

栓皮栎优树子代生理生化特性的研究

赵 蓉,张存旭*,张文辉

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

摘要:对栓皮栎优树自由授粉子代5年生幼树的生理生化特性进行了测定。结果表明:不同种源硝酸还原酶活性、可溶性蛋白含量、叶绿素含量、可溶性糖含量均存在显著差异($p<0.05$),同一种源呈现明显的季节变化趋势;7月份各家系的几个生理生化指标均达到最大值,且家系间也存在显著差异。幼树高生长与硝酸还原酶活性、可溶性蛋白含量、可溶性糖含量存在显著正相关,相关系数分别为0.547、0.643和0.492,可以初步作为栓皮栎速生性状早期选择的指标。

关键词:栓皮栎;遗传变异;硝酸还原酶活性;早期选择

中图分类号:S792.18

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2013)01-0086-04

Physiological and Biochemical Characteristics of *Quercus variabilis* in Plus Tree Progeny

ZHAO Rong, ZHANG Cun-xu*, ZHANG Wen-hui

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: An investigation was carried out on the variations of the nitrate reductase, soluble protein, chlorophyll as well as soluble sugar of 5-year-old plus trees from open pollinated progenies of *Quercus variabilis* populations. The results showed that there were significant differences in the nitrate reductase activity, the content of soluble protein, the chlorophyll content and the content of soluble sugar among different populations ($p<0.05$). Significant seasonal variations were observed within the same provenance. In July, several physiological indices of families reached their maximum values, and significant differences were found among different families. There existed significantly positive correlations between sapling tree height and other indices, such as the nitrate reductase activity, the content of soluble protein, the chlorophyll content and the content of soluble sugar, and the corresponded correlation coefficients were 0.547, 0.643, and 0.492, respectively, which could be used as physiological indices in early selection of *Q. variabilis*.

Key words: *Quercus variabilis*; genetic variation; nitrate reductase activity; early selection

栓皮栎(*Quercus variabilis*)属于壳斗科(Fagaceae)栎属植物,是我国分布极为广泛的落叶阔叶树种之一,在林业中占重要地位。栓皮栎的种子含淀粉,可酿酒或作饲料;栓皮为软木是重要的工业原料;壳斗含鞣制,可作染料或提取栲胶;并有改良土壤、保持水土的重要作用。因此,栓皮栎具有重要的经济价值和生态价值,开展栓皮栎遗传改良具有重要意义^[1]。由于栓皮栎育种周期长,制约了该树种

的育种进程和推广应用。如何缩短育种周期,在早期评定和选择优良的遗传品种,一直是林木育种工作者面临的研究课题。生理生化指标具有快捷、简便、实用的特点,并且与树木的遗传、生长紧密相联系^[2-5]。本试验旨在分析栓皮栎优树子代不同种源和家系的硝酸还原酶活性、叶绿素含量、可溶性糖含量、蛋白质含量的差异,探讨其与生长性状的相关性,以期为优良家系的早期选择和缩短育种周期提

收稿日期:2012-04-20 修回日期:2012-05-09

基金项目:林业公益性行业专项(20104011);西北农林科技大学唐仲英育种专项。

作者简介:赵蓉,女,硕士研究生,研究方向:林木遗传育种研究。E-mail:rong_z@163.com

*通信作者:张存旭,男,副教授,主要研究方向:林木遗传育种。E-mail:cxzhang@nwsuaf.edu.cn

供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地设在西北农林科技大学林学院苗圃,此处海拔464.7 m,属暖温带半湿润气候,年平均温度10.7~13.7°C,土层深厚,土壤pH值6.5~7.0,年降水量500~700 mm,相对湿度50%,无霜期为181~216 d。

1.2 材料

从2011年4月15日长出嫩叶开始,每30 d采样1次,共6次。设5个种源,每个种源6个家系,每个家系随机选择5株,在每株树高2/3处的4个方向采集叶片,装入自封袋,立即放入冰盒带回实验室(表1)。

