

凤眼莲、水花生若干光合作用参数 与酶类的研究

李学宝¹ 何光源² 吴振斌³ 夏宜铮³

¹(华中师范大学生物系,武汉 430070)

²(中国科学院武汉植物研究所,武汉 430074)

³(中国科学院水生生物研究所,武汉 430072)

提 要

在正常的生长条件下,凤眼莲有较高的叶面系数、叶绿素含量和光合强度。叶片可溶性糖含量也高。在低温胁迫下,凤眼莲和水花生根系活力和过氧化物酶、过氧化氢酶、细胞色素氧化酶、淀粉酶等酶活性均明显下降。试验结果表明,凤眼莲对低温胁迫较水花生更为敏感。

关键词 凤眼莲,水花生,低温胁迫,光合强度,根系活力,酶活性

凤眼莲 (*Eichhornia crassipes* Solm) 在较高的环境温度下,生长繁殖迅速。凤眼莲可作饲料、肥料等,有多种用途,尤其具有极强的污水净化能力,故作为水环境净化植物而受到广泛的重视^[1-2]。但在广大寒温带地区,当秋冬气候渐冷时,凤眼莲即逐渐停止生长乃至死亡。其净化作用随之降低以至丧失,这是水生植物净化系统的主要难题和限制因素之一。

低温常使植物组织受到伤害。有关低温对植物光合作用,能量代谢等方面的影响,已有一些报道^[3-6]。但这些研究大都集中在农作物上,而对环境净化植物的抗寒生理研究甚少。本文通过对凤眼莲和另一种净化植物水花生 (*Alternanthera philoxeroides* Mart) 的比较研究,试图探讨低温胁迫对这些净化植物生理代谢的一些影响,为其抗逆研究提供资料。

1 材料与方法

供试材料均取自室外自然状态下生长的植株,根据不同的试验目的而作不同的处理。

1.1 叶面系数的测定 在同一地点生长的凤眼莲和水花生群体内选取5—8个一定面积(1m²)的样本,每隔15d采样一次。剪取样本内所有植株的功能叶片,测定叶面系数。应用统计学方法比较分析两种植物之间的差异,进行显著性测验。

1.2 叶片的叶绿素含量和光合强度测定 叶绿素含量的测定按容寿榆的方法^[7]略加修改。取5—10g供试植株叶片,捣碎匀浆,先后用甲醇和石油醚重复抽提多次,真空快速干

国家自然科学基金资助。

1992年3月26日收到;1994年12月18日修回。

燥,测算样品的叶绿素含量(用 mg 干重/g 叶片鲜重或 mgDW/gFW 表示)。

光合强度用改进干重法^[8]测定。用打孔器在供试植株叶片上先打一孔取样。间隔 5h 后,再在同一叶片对称部位打孔取样。上述试验在自然光照下进行。将所取样品分别烘烤(80℃)5—6h,在分析天平上称重,测定叶片光合速率(用 mg 干重/dm²·h 或 mg DW/dm²·h 表示)。取多次测定的平均值,并作方差分析。

1.3 可溶性糖含量测定 可溶性糖含量用蒽酮法^[9]测定。取生长旺盛的植株,经自来水冲洗干净后,用水培法(Hoagland 培养液)置低温(2℃)下处理 12, 24, 36 或 48h, 对照为 28±1℃。剪取上述低温处理的植株功能叶片,烘干(80℃)后研磨成粉状,取 50—100 mg 加入 10—15ml 80% 乙醇抽提,离心(13000g)收集上清液,定容。取 1ml 样品抽提液,加入 5ml 蒽酮试制,混匀煮沸 10min, 冷却后用分光光度计在 620nm 处测定样品反应液的光密度,计算可溶性糖含量。

1.4 根系活力和酶活性测定 供试植株经低温(2℃)处理 12, 24, 36 或 48h 后,取根尖测定根系活力,取叶片测定酶活性。根系活力用 TTC(三苯基四唑氯化物,简称 TTC)法^[10]测定;过氧化物酶用愈创木酚法^[11]测定;过氧化氢酶测定用 Aebi 的方法^[12];用 3,5-测定二硝基水杨酸法^[13]测定淀粉酶活性;用微量减压法^[14]测定细胞色素氧化酶活性。

