

涝渍对桃、李幼苗根系酶活性及渗透调节物质含量的影响

张 义, 李 伟

(长江大学 园艺园林学院, 湖北 荆州 434025)

摘要: 为了探讨涝渍胁迫对桃和李根部代谢的影响, 以 1 年生索瑞斯李扦插苗和毛桃实生苗为试材, 研究了在持续淹水胁迫下, 其根系中无氧呼吸酶、抗氧化酶活性以及渗透调节物质含量的变化。结果表明, 在持续淹水 8 d 中, 二者根系乙醇脱氢酶(ADH)活性均呈降—升—降的变化趋势; 乳酸脱氢酶(LDH)活性则先升后降, 但李苗 LDH 活性达最大值时间比桃苗早, 达到峰值后李苗下降较慢而桃苗下降迅速; 桃苗根系过氧化物酶(POD)活性变化呈先升后降的单峰曲线, 而李苗呈升—降—升的双峰曲线, 桃苗 POD 活性峰值比李苗高, 而李苗 POD 保持较高活性持续时间长; 过氧化氢酶(CAT)活性均呈降—升—降趋势, 二者淹水前 CAT 活性很高; 脯氨酸(Pro)含量均呈升—降—升的变化趋势, 而可溶性糖含量变化幅度不大。

关键词: 毛桃; 李; 淹水胁迫; 无氧呼吸酶; 抗氧化酶; 渗透调节物质

中图分类号: S662 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)10-0127-04

Change of Enzyme Activities and Osmotic Regulation Substances in Peach and Plum Seedling Roots Under Waterlogging

ZHANG Yi, LI Wei

(College of Horticulture and Gardening, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract: The aim of this paper is to study the effect of waterlogging on metabolism of peach and plum roots. Using one-year-old cuttings of *Prunus americana* March. cv. Soriso and one-year-old seedlings of *Prunus persica* (L.) Batsch. as experiment materials, the change rules of anaerobic respiratory and antioxidant enzyme activities, osmotic regulation substances in their growing roots under waterlogging were studied. Under continuously flooding for 8 days, alcohol dehydrogenase (ADH) activities showed a down-up-down trend in two kinds of materials; lactate dehydrogenase (LDH) activities first increased and then decreased, but in plum the maximum appeared earlier than in peach, and after reaching the peak, dropped more slowly too. Change of peroxidase (POD) activities showed a single peak curve of up to down in peach, and a double peak curve of up-down-up-down in plum; the peak was higher in peach than in plum but higher activity lasted for a long time in plum. Catalase (CAT) activities showed a drop-rise-drop trend and were very high before waterlogging. The content of praline (Pro) showed a rise-drop-rise trend, while the soluble sugar content changed a little.

Key words: *Prunus persica* (L.) Batsch.; *Prunus americana* March.; waterlogging; anaerobic respiratory enzyme; antioxidant enzyme; osmotic regulation substances

江汉平原降雨量大且地下水位较高, 涝害成为该地区果树生产的主要逆境因子之一, 常对果树造成不同程度的伤害。毛桃实生苗和根蘖苗是李树栽培常用苗木来源, 因此, 研究它们在涝渍逆境下的反

应, 对李树耐涝资源的选择培育以及抗涝栽培技术的研究具有指导作用。土壤涝渍中根系是直接受到伤害的器官, 而地上部的反应是根系受到缺氧伤害而引起的次级伤害。然而, 目前对植物涝渍伤害的

收稿日期: 2012-03-20

作者简介: 张 义(1964—), 男, 湖北公安人, 副教授, 硕士, 主要从事果树栽培与生理研究。E-mail: zhyimail@163.com

研究大多侧重于地上部,有关涝渍胁迫对根部的影响尤其对根代谢影响的研究相对较少,而且主要集中于农作物和蔬菜上^[1-3],对果树的研究常见于苹果^[4-6]和樱桃^[7-9],而对桃和李尚鲜见报道^[10]。鉴于此,研究了在淹水条件下毛桃实生苗和李扦插苗根系中无氧呼吸酶、抗氧化酶活性以及渗透调节物质含量的变化规律,以探讨其涝渍逆境下的生理机制,为选育耐涝砧木提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料与方法

