温度对六种外来杂草过氧化物酶同工酶谱的影响

郭水良1,2,毛郁薷1,强 胜2

(1. 浙江师范大学生命与环境科学学院,浙江金华 321004; 2. 南京农业大学杂草研究室,江苏南京 210095)

摘 要:应用聚丙烯酰胺垂直板凝胶电泳,比较了加拿大一枝黄花(Solidago canadensis)、小飞蓬(Conyza canadensis)、野塘蒿(Conyza bonarinsis)、钻形紫菀(Aster sublatus)、一年蓬(Erigeron annuus)和马缨丹(Lantana camara)等6种外来杂草在38、25、5°C处理60h后的过氧化物酶同工酶谱差异,分析了酶谱差异与对温度适应的关系。结果表明,温度变化对一年蓬、小飞蓬、钻形紫菀过氧化物酶同工酶谱的影响相对较小,野塘蒿通过增加酶带、调整同工酶的组成来适应温度的变化,反映出这4种杂草对温度变化具有较强的适应能力;加拿大一枝黄花表现出对高温的适应能力较弱,对低温适应性较强,马缨丹对温度变化表现出相反的适应特点。

关键词:外来杂草;温度;过氧化物酶同工酶谱

中图分类号: Q944.54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2002)06-0557-06

Influences of temperature on peroxidase isozymograms of six exotic weeds

GUO Shui-liang^{1,2}, MAO Yu-ru¹, QIANG Sheng²

(1. College of Life and Environmental Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China; 2. Weed Research Laboratory, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: By polyacyacrylamide gel electrophoresis, peroxidase isozymes of six exotic weeds including Solidago canadensis, Conyza canadensis, Conyza bonarinsis, Aster sublatus, Erigeron annuus and Lantana camara were surveyed for 60 h under 5 °C,25 °C and 38 °C. The variance of POD isozymograms of the six exotic weeds under different temperatures and their adaptation to temperature were analyzed. The results showed: (1) No obvious changes of POD isozymograms were found in Erigeron annuus, Conyza canadensis and Aster sublatus when temperature changed, Conyza bonarinsis could adapt itself to the changes of temperature by the addition of its POD isozymic bands, these four exotic weeds had broader niche of temperature; (2) Solidago canadensis could not endure to higher temperature, while Lantana camara to lower temperature on the basis of their POD isozymograms under 38 °C and 5 °C temperatures.

Key words: exotic weeds; temperature; peroxidase isozymogram

外来植物引入或入侵,已对农林渔牧业产生了惊人的直接经济损失,它们引起的生态系统平衡改变、生物多样性丧失、对农业环境的破坏而造成的间接损失更是无法估计。外来植物入侵已成为生物多样性保育和生态系统恢复研究的热点问题。对外来

种的人侵理论,即人侵生态学的研究也正在兴起^[1~4]。因此,开展我国境内外来人侵植物生态适应的生理基础研究,具有理论和实践意义。

我国东南地区已有外来杂草 94 种⁽⁵⁾,其中小 飞蓬(Conyza canadensis)、钻形紫菀(Aster subla-

收稿日期: 2001-08-27

作者简介:郭水良(19(4-),男,浙江平湖市人,博士后,研究员,主要从事植物系统分类、生态学和杂草科学研究工作。

基金项目: 国家自然科学基金(30170619)

tus)、一年蓬(Erigeron annuus)、加拿大一支黄花(Solidago canadensis)原产北美,野塘蒿(Conyza bonarinsis)和马缨丹(Lantana camara)原产南美洲。小飞蓬、钻形紫菀、一年蓬和野塘蒿在我国分布较广,加拿大一枝黄花作为花卉引入到南京等地,后在浙江、江苏、上海等地归化,是上海地区最常见的一种外来杂草,马缨丹在境外是危害严重的杂草,被称为世界十大恶性杂草⁽⁶⁾,国内将其作为观赏植物广泛栽培,其逸生种群已见于我国南方地区^(7,8),在华东地区偶见有其零星分布的逸生种群。外来杂草多分布于受人为干扰和破坏了的环境中,多见于抛荒地、田埂路边、交通路两侧、住宅四周,以上的6种杂草中,小飞蓬、一年蓬、野塘蒿、钻形紫菀已分布于夏熟作物田,对农作物已产生严重的危害,表现出很强的生态适应性。

外来杂草对新环境的生态适应,有其生理学基础。过氧化物酶同工酶是植物的逆境蛋白,当植物 受到环境条件的胁迫时,各种形态的过氧化物酶有助于处于逆境下的植物代谢过程的正常进行。因

