

文章编号:1001-7380(2019)05-0028-04

6个玉簪品种的抗氧化酶特性及同工酶分析

周 鹏¹, 徐 璇², 黄 婧¹, 张 敏^{1*}

(1. 江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153; 2. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 生物与环境学院, 江苏 南京 210037)

摘要:以6个玉簪品种为试验材料,研究了不同玉簪品种幼苗抗氧化酶活性及其同工酶谱的差异性。结果表明:在非胁迫环境中,品种‘火与冰’和‘梦想’的SOD、POD活性显著高于其他品种;CAT活性品种间差异不显著。同工酶谱分析表明:6个玉簪品种叶片SOD和CAT同工酶谱带相似;不同品种在POD同工酶带型分布及显色强度上存在差异;品种‘火与冰’和‘梦想’均存在其特征谱带。总体认为,品种‘火与冰’和‘梦想’抗逆性较强。

关键词:玉簪;抗氧化酶;SOD;POD;CAT;同工酶谱

中图分类号:Q946.54⁺.6;S682.1⁺9

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2019.05.005

Analysis on antioxidant enzyme activities and peroxidase isozymes in six Hosta varieties

Zhou Peng¹, Xu Xuan², Huang Jing¹, Zhang Min^{1*}

(1. Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, China; 2. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, College of Biology and the Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: Antioxidant enzyme activities of 6 Hosta varieties including *H.* ‘Fire and ice’, *H.* ‘Dream’, *H.* ‘Frances Williams’, *H.* ‘Fran Godfrey’, *H.* ‘Aureomarginata’ and *H.* ‘Patriot’ were measured, and the isozymes of 6 samples were studied by polyacrylamide gel electrophoresis. The results showed that there was no obvious difference in the activity of CAT in the leaves of 6 Hosta varieties. Moreover, the highest activities of SOD and POD were found in *H.* ‘Fire and ice’ and *H.* ‘Dream’. The data indicated that isozyme profiles of SOD and CAT were similar in 6 varieties. There were differences in the band pattern and color intensity of the isozyme profiles of POD in different varieties, and *H.* ‘Fire and ice’ and *H.* ‘Dream’ had those own characteristic bands. We concluded that the resistances of *H.* ‘Fire and ice’ and *H.* ‘Dream’ were stronger.

Key words: Hosta; Antioxidant enzymes; SOD; POD; CAT; Isozyme profile

玉簪属(*Hosta*)植物为百合科(Liliaceae)多年生宿根草本植物。因其株形、叶色丰富,且花色、花形颇具特色,已成为城市景观中重要的地被植物^[1]。玉簪属园艺栽培品种众多,目前国际登录品种在5 000个以上,但这些品种多为外国育种专家培育。我国原产玉簪种数量少,市场上仅见玉簪(*H. plantaginea*)和紫萼(*H. ventricosa*),资源相对匮乏^[2]。近年,我国从国外引入大量玉簪属品种资

源,而对这些玉簪资源进行抗性鉴定和评价,是其育种和异地引种的前提和基础。植物体内的抗氧化酶活性反映植物对活性氧的清除能力,与其自身抗性和适应性密切相关^[3-4]。本研究选取6个常见玉簪品种作为试验材料,比较其抗氧化酶活性及抗氧化酶同工酶谱差异,从抗氧化角度分析不同玉簪品种的抗逆性,进而为玉簪品种栽培应用和选育提供参考依据。

收稿日期:2019-08-04;修回日期:2019-08-31

基金项目:江苏省林业科技创新与推广项目“优良林下地被植物高效栽培技术研究与示范”

