

不同冻害程度对库尔勒香梨抗氧化酶活性的影响

林彩霞, 薛根生, 任晓燕

(新疆生产建设兵团 第二师农业科学研究所, 新疆 库尔勒 841005)

摘 要:以栽培管理基本相同的库尔勒香梨梨树枝条为试材,检测了不同冻害程度下,11组库尔勒香梨枝条超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的活性,研究冻害程度对抗氧化酶活性的影响。结果表明:不同冻害程度下库尔勒香梨枝条的 SOD 活性为 458.59~589.72 U/g, POD 活性为 2.28~11.56 U·g⁻¹·min⁻¹, CAT 活性为 0.50~4.93 U·g⁻¹·min⁻¹;与无冻害的对照组相比受冻后的枝条 SOD 活性均有显著性升高,POD 与 CAT 活性受冻前与受冻后无显著性差异变化。

关键词:库尔勒香梨;抗氧化酶活性;冻害程度

中图分类号:S 661.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)06-0015-04

库尔勒香梨属蔷薇科梨属中的白梨系统,原产新疆库尔勒地区,为瀚海梨(新疆梨的原始种)和鸭梨的自然杂交种^[1]。库尔勒香梨是新疆的名、优、特色水果,栽培历史已有 1 400 多年,产于新疆东南部巴州境内的孔雀河畔。香梨产业发展迅速,至 2011 年,香梨各个产区的种植总面积达 6.155 万 hm²,结果面积达 4.05 万 hm²,总产量 23.2232 万 t,直接总产值 10 亿元以上。香梨已成为新疆农业持续增效,农民不断增收的支柱产业^[2]。

经过长期的栽培驯化,香梨具有了较强的适应性和抗逆性。但随着栽培面积的持续扩大和不利的天气条件以及近 20~30 年的气候异常,近几年冬季低温造成香梨树体冻害,使树势抵抗力下降,抵御各种病虫害的能力急剧下降,已严重影响了库尔勒香梨的正常生长发育,因冻害导致大面积树体冻死,导致香梨果品严重下降。目前冻害严重困扰库尔勒香梨的发展,只有探究冻害发生的原因,积极探索冻害预防及防治技术,才能从根本上解决香梨产业发展的瓶颈问题^[3]。

低温下由于植物对氧气的利用能力降低,多余的氧气能在代谢过程中被转化成对植物有毒害作用的活性氧(ASO)。过剩的氧气对需氧生物有潜在的毒性,必须通过抗氧化系统及时清除。郭子武^[4]对玉米研究表明,低温胁迫下玉米超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等活性改变;经低温胁迫适应的玉米其抗氧化系

统活力增强;耐低温胁迫的能力也明显增强,说明低温对这些酶有一定诱导作用,而低温诱导产生的酶在一定程度上缓解了植物氧化性伤害;但随氧化程度的加重,植物细胞受到伤害加重甚至死亡,酶合成的量降低以及不断氧化使酶含量和活性降低并最终失活。安华明等^[5]发现刺梨果实和叶片内都具有较高的 SOD 活性,叶片中具有较高的 POD 和 CAT 活性。在果实中 POD 活性很低,后期降至检测不到的水平,整个生育期都未能检测到 CAT 活性。“冬枣”、“迎白露”和“中华大枣”3 个枣品种对 SOD、POD 和 CAT 3 种酶的依赖程度不同,“冬枣”和“中华大枣”叶片内 MDA 含量的调节比较依赖于 CAT,“迎白露”则更依赖 3 种酶的共同作用^[6]。不同植物种类、不同品种、不同器官的抗氧化系统具有不同的响应机制。

该试验通过检测库尔勒香梨不同冻害程度的枝条,分析不同冻害程度对库尔勒香梨抗氧化酶活性的影响,以为库尔勒香梨抗寒性栽培生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为不同冻害程度下的 11 组香梨枝条样品,每个样品随机抽取粗度为 0.6~0.8 cm 的枝条(每枝 6~8 个芽)作为试材,每个样品 5~10 枝条,每个样品 3 次重复。

1.2 试验方法

供试材料取自新疆生产建设兵团第二师农业科学研究所,2013 年根据发生冻害的果园设定枝条发生冻害的标准,枝条轻度冻害:枝条表面出现少量黑色斑点,髓部变色;枝条重度冻害:韧皮部、木质部呈全死状态,韧皮部变色。按以上标准全部取树势一致的外围 1 年生枝

