

淹水对两种甜樱桃砧木根系无氧呼吸酶 及发酵产物的影响

陈 强¹ 郭修武² 胡艳丽¹ 李 静¹ 高相彬¹ 王 闯¹ 郝云红¹ 赵 林¹ 毛志泉^{1,2,*}

(1. 作物生物学国家重点实验室, 山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东 泰安 271018; 2. 沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161)

摘要 以美早/东北山樱桃、美早/马哈利为试材, 研究了淹水过程中两种甜樱桃砧木生长根、褐色木质根中无氧呼吸酶——丙酮酸脱羧酶 (PDC)、乙醇脱氢酶 (ADH) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 活性及褐色木质根的发酵产物——乙醛、乙醇和乳酸含量变化, 结果表明, 两类根系 PDC、LDH 活性均呈先升后降趋势, ADH 活性变化在生长根中亦先升后降, 而在褐色木质根中为上升趋势, 三种酶活性变化幅度表现为生长根大于褐色木质根, 美早/东北山樱桃两类根系中 ADH 和 LDH 活性增加幅度大于美早/马哈利, PDC 则相反; 两种砧木褐色木质根乙醛、乙醇含量呈升高趋势, 乳酸含量先升后降; 最终美早/东北山樱桃褐色木质根中乙醛含量低于美早/马哈利, 乙醇含量则相反, 而乳酸含量前者较早达峰值且高于后者峰值。

关键词 淹水; 甜樱桃根系; 无氧呼吸酶; 发酵产物

文章编号: 1000-0933 (2007) 11-4925-07 中图分类号: Q948 文献标识码: A

Effects of water-logging on anaerobic respiration enzymes and fermentation products in roots of two kind of sweet cherry rootstocks

CHEN Qiang¹, GUO Xiu-Wu², HU Yan-Li¹, LI Jing¹, GAO Xiang-Bin¹, WANG Chuang¹, HAO Yun-Hong¹, ZHAO Lin¹, MAO Zhi-Quan^{1,2,*}

1. State Key Laboratory of Crop Biology, College of Horticultural Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China

2. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang, 110161, China

Acta Ecologica Sinica 2007 27 (11) 4925 ~ 4931.

Abstract: Meizao/Dongbeishanyingtao (*Peunus serrulata* G. Don) and Meizao/Mahaleb (*Prunus mohaleb* L.) were chosen as experiment materials. The activities of anaerobic respiration enzymes including pyruvate decarboxylase (PDC), alcohol dehydrogenase (ADH) and lactate dehydrogenase (LDH) in both sweet cherry rootstock growing roots and brown lignified roots as well as the contents of the fermentation products including acetaldehyde, ethanol and lactate in the brown lignified roots were studied under water-logging. The results showed that the PDC and LDH activities increased at first and then decreased in both kinds of roots, so the ADH activity in growing roots did, but the ADH activity in brown lignified roots increased. These enzyme activities in growing roots changed much more than those in brown lignified roots. The ADH and LDH activities in both Meizao/Dongbeishanyingtao roots increased much more than that of Meizao/Mahaleb roots, but PDC reversed. The contents of acetaldehyde and ethanol increased in both brown lignified roots, however, lactate increased at

基金项目: 山东省农业良种工程资助项目

收稿日期: 2007-01-25; 修订日期: 2007-09-11

作者简介: 陈强 (1979 ~), 男, 山东新泰人, 硕士, 主要从事果树根系生理生态研究. E-mail: chqlgr@163.com

通讯作者: Corresponding author. E-mail: mzhiquan@sdau.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by the agricultural good breed engineering of Shandong Province

Received date 2007-01-25; **Accepted date** 2007-09-11

Biography: CHEN Qiang, Master, mainly engaged in physioecology of fruit roots. E-mail: chqlgr@163.com

first and then decreased. At last the acetaldehyde content in brown lignified roots of Meizao/Dongbeishanyingtao was lower than Meizao/Mahaleb, but the ethanol content reversed, as for lactate, the former maximum was higher than the latter and reached the maximum earlier.

