

# 供氮水平对香根草光合特性和抗氧化酶活性的影响

马博英<sup>1</sup>, 徐礼根<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 浙江教育学院生物系, 杭州 310012; <sup>2</sup> 浙江大学生命科学院, 植物生理与生物化学国家重点实验室, 杭州 310058)

**摘要:** 通过水培试验, 研究了 0、1、8 和 16 mmol · L<sup>-1</sup> 4 个供氮水平下香根草叶片净光合速率 (Pn)、叶绿素荧光参数、抗氧化酶类活性和 MDA、脯氨酸含量的变化。结果表明, 随着氮浓度的增加, 香根草叶片 Pn、PS 最大光化学效率 (Fv/Fm)、PS 电子传递量子产率 (PS)、光化学猝灭系数 (qP)、非光化学猝灭系数 (NPQ)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性先升高后降低, 8 mmol · L<sup>-1</sup> 氮浓度时达最大, 16 mmol · L<sup>-1</sup> 氮浓度时最小, 而 1 mmol · L<sup>-1</sup> 与 8 mmol · L<sup>-1</sup> 氮浓度时相比差异不显著; 随着氮浓度的增加, 过氧化氢酶 (CAT) 活性、丙二醛 (MDA) 含量则先下降后升高; 游离脯氨酸 (Pro) 含量上升, 说明香根草叶片在低氮情况下能保持较高的 Fv/Fm、PS、qP 和抗氧化酶活性。

**关键词:** 香根草; 光合速率; 叶绿素荧光参数; 抗氧化酶

**中图分类号:** Q 945; S 688.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 02-0469-04

## Effects of Different Nitrogen Supply on Photosynthesis, Antioxidant Enzymes in Vetiver Leaves

MA Bo-ying<sup>1</sup> and XU Li-gen<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Department of Biology, Zhejiang Education Institute, Hangzhou 310012, China; <sup>2</sup> State Key Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

**Abstract:** The effects of four nitrogen (N) treatments (0, 1, 8 or 16 mmol · L<sup>-1</sup>) on the photosynthesis, antioxidant defense systems and lipid peroxidation in vetiver leaves were studied in a solution culture experiment. The results show that the net photosynthetic rate (Pn), the maximum photochemical efficiency of PS reaction centres (Fv/Fm), quantum efficiency of PS electron transport (PS), photochemical quenching (qP), non-photochemical quenching (NPQ), superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) activities rose firstly and then declined when N concentrations increased from 0 mmol · L<sup>-1</sup> to 16 mmol · L<sup>-1</sup>. They reached highest at 8 mmol · L<sup>-1</sup> N and were minimum at 16 mmol · L<sup>-1</sup> N. During the two types of treatments (1 and 8 mmol · L<sup>-1</sup> N), Pn, Fv/Fm, PS, qP, NPQ, SOD and POD activities did not show difference significantly. Catalase activity and malondialdehyde (MDA) content reduced firstly and then enhanced while proline (Pro) accumulated with increasing N supply. These results indicate that vetiver leaves have a higher Fv/Fm, PS, qP and activities of antioxidant enzymes under low nitrogen conditions.

**Key words:** Vetiver; Net photosynthetic rate; Chlorophyll fluorescence parameter; Enzyme of antioxidant

香根草 (*Vetiveria zizanioides*) 又名岩兰草, 是禾本科多年生草本 C<sub>4</sub>植物, 具有很强的抗逆性 (夏汉平等, 1998; 徐礼煜, 1998; 徐礼煜等, 2003)。近十几年来香根草在生态恢复上的应用非常广泛, 如固土护坡, 改善废弃地、荒漠地、污染地的土壤、水体及植被环境等。有关香根草的抗逆性研究主要集中在污染地 (Pang et al, 2003; Chen et al, 2004; Chiu et al, 2005, 2006)、旱涝 (刘金祥等, 2005) 等方面, 对其耐贫瘠的机理研究还鲜见报道。而香根草生长的环境常常缺乏氮

