

淹水胁迫下杂交鹅掌楸无性系几种酶活性的变化

潘向艳¹, 季孔庶^{1*}, 方彦²

(1. 南京林业大学 国家林业局和江苏省林木遗传与基因工程重点开放实验室, 江苏 南京 210037;

2. 南京森林公安高等专科学校, 江苏 南京 210046)

摘要:以抗涝性强的杂交鹅掌楸无性系 NE39 和 NE48 号、抗涝性差的无性系 NE40 和 NE75 为试验材料, 研究淹水胁迫下几种酶活性的变化。结果表明: 保护酶(SOD, CAT)活性的变化在时间和幅度上有差异。抗性强的无性系在淹水 8 d 后 SOD 活性最大, NE39 和 NE48 的 SOD 活性分别由 127.39、204.57 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$ 上升到 326.49、368.67 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$; 抗性差的无性系在淹水 6 d 后 SOD 活性最大, 且增幅较小。淹水 8 d 后, NE39 和 NE48 的 CAT 活性分别增加 588.0、477.2 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$, 乙醇脱氢酶(ADH)活性分别由 199.78、237.00 $\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$ 上升到 349.00、297.00 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$, 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性分别增加 421.67、270.00 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$; NE40 和 NE75 的 CAT 活性分别增加 45.60、112.00 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$, ADH 活性分别由 203.22、214.67 $\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$ 下降到 159.33、166.89 $\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$, PAL 活性分别下降了 280.00、306.67 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$ 。抗性强的无性系其体内酶活性高且维持时间长。

关键词: 杂交鹅掌楸; 无性系; 淹水胁迫; 酶活性

中图分类号: S792.210.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-7461(2007)03-0043-04

Changes in Enzyme Activities in Different Clones of *Liriodendron chinense* \times *L. tulipifera* under Flooding Stress

万方数据

PAN Xiang-yan¹, JI Kong-shu¹, FANG Yan²

(1. Key Laboratory of Forest Genetics & Gene Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037, China;

2. Nanjing Forest Police College, Nanjing, Jiangsu 210046, China)

Abstract: Flooding-resistance clones NE39 and NE48, and flooding-sensitive clones NE40 and NE75 were selected to study the changes of enzyme activities under flooding stress. The change of SOD and POD activities had differences in time and range, flooding-resistance clones showed the highest SOD activities in the 8th day of flooding. The SOD activity of NE39 and NE48 increased from 127.39, 204.57 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$ to 326.49, 368.67 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$ respectively. Flooding-sensitive clones showed the highest SOD activities in the 6th day of flooding; the increase of activity was slower. After 8 days' flooding, the CAT activity of NE39 and NE48 increased 588, 477.2 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$, the ADH activity rose from 199.78, 237 $\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$ to 349, 297 $\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$, the PAL activity increased 421.67, 270 $\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$ respectively, while the CAT activity of NE40 and NE75 increased 45.6, 112 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$, the ADH activity fell from 203.22, 214.67 $\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$ to 159.33, 166.89 $\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$, the PAL activity decreased 280.00, 306.67 $\text{u} \cdot \text{g}^{-1}$ separately. Flooding-resistance clones had higher enzyme activities and could hold long time.

Key words: *Liriodendron chinense* \times *L. tulipifera*; clone; flooding stress; enzyme activities

杂交鹅掌楸具有观赏性好、适应性强、生长快等特点, 在园林绿化上被广泛应用^[1,2]。由于杂交鹅掌楸在地下水位高和排水条件差的地方栽植时根系容易腐烂, 严重影响其生长, 成为其推广应用的主要障

碍。涝渍逆境对杂交鹅掌楸无性系生理代谢的研究还未见报道^[3,4]。研究人工淹水胁迫条件下, 抗涝性不同的无性系叶片酶活性的变化及生理学效应, 可为选择、培育和推广适宜的无性系提供理论依据。

收稿日期: 2006-11-09 修回日期: 2006-12-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30070633)