第一作者简介:林彩霞(1967-),女,湖北黄梅人,高级农艺师,现主要从事果树生理技术和果树育种种质资源收集整理等研究工作。

基金项目:国家农业科技成果转化资金资助项目(2012GB2G410531);

新疆生产建设兵团第二师农业科技攻关资助项目(2013NYGG10);

新疆生产建设兵团科技攻关计划资助项目(2011BA003)。

收稿日期:2014-11-13

条,以正常枝条样品1为无冻害处理对照。样品2~7为轻度冻害处理,样品8~11为重度冻害处理。

1.3 项目测定

1.3.1 酶液的配置 酶液提取按李合生^[7]的方法,取用转笔刀碾碎的枝条0.5 g,放入预冷的研钵中,加5 mL预冷的0.05 mol/L PBS(pH 7.8)在冰浴上研磨成浆,在4℃,10 000 r/min下离心20 min,分离上清液,4℃下保存备用。该上清液即为酶提取液。

1.3.2 SOD活性测定 按邹琦^[8]显色法测定。吸取酶液20 μL加入3 mL反应液(0.05 mol/L PBS 30 mL, 130 mmol/L Met 6 mL, 750 μmol/L NBT 6 mL, 100 μmol/L EDTANa 6 mL, 20 μmol/L 核黄素 6 mL, 蒸馏水 5 mL),同时取3支试管,2支做对照,1支做空白(不加酶液,以缓冲液代替),2组对照在4 000 lx光照下反应20 min,反应结束后,用黑布罩盖上试管终止反应。以遮光的对照管作为空白调零,在560 nm波长下测定各管的吸光度,测定光密度SOD活性单位以抑制NBT光化还原的50%为1个酶活性单位,按下式计算SOD活性。SOD活性(U/g)=[(A₀-A_s)×V]/(A₀×0.5×FW×a),式中,A₀:照光对照管吸收值,A_s:样品管的光吸收值,V:样液总体积(mL),a:测定时样品用量(mL),FW:样品鲜重(g)。

1.3.3 POD活性测定 按李合生^[7]方法测定。取酶液50 μL加入3 mL反应液(0.1%愈创木酚 28 μL,少量酒精,30% H₂O₂ 19 μL),在470 nm下测定吸光度,每隔1 min读数1次,共读数3次。以1 min内A₄₇₀减少0.1的酶量为1个酶活单位(U)。POD活性(U·g⁻¹·min⁻¹)=ΔA₄₇₀×V/(V_a×W)=ΔA₄₇₀×5/(0.1×0.5)=ΔA₄₇₀×100。式中,V:样液总体积(mL),V_a:测定时样品用量(mL)。

1.2.4 CAT活性测定 按李合生^[7]方法测定。取酶液100 μL加入2.5 mL反应液(pH 7.0 Tris-HCl 20 mL, 200 mmol/L H₂O₂ 5 mL)在240 nm下测定吸光度,每隔1 min读数1次,共读3次。以1 min内A₂₄₀减少0.1的酶量为1个酶活单位(U)。CAT活性(U·g⁻¹·min⁻¹)=ΔA₂₄₀×5/(0.1×0.5)=ΔA₂₄₀×100。

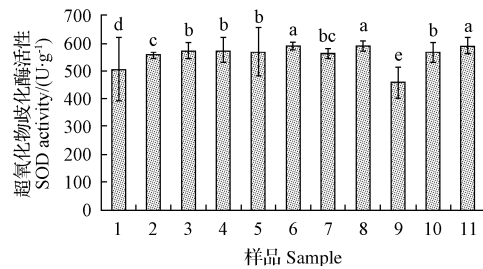
1.4 数据分析

试验数据采用Excel 2003和SPSS 17.0软件进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 不同冻害程度对库尔勒香梨枝条SOD活性的影响

由图1可以看出,不同冻害程度下香梨的SOD活性波动于458.59~589.72 U/g,其中第11组的SOD活性最高,为589.72 U/g,其次是第8组589.14 U/g和第6组588.96 U/g,第9组最低为458.59 U/g。由图1还可以看出,与无冻害的对照相比,除第9组外,其余9组受冻后的枝条SOD活性均有显著性升高,其中冻害严



注:不同小写字母代表在0.05水平上显著。下同。

Note: The different lowercase letters show significant difference at 0.05 level. The same below.

