

元江干热河谷毛枝青冈和三叶漆 抗氧化系统季节变化

朱俊杰^{1,2} 曹坤芳^{1*}

(1 中国科学院西双版纳热带植物园,昆明 666303) (2 中国科学院研究生院,北京 100049)

摘 要 为探讨我国西南干热河谷这一严酷生境中植物抗氧化系统对多种胁迫因子的响应机制,以该地区最干热的元江河谷萨王纳植被中光合能力有明显差异的两个优势种——常绿的毛枝青冈(*Cyclobalanopsis helferiana*)和干热季落叶的三叶漆(*Terminthia paniculata*)为材料,研究了其抗氧化系统活性在高温雨季、干凉季和干热季的变化规律。结果表明:从总体上看两树种抗氧化系统在干凉季活性最高,然而,两树种谷胱甘肽转移酶和谷胱甘肽过氧化物酶都在随后的干热季特异表达。两树种主要非酶抗氧化物质——抗坏血酸(ASC)和谷胱甘肽库容量与水-水循环起端酶超氧化物歧化酶(SOD)活性差异不大,但光合速率低的三叶漆水-水循环和抗坏血酸-谷胱甘肽循环其它酶活性显著高于光合强的毛枝青冈。三叶漆抗氧化系统比毛枝青冈启动积极,但后者有更持久的抗氧化能力。与其它逆境中植物相比,两树种有更发达的抗氧化系统,故能始终保持相对低的丙二醛含量。

关键词 干旱 冷害 光氧化 多重胁迫

SEASONAL CHANGES IN THE FOLIAR ANTIOXIDANT SYSTEMS IN *CYCLOBALANOPSIS HELFERIANA* AND *TERMINTHIA PANICULATA* IN THE HOT-DRY VALLEY OF THE YUANJIANG RIVER, CHINA

ZHU Jun-Jie^{1,2} and CAO Kun-Fang^{1*}

¹Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 666303, China, and ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract Aims Hot-dry valleys in southwestern China are adverse habitats. The foliar antioxidant system of plants growing there must play an important role in protecting their photosynthetic apparatus against photo-oxidation. Our aim was to characterize the responses of the antioxidant system to seasonal changes of multiple abiotic stresses in two dominant tree species in the hot-dry valley of the Yuanjiang River, Yunnan.

Methods We chose two savanna species with different photosynthetic rates for study: the evergreen *Cyclobalanopsis helferiana* (oak) and drought-deciduous *Terminthia paniculata* (sumach). We examined changes of the two main antioxidants, ascorbate (ASC) and glutathione contents and the activities of all of the antioxidant enzymes of the water-water and ASC-glutathione cycle in these two species from the hot-rainy season to the chill-dry season and to the warm-dry season.

Important findings Both species showed the highest antioxidant activity in the chill-dry season; however, they had the highest activities of glutathione transferase and glutathione peroxidase in the subsequent warm-dry season. They had similar ASC and glutathione contents and activity of SOD, the initial enzyme of water-water cycle, but sumach displayed higher activities of most antioxidant enzymes in the water-water and ASC-glutathione cycles in all seasons compared to oak. Overall, sumach activated its antioxidant system more actively than oak, yet oak had more persistent antioxidant activity than sumach. Compared with activities of antioxidant systems of plants growing in other adverse conditions, the two study species have stronger antioxidant capacity, which is consistent with their absolutely lower contents of malondialdehyde in all seasons.

收稿日期: 2007-09-10 接受日期: 2008-03-21

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(90302013)和中国科学院重要方向性项目(KSCX2-SW-116)

* 通讯作者 Author for correspondence E-mail: caokf@xtbg.ac.cn

Key words chilling, drought, multiple stresses, photo-oxidation

DOI: 10.3773/j.issn.1005-264x.2008.05.002

萨王纳生态系统覆盖了全球陆地面积的20% (Huner *et al.*, 1998), 是一种极端生境类型。我国西南干热河谷地处热带北缘和亚热带, 其植被是世界萨王纳植被中的河谷残存者, 有重要的研究价值(金振洲和欧晓昆, 2000)。与世界典型萨王纳气候相比, 西南干热河谷地区也有长达半年的干旱, 气候也炎热, 但这里气温年较差更大, 雨季(5~10月)温度高, 如元江河谷8月最高温接近45℃, 这个季节植物要对抗高温、高光强(正午光强 $2\ 300\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)和间隙性缺水的复合胁迫; 干凉季(11月至翌年2月)气温比较低, 1月最低温达5℃左右。热带植物和相当部分亚热带植物由于没有抗低温的遗传基础, 在气温降至0~15℃时其生理活性就会受到明显的影响, 即遭遇所谓冷害(McKersie & Leshem, 1994)。此外, 干热河谷植物在该季还要经受强光(元江河谷正午最高光强可达 $1\ 900\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)和干旱的复合胁迫。在随后的干热季(3~4月), 植物要遭受更严酷的干旱和高光强的复合胁迫。在这些胁迫因子的作用下, 光合碳同化和电子传递受到抑制, 但光能吸收系统受到的影响很小, 于是叶绿体中产生大量剩余能, 促进活性氧(ROS)的形成。ROS积累到一定程度就会伤害甚至杀死植物细胞, 因此能否及时有效地清除过多的ROS是干热河谷植物能否在该地区生存繁衍的关键因素之一。