作者简介: 潘向艳(1978-), 女, 安徽淮南人, 硕士研究生, 主要从事园林植物与观赏园艺研究。

* 通讯作者: 季孔庶(1965-), 男, 教授, 博士, 主要从事林木遗传改良、林业生物技术和观赏植物遗传育种研究。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料取自南京林业大学林木遗传与基因工程重点开放实验室苗圃 2004 年的夏季扦插苗。参试杂交鹅掌楸无性系为抗涝性强的无性系 NE39 和 NE48,抗涝性差的无性系 NE40 和 NE75。

1.2 方法

2005 年 3 月中旬,选取长势一致的试验材料进行盆栽,每盆 2~3 棵。苗木生长期间正常浇水和施肥。9 月中旬,苗高 60 cm 左右,叶片数大约 20 片时,对苗木进行处理。每个无性系取 12 盆,6 盆用双套盆法进行淹水处理,水面保持在土壤表面以上 8~10 cm;其余 6 盆不淹水、正常管理的为对照。淹水处理期间,隔天定时对各无性系随机取样,采集苗木的成熟叶片进行酶活性的测定。

超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、乙醇脱氢酶(ADH)活性的测定参照文献[5]的方法,苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定参照程淑婉等[6]的方法。SOD 活性以抑制氮蓝四唑 NBT 光化还原 50% 为 1 个酶活性单位。CAT 活性以光密度值每分钟改变 0.1 为 1 个酶活性单位。ADH 活性以光密度值每分钟增加 0.001 为 1 个酶

活性单位。PAL 活性以光密度值每增加 0.1 为 1 个酶活性单位。

2 结果与分析

2.1 淹水胁迫后杂交鹅掌楸不同无性系叶片保护酶活性的变化

由图 1、图 2 可知,随着淹水时间延长,4 个无性系 SOD 和 CAT 活性变化较为复杂,变幅和达到最大值的时间不同。

无性系 NE39 和 NE48 的 SOD 活性呈升—降—升的趋势,淹水至第 8 d 时 SOD 活性达到最大值,由 127.39 、 $204.57 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$ 上升到 326.49 、 $368.67 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$,分别是淹水时的 2.56 和 1.80 倍。无性系 NE40 和 NE75 的 SOD 活性总体上呈降—升—降的趋势,淹水至第 4 d 时达到最大值,分别是未淹水时的 1.11 和 1.32 倍。

NE39 的 CAT 活性在淹水 6 d 时达到最大值,是未淹水时的 1.62 倍,然后缓慢下降。NE40、NE48 和 NE75 的 CAT 活性在淹水 0~8 d 都表现出降—升—降的趋势,在淹水至 6 d 时达到最大值,都是未淹水时的 1.3 倍左右。不同的是在淹水后期,NE39 和 NE48 的 CAT 活性下降缓慢,而 NE40 和 NE75 的 CAT 活性下降剧烈。

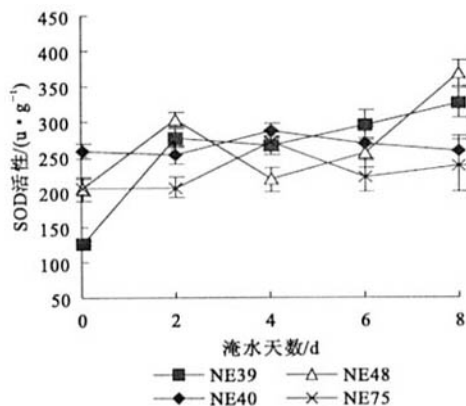


图 1 淹水胁迫后不同无性系叶片 SOD 活性变化

Fig. 1 The fluctuations of SOD activities in different clones under the flooding stress

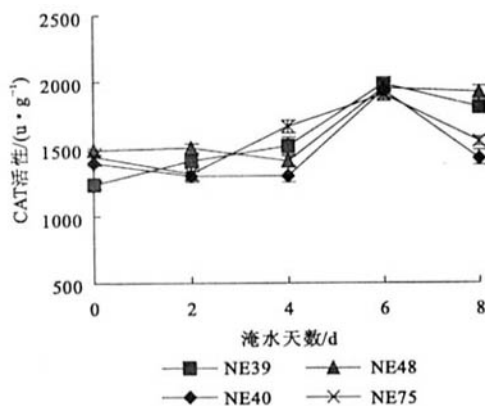


图 2 淹水胁迫后不同无性系叶片 CAT 活性变化

Fig. 2 The fluctuations of CAT activities in different clones under the flooding stress