表1 试验材料来源

Table 1 Sources of experiment materials

种源	家系编号	经度	纬度	海拔/m
陕西楼观台	1~6	33°42'N	108°20'E	630
河南信阳	7~12	31°50'N	114°05'E	700
陕西安宁强	13~18	32°48'N	106°15'E	1 180
河南宝天曼	19~24	33°34'N	111°47'E	1 830
陕西太白	25~30	33°57'N	107°45'E	1 240

1.3 方法

1.3.1 试验设计 采用完全随机区组设计,株行距1 m×1 m,3次重复。区组内每个家系1个小区,每小区10株,管理方法一致。

1.3.2 生理生化指标的测定 硝酸还原酶活性采用活体法,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法,叶绿素含量测定采用丙酮法,可溶性糖含量采用蒽酮比色法^[6~8]。样品带回实验室后用蒸馏水洗净、晾干。每份样品称取0.5 g叶片,加入不同的缓冲液研磨成匀浆,然后转入离心管中,在6 000 r·min⁻¹下离心15 min。提取上清液,置于冰箱内(0~4°C)贮存备用。

1.3.3 生长性状的测定 2011年秋季生长完全停止后,用皮尺测定其树高,每个家系10株。

1.3.4 数据统计分析 计算各指标的平均数、标准差、相关系数,采用单因素方差分析和LSD多重比较检验。所有统计分析均在SPSS软件上进行。

2 结果与分析

2.1 种源生理生化特性的季节变化

2.1.1 硝酸还原酶活性 从图1中可以看出各种源硝酸还原酶活性随时间的变化呈现相似的趋势,均在7月份达到最大值,且河南宝天曼的硝酸还原酶活性始终高于其他种源,在7月份达到最大值5.166 ug·g⁻¹·h⁻¹,陕西楼观台硝酸还原酶活性

最小,在7月份仅为4.099 ug·g⁻¹·h⁻¹。

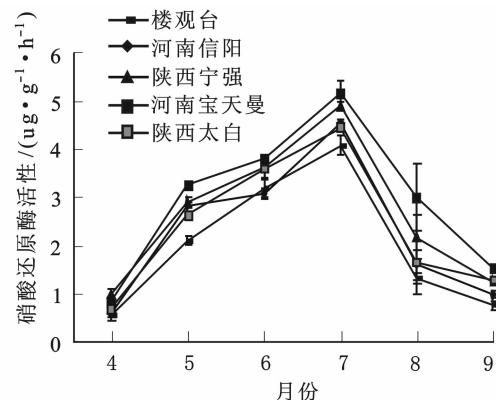


图1 不同采样时期硝酸还原酶活性

Fig.1 Seasonal changes of nitrate reductase activity

2.1.2 可溶性蛋白含量 由图2可知,各种源可溶性蛋白含量的季节变化趋势基本一致。河南宝天曼在7月份含量达到最大值222.13 ug·g⁻¹,然后依次是陕西安宁强、河南信阳、陕西太白、陕西楼观台。

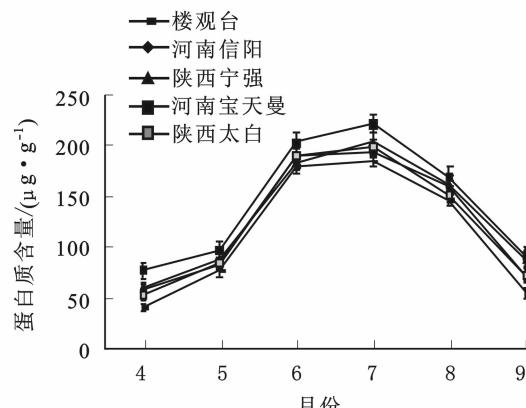


图2 不同采样时期可溶性蛋白含量

Fig.2 Seasonal changes of the contents of soluble protein

2.1.3 叶绿素含量 从图3中可以看出不同种源叶绿素含量随时间呈倒V字型变化。河南宝天曼在7月份含量达到最大值2.355 mg·g⁻¹,然后依次是陕西安宁强、河南信阳、陕西太白、陕西楼观台。

