

杂种马褂木几种生理生化指标的变化规律及其早期选择

余发新^{1,2}, 周华², 孙小艳², 李彦强², 孟伟伟²

(1. 南京林业大学, 江苏 南京 210037; 2. 江西省科学院, 江西 南昌 330029)

摘要: 通过研究赤霉素(GA)、玉米核苷酸(ZR)、吲哚乙酸(IAA)、脱落酸(ABA) 4种激素和过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT) 4种酶以及蛋白质在杂种马褂木不同个体中的变化规律,探索可用于杂种马褂木早期选择的生理生化指标。结果表明,ZR和IAA可以作为杂种马褂木生长量早期预测的首选指标,GA可作为辅助指标,参试酶和蛋白质在本研究中呈不规则变化。

关键词: 杂种马褂木; 生理生化; 早期选择

中图分类号: S791.21; S718.43 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2010)04-0729-06

The Changing Rules of Several Physiological and Biochemical Indexes and Early Selection of *Liriodendron hybrids*

YU Fa-xin^{1,2}, ZHOU Hua², SUN Xiao-yan²,
LI Yan-qiang², MENG Wei-wei²

(1. Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330029, China)

Abstract: By studying the changing rules of four kinds of hormones which include GA, ZR, IAA, ABA, proteins and four kinds of enzymes involving POD, PPO, SOD, CAT, in different plants of *Liriodendron hybrid*, the physiological and biochemical indicators of early selection of *Liriodendron hybrids* were explored. The results showed that, ZR and IAA can be used as a preferred indicator of early prediction of growth indices of *Liriodendron hybrid*, and GA as a supplementary indicator. Tested enzymes and proteins in this experiment had irregular changes.

Key words: *Liriodendron hybrid*; physiological and biochemical; early selection

杂种马褂木 [*Liriodendron chinense* (Hemsl.) Sarg. × *L. tulipifera* Linn.] 为马褂木与北美鹅掌楸的杂交后代, 杂种优势明显, 具有生长快、材质好、抗逆性强、适应性广等优良特性, 是新一代优良观赏及用材树种^[1-4]。但林木常规育种周期长, 制约了该树种的育种进程和推广应用步伐。生理生化指标由于具有快捷、简便、实用的特点在作物早期选择中被广泛采用, 在林木早期选择研究中应用虽然不如作物广泛, 但也取得了不少有益的成果。欧洲赤松、长白落叶松、杨树、杉木等树种生长性状与某些生理生化指标的关系已经被人们所认识^[5-9], 为这些树种杂种优势的鉴定和早期选择提供了有效的方法。但杂种马褂木的早期选择研究还相对薄弱, 叶金山、李周岐、王章荣等^[10-11]进行了杂种马褂木杂种优势的遗传

收稿日期: 2010-03-23 修回日期: 2010-05-20

基金项目: 科技部国际科技合作项目(2005DFA30460)和江西省科技厅重点项目

作者简介: 余发新(1967-), 男, 研究员, 博士生, 主要从事林木育种研究, E-mail: fxyu2000@126.com。

分析,并探讨了杂种优势与内源植物激素的关系,却未能解决杂种马褂木的早期选择问题。本文通过研究杂种马褂木不同长势个体中几种激素及酶、蛋白质的变化规律,探索生长表现与这些生理生化指标的关系,为杂种马褂木早期选择提供理论依据。

1 材料与方

试验材料来自本课题组近年培育的杂种马褂木(树龄3~7年)及江西省林科院内数株成龄大树(树龄约35年),2007年在每个树龄段中各选择长势好的植株和长势差的植株3~5株。5、7、8、9月的每月底取样1次(6月份错过取样时间未取样),取树冠中上层外围叶,东南西北方向各取数片混合,液氮保存后速冻待测。

激素测定:植物激素采用酶联免疫测定法(ELISA,试剂盒及测定方法由中国农业大学农学与生物技术学院提供),测定赤霉素(GA)、玉米素核苷(ZR)、吲哚乙酸(IAA)、脱落酸(ABA)。

