

文章编号: 100F 1498(2004) 03 0374 05

仁用杏树多酚氧化酶活性的年变化规律研究

姚延^木寿, 闫海冰, 杨秀清

(山西农业大学林学院, 山西 太谷 030801)

摘要: 对华北地区主要经济树种仁用杏树各器官在不同生育期间四种不同处理下的多酚氧化酶(PPO)活性进行了测定, 结果表明: (1) 仁用杏树体各器官内的多酚氧化酶活性在整个年循环周期内呈规律性变化。叶中PPO活性整体水平在10月份最高; 枝、干、主根、侧根中的PPO活性均以5月和3月极显著地高于7月和10月。(2) PPO活性与仁用杏树体的抗寒性、地上部分的生长发育有关, 并可作为仁用杏树抗寒性的生化指标。(3) Cu、Zn两种营养元素通过影响PPO活性来影响仁用杏树生长。

关键词: 仁用杏; 多酚氧化酶; 年变化规律

中图分类号: S727.33 文献标识码: A

仁用杏(*Armeniaca vulgaris* Lam.)是目前我国北方地区的主要经济树种之一, 近年来造林规模在不断扩大, 但在许多栽培地区, 仁用杏栽培技术较为粗放, 生产力低下并造成成花及幼嫩枝条受冻, 带来巨大经济损失。Cu是某些氧化酶(多酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶、超氧化物歧化酶等)组成成分^[1], 是参与光合作用的蛋白质蓝素的组成成分, 是光合电子传递中有关酶及呼吸链中细胞色素氧化酶的组成成分, 它还参与亚硝酸的还原反应, 与植物光合、呼吸速率、体内光合产物的运转、营养物质循环、植物生长发育及抗逆性密切相关。Zn是羧肽酶(AEC)、吡啶乙酸合成必须的色氨酸酶和碳酸酐酶等酶的组成成分, 也是超氧化物歧化酶的组成成分, 与植物各种生理活动和抗逆性密切相关^[2]; 但目前有关的研究国内外进行的较少, 仅在华北落叶松(*Larix principis-rupprechtii* Mayr)中有过探讨。本文旨在通过对仁用杏Cu、Zn处理后树体内多酚氧化酶活性变化规律的分析, 探讨多酚氧化酶与仁用杏生长发育、生理代谢以及抗逆性等方面的关系, 为提高仁用杏生产力及抗逆性提供科学的理论及实践依据。

1 试验区概况

试验地设在山西农业大学苗圃, 位于37°30' N, 112°45' E。土壤为褐土, pH值为7, 中壤偏黏, 腐殖质含量较少, 肥力中等, 地下水位130 cm, 土壤中有效Zn含量不足1.0 mg·kg⁻¹; 有效Cu含量不足0.3 mg·kg⁻¹。

2 研究方法

2.1 材料与试验设计

供试材料为5年生仁用杏苗, 平均冠幅1.5 m, 平均高约2.5 m, 生长势良好。设置4个处

收稿日期: 2003 02 25

基金项目: 山西省自然科学基金资助项目(991108)

作者简介: 姚延^木寿(1956—), 男, 山西临猗人, 山西农业大学教授, 主要研究方向林木营养。

理, 3 个重复(区组), 每个区组分 4 个小区, 每个小区植仁用杏苗 200 株, 每个处理试验苗共计 600 株, 实验采用随机区组排列。4 个处理分别为: (1) 水处理[Cu(0) Zn(0)] 作为对照; (2) ZnSO₄·7H₂O 处理[Cu(0) Zn(3)]; (3) CuSO₄·5H₂O 处理[Cu(3) Zn(0)]; (4) CuSO₄·5H₂O 与 ZnSO₄·7H₂O 混合处理[Cu(3) Zn(3)]。CuSO₄·5H₂O 的浓度为 $1.9 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, Cu 含量为 $484.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; ZnSO₄·7H₂O 的浓度为 $2.2 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, Zn 含量为 $501.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.2 多酚氧化酶活性的测定

