江西农业大学学报 2011,33(3):0537 -0541 http://xuebao.jxau.edu.cn
Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis E-mail:ndxb7775@sina.com

厚壁毛竹与毛竹的抗寒生理比较研究

李 建,杨清培,方 楷,施建敏,于 芬,杨光耀*

(江西农业大学/江西省竹子种质资源与利用重点实验室 江西 南昌 330045)

摘要:在冬季低温条件下,对厚壁毛竹和毛竹的叶、笋、芽3种器官脯氨酸(PRO)、丙二醛(MDA)含量及其超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性等抗寒生理指标进行了测定和分析。结果表明:厚壁毛竹叶、笋、芽3种器官的脯氨酸(PRO)含量分别为48.73,23.39,48.76 mg/g均高于毛竹,且差异显著;厚壁毛竹的叶、笋、芽3种器官内MDA含量分别为34.98,5.27,4.74 mmol/g(FW)也均高于毛竹,且叶与笋内的含量差异显著;同时,厚壁毛竹3种器官SOD、CAT和POD活性均高于毛竹。最后,隶属函数法综合判定厚壁毛竹抗寒性高于毛竹。

关键词:抗寒生理;厚壁毛竹;毛竹
中图分类号:S795.704 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-2286(2011)03-0537-05

Studies on Physiological Characters of Cold Resistance of *Phyllostachys edulis* 'Pachyloen' and *Phyllostachys edulis*

LI Jian, YANG Qing-pei, FANG Kai,
SHI Jian-min, YU Fen, YANG Guang-yao*

(Jiangxi Provincial Key Laboratory for Bamboo Germplasm Resources and Utilization, JXAU, Nanchang 330045, China)

Abstract: The contents of Proline(PRO), malonaldehyde (MDA) and the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) in leaves, shoots and buds of *Phyllostachys edulis* 'Pachyloen' and *Ph. edulis* were studied in winter. The results showed that the PRO contents in the organs of *Ph. edulis* 'Pachyloen' were 48.73 mg/g, 23.39 mg/g, 48.76 mg/g respectively, significantly higher than those of *Ph. edulis*; MDA contents in the 3 organs of *Ph. edulis* 'Pachyloen' were 34.98 mmol/g(FW), 5.27 mmol/g(FW), 4.74 mmol/g(FW) respectively, also greater than those of *Ph. edulis*. The activities of SOD, CAT and POD in the 3 organs of *Ph. edulis* 'Pachyloen' were also higher than those of *Ph. Edulis*. Subordinate function values indicated that the cold resistance of *Ph. edulis* 'Pachyloen' was stronger than that of *Ph. edulis*.

Key words: cold resistance; *Phyllostachys edulis* 'Pachyloen'; *Phyllostachys edulis*

厚壁毛竹(*Phyllostachys edulis* 'Pachyloen')属于毛竹(*Phyllostachys edulis*)的新栽培变种[1],突出特征为竹壁特厚,胸高处秆壁厚度2.5 cm,是毛竹的1.8倍,且上部近实心,所以是毛竹的诸多变异类型中唯一兼具材、笋两用价值的优良竹种[1-3]。近年有关厚壁毛竹已开展过一系列研究[4-9],对厚壁毛竹

收稿日期:2011-01-29 **修回日期:**2011-04-10
基金项目:国家自然科学基金(30760204)
作者简介:李建(1983—),女,硕士生,主要从事竹类资源利用研究,E-mail:jianli12251225@163.com;* **通讯作者:**杨光耀,教授,博士,E-mail:yanggy2004@126.com。

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的变异性研究和引种推广奠定了基础,为了进一步扩大厚壁毛竹的引种范围,还需进一步对其抗性生理进行研究。

在低温胁迫条件下,植物体内渗透调节物质脯氨酸(PRO)含量、膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)的含量[10]及清除自由基、活性氧的保护酶系超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)的活性都会明显增强,能做为植物抗寒生理指标,其大小反映了植物抗寒性的高低[11-13]。为此,本文选取厚壁毛竹与毛竹叶、笋、芽3种器官对以上物质含量及酶的活性进行了测定,并采用隶属函数法综合评定厚壁毛竹与毛竹的抗寒特性进行了分析,以期为揭示厚壁毛竹的变异性和指导引种区划及竹林培育等提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