随机选择在露地生长的 1 年生索瑞斯李 (*Prunus americana* March. cv. Soriso) 扦插苗和 1 年生毛桃 (*Prunus persica* (L.) Batsch.) 实生苗,于 2009 年 12 月落叶后移植于土陶花盆中,每盆 1 株,花盆大小为 15 cm×20 cm。移栽基质成分比例为泥炭:珍珠岩:河沙=0.5:1:2。装盆后保持盆土不干燥。翌年萌芽前追萌芽肥,萌芽后追 3 次饼肥水。2010 年 6 月,将花盆放入围沟中进行淹水试验,淹水深度保持高于盆土 2 cm 左右。分别在淹水 0、2、4、6、8 d 对根系进行取样测定。每次随机选取 3 盆,先用自来水将根上基质冲洗掉,再用蒸馏水冲洗 3 次,然后采用对角线取样法剪取直径为 1 mm 左右的非木质化根(生长根),用干净的滤纸吸干根表面的水分,速冻后立即测定。

1.2 测定指标和方法

1.2.1 根系无氧呼吸酶活性测定 参照文献^[9]的方法进行。

1.2.1.1 酶液的提取 选取根样 0.5 g 左右,放入预冷研钵中,再加入 2 mL 预冷的酶提取液:50 mmol/L Tris-HCl(pH 值 7.0),5 mmol/L MgCl₂,5 mmol/L β-巯基乙醇、体积分数为 15% 的甘油、1 mmol/L EDTA、1 mmol/L EGTA 和 0.1 mmol/L 苯甲基磺酰氟。冰浴研磨后,于 4 ℃、12 000×g 条件下离心 20 min,提取粗酶液。

1.2.1.2 乙醇脱氢酶(ADH)和乳酸脱氢酶(LDH)活性测定 ADH 活性测定:取 2.85 mL 反应液[150 mmol/L Tris-HCl(pH 值 8.0),0.3 mmol/L NADH]和 50 μL 酶液混匀,然后加入 30 μL 95% 的乙醇启动反应,于 340 nm 处测定 OD 值。

LDH 活性测定:取 3 mL 反应混合液[0.1 mol/L 磷酸(pH 值 7.0),含 4 μmol/L NADH、0.2 mmol/L 丙酮酸],用 0.15 mL 酶提取液启动反应,于 340 nm 处测定 OD 值。

酶活性[U/(g·min)]= $(\Delta A_{340} \times V_0)/(0.01 \times$

$V_1 \times t \times W_{FW})$,其中, ΔA_{340} 为 t 时间内吸光值变化的代数,和 V_0 为酶提取液体积, V_1 为测定用酶液体积, t 为测定时间, W_{FW} 为样品鲜质量。以每分钟 OD 值变化 0.01 为 1 个酶活性单位(U)。

1.2.2 抗氧化酶活性测定 过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外分光光度法测定^[11],以 1 min 内 OD₂₄₀ 减少 0.1 为 1 个酶活性单位(U),以 U/(g·min) 表示酶活性单位。过氧化物酶(POD)活性用愈创木酚显色法测定^[12],记录 3 min 内愈创木酚被氧化的速率,以 1 min 内 OD₄₇₀ 增加 0.01 为 1 个酶活性单位(U),以 U/g 表示酶活性单位。

1.2.3 渗透调节物质含量的测定 可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定^[11],脯氨酸(Pro)含量采用茚三酮比色法测定^[12]。

1.3 数据处理

所有数据经 DPS7.05 软件进行方差分析,用邓肯氏新复极差法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 涝渍对桃、李根系无氧呼吸酶活性的影响

2.1.1 ADH 活性 从图 1 可以看出,桃苗和李苗根系中 ADH 活性均表现为降—升—降的变化规律,至淹水第 4 天均达到最大值,之后迅速下降。在淹水的 2 d 内,可能由于应激反应而使 ADH 活性有所下降。虽然李苗在淹水过程中根系 ADH 活性低于桃苗的,但差异并不显著($P>0.05$)。

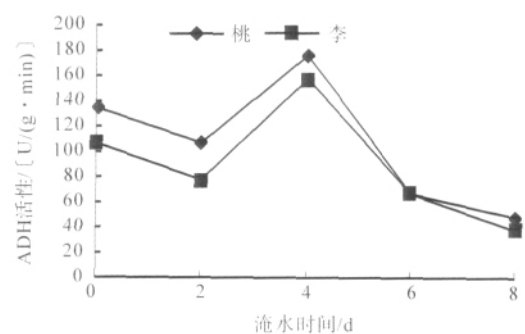


图 1 涝渍对桃、李苗根系 ADH 活性的影响

2.1.2 LDH 活性 从图 2 可以看出,桃苗和李苗根系中 LDH 的活性均表现为先升后降的变化趋势,李苗、桃苗分别在第 2 天和第 6 天达最大值,李苗峰值低于桃苗;另外,达到峰值后李苗下降较慢而桃苗下降迅速。这说明淹水胁迫能激发桃、李幼苗根系中 LDH 活性的增加,而桃和李在淹水胁迫下乳酸代谢强度有所不同。