作者简介:周 鹏(1989-),男,江苏东台人,助理研究员,硕士。主要从事林木良种繁育和生理研究。

* 通信作者:张 敏(1980-),女,内蒙古人,研究员,博士。要从事林木逆境生理生化和林木花卉良种繁育工作。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取的6个玉簪品种为‘火与冰’(*H. ‘Fire and ice’*)、‘梦想’(*H. ‘Dream’*)、‘法兰西威廉’(*H. ‘Frances Williams’*)、‘弗兰戈弗雷’(*H. ‘Fran Godfrey’*)、‘金边紫萼’(*H. ‘Aureomarginata’*)和‘爱国者’(*H. ‘Patriot’*)。材料在人工气候箱中培养,光强 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 温度 25°C , 湿度 70%。每品种取独立的3株上成熟完好叶片进行试验。

1.2 试验方法

1.2.1 抗氧化酶活性测定 称取1 g植物叶片置于研钵中,加入10 mL 50 mmol/L PBS(含1 mmol/L EDTA和1% PVPP, pH7.0),冰浴下匀浆, $13\,000 \times g$, 4°C 离心10 min。上清液即酶液, -20°C 保存备用。抗氧化酶活性和可溶性蛋白含量测定采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行。酶活力用 U/mg protein 表示。

1.2.2 抗氧化酶同工酶谱分析 同工酶电泳参考韩厅等^[5]的方法;SOD同工酶的染色采用四氮唑蓝(NBT)法^[6];POD同工酶的染色采用联苯胺法^[7];CAT同工酶的染色采用铁染色法^[7]。染色后采用凝胶成像系统观察并拍照。

1.3 数据分析

利用 Excel 2003 和 SPSS19.0 进行数据处理,作图采用 Origin 9.0 软件。

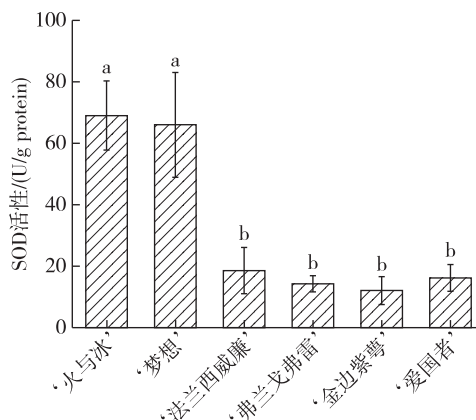
2 结果与分析

2.1 不同玉簪叶片抗氧化酶活性

2.1.1 SOD 活性 如图1所示,6玉簪品种叶片SOD活性为12.04—68.96 U/g protein,其中‘火与冰’叶片SOD活性最高,其次为‘梦想’,SOD活性为66.01 U/g protein,2者活性显著高于其他玉簪品种($P < 0.05$),但2者差异不显著($P > 0.05$)。

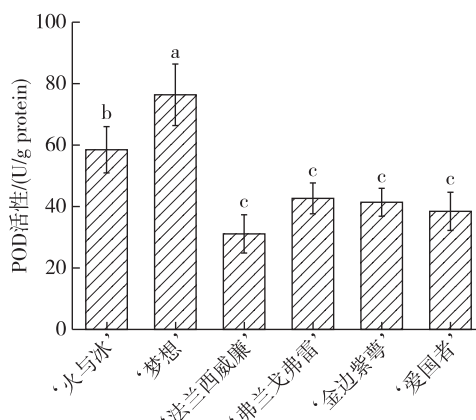
2.1.2 POD 活性 不同品种的簪叶片POD活性存在显著差异($P < 0.05$) (如图2)。“梦想”叶片POD活性最高,为76.33 U/g protein;其次是“火与冰”,活性为58.39 U/g protein;2者活性明显高于其他玉簪品种($P < 0.05$)。