2009年1月取自于江西农业大学竹类植物种质园取实验材料。园区概况,北纬28°46′,东经115°49′,海拔49.5 m,属于中亚热带湿润季风气候,年均气温17.5 ℃,极端最高气温40.6 ℃,极端最低气温-9.3 ℃[9]。当月平均气温8 ℃。材料选用无病虫害、生长一致且状况良好的厚壁毛竹(胸径约6.0 cm,竹高约6.0 m)与毛竹(胸径约8.0 cm,竹高约9.0 m)的叶、笋、鞭芽。叶均取自当年生竹的冠层中部,2种竹子的笋、鞭芽大小相当。每一样品均采集3个重复。材料一次性取完,将鲜样装入聚乙烯袋中,立刻带回实验室,用自来水冲洗数遍,再用蒸馏水冲洗3次,最后用吸水纸吸干水分,备用。

1.2 抗性指标测定

脯氨酸(PRO)含量的测定,采用酸性茚三酮法[14];丙二醛(MDA)含量的测定,采用巴比妥酸显色法[14];超氧化物歧化酶(SOD),采用NBT(氮兰四唑)光化还原法[14];过氧化物酶(POD),采用愈创木酚法[14];过氧化氢酶(CAT)采用碘量滴定法[15]。

1.3 抗性评价分析

采用隶属函数法对抗寒生理指标进行综合评定[16],其基本计算方法如下:

$$X(U) = \frac{X - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (1)$$

如果某一指标与抗寒性呈现负相关,则有:

$$X(U) = 1 - \frac{X - X_{\min}}{X_{\max} - X_{\min}} \quad (1)$$

式(1)、式(2)中,X表示某一指标的测定值,$X_{\min}$表示某一指标测定值中的最小值,$X_{\max}$表示某一指标测定值中的最大值。

2 结果与分析

2.1 脯氨酸(PRO)与丙二醛(MDA)含量的分析

厚壁毛竹与毛竹各器官的脯氨酸(PRO)与丙二醛(MDA)含量有明显差异(图1)。

由图1-a可以看出,厚壁毛竹叶、笋、芽的脯氨酸(PRO)含量分别为48.73,23.39,48.76 mg/g,而毛竹分别只有47.23,16.71,41.44 mg/g,前者比后者分别高出3.20%、39.97%、17.67%。经平均数差异显著性检验,厚壁毛竹与毛竹的叶、笋、芽3种器官脯氨酸(PRO)含量差异达到显著水平($P=0.000<0.01$; $P=0.012<0.05$; $P=0.000<0.01$)。厚壁毛竹不同器官间的脯氨酸(PRO)含量,经方差分析,叶与芽之间差异不显著($P=0.776>0.05$),但都明显高于笋($P=0.000$)。

由图1-b可以看出,厚壁毛竹叶、笋、芽的丙二醛(MDA)含量分别为34.98,5.27,4.74 mmol/g(FW),分别是毛竹的2.83倍、1.62倍和1.34倍。经平均数差异显著性检验,厚壁毛竹的叶与笋内丙二醛(MDA)含量显著高于毛竹($P=0.000<0.01$; $P=0.023<0.05$),但芽的差异不显著($P=0.450>0.05$)。说明在低温环境下同一环境生长的厚壁毛竹膜脂过氧化程度较毛竹高。同时,2竹种不同器官间丙二醛(MDA)含量存在明显差异($P=0.000<0.01$),叶的含量明显高于笋、芽,主要原因可能是叶暴露于外界环境中,低温对其影响较为严重。