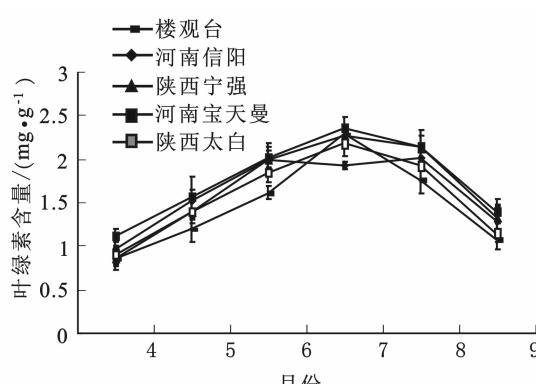


图3 不同采样时期叶绿素含量

Fig.3 Seasonal changes of chlorophyll contents

2.2 不同家系生理生化特性的差异

栓皮栎优树子代各生理生化指标在 7 月份均达到最大值(表 3)。在 30 个家系中,硝酸还原酶活性最大的和可溶性蛋白含量最大的是 20 号家系分别为 $5.356 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 $234.876 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,叶绿素含量最大的为 24 号为 $2.586 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,而 22 号家系的可溶性糖的含量最大,为 $92.456 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,且这些家系都属于河南宝天曼种源。由方差分析表明,种源内家系间硝酸还原酶活性、可溶性蛋白含量、叶绿素含量及可溶性糖的差异均达到显著水平。