淹水前与淹水后相比,NE39 和 NE48 的 CAT 活性分别增加 $588.00 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $447.20 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$,而 NE49 和 NE75 的 CAT 活性仅增加 $45.60 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $112.00 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

因此,从 4 个无性系 SOD 和 CAT 活性变化趋势可以看出,抗涝性强的 NE39 和 NE48 在淹水胁迫期间始终保持较高的 SOD 和 CAT 活性,有利于活性氧的清除,保护细胞免受伤害。而抗涝性弱的 NE40 和 NE75 的 SOD 和 CAT 活性在淹水后期一直处于下降趋势,细胞保护系统的平衡体系受到破

坏,使活性氧积累,诱发膜脂过氧化,导致细胞受到伤害。

2.2 淹水胁迫后杂交鹅掌楸不同无性系乙醇脱氢酶(ADH)活性的变化

由图 3 可知,在淹水前期,4 个无性系 ADH 活性总体上呈现先降后升的趋势;在淹水后期,NE39 和 NE48 的 ADH 活性继续上升,而 NE40 和 NE75 的 ADH 活性开始下降。淹水至第 8 d 时,NE39 和 NE48 的 ADH 活性分别由 $199.78 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $237.00 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$ 上升到 $349.00 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 297.00

$\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$,较未淹水时分别提高 74.69%和25.32%; NE40 和 NE75 的 ADH 活性分别由 $203.22 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $214.6 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$ 下降到 $159.33 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $166.89 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$,较未淹水时下降了 21.6%和22.26%。由以上分析可知,抗涝性强的 NE39 和 NE48 在淹水胁迫下 ADH 活性较高,且能维持较长的时间,而抗涝性差的 NE40 和 NE75 的 ADH 活性较低。

2.3 淹水胁迫后杂交鹅掌楸不同无性系苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的变化

由图 4 可知,随着淹水时间延长,NE39 和

NE48 的 PAL 活性变化趋势是先降后升,在淹水 4 d 后上升幅度较大,第 8 d 时达到最大值,分别增加 $421.67 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $270.00 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$,分别较未淹水时提高 18.59%和 11.85%。NE40 和 NE75 的 PAL 活性的变化趋势是降—升—降,在淹水前期下降,第 6 d 时有不同程度的回升,然后又下降,至第 8 d 时,分别下降 $280.00 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$ 和 $306.67 \text{ u} \cdot \text{mg}^{-1}$,分别较未淹水时下降 11.84%和 14.01%。因此,抗涝性强的 NE39 和 NE48 比抗涝性差的 NE40 和 NE75 在淹水胁迫下可以维持较高的 PAL 活性。

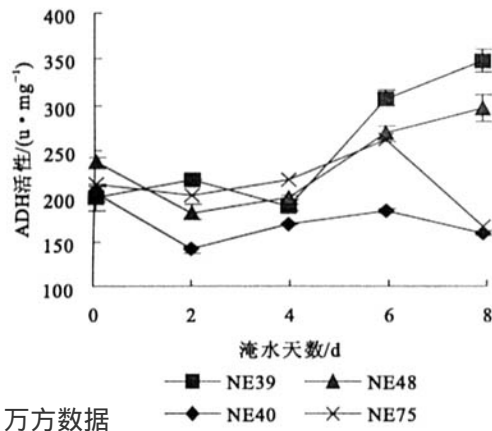


图3 淹水胁迫后不同无性系叶片 ADH 活性变化
Fig. 3 The fluctuations of ADH activities in different clones under the flooding stress