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

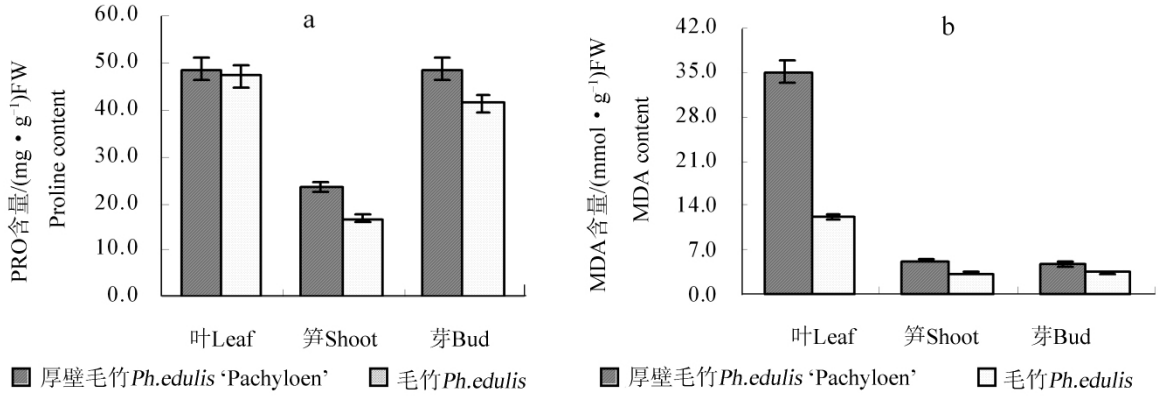

图 1　厚壁毛竹与毛竹各器官的脯氨酸(PRO) (a) 与丙二醛(MDA) (b) 含量

Fig. 1　Contents of PRO and MDA in different organs of *Ph. edulis* 'Pachyloen' and *ph. edulis*

2.2　保护酶活性的分析

厚壁毛竹 3 种器官的超氧化物歧化酶(SOD) 、过氧化氢酶(CAT) 和过氧化物酶(POD) 3 种保护酶的活性都比毛竹高(图 2) 。

由图 2 – a 可以看出,厚壁毛竹叶、笋、芽 SOD 的活性为 4 602.75,1 111.03,1 595.71 U/(g · h) ,而毛竹分别只有 4 178.03,987.01,1 308.03 U/(g · h) ,厚壁毛竹分别比毛竹高 10.17%、12.57% 和 22.00%。但平均数差异显著性检验,厚壁毛竹的叶、笋、芽的脯氨酸 SOD 活性没有表现显著性差异($P = 0.141 > 0.05$; $P = 0.111 > 0.05$; $P = 0.067 > 0.05$) 。

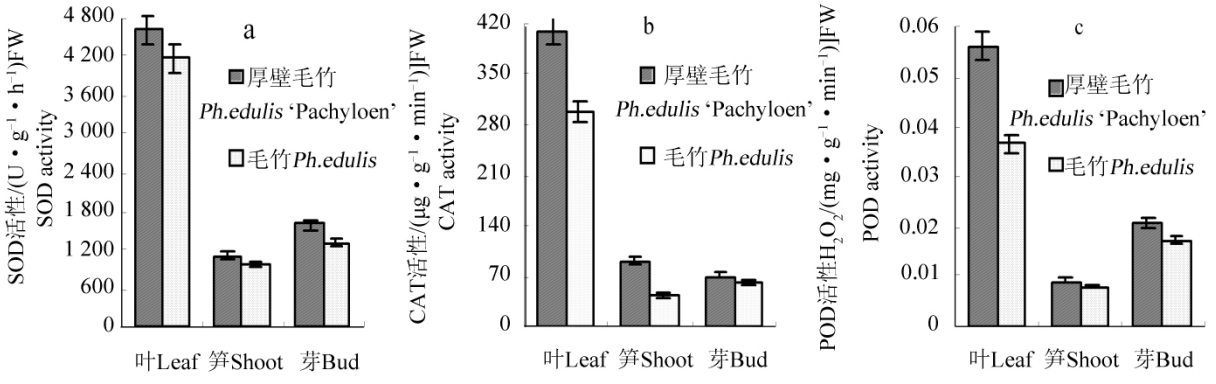

图 2　厚壁毛竹与毛竹不同器官内 SOD(a) 、CAT(b) 、POD(c) 活性的比较

Fig. 2　Activities of SOD(a) 、CAT(b) 、POD(c) in different organs of *Ph. edulis* 'Pachyloen' and *ph. edulis*

由图 2 – b 可以看出,厚壁毛竹叶、笋、芽的 CAT 活性分别为(H_2O_2) 409.72,91.37,70.93 mg/(g · min) ,分别是毛竹的 1.38 倍、2.14 倍、1.16 倍。经平均数差异显著性检验,除芽外($P = 0.790 > 0.05$) ,厚壁毛竹与毛竹的叶、笋的 CAT 活性都表现显著性差异($P = 0.040 < 0.05$; $P = 0.036 < 0.05$; $P = 0.067 > 0.05$) 。

由图 2 – c 可以看出,厚壁毛竹叶、笋、芽的 POD 活性分别为 0.056 3,0.009 2,0.020 5 μg/(g · min) ,分别比毛竹高 52.76%、14.05%、18.14%,3 器官 POD 的活性均高于毛竹。平均数差异显著性检验,除芽外($P = 0.046 < 0.05$) ,厚壁毛竹与毛竹的叶($P = 0.100 > 0.05$) 、笋($P = 0.804$) POD 活性都没表现显著性差异。同时,方差分析表明叶的 SOD、CAT、POD 3 种酶的活性明显高于笋与芽($P > 0.05$) 。