图1 不同冻害程度下SOD活性比较

Fig. 1 The comparison in SOD activity of various levels of frost damage

重的第11组与对照组第1组差异性最明显,升高了83.51 U/g。香梨样品枝条经过不同冻害处理后,不同冻害程度间SOD活性无明显显著性差异规律。

2.2 不同冻害程度对库尔勒香梨枝条POD活性的影响

由图2可以看出,不同冻害程度下香梨的POD活性波动于2.28~11.56 U·g⁻¹·min⁻¹,其中第11组的POD活性最高为11.56 U·g⁻¹·min⁻¹,其次是第4组9.11 U·g⁻¹·min⁻¹和第9组8.44 U·g⁻¹·min⁻¹,第6组最低为2.28 U·g⁻¹·min⁻¹。由图2还可以看出,与无冻害的对照组相比,除第4、9、11组POD活性显著性升高外,其余各组与对照组相比POD活性差异均不显著,POD活性最高的第11组与对照组相差6.39 U·g⁻¹·min⁻¹。香梨样品枝条经过不同冻害处理后,不同冻害程度间POD活性无明显显著性差异规律。

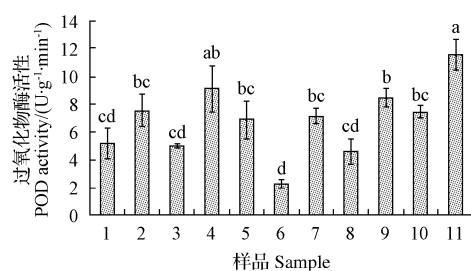


图2 不同冻害程度下POD活性比较

Fig. 2 The comparison in POD activity of various levels of frost damage

2.3 不同冻害程度对库尔勒香梨枝条CAT活性的影响

由图3可以看出,不同冻害程度下香梨的CAT活性波动于0.50~4.93 U·g⁻¹·min⁻¹,其中第5组的CAT活性最高为4.93 U·g⁻¹·min⁻¹,其次是第6组2.58 U·g⁻¹·min⁻¹和第10组2.22 U·g⁻¹·min⁻¹,第3组最低为0.13 U·g⁻¹·min⁻¹。由图3还可知,与无冻害的对照组相比,除第5组CAT活性差异显著升

高外,其余各组与对照组 CAT 活性差异均不显著,CAT 活性差异显著的第 5 组与对照组相差 $3.64 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。香梨样品枝条经过不同冻害处理后,不同冻害程度间 CAT 活性无明显显著性差异规律。

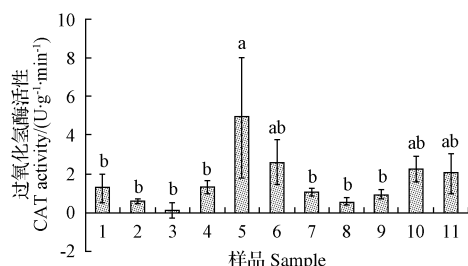


图 3 不同冻害程度下 CAT 活性比较

Fig. 3 The comparison in CAT activity of various levels of frost damage

3 讨论与结论

库尔勒香梨的抗冻力中等,一般情况下,经过正常的越冬锻炼后,冬季可耐 -20°C 的低温,当气温低于 -22°C 时香梨树开始受冻。梨树在不同的生长期耐寒能力也不同,而不同时期低温出现的强度及持续时间不同,所造成的危害也各有不同^[9]。

抗冻性是果树对低温环境的长期适应并且通过自身的遗传变异和自然选择而获得的一种适应性^[10],关于 SOD、POD 与植物抗寒性的关系已有许多报道,据邹志荣等^[11]报道,辣椒幼苗经 5°C 低温胁迫后,SOD 和 POD 活性升高。马德华等^[12]以黄瓜为试材研究认为,经低温胁迫后 POD 活性均显著下降,耐寒性强的品系 SOD 活性上升,耐寒性弱的品系 SOD 活性则降低。李建设等^[13]对茄子幼苗进行低温胁迫后表明,SOD 和 POD 活性升高,低温胁迫下耐寒性强的品种能保持更高的 SOD 和 POD 等保护酶活性。SOD 和 POD 作为植物系统防御外界不良环境的保护酶,其酶活性与植物抗寒性呈一定的相关性。有研究表明,低温可使植物细胞内的 SOD 活性降低,并表现为抗寒性差的品种 SOD 活性下降剧烈,抗寒性强的品种 SOD 活性下降缓慢^[14]。但也有报道提出,低温能使植物 SOD 活性增强,而且耐寒性强的品种提高幅度较大,并认为 SOD、CAT 和 POD 活性提高可作为品种抗寒性的生理指标之一^[15]。