激素的提取:每样品各称取0.1g,加2mL提取液[体积分数为80%甲醇,内1mmol/LBHT(二叔丁基对甲苯酚,为抗氧化剂,先用甲醇溶解BHT,再配成体积分数为80%的混合液)],冰浴下研磨成匀浆,摇匀后在4℃下放置4h,离心15min,取上清液记录体积。上清液过C-18固相萃取柱,过柱后的上清液转入5mL塑料离心管中,真空浓缩干燥,定容。酶活性及蛋白质测定:过氧化物酶(POD)活力用比色法测定;多酚氧化酶(PPO)活力用滴定法测定;过氧化氢酶(CAT)采用高锰酸钾测定法;超氧化物歧化酶(SOD)采用邻苯三酚法测定;蛋白质采用考马斯亮蓝法^[12]。

生长量测量:对选定的取样植株于春季和落叶期间各测量1次树高、胸径,计算当年生长量。统计分析采用SPSS15.0软件。

2 结果与分析

2.1 ABA、GA、IAA、ZR 4种激素的变化规律

2.1.1 4种激素含量的月变化规律 4种激素的含量在生长季节的变化呈现一定的规律性。如图1所示,IAA、ZR和ABA含量在9月前基本呈上升趋势,至8月底达到最高,其后缓慢下降。而GA含量的变化不大,基本呈稳定状态。从生长状况看,9月前,树木生长速度基本呈加快状态,随后生长速度下降,这与IAA具有促使细胞伸长、ZR具有增加细胞数量和体积的功能相一致^[13]。

2.1.2 4种激素含量的年变化规律 由于4种激素在8月底前变化趋势基本一致(升高),故采用5、7、8共3个月的均值来研究不同树龄时激素含量的变化,结果见图2。

从图2可以看出,随着树龄的增加,GA含量有降低的趋势,尤其从6龄开始下降趋势更明显,其他3种激素呈不规律变化。但在35龄时,ABA和ZR含量与幼龄时差异巨大,ABA显著下降,ZR显著上升。

2.1.3 不同长势植株激素含量差异分析 从测定数据看,不同长势植株中激素含量存在一定的差异,为了考察这种差异的显著性,以2007年8月30日的测定值作为方差分析数据(因4种激素基本都在8月30日达到最

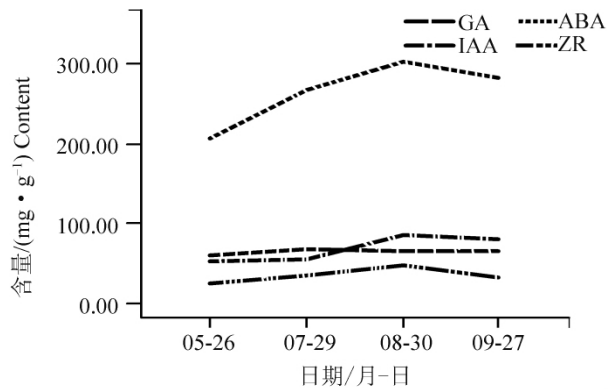


图1 4种激素的月变化规律

Fig. 1 Changing rules of mouths of four kinds of hormones

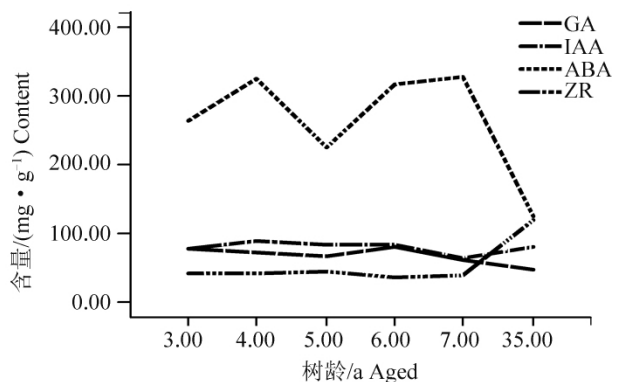


图2 4种激素的年变化规律

Fig. 2 Changing rules of years of four kinds of hormones

高值) ,方差分析结果见表 1。从表 1 可以看出,无论是成龄树还是幼龄树 4 种激素在长势好与长势差的植株中含量差异均达到极显著水平。进一步从含量数据可知,ZR 和 IAA 无论在成龄树还是幼龄树中,长势好的植株其含量均高于长势差的植株,而 ABA 正好相反,即长势好的植株其含量低于长势差的,这与 3 种激素的功能相一致。而 GA 含量在成龄树与幼龄树中的变化规律相反,即在成龄树中长势好的含量低于长势差的,而在幼龄树中长势好的植株其含量高于长势差的,这一现象有待进一步研究。