2.3　综合评价

植物受到低温(逆境) 胁迫后,生理代谢过程的变化是错综复杂的,并受多种因素影响,孤立地用某一指标表示这一复杂的生理过程,很难真实地反映植物抗性的本质。因此,应以多个指标为基础的隶属函数法进行综合评判,才能准确地反映实际情况和 2 竹种抗低温胁迫能力的大小[16]。厚壁毛竹与毛竹的各种抗寒性指标进行综合评价,其结果(表 1) 。

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表1 厚壁毛竹与毛竹种各指标的隶属函数值和综合评判结果

Tab.1 Subordinate function value and comprehensive evaluation results of each index of *Ph. edulis* 'Pachyloen' and *ph. edulis*

竹种 Species	生理指标 Physiological indexes					平均值 Mean
	PRO	MDA	SOD	CAT	POD	
厚壁毛竹 *Ph. edulis* 'Pachyloen'	0.689	0.727	0.505	0.556	0.361	0.568
毛竹 *ph. edulis*	0.587	0.652	0.486	0.660	0.243	0.525

由表1可知,除过氧化氢酶(CAT)外,厚壁毛竹的其他抗性生理指标的隶属函数值均高于毛竹,其中厚壁毛竹脯氨酸(PRO)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)分别为0.689、0.727、0.505、0.361,而毛竹则分别为0.587、0.652、0.486、0.243,前者比后者分别高出17.38%、11.50%、3.91%、48.56%。而且厚壁毛竹的5项隶属函数值的平均值(0.568)也比毛竹(0.525)高8.19%。这说明厚壁毛竹抗寒性比毛竹强。

3 结论与讨论

脯氨酸(PRO)作为诱导调节剂与抗寒性关系密切,其含量与植物的抗性呈正相关[17],在逆境条件下脯氨酸(PRO)对植物有保护作用[18]。正常情况下,植物体内的脯氨酸(PRO)含量很低,但遇到逆境时便会大量的积累,以适应逆境环境。在冬季低温条件下,厚壁毛竹叶、笋、芽的脯氨酸(PRO)含量分别为48.73,23.39,48.76 mg/g,而毛竹分别只有47.23,16.71,41.44 mg/g,前者比后者分别高出3.20%、39.97%、17.67%。说明厚壁毛竹的叶、笋、芽能够积累较多的脯氨酸(PRO),其抗性较毛竹强。

当植物处于逆境,细胞内自由基的产生和清除的平衡就遭到破坏,其影响首先表现为膜脂过氧化[19],MDA是其主要产物,含量与植物的抗寒性呈负相关,通过测定其含量就可以反映出植物对逆境条件反映的强弱。本研究结果,厚壁毛竹叶、笋、芽的丙二醛(MDA)含量分别为34.98,5.27,4.74 mmol/g(FW),分别是毛竹的2.83倍、1.62倍和1.34倍,说明厚壁毛竹在低温下膜脂过氧化程度较高,低温打破了细胞内超氧自由基、羟自由基与丙二醛(MDA)的产生与消除间的平衡,造成MDA的积累[20],对其影响显著,抗性较毛竹弱。

超氧化物歧化酶(SOD)是存在于植物细胞中最重要的清除活性氧的酶之一,对保护膜系统的稳定性有重要作用,其活性水平的高底与植物耐性有关,与过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)等组成植物的酶防御系统,在这个系统中SOD能够歧化$O_2 \cdot^-$为O_2和H_2O_2,而POD和CAT则催化H_2O_2形成H_2O,通过SOD、POD和CAT的协同作用,可有效降低氧自由基的积累及阻遏$O_2 \cdot^-$、H_2O_2通过Fenton Haber – Weiss反应[21-22]向破坏极强的·OH转化[23],从而避免或减轻了自由基对生物大分子的降解破坏及对生物膜的损害,使植物的抗逆性提高[24],而高的酶活性对于植物光合作用、呼吸作用的有效进行、消除因低温造成的活性氧积累、膜脂过氧化所产生的MDA及提高抗性具有重要的意义[25],可见,高的保护酶活性对于消除MDA有积极作用,可有效修复受害的植物膜,从而提高植物的抗性。本研究发现厚壁毛竹各保护酶的活性均高于毛竹结果,其中较敏感部位——叶的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)的活性分别高出毛竹10.12%、38.10%、52.76%,笋、芽各酶的活性也比毛竹高。这可能也是厚壁毛竹对环境的适应选择机制。综合各保护酶活性,表明厚壁毛竹各器官的抗性高于毛竹。

