

文章编号: 1000-5692(2000)01-0024-04

水分胁迫下 3 种针叶树幼苗抗旱性与硝酸还原酶和超氧化物歧化酶活性的关系

谢寅峰, 沈惠娟

(南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏南京 210037)

摘要: 采用 PEG (6000) 根际渗透胁迫处理, 测定了水分胁迫下马尾松、火炬松、水杉幼苗硝酸还原酶(NR)和超氧化物歧化酶(SOD)活性变化。结果表明, 在水分胁迫下各苗木 NR 和 SOD 活力都呈下降趋势。NR 和 SOD 活性以及 RWC 两两间均呈明显的线性正相关。从 3 个树种抗旱性与 NR 和 SOD 活性下降程度来看, 抗旱性较强的马尾松 NR 和 SOD 活性下降幅度均最小; 抗旱性较差的水杉 NR 活性下降幅度最大, SOD 居第 2 位, 抗旱性居中的火炬松 NR 活性下降幅度居第 2 位, 而 SOD 居第 1 位。表明 3 个树种抗旱性与胁迫下 NR 活性呈明显正相关, 而与 SOD 活性没有明显的相关性。NR 活性可以作为这 3 个树种间抗旱能力评定的有效生化指标, SOD 活性可以作为参考指标。表 2 参 15

关键词: 针叶树; 水分胁迫; 硝酸还原酶; 超氧化物歧化酶; 抗旱性

中图分类号: S718.43; Q945.17 **文献标识码:** A

硝酸还原酶(NR)是高等植物氮素同化的关键酶, 在植物生产发育中具有重要作用^[1], 可作为作物育种和营养诊断的生化指标^[2]。近年来一些研究发现 NR 活性变化与水分胁迫关系密切, 但对 NR 活性与林木抗旱性关系研究尚少, NR 能否作为林木抗旱性生化指标, 有待于进一步研究和证实。超氧化物歧化酶(SOD)是植物细胞中清除自由基的最重要的酶之一, 与逆境及衰老生理关系密切, 虽然对于 SOD 在水分胁迫下的作用机理, 与膜脂过氧化水平、膜透性相关分析等方面已有较多的研究, 但对于不同植物之间尤其是林木间抗旱性与 SOD 活性关系研究尚少。

本文以抗旱能力不同的 3 个针叶树种为实验材料, 研究了水分胁迫下 NR 和 SOD 活性变化与各树种间抗旱性之间的关系, 为树木抗旱能力评估生化指标的筛选与确立提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料为马尾松 (*Pinus massoniana*)、火炬松 (*Pinus elliotti*) 和水杉 (*Metasequoia glyptostroboides*) 1 年生播种苗。

1.2 试验方法

1.2.1 水分胁迫处理 见文献[3]。

收稿日期: 1999-09-11

基金项目: 林业部重点攻关资助项目(94-08-02)

作者简介: 谢寅峰(1961—), 男, 浙江余杭人, 讲师, 硕士, 从事树木生理生化研究。

1.2.2 NR 活性测定 参照苏梦云等^[4]和周树等^[5]体内测定法, 略加改动。供试小枝先在含 50 mol KNO₃ 溶液中进行光诱导 12 h, 光照强度 5 000 lx。诱导后小枝用蒸馏水洗净, 吸干, 剪成约 0.5 cm 切段, 取 0.5 g, 加入 20 mL 含 0.1 mol KNO₃ 的磷酸缓冲液 (pH 7.5, 含 30 mg °kg⁻¹ 正丙醇)。另取 1 份用 20 mL 0.1 mol 磷酸液冲液代替, 作为空白, 放入真空干燥器中抽气, 反复几次, 使叶片完全沉于液面下, 置黑暗中 35 °C 保温 1 h, 取出后振荡 2 min, 然后吸取反应液 2 mL, 加入 2 mL 10 mg °kg⁻¹ 氨基苯磺酰胺和 2 mL 0.2 mg °kg⁻¹ 甲萘胺, 静置 20 min, 测定 540 nm 光吸收。

