

黑杨派无性系的苯丙氨酸解氨酶活性

程淑婉 蒋 敬 胡小根

关键词 苯丙氨酸解氨酶(PAL)、杨树、木质分化

苯丙氨酸解氨酶(Phenylalanine Ammonialyase, 简称 PAL, 下同)是高等植物体内苯丙基类(Phenylpropanoid)物质代谢过程的定速酶^[1], 它对木质素、酚类、类黄酮类等次生物质的形成起着重要作用, 与细胞分化及植株抗御病虫害能力有密切关系。在木本植物方面, 我们已研究过刺槐及松属树种的 PAL 活性^[2,3], Whetten 等也对火炬松 PAL 活性作了类似的报道^[4], 此外, Higuchi 曾报道 PAL 在竹株木质化过程中的作用^[5]。对于杨树而言, 也发现 2 年生小美早杨 (*Populus Simoi Carr. × nigra var. italica* (Mionck) Koehne) 树皮内的 PAL 活性和邻苯二酚含量, 与溃疡病发病率呈负相关趋势, 显示 PAL 与杨树抗病性能有密切关系^[6]。黑杨派南方型无性系正在我国大范围引种推广并已取得巨大经济效益。从目前引种范围最广的 3 个无性系在苏北平原的试验结果来看, 以 I-69 杨生长最快, I-72 杨和 I-63 杨次之, 后两者差别不大, 但胸径及单株材积生长量则是以 I-72 杨最大, I-69 杨次之, I-63 杨在三者中最差^[7]。另外, 据意大利的资料报道 I-69 杨不易感染花叶病, 而 I-72 杨和 I-63 杨则很易得此病¹⁾。为了探索杨树体内的 PAL 活性与上述 3 个黑杨派无性系生长习性和抗病性差异的关系, 我们作了初步研究, 结果如下。

1 材料和方法

1.1 材料

用于研究的无性系包括: 美洲黑杨 I-63 杨 [*Populus deltoides* Bartr. cv. "Harvard" (I-63/51)]; 美洲黑杨 I-69 杨 [*Populus deltoides* Bartr. cv. "Lux" (I-69/55)]; 欧美杨 I-72 杨 [*Populus × euramericana* (Dode) Guinier cv. "San Martino" (I-72/58)]。杨树休眠季节(1991年1月5日)在南京林业大学树木园分别取 1 年生 I-63 杨, I-69 杨和 I-72 杨休眠条, 截取上、中、下三个部位, 在春季(1991年4月15日)对截干后新萌发的枝条取顶部和基部冰冻 24 h 后, 称取 1 g 树皮用于提取和测定 PAL 活性。重复 4 次, 标准差 $\sigma_{n-1} = 0.0014 \sim 0.0095$ 。1992 年在南京林业学校实验林场内选取健壮的 10 年生 I-69 杨(树高 24.7 m)和 I-72 杨树(树高 18.9 m), 以及 1 年生的 I-69 杨幼树, 在它们的越冬芽萌动、叶片展开至全叶 1/2 到全叶已形成期间(1992年3月31日到4月28日), 定期从树冠

1993-03-09 收稿。

程淑婉副教授(南京林业大学 南京 210037); 蒋敬, 胡小根(南京林业学校)。

1) 意大利国家杨树委员会(中国林业科学研究院林业研究所编译), 意大利全国林业无性系登记册, 杨树无性系, 1981.58, 63.

东南西北 4 个方向采样混合, 按同样方法提取和测定其 PAL 活性。重复 4 次, 标准差 $\sigma_{n-1} = 0.0046 \sim 0.0147$ 。

1.2 测试方法

PAL 提取和酶活性测定参照 Koukol 和 Conn(1961)的方法^[8]。水溶性蛋白质测定用 Bradford(1976)推荐的考马斯蓝 G-250 染色法, 以电泳纯牛血清蛋白作为内标准^[9]。部分样品同时取切片进行显微摄影。具体步骤参见文献[2]、[3]。

