

低温胁迫下内源脱落酸对马尾松 优良种源抗寒性的调节作用

杨章旗^{1,2}

(1. 北京林业大学 生物技术学院, 北京 100081; 2. 广西林业科学研究院, 南宁 530002)

摘要: 以2个马尾松优良种源苗期的叶片为材料,对系列低温梯度条件下不同种源叶片的内源 ABA、内源保护酶系统的动态变化的规律以及相互作用进行研究。结果表明:在降温过程中通过内源 ABA 的变化来调控内源保护酶的变化趋势,并协调多种酶的相互作用来抵抗低温。内源 ABA、SOD 对零上低温敏感,属冷害敏感型调节物质,它们在零上低温前达到最高峰值的时间越早,活性越高,持续的时间越长,马尾松的抗寒性越强;CAT、POD 和 PPO 对零下低温敏感,属冻害敏感型酶类,CAT、POD 和 PPO 的活性越高,持续的时间越长,抗寒性越强。马尾松低温胁迫下4种酶的启动顺序为 SOD 第1,其次为 CAT、POD,最后是 PPO。内源 ABA 能减缓 SOD 和 CAT 活性的下降,并能提高 POD 的活性。抗寒性强的马尾松内源 ABA 含量和内源保护酶的活性较大,持续时间较长,内源 ABA 含量和 SOD 的启动较早,而 CAT、POD 和 PPO 的启动时间较迟。马尾松抗寒性的评价是一个多因素相互作用、相互影响的复杂的生理过程,须综合考虑各种酶的活性大小、变化大小、启动和持续时间等多种因素,进行综合评价。

关键词: 马尾松;种源;低温胁迫;ABA;保护酶;抗寒性

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号: 1000-3142(2011)04-0501-06

Regulation of endogenous abscisic acid (ABA) for cold resistance of superior provenance *Pinus massoniana* under low temperature stress

YANG Zhang-Qi^{1,2}

(1. College of Biological Science and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100081, China;

2. Guangxi Forestry Science Academy, Nanning 530002, China)

Abstract: This paper aimed to study endogenous ABA in different provenances and endogenous protective enzymes system dynamic changing laws as well as interaction of them under serial low temperature gradient, with leaves of two superior provenances of *Pinus massoniana* as materials. The results indicated that *P. massoniana* controlled the changing of endogenous protective enzyme by changing endogenous ABA during temperature dropping and tuned interaction of multiple enzymes to resist low temperature. Endogenous ABA and SOD were sensitive to supra-zero low temperature and were regulatory substance of sensitive to cold injury. If ABA and SOD peaked in less time before supra-zero low temperature coming, their activities would be higher, their on-going time would be longer and cold resistance of *P. massoniana* would be stronger. CAT, POD and PPO were sensitive to subzero low temperature and were enzymes of sensitive to freezing injury. The activities of CAT, POD and PPO were higher and persistence time was longer, the stronger cold-resistance would be. Under stress of

收稿日期: 2011-03-22 修回日期: 2010-06-27

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2006BAD24B0301-2); 广西林业厅项目(2009No. 4; 2006No. 20)[Supported by National Key Technology Research and Development Program of China(2006BAD24B0301-2); Forestry Department of Guangxi(2009No. 4; 2006No. 20)]

作者简介: 杨章旗(1964-),男,广西资源人,在读博士,教授级高工,主要从事林木遗传育种研究,(E-mail)yangzhangqi@126.com。

low temperature, the priming sequence of the four enzymes of *P. massoniana* followed as SOD, CAT, POD and PPO from strong to weak. Endogenous ABA could decrease descend of activities of SOD and CAT and also could increase activity of POD. *P. massoniana* with cold resistance ability had large number content of endogenous ABA and protective enzyme and their persistence time was long. The priming time of endogenous ABA and SOD was early, yet CAT, POD and PPO primed fairly slow. So evaluation of cold resistance ability for *P. massoniana* was a complicated physiological process with multiple factors interacting each other. It was important to consider synthetically multiple factors included enzyme active, changing, priming and persisting time and so on among all kinds of enzymes and to evaluate them synthetically.