收稿日期: 2006 - 09 - 05; 修回日期: 2007 - 01 - 22

基金项目: 浙江省教育厅科研计划项目 (20060330); 浙江省国土资源厅百矿示范项目 (2005003); 浙江省交通厅科技计划项目 (2005H025)



素营养。作者试图通过对不同供氮水平下香根草光合特性和抗氧化酶活性的研究,了解其耐贫瘠的机理,为香根草在边坡绿化、荒漠绿化上的应用提供理论基础。

## 1 材料与方法

香根草由杭州固绿交通工程有限公司提供。将其移栽至 20 个塑料桶 (内径 27 cm, 高 25 cm) 中水培, 每桶 12 株。以国际水稻所配方配制的水稻营养液 (蒋德安和朱诚, 1999) 为基本营养液:  $1.43 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{NO}_3$  (单位下同),  $0.323 \text{ NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.512 \text{ K}_2\text{SO}_4$ ,  $0.997 \text{ CaCl}_2$ ,  $1.64 \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $9.47 \times 10^{-3} \text{ MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $7.48 \times 10^{-5} (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.0189 \text{ H}_3\text{BO}_3$ ,  $1.52 \times 10^{-4} \text{ ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $1.55 \times 10^{-4} \text{ CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.0356 \text{ FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $0.0708$  柠檬酸水合物。氮浓度由  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  调节, 每周换 1 次营养液。浙江大学华家池校区人工智能温室内培养, 自然光照 ( $12 \pm 2$ )  $\text{h} \cdot \text{d}^{-1}$ , 温度  $28 \pm 2/20$ , 相对湿度  $80\% \pm 5\%$ 。8 周后以不同氮水平 (0、1、8、16  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的营养液进行培养。培养 4 周后选长势一致的香根草倒二叶的中上部叶片进行测试。

用 LI-6400 便携式光合系统测定仪测定净光合速率 ( $P_n$ ), 荧光测定采用荧光叶室 6400-40 (美国, LI-Cor 公司), 暗适应 30 min, 光化学活性光为  $1400 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 饱和闪光为  $7200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 温度  $24$ 。PS 最大光化学效率  $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$ , PS 电子传递量子产率  $\Phi_{PSII} = (F_m - F_s)/F_m$ , 光化学猝灭系数  $qP = (F_m - F_s)/(F_m - F_o)$ , 非光化学猝灭系数  $NPQ = (F_m - F_m')/F_m$  (Maxwell & Johnson, 2000)。SOD、POD 及 CAT 活性分别采用氮蓝四唑光还原法、愈创木酚法和高锰酸钾滴定法测定, MDA、游离脯氨酸 (Pro) 含量分别采用硫代巴比妥酸法和酸性茚三酮法测定 (李合生, 2000)。均重复 5 次。用 SPSS13.0 软件进行差异显著性分析 (LSD 法)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同供 N 水平对叶片 $P_n$ 和叶绿素荧光参数的影响

图 1 显示, 4 个 N 水平中, 1 和 8  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  N 处理  $P_n$  较高, 0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  N 次之, 16  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  N 处理最低。 $F_v/F_m$  和  $\Phi_{PSII}$  的变化与  $P_n$  变化一致。

图 2 显示, 1 和 8  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  N 处理  $qP$  差异不显著, 与 8  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  N 相比, 0 和 16  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  N 培养, 香根草叶片叶绿体 PS 反应中心开放部分的比例分别减少了 10.9%、17.6%, 因关闭部分的 PS 反应中心不能进行稳定电荷分离, 抑制了其光合电子传递能力。

$NPQ$  表示 PS 天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式耗散掉的部分。1 和 8  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  N 的  $NPQ$  值差异不显著, 0 和 16  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  N 下  $NPQ$  值显著下降, 比 8  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  N 分别下降了 7.89% 和 8.77% (图 2)。