植物体内的ROS由抗氧化的非酶类物质(如抗坏血酸(ASC)、谷胱甘肽、 α -生育酚等)和抗氧化酶(如超氧化物歧化酶(SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、过氧化氢酶(CAT)等)组成的抗氧化系统清除。水-水循环以及抗坏血酸-谷胱甘肽循环是植物抗氧化系统的主体 (Asada, 1999)。植物抗氧化系统是近30年来的植物生理学热门研究课题(余叔文和汤章城, 1998)。目前, 植物抗氧化生理研究已经深入到分子水平。近年来人们试图通过改变或增加某种抗氧化物质的含量或者增强某种抗氧化酶的活性提高逆境条件下植物的抗氧化能力, 虽然在某些植物上有一些效应(李筠等, 2006; Rossel *et al.*, 2006), 但与预期相反的结果也时有发生(Foyer & Noctor, 2005; Light *et al.*, 2005)。植物的抗氧化功能由一个庞杂的系统来完

成, 改变该系统某类物质含量或者某种酶活性对整个系统的运转是促进还是抑制很难预测。此外, 植物的抗氧化系统的表达还与种的特异性有关, 并受植物生活环境条件的影响, 而植物所处环境条件又往往是复杂多变的, 在一种逆境(如干旱)条件下抗氧化能力增强未必能更好地适应其它逆境(如低温)。因此, 选择不同种类植物在野外自然环境条件下直接观测其抗氧化系统是如何随着环境条件的变化而变化是很有必要的, 这样才能在更广泛的范围内获得对抗氧化系统更直接、更准确的认识。我们研究组对生长在热带北缘西双版纳的3种常绿的热带果树的研究发现, 部分抗氧化酶活性在冷凉季高表达, 抗氧化酶活性越高的植物光合速率也越高, 对低温的抗性就越强(Cao *et al.*, 2006)。目前, 萨王纳生境植物抗氧化系统对环境胁迫的响应国内外都很少报道。本文选择西南地区环境条件相当恶劣的元江干热河谷为试验点, 选取该河谷中光合速率有明显差异的一种优势常绿植物毛枝青冈(*Cyclobalanopsis helferiana*)和干热季落叶的三叶漆(*Terminthia paniculata*)为材料, 较为全面地比较了自然条件下它们抗氧化系统对环境胁迫的季节响应, 验证了如下假说: 植物叶片抗氧化系统的活性除受环境因子的影响外, 还受植物叶片光合碳同化和电子传递速率的影响。

1 材料与方法

1.1 研究地点和材料

元江干热河谷位于云南南部, 跨约23°00'~25°00' N, 100°30'~103°30' E。本文的研究地点选择在元江中游曼旦村河谷, 该地以浅丘为主, 海拔770 m左右, 地势相对平缓, 生长着以耐干旱的热带性灌木和小乔木为主的次生灌丛萨王纳植被, 林下有少数草本。木本植物以干热季落叶的耐干旱灌木, 如三叶漆(*Terminthia paniculata*)、虾子花(*Woodfordia fruticosa*)和余甘子(*Phyllanthus emblica*)等为主, 常绿树很少。草本植物主要是扭黄茅(*Heteropogo contortus*)。测定年度的气温和降水分布和多年的平均情况相似(金振洲和欧晓昆, 2000)(表1)。本文研究的植物种之一三叶漆在该地

分布频率最大, 占木本植物个体总数的40%以上, 树高2~3 m。该种在冷凉旱季有少数植株开始落叶, 在干热季后期开始大量落叶, 但仍然有部分健康叶片存在, 在不太干旱的年份叶片不会落光, 因此可以在一株树上看到跨年度的新老叶并存。另一研究材料毛枝青冈是常绿树, 高2~4 m, 呈斑块状分布。

1.2 叶片相对含水量测定

在研究地点选取4座浅丘, 然后在每座浅丘的丘顶, 丘中部和丘底部共选出三叶漆和毛枝青冈各10~15株作为样木, 分别于2003年雨季后期(10月1日)、干凉季后期(2月1日)和2004年干热季后期(4月1日)每株树外冠层采取3~4片健康叶, 然后把同一个浅丘同一树种的所有叶片混合, 最后每个树种各自得到4个独立的取样单位。用常规方法测定叶片相对含水量。

表1 元江干热河谷2003年1月至2004年3月降水 and 气温变化特征
Table 1 Monthly rainfall and temperature during the study period from January 2003 to March 2004

月/年 Month/year	月降水 Monthly rainfall (mm)	月最低温 Monthly minimum temperature (°C)	月均温度 Monthly mean temperature (°C)	月最高温 Monthly maximum temperature (°C)
01/2003	67.8	6.5	16.1	30.0
02/2003	5.9	9.6	19.1	33.9
03/2003	37.1	12.1	22.5	35.7
04/2003	10.0	16.3	27.3	39.5
05/2003	66.8	20.2	28.9	40.1
06/2003	141.6	22.1	28.2	37.5
07/2003	136.4	23.3	29.3	40.2
08/2003	121.8	22.8	28.4	38.3
09/2003	48.8	18.3	26.5	36.9
10/2003	36.6	17.8	25.6	37.3
11/2003	0	11.1	21.1	32.8
12/2003	11.8	9.2	19.0	29.7
01/2004	19.4	6.4	16.6	30.4
02/2004	7.6	6.7	19.1	35.4
03/2004	5.4	11.1	23.5	38.7