Key words: *Pinus massoniana*; provenance; low temperature stress; ABA; protective enzymes; endogenous abscisic

马尾松(*Pinus massoniana*)是我国南方重要的乡土树种,因耐旱、耐瘠薄而成为先锋造林树种和南方最重要的工业用材树种之一。广西的桐棉和古蓬种源在全国马尾松种源试验中被评选为最优良地理种源之一。从20世纪80年代起,广西、福建、江西、湖南、广东等省(区)大量引种这两个优良种源及衍生的良种,推广面积达到数万公顷(杨章旗等,2003)。但由于这两个优良种源属南带种源,在引种过程中受到不同程度的低温影响,低温成为这些优良种源向北推广的首要限制因子,如何提高优良种源的抗寒性是广西马尾松遗传改良所面临的一个艰巨任务。

植物对逆境的适应受遗传性和内源激素控制,植物在逆境下主要通过改变和调节生物膜的结构和透性来适应逆境。ABA对逆境的调节作用最明显,逆境下内源ABA含量显著增加,以调节植物对胁迫环境的适应(Gusta等,2005)。ABA能减缓超氧歧化酶活性的降低,提高过氧化物酶的活性,使植物体内超氧自由基处于较低水平,最终减轻低温对膜的伤害(林定波等,1994;蔡世英,1990;Choudhui,1988),但其具体作用机理不清。马尾松在低温胁迫下内源ABA和内源保护酶之间的协调作用、相互影响及影响程度等抗寒机制国内外目前尚无定论。本研究选择抗寒性较强的古蓬种源和抗寒性较弱的桐棉种源做为试验材料,采用人工控制低温处理的方法,对系列低温梯度条件下不同种源叶片的内源ABA、内源保护酶系统等生理生化指标的动态变化特点以及相互作用进行研究,以期了解不同种源在低温胁迫下内源ABA对内源保护酶系统的调控机制及其相互作用,把马尾松抗寒性和育种目标相结合,为最终实现通过抗寒基因的表达和抗寒基因工程的转移提高马尾松的抗寒性的目标提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验于2008年12月20至2009年1月16日在国家林业局中南速生材繁育重点实验室的人工培养箱内进行。桐棉和古蓬种源的种子分别采集于广西南明桐棉乡和广西忻城县古蓬镇,分布区气候因子见表1。育苗点设置在广西南宁广西林业科学研究院试验苗圃内。各种源选择生长健壮、无病虫害,生长一致的营养杯苗100株,营养杯规格为8 cm×12 cm,营养土为黄心土,苗龄1年,苗高50~55 cm,地径0.8 cm。

表1 马尾松种源地理位置与气候因子
Table 1 Geographical position and climatic factors of different provenances

项目 Item	桐棉种源 Tongmian provenance	古蓬种源 Gupeng provenance
地理坐标 Geographic coordinates(°)	22.10 N, 107.24 E	24.06 N, 108.66 E
海拔 Altitude (m)	500	185
年均气温 Average annual temperature (°C)	21.8	19.3
年最低气温 Annual minimum temperature (°C)	0.4	-2.3
年最高气温 Annual maximum temperature (°C)	38.2	39.7
≥10 °C 积温 Annual accumulated temperature above 10 °C (°C)	6919	6591
无霜期 Frost-free period (d)	358	343
年降水量 Annual precipitation (mm)	1366	1453

1.2 方法

1.2.1 低温处理方法 试验前浇足水,将苗木在实验室内放置3天,营养杯不滴水时放入托盆,每个托盆放50株苗,置于人工培养箱内。7:00~19:00光照强度设置36 μmol·m⁻²·s⁻¹,19:00~7:00为黑

暗。相对湿度 65%~85%。试验时室内的日平均气温为 9~15 °C,以 10 °C 为对照,人工降温程序如下:设(10±2)、(4±2)、(0±2)、(-5±2)、(-10±2) °C 五种温度梯度(梯度的设定依据前期预备试验中对两个种源的低温半致死温度的测定,该内容另文待发),温度降到该设定温度时保持 48 h,将 100 株苗木分成 8 份,各温度梯度 12 株。取样时每株苗木取中下部针叶 5 g 左右,混合均匀立即放入-80 °C 冰箱中保存。采样后恒温 24 h,继续降温。在-10 °C 温度中设置降温 1、24、48、72 h 四种取样时间。

1.2.2 测定项目及方法 内源 ABA 含量的测定采用间接酶联免疫法(Enzyme-Linked Immunosorbent Assays, ELISA)。试剂盒购于中国农业大学,其含量以每克鲜重中含激素的纳克计算,有关 ELISA 的原理和测定方法参见文献(吴颂如等,1988)。采用李合生(1999)的方法进行各项目测定:(1)愈创木酚法测定过氧化物酶活性;(2)氮蓝四唑比色法测定超氧化物歧化酶活性;(3)过氧化氢石英比色法测定过氧化氢酶活性;(4)邻苯二酚比色法测定多酚氧化酶活性。以上生理指标的测定均重复 3 次,异常数据进行剔除。