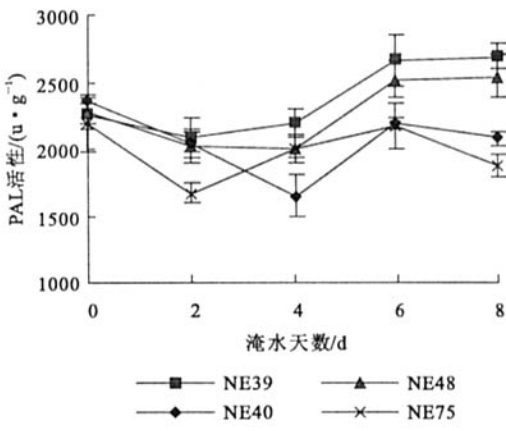


图4 淹水胁迫后不同无性系叶片 PAL 活性变化
Fig. 4 The fluctuations of PAL activities in different clones under the flooding stress

3 结论与讨论

逆境胁迫对植物细胞伤害的一个主要方式是自由基对生物膜的攻击导致的膜脂过氧化,因此酶促自由基清除体系的活力对植物的抗逆性具有直接影响。研究表明,不同植物在淹水后保护酶系统活性变化差异较大^[7~9],表明不同植物对淹水的反应不同。本研究表明,不同鹅掌楸无性系间 SOD、CAT 淹水前后的活性变化值存在极显著差异($F_{\text{SOD}}=28.80, P<0.01; F_{\text{CAT}}=49.8, P<0.01$)。抗涝性强的无性系比抗涝性差的无性系能够维持较高的活性或活性下降的幅度较小,这与对木榄^[10]、秋茄^[10]、杜仲^[11]、芝麻^[12]的研究结果一致。

乙醇脱氢酶(ADH)是普遍存在于植物细胞中的一种诱导酶,在正常条件下有一定的活性水平,但当植物处于逆境尤其是在土壤涝渍和环境缺氧等条件下会诱导 ADH 的表达,ADH 的活性高低与植物在氧气缺乏时的生存有关^[13,14]。本研究表明,淹水后期,抗涝性强的无性系仍能维持较高的活性,而抗涝性差的无性系苗木受到胁迫的伤害严重,机体呼吸代谢能力显著下降,导致苗木的 ADH 活性再次

降低。各无性系淹水前后 ADH 活性变化存在极显著差异($F=76.12, P<0.01$),表明杂交鹅掌楸乙醇脱氢酶活性与抗涝性呈正相关,这与对杨树^[15]和黄瓜^[16]的研究结果一致。但是也有研究表明 ADH 活性大小与耐渍强度呈负相关或者无明显一致性^[17,18]。可见,不同植物在缺氧胁迫下呼吸代谢途径不同。

研究发现,许多植物在遭受寒冷、紫外辐射等逆境因素时,植物细胞往往趋向于次生代谢物合成的方向转变,形成包括木质素、酚类物质、类黄酮物质等次生代谢产物,这些物质对于抵抗环境胁迫有重要的意义^[19]。据报道,植物受病原菌侵染后, PAL 活性有所提高,同时木质素、绿原酸合成增加^[20,21],表明 PAL 在植物抗病性中的地位。目前有关 PAL 活性的研究也涉及到了其他逆境胁迫中^[22,23]。本试验分析结果显示各无性系淹水前后 PAL 活性变化差异极显著($F=32.00, P<0.01$),PAL 活力增幅高的无性系抗涝能力强,这与对杨树^[6]无性系的研究一致。此外,由淹水造成的根际厌氧环境有利于一些产生游动孢子和卵孢子的非专化性病原菌的入侵,苗木容易感染根腐病、苗期猝倒病等病害^[24]。因此,

淹水期间抗性强的无性系维持高的 PAL 活性也有利于苗木抗病。

总之,在淹水胁迫下,杂交鹅掌楸不同无性系叶片内几种酶活性的变化和植株的抗涝能力密切相关,较高的酶活性有利于苗木抗涝。

参考文献:

- [1] 赵书喜. 杂交马褂木的引种与杂种优势利用[J]. 湖南林业科技, 1989(2): 20-21.
- [2] 王章荣. 中国马褂木遗传资源的保存与杂交育种前景[J]. 林业科技通讯, 1997(9): 8-10.
- [3] 王章荣. 鹅掌楸属(*Liriodendron*)杂交育种回顾与展望[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2003, 27(3): 76-78.
- [4] 季孔庶, 王章荣. 鹅掌楸属植物研究进展及其繁育策略[J]. 世界林业研究, 2001, 14(1): 8-14.
- [5] 中国科学院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指导[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [6] 程淑婉, 唐罗忠, 肖妍珂, 等. 涝渍条件下黑杨派无性系茎基初皮部的 PAL 活力和有机物含量[J]. 南京林业大学学报, 1997, 21(1): 51-55.
- [7] 何嵩涛, 刘国琴, 樊伟国. 银杏对水涝胁迫的生理反应[J]. 山地农业生物学报, 2000, 19(4): 272-275.
- [8] 杨遇, 陈晓燕, 杨运英. 涝害逆境对菜心的菜薹形成与细胞保护系统的影响[J]. 中国蔬菜, 2000(2): 7-10.
- [9] 石进校, 刘应迪, 陈军, 等. 土壤涝渍胁迫对淫羊藿叶片膜脂过氧化和酶活性的影响[J]. 生命科学研究, 2002, 6(4): 29-31.
- [10] 叶勇, 卢昌义, 谭凤仪. 木榄和秋茄对水渍的生长与生理反应的比较[J]. 生态学报, 2001, 21(10): 1654-1661.
- [11] 文建雷, 张檀, 胡景江, 等. 三种杜仲无性系抗旱性比较[J]. 西北林学院学报, 2000, 15(3): 12-15.
- [12] 刘华山, 韩锦峰, 孟凡庭, 等. 土壤渍涝下芝麻叶片中几个与抗逆能力有关的生理指标的变化[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(2): 106-108.
- [13] 杨万年, 林志福, 任国邻, 等. 暗诱导油菜子叶衰老过程 G-6-P 脱氢酶和乙醇脱氢酶活性的变化[J]. 中国油料作物学报, 2003, 25(3): 43-45.
- [14] Musrur R, Anil G, James P W. et al. Effects of manipulation of pyruvate decarboxylase and alcohol dehydrogenase levels on the submergence tolerance of rice[J]. Aust. J. Plant Physiol., 2001, 28: 1231-1241.
- [15] 王生. 淹水胁迫对杨树无性系苗期生长及生理的影响[J]. 云南林业科技, 1998(2): 28-33.
- [16] 胡晓辉, 郭世荣, 李璟, 等. 不同黄瓜品种苗期根际低氧耐性比较及其生理机制的初探[J]. 武汉植物学研究, 2005, 23(4): 337-341.
- [17] 王文泉, 郑永战, 梅鸿献, 等. 不同耐渍基因型芝麻在厌氧胁迫下根系的生理与结构变化[J]. 植物遗传资源学报, 2003, 4(3): 214-219.
- [18] 刘晓忠, 汪宗立. 涝渍逆境下玉米根系苹果酸代谢与耐涝性的关系[J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(6): 413-415.
- [19] 江昌俊, 余有本. 苯丙氨酸解氨酶的研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2001, 28(4): 425-430.
- [20] 胡景江, 文建雷, 景耀, 等. 杨树体内苯丙烷代谢与其对溃疡病抗性的关系[J]. 植物病理学报, 1992, 22(2): 185-188.
- [21] 郭文硕. 锥栗对栗疫病的抗性与其苯丙氨酸解氨酶的关系[J]. 林业科学, 2001, 37(专 1): 89-93.
- [22] 陈立松, 刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片糖代谢的影响及其与抗旱性的关系[J]. 热带作物学报, 1999, 20(2): 31-36.
- [23] 周兴元, 曹福亮. 土壤盐分胁迫对三种暖季型草坪草保护酶活性及脂质过氧化作用的影响[J]. 林业科学研究, 2005, 18(3): 336-341.
- [24] 王文泉, 张福锁. 高等植物厌氧适应的生理及分子机制[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(1): 63-70.