Key Words : water-logging ; sweet cherry roots ; anaerobic respiration enzymes ; fermentation products

甜樱桃 (*Prunus avium* L.) 营养丰富, 经济效益高, 是近几年发展较快的树种之一, 但生产上樱桃表现为不抗涝^[1], 2001 年和 2003 年由于降水偏多, 造成烟台地区大片甜樱桃受害, 甚至某些果园成片死亡^[2], 因此涝害是制约甜樱桃发展的因素之一。低氧环境中的植物根系, 需要糖酵解提供能量, 诱导产生了许多参与无氧呼吸的酶^[3], 包括 PDC、ADH^[4] 和 LDH^[5] 等, 并产生许多糖酵解末端产物, 如乙醛、乙醇、乳酸、丙氨酸等^[6]。其中乙醛、乙醇是乙醇发酵途径中 PDC、ADH 的催化产物, 乳酸是 LDH 的催化产物。有研究认为乙醇、乙醛积累是造成细胞伤害的主要原因^[7~10], 而乳酸积累引起细胞 pH 急降造成细胞质酸化也被认为是造成细胞伤害的另一主要原因^[8, 11~13]。目前国外在缺氧胁迫下植株发酵活性和光合能力^[14] 及拟南芥中乙醇发酵途径酶基因诱导^[15] 方面有所研究。但对淹水条件下不同类型砧木根系无氧呼吸酶及发酵产物变化比较研究未见报道, 本研究选用生产上常用且抗涝性有差异的甜樱桃砧木-东北山樱桃和马哈利 (嫁接品种为美早) 为试材, 拟比较分析导致两种砧木对淹水敏感性差异的可能原因, 为生产上砧木选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

将 1 年生美早/东北山樱桃 (*Prunus serrulata* G. Don) (T₁) 和美早/马哈利 (*Prunus mahaleb* L.) (T₂) 甜樱桃植株于 2006 年 3 月定植于上口径 25cm, 下口径 22cm, 深 20cm 的泥瓦盆中。土壤类型为壤土, 每盆一株, 正常管理, 并于 2006 年 8 月 7 日在山东农业大学根系研究室作如下处理: 选取长势一致的盆栽美早/东北山樱桃和美早/马哈利淹入水中, 淹水在自然条件下进行, 采用“双套盆法”, 将种植植株的泥瓦盆置于直径为 30cm, 深 28cm 的塑料桶内, 保持水层高于盆土表面 2cm 左右。取样时每 2 株为一单位, 3 次重复, 分别在淹水 0、24、48、72、96、120h 时取样测定。

1.1.1 酶液提取

选取长 3~5cm、直径 1.5mm 左右的生长根、褐色木质根, 各称取 0.5g 左右, 放入预冷研钵中, 再加入预冷的酶提取液: 50mmol·L⁻¹ Tris-HCl (pH6.8), 内含 5mmol·L⁻¹ MgCl₂、5mmol·L⁻¹ β-巯基乙醇、体积分数为 15% 甘油、1mmol·L⁻¹ EDTA、1mmol·L⁻¹ EGTA 和 0.1 mmol·L⁻¹ 苯甲基磺酰氟, 冰浴研磨后, 于 4℃ 12 000 ×g 离心 20min 提取粗酶液^[14]。

1.1.2 PDC、ADH 和 LDH 活性的测定

用日本岛津 UV-2450 紫外分光光度计, 测定 PDC、ADH 和 LDH 在 340nm 处吸光值变化。

丙酮酸脱羧酶 (PDC) 活性测定^[14, 16]: 反应混合液为 50mmol·L⁻¹ MES (pH6.8), 含 25mmol·L⁻¹ NaCl、1mmol·L⁻¹ MgCl₂、0.5mmol·L⁻¹ TPP、2mmol·L⁻¹ DTT、0.17mmol·L⁻¹ NADH、50mmol·L⁻¹ 草氨酸钠、10U ADH, 用 10 mmol·L⁻¹ 丙酮酸启动反应。

乙醇脱氢酶 (ADH) 活性测定^[14, 16]: 反应混合液为 50mmol·L⁻¹ TES (pH7.5), 含 2.5μmol·L⁻¹ NADH, 用 0.125 mmol·L⁻¹ 乙醛启动反应。

乳酸脱氢酶 (LDH) 活性测定^[14, 17]: 反应混合液为 0.1mol·L⁻¹ 磷酸 (pH7.0), 含 4μmol·L⁻¹ NADH、0.24 mmol·L⁻¹ 丙酮酸, 用酶提取液启动反应。

1.1.3 乙醇、乙醛的测定

参照田世平^[18] 方法, 选取长 3~5cm、直径 1.5mm 左右的根系, 称取 1g, 用 1ml 浓度为 20% TCA 冰浴研磨, 样品研碎后置于青霉素小瓶中, 加盖密封。测定时, 先将样品放在 45℃ 的热水浴中 1h, 用注射器在瓶顶部

抽取 0.5ml 的气样,用装有 FID 的日本岛津 Shimadzu GC-9A 型气相色谱仪测定乙醛、乙醇含量,色谱柱温 100℃,检测温 200℃,载气 N_2 和 H_2 流速为 $30\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$,样品浓度采用外标法计算。