1.3 数据处理

分别对不同处理的 ABA 含量、SOD 活性、POD 活性、PPO 活性、CAT 活性与不同温度间进行双因素方差分析(SPSS 软件)。

2 结果与分析

2.1 降温过程中不同种源的内源 ABA 含量的变化

不同种源叶片的内源 ABA 含量随着温度的降低变化趋势大体相似,内源 ABA 含量呈先上升后下降再上升再下降的变化规律(图 1),桐棉种源内源 ABA 含量在降温过程中分别在 4 °C、-5 °C 和-10 °C 72 h 出现两个峰值,最高峰值出现在-5 °C,最低值出现在-10 °C 1 h;温度从-5 °C 调至-10 °C 1 h 内源 ABA 直线下降;古蓬种源内源 ABA 含量在 4 °C、-10 °C 1 h、-10 °C 48 h 出现 3 个峰值,最高值出现在 4 °C,之后峰值缓慢下降,最低值出现在-10 °C 24 h。抗寒性较强的古蓬种源在零上低温 4 °C 时内源 ABA 含量呈直线上升并达到最高峰值,抗寒性较弱的桐棉种源内源 ABA 含量上升速度较慢,在-5 °C 时达到最高峰值,也就是说,古蓬种源在低温来临前已启动内源 ABA,并协调体内的平衡以获得较强

的抗寒力。桐棉种源内源 ABA 含量在-5 °C 达到最高峰值后在-10 °C 1 h 出现直线下降达最低点后再直线上升,是否已出现极端低温,使体内 ABA 的调控能力失调,有待进一步研究。2 种源在 10 °C 时 ABA 含量基本相同,古蓬种源稍高,古蓬种源和桐棉种源的内源 ABA 含量最高值分别比对照提高 183.55% 和 58.80%,最低值分别比对照降低 82.08% 和 75.57%。各处理的内源 ABA 含量差异达显著水平(表 2)。

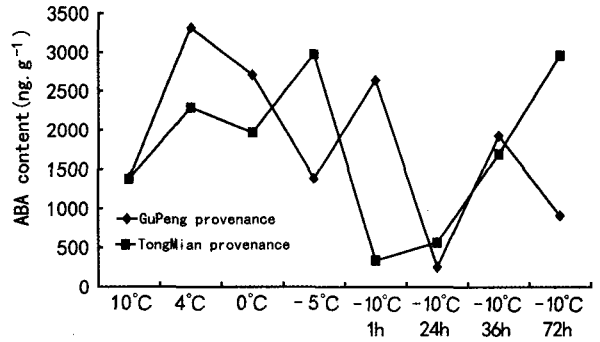


图 1 降温过程中 ABA 含量
Fig. 1 ABA content in different provenance during decreasing temperatures

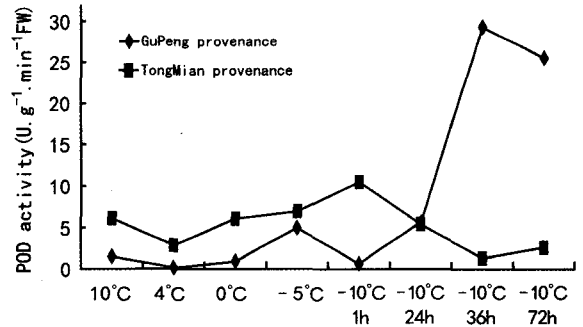


图 2 降温过程中 POD 活性变化
Fig. 2 POD activity in leaves of different provenances during decreasing temperatures

2.2 降温过程中不同种源的 POD 活性的变化

不同种源叶片的 POD 活性随着温度的降低变化趋势大体相似,POD 活性呈下降后上升再下降再上升再下降的变化规律(图 2),2 种源的 POD 活性在-10 °C 前虽有起伏但变化不大,温度降至-10 °C 出现峰值。桐棉种源-10 °C 1 h 出现峰值,之后 POD 活性下降,-10 °C 处理 24~72 h POD 活性基本处于同一水平上;古蓬种源的 POD 活性在温度降至-10 °C 后直线上升并在 48 h 出现峰值,之后 POD 活性

下降,但维持在较高水平。古蓬种源在极端低温下 POD 活性出现大幅度升高以后仍维持在较高水平,而桐棉种源在极端低温下 POD 活性出现下降且活性很低,表明 POD 在极端低温下起作用,抗寒强的种源 POD 活性大,抗寒弱的种源 POD 活性小。2 种源的 POD 活性在 10 ℃ 时,桐棉种源略高于古蓬种源,古蓬种源和桐棉种源的 POD 活性最高值分别比对照提高 1 829% 和 71. 731%。各处理的 POD 活性差异达显著水平(表 2)。