2.2 涝渍对桃、李根系抗氧化酶活性的影响

2.2.1 POD 活性 由图 3 可以看出,李苗根系 POD

活性变化呈双峰曲线,其峰值分别在淹水后第 2 天和第 6 天出现,第 1 峰后下降幅度小,第 2 峰后下降迅速;桃苗则呈单峰曲线,峰值在淹水后第 2 天出现;相对来说,李苗根系 POD 保持较高活性持续时间较长,而桃苗 POD 活性峰值显著高于李苗($P<0.05$)。

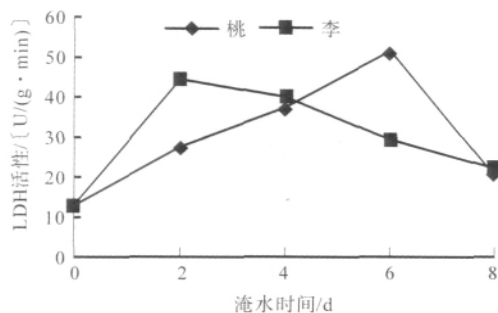


图 2 涝渍对桃、李苗根系 LDH 活性的影响

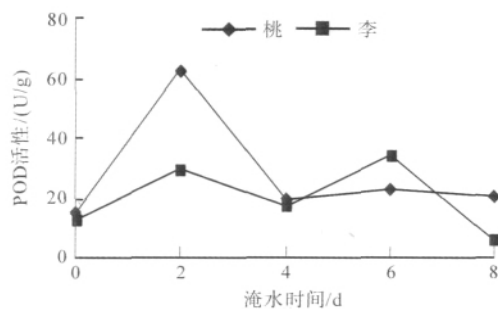


图 3 涝渍对桃、李苗根系 POD 活性的影响

2.2.2 CAT 活性 从图 4 可以看出,桃苗和李苗根系 CAT 活性均表现为降—升—降的变化规律,峰值均在淹水前及淹水第 4 天出现。在淹水 2 d 内,可能由于应激反应而使 CAT 活性急剧下降。桃苗和李苗根系 CAT 活性除第 2 个峰值间有显著差异外($P<0.05$),其他时间差异均不显著($P>0.05$)。

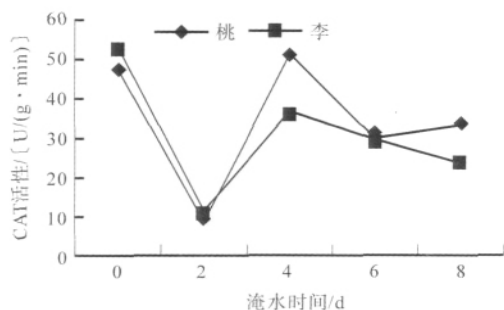


图 4 涝渍对桃、李根系 CAT 活性的影响

2.3 涝渍对桃、李根系渗透调节物质的影响

2.3.1 Pro 含量 从图 5 可以看出,桃苗和李苗根系中 Pro 含量均表现为升—降—升的变化趋势,最低值分别在淹水前和淹水第 4 天出现;桃苗和李苗根系 Pro 含量在淹水第 8 天含量最高且二者间几乎无差异,但李苗在淹水初期升高幅度显著大于桃苗($P<0.05$)。

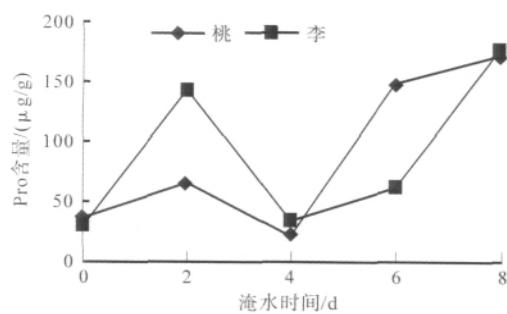


图 5 涝渍对桃、李苗根系脯氨酸含量的影响

2.3.2 可溶性糖含量 由图 6 可知,在连续 8 d 的淹水处理过程中,桃苗和李苗根系中可溶性糖含量的总体变化幅度均不大,李苗中的含量一直低于桃苗,但除处理第 4 天存在显著差异外($P<0.05$),其他各测定时间差异均不显著($P>0.05$)。

