

# 山海关杨一变异株的发现和初步认证

宋金耀<sup>1</sup>, 刘永军<sup>2</sup>, 王贺山<sup>3</sup>, 王桂峰<sup>3</sup>

(1. 江苏农林职业技术学院 生物工程系, 江苏 句容 212400; 2. 河北科技师范学院 生命科学系, 河北 昌黎 066600; 3. 河北科技师范学院 园艺系, 河北 昌黎 066600)

**摘要:** 在山海关杨的实生繁育过程中偶得一优株, 其速生性表现突出。通过对其生物学性状、碳代谢能力、氮代谢能力及生物氧化能力等指标的测定分析, 并与普通山海关杨进行比较, 各指标皆表现出显著差异。过氧化物酶同工酶分析表明, 二者之间也具有明显的差异。初步认定该优株为山海关杨在实生繁殖过程中产生的一优良速生变异, 暂定名新山海关杨。

**关键词:** 新山海关杨; 速生性; 碳氮代谢; 生物氧化; 过氧化物酶同工酶

中图分类号: S792.11 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2008)增刊-0297-04

## The Primary Cognizance of A New Variation of Shanhaiguan Poplar (*Populus canadensis* Moench cv. 'shanhaiguanensis')

SONG Jin-yao<sup>1</sup>, LIU Yong-jun<sup>2</sup>, WANG He-shan<sup>3</sup>, WANG Gui-feng<sup>3</sup>

(1. Department of Bioengineering, Jiangsu Polytechnic College of Agriculture and Forestry, Jurong 212400, China;  
2. Department of Life-Science, Hebei Normal University of Science and Technology, Changli 066600, China;  
3. Department of Horticulture, Hebei Normal University of Science and Technology, Chianglei 066600, China)

**Abstract:** We casually obtained a new variation of Shanhaiguan Poplar (*Populus canadensis* Moench cv. 'shanhaiguanensis') in the production process. Its growing rate is higher than the matrilineal trees, and there are obviously diversities in their modality. In this test, the abilities of carbon-nitrogen metabolism and biological oxidation were compared with each other. The results indicated that the new variation was stronger than the elder. Especially, the peroxidase isozyme pattern revealed that there were some differences between the two parties. So it was considered that the newer was an excellent variation mutating in the process of sexual reproduction. It was provisionally named new shanhaiguan poplar.

**Key words:** New shanhaiguan poplar; Modality; Carbon-nitrogen metabolism; Biological oxidation; Peroxidase isozyme

山海关杨 (*Populus canadensis* Moench cv. 'shanhaiguanensis') 属黑杨派, 20 世纪初从欧洲引入我国山海关市, 1972 年河北省林科所定名为山海关杨<sup>[1]</sup>。主要分布于我国东北、华北、西北三北地区, 是我国特有的优良乡土树种之一, 由于其抗逆性强、繁殖容易、栽培管理简便、材质好、用途广而深受群众的喜爱, 被广泛用于用材和防风林的建造<sup>[2]</sup>。

山海关杨采种容易, 有性繁殖系数大, 生产上一直以播种育苗为主<sup>[3]</sup>。2002 年笔者在 13 万株山海关杨实生苗中发现一与众不同、生长速度极快的单株, 叶色浓绿, 其高度、粗度、叶面积均超过其他株 2 倍以上。当年秋季出圃时, 其高、粗已显著高于其他苗株。于是将其留选, 第 2 年扦插成苗后与普通苗

作比较。几年来, 这一优株的速生性表现稳定。

林木优株的确立, 依其生产目的主要是鉴定它的生长速度、材质优劣以及成林质量等<sup>[4]</sup>。本试验刚刚开始繁育苗木, 主要观测其生物学特性, 以及这些特性的生理生化基础, 将其与普通山海关杨进行比较。其他林木特性需等到其成林以后方可进行观察。