2.1.3 CAT 活性 由图3可知,不同品种玉簪叶片CAT活性差异未达到显著水平($P > 0.05$),其中“梦想”叶片CAT活性最高,为17.13 U/g protein,“法兰西威廉”最低,为10.06 U/g protein。



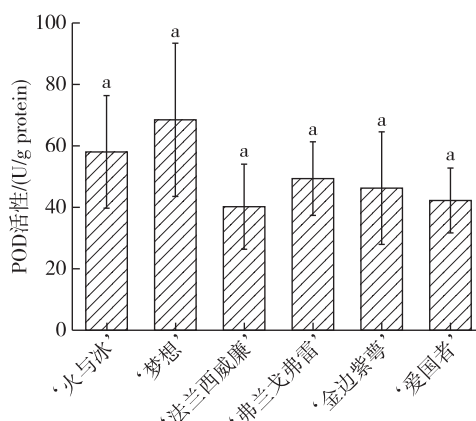
注:图中不同小写字母表示差异达0.05显著水平。

图1 不同玉簪品种 SOD 活性



注:图中不同小写字母表示差异达0.05显著水平。

图2 不同玉簪品种 POD 活性



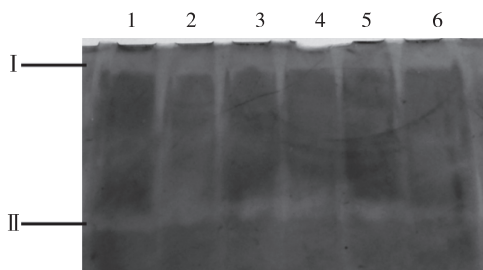
注:图中不同小写字母表示差异达0.05显著水平。

图3 不同玉簪品种 CAT 活性

2.2 不同玉簪品种叶片抗氧化酶同工酶谱分析

2.2.1 SOD 同工酶谱 由图4可见,6个玉簪品种叶片共分离出2条SOD同工酶谱带,即谱带I和II。谱带I和II在所有玉簪品种中均有出现,且

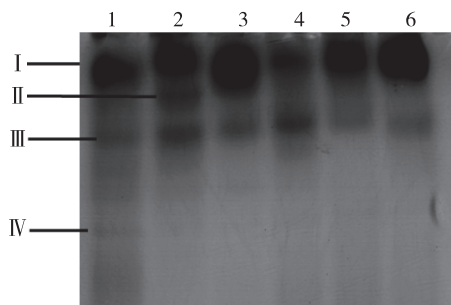
各品种间谱带 I 和 II 差异不明显。此外,谱带 I 宽度大于谱带 II,说明谱带 I 的 SOD 同工酶活性较强,起关键性作用。



注:1.‘火与冰’; 2.‘梦想’; 3.‘法兰西威廉’;
4.‘弗兰戈弗雷’; 5.‘金边紫萼’; 6.‘爱国者’

图 4 不同玉簪品种叶片中 SOD 同工酶谱

2.2.2 POD 同工酶谱 如图 5 所示,6 个玉簪品种叶片共分离出 4 条 POD 同工酶谱带,即谱带 I, II, III, IV,各品种间谱带数目、宽度和亮度均存在差异。谱带 I 在所有玉簪品种中均出现,在‘法兰西威廉’和‘爱国者’中谱带亮度较强,其次为‘火与冰’‘梦想’‘金边紫萼’,亮度最弱的是‘弗兰戈弗雷’。谱带 II 仅在‘梦想’中出现,而谱带 III 在所有玉簪品种中均出现,除在‘梦想’和‘弗兰戈弗雷’中谱带亮度较强外,在其他品种中均较弱。谱带 IV 仅在‘火与冰’中出现,推测可能是其特征酶带。



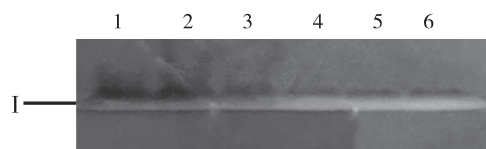
注:1.‘火与冰’; 2.‘梦想’; 3.‘法兰西威廉’;
4.‘弗兰戈弗雷’; 5.‘金边紫萼’; 6.‘爱国者’