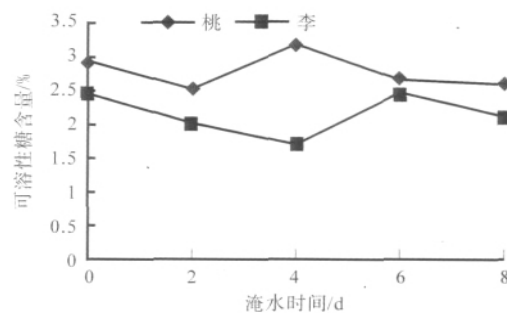


图 6 涝渍对桃、李苗根系可溶性糖含量的影响

3 讨论

3.1 桃、李根系无氧呼吸酶活性的变化

在淹水造成的低氧胁迫条件下,无氧呼吸成为为生命活动提供能量和维持细胞内 NADH 水平的主要呼吸方式,对植物适应低氧胁迫具有重要意义^[13]。乙醇发酵途径和乳酸发酵途径是植物根系在短期低氧环境中重要的无氧呼吸途径和短期产能方式。许多研究表明,植物在土壤涝渍条件下可诱导根组织中 2 种代谢途径的关键酶——ADH 和 LDH 活性的大幅度升高^[2-9]。当然,植物通过无氧呼吸代谢的调节以适应低氧逆境是一种短时行为,因而,随着胁迫伤害的进一步加重,发酵作用的代偿功能会明显减弱,ADH 和 LDH 活性往往表现为先升后降的变化趋势,本研究也佐证了这种结果。但是本研究中桃和李苗根系 ADH 活性在淹水前 2 d 有一个下降过程,这可能是由淹水引起的应激反应造成的。另外,桃苗和李苗根系 LDH 活性达到最高峰值的时间差异大。目前还没有研究认为这与耐涝能力有关。对黄瓜的研究^[2,14]表明,LDH 活性较低而 ADH 活性较高的品种耐涝力强,因为较低的 LDH 活性和较高的 ADH 活性能避免因乳酸积累引起的细胞质酸化,而使细胞仍

能通过乙醇发酵途径获得能量,维持生长。

3.2 桃、李根系抗氧化酶活性的变化

当植物受到淹水胁迫时,会导致根部细胞中活性氧大量积累,从而对细胞造成伤害。但是植物体内也存在着抗氧化剂非酶体系和保护酶体系 2 大类抗氧化系统,以维持正常的氧化代谢平衡,从而降低活性氧对植物细胞膜的伤害。POD、CAT 是重要的抗氧化酶,普遍存在于植物组织中。植株在涝渍胁迫下,这 2 种酶活性都呈先升高后下降的变化趋势,但具体变化有所不同^[1],本研究结果与此结果相近。据王嘉艳^[8]研究,樱桃砧木根系 POD 活性的变化趋势是先升后降,并且较耐涝砧木在淹水前中期 POD 活性较高,较高的 POD 活性可能有利于延长其在水涝环境中的生存时间。胡晓辉等^[14]也认为,抗低氧性强的黄瓜品种 POD 活性增加幅度较大。但是,本研究中尽管桃苗根系 POD 活性峰值比李苗的高,但李苗根系 POD 保持较高活性持续时间长;另外,POD 功能复杂,既有清除 H_2O_2 的作用,也有参与叶绿素降解、活性氧产生及引发膜脂过氧化等不利影响^[15]。因而,不能由此推断李苗和桃苗的耐涝力强弱。

涝渍胁迫下,根系 CAT 活性变化比较复杂,在有的植物上表现为先升后降趋势^[8,16],有的则表现为降—升—降^[17]的趋势,本研究结果与后者相近,但是本研究中根系淹水前的 CAT 活性很高,这有待进一步研究。