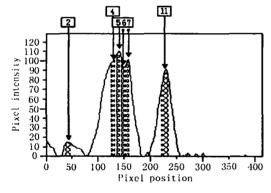


图 1 38°C 处理后加拿大一枝黄花 POD 同工酶谱 Fig. 1 POD isozymogram of Solidago canadensis treated with 38°C temperature

溴酚蓝染色,储于冰箱中备用。

采用聚丙烯酰胺垂直板凝胶分离同工酶,分离胶浓度为 7.5% (pH8.9),浓缩胶浓度为 2.5% (pH6.7),胶板有 12 槽,每两槽加 1 样品,加样量为 70、50 μ L,用电极缓冲液(6.0 g Tris,28.8 g 甘氨酸,定容至 1 000 mL,使用时稀释 10 倍)电泳,起始电压为 120 V,待指示剂溴酚蓝跑过浓缩胶时,再将电压调至 200 V,电泳约 3.5 h,等到溴酚蓝移至胶底 0.2 cm 时停止电泳⁽⁹⁾。

1.3 染色及拍照

利用联苯胺法染色,显色完毕后,用蒸馏水洗净 残存的染液,利用凝胶图像分析系统(Image Master 此,比较外来杂草在不同温度处理后的 POD 酶谱差异,有助于认识外来杂草对温度变化的适应特点,从而为预测它们在我国潜在的分布范围提供证据,本项工作也将丰富杂草生态学的研究内容。

1 材料与方法

1.1 材料

本次实验材料取自于浙江金华市郊,实验前,取自然条件下生长良好的植株移栽到营养盆中,成活后备用,分别将这6种植物置于38、5°C以及对照温度(25°C左右)下,处理60h后取样叶进行电泳。

1.2 制胶和电泳

取每一植株相近部位的叶片 3.0 g,洗净,剪碎,加入少许石英砂,加提取缓冲液(0.1 mol·L-1磷酸缓冲液,pH7.0,附加有 1 mmol·L-1EDTA 和 1% PVP-40(w/v)2.0 mL,在冰浴下碾磨成糊状,1层纱布过滤,滤液以 12 000 r/min 离心约 20 min,去上清液,按 1:1 的比例用 40%的蔗糖固定,加 1滴

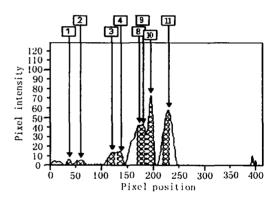


图 2 5 °C 处理后加拿大一枝黄花 POD 同工酶谱 Fig. 2 POD isozymogram of Solidago canadensis treated with 5 °C temperature

(r)VDS)拍照,应用该机所带的酶带分析软件(Image Master to Lallab)自动作出各温度下的过氧化物同工酶波峰图。

2 结果与分析

6 种外来杂草在 3 种温度处理后的过氧化物同工酶酶谱变化见图 1~18,不同酶带的迁移率见表 1~2。

图 1~3 中,38 °C 处理后,加拿大一枝黄花 POD 同工酶酶带与正常温度下的相比,缺少了 Rf0.094、Rf0.276、Rf0.431、Rf0.467 四条带,增加 了 Rfo. 369、Rfo. 394 两条带(表 1),且峰值明显增大,酶表达量增加,说明 38°C 高温对加拿大一枝黄花影响很大,而 5°C 加拿大一枝黄花与正常相比,只增加了 Rfo. 418 一条带(表 1),且峰值无明显变

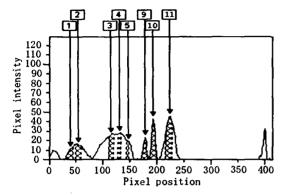


图 3 25 °C 处理后加拿大一枝黄花 POD 同工酶谱 Fig. 3 POD isozymogram of Solidago canadensis treated with 25 °C temperature

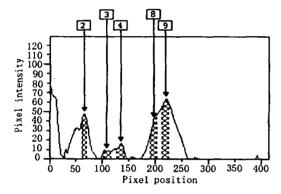


图 5 5 °C 处理后马缨丹 POD 同工酶谱 Fig. 5 POD isozymogram of Lantana camara treated with 5 °C temperature

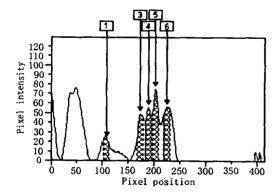


图 7 5 °C 处理后小飞蓬 POD 同工酶谱 Fig. 7 POD isozymogram of Conyza canadensis treated with 5 °C temperature