1.3 光合速率和表观电子传递量子效率的测定

分别在2003年雨季后期(10月1~3日), 干凉季后期(2月1~3日)和2004年干热季后期(4月1~3日)晴天9:00~10:30在上述选取样树上用光合测定仪(Li-6400, Li-Cor, 美国)测定叶片最大光合速率。测定光照用该仪器自带光源, 光强设为1 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 测定温度用光合仪温度控制系统将其控制在 25 °C。用叶绿素荧光仪(FMS2, Hansatech, 英国)于测定光合速率的同一叶片上测定其表观电子传递量子效率。

1.4 丙二醛(MDA)含量和超氧阴离子(O_2^-)产生速率测定

按照上述方法采样, 从选取叶中打取叶圆片用铝薄包好放入液氮中, 带回实验室冷藏于-80 °C 超低温冰箱备用。参照Hodges等(1999)改进后的3波长法测定叶片MDA含量。将提取液由95%酒精改为5%三氯乙酸, 这样重复性更好。基于

Elstner和Heupel(1976)提出的羟胺法并加以改进, 测定叶片超氧阴离子产生速率。磺胺浓度用原文献中浓度的2倍。冰醋酸浓度改为10 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。最后萃取时用三氯甲烷取代原文献中正丁醇。

1.5 抗坏血酸(ASC)和谷胱甘肽含量测定

基于ASC在酸性条件和铁离子反应生成红色化合物的原理测定其含量。测定总抗坏血酸时加入 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DTT。显色试剂用分析纯的Bipyridyl就可以得到很好的效果。测定波长固定在510 nm, 实验中很少发现偏离。此外, 用5%磺基水杨酸提取, 谷胱甘肽还原酶法测定谷胱甘肽含量。

1.6 抗氧化酶活性测定

酶提取过程中防止和任何金属材料接触, 不同酶提取液中加入不同的保护物质, 提取液离心转速均为15 000 $\times g$, 2 °C下15 min, 离心2次。所有抗氧化酶类的测定都用分光光度法测定(岛津

2501型分光光度计,日本)。蛋白含量测定参照Bradford (1976)方法。

基于Giannopolitis和Ries (1977)提出的NBT法加以改进测定超氧化物歧化酶(SOD)活性。SOD易于受到一些酸类物质的影响,提取缓冲液pH值上调到7.8, NBT浓度不宜过大。照光光强不超过 $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。反应液以缓慢变蓝为好。基于Aebi(1984)方法测定过氧化氢酶(CAT)活性。测定240 nm波长下过氧化氢减少量。该酶是暗失活酶,提取过程一直要有光。基于Nakano和Asada (1981)方法测定抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性。分别参照Polle等(1994)、Aono等(1991)、Loggini等(1999)、Nakano和Asada(1981)以及Del Carmen Córdoba-Pedregosa等(2003)方法测定过氧化物酶(POX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽转移酶(GT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GP)、脱氢抗坏血酸酶(DHAR)和单脱氢抗坏血酸酶(MDAR)活性。

1.7 数据分析

两个平均数之间的检验用 t 检验,多个平均数之间进行比较时用方差分析。

2 结果

2.1 两树种相对含水量、光合速率、表观电子传递量子效率、MDA含量和超氧产生速率季节变化

毛枝青冈和三叶漆相对含水量随着干旱的加剧逐渐下降,前者各季节相对含水量都低于后者(图1)。两树种都雨季光合速率最高,旱季都显著下降,但毛枝青冈光合速率干热季没有再下降,而三叶漆在干热季进一步下降。毛枝青冈各季节光合速率都显著高于三叶漆。两个种表观电子传递量子效率季节变化趋势和光合速率季节变化趋势相似。两树种MDA含量,超氧产生速率都在雨季最低,低温旱季达最高水平。毛枝青冈MDA含量,超氧产生速率各个季节都比三叶漆高(图1)。

2.2 两树种抗坏血酸和谷胱甘肽含量季节变化

图2反映了毛枝青冈和三叶漆的抗坏血酸库和谷胱甘肽库及库内成分比例的季节变化情况。两树种抗坏血酸库和谷胱甘肽库都在干凉季达到最高值。 dASC/ASC 比值以及还原型谷胱甘肽在总库中的比例也都是在干凉季达最高值。两树种抗坏血酸库和谷胱甘肽库容量差异不大。

2.3 两树种抗氧化酶活性季节变化

两树种都有很高的SOD酶活性,毛枝青冈冷

凉季SOD活性最高,而三叶漆随干旱的加剧SOD活性逐渐增加(图3)。毛枝青冈APX活性在雨季最高,三叶漆在干凉季最高。两树种CAT活性都在干凉季最高,三叶漆雨季和干热季差异不显著,而毛枝青冈雨季值相对低。两树种POX活性也是干凉季最高,雨季和干热季差异不显著(图3)。

毛枝青冈的DHAR活性季节间差异不大,而三叶漆DHAR活性干热季最低。三叶漆DHAR活性各个季节都显著高于毛枝青冈。两树种MDAR活性都在冷凉季达最高值,三叶漆该酶活性各个季节也都显著高于毛枝青冈。两树种MDAR活性各季节都远低于其DHAR活性,并且GR活性都是在干凉季达到最高水平,但是,其GP和GR活性都随着干旱的加剧逐渐增强(图4)。