1.1.4 乳酸的测定

参照赵尊行^[9]方法,选取长 3~5cm、直径 1.5mm 左右的褐色木质根,称取 3g 左右,用 20ml 80% 酒精研碎,转移至 50ml 离心管中,于 75℃ 下浸提 25min,然后 4000r/min 离心 10min,转移上清液至 50ml 容量瓶中,之后同样条件分两次用 15ml 80% 酒精洗残渣,再离心收集上清液,合并,定容至 50ml。摇匀后取 6ml 蒸干,残渣用 2ml 流动相溶解后,经 0.22 μm 滤膜过滤后移入 1.5ml 离心管中保存供色谱分析用。

采用美国 Waters510 型高效液相色谱仪测定乳酸含量,测定条件:波长 210nm,色谱柱为 ODSC18 反相柱,检测器 Waters 2487,用过 0.22 μm 膜 pH 2.55 重蒸水配制的 18mmol/L KH_2PO_4 溶液作流动相,流速 0.8ml/min,柱温为 30℃,进样量 10 μl ,采用外标法计算乳酸含量。

试验结果均采用 SAS 软件 Duncan 多重比较法 ($P < 0.05$) 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 淹水对甜樱桃根系无氧呼吸酶 PDC、ADH 和 LDH 的影响

2.1.1 淹水对 PDC 活性的影响

图 1A 显示,淹水前 T_1 生长根 PDC 活性高于 T_2 。淹水过程中 T_1 、 T_2 PDC 活性先升后降,二者 PDC 活性在淹水 48h 时均达最大值,其中 T_1 为 $0.381\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}\cdot\text{min}^{-1}$, T_2 为 $0.889\mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}\cdot\text{min}^{-1}$ 。最终 T_2 PDC 活性比淹水前增加 76%, T_1 PDC 活性比淹水前增加 24%, T_2 PDC 活性增幅大于 T_1 。 T_1 、 T_2 褐色木质根 PDC 活性与生长根 PDC 活性整体变化趋势基本一致,即淹水过程中该酶活性先升后降(图 1B)。淹水 24h 时 T_2 PDC 活性达最大值为 $0.160\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$,而 T_1 PDC 活性淹水 48h 达最大值 $0.142\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$ 。最终 T_1 褐色木质根 PDC 活性为淹水前的 2.39 倍而 T_2 PDC 活性为淹水前的 3.17 倍。比较图 1A 和图 1B,淹水过程中,生长根 PDC 活性变化幅度大于褐色木质根。

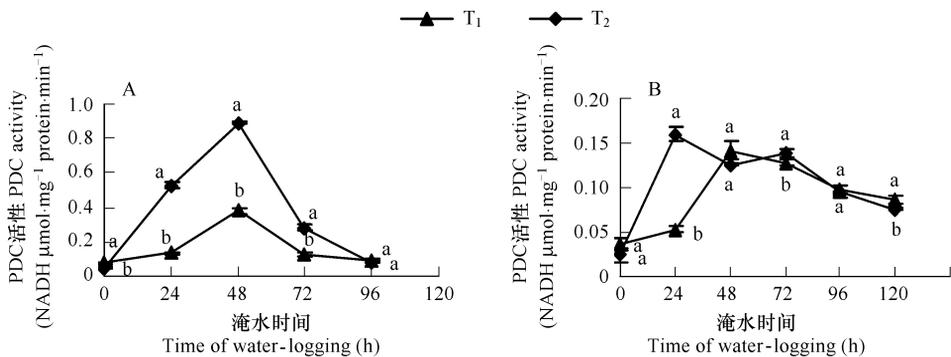


图 1 淹水对甜樱桃砧木生长根 (A) 和褐色木质根 (B) PDC 活性的影响

Fig. 1 Effect of water-logging on PDC activities of growing roots (A) and brown lignified roots (B) in sweet cherry rootstocks

2.1.2 淹水对 ADH 活性的影响

淹水过程中生长根 ADH 活性变化均表现为先升后降(图 2A),一经淹水两种砧木生长根 ADH 活性逐渐升高,至 72h 时二者 ADH 活性同时达最大值,分别为 $2.725\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$ 和 $3.986\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$,之后其活性开始下降,至 96h 时, T_1 ADH 活性为淹水前的 1.75 倍, T_2 为淹水前的 1.49 倍。图中还可看出, T_2 生长根 ADH 活性均显著高于 T_1 ,但 T_1 ADH 活性增加幅度大于 T_2 。实验范围内, T_1 、 T_2 褐色木质根 ADH 活性呈上升趋势(图 2B),淹水至 120h 时, T_1 ADH 活性为 $1.186\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$,是淹水前的 3.69 倍, T_2 为 $1.684\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}\cdot\text{min}^{-1}$,是淹水前的 2.56 倍,ADH 活性增加幅度表现为 $T_1 > T_2$,与生长根一致。