按照生物学原理, 植物的生长速度是以其代谢为基础的。既然这一新的山海关杨的生长速度表现突出, 就暗示其新陈代谢特别是碳、氮代谢和生物氧化能力应该比普通山海关杨要强。为此, 我们在本试验中测定了叶绿素含量、硝酸还原酶 (NR) 活性和过氧化物酶 (POD) 活性, 分别作为碳代谢、氮代谢和

生物氧化的指标,与普通山海关杨进行比较。

在确立植物遗传变异的实在性时,现在有很多指标可以使用,如普通遗传学指标、细胞学指标、生物化学指标和分子生物学指标等<sup>[3]</sup>。其中以细胞学指标的染色体带型分析和分子生物学指标的 DNA 多态性分析最为直接,当然也最准确,但是由于条件所限,本试验采用的是较为间接但被广泛使用的生物化学指标—同工酶(Isozyme)作为主要证据指标。

同工酶技术早已用于种和品种的鉴定,已有很多报道<sup>[6-8]</sup>。笔者在“安梨无性系选种研究”<sup>[9]</sup>和“苹果无性系品种研究”<sup>[10]</sup>中曾使用这一技术并被证明是行之有效的,反映了各变异的基本差别。过氧化物酶是一种单肽链的氧化还原酶类,任何相关基因的变化都会反映在过氧化物酶的肽链理化性质上,从而在电泳中会分离出不同的酶谱,其中一条谱带代表一个等位基因,谱带的不同即代表着基因的差异<sup>[11]</sup>。用于种或品种的鉴定,更加简便、快速,具有一定的代表意义。

几年来,我们围绕其速生性对这一优株进行了较为系统的研究,通过以上指标的分析,初步确定这一优良单株的变异基础,以期确定其生物学地位,为研究和开发这一林木资源奠定基础。

# 1 材料和方法

## 1.1 材料

以当年选出的山海关杨三年生优株为处理,以同年留植的普通山海关杨三年生树为对照,分别在树冠的东西南北取样,再取样品的叶片和皮层,测其

叶绿素含量、硝酸还原酶活性、过氧化物酶活性,并对其过氧化物酶同工酶进行酶谱分析。

以优株插条为处理、普通山海关杨插条为对照,春季(3月31日)扦插于河北科技师范学院园艺实验场日光温室内,按共轭对比试验<sup>[12]</sup>进行小区设计,设置4次重复。土壤为沙壤,管理水平中等,条件一致。成苗后(6月5日)进行比较鉴定。

## 1.2 方法

形态学指标的测量采用卷尺和游标卡尺;叶面积测量采用透明方格板法<sup>[13]</sup>;光合色素含量测定采用分光光度法<sup>[14]</sup>;硝酸还原酶活性测定采用磺胺法<sup>[15]</sup>;过氧化物活性测定采用醋酸联苯胺法<sup>[16]</sup>;过氧化物酶同工酶分析采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法,以联苯胺作底物染色<sup>[17]</sup>;数据分析采用 t-测验法。

# 2 结果与分析

## 2.1 新山海关杨的生物学特征

新山海关杨树干通直圆满,树冠呈卵圆形;树皮呈褐绿色,具棱角;皮孔菱形,中间稍凹四周明显突起;冬芽大,先端外弯;叶片呈三角形,先端长渐尖,圆钝锯齿,叶色浓绿;扦插苗根系发达,生长明显优于普通山海关杨。

## 2.2 与普通山海关杨的形态差异比较

从表1可以看出,新山海关杨的叶面积、一年生枝长度、节间长、树干的地径、胸径、三年生树材积,不用显著性测验即可看出均极显著大于普通山海关杨。

表1 新山海关杨与普通山海关杨外部形态指标对比

Tab.1 Morphologic index of normal and new Shanhaiguan poplar

项目	Item	普通山海关杨	Normal	新山海关杨	New
叶片大小/cm <sup>2</sup>	Leaf area	43.6		111	
叶片厚度/cm	Leaf thickness	0.025	2	0.027	6
一年生枝长/cm	Length of 1-year branch	32.3		64.07	
一年生枝节间长/cm	Length between buds	1.625		5.45	
一年生枝尖削度	Tip degree of 1-year branch	0.58		0.62	
树干地径/cm	Truncl fundus diameter	4.158		7.527	
树干胸径/cm	Truncl bosom diameter	3.195		5.298	
树干皮厚/cm	Bark thickness	0.228		0.310	
三年生树材积/cm <sup>3</sup>	Timber cubage of 3-year tree	2130.4		8216.3	