采用 NBT 还原法^[3,4] 提取酶液。缓苗期结束后, 在不同生长期从试验地挖取苗木立即带回实验室, 先用流动水将所取样品表面冲洗干净, 再用无离子水冲洗 2~3 次。用吸水纸吸干样品表面水分, 分别取叶、枝、干、粗根(> 2 mm)、细根(< 2 mm) 鲜样各 0.50 g, 加聚乙烯吡咯烷酮(PVP) 0.25 g 及少许石英砂和 5 mL 磷酸缓冲液(pH 6), 冰浴条件下充分研磨成匀浆, 放入离心管, 匀浆在 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下冷冻离心 10 min, 取上清液为酶提取液。

多酚氧化酶活性的测定方法见文献[5]。取 3 mL 磷酸缓冲液(pH 6) 和 0.3 mL 酶提取液混合均匀, 在 30 °C 条件下反应 1 min, 立即加 1 mL $0.08 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 邻苯二酚反应介质并摇匀, 在 721 分光光度计 $\lambda = 420 \text{ nm}$ 处测吸光值变化。放好后立即读数并记录, 60 s 读 1 次, 共读 5 次。

$$\text{多酚氧化酶活性的计算公式: 酶的活性} (\text{u} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{\Delta}{(0.01 W \cdot t)} \times D$$

Δ ——反应时间内吸光值的变化; W ——鲜样品质量(g); t ——反应时间(min); D ——总酶液为反应系统内酶液的倍数。

以每分钟吸光值改变 0.01 为一个多酚氧化酶单位。酶液的测定做两组重复实验并同时做对照。

3 结果与分析

3.1 仁用杏各器官不同生育期不同处理的多酚氧化酶(PPO)活性

表 1 表明: 不同生育期的仁用杏各器官中的多酚氧化酶活性相差很大, 枝中的 PPO 活性在 5 月份最高, 达 $0.667 \times 10^3 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$, 侧根中的 PPO 活性在 7 月份最低, 仅达 $0.005 \times 10^3 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$, 相差近 80 倍。从全年来看, 地上部分的多酚氧化酶活性普遍高于地下部分, 尤以 5 月和 3 月枝和干中表现得最为明显, 说明在这段时间内, 体内的多酚氧化酶集中向地上部分回流。不同处理间各器官的多酚氧化酶活性无明显差异。

3.2 对各器官不同处理不同生育期 PPO 活性作方差分析和多重比较

分析结果(表 2~5)表明: 叶子中的 PPO 活性在不同生育期的差异显著, 10 月份和 7 月份间的差异最大, 10 月份显著地高于 7 月份, 5 月份次之。处理间的 PPO 活性差异不显著, 但经 Cu、Zn 处理后的 PPO 活性均较高于对照; 枝中 PPO 活性在不同生育期间的差异极显著, 5 月份和 3 月份极显著地高于 10 月和 7 月份, 处理间的 PPO 活性不显著; 干中 PPO 活性在不同生育期间的差异达极显著水平, 5 月份和 3 月份极显著地高于 10 月和 7 月份, 处理间的 PPO 活性差异不显著; 主根中 PPO 活性在不同生育期间的差异达极显著水平, 其中 3 月份极显著地高于 10 月和 7 月份, 5 月份次之, 处理间的 PPO 活性差异不显著; 侧根中 PPO 活性在不同生育期间的差异达极显著水平, 其中 3 月份极显著地高于 7 月份, 显著地高于 10 月份, 5 月份的 PPO 活性较 3 月份偏低, 处理间的 PPO 活性差异不显著。