1.2.3 SOD 活性测定 参照王爱国方法^[6]。

2 结果与分析

2.1 水分胁迫下 3 种幼苗叶 NR 和 SOD 活性变化比较

2.1.1 NR 活性变化 表 1 显示: 在水分胁迫下 3 个树种 NR 活性均呈现明显的下降趋势, 随着胁迫时间延长, 下降幅度逐渐增大。在胁迫 12 h 后, 火炬松和水杉 NR 活性下降了 50% 左右, 马尾松也下降近 25%; 胁迫 96 h 后, 水杉的 NR 活性已接近于零, 而下降幅度最小的马尾松也下降了 3.4 倍。表明 NR 对水分胁迫非常敏感。从各树种 NR 活性下降幅度看, 在胁迫后各时间点上均为马尾松下降幅度最小, 火炬松其次, 水杉最大, 表明了相同强度的水分胁迫对 3 个树种 NR 活性影响程度的差异。

表 1 水分胁迫下 3 种针叶树幼苗 NR 和 SOD 活性变化

Table 1 Changes of NR and SOD activities in seedlings under water stress

树 种	0 h		12 h		24 h		48 h		96 h	
	NR	SOD	NR	SOD	NR	SOD	NR	SOD	NR	SOD
马尾松	100	100	75.21	105.75	50.40	97.78	34.37	89.12	29.2	72.05
火炬松	100	100	50.43	103.23	40.81	95.47	28.8	71.69	19.6	40.38
水 杉	100	100	48.11	101.96	37.23	105.76	25.10	83.79	5.43	47.17

说明: 以各时间点对照酶活性为 100

2.1.2 SOD 活性变化 表 1 显示: 水分胁迫下 3 个树种 SOD 活性也呈现下降趋势, 但与 NR 活性变化有所不同。SOD 活性在短时间内 (24 h) 能基本保持稳定或略有升高。随着胁迫时间的增加, 酶活性逐渐降低, 至 48 h 后才呈现迅速的下降。从 3 个树种的下降幅度看, 显然, 马尾松下降幅度最小, 水杉其次, 火炬松最大。表明了水分胁迫对 3 个树种 SOD 活性影响的差异, 同时也反映了胁迫下 SOD 活性变化与 NR 活性变化有所不同。

文献[7] 研究测得的相对含水量与 NR 活性 (r_1) 相对含水量与 SOD 活性 (r_2) 及 SOD 活性与 NR 活性 (r_3) 的相关分析表明 (表 2), 在水分胁迫下, 每种幼苗的 NR、SOD 和相对含水量间均呈现明显的线性正相关, 反映了这 3 个指标间的紧密关系。由于 RWC 的变化可以作为水分胁迫程度的指标^[8], 因而 NR 和 SOD 的在水分胁迫下的变化可以在一定程度上反映这 3 种林木所遭受胁迫伤害的程度。

2.3 3 种树木抗旱性与水分胁迫下 NR 和 SOD 活性的关系

我们已在文献[3, 7] 中研究了马尾松、火炬松和水杉等幼苗在水分胁迫时的水势、相对含水量、叶保水力、根系活力、膜透性以及多项水分参数。结果表明, 这 3 种苗木抗旱性存在明显的差异, 他们的抗旱能力顺序为马尾松 > 火炬松 > 水杉。

本研究的测定结果表明, 3 个树种中抗旱能力与胁迫下 NR 活性呈明显的正相关, 而与 SOD 活力没有明显的相关性, 但对于马尾松和火炬松来说, 抗旱性与胁迫下 SOD 活性间呈正相关。

表 2 水分胁迫下 3 种幼苗 NR、SOD 和相对含水量间相关系数

Table 2 Correlation coefficients between activities of NR, SOD and relative water content in seedlings under water stress