表 1 长势好与长势差的植株 4 种激素方差分析结果

Tab.1 Table of analysis variance results of four kinds of hormones between well - good plants and bad - growth plants

植株类型 Plant form	激素种类 Kinds of hormone	平方和 Square	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F Value
成龄树 Adult trees	ZR	275.93	1	275.93	2 203.45 **
	ABA	11 977.98	1	11 977.98	818.77 **
	GA	193.15	1	193.15	152.27 **
	IAA	3 890.53	1	3 890.53	3226.17 **
幼龄树 Young trees	ZR	30.71	1	30.71	230.41 **
	ABA	1 330.24	1	1 330.24	92.86 **
	GA	427.50	1	427.50	1 611.74 **
	IAA	3 472.86	1	3 472.86	4 832.17 **

** 指在 0.01 水平上差异显著。

** Indicates significance of difference ($P < 0.01$).

2.2 POD、SOD、PPO、CAT 酶及蛋白质的变化规律

2.2.1 酶及蛋白质含量的月变化规律 PPO 活性在年内变化明显,由 5 月的高点逐步下降到 8 月的最低点,其后又快速上升,基本与树木生长呈负相关关系。其他酶和蛋白质在年内变化不明显(图 3)。

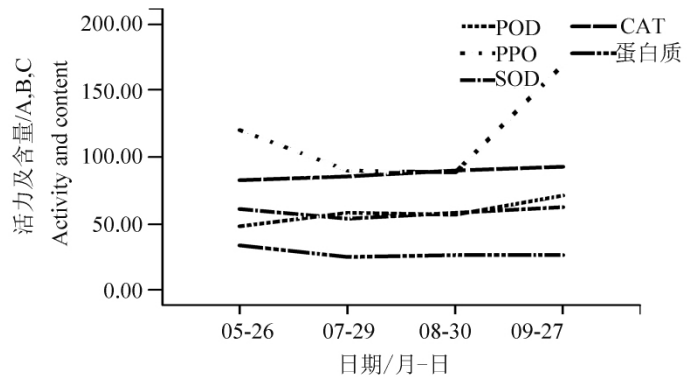
2.2.2 酶及蛋白质的年变化规律 由于缺乏连续多年的测量数据,本研究通过测定不同年龄的植株来研究酶活性和蛋白质含量的年变化,结果见图 4。图 4 表明,幼龄期 POD、SOD 基本呈下降趋势,成龄时急速升高;PPO、CAT 及蛋白质变化不明显。总体上,参试酶和蛋白质在杂种马褂木不同树龄中的活性呈不规则变化。

2.2.3 不同长势植株酶活性和蛋白质含量方差分析 4 种酶及蛋白质数

据在不同长势植株中存在一定差异,方差分析表明(表 2),对成龄树而言 4 种酶的活性在长势好与长势差植株中的差异均不显著,只有蛋白质含量差异达到显著性水平,表现为长势好的植株蛋白质含量低于长势差的;对幼龄树而言,各项参试指标在长势好与长势差植株中差异均不显著。因此,从方差分析结果看,POD、PPO、SOD、CAT 以及蛋白质不能成为杂种马褂木早期选择的依据。

2.3 参试指标与植株生长量的相关分析

为了进一步探索参试指标与植株生长的关系,对二者进行相关分析,以树高和胸径分别为因变量,



图中 POD 值 = 原始值/100, PPO 及 SOD 值 = 原始值/10, 蛋白质值 = 原始值 × 10; A、B 分别代表酶活力单位 $\mu/(g \cdot \min)$ 或 μ/g , C 代表蛋白质含量单位 mg/g 。

POD - Original value/100, PPO and SOD - Original value/10, protein value - original value × 10; A and B mean enzyme active unit $\mu/(g \cdot \min)$ or μ/g , C means unit of protein concentration mg/g .