3 讨论

本文研究结果支持文章前面提出的假说。两个树种的抗氧化系统活性明显受到环境胁迫因子的影响,并且与光合作用息息相关。尽管雨季有相对丰富的降水,但高温和间隙性强辐射以及短暂性缺水致使两树种都产生一定数量的ROS(图1)。另一方面,两树种光合速率和电子传递能力在该季节都处于最佳状态,因此它们的抗氧化系统都只有较低程度的表达,三叶漆抗氧化系统启动比毛枝青冈更积极主动一些(图1~4)。与此相应,两树种雨季MDA含量也最低(图1)。而在干凉季,两树种光合速率和电子传递速率都受到冷害和高辐射以及干旱的复合胁迫而显著下降,三叶漆抗氧化系统较大幅度上调,如GSH和抗坏血酸含量都上升到最高值,除SOD、GT和GP外,其它抗氧化酶活性都在该季上升到最高。毛枝青冈GSH和抗坏血酸含量以及大多数抗氧化酶活性虽然也上升到最高值,但上升幅度远没有三叶漆大,因此最终三叶漆细胞内产生比毛枝青冈少得多的MDA。低温作用下GSH含量和GR活性上调在其它植物中也有报道(Verhoeven *et al.*, 2005)。Kocsy等(2001)认为低温(包括零上和零下低温)条件下, GSH含量和GR活性上升一方面有助于水-水循环中还原型ASC的再生,从而提高植物对低温伤害的抵抗力;另一方面有利于清除低温条件下积累的 H_2O_2 等活性氧物质,从而防止膜系统的过氧化。本文的研究结果支持该论断。通过研究谷胱甘肽库容及成分调节发现:毛枝青冈在雨季和冷

凉季GSSG含量明显高于GSH含量, 落叶树三叶漆任何季节都是GSSG含量高于GSH含量(图2)。两树种特别是落叶树三叶漆的DHAR活性相对GR活性高出很多, 这可能是它们高GSSG含量得以维持的原因之一。

干凉季两树种抗坏血酸库容量(ASC, 换算为重量表示为 $6\ 000\sim 8\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)都很大。我们目前所查阅到的植物ASC最高含量的报道是生长在高光环境中的*Mahonia repens*, 其含量也只有 $5\ 283.9\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ (Grace & Logan, 1996)。抗坏血酸在植物体内有多种重要功能: 一方面在光保护过程中起着重要作用, 主要体现在调节NPQ(热

耗散)和 q_P (光化学淬灭)的强度, 直接调节紫黄质去环化酶的活性从而调节叶黄素循环的强度(Müller-Moulé *et al.*, 2003)。另一方面它是细胞内外重要的抗氧化物质。植物细胞内起抗氧化作用的抗坏血酸需要以还原形式出现。虽然所测的两树种dASC/ASC比值较高, 但ASC的绝对高含量已经足以保证其功能的执行。抗坏血酸可以通过MDAR, 使用dASC为原料及少量的NADPH作为电子供体再生, 或者直接在叶绿体内以FD为电子供体由光还原而再生。抗坏血酸还可以在DHAR的作用下通过和GSH氧化过程偶联而再生。本研究的两树种DHAR活性明显高于MDAR活性, 并