2.3 生长性状与生理生化特性的相关性分析

由表 4 可知,栓皮栎 30 个家系的树高与硝酸还

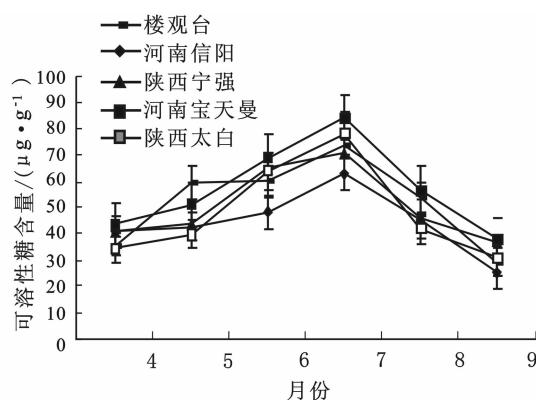


图 4 不同采样时期可溶性糖含量

Fig. 4 Seasonal changes of soluble sugar content

表 3 不同家系生理生化测定值

Table 3 Physiological and biochemical values within different families

编号	硝酸还原酶活性/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	可溶性蛋白含量/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	叶绿素含量/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	可溶性糖含量/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
1	$4.48 \pm 0.17 \text{ ab}$	$202.53 \pm 5.14 \text{ bc}$	$2.29 \pm 0.10 \text{ bc}$	$85.26 \pm 2.39 \text{ c}$
2	$4.02 \pm 0.32 \text{ a}$	$175.62 \pm 5.08 \text{ a}$	$2.53 \pm 0.19 \text{ c}$	$74.58 \pm 2.12 \text{ bc}$
3	$4.13 \pm 0.13 \text{ a}$	$182.16 \pm 8.56 \text{ a}$	$2.15 \pm 0.23 \text{ ab}$	$72.13 \pm 1.67 \text{ bc}$
4	$3.74 \pm 0.41 \text{ a}$	$161.23 \pm 7.37 \text{ a}$	$2.32 \pm 0.27 \text{ bc}$	$69.46 \pm 1.57 \text{ ab}$
5	$3.92 \pm 0.52 \text{ a}$	$194.76 \pm 5.69 \text{ ab}$	$2.17 \pm 0.28 \text{ ab}$	$71.27 \pm 2.14 \text{ ab}$
6	$4.32 \pm 0.31 \text{ ab}$	$193.26 \pm 5.37 \text{ ab}$	$2.20 \pm 0.13 \text{ bc}$	$70.27 \pm 1.08 \text{ ab}$
7	$4.40 \pm 0.27 \text{ ab}$	$198.42 \pm 6.11 \text{ bc}$	$2.04 \pm 0.15 \text{ ab}$	$59.42 \pm 1.61 \text{ a}$
8	$4.36 \pm 0.18 \text{ ab}$	$184.12 \pm 5.74 \text{ a}$	$1.84 \pm 0.15 \text{ a}$	$70.43 \pm 2.07 \text{ ab}$
9	$4.88 \pm 0.44 \text{ bc}$	$218.23 \pm 7.84 \text{ bc}$	$2.13 \pm 0.16 \text{ ab}$	$67.23 \pm 2.85 \text{ ab}$
10	$4.38 \pm 0.31 \text{ b}$	$188.41 \pm 6.55 \text{ a}$	$2.06 \pm 0.25 \text{ ab}$	$59.56 \pm 2.23 \text{ a}$
11	$4.74 \pm 0.27 \text{ b}$	$205.42 \pm 4.84 \text{ bc}$	$2.05 \pm 0.11 \text{ ab}$	$68.26 \pm 2.31 \text{ ab}$
12	$4.45 \pm 0.19 \text{ ab}$	$176.55 \pm 5.89 \text{ a}$	$1.89 \pm 0.14 \text{ a}$	$51.15 \pm 0.96 \text{ a}$
13	$4.79 \pm 0.46 \text{ b}$	$193.75 \pm 4.30 \text{ ab}$	$2.31 \pm 0.14 \text{ bc}$	$62.88 \pm 2.74 \text{ a}$
14	$4.92 \pm 0.38 \text{ bc}$	$191.78 \pm 4.36 \text{ ab}$	$1.89 \pm 0.18 \text{ ab}$	$62.46 \pm 1.93 \text{ a}$
15	$4.83 \pm 0.28 \text{ b}$	$194.49 \pm 3.06 \text{ ab}$	$1.96 \pm 0.10 \text{ b}$	$70.42 \pm 1.43 \text{ ab}$
16	$4.93 \pm 0.26 \text{ bc}$	$221.46 \pm 5.76 \text{ bc}$	$2.67 \pm 0.09 \text{ c}$	$80.26 \pm 1.78 \text{ bc}$
17	$4.86 \pm 0.35 \text{ b}$	$206.13 \pm 3.54 \text{ bc}$	$2.20 \pm 0.10 \text{ bc}$	$74.06 \pm 2.74 \text{ bc}$
18	$5.01 \pm 0.20 \text{ bc}$	$218.46 \pm 3.74 \text{ c}$	$2.55 \pm 0.35 \text{ c}$	$75.45 \pm 1.17 \text{ bc}$
19	$5.15 \pm 0.15 \text{ bc}$	$216.14 \pm 5.37 \text{ bc}$	$2.59 \pm 0.19 \text{ c}$	$80.15 \pm 2.44 \text{ bc}$
20	$5.36 \pm 0.25 \text{ c}$	$234.88 \pm 5.89 \text{ c}$	$2.52 \pm 0.14 \text{ bc}$	$89.46 \pm 2.26 \text{ c}$
21	$5.20 \pm 0.23 \text{ c}$	$226.42 \pm 6.61 \text{ c}$	$2.12 \pm 0.13 \text{ ab}$	$90.42 \pm 3.01 \text{ c}$
22	$5.22 \pm 0.19 \text{ c}$	$231.26 \pm 6.79 \text{ c}$	$2.42 \pm 0.12 \text{ bc}$	$92.46 \pm 2.85 \text{ c}$
23	$5.01 \pm 0.18 \text{ bc}$	$209.49 \pm 5.44 \text{ bc}$	$2.31 \pm 0.08 \text{ bc}$	$79.15 \pm 2.39 \text{ bc}$
24	$5.09 \pm 0.13 \text{ bc}$	$214.56 \pm 6.28 \text{ bc}$	$2.59 \pm 0.20 \text{ c}$	$73.41 \pm 2.72 \text{ bc}$
25	$4.56 \pm 0.35 \text{ b}$	$198.41 \pm 5.62 \text{ bc}$	$2.16 \pm 0.09 \text{ bc}$	$82.13 \pm 1.10 \text{ c}$
26	$4.33 \pm 0.2 \text{ ab}$	$184.26 \pm 5.70 \text{ a}$	$2.46 \pm 0.14 \text{ bc}$	$71.64 \pm 2.40 \text{ bc}$
27	$4.81 \pm 0.25 \text{ b}$	$181.39 \pm 4.69 \text{ a}$	$2.32 \pm 0.30 \text{ bc}$	$84.63 \pm 1.37 \text{ c}$
28	$4.40 \pm 0.25 \text{ ab}$	$197.26 \pm 5.26 \text{ ab}$	$2.12 \pm 0.26 \text{ bc}$	$71.16 \pm 1.43 \text{ ab}$
29	$4.44 \pm 0.22 \text{ ab}$	$220.43 \pm 3.99 \text{ c}$	$1.96 \pm 0.21 \text{ ab}$	$85.16 \pm 0.80 \text{ c}$
30	$4.24 \pm 0.14 \text{ a}$	$214.84 \pm 4.06 \text{ bc}$	$2.02 \pm 0.15 \text{ ab}$	$75.27 \pm 1.82 \text{ bc}$
平均值	4.24	214.84	2.02	75.27
F 值	3.692	39.376	4.726	66.488