2.3 降温过程中不同种源的 SOD 活性的变化

不同种源叶片的 SOD 活性随着温度的降低变化趋势大体相似,SOD 活性呈上升后下降再上升再下降的变化规律,2 个种源的 SOD 活性最低值均出

现在 10 ℃(图 3)。桐棉种源 SOD 活性在降温过程中分别在 4 ℃、-5 ℃ 和 -10 ℃ 72 h 出现 3 个峰值,最高峰值出现在 -5 ℃;古蓬种源 SOD 活性从 10~0 ℃ 直线上升,分别在 0 ℃、-10 ℃ 48 h 出现 2 个峰值,最高峰值出现在 -10 ℃ 48 h,之后峰值缓慢下降。图 3 提示,SOD 活性的最高峰值出现的时间与 ABA 相似,抗寒强出现早,抗寒弱的出现晚,且抗性强的种源 SOD 活性总体上处于较高水平。与 ABA 不同,极端低温时 2 种源的 SOD 活性未出现大的起伏,仍保持较强活性,发挥着协调作用。2 种源的 SOD 活性在 10 ℃ 时桐棉种源高于古蓬种源,古蓬种源和桐棉种源的 SOD 活性最高值分别比对照提高 154. 20% 和 58. 80%。各处理的 SOD 活性差异

表 2 不同种源降温过程中多重比较
Table 2 Post Hot test of variance on leaf traits among different provenance

指标 index	桐棉种源 Tongmian provenance					古蓬种源 Gupeng provenance				
	10 ℃	4 ℃	0 ℃	-5 ℃	-10 ℃	10 ℃	4 ℃	0 ℃	-5 ℃	-10 ℃
ABA 含量 ABA content	1813. 24a	1794. 06ab	1761. 13ab	1676. 97b	1785. 63ab	1034. 96a	753. 89b	705. 26b	589. 47c	705. 26b
POD 活性 POD activity	26. 36a	26. 96a	25. 77a	25. 64a	19. 23b	16. 99d	22. 16b	29. 43a	19. 79c	18. 47c
SOD 活性 SOD activity	446. 5a	401. 6b	409. 2b	303. 7c	229. 7d	217. 5c	201. 8d	310. 8b	341. 3a	343. 9a
PPO 活性 PPO activity	11. 05a	9. 71b	15. 46c	14. 30c	19. 02d	21. 70c	22. 43d	30. 00a	26. 45b	26. 2b
CAT 活性 CAT activity	13. 05a	14. 71b	16. 46c	16. 30c	17. 02d	9. 70c	12. 43d	1700a	16. 45b	15. 2b

注: a-e 用于表示各因素不同水平间的差异性比较(P<0.05),字母相同表示差异不显著。

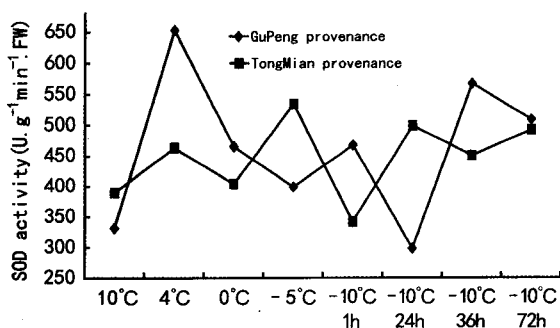


图 3 降温过程中 SOD 活性
Fig. 3 SOD activity in different provenances during decreasing temperatures

达显著水平(表 2)。

2.4 降温过程中不同种源的 PPO 活性的变化

不同种源叶片的 PPO 活性随着温度的降低变化趋势不同,桐棉种源 PPO 活性呈先上升后下降再上升再下降再上升的趋势,古蓬种源 PPO 活性呈先下降后上升再下降再上升再下降再上升的变化规律(图 4)。桐棉种源 PPO 活性在降温过程中分别在 4 ℃ 和 -10 ℃ 24 h 出现 2 个峰值,PPO 活性降温至 -10

℃ 后立即直线上升,-10 ℃ 24 h 出现最高峰值;古蓬种源 PPO 活性分别在 -5 ℃ 和 -10 ℃ 24 h 出现 2 个峰值,PPO 活性降温至 -10 ℃ 48 h 后直线上升,-10 ℃ 72 h 时活性出现最高峰值。与 POD 相似,2 种源极端低温下 PPO 活性大幅度升高并达到最高峰值,不同的是,古蓬种源 PPO 活性在持续极端低温下表现活跃,-10 ℃ 低温中出现第 1、2 峰值,而桐棉种源在持续极端低温下 PPO 活性直线下降后处于

