

树种保护酶活性与 PV 曲线水分参数变化的关系

王孟本, 冯彩平, 李洪建, 柴宝峰, 武冬梅

(山西大学黄土高原研究所, 太原 030006)

摘要:在水分胁迫条件下, 树种间 SOD(超氧化物歧化酶)活性与其 *DI*(抗旱性指数)值的排序结果基本一致, 表明 SOD 活性变化所反映的树木抗氧化伤害力大小与 PV 曲线水分参数所指示的树木耐旱性强弱具有密切的正相关性。但是树种间 POD(过氧化物酶)活性变化与 *DI* 值之间的关系则不密切。其原因: ①清除 H_2O_2 的抗氧化酶类较多(POD 只是其中之一); ②某些树种中且存在歧化 H_2O_2 的抗氧化剂。在水分胁迫阶段, 海红的 *DI* 值最大, 其 SOD 活性亦最高, 这可能是其对生态环境适应的重要生态生理反应之一。

关键词: 保护酶; 水分参数; 树种; 黄土高原

The relationship between the activities of protecting enzymes and water parameters from pressure-volume curves in six tree species

WANG Meng-Ben; FENG Cai-Ping; LI Hong-Jian; CHAI Bao-Feng; WU Dong-Mei (Institute of Loess Plateau, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: In the water stress period of annual growing season, the activities of SOD (superoxide dismutase) were positively correlated with the *DI* (drought resistance index) values, among the six species: *Malus micromalus*, *Populus beijingensis*, *P. hopeiensis*, *P. simonii*, *Caragana korshinskii* and *Robinia pseudoacacia*. However the activity of peroxide (POD) was not correlated significantly because other anti-oxidant enzymes and/or antioxidants, which play a same role as POD, may exist in some of the tested species. In the stress period *M. micromalus* had greater *DI* value and higher level of SOD activity than other tested species, and this may be one of its important physioecological responses to ecological environment.

Key words: protecting enzyme; water parameter; tree species; the Loess Plateau

文章编号: 1000-0933(2000)01-0173-04 中图分类号: S718.55 文献标识码: A

通过压力室可为植物样品绘制 PV 曲线。借助 PV 曲线, 可计算出被测植物体或其器官(叶或小枝)的 Ψ_{sat} (饱和含水时渗透势)、 Ψ_{up} (质壁分离点渗透势)、 RWC_{up} (相对含水量)、 $ROWC_{up}$ (相对渗透水含量)和 AWC (质外体水相对含量)等水分参数。由于这些指标对阐明植物耐旱性及其机理具有重要意义, 因而在植物耐旱生理生态研究中颇受重视^[1]。与此同时, 植物在遭受干旱时, 细胞中 O_2^- (超氧物阴离子自由基)、 H_2O_2 (过氧化氢)、 $HO \cdot$ (氢氧自由基)和 1O_2 (单线态氧)等自由基的产生和积累是造成细胞膜伤害乃至死亡的主要原因。而细胞中清除这些自由基的保护酶系统超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)等的存在和活力增强, 是细胞免于伤害或抗性增强的重要原因之一^[2]。为了从水分参数与保护酶这二者结合的角度揭示植物对水分胁迫的生态适应机理, 以晋西北黄土丘陵区 6 个主要造林树种为研究对象, 就植物 SOD 和 POD 活性与 Ψ_{up} 和 *DI* (综合抗旱性指数)变化的关系进行探讨。

1 材料与方 法

1.1 试验区及其自然条件

试验区位于晋西北河曲县砖窑沟流域(39°11'06"~39°13'47"N, 110°12'03"~110°19'28"E), 为典型黄土丘陵沟壑区。该流域为一自东向西延伸直接进入黄河的一级支流。主沟道长 14.15km, 流域面积 28.7km²。

基金项目: 山西省数据基金项目

收稿日期: 1997-09-06; 修订日期: 1998-07-02

气候属暖温带大陆性季风气候,年平均气温 8.8℃,最热月(7月)平均气温 23.9℃,最冷月(1月)平均气温 -9.4℃,≥10℃年积温 3378.4℃;年平均降水量 447.5mm,其中年生长季(4~10月)降水量 416.9mm,年际变化在 211.2~715.5mm;年平均相对湿度 48%;年蒸发量 1913.7mm;无霜期 166.5d。