表2 新山海关杨和普通山海关杨三年生树性状分析

Tab.2 Character analysis of 3-year new and normal Shanhaiguan poplar trees

项目	Items	新山海关杨	New	普通山海关杨	Normal
叶片平均厚度/cm	Average of leaf length	0.027	6aA	0.025	20bB
一年生枝尖削度	Tip degree of 1-year branch	0.62	aA	0.58	bB
树干皮层平均厚度	Average of bark thickness	0.311	0aA	0.228	bB

注:表中小写字母为5%差异水平,大写字母为1%差异水平。表3同。  
Note: Small letter in the table indicate the significance cot 5%, Capital letter indicate the significance cot 1% level. The same as Tab. 3.

对二者叶片厚度、一年生枝尖削度、树干皮层厚度等几项指标进行比较,新山海关杨亦极显著的高

于普通山海关杨(表 2)。

以上调查结果可以看出,新山海关杨的速生性明显高于普通山海关杨。优株叶面积是普通山海关杨的 2.5 倍、一年生枝长是普通山海关杨的 2.0 倍、节间长是普通山海关杨的 3.35 倍、地径是普通山海关杨的 1.8 倍、胸径是普通山海关杨的 1.66 倍、材积是普通山海关杨的 3.86 倍。其他三项指标也均达到极显著差异。

2.3 生理指标对比分析

表 3 光合色素含量的比较

Tab. 3 Compare of photosynthesis pigment content

处理 Treatment	单位叶质量 For one unit weight			单位叶面积 For one unit area		
	Chl a	Chl b	Car	Chl a	Chl b	Car
新山海关杨 New	1.10 aA	0.63 aB	0.71 aA	1.76 aA	0.72 aA	1.19 aA
普通山海关杨 Nomal	0.78 bB	0.31 bB	0.55 bB	1.26 bB	0.38 bB	0.92 bB

在一定范围内,光合色素的含量越高,形态表现是叶色越绿,光合速率越高。可以看出,新山海关杨光合色素含量比普通山海关杨高出很多,表现便是叶色浓绿,说明其光合速率(即碳代谢能力)高得多。这对其速生性从生理上作了很好的解释。

2.3.2 过氧化物酶(POD)活性 过氧化物酶是一类普遍存在于植物体内、以铁卟啉为辅基的氧化还原酶类,催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对多种底物的氧化反应,是重要的末端氧化酶之一<sup>[19]</sup>。虽然过氧化物酶在植物体内起作用的确切机制至今尚不完全清楚,但大量的研究表明,过氧化物酶参与了植物体内多种生理过程,与生长发育、抗性、育性、组织分化等密切相关<sup>[20, 21]</sup>。

新山海关杨与普通山海关相比较(表 4),其过氧化物酶活性均较高。其中叶片中的活性比皮层要低许多,不过叶片中的活性差异较大,而皮层中差异不大。可以认为新山海关杨的树体内尤其是叶片中具有较高的过氧化物酶活性,提高了其氧化能力和抗性水平,有利于其生长发育。

表 4 新山海关杨和普通山海关杨过氧化物酶活性的比较

Tab. 4 Compare of peroxidase activity from new and normal Shanhaiguan poplar

处理 Treatment	叶片 Leaf	皮层 Cortex
新山海关杨 New	2.04	48.33
普通山海关杨 Nomal	0.82	46.92

2.3.3 硝酸还原酶活性 硝酸还原酶是植物氮素代谢中的一个关键酶,它与树体吸收利用氮肥有关,因为土壤中的氮素主要是以硝态氮的形式被植物根

2.3.1 光合色素含量 光合色素是参与光合作用的色素分子的总称,包括叶绿素 a(Chl a)、叶绿素 b(Chl b)和类胡萝卜素(Car),其含量可间接反映光合强度的大小<sup>[18]</sup>。考虑到新山海关杨与普通山海关杨的叶片厚度不同,我们采用 2 种方式测定二者的光合色素含量,即分别以单位叶质量和单位叶面积为基准测定各自的含量,以期消除试验误差。新山海关杨叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 和胡萝卜素含量均极显著高于普通山海关杨(表 3)。