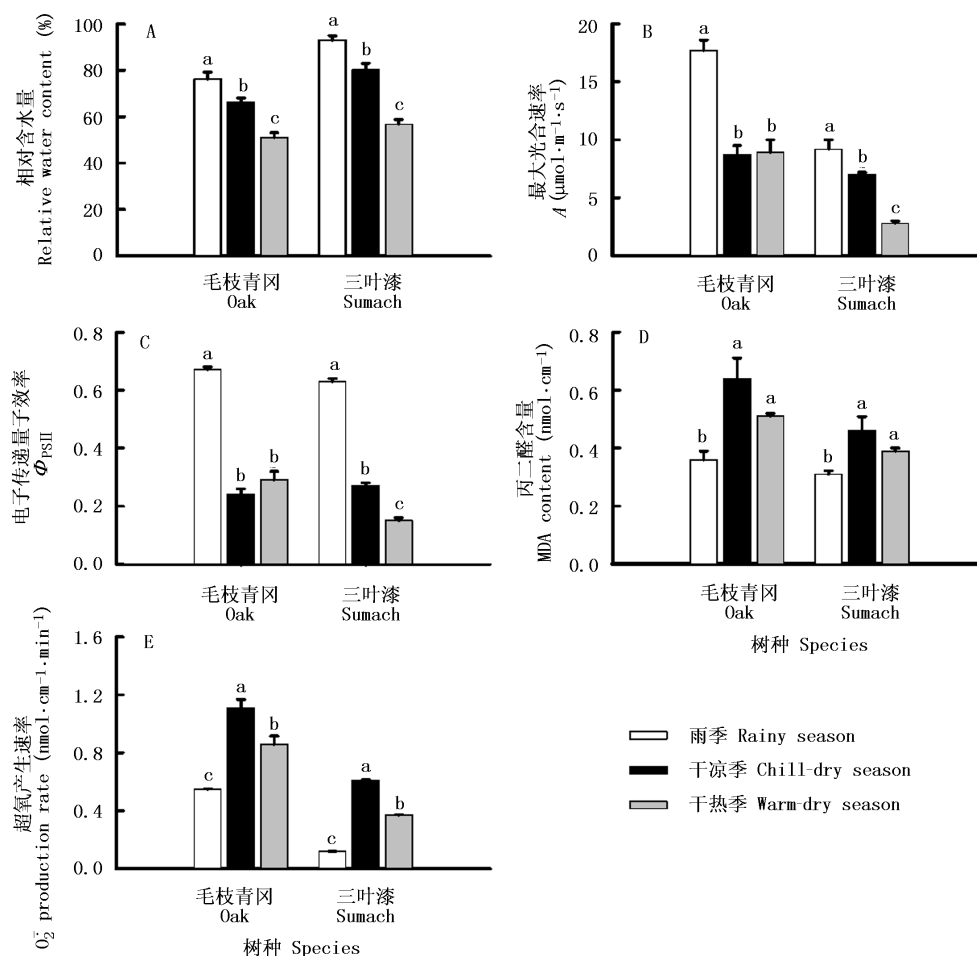


图1 干热河谷毛枝青冈和三叶漆叶片相对含水量、光合速率、电子传递量子效率、丙二醛和超氧产生速率的季节变化

Fig. 1 Seasonal changes of relative water content, CO_2 assimilation rate, quantum yield of photosynthetic electron transport, malondialdehyde (MDA) contents and superoxide (O_2^-) radical production rate in *Cyclobalanopsis helferiana* (oak) and *Terminthia paniculata* (sumach) in the hot-dry valley of Yuanjiang River

图中数据为平均值($n=4$), 柱上方不同字母表示同一树种不同季节间差异显著($p < 0.05$) Means significantly different within each species ($n=4$) were labeled by different letters ($p < 0.05$)