1.2 供试树种

试验乔、灌木树种 6 个,即:河北杨(*Populus hopeiensis* Hu et Chow)、小叶杨(*Populus simonii* Carr.)、北京杨(*Populus beijingensis* W. Y. Hsh)、刺槐(*Robinia pseudoacacia* L.)、海红(*Malus micromalus* Makino)和柠条(*Caragana korshinskii* Kom.)。树龄分别为:河北杨、小叶杨和北京杨 10a,刺槐 22a,海红>30a,柠条>30a。所有供试树木生长状况正常,虽然所处坡向与坡度不尽相同,但均以天然降水为唯一水源,不受人为或自然积水条件影响。

1.3 测试方法

1.1.3 水分参数测定与抗旱性指数计算 使用 ZLZ-4 型压力室(兰州大学制造),以 H. T. Hammel 逐渐升压法^[3,4]测定并绘制树木小枝的 PV 曲线。借助 PV 曲线,计算出饱和和含水时的渗透势 Ψ_{sat} (-Mpa),质壁分离点渗透势 Ψ_{dip} (-Mpa),质壁分离点的相对含水量 RWC_{dip} 与相对渗透水含量 $ROWC_{dip}$,以及饱和含水时的质外体水相对含量 AWC 。综合抗旱性指数(DI)按下式计算^[1,5]。

$$DI = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{P}{P_0} \right)^2} \quad (1)$$

对于 Ψ_{sat} 、 Ψ_{dip} 和 AWC , P 为每种水分参数的各测定值, P_0 为该种水分参数在各测定值中绝对值最大者;对于 PWC_{dip} 和 $ROWC_{dip}$, $P = 1 - \text{实测值}$, $P_0 = (1 - \text{实测值})_{\text{最大值}}$ 。

1.3.2 SOD 与 POD 活性测定 (1)在树木 PV 曲线水分参数测定日,于傍晚随机采集树冠南向中部外围健康枝条端部成熟叶片,带回室内低温保存备用。(2)酶液提取 取叶片鲜重 0.5g,加少量石英砂和 5ml 预冷的磷酸缓冲液(0.05mol/L, pH7.8)冰浴研磨,匀浆先在 3000r/min 下离心去沉淀,再在低温(-4℃)下以 10,000r/min 离心 5min+5min。上清液贮冰柜中待用。(3)SOD 活性测定 按 Stewart 等^[6]报道的光化还原法测定 SOD 活性。反应混合液:在 3ml 反应液中含 13×10^{-3} mol/L 甲硫氨酸; 75×10^{-6} mol/L(硝基氮蓝四唑); 2×10^{-6} mol/L 核黄素; 100×10^{-9} mol/L DETA(乙二胺四乙酸); 5×10^{-2} mol/L 磷酸缓冲液(pH7.8)。NBT 光化还原产物蓝甲褪在 560nm 有最大光吸收。(4)POD 活性测定 按波软诺克叙述的愈创木酚法^[7]。

酶活性测定均重复 3 次,结果取平均值。酶活性以 μ /g DW。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫阶段 SOD、POD 活性与 Ψ_{dip} 和 DI 值的关系

在本试验区,6月中旬前后一般为土壤水分严重胁迫期。虽然 1995 年生长季(4~10月)降水量 651.6mm,为特涝年,但是生长季前期(4~6月)降水量仅占全年的 12.2%。当年 6月中旬依然为水分胁迫严重阶段。比如 3m 土层平均土壤有效水仅为 0.11%(柠条灌木林地)、2.42%(小叶杨林地)和 3.00%(河北杨林地)。

测试表明(表 1),此阶段各试验树种间 SOD 活性变幅很大。海红 SOD 活性最高(88.549),刺槐最低(10.474),前者为后者的 8.5 倍。树种间 SOD 活性由高到低顺序为:海红>北京杨>河北杨>柠条>小叶杨>刺槐。

海红和北京杨的 SOD 活性较高,同期 Ψ_{dip} 值(绝对值)亦较大。但是其余 4 个树种的 SOD 活性排序与 Ψ_{dip} 值排序结果则不尽一致。表明 SOD 活性与 Ψ_{dip} 值之间的相关性不甚明显($r=0.731$, $<r_{0.05}=0.811$)。