表1 不同器官在不同生育期各处理下的 PPO 活性

 $\times 10^3 \text{ u}^* \text{ g}^{-1}$

月份	处理	叶			枝			干			主根			侧根		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
3	(0, 0)				0.098	0.165	0.241	0.328	0.166	0.248	0.104	0.166	0.009	0.076	0.158	0.076
	(0, 3)				0.282	0.306	0.199	0.258		0.194	0.110	0.157	0.161	0.086	0.073	0.153
	(3, 0)				0.183	0.244	0.200	0.373	0.234	0.149	0.148	0.070	0.291		0.053	0.099
	(3, 3)				0.137	0.276	0.237	0.206	0.214	0.230	0.060	0.119	0.285	0.108	0.043	0.095
5	(0, 0)	0.186	0.189	0.178	0.312	0.667	0.248	0.300	0.813	0.359	0.186	0.105	0.033	0.040	0.033	0.026
	(0, 3)	0.143	0.263	0.289	0.408	0.347	0.380	0.518	0.263	0.346	0.046	0.182	0.036	0.043	0.122	0.077
	(3, 0)	0.229	0.222	0.225	0.335	0.338	0.398	0.482	0.408	0.382	0.083	0.111	0.085	0.036	0.053	0.121
	(3, 3)	0.145	0.174	0.249	0.348	0.393	0.371	0.418	0.386	0.343	0.093	0.123	0.025	0.078	0.072	0.039
7	(0, 0)	0.096	0.002	0.176	0.049	0.014	0.063	0.092	0.021	0.064	0.017	0.037	0.010	0.037	0.015	0.017
	(0, 3)	0.051	0.152	0.240	0.053	0.018	0.075	0.098	0.051	0.085	0.156	0.007	0.058	0.181	0.005	
	(3, 0)	0.105	0.011	0.112	0.138	0.019	0.056	0.169	0.061	0.076	0.073	0.016	0.019	0.022	0.006	0.024
	(3, 3)	0.184	0.058	0.040	0.083	0.034	0.041	0.064	0.033	0.120	0.009	0.026	0.015	0.035	0.016	0.049
10	(0, 0)	0.236	0.209	0.115	0.158	0.123	0.105	0.017	0.008	0.079	0.062	0.033	0.042	0.037	0.045	0.025
	(0, 3)	0.252	0.376	0.333	0.154	1.133	0.113	0.077	0.054	0.043	0.049	0.028	0.023	0.135	0.027	0.037
	(3, 0)	1.123	0.094	0.201	0.051	0.140	0.110	0.060	0.027	0.051	0.025	0.043	0.034	0.038	0.096	0.049
	(3, 3)	0.356	0.385	0.133	0.113	0.053	0.055	0.050	0.060	0.115	0.032	0.032	0.047	0.032	0.045	0.030

注: 仁用杏树液流动期未长叶; 缺失数据在用 SAS 进行方差分析过程中以点代替。

表2 地上部分各器官在不同处理不同生育期 PPO 活性的方差分析

变异来源	叶			枝			干		
	自由度	平方和	F 值	自由度	平方和	F 值	自由度	平方和	F 值
区组	2	0.0455	< 1	2	0.0058	< 1	2	0.0135	< 1
处理	3	0.0566	< 1	3	0.0050	< 1	3	0.0056	< 1
生育期	2	0.2790	4.27*	3	0.7352	48.71**	3	1.0192	39.67*
处理 × 生育期	6	0.0831	< 1	9	0.0211	< 1	9	0.0277	< 1
误差	22	0.7186		30	0.1509		29	0.2483	
总变异	35	1.1829		47	0.9181		46		

注: ** 差异极显著, * 差异显著。

表3 地上部分各器官 PPO 含量均数间的多重比较

 $(\times 10^3 \text{ u}^* \text{ g}^{-1})$

生育期 (月)	叶		生育期 (月)	枝		生育期 (月)	干	
	PPO			PPO			PPO	
			5	0.378 5aA		5	0.418 1aA	
10	0.317 8aA		3	0.213 8bA		3	0.236 3bA	
5	0.207 7abA		10	0.109 0cB		7	0.077 8cB	
7	0.102 1bA		7	0.053 5dC		10	0.053 4dC	

