

长白落叶松几种酶活力及在种源早期选择中的应用

冯玉龙 姜淑梅 王文章 敖 红

(河北大学 保定 071002) (东北林业大学 哈尔滨 150040)

摘 要: 不同季节测定了 8 个种源长白落叶松 4 种酶活力, 分析了它们与生长的关系。结果表明, 生长快的种源过氧化物酶、多酚氧化酶活力弱, 抗坏血酸氧化酶、谷氨酸脱氢酶活力强; 生长慢的种源则相反, 4 种酶活力与长白落叶松的生长速率密切相关。不同季节各种酶活力的聚类分析结果相似, 且与生长性状的聚类分析结果相一致。回归分析表明, 过氧化物酶活力与长白落叶松的生长呈显著负相关, 抗坏血酸氧化酶、谷氨酸脱氢酶活力与长白落叶松的生长呈显著正相关。多酚氧化酶活力与长白落叶松生长的负相关性较低。初步研究表明, 过氧化物酶、多酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶和谷氨酸脱氢酶可成为长白落叶松种源早期选择的生理生化指标。

关键词: 长白落叶松, 种源早期选择, 过氧化物酶, 多酚氧化酶, 抗坏血酸氧化酶, 谷氨酸脱氢酶

ACTIVITY OF VARIOUS KINDS OF ENZYME IN *LARIX OLGENSIS* AND ITS APPLICATION IN EARLY PROVENANCE SELECTON

Feng Yulong Jiang Shumei Wang Wenzhang Ao Hong

(Hebei University Baoding 071002) (Northeast Forestry University Harbin 150040)

Abstract: Activities of 4 kinds of enzyme in *Larix olgensis* were measured in different season, and their relationship with growth were analyzed. The results showed that the activity of peroxidase and polyphenol oxidase were weak, and those of ascorbic acid oxidase and glutamate dehydrogenase were strong in the provenances growing fast; while the situations were opposite in the provenances growing slowly. The activities of 4 kinds of enzyme correlated with growth closely in *L. olgensis*. The results of system clustering with 3 kinds of enzyme activity in different season as variable were similar, and were identical with that with growth properties as variable. Regressive analysis showed that the activities of peroxidase and polyphenol oxidase correlated with growth negatively in *L. olgensis*, while those of ascorbic acid oxidase and glutamate dehydrogenase positively. Preliminary results indicated that the 4 kinds of enzyme maybe become physiology and biochemistry indices of early provenance selection in *L. olgensis*.

Key words: *Larix olgensis*, Early provenance selection, Peroxidase, Polyphenol oxidase, Ascorbic acid oxidase, Glutamate dehydrogenase

早期选择对树木遗传改良有重要意义, 一直受到国内外林学家的重视。树木生长早期选择是可行而有效的(Lambeth, 1980)。研究证明, 长白落叶松种源早期选择是可行的, 也是可靠的(杨书文等, 1991; 佟再康等, 1990)。但以往的研究基本上是从表型性状直接进行选择, 很少涉及生理生化指标与落叶松生长的关系(杨书文等, 1994)。对不同种源长白落叶松进行生理生化研究有助于揭示各种源的生长规律及其差异的内在原因, 可为种源试验和良种选育提供指导。我们在不同季节测定了 8 个种源长白落叶松过氧化物酶等活力, 分析了酶活力与生长的关系, 讨论了它们在种源早期选择中应用的可行性。