SOD 是植物处于逆境中最主要的一种抗氧化酶,它可以及时将活性氧自由基歧化为 H_2O_2 ,提高植物组织的抗氧化能力,它和 CAT、POD 协同作用防御活性氧或其它过氧化物对细胞膜系统的伤害。SOD 活性的大小与植物体的抗性是密切相关的^[16]。在逆境条件下,SOD 能被活性氧诱导产生,从而减轻对细胞膜的伤害^[17]。

在不同冻害程度下受冻后的枝条 SOD 活性均有升高趋势,但不同冻害程度间 SOD 活性无明显显著性差异规律。

POD 既能清除在氧化代谢过程中产生的 H_2O_2 ,又能参与膜外活性氧的产生,主要消除 SOD 产生的过量的 H_2O_2 , H_2O_2 对植物的毒害作用虽然没有超氧自由基、羟基自由基等大,但它的积累可以使 CO_2 的固定效率降低,特别是 H_2O_2 可以与超氧阴离子相互作用产生更有毒害的自由基,因此必须使 H_2O_2 维持在一个低水平^[18]。

过氧化氢酶(CAT)存在于过氧化物酶体中,CAT 是过氧化物酶体的标志酶,它的作用是将 H_2O_2 水解,清除细胞产生的毒性物质对细胞起保护作用,是一类广泛存在于生物体内防御系统的关键酶之一,植物细胞中的 CAT 在清除活性氧、维持植物体内活性氧代谢平衡方面起着重要作用^[19]。

试验对不同冻害程度下 11 组库尔勒香梨梨树枝条的抗氧化酶活性进行了测定。结果表明,不同冻害程度下香梨的 SOD 活性为 $458.59 \sim 589.72 \text{ U/g}$,不同冻害程度下香梨的 POD 活性为 $2.28 \sim 11.56 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$,不同冻害程度下香梨的 CAT 活性为 $0.50 \sim 4.93 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。由差异显著性分析可知,与无冻害的对照组相比,受冻后的枝条 SOD 活性均有显著性升高,POD 与 CAT 活性受冻前与受冻后差异不显著。香梨样品枝条经过不同冻害处理后,不同冻害程度间 SOD、POD、CAT 活性均无明显显著性差异规律。

参考文献

- [1] 张钊,王野苹. 香梨品种源问题的探讨[J]. 果树科学,1993,10(2): 113-115.
- [2] 于强. 2011 年库尔勒香梨产业发展报告[C]. 库尔勒香梨产业发展研讨会,2011-11-19.
- [3] 任波,熊仁次,陈小飞,等. 库尔勒香梨树冻害发生原因及防治途径探讨[J]. 中国科技投资,2013(14):189-190.
- [4] 郭子武. 植物低温胁迫响应的生化与分子生物学机制研究进展[J]. 中国生态农业,2004,12(2):54-57.
- [5] 安华明,樊卫国,刘庆林,等. 刺梨果实和叶片发育过程中抗坏血酸和抗氧化酶的协同变化[J]. 园艺学报,2007,34(5):1293-1296.
- [6] 刘娟,孙培琪,周广芳,等. 枣树叶片衰老过程中丙二醛含量和抗氧化酶活性的变化[J]. 落叶果树,2011(2):1-3.
- [7] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:164-169.
- [8] 邹琦. 植物生理学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:163-166.
- [9] 翟林涛,张少华. 库尔勒香梨存在的问题及发展对策[J]. 果农之友,2002(5):9.
- [10] 周多进,牛建新,潘新仿. 库尔勒香梨的冻害预防与补救措施[J]. 安徽农学通报,2004,10(6):58-59.
- [11] 邹志荣,陆幅一. 低温对辣椒幼苗膜脂过氧化和保护酶系统变化的影响[J]. 西北农业大学学报,1994(3):51-56.
- [12] 马德华,孙其信. 温度逆境对不同品种黄瓜幼苗膜保护酶系统的影响[J]. 西北植物学报,2001,21(4):656-661.
- [13] 李建设,耿广东,程智慧. 低温胁迫对茄子幼苗抗寒性生理生化指标的影响[J]. 西北农林科技大学学报,2003,31(1):90-92.
- [14] 曾韶西,王以柔,李美如. 不同胁迫预处理提高水稻幼苗抗寒期间膜保护系统变化比较[J]. 植物学报,1997,39(4):308-314.