注: 表中数据后不同大写字母表示差异极显著; 不同小写字母表示差异显著。

表 4 不同处理不同生育期地下部分各器官 PPO 活性的方差分析

变异来源	主根			侧根		
	自由度	平方和	F 值	自由度	平方和	F 值
区组	2	0.000 3	< 1	2	0.001 4	< 1
处理	3	0.002 6	< 1	3	0.009 4	1.98
生育期	3	0.088 3	7.88*	3	0.015 7	3.32*
处理 × 生育期	9	0.014 8	< 1	9	0.007 8	< 1
误差	30	0.112 1		28	0.044 1	
总变异	47	0.218 0		45	0.080 5	

注: ** 差异极显著 * 差异显著。

综上所述可以看出, 仁用杏树体各器官内的多酚氧化酶在整个年循环周期内呈规律性变化, 就每个月份来讲, 植株体内的多酚氧化酶都不是平均分配于各器官内。叶中 PPO 活性整体水平在 10 月份最高达 $3.85 \times 10^2 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$, 从树木生理角度看, 在山西晋中地区, 10 月份气温转低, 苗木开始进入硬化期, 此时树体能在气温转低的环境中通过自身生物调节来增加叶中 PPO^[6] 活性, 以此来抵抗和维持其在低温条

件下的过渡性生长, 属逆境生理型活动^[7,8], 这初步说明 PPO 与树体的抗寒性有关, 并可作为仁用杏树抗寒性的生化指标。枝、干、主根、侧根中的 PPO 活性均以 5 月和 3 月偏高, 且极显著地高于 7 月和 10 月。从 3 月份树液流动期到 5 月份生长初期这段时间树体刚刚度过休眠期, 仁用杏树各种生长条件还达不到最佳水平, 但在这段时期内, 气温开始回升, 土壤中的微生物开始活动, 此时树体自发地提高 PPO 活性来维持体内生命活动的正常进行^[9]。因为较高活性的 PPO 可形成一种自我保护机制^[10], 它有利于不良环境下树体内的代谢产物——酚类化合物转变为具有毒性的醌类物质, 这种醌类物质对病毒有毒害作用^[11], 可有效地防止微生物的侵入。这种作用在 3 月份主根和侧根中体现的最为明显, 以此保护植株地上部分的正常生长发育; 而且从仁用杏不同器官间 PPO 活性差异可以看出, 仁用杏树地上部分各器官的 PPO 活性明显高于地下部分。其中叶全年平均 $0.209 \times 10^3 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$, 枝中为 $0.210 \times 10^3 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$, 干中为 $0.192 \times 10^3 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$, 而根中的 PPO 活性均达不到 $0.10 \times 10^3 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$ 。由此可以看出, PPO 不仅与仁用杏的抗寒性有关, 还与其地上部分的生长发育有关。在仁用杏的生长发育过程中, 为了适应环境, 一些物质代谢循环过程会产生酚类物质^[12], 而这些酚类物质与 PPO 活性相关^[13], 例如叶在受到卷叶蛾类害虫伤害后, PPO 活性能自发提高^[14]。

不同处理间的 PPO 活性差异不显著, 但对 4 种不同处理间的 PPO 活性进行多重比较可以看出其明显的变异趋势为: 单独施 Cu 和单独施 Zn 后(除干外)各器官中的 PPO 活性均增加, 且二者交互施用后 PPO 活性也有所增加, 这就说明处理中 Cu、Zn 元素各自的主效应已明显表现出来, 其互作的效应也有所表现。从树木营养的角度来看, Cu、Zn 这两种营养元素通过影响 PPO 活性来影响植物生长。

表 5 地下部分各器官 PPO 含量均数间的多重比较 $\times 10^3 \text{ u} \cdot \text{g}^{-1}$

生育期(月)	PPO	
	主根	侧根
3	0.139 86 aA	0.092 80 aA
5	0.092 28 aAB	0.061 59 ab AB
10	0.037 50 bB	0.049 67 bAB
7	0.036 78 bB	0.036 75 bB