收稿日期: 2000-11-09。

基金项目:“八五”国家科技攻关项目《落叶松建筑材、纸浆材良种选育》的部分研究内容。

* 冯玉龙同志现在中国科学院西双版纳热带植物园昆明分部(昆明 650223)。

1 材料与方 法

1.1 试验地自然概况

试验地设在东北林业大学帽儿山实验林场。该场位于黑龙江省尚志市帽儿山镇境内(东经 $127^{\circ}30'$ ~ $127^{\circ}34'$, 北纬 $45^{\circ}21'$ ~ $45^{\circ}25'$), 为长白山系张广才岭西部小岭余脉, 属松嫩平原向张广才岭过渡的低山丘陵地区, 平均海拔 300 m。属大陆性气候, 四季分明, 冬季寒冷干燥, 夏季温暖湿润, 少风多雨, 春季干旱少雨, 秋季温和。本区年平均气温 2.7°C , 年平均最高气温 18°C , 年平均最低气温 -12.1°C , 年有效积温 2636°C , 无霜期 120~140 d, 平均日照率 43%。本地区地带性土壤为暗棕壤(暗棕色森林土或灰棕壤), 非地带性土壤有白浆土、草甸土、沼泽土, 地带性土壤及其亚类分布在 300 m 以上的低山丘陵地带, 非地带性土壤一般分布在海拔 300 m 以下丘陵地带。

1.2 试验材料

本研究所用材料为 8 a 生长白落叶松(*Larix olgensis*) 种源试验林, 各种源的生长性状及采种点见表 1, 生长性状的聚类分析结果见图 1。如以 2.5 为阈值, 8 个种源长白落叶松可被分成 3 类, 种源 7 为生长最好的一类, 种源 2、15 和 10 为生长最差的一类, 种源 6、12、4 和 13 为生长中等的一类。如以 3.5 为阈值, 8 个种源被分成好、坏两类, 种源 7、6、12、4 和 13 为生长快的一类, 种源 2、15 和 10 为生长慢的一类。

表 1 不同种源长白落叶松生长性状及其地理坐标

Tab. 1 Growth properties and geographical coordinates of *L. olgensis* of different provenances

编号 No.	2	4	6	7	10	12	13	15
种源 Provenance	白河	和龙	清川	大海林	敦化	白石山	长白县	帽儿山
纬度 Latitude(N)	$42^{\circ}45'$	$42^{\circ}31'$	—	$44^{\circ}26'$	$43^{\circ}4'$	$43^{\circ}30'$	$41^{\circ}4'$	$45^{\circ}20'$
经度 Longitude(E)	$128^{\circ}15'$	$128^{\circ}58'$	—	$128^{\circ}56'$	$128^{\circ}2'$	$127^{\circ}28'$	$128^{\circ}2'$	$127^{\circ}34'$
树高 Height (m)	204	295	312	347	258	305	274	248
胸径 DBH(cm)	1.35	2.48	2.85	3.35	2.04	2.68	2.30	1.86

1.3 试验方法

每一种源选取长势相近的标准木 5 株, 在树冠中层取当年生枝条数个, 放入底部装有冷冻袋的保温瓶中, 中间及上部放有冰块, 到实验室后, 贮存于 -40°C 低温冰箱中。测定前迅速摘下针叶, 混匀, 称重。测定酶活力时各取样两份, 每样做两个重复, 最后取 4 个值的平均数。所有操作尽可能在冰浴中进行。

过氧化物酶活力用比色法测定(朱广廉等, 1990), 以光密度值变化 $0.001 \cdot \text{min}^{-1}$ 为 1 个酶活力单位(U), 测定结果以 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ 表示。多酚氧化酶和抗坏血酸氧化酶活力用滴定法测定(阮宇成等, 1983), 酶活力以单位时间、单位重量鲜叶消耗抗坏血酸量表示($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)。谷氨酸脱氢酶活力用分光光度法测定(黄维南, 1985), 单位同过氧化物酶活力。

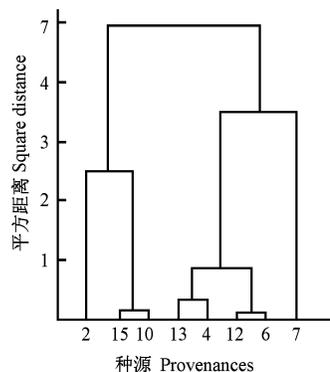


图 1 长白落叶松生长性状指标种源系统聚类图

Fig. 1 Chart of system clustering analysis for indices of growth properties in *L. olgensis*