2 结果

2.1 凤眼莲和水花生叶面系数、叶片叶绿素含量和光合强度的比较

1989 年 6—9 月,连续定点取样测定。结果表明(表 1),在相同生长条件下,凤眼莲叶面系数从群体形成初期的 2.41 增加到最大值 6.54,测定期间的平均值为 4.21。而水花生在生长初期的叶面系数为 2.02,最大值仅 3.25,平均值为 2.50。凤眼莲叶面系数明显高于水花生。方差分析表明,两者差异极显著。

表 1 凤眼莲、水花生的叶面系数、叶片叶绿素含量及光合速率

Tab. 1 Leaf area index chlorophyll content and photosynthetic rate in leaves of *E. crassipes* and *A. philoxeroides*

植物 Plants	叶面系数 Leaf area index	叶绿素含量 (mg DW/g FW) Chlorophyll content	光合速率 (mg DW/dm ² ·h) Photosynthetic rate
凤眼莲 <i>E. crassipes</i>	4.21±0.25	2.18±0.13	48.76±0.78
水花生 <i>A. philoxeroides</i>	2.50±0.31	1.93±0.15	40.97±0.84
方差分析 Analysis of variance	p<0.01	p<0.05	p<0.05

凤眼莲茎短,叶与根相连(或距离极短),在形态结构上具有物质运输途径短,速度快的特点。凤眼莲叶片占整株干重的百分比高达 45% 以上,叶片叶绿素含量、光合作用强度较水花生略高(表 1)。以上结果表明,凤眼莲群体对光能利用率高,群体光合作用强度大,叶片中形成的光合产物极易运输到其它器官,这些特点无疑是其生长繁殖迅速的重要因素。

2.2 低温条件下凤眼莲和水花生可溶性糖含量的变化

凤眼莲和水花生经零上低温处理 12—48h 后, 叶片可溶性糖含量的变化见图 1。

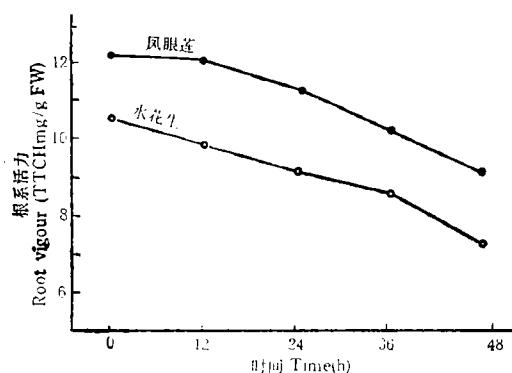
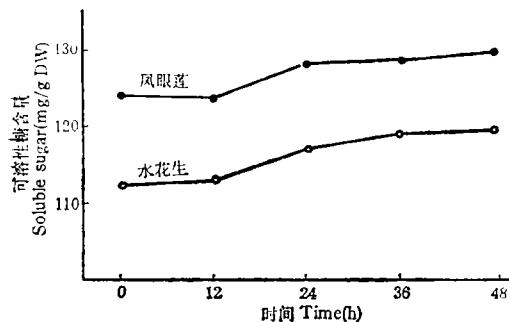


图 1 低温胁迫对凤眼莲、水花生可溶性糖含量的影响
Fig. 1 Effect of chilling stress on soluble sugar in leaf of *E. crassipes* and *A. philoxeroides*

图 2 低温对凤眼莲、水花生根系活力的影响
Fig. 2 Effect of chilling stress on root vigour in *E. crassipes* and *A. philoxeroides*

表 2 低温(2℃)对凤眼莲、水花生几种酶活性的影响

Tab. 2 Effect of chilling stress on activities of peroxidase, catalase, amylase and cytochrome oxidase in *E. crassipes* and *A. philoxeroides*