比较图 2A、B,生长根在淹水 96h 时 ADH 活性与淹水前相比已处于较低水平,而褐色木质根 ADH 活性在

120h 时仍未出现下降趋势,维持较高水平。

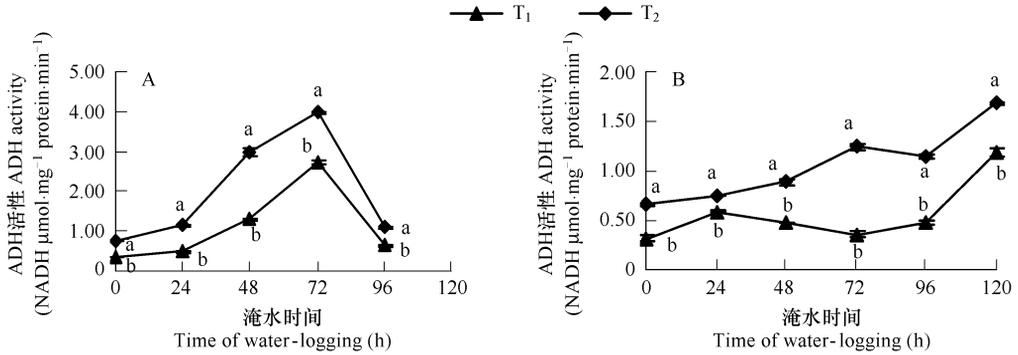


图2 淹水对甜樱桃砧木生长根(A)和褐色木质根(B)ADH活性的影响

Fig. 2 Effect of water-logging on ADH activities of growing roots (A) and brown lignified roots (B) in sweet cherry rootstocks

2.1.3 淹水对 LDH 活性的影响

生长根 LDH 活性先升后降,其变化如图 3A 所示。 T_1 、 T_2 淹水 24h 时生长根 LDH 活性即达峰值,分别为 $0.192 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein} \cdot \text{min}^{-1}$ 和 $0.163 \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein} \cdot \text{min}^{-1}$,之后该酶活性急剧下降,淹水前 48h T_1 LDH 活性高于 T_2 并达显著性差异,至 96h 时 T_1 为淹水前的 115%, T_2 为淹水前的 107%。淹水过程中褐色木质根 LDH 活性变化与生长根趋势基本一致,即先升高后降低(图 3B),但 T_1 比 T_2 出现峰值较早。

比较两类根发现,淹水过程中褐色木质根 LDH 活性低于生长根,且褐色木质根 LDH 活性达峰值时间滞后于生长根。

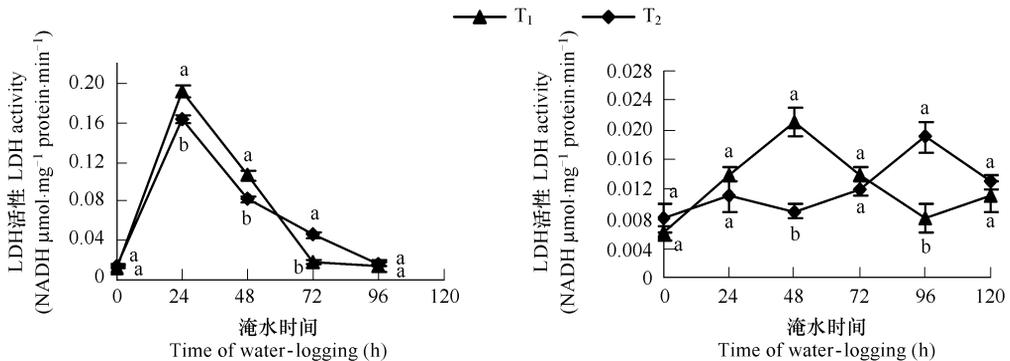


图3 淹水对甜樱桃砧木生长根(A)和褐色木质根(B)LDH活性的影响

Fig. 3 Effect of water-logging on LDH activities of growing roots (A) and brown lignified roots (B) in sweet cherry rootstocks