2 结果与分析

2.1 不同种源长白落叶松过氧化物酶活力及与生长的关系

不同月份长白落叶松过氧化物酶活力不同(图 2)。7 月中旬长白落叶松过氧化物酶活力最低, 8 个种源的平均酶活力为 $28.4 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。8 月中旬长白落叶松过氧化物酶活力升高, 8 个种源平均酶活力为 $39.3 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。9 月中旬长白落叶松过氧化物酶活力最高, 8 个种源的平均酶活力为 $201.9 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, 分别为 7、8 月份酶活力的 7.1 和 5.1 倍。

7 月中旬为长白落叶松的速生期, 8 月中旬长白落叶松生长减慢, 9 月中旬长白落叶松木质化过程加强, 生长已基本停止。长白落叶松生长的季节变化与过氧化物酶活力的季节变化密切相关, 速生期过氧化物酶活力最低, 生长末期过氧化物酶活力最高。过氧化物酶对长白落叶松的生长有抑制作用。

不同种源长白落叶松过氧化物酶活力亦不同(图 2)。各月份均以种源 13 的过氧化物酶活力最强, 种源 2 次之, 之后依次为种源 15、10、4、12、6 和 7。各种源过氧化物酶活力由高到低的顺序与生长由快到慢的顺序(表 1)恰好相反(种源 13 除外), 过氧化物酶活力高的种源生长慢, 过氧化物酶活力低的种源生长快。从长白落叶松过氧化物酶活力的季节变化及其在各种源间的变化看, 过氧化物酶活力与不同种源长白落叶松的生长呈负相关。

以 7、8 和 9 月份过氧化物酶活力为自变量, 进行系统聚类, 把 7 个种源长白落叶松分成两类(图 3)。种源 2、10 和 15 为一类; 种源 6、12、4 和 7 为另一类。这一结果与按树木生长性状为变量的分类结果(图 1)完全相同, 表明过氧化物酶活力与长白落叶松的生长密切相关。

为定量确定长白落叶松树高、胸径与过氧化物酶活力的关系, 以树高、胸径为因变量, 以各月份过氧化物酶活力为自变量, 进行了回归分析。结果表明, 过氧化物酶活力与长白落叶松的树高、胸径呈显著负相关(表 2)。

表 2 长白落叶松树高(H , cm)和胸径(DBH , cm)与过氧化物酶活力(POD)的关系

Tab. 2 Relationship between height (H , cm) or DBH (cm) and poroxidase activity (POD) in *L. olgensis*

时间(月-日) Time(Month- date)	回归方程 Regressive equation	回归系数 r
07- 20	$H = 324. 2987 - 2. 9138 \cdot POD$	- 0. 9299
	$DBH = 2. 799 - 0. 0320 \cdot POD$	- 0. 8491
08- 12	$H = 328. 6465 - 2. 1472 \cdot POD$	- 0. 9641
	$DBH = 3. 0324 - 0. 0299 \cdot POD$	- 0. 9527
09- 17	$H = 346. 3669 - 0. 4524 \cdot POD$	- 0. 9039
	$DBH = 3. 3166 - 0. 0066 \cdot POD$	- 0. 9301