比较图 $4\sim6,5$ °C 处理后,马缨丹比正常的仅多了 Rf0.477 —条带,而 38 °C 处理后,马缨丹比正常的则多了 Rf0.093、Rf0.388、Rf0.420、Rf0.442、

化,说明 5°C 低温对其影响相对较小。由于加拿大一枝黄花原产地在北半球,其原产地的生长温度通常偏低,因此其对 5°C 低温处理反应较小,表现出对低温的适应能力较强。

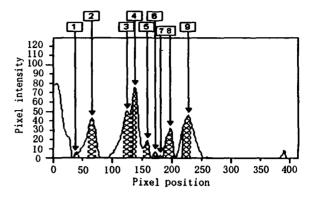


图 4 38 °C 处理后马缨丹 POD 同工酶谱 Fig. 4 POD isozymogram of Lantana camara treated with 38 °C temperature

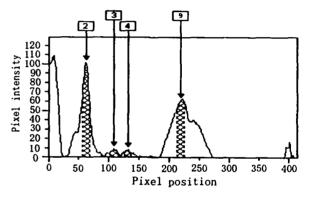


图 6 25 °C 处理后马缨丹 POD 同工酶谱 Fig. 6 POD isozymogram of Lantana camara treated with 25 °C temperature

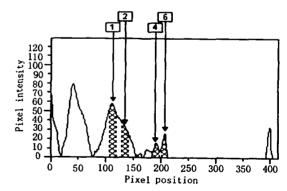


图 8 25 °C 处理后小飞蓬 POD 同工酶谱 Fig. 8 POD isozymogram of *Conyza canadensis* treated with 25 °C temperature

Rfo. 484 五条带(表 2),酶带明显增加,说明高温诱导马缨丹酶带增加,从而适应高温的环境。由于马缨丹原产于热带美洲,图 4~6 的结果同样说明了马

缨丹对高温气候条件的适应性。

比较图 $7 \sim 8,5$ °C 小飞蓬比正常的多了 Rf0. 419、Rf0. 492 两条带,减少了 Rf0. 327 一条带 (表 2),峰值升高,酶含量增加,说明小飞蓬对 5 °C 的低温有一定的抗寒能力。

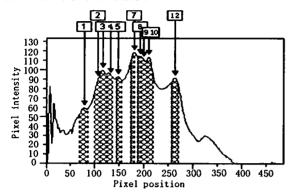


图 9 38 °C 处理后钻形紫菀 POD 同工酶谱 Fig. 9 POD isozymogram of Aster sublatus treated with 38 °C temperature

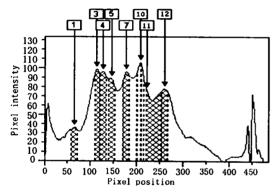


图 11 25 °C 处理后钻形紫菀 POD 同工酶谱 Fig. 11 POD isozymogram of Aster sublatus treated with 25 °C temperature

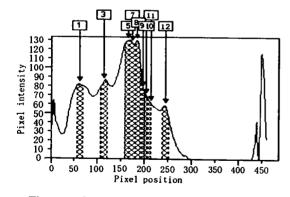


图 13 5°C 处理后野塘蒿 POD 同工酶谱 Fig. 13 POD isozymogram of *Conyza bonarinsis* treated with 5°C temperature

0.400 两条带(表 1),说明钻形紫菀对低温和高温均产生一定的抗性,但总体上其 POD 酶谱变化并不

图 9~11 中,钻形紫菀的基本酶谱带较多,共有8条,38°C处理的钻形紫菀 POD 同工酶酶谱比正常的增加了 Rf0. 220、Rf0. 397、Rf0. 409 三条带,缺少了 Rf0. 465 一条带(表 1),染色较深,5°C钻形紫菀 POD 同工酶酶谱与正常相比增加了 Rf0. 340、Rf

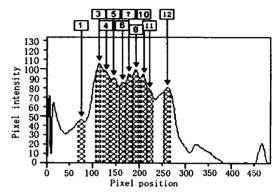


图 10 5°C 处理后钻形紫菀 POD 同工酶谱 Fig. 10 POD isozymogram of Aster sublatus treated with 5°C temperature

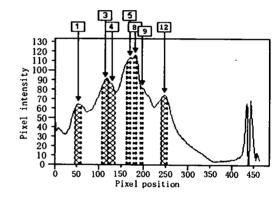


图 12 38 °C 处理后野塘蒿 POD 同工酶谱 Fig. 12 POD isozymogram of *Conyza bonarinsis* treated with 38 °C temperature