2.2 淹水对甜樱桃褐色木质根中乙醛、乙醇和乳酸含量的影响

2.2.1 淹水对乙醛含量的影响

随淹水时间延长乙醛含量呈上升趋势(图 4),且表现为 T_2 乙醛含量高于 T_1 (96h 除外)。 T_1 乙醛含量在淹水 96h 时后有所下降,淹水至 120h 时乙醛含量是初始值的 167 倍。 T_2 乙醛含量淹水 24h 内即迅速升高,之后升高趋势变缓,至 120h 时 T_2 乙醛含量为 $88.36 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$,是 T_1 的 1.18 倍,比 T_1 积累更多乙醛。

2.2.2 淹水对乙醇含量的影响

由图 5 可以看出,淹水过程中 T_1 、 T_2 根系中乙醇含量均呈上升趋势,这与淹水过程中 ADH 活性变化一致(图 2B)且 T_1 乙醇含量高于 T_2 。在淹水前 96h,乙醇含量变化相对较小,之后 T_1 、 T_2 乙醇含量骤升并达显著性差异,淹水 120h 时表现为 T_1 乙醇含量高于 T_2 。

2.2.3 淹水对乳酸含量的影响

T₁ 乳酸含量在淹水初期即迅速增加,至 48h 时达最大值 0.44 μg·g⁻¹ FW,为初始值的 4.89 倍,是同期 T₂ 的 6.29 倍,之后乳酸含量急剧下降,淹水 120h 时基本恢复到初始值水平(图 6)。淹水 0~72h 内 T₂ 乳酸含量变化不大,至 96h 时达最大值 0.20 μg·g⁻¹ FW。由图 6 还可以看出,淹水前 48h T₁ 乳酸含量远高于 T₂,72h 后 T₂ 乳酸含量开始大于 T₁。

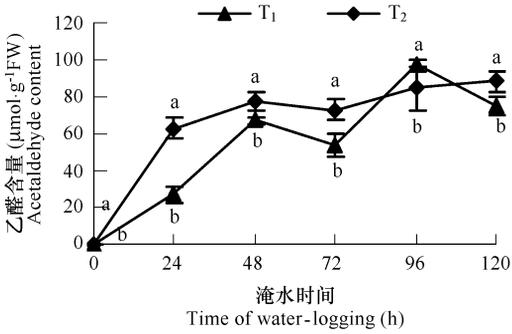


图 4 淹水对甜樱桃砧木褐色木质根乙醛含量的影响

Fig. 4 Effect of water-logging on acetaldehyde content in brown lignified roots of sweet cherry rootstocks

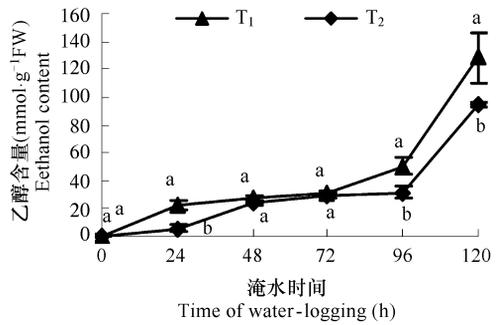


图 5 淹水对甜樱桃砧木褐色木质根乙醇含量的影响

Fig. 5 Effect of water-logging on ethanol content in brown lignified roots of sweet cherry rootstocks

3 讨论

低氧胁迫下的植物根系,其糖酵解代谢产物丙酮酸通过三羧酸循环(TCA)途径产生 ATP 和 NAD⁺ 的能力严重削弱。相反地,植物为了产生足够的 ATP 和 NAD⁺ 维持细胞功能运转,无氧发酵途径作为一种短期适应方式出现。低氧条件下植物根系中的丙酮酸在许多无氧呼吸酶^[6, 20, 21]催化作用下,分别进入乙醇发酵途径、乳酸发酵途径等,继而产生乙醛、乙醇和乳酸等发酵产物,这些产物被认为是造成细胞受害的主要原因^[23]。本研究结果显示,淹水过程中不同甜樱桃砧木的两种根系类型中的无氧呼吸酶活性均发生显著变化,其褐色木质根无氧呼吸酶催化产物乙醛、乙醇含量均明显增加,两砧木褐色木质根中乳酸含量峰值出现在不同淹水时间段内,且远高于其初始值,表明无氧呼吸酶活性变化是植物根系响应淹水条件下能量匮乏的一种积极机制,而其催化的不同潜在有害终产物含量增加的差异则对细胞造成不同程度的伤害,酸性物质含量增加的时间和量的差异引起细胞质酸中毒程度不同,导致两种砧木对淹水的敏感性不同。

