

胡杨种子萌发过程中几种相关酶的活性变化

刘亚萍 计巧灵* 周小云

新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046

提要 在室温条件下, 胡杨种子保留冠毛贮藏可适当延长其生命力; 室温贮藏带冠毛的胡杨种子, 前20 d萌发率降低幅度不大。随着种子贮藏时间的延长, 过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性均先上升后下降, 峰值出现时间与种子室温贮藏20 d相对应; 脱氢酶活性先上升后下降再回升, 峰值出现时间也与种子室温贮藏20 d相对应; 酸性磷酸酯酶(ACP)活性与种子萌发率同步下降。室温贮藏40 d的带冠毛胡杨种子仍有22.3%的萌发率。

关键词 胡杨; 种子萌发率; 保护酶; 脱氢酶; 酸性磷酸酯酶

Changes in Relative Enzyme Activities During Germination of *Populus euphratica* Oliv. Seeds

LIU Ya-Ping, JI Qiao-Ling*, ZHOU Xiao-Yun

College of Life Sciences and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

Abstract *Populus euphratica* Oliv. seeds with pappus were beneficial to prolong its vigor under room temperature. Germination percentage of seeds with pappus was not evidently decreased after storage for 20 d. The activities of peroxidase (POD), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) were increased during the early periods of storage, then decreased. The dehydrogenase activity was first increased followed by decrease, then slight increase. Acid phosphoesterase activity was decreased with decreasing of seed germination percentage. After 40 days, germination percentage of the seeds with pappus still remained 23.3% under room temperature.

Key words *Populus euphratica* Oliv.; germination percentage of seeds; protective enzymes; dehydrogenase; acid phosphoesterase

胡杨(*Populus euphratica* Oliv.)是我国干旱荒漠区唯一自然成林的高大乔木树种, 也是我国抗旱和抗盐碱的主要林木树种^[1,2]。目前, 我国胡杨林出现的生态危机主要是多数地区实生幼林自然补充机制受阻, 造成其自然更新能力消失, 最终导致其分布区逐渐缩小^[3]。在新疆地区, 胡杨种子成熟季节恰遇冰峰融化、河水横溢引起夏洪暴发(洪水出现过早或过迟都会使种子失去萌发的机会^[3]), 为种子萌发创造理想的条件, 这一点是胡杨种子萌发后长成幼苗的主要因素。一般认为, 胡杨种子在30 d后几乎完全丧失萌发的能力^[4], 这给以种子人工进行造林带来很大的困难。据此, 本文探索了胡杨种子萌发过程中种子萌发率与其相关酶活性的变化, 以期能为优良种质资源的保存和以种子人工营造胡杨林途径提供参考。

材料与方法

实验用的胡杨(*Populus euphratica* Oliv.)种子

于2004年9月采自新疆生产建设兵团102团(地处古尔班通古特沙漠东缘, 人称东沙窝子)。采集的蒴果装入塑料编织袋中, 放置在室内随其自然开裂散出。每次测定酶活性时, 将开裂蒴果放在100目不锈钢筛上小心揉擦, 以除去冠毛和果壳, 收集过筛后的种子用于实验。

种子萌发时, 取种子100粒, 经75%酒精消毒后, 置于垫有2层湿润滤纸的培养皿中, 放在室内于18~25℃下培养, 第7天时计算种子发芽率。重复5次。

自种子采集日算起, 每隔20 d从蒴果中筛取一批种子萌发, 萌发第7天的幼芽用于测定酶活性, 第4批(最后1次)相隔10 d。重复3次。

过氧化物酶(peroxidase, POD)酶液的提取参照

收稿 2004-12-27 修定 2005-06-28

资助 国家自然科学基金(30460015、30070640)。

*通讯作者(E-mail: wangji@xj.cninfo.net, Tel: 0991-8581529)。

文献5并作改进。取不同时间萌发的芽0.35 g, 加1.5 mL含有 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗坏血酸、 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 巯基乙醇、 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA、 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2 、1% 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和2.0%甘油的 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Tris-HCl缓冲液(pH 7.0),在冰浴中快速研磨。 4°C 下以 $12\,000\times g$ 离心10 min、 $16\,000\times g$ 离心15 min后,取上清液于 -20°C 中保存。酶活性的测定用愈创木酚法^[6]。