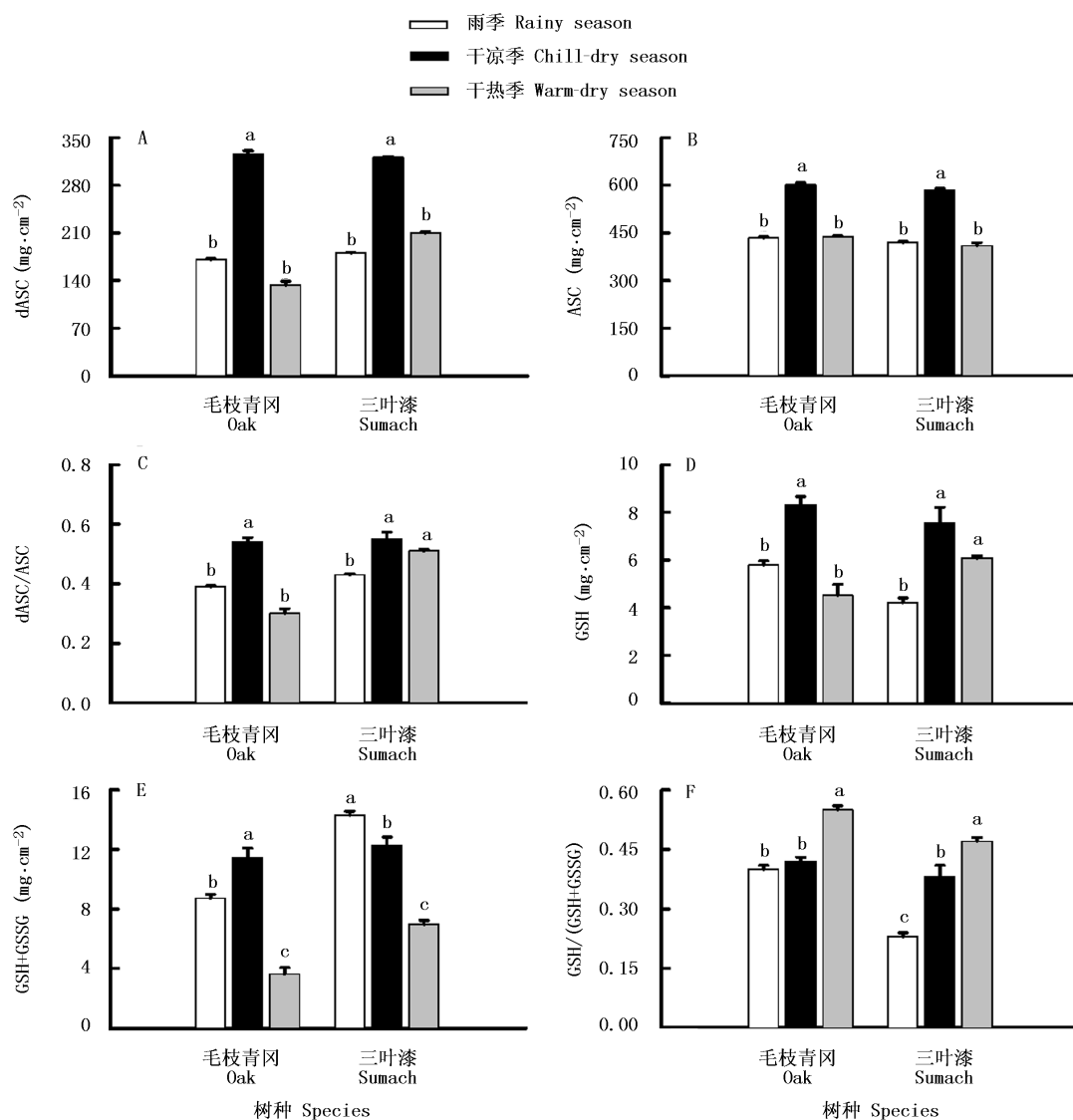


图2 毛枝青冈和三叶漆抗坏血酸(ASC)、脱氢抗坏血酸(dASC)和谷胱甘肽含量(GSSG, 氧化型谷胱甘肽; GSH, 还原型谷胱甘肽)及转换状况的季节变化

Fig. 2 Seasonal changes of ASC, dASC, GSSG and GSH content, dASC/ASC and GSH/(GSH+GSSG) ratio in *Cyclobalanopsis helferiana* (oak) and *Terminthia paniculata* (sumach) in the hot-dry valley of Yuanjiang River
图注同图1 Note see Fig. 1

且ASC和GSH含量有相似的变化趋势, 而dASC含量和APX活性也一直很高, 因此可以认为单脱氢抗坏血酸基主要自发转换成dASC, 后者再由DHAR还原成抗坏血酸。干热河谷植物之所以选择这种ASC的再生方式, 一方面可能是为了和GSH的再生偶联, 另一方面也是逆境胁迫诱导整个抗氧化系统高效运转的结果。

干凉季两树种CAT活性达最高(图3)。CAT是

过氧化物酶体内清除H₂O₂的主要酶类(Gupta *et al.*, 1993)。过氧化物酶体内H₂O₂主要产生于光呼吸过程中甘氨酸的氧化。可能干热河谷植物该季节有比较旺盛光呼吸, 从而增加光系统的能量耗散, 减轻光抑制。两树种POX活性也都在干凉季上升到最高(图3)。低温条件下POX酶活性有上调的报道(Kocsy *et al.*, 2001), 也有相反的报道(Volk & Feierabend, 1989)。POX有多种同工酶, 除了清

除 H_2O_2 外,该酶还有一些重要的生理功能,如木质素的合成,调节细胞呼吸等。因此其活性在植物中有多种表现是不难理解的。

干热季毛枝青冈光合速率没有再下降,而三叶漆光合速率进一步下降。与此相应,毛枝青冈抗氧化系统仍维持相对稳定,而三叶漆抗氧化系统活性出现明显下滑(图2~4)。这是抗氧化系统和光合作用互作的结果。高速率的光合碳同化和电子传递可以消耗叶绿体内部剩余能,减少ROS自由基的生成,抗氧化系统就可以处于较低活性状态。另一方面,抗氧系统及时清除ROS自由基又起到光保护作用,有利于光合机构的正常运转。

SOD是植物抵抗活性氧的第一道防线。本研究发现干热河谷中两树种任何季节都有高活性的SOD,三叶漆干热季活性达到文献报道的该酶最高活性水平 $3\ 500\ \text{U}\cdot\text{g}^{-1}\ \text{FW}$ (Grace & Logan, 1996)。有研究者认为,高活性的GR活性导致高含

量的ASC和GSH,而高含量的GSH诱导高活性SOD酶,高表达的SOD酶引发高活性的APX(Gupta *et al.*, 1993),本文结果支持该结论。

虽然干热季两树种GSH和GSSG含量都明显下降,但GSH下降速率快于GSSG,而该季两树种与谷胱甘肽代谢相关的另外两个酶GT和GP(它们都是以GSH为底物)活性都上升,此时植物体内其它 H_2O_2 清除酶类处于较低活性期(图3,图4),因此这两类酶可能和细胞内其它 H_2O_2 清除酶在不同时期发挥各自的功能。本研究还发现,两个酶活性上升的幅度和GSH含量下降的幅度不成比例。此结果表明该逆境条件下,谷胱甘肽合成和分解的酶类都增强表达,促进了抗氧化系统的运转。