注:表内同列不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

原酶、可溶性蛋白之间的相关系数(Pearson)分别为 0.547 和 0.643,经检验呈极显著或显著相关。表明在树木幼龄期能根据生理生化特性表现判定若干年后大树的生长优劣,实现林木良种的早期选择,进而

可以缩短育种周期。因此,树高与生理指标相关是早期选择的一个重要方法。

2.3 生长性状与生理生化特性的相关性分析

由表 4 可知,栓皮栎 30 个家系的树高与硝酸还

原酶、可溶性蛋白之间的相关系数(Pearson)分别为0.547和0.643,经检验呈极显著或显著相关。表明在树木幼龄期能根据生理生化特性表现判定若干年后大树的生长优劣,实现林木良种的早期选择,进而可以缩短育种周期。因此,树高与生理指标相关是早期选择的一个重要方法。

表4 家系间生理指标与生长性状的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of biochemical indicators with the growth characteristics among different families

项目	硝酸还原	可溶性蛋白	叶绿素	可溶性糖
树高	0.547*	0.643**	0.250	0.492*

注: * 表示差异显著($p<0.05$), ** 表示差异极显著($p<0.01$)。

3 结论与讨论

硝酸还原酶是植物氮素代谢生理的关键酶,对植物的生长发育有着重要的影响^[9],硝酸还原酶活性高低表明了植物体内硝酸盐的吸收、积累水平,反映植物对氮素的利用水平。在本试验中不同种源栓皮栎硝酸还原酶活性按时间顺序变化趋势基本一致,并且呈明显的季节变化,不同季节其硝酸还原酶也有较大差异。

可溶性蛋白在植物体内参与大多数的新陈代谢,测定其含量是了解植物体内总代谢的重要的指标^[10]。试验结果表明可溶性蛋白含量随着叶片发育成熟逐渐增加,在7月达到最大值,到9月随着叶龄增大,叶片在衰老过程中可溶性蛋白发生了转移或再分配,含量降低。可溶性糖含量的变化趋势,反映了植物体内碳水化合物的运转情况,在有机物代谢中其重要作用^[11]。栓皮栎不同种源可溶性糖的变化趋势与栓皮栎季节变化呈现一致性,且具有显著差异。