在这 6 个树种之间,SOD 活性高的树种,其 DI 值亦较大。树种间 SOD 活性高低与 DI 值排序大小基本一致。虽然小叶杨和柠条的前后位置不同,但这 2 者的 SOD 活性和 DI 值的差异均较小。说明 PV 曲线 5 种水分参数所反映的树种耐旱性(DI)与 SOD 活性之间具有比较明显的正相关关系($r=0.941$ $>r_{0.01}=0.917$)。

表 1 树种间超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性与质壁分离点渗透势 Ψ_{utp} 和抗旱性指数(DI)的变化
 Table 1 The activities of superoxide dismutase(SOD)and peroxide(POD),and the osmotic potential at incipient plasmolysis Ψ_{utp} and the drought resistance index (DI)in the six tree species(June,1995)

树 种 Tree species	SOD (u/g DW · min)	排序 Order	POD (u/g DW · min)	排序 Order	Ψ_{utp} (-Mpa)	排序 Order	DI	排序 Order
河北杨 <i>P. hopeiensis</i>	49.845	3	19.945	2	1.954	4	1.703	3
小叶杨 <i>P. simonii</i>	21.497	5	10.214	3	2.111	3	1.652	4
北京杨 <i>P. beijingensis</i>	52.224	2	4.944	5	2.480	2	1.847	2
刺槐 <i>R. pseudoacacia</i>	10.474	6	4.611	6	1.891	5	1.275	6
海红 <i>M. micromalus</i>	88.549	1	6.000	4	2.681	1	2.136	1
柠条 <i>C. korshinskii</i>	35.892	4	29.896	1	1.654	6	1.600	5

树种间 POD 活性变化幅度亦很大,柠条(29.869)为刺槐(4.611)的 6.5 倍,其余各树种位于此 2 极值之间。但树种间 POD 活性排序与 Ψ_{tip} 值和 DI 值排序结果均具有明显差异。说明树种间 POD 活性变化与树种 Ψ_{tip} 值和 DI 值之间的关系均不密切(其相关系数分别为 -0.024 和 -0.151)。

2.2 非水分胁迫阶段 SOD、POD 活性与 Ψ_{utp} 和 DI 值的关系

8 月份一般为年降水峰期阶段,水分条件较好。1995 年降水十分丰富,其中 7~8 月份占年降水量的 63.5%,此时土壤水分条件更为优越。比如 3m 土层平均土壤有效水可达 4.60%(柠条灌木林地)、4.99%(小叶杨林地)和 7.48%(河北杨林地),为近 10a 所罕见。

测定结果显示(表 2),在此种非水分胁迫条件下,各试验树种的 SOD 活性与水分胁迫时相比均有增大。海红的 SOD 活性最高(102.820),刺槐最低(15.699),前者为后者的 6.5 倍。但是树种间 SOD 活性高低顺序同样为:海红>北京杨>河北杨>柠条>小叶杨>刺槐。此时土壤有效水含量很高,树木进入年第 2 生长高峰期,树种 Ψ_{tip} 值比水分胁迫阶段多有减小(指绝对值)(如河北杨、北京杨、刺槐和柠条)。树种 SOD 活性与 Ψ_{tip} 值之间的相关性同样不甚明显($r=0.708 < r_{0.05}=0.811$)。

与水分胁迫阶段不同的是,树种间 SOD 活性高低排序与 DI 值大小排序的差异却比较明显。尽管海红、柠条和刺槐的 SOD 活性排序同 DI 值排序一致,其余 3 个树种的 SOD 活性的排序与 DI 值排序结果则不同。说明此时树木 SOD 活性与 DI 值之间具有微弱相关性。

此时树种间 POD 活性排序与 Ψ_{tip} 值和 DI 值排序结果同样具有明显差异。说明树种间 POD 活性变化与树种 Ψ_{tip} 值和 DI 值之间的关系依然不密切。

SOD 是植物体内第一个清除活性氧的关键酶。SOD 的作用是将 O_2 歧化为 H_2O_2 。一般认为水分胁迫下植物体内 SOD 活性与植物抗氧化胁迫能力呈正相关^[8,9]。在自然水分胁迫条件下,各试验树种叶片内的 SOD 活性变化幅度如此之大,反映了它们的抗氧化胁迫能力的大小明显不同。水分胁迫条件下 SOD 活性高的树种,其 DI 值亦较大,意味着耐旱性强的树种,其抗氧化胁迫能力亦较强。这可能是其对生态环境适应的重要生理反应之一。