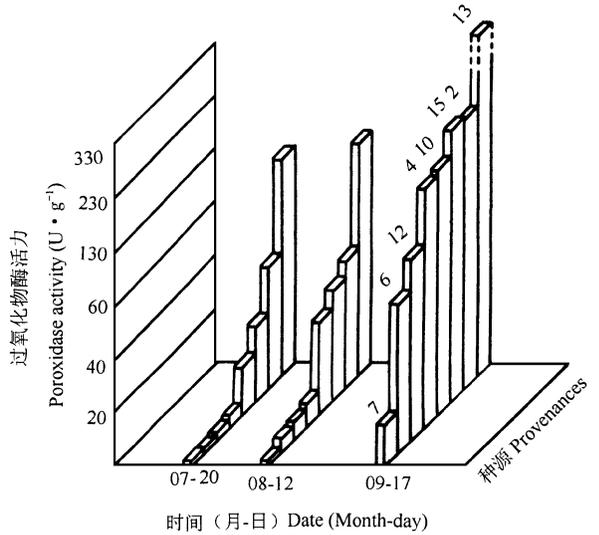


图 2 长白落叶松过氧化物酶活力

Fig. 2 Poroxidase activity of conifer in *L. olgensis*

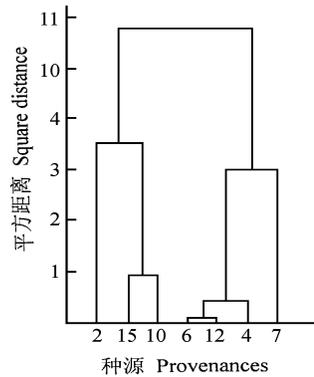


图 3 长白落叶松过氧化物酶指标种源系统聚类

Fig. 3 Chart of system clustering analysis for indices of poroxidase in *L. olgensis*

2.2 不同种源长白落叶松抗坏血酸氧化酶活力及与生长的关系

不同月份长白落叶松抗坏血酸氧化酶活力不同(图4)。抗坏血酸氧化酶活力较弱的种源,如种源2和10,7月份酶活力最强,8月份次之,9月份酶活力最弱。抗坏血酸氧化酶活力较强的种源,如种源7、6、12和4,8月份酶活力最强,7月份次之,9月份酶活力最弱。7、8和9月份8个种源的平均抗坏血酸氧化酶活力分别为1353、1284和1134 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ 。抗坏血酸氧化酶活力的季节变化与长白落叶松生长的季节变化相一致,表明二者有一定的关系。

不同种源长白落叶松抗坏血酸氧化酶活力不同,且与生长性状密切相关。7、8月份种源7的抗坏血酸氧化酶活力最强,种源6次之,之后依次为种源12、4、15、13、10和2。9月份种源15的抗坏血酸氧化酶活力最强,种源7次之,之后依次为种源6、12、4、13、2和10。不同种源长白落叶松7、8和9三个月的平均抗坏血酸氧化酶活力,种源7最强,为2963 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$,种源15次之,之后依次为种源6、12、4、13、10和2。抗坏血酸氧化酶活力强弱顺序与不同种源长白落叶松生长的快慢顺序基本相同,即酶活力强的种源生长快,酶活力弱的种源生长慢。

以7、8和9月份抗坏血酸氧化酶活力为变量,进行系统聚类(图5),把8个种源长白落叶松分成4类,种源2和10为一类,种源6、12、4和13为一类,种源15为一类,种源7为一类。这一分类结果与依据生长性状所做的分类结果基本相似。如以2.5为阈值,依据树高、胸径可把8个种源分成3类,种源10、15和2为一类,种源6、12、4和13为一类,种源7为一类。两种分类结果的唯一差异是种源15,其抗坏血酸氧化酶活力较高。回归分析结果表明,抗坏血酸氧化酶活力与8个种源长白落叶松的树高、胸径呈正相关(表3),7、8月份相关性较大,9月份相关性较小。

表3 长白落叶松对高(H, cm)和胸径(DBH, cm)与抗坏血酸氧化酶活力(AOD)的关系

Tab. 3 Relationship between height (H, cm) or DBH (cm) and ascorbic acid oxidase activity (AOD) in *L. olgensis*

时间(月-日) Time(Month- date)	回归方程 Regressive equation	回归系数 r
07- 20	$H = 205.7201 + 0.0552 \cdot AOD$	0.8364
	$DBH = 1.2850 + 0.0008 \cdot AOD$	0.8583
08- 12	$H = 231.7174 + 0.0329 \cdot AOD$	0.8668
	$DBH = 1.6688 + 0.0005 \cdot AOD$	0.8792
09- 17	$H = 255.8311 + 0.0217 \cdot AOD$	0.5298
	$DBH = 2.0337 + 0.0003 \cdot AOD$	0.5105