树种	r_1	r_2	r_3
马尾松	0.916	0.965	0.781
火炬松	0.814	0.994	0.746
水 杉	0.974	0.842	0.697

说明: r_1 为相对含水量与 NR 活性的相关系数; r_2 为相对含水量与 SOD 活性的相关系数; r_3 为 NR 活性与 SOD 活性的相关系数

3 讨论

NR 普遍存在于高等植物的叶中, 其活性除了受氮素水平、光照和温度等因素影响外^[9], 显然还受水分状况的影响。本研究结果以及周国璋等在杨树无性系^[9]、陈颖在银杏和火炬松中的研究^[10]都表明了相同的结果, 即在轻度水分胁迫下各树种的NR 就出现明显的下降, 反映了树木NR 对水分胁迫反应的敏感性和普遍性。水分胁迫下NR 活力下降很可能是通过氮素水平调节的。NR 位于质膜的内侧^[11], 它能利用细胞质中的 NO_3^- 贮存于液泡内^[12], 因此细胞质内 NO_3^- 含量是体内NR 活性的主要限制因子。Shaner 和 Bayer 报道 NO_3^- 的上运通量调节着地上部分NR 活性; 维持高水平NR 活性则依赖于根部 NO_3^- 不断的供应, 水分胁迫下NR 活性下降的主要原因可能就在于根部 NO_3^- 向地上部分的运输通量减少的缘故。在胁迫下由于根系代谢活力的下降, 不但影响了植物水分的吸收和运输, 更主要的是阻碍了 NO_3^- 的吸收, 从而影响了叶NR 活力^[13]。我们以前的研究表明, 马尾松、火炬松和水杉在水分胁迫下根系活力都呈明显的下降, 而且胁迫下3种树木的根系活力与它们的抗旱性之间存在明显的正相关。这一结果与本文的研究结果即胁迫下3种树种NR 活性与它们抗旱性间呈正相关, 是完全吻合的。

硝酸还原酶是植物氮素同化中的关键酶。在一定程度上它代表了植物代谢和同化作用的水平。研究表明, 其活力可作为无性系生长潜势预测以及种实产量预测有效生化指标^[9]。在干旱胁迫下树木保持高的NR 活性对其抗旱性具有重要意义, 它反映了树木在干旱条件下能维持较高的生产力。在持续的干旱条件下树木的抗旱能力主要表现在耐旱生产力和原生质忍耐脱水方面^[14]。从本文研究结果表明, 抗旱能力强的树种能维持胁迫下高的NR 活性。这是与其具有较高的耐旱生产力相一致的。

SOD 是植物体内清除自由基的最重的酶之一, 在水分胁迫下其活力总体上呈下降趋势。这一结果在其他植物中也已得到证实。胁迫下酶活性下降, 可能主要是由于酶降解的增加和合成减慢所致。胁迫下大量自由基的累积使酶结构和功能遭到破坏可能是导致SOD 活性下降原因之一^[15]。

SOD 在胁迫下的主要作用是清除由胁迫而产生的大量自由基。由于这些自由基可以对细胞原生质尤其是膜结构造成伤害, 因此胁迫下高的SOD 活性对保护细胞免受伤害, 提高原生质忍耐能力具有重要意义^[15]。本文研究结果表明, 在水分胁迫下, 马尾松和火炬松在胁迫下的SOD 活性与它的抗旱能力间呈正相关, 但在3个树种之间不存在相关性。这可能是由于SOD 只是细胞内清除自由基酶系统中的一种酶, 另外细胞内还存在清除自由基的非酶系统。因此, SOD 所起的作用在不同植物中有所不同, 在水分胁迫下其活性大小不能完全代表原生质忍耐脱水能力。

从胁迫下各树种NR 活性、SOD 活性和相对含水量相关分析表明, NR 和SOD 活性都能较好反映每种树木胁迫下受伤害的程度。NR 和SOD 活性间相关系数(0.69~0.78)表明这2个指标间既有密切关系, 又具各自的独立性。作为抗旱指标来说, NR 活性可以作为3种树木抗旱能力评定的有效生化指标, 而SOD 活性可作为参考指标。