图 5 不同玉簪品种叶片中 POD 同工酶谱

2.2.3 CAT 同工酶谱 如图 6, CAT 同工酶图谱中, 6 个玉簪品种叶片仅分离出 1 条 CAT 同工酶带,且各品种间谱带 I 宽度和亮度差异不明显。

3 结论与讨论

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)是参与活性氧代谢的重要酶类,



注:1.‘火与冰’; 2.‘梦想’; 3.‘法兰西威廉’;
4.‘弗兰戈弗雷’; 5.‘金边紫萼’; 6.‘爱国者’

图 6 不同玉簪品种叶片中 CAT 同工酶谱

在维持植物体内活性氧的动态平衡方面起着极其重要的作用^[8-10]。研究表明,同一植物不同品种体内抗氧化酶存在明显差异,表现出在抵抗胁迫和适应环境方面的遗传多样性。为应对突如其来的各种逆境,在非胁迫环境下某些品种抗氧化酶系统进化保持在较高水平,使得其抗性要明显强于其他品种^[11-12]。本试验表明,在非胁迫的生长环境中,‘火与冰’和‘梦想’的 SOD 和 POD 活性显著高于其他品种,说明这 2 者在防御逆境胁迫方面具有一定的优势。

在不同发育期、不同组织和不同环境中,植物体内同工酶成分和活性存在差异,表现出多态性^[13-14]。有研究表明,过氧化物酶与植物的抗逆生理显著相关,过氧化物酶同工酶谱带数目及颜色深浅可作为衡量植物抗性强弱的一个指标^[15-16]。本研究通过对 6 个玉簪品种 POD, SOD, CAT 同工酶谱分析发现, SOD 和 CAT 同工酶在谱带数目、谱带宽度及显色强度方面没有明显差异。但不同玉簪品种 POD 同工酶谱带存在较大差异,其中‘火与冰’和‘梦想’对应的 POD 同工酶均具有特征酶带,同工酶谱带数目较其他品种丰富,推断这 2 个玉簪品种抗氧化性较强, POD 同工酶起到了关键作用。

综合抗氧化酶活性和同工酶评价,品种‘火与冰’和‘梦想’的抗氧化酶活性较高, POD 同工酶谱带数目较多,说明 2 者抗逆性较强,适合大面积引种栽培。

参考文献:

- [1] 张金政,施爱萍,孙国峰,等.玉簪属植物研究进展[J].园艺学报, 2004, 31(4):549-554.
- [2] 遇文婧,许怡玲,宋小双,等.我国引种玉簪(*Hosta*)研究进展[J].吉林农业, 2011(3):228-228.
- [3] NAEEM A, SAIFULLAH, ZIA-UR-REHMAN M, et al. Silicon nutrition lowers cadmium content of wheat cultivars by regulating transpiration rate and activity of antioxidant enzymes[J].Environmental Pollution, 2018, 242:126-135.