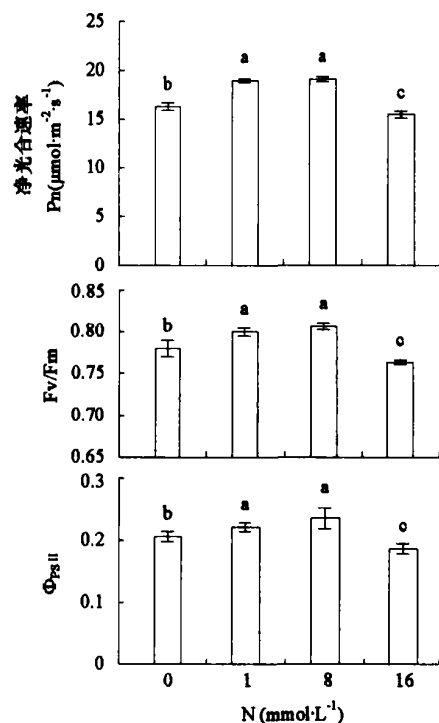


图 1 不同供氮水平对香根草叶片净光合速率、 $F_v/F_m$ 、 $\Phi_{PSII}$  的影响

Fig 1 Effects of different nitrogen levels on  $P_n$ ,  $F_v/F_m$ ,  $\Phi_{PSII}$  in vetiver leaves



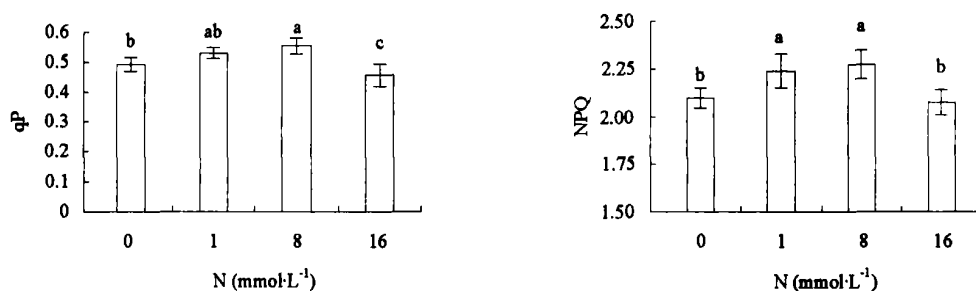


图 2 不同供氮水平对香根草叶片 qP 和 NPQ 的影响

Fig. 2 Effects of different nitrogen levels on qP, NPQ in vetiver leaves

## 2.2 不同供 N 水平对香根草叶片抗氧化酶类活性和 MDA、脯氨酸含量的影响

表 1 表明,随着 N 浓度的增加, SOD 和 POD 活性逐步提高, 8 mmol·L<sup>-1</sup>N 时最高, 1 mmol·L<sup>-1</sup>N 时与之差异不显著, 16 mmol·L<sup>-1</sup>N 时分别减少了 19.9% 和 21.1%, 缺 N (0 mmol·L<sup>-1</sup>N) 时分别减少了 15.8% 和 15.5%。与 8 mmol·L<sup>-1</sup>N 相比, 0、1 和 16 mmol·L<sup>-1</sup> 时 CAT 的活性表现出上升的趋势, 分别上升了 41.3%、16.11% 和 30.5%, 差异达显著水平。

MDA 的含量常用来衡量膜脂过氧化的程度。随着 N 浓度的增加, MDA 含量表现出先下降后升高的现象, 与 8 mmol·L<sup>-1</sup>N 时相比, 0、1、16 mmol·L<sup>-1</sup>N 时 MDA 含量分别上升了 20.1%、1.36% 和 31.3%。随着 N 浓度的增加, 香根草叶片的游离脯氨酸含量显示出明显增高的趋势 (表 1)。

表 1 不同供氮水平的香根草叶片的抗氧化酶类活性和 MDA、脯氨酸含量

Table 1 Activities of antioxidant enzymes, MDA content and proline content in vetiver leaves with different nitrogen levels