DOI:10.11937/bfyy.201506005

高温干旱对库尔勒香梨光合特性的影响

穆 蓁 蓁¹, 王 一 静¹, 艾 合 买 提 · 阿 布 都 热 依 木², 克 热 木 · 伊 力¹

(1. 新疆农业大学 林学与园艺学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆巴音郭楞蒙古自治州库尔勒市香梨研究中心, 新疆 库尔勒 841000)

摘 要:以库尔勒香梨为试材,设置高温干旱、灌水、喷水3个处理,研究高温和干旱对库尔勒香梨光合特性和叶绿素含量的影响。结果表明:高温干旱条件下库尔勒香梨叶片的净光合速率变化呈“双峰型”,受气孔限制且有“午休”现象;蒸腾速率和气孔导度变化趋势相同,呈凹型;细胞间二氧化碳浓度可能受净光合速率的影响呈现出中午降低的趋势。灌水处理下库尔勒香梨叶片的净光合速率变化呈“单峰型”;蒸腾速率与气孔导度变化趋势一致;细胞间二氧化碳浓度变化幅度较小,可能是由于气孔发生了不均匀关闭。高温干旱处理导致库尔勒香梨叶片的叶绿素a、叶绿素b、叶绿素的总含量降低。而灌水和喷水处理,则显著提高了叶绿素的含量。

关键词:高温干旱;库尔勒香梨树;光合特性;叶绿素

中图分类号:S 661.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)06-0018-05

光合作用是植物生长过程中重要的生理过程。光合作用形成的产物是树体生长和结实的基础,决定着果

第一作者简介:穆蓁蓁(1991-),女,河南洛阳人,硕士研究生,研究方向为果树栽培与生理。E-mail:626777221@qq.com.

责任作者:克热木·伊力(1962-),男,博士,教授,研究方向为果树栽培与生理。E-mail:karimali@xjau.edu.cn.

基金项目:库尔勒市科技资助项目(2011005);新疆维吾尔自治区果树学重点学科资助项目。

收稿日期:2014-11-24

实的品质。在自然条件下,光照、二氧化碳浓度、温度、相对湿度等外界因素都会对果树的光合作用产生影响^[1]。叶绿素是绿色植物进行光合作用的基础,在一定程度上,叶绿素含量的高低能够直接影响光合速率的大小^[2],其含量的变化与光合速率的衰减有着重要的联系^[3]。温度是果树维持生命活动的必要条件之一,它影响着果树的自然分布和生长发育过程。水分是果树生存的重要因素,也是果树进行蒸腾作用、光合作用、营养物质吸收所不能缺少的^[4]。高温对植物体的生殖器官

[15] 刘德立,禹邦超,余世明,等.超氧化物歧化酶(SOD)与植物抗逆性的关系[J].华中师范大学学报(自然科学版),1993,27(1):83-85.

[16] 孙宗玖.狗牙根新品种抗寒性评价及生理基础的研究[J].中国草地,2003,7(25):25-30.

[17] 马兰涛,陈双林,李迎春.低温胁迫对 *Guadua amplexifolia* 耐寒性生

理指标的影响[J].林业科学研究,2008,21(2):235-238.

[18] 曲柏宏,李玉梅.延边地区梨品种抗寒性研究[J].湖北农业科学,2006(5):616-617.

[19] 张坤生,田荟琳.过氧化氢酶的功能及研究[J].食品科学,2007(1):8-10.

Effect of Different Degrees of Frost Damage on Antioxidant Enzyme Activity of Korla Pear

LIN Cai-xia, XUE Gen-sheng, REN Xiao-yan

(The Agricultural Science Institute of the Second Agricultural Production Division, Xinjiang Production and Construction Corps, Korla, Xinjiang 841005)

Abstract: The Korla pear tree branches which are cultivated under the same condition were used as materials, the activities of SOD, POD and CAT of 11 groups Korla pear tree branches under various levels of frost damage were tested, antioxidant enzymes activity of Korla pear tree branches under different degrees of frost damage were studied. The results showed that in diverse frost damage levels, the activity of SOD was between 458.59—589.72 U/g, the activity of POD was between 2.28—11.56 U · g⁻¹ · min⁻¹, the activity of CAT was between 0.50—4.93 U · g⁻¹ · min⁻¹. Compared with the non-frost damaged ones, the frost damaged ones' SOD was apparently in an increasing tendency. However the activities of POD and CAT had no such difference.

Keywords: Korla pear; antioxidant enzyme activity; freezing degree