图 3 4 种酶活性及蛋白质含量月变化规律

Fig.3 Changing rules of mouths of four kinds of enzymes and protein

以各激素、酶及蛋白质为自变量,生长量数据按各树龄长势好与长势差分别计算平均值,树高、胸径各有11组数据(3、4、5、6年和35年各二组数据,7年生植株没有长势差的,只一组数据)激素、酶及蛋白质取4次测定值的平均值,具体数据见表3,相关分析结果见表4。

相关分析表明,树高生长量与ZR含量极显著正相关,相关系数接近0.8,与GA、IAA含量显著相关,与ABA含量及4种酶、蛋白质均相关不显著;胸径生长量与ZR和IAA含量显著相关,与GA和4种酶、蛋白质均相关不显著。从各激素的功能看,ZR属于细胞分裂素,有促进细胞数量和体积增加的作用,IAA属于生长素,可促生

长、促进顶端优势,2种激素在本研究中对杂种马褂木树高、胸径的生长起到促进作用;GA的主要功能是促进节间伸长,故对杂种马褂木高生长有利,而对粗生长效果不明显;ABA促进休眠和衰老,对植株的生长起抑制作用。可见,参试激素自身功能在杂种马褂木的生长表现中得到较好体现。同时,参试的4种酶和蛋白质与树高、胸径生长量的相关性均不显著,这与前述方差分析结果一致。但植物生长、代谢与酶的活性密切相关,本研究结果有待进一步验证。因此,从本研究看,ZR和IAA可以作为杂种马褂木生长量早期预测的主要指标,GA可作为辅助指标。

表2 长势好与长势差植株酶和蛋白质方差分析结果

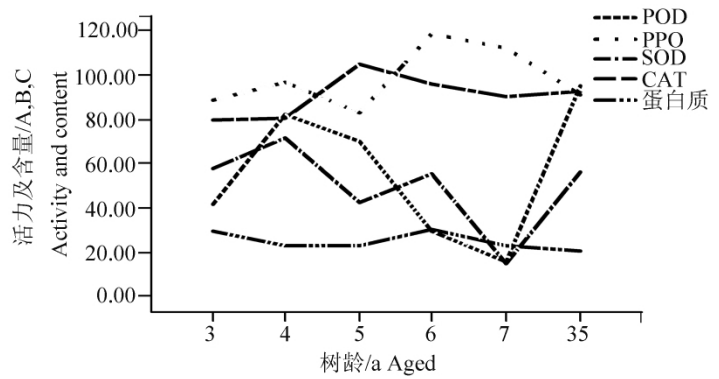
Tab.2 Table of analysis variance results of enzyme and protein between well - good plants and bad - growth plants

植株类型 Plant form	指标 Index	平方和 Square	自由度 df	均方 Mean of square	F值 FValue
成龄树 Adult trees	POD	14 906 624.326	1	14 906 624.326	0.594
	PPO	4 221.723	1	4 221.723	0.041
	SOD	139 471.465	1	139 471.465	6.150
	CAT	116.076	1	116.076	0.359
	蛋白质 Protein	0.755	1	0.755	8.169*
幼龄树 Young trees	SOD	21 451.421	1	21 451.421	0.324
	PPO	828 485.391	1	828 485.391	4.655
	POD	9 895 119.151	1	9 895 119.151	1.163
	CAT	151.747	1	151.747	0.684
	蛋白质 Protein	50 585.369	1	50 585.369	0.599

* 指在0.05水平上差异显著。* Indicates significance of difference (P < 0.05).

3 结论与讨论

林木幼龄期某些生理生化指标与成龄期存在一定的相关性,所以利用生理生化指标对树木生长进行早期选择是可行的^[13-14]。与植物生长相关的生理生化指标主要有以下几种:净光合速率、呼吸强度、蒸腾速率、叶面积指数、激素含量、酶活性、叶绿素含量等,其中激素和酶类由于测定相对简单且直观实用在生长性状的早期选择中研究较多。



图中 POD 值 = 原始值/100, PPO 及 SOD 值 = 原始值/10, 蛋白质值 = 原始值 × 10; A、B 分别代表酶活力单位 μ/(g · min) 或 μ/g, C 代表蛋白质含量单位 mg/g。

POD - Original value/100, PPO and SOD - Original value/10, protein value - Original value × 10; A and B mean enzyme active unit μ/(g · min) or μ/g, C means unit of protein concentration mg/g.