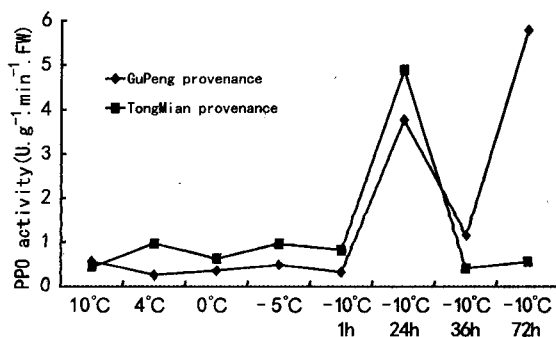


图 4 降温过程中 PPO 的活性
Fig. 4 PPO activity in different provenances during decreasing temperatures

很低水平,是否 PPO 失活,有待进一步研究。2 种源 的 PPO 活性在 10 ℃ 时桐棉种源高于古蓬种源,古蓬种源和桐棉种源的 PPO 活性最高值分别比对照提高 913.08% 和 1012.13%,最低值分别比对照下降 56.40% 和 8.91%。各处理的 PPO 活性差异达显著水平(表 2)。

2.5 降温过程中不同种源的 CAT 活性的变化

不同种源叶片 CAT 活性随着温度降低变化趋势不同,桐棉种源 CAT 活性呈先上升后下降再略上升趋势,古蓬种源 CAT 活性呈先上升后下降再上升再下降再上升变化规律(图 5)。桐棉种源 CAT 活性呈单峰趋势,CAT 活性降温至-5 ℃ 后立即直线上升,在-10 ℃ 48 h 出现峰值;古蓬种源 CAT 活性分别在 4 ℃ 和-10 ℃ 1 h 出现 2 个峰值,在降温至-5 ℃ 后直线上升,活性在-10 ℃ 1 h 时活性出现最高峰值。图 5 提示,2 种源-5 ℃ 至-10 ℃ 间出现第 1、2 个峰值,说明 CAT 在期间表现活跃,但抗性强的种源在持

续低温下活性维持长,而抗性弱的后期酶活接近 0,似乎失效。2 种源的 CAT 活性在 10 ℃ 时桐棉种源略高于古蓬种源,古蓬种源和桐棉种源的 CAT 活性最高值分别比对照提高 13569.17% 和 6307.42%,最低值分别比对照下降 43.38% 和 0。各处理的 CAT

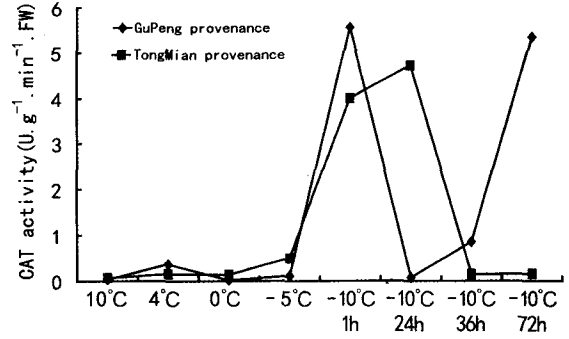


图 5 降温过程中 CAT 活性
Fig. 5 CAT activity in different provenances during decreasing temperatures

表 3 不同种源的内源 ABA 及内源保护酶在降温过程中的变化趋势
Table 3 Changing tendency of endogenic ABA and endogenic protective enzymes of different provenance during temperature dropping

指标 Index	桐棉种源 Tongmian provenance								古蓬种源 Gupeng provenance							
	10 ℃				-10 ℃				10 ℃				-10 ℃			
	10 ℃	4 ℃	0 ℃	-5 ℃	1 h	24 h	48 h	72 h	10 ℃	4 ℃	0 ℃	-5 ℃	1 h	24 h	48 h	72 h
ABA 含量 ABA content	↑	↓	↑	↓	↑	↑	↑	↑	↓	↓	↑	↓	↑	↓		
POD 活性 POD activity	↓	↑	↓	↑	↓	↓	↓	↓	↑	↑	↓	↑	↑	↓		
SOD 活性 SOD activity	↑	↓	↑	↓	↑	↑	↑	↑	↓	↓	↑	↓	↑	↓		
PPO 活性 PPO activity	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↓	↑	↑	↓	↑	↓	↑		
CAT 活性 CAT activity	↑	↓	↑	↑	↑	↓	↑	↑	↓	↑	↑	↓	↑	↑		