系吸收,而硝酸盐同化的第一步就是还原为氨,以后再转化成其他含氮有机化合物,所以硝酸还原作用就成了植物氮素同化的门户。

表 5 新山海关杨和普通山海关杨硝酸还原酶活性比较

Tab. 5 Compare of nitrate reductase from new and normal Shanhaiguan poplar

处理 Treatment	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> μg/(g·h) 硝酸还原酶活性(3 次重复平均值) Enzyme activity(average of three assays)
新的山海关杨 New	2 450.17
普通山海关杨 Normal	900.34

从表 5 可以看出,新山海关杨的硝酸还原酶活性明显地高于普通山海关杨,是后者的 2.7 倍,表明新山海关杨具有较强的氮代谢能力。这一点从立地条件上也可证明。定植 3 年来,同样是从未施肥,很少灌水,但二者的生长状况具有极大的差异。可以认为新山海关杨对氮素吸收、转化能力更强。今后的试验将从此方面加深研究。

3.4 过氧化物同工酶分析

为进一步证实新山海关杨是普通山海关杨在有性繁殖过程中产生的一变异体,我们利用同工酶技术进行了分析,采集新山海关杨和普通山海关杨的枝条,制样,电泳,结果如图 1。

从图谱可以看出,二者的过氧化物酶同工酶组成有较大的差异性。叶片中,新山海关杨共检出 10 条酶带,普通山海关杨检出 8 条,差异点是:①新山海关杨多出 6,11 两条酶带,且 11 号酶带活性极强;②1 号酶带为紧靠阴极的酶,新山海关杨的活性比普通山海关杨略有升高。皮层中,新山海关杨也检

出 10 条酶带, 普通山海关杨同样为 8 条, 但与叶片的分布有所不同。差异点为: ①新山海关杨多出的酶带是第 8, 9 号酶带; ② 1, 11 号酶带活性有些变化。

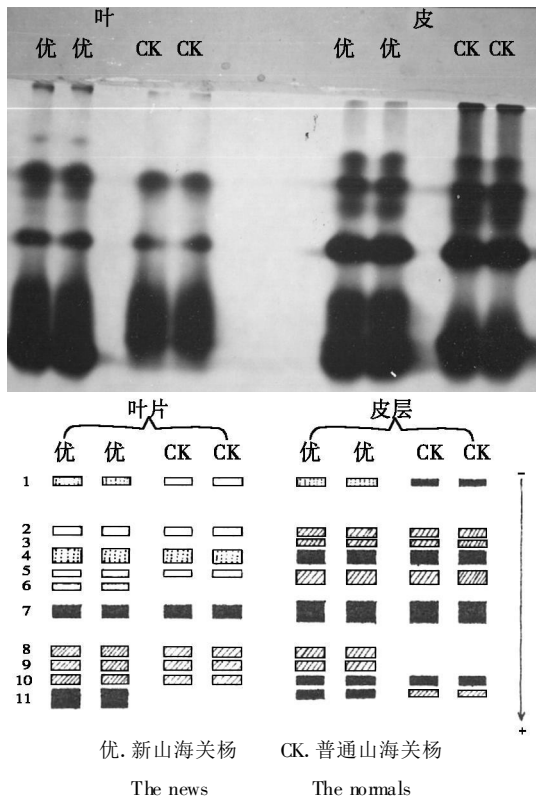


图 1 新山海关杨与普通山海关杨过氧化物酶同工酶谱  
Fig. 1 Isoperoxidases of new and normal Shanhaiguan poplar