2 结果与讨论

2.1 休眠条和萌条树皮的 PAL 活性

1 年生杨各无性系休眠条的 PAL 活性如图 1, 从中可见: I-63、I-69、I-72 3 个无性系休眠条树皮的 PAL 活性均以梢部为最大, 三者差异不明显 (28.7, 28.9, 28.8 unit/mg N·30 min); 而在枝条中部和基部, 三者表现差别, 特别是在基部, I-69 杨树皮的 PAL 活性 (29.0 unit/mg N·30 min), 明显高于 I-63 杨和 I-72 杨 (依次为 21.6 和 21.0), 这种差异一直延续到枝条萌发后(图 2)。萌条树皮的 PAL 活性, 都有不同程度降低, 但仍是 I-69 杨高于 I-72 杨, 特别是在基部, 这种差异更明显 (依次为 27.7, 16.0 unit/mg N·30 min)。

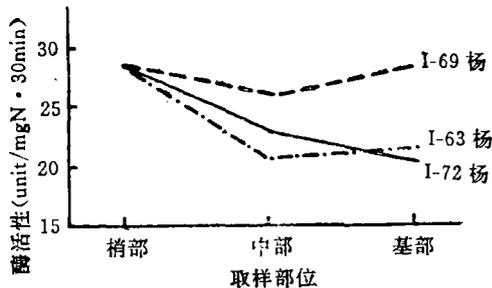


图 1 杨树休眠条树皮的 PAL 活性

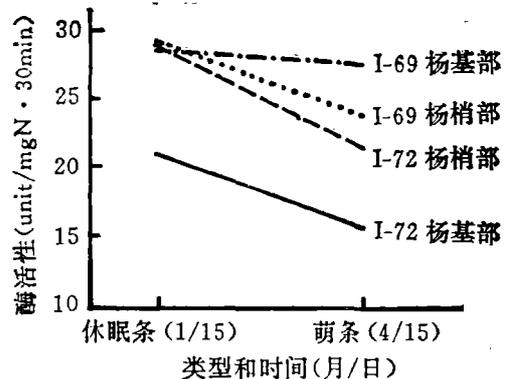


图 2 杨树枝条萌发前后树皮 PAL 活性变化

从 I-69 和 I-72 杨萌条基部横切面的显微照片来看, I-69 杨萌条内导管分子明显发达, 导管分子层厚度平均占横切面半径的 32.6%, 表示木质素在细胞中沉积过程显著, 即其枝条内的木质化程度高于 I-72 杨, 后者的导管分子层厚度平均仅占横切面半径的 10.6%。把这些照片联系两个无性系的 PAL 活性作相应比较, 可见杨树枝条的树皮内 PAL 活性大小与木质化程度高低有密切关系, I-69 杨枝条的 PAL 活性大, 木质化程度也高。

2.2 叶片生长过程中的 PAL 活性变化

I-69 杨的 1 年生幼树和 10 年生大树, 以及 I-72 杨的 10 年生大树, 在冬芽萌发成叶过程中叶片内 PAL 的活性变化如图 3 所示。从中可见两个无性系在冬芽萌发成叶过程中, PAL 活性都明显下降。在叶芽萌发到生长初期, 在两个无性系之间, 以及同一无性系不同

年龄植株之间,叶片内的PAL活性差异明显,当全叶形成后,这种差异就缩到极小(依次为18, 1, 18 unit/mg N·30 min)。在叶芽萌动时期, I-69与I-72杨叶芽中的PAL活性差异显著(依次为29, 26 unit/mg N·30 min),在叶片展开至全叶1/2时,两者基本上以同等斜率下降,从此时开始到全叶形成阶段,两者均急剧下降,直至最后差别不大。两个无性系叶片PAL活性大小的顺序,与相应休眠条及萌条树皮中PAL活性大小顺序一致,数值也在相同的量级范围内。I-69杨的1年生幼树与10年生大树在叶芽萌发初期,其PAL活性基本上相近似,前者仅略大于后者(依次为30, 29 unit/mg N·30 min),但幼树叶片生长过程中PAL活性的下降趋势是先急后缓,与大树叶片不同,当全叶形成时仍与大树叶片PAL活性基本上相等,仅有微小差异(依次为18, 19 unit/mg N·30 min)。

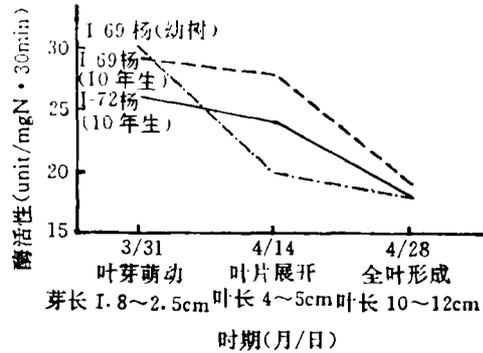


图3 杨树冬芽萌发成叶过程中PAL活性变化

据文献报道, I-69杨抗花叶病能力高于I-72杨¹⁾,这个高低顺序,与相应无性系越冬叶芽萌动成叶过程中PAL活性大小顺序一致,因而叶片生长初期阶段的PAL活性有可能与抗病性有联系。