活性差异达显著水平(表 2)。

2.6 降温过程中不同种源的内源 ABA 对内源保护酶的调控及相互影响

在降温过程中,马尾松不同种源通过不断调节内源 ABA 的含量以及内源保护酶的活性,以适应低温。从内源 ABA 及内源保护酶在降温过程中的变化趋势可看出,桐棉种源的 SOD、PPO 和 CAT 活性与内源 ABA 含量的变化趋势基本一致,POD 活性与内源 ABA 含量的变化趋势正好相反;古蓬种源的 SOD 活性和 CAT 活性与内源 ABA 含量的变化趋势基本一致,POD 活性和 PPO 活性与内源 ABA 含量的变化趋势正好相反(表 3),也就是说,在低温胁迫下,桐棉种源提高内源 ABA 的含量,POD 活性会相应降低,SOD 活性、PPO 活性以及 CAT 活性则会相应升高;古蓬种源在提高内源 ABA 含量时,POD

活性和 PPO 活性会相应上升,SOD 活性和 CAT 活性则会相应升高。桐棉种源内源 ABA 含量在-10 ℃ 72 h 出现最高峰值,此时 POD 活性出现最低值,SOD 活性出现最高峰值,内源 ABA 在-10 ℃ 1 h 出现最低值,此时 POD 活性出现最高峰值;古蓬种源内源 ABA 含量在 4 ℃ 72 h 出现最高峰值,此时 POD 活性和 PPO 活性出现最低值,SOD 活性出现最高峰值,内源 ABA 在-10 ℃ 24 h 出现最低值,此时 SOD 活性出现最低值(图 1-4)。

2.7 降温过程中不同种源的内源保护酶活性的相互影响

在降温过程中,马尾松不同种源通过内源保护酶之间的相互协调作用以适应低温。抗寒性较弱的桐棉种源 SOD、CAT 及 PPO 活性在 4 ℃ 开始启动,分别于-5 ℃、-10 ℃ 24 h 及-10 ℃ 24 h 达到最大峰

值, SOD 活性在 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 48 h 后呈上升趋势, 表明 SOD 仍在发挥作用。POD 活性于 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 开始启动, 于 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 h 达到最大值, 其中 POD 活性、PPO 活性和 CAT 活性分别在 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 h、 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 24 h 和 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 24 h 后分别从最高峰值直线下降后基本维持不变, 活性接近于 0, 笔者认为该种源此时已出现极端的低温胁迫, 保护酶失活; 抗寒性较弱种源的古蓬种源 SOD 和 CAT 在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时开始启动, 分别于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 h 达到最大峰值, POD 和 PPO 分别在 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 启动, 并分别于 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 48 h 和 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 72 h 达到最高峰值。CAT 活性、PPO 活性在 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 48 h 后呈上升趋势, 表明这 2 种酶仍在发挥作用, 而 SOD 活性、POD 活性在 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 48 h 后呈下降趋势。

3 结论与讨论

研究表明, 抗寒性较强的古蓬种源在低温胁迫下 ABA 含量较高, 在零下低温前出现最高峰值, 而抗寒性较弱的桐棉种源含量较低且最高峰值出现在零下低温。在低温胁迫前通过提高内源 ABA 含量有利于增强抗逆性。2 种源内源 ABA 含量在降温过程中呈现 3 峰变化趋势, 与桅子、芦荟、小麦等植物的研究结论不同(严寒静等, 2001; 兰小中等, 2006; 赵春江等, 2000), 笔者认为多数作物的研究以室外冬季自然降温为对比条件, 研究的时间多以月或季节来计算, 本研究采用的是人工控制低温方法, 可能是温度下降速度过快且持续时间过短造成的, 也可能与内源 ABA 的反应速度或维持时间有关。

本试验表明, SOD 是马尾松低温胁迫下最早启动的一种保护酶, 且活性高, 持续时间长, 抗寒性不同的种源的 SOD 活性在极端低温胁迫下仍维持在较高水平, 起调节作用。PPO 和 CAT 2 种酶对低温胁迫不敏感, 但在极端低温下表现活跃, 抗寒性越强, 活性越高, 持续时间越长, 而这 2 种酶对抗寒性弱的种源在极端低温的调节作用不大。而 SOD 活性、POD 活性此时呈下降趋势, 说明抗寒性强的马尾松出现零上低温冷害时主要是 SOD 起作用, 出现零下低温的冻害时, CAT、PPO 和 POD 3 种酶变得十分活跃, 在体内代谢中起主要协调作用。因此, 抗寒性强的种源在低温来临前已启动内源 ABA, 并通过激活 SOD, 协调体内的平衡以获得较强的抗寒力, 也就是说, 内源 ABA 含量、SOD 活性对零上低温非常敏感, 属冷害敏感型调节物质, 它们在零上低