植物种类 Plants	凤眼莲 <i>E. crassipes</i>					水花生 <i>A. philoxeroides</i>				
	0	12	24	36	48	0	12	24	36	48
低温时间 (h) Duration of low temperature										
过氧化物酶活性 (O.D/mg 蛋白·min) Activity of peroxidase	8.13	8.25	7.60	6.29	5.37	13.21	11.74	10.68	9.53	8.94
过氧化氢酶活性 (10K/mg 蛋白·S) Activity of catalase	12.0	11.6	10.2	9.5	8.2	14.1	13.8	12.6	11.3	10.3
细胞色素氧化酶活性 (ul O ₂ /mg 蛋白·h) Activity of cytochrome oxidase	9.36	9.12	7.70	6.39	5.93	9.12	9.14	7.88	6.94	6.19
淀粉酶活性(单位) Activity of amylase	0.40	0.38	0.31	0.31	0.29	0.32	0.31	0.28	0.27	0.24

结果表明, 在正常环境温度下, 凤眼莲叶片可溶性糖含量高于水花生。经 1—2d 的低温处理后, 两种植物的可溶性糖含量均略有增加, 但变化不显著。

2.3 低温对凤眼莲和水花生根系活力的影响

从对照组来看(图 2), 凤眼莲根尖的脱氢酶活力略低于水花生。经一段时间的低温处理后, 两者根尖还原 TTC 的能力均下降(图 2), 随低温时间延长, 根尖 TTCH 的含量递减, 这表明根尖细胞中与呼吸有关的脱氢酶活性受到抑制。而且, 凤眼莲根系活力下降的幅度较水花生大, 前者低温 48h 后根系活力为对照的 68.8%, 而后者为 75.0%。

2.4 低温对凤眼莲和水花生几种酶类活性的影响

在低温条件下, 凤眼莲和水花生过氧化物酶、过氧化氢酶、细胞色素氧化酶和淀粉酶

活性变化列于表 2。

植物细胞内的过氧化物酶和过氧化氢酶可能与植物抗逆性有关^[3]。从试验结果来看, 凤眼莲过氧化物酶和过氧化氢酶活性均低于水花生。在低温胁迫下, 两种植物的过氧化物酶和过氧化氢酶活性均减弱。低温时间愈长, 酶活性下降程度愈大。过氧化氢酶主要存在于过氧化物酶体内, 低温可能造成膜系统的损伤, 膜透性增加, 因而导致过氧化物酶活性下降。另一方面, 膜损伤可能也是过氧化物酶活性下降的原因之一。凤眼莲细胞色素氧化酶和淀粉酶活性较水花生略高。在低温条件下, 这两种酶的活性变化与上述二种酶活性变化有相同的趋势(表 2)。

3 讨论

本文研究结果表明, 凤眼莲具有较高的个体和群体光能利用率, 能够高效地同化 CO 和积累干物质, 这为其迅速生长和繁殖奠定了生理基础。加上其形态和生长方式等方面的特点, 可以以极高的速度生长。凤眼莲能够富集水体中的有害物质, 抑制藻类生长^[2]。在温暖季节里, 适时放养凤眼莲, 能够在短期内形成一定大小的群体, 对于水环境的净化有十分重要的作用。

低温对植物能量代谢的影响已有一些报道。研究表明, 水稻幼苗经低温处理后, 细胞氧化磷酸化受到影响, ATP 水平显著下降^[4]。同样现象在棉花、蕃茄等植物中也曾观察到^[5,6]。我们的试验表明, 凤眼莲对低温胁迫较水花生更为敏感。经低温处理后, 凤眼莲细胞内与能量代谢有关的细胞色素氧化酶、淀粉酶以及根尖细胞的脱氢酶活性均受到明显抑制, 细胞呼吸链电子传递和氧化磷酸化过程受阻, 能量代谢水平也随之下降, 根系对外界的物质吸收减慢。由于植物体能量代谢水平下降, 各种代谢活动减慢, 又进一步削弱了植物的抗寒性, 加剧植物冷害的程度。

植物体内的过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧物歧化酶、谷胱甘肽还原酶以及维生素 E、维生素 C、辅酶 Q、巯基化合物 (GSH, 半胱氨酸) 等酶促或非酶促防御系统, 能够有效地消除活性氧, 防止细胞膜系统的过氧化作用的发生^[1,2]。凤眼莲和水花生经低温处理后, 细胞内过氧化物酶和过氧化氢酶以及超氧物歧化酶(另文发表)活性均明显下降, 从而降低了植物体对活性氧的防御能力, 势必破坏活性氧的产生和消除之间的平衡, 导致植物冻害的发生和发展。可以认为, 低温胁迫下植物体内活性氧清除剂(如过氧化物酶、过氧化氢酶等) 活性或含量下降是晚秋及寒冬季节凤眼莲生长停止乃至死亡的生理原因之一。

