬兰等(2015). 苦丁茶冬青苦丁茶提取物与3,5-双咖啡酰奎尼酸对肠道微生物体外发酵的影响. *食品科学*, 36 (17): 124–129]
- Ye Q, Zuo HJ, Liao HY, et al (2013). Study on *in vitro* antimicrobial activity of *L. purpurascens* Y. C. Yang. *Mod Prev Med*, 40 (7): 1320–1322 (in Chinese with English abstract) [叶倩, 左浩江, 廖虹瑜等(2013). 粗壮女贞提取物的体外抑菌作用研究. *现代预防医学*, 40 (7): 1320–1322]
- Yi F, Zhao XL, Peng Y, et al (2016). Genus *Ilex* L.: phytochemistry, ethnopharmacology, and pharmacology. *Chin Herb Med*, 8 (3): 209–230
- Zhang L, Wei L, Long P, et al (2017). Response of *Trachycarpus fortunei* seedlings from different provenances to drought stress and drought resistance evaluation. *J Northeast For Univ*, 45 (11): 1–5 (in Chinese with English abstract) [张兰, 韦小丽, 龙鹏等(2017). 不同种源棕榈幼苗对干旱胁迫的响应及抗旱性评价. *东北林业大学学报*, 45 (11): 1–5]
- Zhang L, Wu J, Mei L, et al (2011). Saline tolerance of *Campotheca acuminata* provenances and the index selection for saline tolerance. *Sci Silvae Sin*, 47 (11): 66–72 (in Chinese with English abstract) [张露婷, 吴江, 梅丽等(2011). 喜树种源耐盐能力评价及耐盐指标筛选. *林业*

- 科学, 47 (11): 66–72]
- Zhang MS, Xie B, Tan F, et al (2003). Relationship among soluble protein, chlorophyll and ATP in sweet potato under water stress with drought resistance. *Sci Agric Sin*, 36 (1): 13–16 (in Chinese with English abstract) [张明生, 谢波, 谈锋等(2003). 甘薯可溶性蛋白、叶绿素及ATP含量变化与品种抗旱性关系的研究. *中国农业科学*, 36 (1): 13–16]
- Zhang WT, Xie FC, Wang HT, et al (2009). Physiological response of three garden plants to drought stress. *J Zhejiang For Coll*, 26 (2): 182–187 (in Chinese with English abstract) [张文婷, 谢福春, 王华田等(2009). 3种园林灌木幼苗对干旱胁迫的生理响应. *浙江林学院学报*, 26 (2): 182–187]
- Zhang YT (1994). Origin of kudingcha. *J Syst Evol*, 32 (1): 100–102 (in Chinese with English abstract) [张永田(1994). 苦丁茶的原植物. *植物分类学报*, 32 (1): 100–102]

Physiological response of *Ligustrum robustum* to continuous drought and rewatering

WU Li-Li, WANG De-Lu*, LI Zi-Yu

Forestry College, Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract: To investigate adaptive ability, recovering ability and physiological characters of *Ligustrum robustum* seedlings to continuous drought stress, greenhouse-pot culture method was adopted to simulate soil drought conditions, and analyze variation patterns in content of osmotic adjustment substances, leaf relative electrical conductivity (REC), water saturation deficit (WSD), malondialdehyde (MDA) content and protective enzyme activities of seedlings after exposure to drought stress (for 5, 10, 15, 20 and 25 days) and rewatering (5, 10 and 15 days) treatments. Results show that drought stress had significant influences on physiological indexes of leaves of *L. robustum*, and all indexes tended to recover towards normal levels after being rewatered. As drought stress prolonged, proline (Pro) content, REC and WSD of *L. robustum* increased; soluble protein content and activities of SOD and POD first increased and then decreased, but the degree of increase and response time differed, exhibiting different functions of peroxide scavenging; MDA content tended to increase, decrease and re-increase. As drought stress continued, the recovering ability and extent of various indexes were different after seedlings were rewatered. Their recovery time increased as drought lasted longer, and recovery time of indexes positively correlated with the extent of drought stress. The 32.51% of soil relative water content was the threshold for the normal growth of *L. robustum*.

Key words: *Ligustrum robustum*; physiological response; drought stress; rewatering

Received 2018-01-23 Accepted 2018-04-18

This work was supported by Guizhou Agricultural Science and Technology Research Program (NY[2007]3040), Guizhou Natural Science Foundation (J[2007]2059), and Guizhou Governor Excellent Education Talent Foundation ([2006]5).

*Corresponding author (1539349567@qq.com).