温前达到最高值的时间越早, 活性越高, 持续的时间越长, 马尾松的抗寒性越强; CAT、POD 和 PPO 对零下低温非常敏感, 属冻害敏感型酶类, 在温度降到 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 前活性虽有起伏但变化不大, 极端低温胁迫下这 3 种酶直线上升, 迅速达到最高值, 抗寒性强的种源达到峰值后仍维持较高活性, 抗寒性弱的种源达到峰值后直线下降, 出现失活现象。因此, CAT、POD 和 PPO 的活性越高, 持续的时间越长, 抗寒性越强。抗寒性不同的种源 4 种酶的启动顺序基本相同, 即 SOD 首先启动, 其次分别为 CAT、POD, 最后是 PPO。因此, 马尾松在出现低温胁迫时, 多种酶共同参与和协调体内的生理生化过程, 不能单独以某种酶的活性高低来判断马尾松抗寒性的强弱, 须综合考虑各种酶的活性大小、变化大小、启动和持续时间等多种因素, 进行综合评价。

研究表明, 在降温过程中, 马尾松通过不断调节内源 ABA 来调控内源保护酶的活性, 以适应低温。SOD 和 CAT 活性与内源 ABA 含量的变化趋势基本一致, 且抗性较强种源的 SOD 活性与内源 ABA 含量出现最高峰值和最低值的温度完全相同, 表明抗性强的马尾松能通过提高内源 ABA 含量来减缓 SOD 活性的下降, 保护膜结构。本试验中还得出, 内源 ABA 也能减缓 CAT 活性的下降, 但不似 SOD 的规律明显, 须进一步论证。POD 活性与内源 ABA 含量的变化趋势正好相反, 即马尾松在内源 ABA 含量不足以抵抗低温胁迫时, 能迅速提高 POD 活性, 减少膜脂过氧化, 保护膜系统。抗寒性不同种源的 PPO 活性与内源 ABA 含量的变化趋势不同, 抗性强的种源 PPO 活性与内源 ABA 含量的变化趋势相反, 抗性弱的种源两者的变化趋势完全相同, 即抗寒性强的种源在内源 ABA 含量不足时, 能通过提高 PPO 的活性来适应低温胁迫, 两个种源 PPO 活性变化规律的差异有待进一步研究。

研究表明, 马尾松在降温过程中通过内源 ABA 诱导和调控内源保护酶的变化, 并启动多种酶参与协调体内代谢以抵抗低温。SOD 和 CAT 属低温敏感型酶类, 低温来临前活性最高, POD 和 PPO 属低温非敏感型酶类, 出现极度低温胁迫时活性最高, 4 种酶在低温胁迫的不同阶段所起的作用不同, 共同协调体内代谢, 保护膜系统。马尾松的内源 ABA 和内源保护酶的数量越大, 持续时间越长, 内源 ABA、SOD 和 CAT 的启动越早, 而 POD 和 PPO (下转第 512 页 Continue on page 512)