图4 4种酶和蛋白质年变化规律

Fig.4 Changing rules of years of four kinds of enzymes and protein

表3 生长量及各指标均值
Tab.3 Growth amount and mean value of all kinds of indexes

序号 No.	树高/m H	胸径/cm D	ZR	GA	IAA	ABA	POD	PPO	SOD	CAT	蛋白质 Protein
1	1.12	2.1	32.0	52.2	66.3	194.8	9 510.2	914.9	566.6	642.6	2.05
2	0.87	1.2	19.2	57.5	37.5	175.4	6 561.4	964.6	602.2	619.0	2.71
3	1.68	2.11	42.4	73.4	90.9	347.3	8 228.7	971.5	717.3	793.3	2.26
4	1.34	1.09	35.0	58.6	69.2	331.4	8 051.7	1 061.1	436.4	512.4	2.44
5	1.14	2.3	35.9	81.2	81.7	333.2	2 969.4	1 185.7	550.7	626.7	3.03
6	0.99	1.44	29.2	60.8	50.5	227.3	7 218.3	1 221.7	581.1	657.1	2.44
7	2.12	2.58	44.3	82.8	99.2	264.4	4 176.6	887.8	578.6	654.6	2.98
8	1.92	1.82	36.6	76.0	64.2	316.1	2 857.5	1 065.6	684.3	760.3	3.8
9	1.49	2.62	43.3	59.0	88.5	210.4	7 032.6	828.9	427.3	503.3	2.28
10	1.39	2.06	30.7	63.3	49.8	245.6	5 621.8	805.5	409.7	485.7	2.33
11	1.64	2.81	38.3	62.6	67.8	333.6	1 599.7	2 818.6	491.1	567.1	2.12

酶及蛋白质单位: $\mu/(g \cdot \min)^{-1}$ 、 μ/g 、 mg/g 。

Enzyme and protein unit: $\mu/(g \cdot \min)^{-1}$ 、 μ/g 、 mg/g 。

表4 生长量与各指标相关分析结果
Tab.4 Result of correlation analysis of growth amount and all kinds of indexes

	ZR	GA	IAA	ABA	POD	PPO	SOD	CAT	蛋白质 Protein
树高/m H	0.785**	0.615*	0.649*	0.484	-0.436	0.1	0.189	0.277	0.363
胸径/cm D	0.698*	0.353	0.633*	0.178	-0.455	0.353	-0.129	-0.047	-0.143

** 指在 0.01 水平上差异显著, * 指在 0.05 水平上差异显著。

** Indicate significance of difference ($P < 0.01$); * Indicate significance of difference ($P < 0.05$).

与植物生长有关的激素可分为促进型和抑制型两大类,其中生长素、赤霉素和细胞分裂素为促进型激素;脱落酸和乙烯为抑制型激素。与在作物中的广泛应用相比,在林木早期选择研究中涉及的激素种类相对较少,但已有研究都获得了一些有价值的成果。Pharis 等^[15]发现内源 GA 含量与杨树杂种优势密切相关,Wang 等^[5]发现 GA 和 IAA 对欧洲赤松嫩梢纵向和形成层生长起控制作用,GA、CTK 含量及 GA/ABA 之比与不同种源长白落叶松的生长呈显著正相关^[7-8]。在对鹅掌楸属植物的研究中发现,外施赤霉素类植物激素(GAs)能明显促进北美鹅掌楸高生长^[16],杂种马褂木顶芽下第1节间中 GA_{1/3}和 iPA 含量的大量增加可能与高生长性状杂种优势有关,但由于苗高生长量排序与第1节间 GA 1/3 和 iPA 含量排序无一致性,因此不能以此作为杂种优势预测的依据^[10]。本研究选择3种促进型激素即 GA、ZR 和 IAA 以及一种抑制型激素即 ABA 参与试验,结果表明,杂种马褂木长势好的个体其促进型激素含量显著高于长势差的个体,相关分析显示,ZR 和 IAA 含量与杂种马褂木树高、胸径生长量均呈显著正相关,GA 含量与杂种马褂木树高生长量显著正相关,与胸径生长量相关不显著,这一结果与 Nelson T C^[16]对北美鹅掌楸等研究相吻合,因此,利用 ZR 和 IAA 作为杂种马褂木早期选择的首选指标、GA 作为辅助指标具有较好的可靠性。