遗传变异既存在于不同的群体间,又存在不同的家系间。研究表明,不同家系的硝酸还原酶、可溶性蛋白、叶绿素、可溶性蛋白等指标存在显著的差异,其中20、22、24号家系在生理生化指标测定中含量较高,这说明在家系中选种是可行的。通过相关性分析表明各指标间存在极显著或显著地正相关。利用树高和生理指标间的相关性进行间接选择优良家系,能取得理想的效果。

优良品种的选育是长期性的任务,要全面、综合的评价优良家系。目前,利用硝酸还原酶活性、可溶性蛋白含量、叶绿素含量及可溶性糖含量测定结果仅为栓皮栎家系早期选择提供一定的理论依据,但还需进一步通过造林试验的验证和完善。

参考文献:

- [1] 郑万钧.中国树木志(2卷)[M].北京:中国林业出版社,1985.
- [2] 冯玉龙,姜淑梅,王文章.长白落叶松几种酶活力及在种源早期选择中的应用[J].林业科学,2002,38(2):13-20.
FENG Y L, JIANG S M, WANG W Z. Activity of various kinds of enzyme in *Larix olgensis* and its application in early provenance selection[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2002, 38(2): 13-20. (in Chinese)
- [3] WANG Q. Contral of longitudinal and cambial growth by gibberellins and indole-3-acetic acid in current-year shoots of *Pinus sylvestris*[J]. Tree Physiology, 1997, 17(1): 715-721.
- [4] 余发新,周华.杂种马褂木几种生理生化指标的变化规律及其早期选择[J].江西农业大学学报,2010,32(4):729-734.
YU F X, ZHOU H. The changing rules of several physiological and biochemical indexes and early selection of *Liriodendron hybrids*[J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2010, 32(4): 729-734. (in Chinese)
- [5] 杨秀艳,季孔庶.林木育种中的早期选择[J].世界林业研究,2004,17(2):6-8.
YANG X Y, JI K S. Early selection in forest tree improvement [J]. *World Forestry Research*, 2004, 17(2): 6-8. (in Chinese)
- [6] 张志良,瞿伟菁.植物生理实验指导[M].北京:中国高等教育出版社,2003.
- [7] 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,2004:271-317.
- [8] 陈毓荃.生物化学实验方法和技术[M].北京:科学出版社,2002.
- [9] 林振武,陈敬祥.硝酸还原酶活力与作物耐肥性的研究 I. 不同耐肥性的水稻、玉米、小麦硝酸还原酶活力[J].中国农业科学,1983,16(3):37-43.
LIN Z W, CHEN J X. Studies on nitrate reductase activity and nitrogen response in crop plants[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 1983, 16(3): 37-43. (in Chinese)
- [10] 张杰,邹学忠.硝酸还原酶和可溶性蛋白对蒙古栎种源生长的影响[J].植物研究,2005,25(3):317-320.
ZHANG J, ZHOU X Z. The influence of nitrate reductase and soluble protein on the provenance growth of *Quercus mongolica*[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2005, 25(3): 317-320. (in Chinese)
- [11] 郝丽丽,张存旭.栓皮栎种胚发育过程中储藏物质积累变化研究[J].西北林学院学报,2011,26(4):128-131.
HAO L L, ZHANG C X. Changes of storage substance accumulation during zygote embryos development of *Quercus variabilis*[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2011, 26(4): 128-131. (in Chinese)
- [12] 张存旭,袁秀平.花旗松引种试验研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2004,32(1):66-68.
ZHANG C X, YUAN X P. Introduction trial research on *Pseudotsuga menziesii*[J]. *Journal of Northwest Sci-tech University of Agriculture and Forestry; Natural Science Edition*, 2004, 32(1): 66-68. (in Chinese)