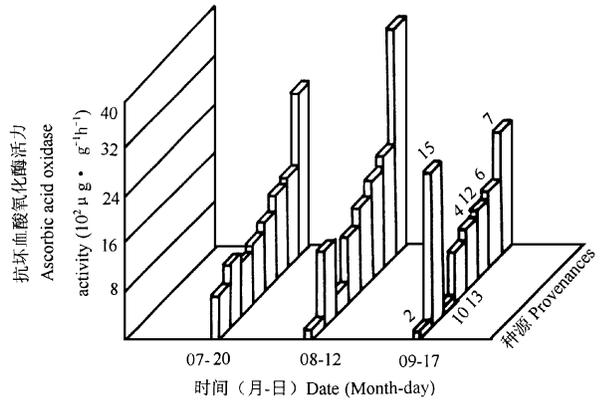


图4 长白落叶松抗坏血酸氧化酶活力

Fig. 4 Ascorbic acid oxidase activity of conifer in *L. olgensis*

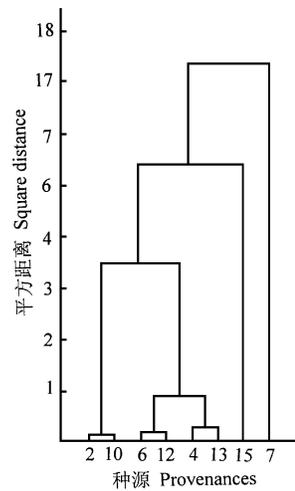


图5 长白落叶松抗坏血酸氧化酶指标种源系统聚类

Fig. 5 Chart of system clustering analysis for indices of ascorbic acid oxidase activity in *L. olgensis*

2.3 不同种源长白落叶松谷氨酸脱氢酶活力及与生长的关系

不同季节长白落叶松谷氨酸脱氢酶活力不同(图 6)。9 月份谷氨酸脱氢酶活力最强, 8 个种源的平均酶活力为 $21.8 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, 8 月份次之, 为 $19.5 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, 7 月份酶活力最弱, 为 $15.9 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。不同季节长白落叶松谷氨酸脱氢酶活力的变化与氨基酸含量的变化¹⁾相一致, 此酶活力强的季节, 针叶中可溶性氨基酸含量高, 此酶活力弱的季节, 针叶中可溶性氨基酸含量低。这说明谷氨酸脱氢酶在氨基酸合成中确有作用。

不同种源长白落叶松谷氨酸脱氢酶活力不同(图 6)。7 月份种源 15 谷氨酸脱氢酶活力最强, 种源 2 和 10 酶活力最弱。8、9 月份种源 6 谷氨酸脱氢酶活力最强, 种源 7 次之, 种源 2 的酶活力最弱。以 3 个月的平均酶活力计, 种源 6 酶活力最强, 种源 7 次之, 分别为 25.7 和 $22.9 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, 种源 2 酶活力最弱, 分别为种源 6 和 7 的 55% 和 62%。把不同种源长白落叶松谷氨酸脱氢酶活力与其生长性状相比较, 可以发现此酶活力强的种源, 如种源 6 和 7, 生长快, 此酶活力弱的种源, 如种源 2 和 10, 生长慢, 二者密切相关。

以 3 个月份谷氨酸脱氢酶活力为变量进行系统聚类分析, 把 8 个种源长白落叶松分成 3 类(图 7), 与以树高、胸径为变量的分类结果相似, 亦证明谷氨酸脱氢酶活力与长白落叶松生长密切相关。回归分析结果表明, 谷氨酸脱氢酶活力与 8 个种源长白落叶松的生长呈正相关(表 4), 8、9 月份二者相关性较强, 7 月份二者相关性较弱。

表 4 长白落叶松树高(H , cm)和胸径(DBH , cm)与谷氨酸脱氢酶活力(GDH)的关系

Tab 4 Relationship between height (H , cm) or DBH (cm) and glutamate dehydrogenase activity (GDH) in *L. olgensis*