4 结 论

总之,本文研究结果表明,干热河谷两树种

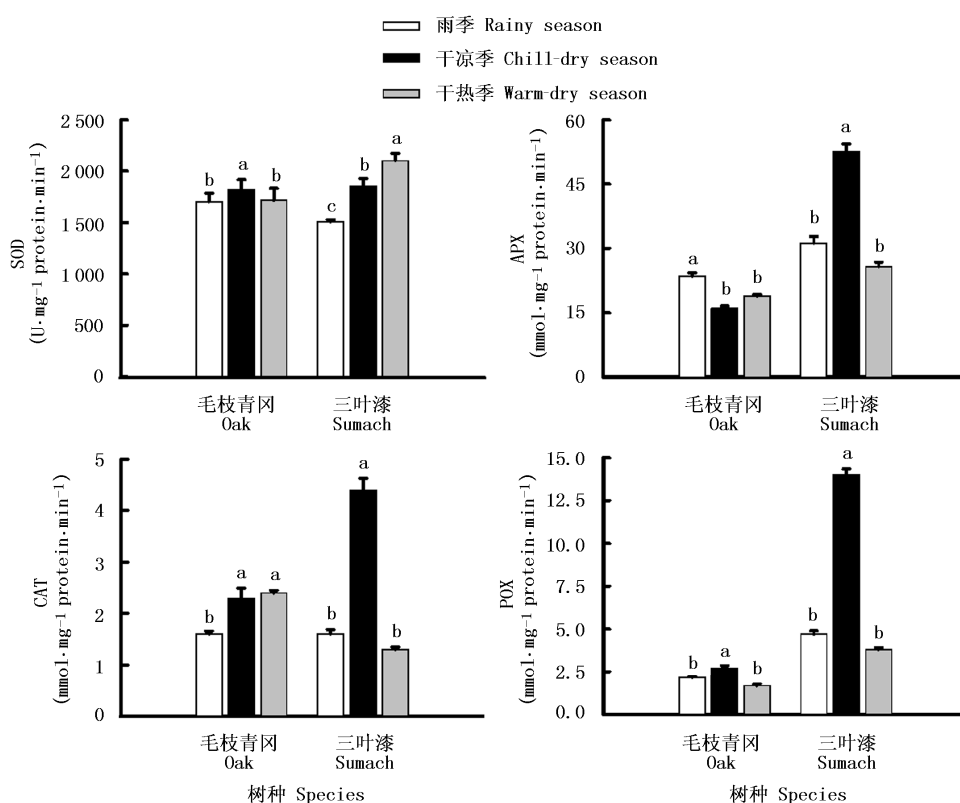


图3 毛枝青冈和三叶漆清除 H_2O_2 主要抗氧化酶的季节变化

Fig. 3 Seasonal changes of SOD, APX, CAT, POX activities in *Cyclobalanopsis helferiana* (oak) and *Terminthia paniculata* (sumach) in the hot-dry valley of Yuanjiang River

图注同图1 Note see Fig. 1

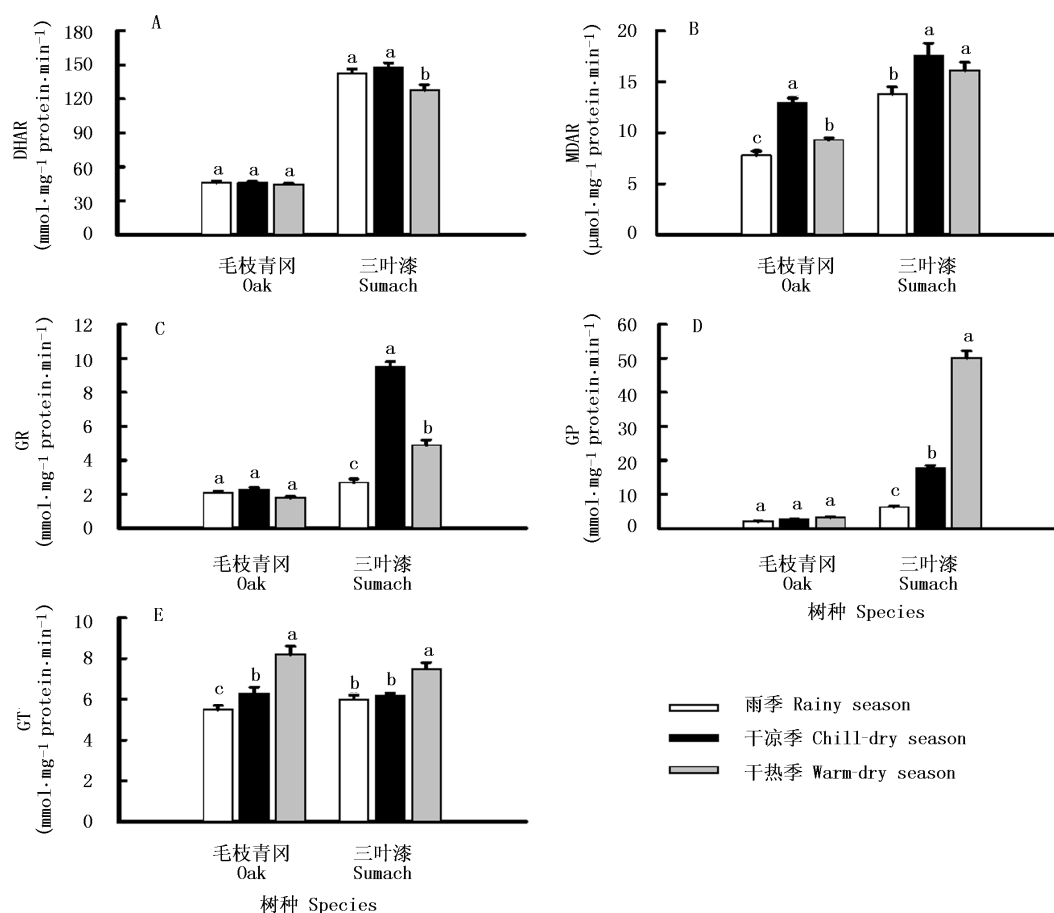


图4 毛枝青冈和三叶漆抗坏血酸和谷胱甘肽代谢抗氧化酶的季节变化

Fig. 4 Seasonal changes of DHAR, MDAR, GR, GP and GT activity in *Cyclobalanopsis helferiana* (oak) and *Terminthia paniculata* (sumach) in the hot-dry valley of Yuanjiang River