3.3 桃、李根系渗透调节物质含量的变化

渗透调节物质通过调节细胞内渗透势来缓解逆境对植物的伤害。脯氨酸和可溶性糖是 2 个重要的渗透调节物质。逆境条件下植物体内游离脯氨酸含量增加,这是在逆境条件下植物的自卫反应之一。在众多植物上的研究显示^[1,6,8],在涝渍胁迫初期,植物体内的脯氨酸和可溶性糖含量随着淹水胁迫时间的延长均上升,超过一定的时间后又下降,即呈现先升后降的变化趋势。当植物经历一定时期胁迫之后,碳水化合物供应会受阻,从而会影响氨基酸的形成,因此脯氨酸和可溶性糖含量会下降。也有研究显示,在淹水胁迫下根系中可溶性糖含量下降^[18-19],由此认为,厌氧条件下可溶性糖含量可能并不是决定植物耐涝性的关键因素^[19-20]。本研究结果表明,在连续淹水 8 d 情况下,2 种植株根系中脯氨酸含量除在淹水第 4 天下降到最低值外,其他时间均处于上升趋势,而可溶性糖含量前后变化不大。淹水胁迫下脯氨酸含量后期未出现下降,可能是淹水胁迫的严重程度还不够,至于脯氨酸含量在淹水中期出现下降的原因还需进一步探究。

参考文献:

- [1] 张阳,李瑞莲,张德胜,等.涝渍对植物影响研究进展[J].作物研究,2011,25(4):420-424.
- [2] 马月花,郭世荣.低氧胁迫对黄瓜幼苗根系呼吸代谢的影响[J].中国蔬菜,2005(2):18-20.
- [3] 张祖新,姜华武,魏中一,等.淹水胁迫下不同耐渍性玉米自交系根系中的酶学研究[J].湖北农业科学,2003(3):24-27.
- [4] 杨宝铭,吕德国,秦嗣军,等.淹水对‘寒富’苹果保护酶系和根系活力的影响[J].沈阳农业大学学报,2007,38(3):291-294.
- [5] 白团辉,马锋旺,束怀瑞,等.苹果砧木幼苗对根际低氧胁迫的生理响应及耐性分析[J].中国农业科学,2008,41(12):4140-4148.
- [6] 李翠英.苹果属砧木资源幼苗的耐低氧性评价及其对低氧胁迫适应的生理机理研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2008.
- [7] 陈强,郭修武,胡艳丽,等.淹水对甜樱桃根系呼吸和糖酵解末端产物的影响[J].园艺学报,2008,35(2):169-174.
- [8] 王嘉艳.涝害对樱桃砧木生理生化特性的影响[D].泰安:山东农业大学,2006.
- [9] 陈强,郭修武,胡艳丽,等.淹水对甜樱桃根系呼吸强度和呼吸酶活性的影响[J].应用生态学报,2008,19(7):1462-1466.
- [10] 高照全,张显川,王小伟.不同水分条件下桃树根系的分形特征[J].天津农业科学,2006,12(3):20-22.
- [11] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [12] 陈建勋,王晓峰.植物生理学实验指导书[M].2版.广州:华南理工大学出版社,2006:120-121.
- [13] Roberts J K, Callis J, Jardetzky O, et al. Cytoplasmic acidosis as a determinant of flooding in tolerance in plants[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81: 6029-6033.
- [14] 胡晓辉,郭世荣,王素平,等.低氧胁迫对黄瓜幼苗根系无氧呼吸酶和抗氧化酶活性的影响[J].武汉植物学研究,2005,23(4):337-341.
- [15] Miskako K, Shinizu S. Chlorophyll metabolism in higher plant. VI. Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation[J]. Plant Cell Physiol, 1985, 26: 291-301.
- [16] 刘华山,孟凡庭,杨青华,等.土壤渍涝对芝麻根系生长及抗氧化酶活性的影响[J].植物生理学通讯,2005,41(1):45-47.
- [17] 杨逞,陈晓燕,杨运英.涝渍逆境对菜心的菜薹的形成与细胞保护系统的影响[J].中国蔬菜,2000(2):7-10.
- [18] 宋桂范,张树权,张艳馥.水淹胁迫玉米幼苗生理变化分析[J].齐齐哈尔大学学报,2007,23(1):116-117.
- [19] 付碧石,李亚男,陈大清.厌氧胁迫下薏苡和玉米中代谢物质和酶类的变化[J].西北农业学报,2006,15(4):136-140.
- [20] Pai Hsiang Su, Tsui Hui Wu, Chin-Ho Lin. Root sugar level in luffa and bitter melon is not referential to their flooding tolerance[J]. Bot Bull Acad Sin, 1998, 39: 175-179.