同工酶检测结果明显说明新山海关杨的遗传背景与普通山海关杨是不同的, 初步可以认定新山海关杨是普通山海关杨在有性生殖的过程中出现的一种变异体。

### 3 结论和讨论

形态特征、代谢特性的比较和过氧化物酶同工酶谱的分析表明, 新山海关杨是普通山海关杨在有性繁殖过程中产生的一速生优良变异, 其碳、氮代谢能力及生物氧化能力的比较结果, 还为其速生性做了初步的解释。至于新山海关杨的变异来源及物候期、开花、结实等生物学特点, 还有待于进一步研究。

我们认为, 新山海关杨的速生性极其明显, 且表现稳定, 具有一定的开发研究价值。

#### 参考文献:

[ 1 ] 河北省林业厅. 实用工程造林技术[ M ]. 北京: 中国林

业出版社, 1990: 346—349.

[ 2 ] 吕 文, 张卫东. 发展杨树在三北防护林中建设作用和地位[ J ]. 林业科技通讯, 2000(5): 7—9.

[ 3 ] 朴楚炳, 王金国, 于启彬, 等. 山杨采种及育苗技术的研究[ J ]. 林业科技, 1998(3): 1—3.

[ 4 ] 李开隆, 王继军, 曹文龙, 等. 山杨早期选择的研究[ J ]. 林业科技, 1998, 23(1): 1—5.

[ 5 ] 董智勇. 林业工程师实验技术手册[ M ]. 北京: 中国林业出版社, 1994: 403—462.

[ 6 ] 晁无疾, 牛淑贞. 我国葡萄野生种质资源的同工酶研究初报[ J ]. 中国果树, 1981(4): 41—44.

[ 7 ] 程家胜, 贾定贤. 苹果品种(品系)酯酶、过氧化物酶比较研究初报[ J ]. 中国果树, 1981(1): 44—47.

[ 8 ] 胡志昂. 杨属植物的同工过氧化物酶[ J ]. 植物分类学报, 1981, 19(3): 291—297.

[ 9 ] 董存田, 宋金耀, 孟庆祥. 安梨不同器官、不同发育时期的过氧化物酶同工酶[ C ] //园艺学进展. 北京: 中国农业出版社, 1994: 129.

[ 10 ] 胡乃成, 宋金耀, 董存田. 苹果无性系品种的过氧化物酶同工酶酶谱分析[ J ]. 河北农业技术师范学院学报, 1988, 2(4): 42—45.

[ 11 ] Filner Ph. Enzyme induction in higher plants[ J ]. Science, 1969, 165: 358—367.

[ 12 ] 刘魁英, 王有年. 园艺植物试验设计与分析[ M ]. 北京: 中国科学技术出版社, 1999: 82.

[ 13 ] 刘魁英, 王有年. 果树试验设计与分析[ M ]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993: 22—24.

[ 14 ] 白宝璋, 王景安, 孙玉霞, 等. 植物生理学测试技术[ M ]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993: 37—38.

[ 15 ] 西北农业大学. 基础生物化学实验指导[ M ]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1986: 86—88.

[ 16 ] 孙文全. 联苯胺比色法测定果树过氧化物酶活性的研究[ J ]. 果树科学, 1988, 5(3): 105—108.

[ 17 ] 徐家秀. 果树过氧化物酶同工酶分析技术[ J ]. 园艺, 1984(1): 27—32.

[ 18 ] 沈允钢, 施教耐, 许大全. 动态光合作用[ M ]. 北京: 科学出版社, 1998: 54—74.

[ 19 ] Dixon M, Webb E C. 酶[ M ]. 上海: 上海科学技术出版社, 1964.

[ 20 ] Gaspar Th, Penel C L, Thorpe T, et al. Peroxidases. 1970—1980. A Survey of Their Biochemical and Physiological Roles in Higher Plants[ M ]. Geneva, Switzerland, 1982: 89—122.

[ 21 ] Greppin H, Penel C, Gaspar Th. Molecular and Physiological Aspects of Plant peroxidases [ M ]. Switzerland: University of Geneva, 1986: 153—169.