图注同图1 Note see Fig. 1

叶片都有发达的抗氧化系统, 并且其活性在干凉季达最高水平, 是对低温敏感的反映。然而, 两树种与谷胱甘肽代谢相关的两个主要酶GT和GP都在干旱后期的干热季达最高活性, 此时落叶树SOD酶活性也进一步增强。两树种叶片的非酶类抗氧化物质的含量各个季节差异不大, 但是落叶树绝大多数抗氧化酶活性在各个季节都比常绿树高得多。落叶树三叶漆光合速率较低, 叶片寿命较短, 故采取了高度警备的抗氧化策略, 而常绿树毛枝青冈采取了相对持久的抗氧化策略。此外, 本文结果还表明, 考察植物抗氧化系统强弱时仅从其抗氧化物质含量或者酶活性绝对值的大小得出结论是片面的, 研究抗氧化系统在各种胁迫因子作用下的稳定性同样重要。

参 考 文 献

- Aebi H (1984). Catalase *in vitro*. *Method in Enzymology*, 105, 121–126.
- Aono M, Kubo A, Saji H, Natori T, Tanaka K, Kondo N (1991). Resistance to active oxygen toxicity of transgenic *Nicotiana tabacum* that expresses the gene for glutathione reductase from *Escherichia coli*. *Plant and Cell Physiology*, 32, 691–697.
- Asada K (1999). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 601–63.
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Cao KF, Guo YH, Cai ZQ (2006). Photosynthesis and anti-

- oxidant enzyme activity in breadfruit, jackfruit and mangosteen in southern Yunnan, China. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 81, 168–172.
- Elstner EF, Heupel A (1976). Inhibition of nitrite formation from hydroxylammoniumchloride: a simple assay for superoxide dismutase. *Analytical Biochemistry*, 70, 616–620.
- Foyer CH, Noctor G (2005). Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell and Environment*, 28, 1056–1071.
- Giannopolitis CN, Ries SK (1977). Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 113, 1193–1201.
- Grace SC, Logan BA (1996). Acclimation of foliar antioxidant systems to growth irradiance in three broad-leaved evergreen species. *Plant Physiology*, 112, 1631–1640.
- Gupta AS, Webb RP, Holaday AS, Allen RD (1993). Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress (induction of ascorbate peroxidase in superoxide dismutase-overexpressing plants). *Plant Physiology*, 103, 1067–1073.
- Hodges DM, DeLong JM, Forney CF, Prange RK (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604–611.
- Huner NPA, Öquist G, Sarhan F (1998). Energy balance and acclimation to light and cold. *Trends in Plant Science*, 3, 224–230.
- Jin ZZ (金振洲), Ou XK (欧晓昆) (2000). *Vegetations in the Hot and Dry Valleys along the Yuanjiang, Nujiang, Jinshajiang, and Lancangjiang Rivers* (元江、怒江、金沙江、澜沧江干热河谷植被). Yunnan University Press, Kunming, 1–297. (in Chinese)
- Kocsy G, Galiba G, Brunold C (2001). Role of glutathione in adaptation and signalling during chilling and cold acclimation in plants. *Physiologia Plantarum*, 113, 158–164.
- Light GG, Mahan JR, Roxas VP, Allen RD (2005). Transgenic cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seedlings expressing a tobacco glutathione s-transferase fail to provide improved stress tolerance. *Planta*, 222, 346–354.
- Li Y (李筠), Deng XP (邓西平), Kwak SS (郭尚洙), Tanaka K (田中净) (2006). Drought tolerance of transgenic sweet potato expressing both Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* (植物生理与分子生物学报), 32, 451–457. (in Chinese with English abstract)
- Loggini B, Scartazza A, Brugnoli E, Navari-Izzo F (1999). Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology*, 119, 1091–1099.
- Del Carmen Córdoba-Pedregosa M, Córdoba F, Villalba JM, González-Reyes JA (2003). Zonal changes in ascorbate and hydrogen peroxide contents, peroxidase, and ascorbate-related enzyme activities in onion roots. *Plant Physiology*, 131, 697–706.
- McKersie BD, Leshem YY (1994). *Stress and Stress Coping in Cultivated Plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Müller-Moulé P, Patricia LC, Niyogi KK (2003). Ascorbate deficiency can limit violaxanthin de-epoxidase activity *in vivo*. *Plant Physiology*, 128, 970–977.
- Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22, 867–880.
- Polle A, Otter T, Seifert F (1994). Apoplastic peroxidases and lignification in needles of norway spruce (*Picea abies* L.). *Plant Physiology*, 106, 53–60.
- Rossel JB, Walter PB, Hendrickson L, Chow WS, Poole A, Mullineaux PM, Pogson BJ (2006). A mutation affecting *ASCORBATE PEROXIDASE 2* gene expression reveals a link between responses to high light and drought tolerance. *Plant, Cell and Environment*, 29, 269–281.
- Verhoeven AS, Annie S, Mai T, John W (2005). Seasonal changes in leaf antioxidant systems and xanthophyll cycle characteristics in *Taxus × media* growing in sun and shade environments. *Physiologia Plantarum*, 123, 428–434.
- Volk S, Feierabend J (1989). Photoinactivation of catalase at low temperature and its relevance to photosynthetic and peroxide metabolism in leaves. *Plant, Cell and Environment*, 12, 701–712.
- Yu SW (余叔文), Tang ZC (汤章城) (1998). *Plant Physiology and Molecular Biology* (植物生理与分子生物学). Science Press, Beijing, 366. (in Chinese)