注: 表中数据后不同大写字母表示差异极显著; 不同小写字母表示差异显著

4 结论与讨论

仁用杏树体各器官内的多酚氧化酶在整个年循环内呈规律性变化。叶中 PPO 活性整体水平在 10 月份最高;枝、干、主根、侧根中的 PPO 活性均以 5 月和 3 月极显著地高于 7 月和 10 月。PPO 与仁用杏树体的抗寒性、地上部分的生长发育有关,并可作为仁用杏树抗寒性的生化指标。Cu、Zn 通过增加 PPO 活性来影响仁用杏树生长。

各处理间 PPO 活性差异不显著,可能与处理所需浓度有关,有待后期工作中不断探索和证明,用来解决平衡施肥问题以指导实践。Cu、Zn 如何影响 PPO 活性及其在仁用杏体内的循环机理需作深入研究。初步认为 PPO 对仁用杏树的抗寒机理与 Cu、Zn 参与树体(尤其以叶子为主)光合作用有关,有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 姚延涛,张淑改,许茂红.华北落叶松铜、铝含量及多酚氧化酶活性研究[J].林业科学研究,1998,11(1):94~98
- [2] 姚延涛,寇元斌,杨凤歧,等.华北落叶松铜、锌元素与酶活性研究[J].山西农业大学学报,2002(1):61~64
- [3] 韩富根,焦桂珍,刘学芝,等.烟草叶片多酚氧化酶的提取及其特性研究[J].河南农业大学学报,1994,29(1):98~101
- [4] 王金胜,张述义,刘桂林,等.实用生物化学技术[M].西安:山西高校联合出版社,1994.218~219
- [5] Flarkey W H. Polyphenol oxidase in higher plants[J]. Plant Physiol, 1986, 80: 614~618
- [6] Mayer A M. Polyphenol oxidase in plant recent progress[J]. Phytochemistry, 1987, 26(1):11~20
- [7] 李明启.荔枝果皮多酚氧化酶的研究[J].植物学报,1963,11(4):329~335
- [8] 谭兴杰,李月标.荔枝多果皮多酚氧化酶的部分纯化及性质[J].植物生理学报,1984,10(4):339~345
- [9] Mayer M A, Eitan H. Polyphenol oxidases in plants[J]. Phytochemistry, 1979, 18: 193~215
- [10] 叶方相.香菇不同菌龄多酚氧化酶活性比较[J].江苏食用菌,1994(2):29
- [11] 王金胜.植物基础生物化学[M].北京:中国林业出版社,1998.152
- [12] 刘曼西,于秀芝.有机酸对马铃薯多酚氧化酶活性的影响[J].植物生理学通讯,1991,27(5):350~353
- [13] 宋凤鸣,郑重,葛秀春.枯萎病菌侵染后棉菌体内多酚氧化酶活性的变化[J].植物生理学通讯,1997,33(3):175~177
- [14] 刘金龙,杨秀清.仁用杏树多酚氧化酶和超氧化物歧化酶的研究[J].山西林业科技,2002(2):38~41

Studies on the Annual Changing Law of the Activity of PPO in Kernel-Apricot

YAO Yan-tao, YAN Hai-bing, YANG Xiu-qing

(Forestry College, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi, China)

Abstract: The activity of PPO of 5 various organs in 4 different growth period of Kernel-apricot was analysed. The results showed that: (1) The activity of PPO of various organs had a orderly change, the activity of PPO of leaves reached the maximum; the activities of PPO of branch, truck, thick root, thin root were higher in May and March than in July and October conspicuously. (2) The activity of PPO was related to cold resistance and growth of the part above the soil surface of Kernel-apricot, and it could be used as biochemical index of adverse circumstances resistance of Kernel-apricot. (3) Cu and Zn, as nutrient elements, had effects on the activity of PPO, so as to affect the growth of Kernel-apricot.

Key word: Kernel-apricot; PPO; annual change law