与植物生长相关的酶很多,但保护性酶对植物生长、衰亡活动的作用更为直接和重要。保护性酶主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、多酚氧化酶(PPO)等。其中,以 SOD、POD、CAT 较为重要,它们协调工作,通过防止细胞内活性氧水平过高来保护植物的正常生命活动^[17]。现有研究对 SOD、POD 与生长的关系研究较多,而对 PPO、CAT 与生长的关系研究较少。SOD 通过提高植物抗氧化逆境能力来促进生长,POD 具有类似 IAA 氧化酶的性质,可以氧化生长素,该酶活性的提高对植物生长不利,PPO 活力与生长的关系还不很肯定,张建华等^[18]发现它与无腺体棉苗生长呈不同程度的正相关,冯玉龙等^[8]研究表明它与长

白落叶松生长呈负相关。CAT 是细胞内产生 H_2O_2 的一种接收器,它在植物细胞内、细胞器内等不同区域之间起着重要的抗氧化防御作用,对植物抗逆、生长有利。有关杂种马褂木生长性状与酶系统的关系研究报道极少,杨秀艳等^[19]探索了 SOD 和 POD 2 种酶与杂种鹅掌楸生长性状的关系,结果表明,SOD 活力与生长性状呈显著正相关,而 POD 活力与生长性状负相关不显著。本研究表明,杂种马褂木长势好的和长势差的个体 4 种酶活性的差异均不显著,相关分析同时显示,杂种马褂木的树高、胸径与这些酶活性亦无显著相关性。这一结果与现有研究有一定出入,是否由采样操作的不完全一致使得酶活力不同程度丧失所造成的结果有待进一步研究。

参考文献:

- [1]季孔庶,王章荣. 鹅掌楸属植物研究进展及其繁育策略[J]. 世界林业研究, 2001, 14(1): 8-13.
- [2]张富云,赵燕. 鹅掌楸属植物研究进展[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(5): 697-700.
- [3]李周岐,王章荣. 鹅掌楸属种间杂交可配性与杂种优势的早期表现[J]. 南京林业大学学报, 2001, 25(2): 34-38.
- [4]王章荣. 中国马褂木遗传资源的保护与杂交育种前景[J]. 林业科技通讯, 1997(9): 8-10.
- [5]Wang Q. Control of longitudinal and cambial growth by gibberellins and indole-3-acetic acid in current-year shoots of *Pinus sylvestris* [J]. Tree Physiol, 1997, 17(1): 715-721.
- [6]刘雅荣,王世绩. 杨树苗木叶硝酸还原酶活力的初步研究[J]. 林业科学研究, 1988, 1(3): 340-343.
- [7]冯玉龙,王文章. 长白落叶松无性系选择生理指标的研究[J]. 林业科学, 2000(专刊): 80-85.
- [8]冯玉龙,姜淑梅. 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): 15-20.
- [9]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.
- [10]Lin Zhou qi Wang Zhang rong. Relationship between heterosin and endogenous plant hormones in *Liriodendron hybrids* [J]. Acta Botanica Sinica, 2002, 44(6): 698-701.
- [11]叶金山,王章荣. 杂种马褂木杂种优势的遗传分析[J]. 林业科学, 2002, 38(4): 67-71.
- [12]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.
- [13]熊文愈. 树木生理与遗传改良[M]. 北京: 中国林业出版社, 1980: 25-54.
- [14]姜磊,杨秀艳. 生理生化指标在林木育种中的应用[J]. 河北林果研究, 2005, 20(3): 76-79.
- [15]Pharis R P. Superior growth potential in trees: What is its basis and can it be tested for at an early age [J]. Can J For Res, 1991, 21: 368-372.
- [16]Nelson T C. Early responses of some southern tree species to gibberellic acid [J]. J For, 1957, 55: 18-520.
- [17]陈云飞,强继业. Γ -射线辐照对植物保护性酶活性和 MDA 含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(10): 2034-2035.
- [18]南芝润,范月仙. 植物过氧化氢酶的研究进展[J]. 安徽农学通报, 2008, 14(5): 27-29.
- [19]杨秀艳,季孔庶. 杂交鹅掌楸苗期超氧化物歧化酶和过氧化物酶的活力变异[J]. 浙江林学院学报, 2005, 22(4): 385-389.