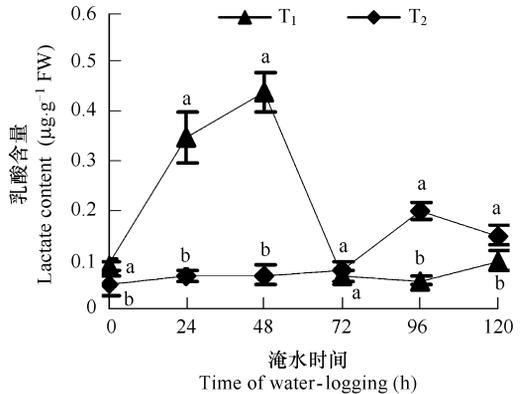


图 6 淹水对甜樱桃砧木褐色木质根中乳酸含量的影响

Fig. 6 Effect of water-logging on lactate content in brown lignified roots of sweet cherry rootstocks

PDC 作为乙醇发酵途径中催化丙酮酸生成乙醛的关键酶,前人报道低氧条件下植物根系中 PDC 活性升高^[4]。本研究结果表明,甜樱桃根系淹水过程中 PDC 活性及其催化发酵产物乙醛含量变化具有阶段性,即一经淹水,生长根 PDC 活性明显升高,这与前人研究结果一致,随淹水时间延长,该酶活性逐渐下降且淹水过程中 T₂ PDC 活性增幅大于 T₁,表明生长根细胞受害较重,酶活性受到影响,整个淹水期间 T₂ 生长根中乙醛含量可能积累较多。褐色木质根 PDC 活性变化与生长根 PDC 活性变化趋势基本一致,但褐色木质根 PDC 活性变化幅度明显小于生长根,表明淹水过程中生长根 PDC 活性变化较褐色木质根相对剧烈,淹水至 120h 时已检测不到生长根 PDC 活性而褐色木质根 PDC 活性仍高于淹水前,进一步表明褐色木质根作为维持树体功能

的器官受淹水影响的程度小于生长根。

Perata 和 Alpi^[9]认为在胡萝卜细胞培养过程中,添加外源乙醇引起的毒害效果是由于乙醛的形成。对褐色木质根中乙醛含量测定表明,低氧条件下乙醛含量均明显升高, T_1 乙醛含量在 96h 达峰值后下降,这与 T_1 褐色木质根 ADH 活性增加幅度大体吻合,即更多乙醛转化为乙醇,导致 T_1 褐色木质根中乙醇积累较多,而 T_2 褐色木质根 PDC 活性增幅大于 T_1 且最终 T_2 乙醛含量高于 T_1 ,认为乙醛含量积累的更多是 T_2 受害的原因之一,与 Perata 和 Alpi 的研究结果一致。Su and Lin^[22]对淹水的丝瓜根系研究认为,乙醛浓度并不与 PDC 活性的诱导成比例,乙醛浓度 5d 后才轻微增加,本研究结果证实了这一观点,即淹水后褐色木质根乙醛含量升高与 PDC 活性升高并非一一对应关系,PDC 活性出现峰值时间较早,乙醛含量达峰值时间相对延迟,但乙醛含量升高与 PDC 活性升高(与初始值相比)的总趋势在淹水期间内呈时间段对应关系(图 4、图 1B)。

乙醇发酵途径研究较多,该途径中 ADH 是研究的重点。已有研究表明,淹水明显促进玉米根系 ADH 活性,不耐涝品种活性的增幅高于耐涝品种^[23]。实验过程中发现,生长根和褐色木质根 ADH 活性均高于初始值,表明淹水促进了甜樱桃根系 ADH 活性的升高。 T_1 两类根系 ADH 活性增加幅度均大于 T_2 ,表明 T_1 比 T_2 对淹水更敏感。Crawford 和 Baines^[24]认为许多植物有代谢乙醇的能力,在淹水和非淹水树的根和干中都可检测到乙醇,Nilsen 和 Orcutt^[8]认为根能耐淹水而不会死亡,必须把乙醇维持在可忍耐的水平,且能产生足够的 ATP 维持细胞的功能,Barclay 和 Crawford^[25]认为豌豆幼苗缺氧条件下乙醇超过 60mmol/L 阈值即造成缺氧死亡。对褐色木质根中乙醇含量研究结果表明,乙醇含量变化与褐色木质根中 ADH 活性增加幅度相吻合。 T_1 褐色木质根中 ADH 活性增加幅度大于 T_2 有可能造成其乙醇积累超过阈值导致 T_1 褐色木质根细胞较早受害,而 T_2 褐色木质根 ADH 活性增加幅度小,另外也可能 T_2 褐色木质根代谢乙醇的能力较强,使乙醇积累没有超出某一阈值,虽对细胞造成一定伤害,但受害程度较 T_1 轻,但造成甜樱桃根系细胞受害的乙醇阈值还有待进一步研究。