虽然一般认为植物的 SOD 活性增减幅度与水分胁迫程度有关^[9]。但各试验树种在非水分胁迫条件下的 SOD 活性不但没有降低,反均有增大。说明对植物 SOD 活性与环境因子的关系仍然有待进一步研究。

POD 具有分解 H_2O_2 的作用。它与 CAT(过氧化氢酶)、AsAPOD(抗坏血酸过氧化物酶)和 GR(谷胱甘肽还原酶)均为清除 H_2O_2 的重要酶。除 POD、CAT、AsAPOD 和 GR 等抗氧化酶外,某些植物中 H_2O_2 的移去可能是通过 AsA(抗坏血酸)、GSH(还原型谷胱甘肽)和 V_E (α -生育酚)等抗氧化剂来实现^[9]。植物清除 H_2O_2 的多途径数据了 POD 活性高低并不一定能够完全反应植物抗氧化胁迫能力的大小。因此,树种间 POD 活性高低与 Ψ_{utp} 和 DI 值大小排序结果明显不同。

表 2 树种间超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性与质壁分离点渗透势(Ψ_{itp})和抗旱性指数(DI)的变化
 Table 2 The activities of superoxide dismutase(SOD)and peroxide(POD),and the osmotic potential at incipient plasmolysis Ψ_{itp} and the drought resistance index (DI)in the six tree species(August,1995)

树 种 Tree species	SOD (u/g D. W · min)	排序 Order	POD (u/g D. W · min)	排序 Order	Ψ_{itp} (-Mpa)	排序 Order	DI	排序 Order
河北杨 <i>P. hopeiensis</i>	66.074	3	10.756	3	2.073	3	1.766	5
小叶杨 <i>P. simonii</i>	33.983	5	25.573	2	2.169	2	1.834	2
北京杨 <i>P. beijingensis</i>	84.259	2	0.914	6	2.063	4	1.823	3
刺槐 <i>R. pseudoacacia</i>	15.699	6	5.693	5	1.677	5	1.287	6
海红 <i>M. micromalus</i>	102.820	1	10.691	4	2.993	1	2.124	1
柠条 <i>C. korshinskii</i>	45.181	4	36.355	1	1.585	6	1.791	4

3 小结

3.1 在水分胁迫下,树种间 SOD 活性与 DI 值大小排序结果基本一致,表明 SOD 活性变化所反映的树木抗氧化伤害能力与 PV 曲线水分参数在总体上所指示的树木耐旱性具有密切正相关性。耐旱性强的树种,其抗氧化胁迫能力亦较强,这可能是其对生态环境适应的重要生理反应之一。

3.2 清除 H_2O_2 的抗氧化酶类较多,以及某些树种中可能同时存在分解 H_2O_2 的抗氧化剂,使得 POD 活性高低并不一定能够完全反应植物抗氧化胁迫能力的大小。因此,树种间 POD 活性变化与 Ψ_{itp} 和 DI 值之间的关系不密切。

参考文献

- [1] 王孟本,李洪建,柴宝峰. 晋西北 3 个树种抗旱性指数的研究. 植物研究,1996,6(2):195~200.
- [2] 王宝山. 生物自由基与植物膜伤害. 植物生理学通讯,1998,(2):12~16.
- [3] Tyree M T,Cheung Y N S,MacGregor M E,et al. The characteristics of seasonal and ontogene changes in the tissue-water relations of *Acer*,*Populus* *Tsuga*,and *Picea*. *Can. J. Bot.*,1978,56:635~647.
- [4] Gross K,Pham-Nguyen T. Pressure-volume analyses on shoots of *picea abies* and leaves of *Coffea liberica* at various temperatures. *Physiol. Plantarum*,1994,70:189~195.
- [5] 李庆梅,徐化成. 油松 P-V 曲线主要水分参数随季节和种源的变化,植物生态学与地植物学学报,1992,16(4):326~335.
- [6] Stewart R C,Bewley J D. Liquid peroxidation associated with accelerated aging of soybean. *Plant physiol.*,1980,65:245~248.
- [7] X. H. 波钦诺克. 植物生物化学分析方法. 荆家海,丁钟荣译. 北京:科学出版社,1981.197~201.
- [8] 王建华,刘鸿先,徐 同. 超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老中的作用. 植物生理学通讯,1989,(1):1~7.
- [9] 蒋明义,郭绍川. 水分亏缺诱导的氧化胁迫和植物的抗氧化作用. 植物生理学通讯. 1996,(2):144~150.