时间(月-日) Time(Month-date)	回归方程 Regressive equation	回归系数 r
07- 20	$H = 156.6187 + 7.7712 \cdot GDH$	0.6243
	$DBH = 0.7850 + 0.0991 \cdot GDH$	0.5844
08- 12	$H = 157.7281 + 6.2060 \cdot GDH$	0.7150
	$DBH = 0.5637 + 0.0911 \cdot GDH$	0.7452
09- 17	$H = 184.2927 + 4.4176 \cdot GDH$	0.7839
	$DBH = 0.9843 + 0.0634 \cdot GDH$	0.7992

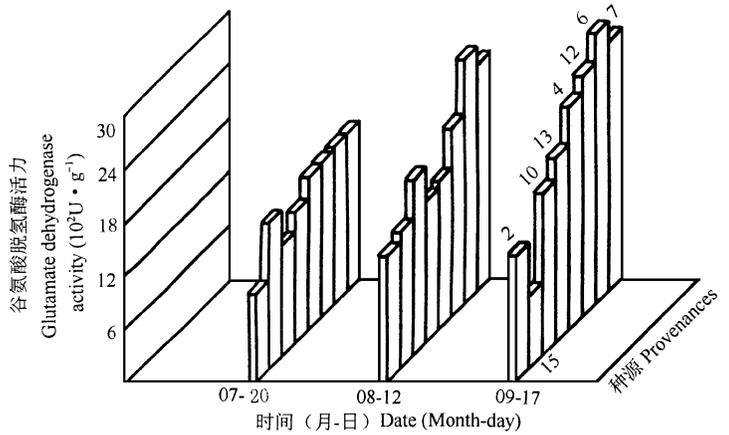


图 6 长白落叶松谷氨酸脱氢酶活力

Fig. 6 Glutamate dehydrogenase activity of conifer in *L. olgensis*

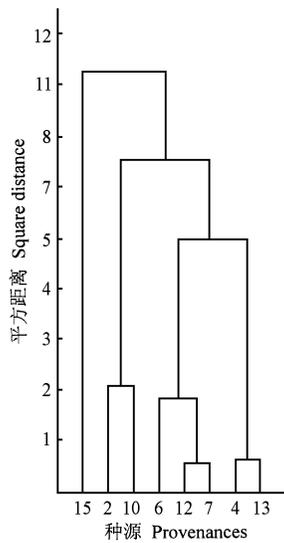


图 7 长白落叶松谷氨酸脱氢酶活力指标种源系统聚类

Fig. 7 Chart of system clustering analysis for indices of glutamate dehydrogenase activity in *L. olgensis*

1) 冯玉龙. 长白落叶松生态生理和生理生化特性及与生长的关系. 东北林业大学博士学位论文, 1996: 108.

2.4 不同种源长白落叶松多酚氧化酶活力及与生长的关系

不同种源长白落叶松多酚氧化酶活力不同(图8)。生长快的种源,如种源7和6,多酚氧化酶活力弱;生长慢的种源,如种源2和15,多酚氧化酶活力强。总的看来,多酚氧化酶活力与不同种源长白落叶松的生长呈负相关,但与其与生长的相关程度要低于其它3种酶。

3 讨论和结论

过氧化物酶广泛存在于各种植物组织中,其同工酶种类很多,在控制细胞代谢方面有重要作用。过氧化物酶活力与生长的负相关性已在多种植物上得到证实(王同坤,1993;张建华等,1991;Polle *et al.*, 1993),它对生长的抑制作用与其对吲哚乙酸的破坏有关。过氧化物酶活力做为一个生理指标用于树木早期选择亦有报道(Gordon, 1971; Wolter *et al.*, 1975)。

多酚氧化酶是含铜的酶,它在正常呼吸中并不很重要,它可能与木质素及一些与酚类有关的物质合成有关。多酚氧化酶活力与生长的关系还不很肯定,张建华等(1991)发现它与无腺体棉苗生长呈不同程度的正相关,Gonzalez 等(1991)证实多酚氧化酶活力与欧洲榛子生长呈负相关。