- 张宏达,任善湘. 1998. 中国植物志(山茶科)[M]. 北京:科学出版社:7
- Corbesier L, Coral Vincent C, Jang S, et al. 2007. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*[J]. *Science*, **316**:1 030—1 033
- Koch KE, Ying Z, Wu Y, et al. 2000. Multiple paths of sugar-sensing and a sugar/oxygen overlap for genes of sucrose and ethanol metabolism[J]. *J Exp Bot*, (51):417—427
- Liang F(梁芳), Zheng CS(郑成淑), Sui CH(孙翠华), et al. 2008. Change of carbohydrate content in buds and leaves of chrysanthemum during floral differentiation(菊花花芽分化过程中芽和叶片碳水化合物含量的变化)[J]. *Shandong Agric Sci* (山东农业科学), **1**:40—42
- Schmid S. 1970. Nuclei acid metabolism and flower bud development in apple(mauls domestic)[J]. *Hort Abst*, **53**(2):80
- Wei ZF(卫兆芬). 1986. A new species of *Camellia* from China(中国山茶属一新种)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究), **6**(4):141—143
- Wei X(韦霄), Chai SF(柴胜丰), Jiang YS(蒋运生), et al. 2010. Seed reproduction and biological characteristics of *Camellia nitidissima*(珍稀濒危植物金花茶种子繁殖和生物学特性研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **30**(2):215—219
- Zhang SY(张姝媛), Guo JL(郭金丽), Qin YS(秦永生), et al. 2008. Study on the changes of nutrient and nucleic acid at the floral bud differentiation stage of *Syringa obla*(华北紫丁香花芽分化期营养物质与核酸含量的变化)[J]. *Acta Agric Boreal-Sin*(华北农学报), **23**(4):179—183
- Zhang YH(张艳红), Yang DX(杨东霞), Sun XD(孙学东). 2007. Changes of chlorophyll and soluble sugar content of *Rhododendron's* floral bud during its differentiation(杜鹃花花芽分化期可溶性糖和叶绿素含量的变化)[J]. *J Liaodong Univ: Nat Sci Edi*(辽东学院学报·自然科学版), **14**(2):64—66
- Zhang ZX(张宗享), Huang QB(黄启斌). 1981. Propagation of *Camellia chrsantha*[J]. *Guihaia*(广西植物), **1**(2):34—39
- Zhu GP(朱高浦), Li JY(李纪元). 2009. Research progress of *Camellia changii*, a rare and endangered plant(珍稀濒危植物张氏红山茶研究进展)[J]. *Subtrop Plant Sci*(亚热带植物科学), **1**(78):21—22

(上接第 506 页 Continue from page 506)

的启动时间越迟,抗寒性越强。综上所述,马尾松抗寒性的评价是一个多因素之间相互作用、相互影响的复杂的生理过程,仅从某一个层面去研究马尾松的抗寒性或抗寒性的某一个环节,都是远远不够的。外源 ABA 如何调控内源 ABA 以及外源 ABA 是否通过诱导保护酶系统的多态性或其它特异抗性基因的表达,从而提高抗寒性等均有进一步研究的价值。

参考文献:

- 李合生. 1999. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社:32—33
- Choudhui MA. 1988. Free radical and leaf senescence[J]. *Plant Physiology Biochemical India*, **15**(1):18—29
- Gusta LV, Tischuk R, Weiser CJ. 2005. Plant Cold acclimation the role of abscisic acid[J]. *Plant Growth Regul*, **24**:308—318
- Cai SY(蔡世英). 1990. Effects of ABA on regulation of resistance of coffee seedlings to chilling injury (ABA 对咖啡幼苗抗冷性的效应)[J]. *Chin J Trop Crops*(热带作物学报), **11**(2):69—77
- Lan XZ(兰小中), Yang YJ(阳义健), Chen M(陈敏), et al. 2006. Research on changing of endogenous hormones of *Aloe vera* var. *chinensis* under water stress(水份胁迫下中华芦荟内源激素的变化研究)[J]. *Seed*(种子), **25**(8):1—3
- Lin DB(林定波), Liu ZQ(刘祖祺). 1994. Effect of cold acclimation and ABA on membrane stability and synthesis of membrane protein in citrus(冷驯化和 ABA 对桉桔柑橘膜稳定性的影响及膜特异性蛋白质的诱导)[J]. *J Nanjing Agric Univ*(南京农业大学学报), **17**(1):1—5
- Wu SR(吴颂如), Chen WF(陈婉芳), Zhou X(周燮). 1988. Enzyme linked immunosorbent assay for endogenous plant hormones(酶联免疫法(ELISA)测定内源植物激素)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), **25**(5):53—561
- Yan HJ(严寒静), Tan F(谈锋). 2001. The relation between abscisic acid, gibberellic acid and semilethal temperature of *Ardenia jasmminoides* Ellis leaves as temperature fell(自然降温过程中梔子叶片脱落酸,赤霉素与低温半致死温度的关系)[J]. *J Southwest China Normal Univ:Sci Nat Edi*(西南师范大学学报.自然科学版), **26**(2):195—199
- Yang ZQ(杨章旗), Qiu XJ(丘小军). 2003. Promotion application on supporting technology of superior seed and fast-growgh and high-yield of *Pinus massoniana*(马尾松良种及速生丰产配套技术推广应用)[J]. *Guangxi Fore Sci*(广西林业科学), **32**(1):1—6
- Zhao CJ(赵春江), Kang SJ(康书江), Wang JH(王纪华),等. 2000. Study on relations between plant endogenous hormones and cold resistance in wheat(植物内源激素与不同基因型小麦抗寒性关系的研究)[J]. *Acta Agric Boreal-Sin*(华北农学报), **15**(3):51—54