Hoffman 等^[5]对大麦的研究结果表明 LDH 在严重低氧条件下能保持长时间的高活性,而 Huang^[26]研究认为随着细胞质 pH 值的下降,LDH 活性受抑,Davies 等人^[27]研究表明低氧初期是一个短暂的、自我调控的乳酸积累阶段,这导致细胞质 pH 降低,激活根系中 PDC 和乙醇发酵,Roberts 等^[1,28]的核磁共振数据支持了这一结论。本研究结果显示淹水前期可促进生长根 LDH 活性,之后可能是由于乳酸的积累反馈抑制了 LDH 活性,从其变化趋势看,淹水初期 T_1 生长根有更多的丙酮酸转化为乳酸,使细胞质 pH 迅速下降,引起细胞质酸中毒,造成生长根细胞死亡。 T_1 褐色木质根 LDH 活性峰值出现时间早且峰值大于 T_2 ,表明 T_1 乳酸含量过早、过多积累。生长根 LDH 活性变化幅度明显大于褐色木质根,表明木质根对淹水逆境的忍受能力和功能的稳定性大于生长根。 T_1 褐色木质根乳酸含量在淹水初期即迅速增加,表明 T_1 因细胞质酸中毒程度较重而受害较早,之后乳酸含量降低,与其褐色木质根 LDH 活性变化吻合,而 T_2 乳酸出现大量积累时间晚于 T_1 ,进一步表明了 T_1 比 T_2 对淹水更敏感。

综合以上分析认为, T_2 积累较多乙醛是其受害的主要原因,虽然 T_1 比 T_2 积累乙醛的量少,但由于淹水开始后 T_1 即造成大量乳酸的积累和后期乙醇积累较多,因而根系细胞受害较重, T_1 表现出较 T_2 对淹水更敏感。由于本实验在 8 月上旬进行,虽然准备了大量的试验材料,但在该季节仍未有足量的生长根进行乙醛、乙醇和乳酸含量的测定,而且由于实验材料是破坏性的,随着时间的延长根量不足,因此没有测量生长根中发酵产物的含量变化,今后的试验中若能补充生长根中乙醛、乙醇和乳酸的含量在淹水过程中的变化将会使研究更加完善。

References :

- [1] Wu L P, Lv D G, Liu G C. The Biological Characters of Sweet Cherry. In : Wu L P ed. Non-Pollution Production Techniques of Sweet Cherry. Beijing :China Agriculture Press, 2003. 13 - 27.
- [2] Han W P, Ma L Z, Yang X G *et al.* The reasons and solutions of water-logging causing sweet cherry hurt. Yantai Fruits 2004 (2) : 35.
- [3] Sachs M M, Freeling M, Okimoto R. The anaerobic proteins of maize. Cell, 1980 20 (3) : 761 - 767.