N (mmol·L <sup>-1</sup> )	SOD (U·g <sup>-1</sup> FM)	POD (U·min <sup>-1</sup> ·g <sup>-1</sup> FM)	CAT (mg·min <sup>-1</sup> ·g <sup>-1</sup> FM)	MDA (μmol·g <sup>-1</sup> FM)	Pro (μg·g <sup>-1</sup> FM)
0	36.0 ±2.5b	212 ±11b	88.6 ±6.9a	6.16 ±0.13b	54.6 ±2.7d
1	40.8 ±2.2a	241 ±10a	72.8 ±4.3c	5.20 ±0.32c	59.2 ±1.6c
8	42.8 ±1.7a	251 ±11a	62.7 ±3.8d	5.13 ±0.30c	65.4 ±1.9b
16	34.3 ±2.0b	198 ±5c	81.8 ±4.5b	6.74 ±0.38a	74.4 ±3.4a

## 3 讨论

本试验结果表明,低 N (1 mmol·L<sup>-1</sup>) 时香根草叶片 Pn、Fv/Fm、 $\psi_s$  和 qP 值与 8 mmol·L<sup>-1</sup> 时差异不显著, 缺 N (0 mmol·L<sup>-1</sup>) 时的下降率也低于高 N (16 mmol·L<sup>-1</sup>) 时, 说明低 N 下香根草仍具有较高的光反应能力, 这可能是香根草 N 素代谢旺盛, 具有较强的吸 N 能力和较高的硝酸还原酶活性的结果。

过剩光能所激发的电子能传给分子态氧形成超氧阴离子自由基 ( $O_2^{\cdot-}$ ) 在 SOD 的作用下发生歧化反应, 生成无毒性的  $O_2$  和毒性低的  $H_2O_2$ ,  $H_2O_2$  又被 POD 和 CAT 等进一步分解为  $H_2O$  和  $O_2$  (杨勇等, 2005)。0 和 16 mmol·L<sup>-1</sup>N 水平 NPQ 值的显著下降, 表示这两个 N 水平下不利于及时耗散过量激发能, 这会使  $O_2^{\cdot-}$  的生成增加。从试验结果看, 在 0、1 和 16 mmol·L<sup>-1</sup> 时, 其 CAT 活性的增强, 可能是由  $O_2^{\cdot-}$  的增加所诱导, 以消除活性氧  $H_2O_2$ 。

而如果抗氧化酶系统未能及时清除掉过量的  $O_2^{\cdot-}$ ,  $O_2^{\cdot-}$  和  $H_2O_2$  反应就会生成毒性更强的羟自由基, 这些自由基积累到一定程度引起膜脂过氧化, 导致 MDA 含量上升 (马博英等, 2005; 杨勇等, 2005)。缺 N 和高 N 供给下的香根草叶片 MDA 含量显著上升, 可能是抗氧化酶系统和非酶自由基清除系统 (脯氨酸也可作为羟自由基清除剂) 未能及时清除掉过量的  $O_2^{\cdot-}$  所致, 而低 N 时的 MDA



含量与  $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时差异不显著, 缺 N 时的 MDA 含量比高 N 时低, 这可能与 CAT 活性增强、SOD 和 POD 活性比高 N 时高有关。低 N 和高 N 时相比, SOD 和 POD 活性明显高, 而 CAT 活性明显低, 综合的结果是 MDA 含量比高 N 条件下的低, 可能与体内的抗氧化酶系统及时清除掉了过量的活性氧, 保护了细胞膜系统的完整性有关, 从而保证了在低 N 情况下高效光合作用的正常进行。

香根草叶片游离脯氨酸积累随 N 浓度的增加而增多, 在低 N 时, 脯氨酸积累低可能是由于脯氨酸合成受到抑制或脯氨酸降解作为 N 源以维持体内的正常代谢, 在高 N 条件下, 体内脯氨酸积累以贮藏多余的 N 来消除体内氨的毒害。但这需要进一步的研究。

综上所述, 香根草叶片在低 N 条件下高效光合作用的正常进行与其具有较高的光反应能力和较强的抗氧化系统有关, 这也为缺 N 条件下香根草叶片进行一定的光合作用提供了基础。香根草叶片光化学效率较高是否存在基因型的差异将是我们今后研究的重点。