过氧化氢酶(catalase, CAT)酶液提取同POD, 酶活性测定用紫外吸收法^[7]。

测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性时,取不同时间萌发的芽0.35 g, 加入2 mL含有 $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA、0.05% Triton X-100、2%不溶性PVP和 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 抗坏血酸的 $50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH 7.0)提取。 4°C 下,以 $1\,000\times g$ 离心5 min、 $16\,000\times g$ 离心20 min后,取上清液于 -20°C 中保存。酶活性测定用氮蓝四唑(NBT)法^[7]。

脱氢酶活性测定参照文献8并作改进。种子在室温下浸泡48 h后,称取0.4 g,放入具塞试管中,将其压破,加入3 mL 0.1%的2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)溶液,盖上盖子,置于 38°C 恒温水浴中(加盖保持黑暗)染色2 h。加入甲醛溶液终止酶反应,准确加入4 mL甲苯,振摇。取有机溶剂层(若有蛋白质影响分层,可以 $15\,000\times g$ 离心10 min),用751-GW型分光光度计测量490 nm处光密度值。根据标准曲线,计算脱氢酶活性。

酸性磷酸酯酶(acid phosphoesterase, ACP)活性测定参照文献9并稍作改进。取0.1 g种子,加1.5 mL $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris缓冲液(pH 7.5),研磨,以超速冷冻离心机 $4\,000\times g$ 离心10 min,上清液即为酶制剂。吸取30 μL 酶液,加入2 mL $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸缓冲液(pH 5.0)和0.2 mL $0.0181 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对硝基苯酚磷酸钠(PNPP)溶液,放在 30°C 恒温水浴中保温10 min。然后,加入2 mL $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH溶液充分混合,终止反应。用751-GW型分光光度计测定410 nm处光密度值,并计算酶活性。

结果与讨论

1 胡杨种子萌发的时间进程

从图1可以看出,胡杨种子在采集后20多天

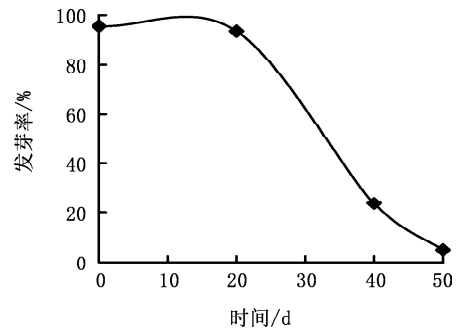


图1 胡杨种子萌发率随时间进程的变化
Fig. 1 Change in germination rate during storage of *P. euphratica* seeds