- [4] Lazlo A, St Lawrence P. Parallel induction and synthesis of PDC and ADH in anoxic maize root. *Mol Gen Genet* ,1983 ,192 (1-2) :110 — 117.
- [5] Hoffman N E , Bent A F , Hanson A D. Induction of lactate dehydrogenase isozymes by oxygen deficit in barley root tissue. *Plant Physiol* ,1986 ,82 (3) :658 — 663.
- [6] Good A G , Muench D G. Long-term anaerobic metabolism in root tissue : Metabolic products of *pyruvate metabolism*. *Plant Physiol* ,1993 ,101 (4) :1163 — 1168.
- [7] Barta A L. Ethanol synthesis and loss from flooded roots of *Medicago sativa* L. and *Lotus corniculatus* L. *Plant Cell & Environ* ,1984 ,7 (3) :187 — 191.
- [8] Nilsen E T , Orcutt D M. The Physiology of Plants under Stress. New York : John Wiley & Sons ,1996. 362 — 400.
- [9] Perata P and Alpi A. Ethanol-induced injuries to carrot cells the role of acetaldehyde. *Plant Physiol* ,1991 ,95 (3) :748 — 752.
- [10] Liao C T and Lin C H. Physiological Adaptation of Crop Plants to Flooding Stress. *Proc. Natl. Sci. Coun. ROC (B)* 2001 ,25 (3) :148 — 157.
- [11] Roberts J K M , Callis J , Wemmer D , *et al.* Mechanism of cytoplasmic pH regulation in hypoxic maize root tips and its role in survival under hypoxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* ,1984 ,81 (11) :3379 — 3383.
- [12] Menegus F , Cattaruzza L , Chersi A , *et al.* Differences in the anaerobic lactate-succinate production and in the changes of cell sap pH for plants with high and low resistance to anoxia. *Plant Physiol.* ,1989 ,90 (1) :29 — 32.
- [13] Menegus F , Cattaruzza L , Mattana M , *et al.* Response to anoxia in rice and wheat seedlings. Changes in the pH of intracellular compartments , glucose-6-phosphate level , and metabolic rate. *Plant Physiol.* ,1991 ,95 (3) :760 — 767.
- [14] Mustroph A , Albrecht G. Tolerance of crop plants to oxygen deficiency stress : fermentative activity and photosynthetic capacity of entire seedlings under hypoxia and anoxia. *Physiol Planta* 2003 ,117 (4) :508 — 520.
- [15] Ismond K P , Dolferus R , Pauw M , *et al.* Enhanced Low Oxygen Survival in Arabidopsis through Increased Metabolic Flux in the Fermentative Pathway. *Plant Physiol.* 2003 ,132 (3) :1292 — 1302.
- [16] Waters I , Morell S , Greenway H , *et al.* Effects of anoxia on wheat seedlings II. Influence of O₂ supply prior to anoxia on tolerance to anoxia , alcoholic fermentation and sugar levels. *J Exp Bot* ,1991 ,42 (244) :1437 — 1447.
- [17] Vassault A. Lactate dehydrogenase. In : Bergmeyer H U ed. *Methods of Enzymatic Analysis* ,3rd edition. New York : New York Academic Press , 1983. 3 :118 — 125.
- [18] Tian S P. Effects of Ultra Low-O₂ Treatment on Ethanol , Acetaldehyde and Methanol Contents in Sweet Cherries in Low Temperature Storage. *Plant Physiology Communication* 2000 ,36 (3) :201 — 204.
- [19] Zhao Z H , Sun Y H , Huang H C. Research of soluble sugars and organic acids in apple of Shandong. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science)* ,1995 ,26 (3) :355 — 360.
- [20] Good A G , Crosby W L. Anaerobic induction of alanine aminotransferase in barley root tissue. *Plant Physiol* ,1989 ,90 (4) :1305 — 1309.
- [21] Good A G , Crosby W L. Induction of alcohol dehydrogenase and lactate dehydrogenase in hypoxically induced barley. *Plant Physiol.* ,1989 ,90 (3) :860 — 866.
- [22] Su P H and Lin C H. Metabolic responses of luffa roots to long-term flooding. *Plant Physiol.* ,1996 ,148 (6) :735 — 740.
- [23] Chen L S , Liu X H. Fruit physiology under flooding stress. In : Chen L S ed. *Fruit Stress Physiology*. Beijing : China Agriculture Press ,2003. 167 — 216.
- [24] Crawford R M M , Baines M A. Tolerance of anoxia and the metabolism of ethanol in tree roots. *New Phytologist* ,1977 ,79 (3) :519 — 526.
- [25] Barclay A M and Crawford R M M. Temperature and anoxic injury in pea seedlings. *J. Exp. Bot.* ,1981 ,32 (5) :943 — 949.
- [26] Huang B. Mechanisms of plant resistance to waterlogging. In : A S Basra and R K Basra eds. *Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants*. Netherlands : Harwood Academic Publishers ,1997. 50 — 81.
- [27] Davies D D. Anaerobic metabolism and production of organic acids. In : Davies D D ed. *The Biochemistry of Plants*. New York : Academic Press , 1980 ,2 :581 — 611.
- [28] Roberts J K , Callis J , Jardetzky O , *et al.* Cytoplasmic acidosis as a determinant of flooding intolerance in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984 , 81 (19) :6029 — 6033.

参考文献 :

- [1] 吴禄平,吕德国,刘国成. 甜樱桃的生物学特性. 见:吴禄平主编. 甜樱桃无公害生产技术. 北京:中国农业出版社,2003. 13 ~ 27.
- [2] 韩文璞,马立直,杨秀光,等. 大樱桃受涝害原因与对策. 烟台果树,2004,(2):35.
- [18] 田世平. 冷藏条件下超低氧处理对甜樱桃果实中乙醇、乙醛和甲醇含量的影响. 植物生理学通讯,2000,36(3):201 ~ 204.
- [19] 赵尊行,孙衍华,黄化成. 山东苹果中可溶性糖、有机酸的研究. 山东农业大学学报(自然科学版),1995,26(3):355 ~ 360.
- [23] 陈立松,刘星辉. 水涝胁迫下的果树生理. 见:陈立松主编. 果树逆境生理. 北京:中国农业出版社,2003. 167 ~ 216.