参 考 文 献

- [1] 王德铭等。综合生物塘。见: 城市污水稳定塘设计手册。北京: 中国建筑工业出版社。1990: 276—282。
- [2] 吴振斌等。凤眼莲净化燕山石油化工废水的研究 1. 动态模拟实验。水生生物学报, 1987, 11: 139—150。
- [3] 陈贻竹、B. 帕特森。低温对植物叶片中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化氢水平的影响。植物生理学报, 1988, 14: 323—328。
- [4] 杨孝育、刘存德。水稻幼苗的低温伤害及其与腺苷酸代谢的关系。植物生理学报, 1988, 14: 344—349。
- [5] Sochanowicz B, Kaniuga Z. Photosynthesis apparatus in chilling-sensitive plants. IV. Changes in ATP and protein levels in cold and dark stored and illuminated tomato in relation to Hill reaction. *Planta*, 1979, 144:153—159.
- [6] Stewart M, Guinn G. Chilling injury and changes in adenosine triphosphate of cotton seedlings. *Plant physiol*, 1969, 44:605—608.

- [7] 容寿榆。叶绿素a和b的提纯和鉴定。见: 植物生理生化实验。北京: 高等教育出版社。1983: 148—158。
- [8] 魏家端。改进干重法测定光合作用。见: 植物生理学实验手册。上海: 上海科学技术出版社。1985: 98—100。
- [9] Yemm EW, Willis AJ. The estimation of carbohydrate in plants by anthrone. *Biochem. J.*, 1954, **57**: 508—513。
- [10] 吉田武彦。根的活力测定法,日本土壤肥料学杂志, 1986, **37**: 63—68。
- [11] Kochba J, Lavee S, Spiegel-Roy P. Differences in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and non-embryogenic "Shamouti" orange ovular callus lines. *Plant and Cell Physiol.*, 1977, **18**: 463—467。
- [12] Aebi H. Catalase. In Bergmeyer HU, Gawekn K(eds). *Method of Enzymatic Analysis*, Ed.2, New York: Academic Press, 1974: 673—677.
- [13] 张振清。 α -和 β -淀粉酶活力测定, 见: 植物生理学实验手册。上海: 上海科学技术出版社, 1985: 138—139。
- [14] 中山大学生物系编。生化技术导论。北京: 人民教育出版社, 1978: 291—303。
- [15] 曹锡清。脂质过氧化对细胞与机体的作用。生物化学与生物物理进展, 1986, (2): 17—23。

STUDIES ON SOME PHOTOSYNTHETIC PARAMETERS AND CHILLING RESISTANT ENZYMES IN *EICH-* *HORNIA CRASSIPES* AND *ALTERNANTHE-* *RA PHILOXEROIDES*

Li Xuebao¹, He Guangyuan², Wu Zhenbin³ and Xia Yizheng³

1 (*Department of Biology, Central China Normal University, Wuhan 430070*)

2 (*Wuhan Institute of Botany, The Chinese Academy of Science, Wuhan 430074*)

3 (*Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Science, Wuhan 430072*)

Abstract

The leaf area index, chlorophyll content, photosynthetic intensity and soluble sugar content in leaves of *Eichhornia crassipes* were higher than those in *Alternanthera philoxeroides* at normal temperature (25°C—30°C). When the plants were exposed to chilling temperature (2°C) for 12—48 hours, a decline was observed in the activity of peroxidase, catalase, amylase and cytochrome oxidase in both *E. crassipes* and *A. philoxeroides*. Changes of enzyme activities were greater in the former plant than those in the latter. There were negative correlations between the enzyme activities, or the root vigour and the duration of low temperature. The experimental results suggested that *E. crassipes* was less resistant to chilling than *A. philoxeroides*.

Key words *Eichhornia crassipes* *Alternanthera philoxeroides*, Chilling stress, Photosynthesis, Root vigour, Enzyme activity