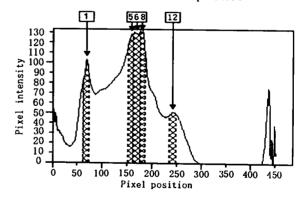


图 14 25 °C 处理后野塘蒿 POD 同工酶谱 Fig. 14 POD isozymogram of Conyza bonarinsis treated with 5 °C temperature

大,反映出钻形紫菀对温度有较宽的适应幅。 比较图 12~14,38°C和5°C处理后,野塘蒿 POD 同工酶酶谱比 25 °C 时均有明显增加,其中,38 °C 处理后,增加了 Rf0. 243、Rf0. 275、Rf0. 424 三条 带,减少了 Rf0. 371 一条带(表 1),5 °C 处理后增加了 Rf0. 247、Rf0. 377、Rf0. 442 和 Rf0. 461 四条带(表 1)。这也说明野塘蒿对高温和低温有较强的适应能力。

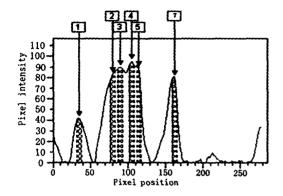


图 15 38 °C 处理后一年蓬 POD 同工酶谱 Fig. 15 POD isozymogram of *Erigeron annuus* treated with 38 °C temperature

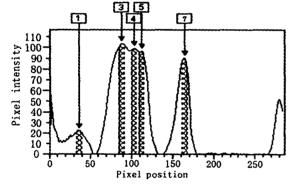


图 17 5 °C 处理后一年蓬 POD 同工酶谱 Fig. 17 POD isozymogram of Erigeron annuus treated with 5 °C temperature

3 结 语

在植物细胞清除自由基的防护系统中,过氧化物酶起着重要的作用。当外界温度发生剧烈变化时,植物体内的代谢过程也发生相应变化,往往会使植物体内自由基产生增加,其结果一方面诱导酶活性的升高,但同时,这些自由基又可直接攻击生物大分子,使酶活性丧失,尤其是与清除自由基活性氧有关的过氧化物酶,因此表现在环境越恶劣,酶活性越低。在图 1~18 中,不同温度处理后,6 种外来杂草

比较图 15~17, 一年蓬在 38°C 处理后, 其POD 同工酶比正常的多了 Rfo. 298 一条带, 少了 Rfo. 450 一条带(表 2), 而 5°C 处理后,则比正常的少了 Rfo. 450 一条带(表 2), 说明一年蓬通过改变 POD 同工酶的组成来适应高温和低温的胁迫, 一年蓬在我国有较广的分布。

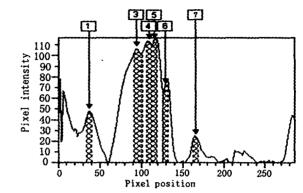


图 16 25 °C 处理后一年蓬 POD 同工酶谱 Fig. 16 POD isozymogram of *Erigeron annuus* treated with 25 °C temperature

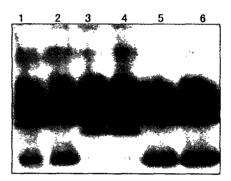


图 18 不同温度处理后一年蓬 POD 同工酶 Fig. 18 POD isozymes of Erigeron annuus treated with 38 °C,25 °C and 5 °C temperature 图 18 中: 1、2 为 38 °C 处理后,一年蓬 POD 同工酶酶谐; 3、4 为 25 °C 处理后,一年蓬 POD 同工酶酶谐; 5、6 为 5 °C 处理 后,一年蓬 POD 同工酶酶谐。

过氧化物同工酶谱的变化也正反映了它们对温度的不同适应特点。

在对照处理下,6种外来杂草过氧化物酶同工酶大致有2种情况,马缨丹、小飞蓬、野塘蒿和一年蓬的酶带较少,前两者均为4条,后两者分别为5和6条,而加拿大一枝黄花、钻形紫菀的酶带较多,均为8条。在温度剧烈改变的情况下,又存在两种情况,其中一年蓬、小飞蓬、钻形紫菀的酶谱变化相对较小,而马缨丹、加拿大一枝黄花、野塘蒿发现明显变化。温度变化对一年蓬、小飞蓬、钻形紫菀过氧化物酶同工酶谱的影响不很大,野塘蒿则是通过增加

酶带、调整同工酶的组成来适应温度的变化,这4种杂草对温度变化的适应能力较强,它们在我国已有较广的分布。从酶带的变化来分析,加拿大一枝黄花表现出对高温的适应能力较弱,对低温气候的适