- [4] AFRIDI M S, AMNA, SUMAIRA, et al. Induction of tolerance to salinity in wheat genotypes by plant growth promoting endophytes: Involvement of ACC deaminase and antioxidant enzymes[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2019, 139:569-577.
- [5] 韩 厅,辛夏青,魏小红.外源 NO 对 PEG 胁迫下苜蓿幼苗抗氧化酶及同工酶的影响[J]. 分子植物育种, 2019(10): 3399-3405.
- [6] 徐心诚.低温弱光对黄瓜幼苗过氧化物酶同工酶和丙二醛含量的影响[J].河南农业科学,2012, 41(1):113-116.
- [7] FATH A, BETHKE P, BELIGNI V, et al. Active oxygen and cell death in cereal aleurone cells[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(372):1273-1282.
- [8] DENG B L. Antioxidative response of Golden Agave leaves with different degrees of variegation under high light exposure[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2012, 34(5):1925-1933.
- [9] GUO J J, QIN S Y, RENGEL Z, et al. Cadmium stress increases antioxidant enzyme activities and decreases endogenous hormone concentrations more in Cd-tolerant than Cd-sensitive wheat varieties[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 172: 380-387.
- [10] BANKAJI I, PÉREZ-CLEMENTE R M, CAÇADOR I, et al. Accumulation potential of *Atriplex halimus* to zinc and lead combined with NaCl: Effects on physiological parameters and antioxidant enzymes activities[J].South African Journal of Botany, 2019, 123: 51-61.
- [11] 李玉华,赵 奇,雷志华,等.不同地黄品种叶片中活性氧和抗氧化物质的差异研究[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 377-380.
- [12] 于思桦,陆秀君,曹 婷,等.美国红枫系列品种保护酶系统活性变化及其与耐寒性的关系[J]. 江苏农业科学, 2018,46(4): 124-128.
- [13] KIM S Y, LIM J H, PARK M R, et al. Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress[J].Journal of biochemistry and molecular biology,2005, 38(2):218-224.
- [14] JUNG S. Expression level of specific isozymes of maize catalase mutants influences other antioxidants on nonflurazon-induced oxidative stress[J]. Pesticide Biochemistry & Physiology, 2003, 75(1):9-17.
- [15] 史鹏辉,刘自刚,张亚宏,等.23 份油菜的抗氧化酶特性及过氧化物同工酶分析[J]. 西北农业学报, 2014, 23(1):113-119.
- [16] 次仁白珍.不同抗寒冬油菜品种过氧化物同工酶比较[J]. 西藏农业科技, 2015(3):35-39.

(上接第 27 页)

参考文献:

- [1] 汪企明,江泽平,吕祥生.落羽杉属种源研究:树种生物学特性[J].江苏林业科技,2000,27(1):1-6.
- [2] 柳学军,曹福亮,汪贵斌,等.落羽杉优良种源选择[J].南京林业大学学报,2006,30(2):47-50.
- [3] 郑万钧.中国主要树种造林技术[M].北京:中国林业出版社,1983.
- [4] 汪企明,吕祥生,江泽平,等.落羽杉属种源研究:种子与苗期变异[J].江苏林业科技,1993,20(1):1-4,8.
- [5] 汪企明,江泽平,吕祥生,等.落羽杉属种源研究:树种生物学特性[J].江苏林业科技,1995,22(2):14-18.
- [6] 汪企明,王 伟,蒋志新,等.落羽杉属种源研究:生长和生物量变异[J].江苏林业科技,1998,25(1):1-6.
- [7] 黄利斌,李晓储,张定瑶,等.落羽杉地理种源变异与选择[J].林业科学研究,2007,20(4):447-451.
- [8] 柳学军.落羽杉优良种源选择研究[D].南京:南京林业大学,2006.
- [9] 胡绪森,丁次平,张言平.江汉平原湖区落羽杉优良家系早期选择[J].安徽农业科学,2012,40(14):8171-8172,8174.
- [10] 王丹碧,余 华,凌子然,等.落羽杉与墨西哥落羽杉 3 个杂交后代品系的生长和杂种优势分析[J].植物资源与环境学报, 2017,26(1):55-62.
- [11] 严 洪.江苏徐淮平原农田林网结构与防护效益研究[D].南京:南京林业大学,2017.
- [12] 赵宗哲.华北地区农田防护林主要造林树种的选择[J].林业科学,1965,10(2):148-159.
- [13] 杨 斌,杨国州,张延东.运用层次分析法优选临夏北塬农田防护林树种[J].林业科学,2006,42(6):49-55.
- [14] 赵永斌,汤 玲.京九绿色长廊建设树种选择研究初探[J].安徽林业科技,1999(3):30-31.
- [15] 施士争,路 明,王红玲,等.江苏苏北杨树农田林网更新主栽树种选择研究[J].江苏林业科技,2017,44(6):27-31.