植物抗性并不是由单一的指标决定的,而是由各个指标相互影响共同作用的结果。最后,应用隶属函数对两竹种的抗寒特性进行综合评价,厚壁毛竹的隶属函数值高于毛竹,进一步说明厚壁毛竹的抗寒性高于毛竹。但由于样本数量和所选用指标的局限性,两竹种对低温抗性还需要从不同的温度梯度、不同时间尺度上做进一步的综合评价研究。

参考文献:

[1] 杨光耀,刘宜柏,杜天真,等. 毛竹新栽培变种:厚皮毛竹[J]. 江西农业大学学报,1999,19(4):97-98.

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[2] 丁雨龙. 刚竹属 Phyllostachys 系统分类的研究 [D]. 南京: 南京林业大学,1998: 1-18.
[3] 郭起荣. 厚壁毛竹种质性状及其繁育研究 [D]. 长沙: 中南林学院, 2003.
[4] 杜天真,杨光耀,郭起荣,等. 厚皮毛竹春笋营养成分研究 [J]. 江西林业科技,1997(6): 1-2.
[5] 郭起荣,杨光耀,陈伏生,等. 厚壁毛竹纤维形态研究 [J]. 江西农业大学学报,1998,21(2): 223-225.
[6] 蔡登谷. 厚皮毛竹调查初报 [J]. 竹类研究,1983,3(1): 127-128.
[7] 蔡登谷. 厚皮毛竹移栽试验 [J]. 竹类研究,1984,4(2): 120-121.
[8] 郭起荣,杜天真,张露,等. 厚皮毛竹生长特性研究 [J]. 江西林业科技,1997(6): 3-4.
[9] 施建敏,杨光耀,郭起荣. 厚壁毛竹蒸腾动态研究 [J]. 武汉植物学研究,2008,26(4): 397-401.
[10] 李轶冰,杨顺强,任广鑫,等. 低温处理下不同禾本科牧草的生理变化及其抗寒性比较 [J]. 生态学报,2009,29(3): 1341-1347.
[11] 王世珍,蔡庆生,孙菊华,等. 冷锻炼下高羊茅抗冻性的变化与碳水化合物和脯氨酸含量的关系 [J]. 南京农业大学学报: 自然科学版,2003,26(3): 10-13.
[12] 邓雪柯,乔代蓉,李良,等. 低温胁迫对紫花苜蓿生理特性影响的研究 [J]. 四川大学学报: 自然科学版,2005,42(1): 190-194.
[13] 王荣富. 植物抗寒指标的种类及其应用 [J]. 植物生理学通讯,1987(3): 49-55.
[14] 高俊风. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社,2006: 142-231.
[15] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社. 2006: 102-1103.
[16] 田如男. 园林树木抗重金属与低温胁迫能力的研究 [D]. 南京: 南京林业大学,2005: 56-63.
[17] 王娟,李德全. 逆境条件下植物体内渗透调节物质的积累与活性氧代谢 [J]. 植物学通报,2001,18(3): 459-465.
[18] 赵福庚,何龙飞,罗庆云. 植物逆境生理生态学 [M]. 北京: 化学工业出版社. 2004: 193-216.
[19] 简令成,孙龙华,史国顺. 抗寒锻炼中不同抗寒性小麦细胞膜糖蛋白的细胞化学研究 [J]. 实验生物学报,1991,24(3): 249-257.
[20] 际少裕. 膜脂过氧化与植物逆境胁迫 [J]. 植物学通报,1989,6(4): 211-217.
[21] Elstner E F. Oxygen activation and oxygen toxcity [J]. Annual Review of Plant Physiology,1982(33): 73-96.
[22] Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases [J]. Annual Review of Biochemistry,1995,64(1): 97-112.
[23] 蒋明义. 水分胁迫下植物体内的 ·OH 产生与细胞的氧化损害 [J]. 植物学报,1999,41(3): 229-234.
[24] 李勇超,卫秀英,白利杰,等. 低温胁迫对小麦品种过氧化物酶的影响 [J]. 湖北农业科学,2009,48(5): 1067-1069.
[25] 李晓锋,朱玉英,侯瑞贤,等. 夏季高温对大白菜不同发育期生化特性的影响研究 [J]. 上海农业学报,2008,24(1): 36-39.

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net