应性较强,马缨丹则表现出相反的适应特点,即对高温有较强的适应能力,而不能适应于低温气候。从本文的数据表明,植物能够通过改组同工酶系统来适应外界温度的变化^[10]。

表 1 加拿大一枝黄花、钻形紫菀、野塘蒿的 POD 同工酶迁移率

Table 1 POD Rf values of Solidago canadensis, Aster sublatus and Conyza bonarinsis

酶带 Isozymic bands	加拿大一枝黄花 Solidago canadensis			钻形紫菀 Aster sublatus			野塘蒿 Conyza bonarinsis		
	38 °C	25 °C	5 °C	38 °C	25 °C	5 °C	38 °C	25 °C	5 °C
Lanel		0.094	0.092	0.163	0.136	0.157	0.114	0.152	0.132
Lane2	0. 107	0.131	0.143	0.220	_	_	_	_	
Lane3	_	0.276	0.290	0.239	0.239	0.234	0.243	_	0. 247
Lane4	0.322	0.317	0.333	0.274	0.266	0.267	0.275	_	_
Lane5	0.349	0.354	_	0.305	0.306	0.300	0.361	0.351	0.357
Lane6	0.369	_	_	_	_	0.340	_	0.371	_
Lane7	0.394	_	_	0.370	0.373	0.366	_	_	0.377
Lane8	_	_	0.418	0.397	_	0.400	0.389	0.395	0.398
Lane9	_	0.431	0.437	0.409	_	_	0.424	_	0.426
Lane10	_	0.467	0.471	0.434	0.438	0.435	_	_	0.442
Lanell	0.574	0.54	0.556	_	0.465	0.462	_	_	0.461
Lane12	_	_	_	0.543	0.547	0.538	0.529	0.534	0.528

表 2 马缨丹、小飞蓬、一年蓬的 POD 同工酶迁移率

Table 2 POD Rf values of Lantana camara, Conyza canadensis and Erigeron annuus

酶带	马缨丹 Lantana camara			小飞蓬 Cony	za canadensis	一年蓬 Erigeron annuus		
Isozymic bands	38 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	38 °C	25 °C	5 °C
Lanel	0.093	_		0. 274	0.264	0.130	0. 128	0.138
Lane2	0.160	0.150	0.160	0.327	_	0.298	_	_
Lane3	0.305	0.264	0. 264	_	0.419	0.330	0.323	0.314
Lane4	0.339	0.320	0.327	0.460	0.458	0.380	0.369	0.375
Lane5	0.388		_	_	0.492	0.420	0.408	0.406
Lane6	0.420		_	0.501	0.545	_	0.450	_
Lane7	0.442	_	_	_	_	0.580	0. 567	0.572
Lane8	0.484	-	0.477	_	_	_	_	_
Lane9	0.558	0.530	0.530	_	_	_	_	_

加拿大一枝黄花、马缨丹在国内的逸生种群尚限于局部地区,从温度变化对两者 POD 同工酶谱的影响来分析,马缨丹的潜在危害将发生在我国南部地区,而加拿大一枝黄花则在我国偏北的地区有潜在危害。当然,要对加拿大一枝黄花、马缨丹在我国的分布范围进行准确的预测,除考虑温度这一因素外,还应该考虑水分条件、土壤质地和人们对环境的干扰强度等因素。

参考文献:

- [1] 王翰林. 警惕:生态人侵——关于尽快建立生物防治体系的呼吁[N]. 科技日报,2000年9月12日第5~7版(绿色周刊).
- [2] 陆光庆. 生物入侵的危害[J]. 世界农业,1999,4:38-39.

- [3] 彭少麟,向言词. 植物外来种入侵及其对生态系统的影响[J]. 生态学报,1999,19(1):560-569.
- [4]强 胜,曹学章.中国异域杂草的考察与分析[J]. 植物资源与环境学报,2000,**9**(4):34-38.
- [5] 郭水良,李杨汉. 我国东南地区外来杂草研究初报 [J]. 杂草科学, 1995, **2**: 4-8.
- [6] 苏少泉. 杂草学[M]. 北京:农业出版社, 1993.
- [7] 浙江植物志编辑委员会. 浙江植物志(第6卷)[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社,1993.
- [8] 江苏植物研究所, 江苏植物志(下)[M], 南京, 江苏科学技术出版社, 1982.
- [9] 何忠效,张树政. 电泳[M]. 北京:科学出版社, 1999.
- [10] 刘成运,孟庆梅,权明清. 冷害条件下凤眼莲某些生理特性变化的研究[J]. 武汉植物学研究,1993,11(4):343-353.