抗坏血酸氧化酶广泛存在于植物组织中,通过含-SH成分的谷胱甘肽,与某些脱氢酶联结起来,在产生供细胞合成用的氧化态中间产物时,如糖氧化成酸,或氨基酸脱羧等,这是很重要的。谷氨酸脱氢酶存在于所有生物体中,尽管有人对其在氨同化中的作用提出过疑问,但人们仍认为在植物体内,氨基酸主要是通过氨基化作用和转氨作用合成的。本研究也从一个侧面证明了谷氨酸脱氢酶在氨基酸合成中的作用。抗坏血酸氧化酶和谷氨酸脱氢酶活力与生长的关系尚未见报道。

本研究结果表明,过氧化物酶、多酚氧化酶活力与不同种源长白落叶松生长呈负相关,谷氨酸脱氢酶、抗坏血酸氧化酶活力与不同种源长白落叶松生长呈正相关。可以把这4种酶活力做为生理生化指标用于长白落叶松种源的早期选择。

参 考 文 献

- 冯玉龙,刘利刚,金钟跃等. 长白落叶松水曲柳混交林增产机理的研究(1). 东北林业大学学报, 1995, 23(2): 8~ 13
- 黄维南. 谷氨酸脱氢酶的提取和测定. 见: 薛应龙. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985, 222~ 223
- 阮宇成, 李名君. 茶树生理及茶叶生化实验手册. 北京: 农业出版社, 1983: 101~ 110
- 佟再康, 常顺国, 艾正明等. 长白落叶松早期选择研究. 东北林业大学学报, 1990, 18(5): 7~ 13
- 王同坤. 板栗叶片过氧化物酶活性与树木生长发育的关系. 华北农学报, 1993, 8(1): 52~ 55
- 杨书文, 杨传平, 夏德安等. 帽儿山地区长白落叶松种源选择的研究. 东北林业大学学报, 1991, 19(育种专刊): 38~ 45
- 杨书文, 王秋玉, 夏德安. 落叶松的遗传改良. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1994: 318~ 338
- 张建华, 沈仍愚, 陈铭获等. 无腺体棉苗的几种酶活力与长势的关系. 植物生理学通讯, 1991, 27(5): 343~ 346
- 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学实验. 北京: 北京大学出版社, 1990
- Gonzalez A, Ricardo S T S, Roberto R. Ethylene in relation to protein, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rooting in hazelnut cotyledons. *Physiol Plant*, 1991, 83(4): 611~ 620
- Gordon J C. Change in total nitrogen, soluble protein and peroxidase in the expanding leaf of eastern cottonwood. *Plant Physiol*, 1971, 47: 595~ 599
- Lambeth C C. Juvenile-mature correlation in pinaceae and implication for early selection. *Forest Sci*, 1980, 26(4): 571~ 580
- Polle A, Glave V. Seasonal changes in the axial distribution of peroxidase activity in the xylem sap of beech (*Fagus sylvatica* L.) trees. *Tree Physiol*, 1993, 13(4): 409~ 413
- Wolter K E, Gordon J C. Peroxidases as indication of growth and differentiation in aspen callus cultures. *Physiol Plant*, 1975, 33: 219~ 223

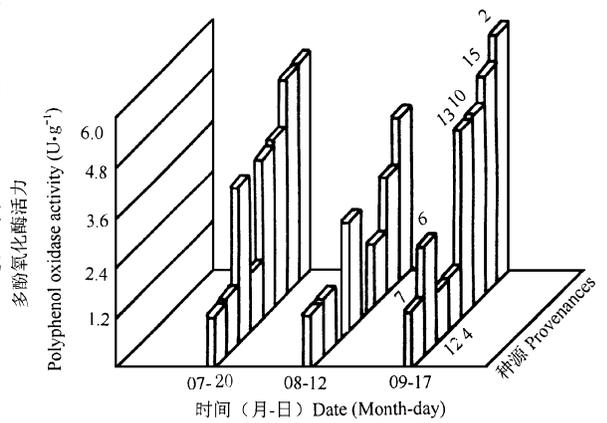


图8 长白落叶松多酚氧化酶活力

Fig. 8 Polyphenol oxidase activity of conifer in *L. olgensis*