## References

- Chen Y H, Shen Z G, Li X D. 2004. The use of vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) in the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals. *Applied Geochemistry*, 19: 1553 - 1565.
- Chiu K K, Ye Z H, Wong M H. 2005. Enhanced uptake of As, Zn, and Cu by *Vetiveria zizanioides* and *Zea mays* using chelating agents. *Chemosphere*, 60: 1365 - 1375.
- Chiu K K, Ye Z H, Wong M H. 2006. Pb/Zn and Cu mine tailings amended with manure compost and sewage sludge: a greenhouse study. *Bioresour. Technology*, 97: 158 - 170.
- Jiang De'an, Zhu Cheng. 1999. Plant physiology experiment instructor. Chengdu: Chengdu Science and Technology University Press (in Chinese).
- 蒋德安, 朱 诚. 1999. 植物生理学实验指导. 成都: 成都科技大学出版社.
- Li He-sheng. 2000. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment. Beijing: High Education Press (in Chinese).
- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社.
- Liu Jin-xiang, Wang Ming-ming, Xiao Sheng-hong, Liu Jia-qiong. 2005. The responds of growth and photosynthesis of *Vetiveria zizanioides* in condition of drought stress. *Sichuan Grassland*, 112 (3): 28 - 29. (in Chinese).
- 刘金祥, 王铭铭, 肖生鸿, 刘家琼. 2005. 干旱胁迫对香根草生长及光合生理主要特征的影响. *四川草原*, 112 (3): 28 - 29.
- Ma Bo-ying, Xu Li-gen, Jin Song-heng, Li Xue-qin, Guo Dong-ming. 2005. The effects of paclobutrazol on the tolerance of perennial ryegrass. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (6): 1118 - 1120. (in Chinese).
- 马博英, 徐礼根, 金松恒, 李雪芹, 郭栋明. 2005. 多效唑浸种对黑麦草耐热性的影响. *园艺学报*, 32 (6): 1118 - 1120.
- Maxwell K, Johnson G N. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J. Exp. Bot.*, 51: 659 - 668.
- Pang J, Chan G S H, Zhang J, Liang J, Wong M H. 2003. Physiological aspects of vetiver grass for rehabilitation in abandoned metalliferous mine wastes. *Chemosphere*, 52: 1559 - 1570.
- Xia Han-ping, Ao Hui-xiu, Liu Shi-zhong. 1998. The vetiver eco-engineering—a biological technique for realizing sustainable development. *Chinese Journal of Ecology*, 17 (6): 44 - 50. (in Chinese).
- 夏汉平, 敖惠修, 刘世忠. 1998. 香根草生态工程——实现可持续发展的生物技术. *生态学杂志*, 17 (6): 44 - 50.
- Xu Li-yu. 1998. Research and prospect on vetiver. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press (in Chinese).
- 徐礼煜. 1998. 香根草研究与展望. 北京: 中国农业科技出版社.
- Xu Li-yu, Fang Chang-jiu, Wan Ming, Qin Jing-hui. 2003. Research and application on vetiver system in China. Hongkong: Asia Pacific International Publication Corporation (in Chinese).
- 徐礼煜, 方长久, 万 明, 秦景辉. 2003. 香根草系统及其在中国的研究与应用. 香港: 亚太国际出版有限公司.
- Yang Yong, Jiang De'an, Sun Jun-wei, Huang Zong'an, Jin Song-heng. 2005. Effects of different magnesium nutrition levels on chlorophyll fluorescence characteristics and excitation energy dissipation in rice leaves. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 11 (1): 79 - 81. (in Chinese).
- 杨 勇, 蒋德安, 孙骏威, 黄宗安, 金松恒. 2005. 不同供镁水平对水稻叶片叶绿素荧光特性和能量耗散的影响. *植物营养与肥料学报*, 11 (1): 79 - 81.