需要说明的是, 本文的研究是在3种针叶树中进行的, 研究结果是否具有普遍性还需在其他树木中进一步证实。

参考文献:

- 1 汤玉玮, 林振武, 陈敬祥. 硝酸还原酶活力与作物耐肥性的相关性及其在生化育种上应用的探讨[J]. 中国农业科学, 1985, 18(6): 39~45.
- 2 林振武, 孙惠珍, 陈敬祥. 硝酸还原酶活力的体外测定[J]. 植物生理学通讯, 1985, (3): 33~35.
- 3 谢寅峰, 沈惠娟, 罗爱珍. 水分胁迫下南方4种针叶树幼苗水分参数的测定[J]. 南京林业大学学报, 1999, 23(1): 41~44.
- 4 周国璋, 苏梦云. 杉木硝酸还原酶的初步研究[J]. 林业科学, 1988, 24(2): 156~161.
- 5 周树, 郑相穆. 硝酸还原酶体内分析方法的探讨[J]. 植物生理学通讯, 1985, (1): 47~49.
- 6 王爱国, 罗广华, 邵从本, 等. 大豆种子超氧歧化酶的研究[J]. 植物生理学报, 1983, 9(1): 77~84.
- 7 谢寅峰, 沈惠娟, 罗爱珍, 等. 南方7个造林树种幼苗抗旱生理指标的比较[J]. 南京林业大学学报, 1999, 23(4): 13~16.
- 8 Hsiao T C. Plant responses to water stress[J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 1973, 24: 519.

- 9 周国璋, 苏梦云. 树木硝酸还原酶的研究概况与应用前景[J]. 林业科学研究, 1990, 3(6): 601~607.
- 10 陈颖. 南方主要造林树种幼苗抗旱性研究[D]. [硕士学位论文]. 南京: 南京林业大学, 1997.
- 11 Campbell W H. Nitrate reductase and its role in nitrate assimilation in plant [J]. *Plant Physiol* 1988, 74: 214~219.
- 12 Martinola E, Heck U, Wiemker A. Vacuoles as storage compartments for nitrates in barley leaves [J]. *Nature*, 1981, 289: 292~293.
- 13 Shaner D L, Boyer J S. Nitrate reductase activity in maize leaves (1) Regulation by nitrate flux [J]. *Plant Physiol*, 1976, 58: 499~504.
- 14 李吉跃. 太行山区主要造林树种耐旱特性的研究(IV) [J]. 北京林业大学学报, 1991, 3(增刊 2): 265~279.
- 15 王宝山. 生物自由基与植物膜伤害[J]. 植物生理学通讯, 1988, (2): 12~16.

Correlation of nitrate reductase and superoxide dismutase activities with drought resistance in seedlings of three conifer species under water stress

XIE Yin-feng, SHEN Hui-juan

(College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

Abstract: The activities of nitrate reductase (NR) and superoxide dismutase (SOD) were studied in seedlings of *Pinus massoniana*, *Pinus taeda* and *Metasequoia glyptostroboides* under osmotic stress by PEG (6000). The results showed that the activities of NR and SOD were all decreased in three seedlings under stress. The order of NR activity under stress was *Pinus massoniana* > *Pinus taeda* > *Metasequoia glyptostroboides*. The order of SOD activity was *Pinus massoniana* > *Metasequoia glyptostroboides* > *Pinus taeda*. Because the drought resistance ability was *Pinus massoniana* > *Pinus taeda* > *Metasequoia glyptostroboides* (based on the former studies), there was a positive correlation between the activity of NR and drought-resistance in these seedlings under water stress, but there was no significant correlation between the SOD activity and drought-resistance. The conclusion obtained from this study reflected that the activity of NR could be used as an effective biochemical index for the criterion of drought-resistance in the three seedlings.

Key words: coniferous trees; water stress; nitrate reductase; superoxide dismutase; drought resistance