综上所述,黑杨派南方型几个无性系的PAL活性高低大体上是I-69杨>I-72杨>I-63杨。这个顺序,与曹福亮等报道的各无性系高生长速度快慢顺序一致,而与其单株材积生长量大小顺序相反^[7]。另一方面,各无性系PAL活性大小顺序与萌条横切面中显示的木质化程度高低及文献报道的抗花叶病能力强弱相一致。因此,初步认为,杨树各无性系的PAL活性,有可能作为抗病能力的一项生理指标,有作进一步探讨的必要。

参 考 文 献

- 1 古谷雅树,宫地重运,玖村敦彦(崔继林译).代谢生理(见植物生理学讲座).北京:科学出版社,1978,(2),194~220.
- 2 程淑婉,方炎明.刺槐幼苗中苯丙氨酸解氨酶的活力.南京林业大学学报,1990,(2),41~45.
- 3 程淑婉,程东海,方炎明.松树种子萌发过程中苯丙氨酸解氨酶的活力.南京林业大学学报,1992,(2),42~46.
- 4 Whetten R W, Sederoff R R. Phenylalanine ammoniolyase from loblolly pine: Purification of the enzyme and isolation of complementary DNA clones. Plant Physiol., 1992, 98(1), 380~386.
- 5 Higuch T. Role of phenylalanine deaminase and tyrase in the lignification bamboo. Agri. Biol. Chem., 1966, 30, 667~673.
- 6 阳传和,杨旺,周仲铭.树皮内酚类物质的含量及苯丙氨酸解氨酶的活性与杨树抗溃疡病的关系.林业科学,1989,(4),311~316.
- 7 曹福亮,吕士行,徐锡增.南方型无性系生长特性的研究(见南京林业大学杨树课题组着.黑杨派南方型无性系速生丰产技术论文集).北京:学术书刊出版社,1989.81~92.
- 8 Koukol J, Conn E E. The metabolism of aromatic and properties of the phenylalanine deaminase of *Hordeum vulgare*. J. Biol. Chem., 1961, 236(10), 2692~2698.
- 9 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 1976, 72, 248~254.

Activities of Phenylalanine Ammonialyase in Poplar Clones of Aigeiros Section

Cheng Shuwan Jiang Jing Hu Xiaogen

Abstract This paper dealt with the research on the activities of phenylalanine ammonialyase (PAL) in the poplar clones of Aigeiros section, including I-63, I-69 and I-72. The maximal activities of PAL in the barks of their 1-year-old dormant stems were seen in the top of stem without exception, and those of them were similar in main. But in their middle and basal parts the PAL activities varied with clones significantly, among them that of I-69 poplar was the highest, and this difference continued all the way up to their sprouting. The photomicrographes of their sprouting stem sections showed that the vessel elements in the stem sprout of I-69 poplar were well-developed and are much better than those in I-72 poplar. This phenomenon was in accordance with the difference between their PAL activities, which indicated that the PAL activity was closely related to the lignification of the poplar stem. The sequence of PAL activities in the leaves of various clones during the developing process from their winter buds to the complete leaves mainly coincided with those in the barks of dormant stem and stem sprout of corresponding clones.

Key words phenylalanine ammonialyase, poplar, lignification

Cheng Shuwan, Associate Professor (Nanjing Forestry University Nanjing 210037), Jiang Jing, Hu Xiaogen (Nanjing High School of Forestry).

欢迎订阅《河北林业科技》期刊

《河北林业科技》期刊是河北省唯一在国内公开发行的林业科学技术性刊物。主要报道河北省林果方面的科研成果、学术论文、生产经验、调查报告、科技动态。也报道部分省外和国外的科技成果及动态。主要内容包括：育种、育苗、造林、森林经营、经理、水土保持、森林保护等学科。

本刊为季刊，16开本，每期56页，每期收费1.50元，全年6元(邮费在内)。订阅办法：直接向《河北林业科技》编辑部订阅，联系地址：石家庄市五七路(邮编：050061)。