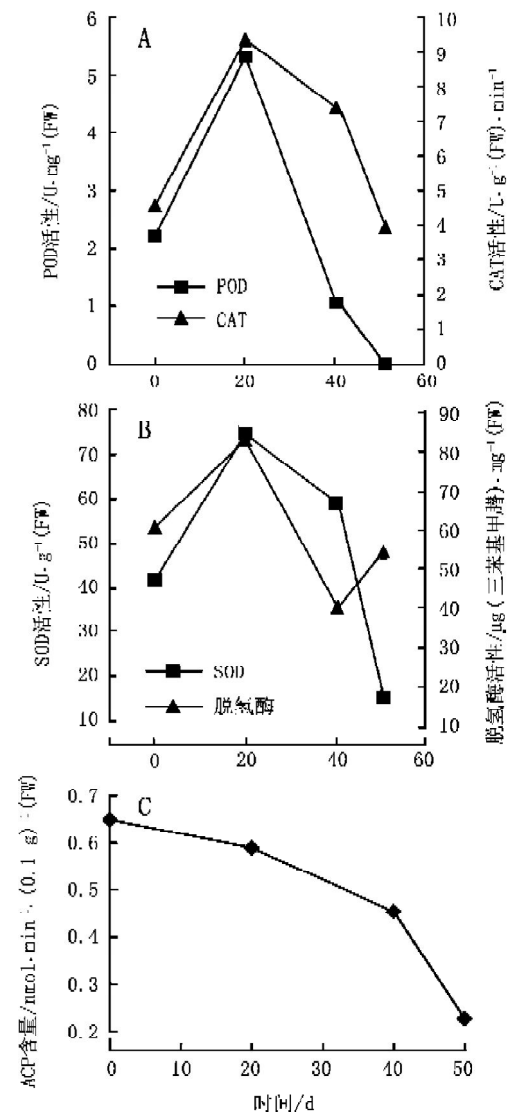


图2 胡杨种子萌发过程中几种相关酶活性的变化
Fig. 2 Changes in relative enzyme activities during germination of *P. euphratica* seeds

内基本上保持100%的萌发率,之后,萌发率很快降低,到40 d时,萌发率降为22.3%,50 d后萌发率很低。据报道,胡杨种子成熟后30 d萌发率降至1%^[4]。我们的结果与此不同。我们发现,保留胡杨种子冠毛,有利于延长种子活力,采集后室温贮藏40 d后仍有22.3%的萌发率。这可能是胡杨种子有适应干旱荒漠环境能力的一种反应,即种子成熟后,随风漂散,若遇夏洪的推迟,它可以通过延长自身的生命力来等待萌发的机会。

2 胡杨种子萌发时几种酶的活性变化

从图2可见:

(1)随着时间进程,POD、CAT和SOD活性大体上都是先上升后下降,但POD变化幅度大,其它两种酶稍缓。它们的酶活性高峰出现的时间都与种子室温贮藏20 d的时间相对应。第1批萌发的芽中3种酶活性低,种子萌发率近100%;第2批萌发的芽中3种酶活性明显升高,但种子萌发率仍近100%,这可能是得到保护酶保护的结果;第3批种子萌发率快速降低,3种酶活性也呈相应的变化。

(2)种子萌发后,脱氢酶活性随着时间进程呈先上升后下降而后期稍有回升的趋势。酶活性高峰出现的时间也与20 d贮藏期相对应。这与已有

报道^[10]基本上相似。

(3)ACP活性在前20 d内保持较高的水平,20 d后酶活性显著下降,萌发率也逐渐下降。

参考文献

- 1 王世绩,陈炳浩,李护群.胡杨林.北京:中国环境科学出版社,1995.83
- 2 康向阳.甘肃胡杨恢复发展的限制因子及对策.中国沙漠,1997,17(1):53~57
- 3 黄培祐.干旱区免灌植被及其恢复.北京:科学出版社,2002.86~103
- 4 新疆生物土壤沙漠研究所沙漠室.胡杨播种育苗.见:宁夏回族自治区农业科学研究所.治沙造林经验选编.北京:农业出版社,1978.126~132
- 5 伍贤进,宋松泉,田向荣等.玉米种子吸胀萌发过程中抗氧化酶活性的变化.吉林农业大学学报,2004,26(1):6~9
- 6 刘西莉,李见强,刘鹏飞等.浸种专用型水稻种衣剂对水稻秧苗生长及抗病性相关酶活性的影响.农药学学报,2000,2(2):41~46
- 7 邹琦.植物生理学实验指导.北京:中国农业出版社,2000.168~169
- 8 张玲,马春晖,段黄金等.新疆高羊茅成熟过程中种子活力变化的研究.西北农业学报,2003,12(2):1~4
- 9 毛培胜,韩建国,王颖等.施肥处理对老芒麦种子质量和产量的影响.草业科学,2001,18(4):7~13
- 10 郑光华.吡啶核苷酸对杨树种子去氢酶活性消失的恢复作用.植物学报,1964,12(4):325~332