

文章编号: 1000-5692(2005)04-0385-05

# 杂交鹅掌楸苗期超氧化物歧化酶和 过氧化物酶的活力变异

杨秀艳<sup>1</sup>, 季孔庶<sup>2</sup>, 王章荣<sup>2</sup>, 赖焕林<sup>2</sup>

(1. 中国林业科学研究院 亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400; 2. 南京林业大学 森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

**摘要:** 在不同生长季节, 对 19 个杂交鹅掌楸 *Liriodendron chinense* × *Liriodendron tulipifera* 家系和 2 个对照家系苗木的超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)的活力进行了测定, 并对它们在家系间的变异以及与生长的关系进行了分析。结果表明, 2 种酶的活力表现出生长前期低于生长后期的趋势, 并且在家系间的差异达到了显著或极显著水平。相关分析结果表明, 生长性状与 SOD 活力呈显著正相关, 而与 POD 活力负相关不显著。鹅掌楸 *Liriodendron chinense* 与北美鹅掌楸 *Liriodendron tulipifera* 的 SOD 活性均较低, 有 84.2% 的家系 SOD 活性较两亲本种高, 其余表现为两亲本种的中间类型; 有 63.2% 杂种家系的 POD 活性表现为两亲本的中间类型。SOD 可以作为评价和预测杂交鹅掌楸家系生长性状的生理生化指标之一。图 2 表 3 参 10

**关键词:** 树木生理学; 杂交鹅掌楸; 超氧化物歧化酶; 过氧化物酶; 相关性

**中图分类号:** S718.43      **文献标识码:** A

经典遗传学认为, 基因的最后表达是通过酶及其指导的生化过程而实现的, 假如植物在某一性状上存在着基因型的差异, 那么这种差异会体现在相应的生理生化标记上。因此利用生理生化标记作为选择育种的间接指标, 对于育种周期相对较长的木本植物而言, 具有一定的现实意义。近年来, 有关保护性酶[如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等]与植物生长及抗性关系的研究报道渐多<sup>[1~4]</sup>, 其中过氧化物酶与生长的关系有较多研究, 而对超氧化物歧化酶与生长的关系则研究较少。杂交鹅掌楸 *Liriodendron chinense* × *L. tulipifera* 是 1963 年由南京林业大学首次人工开展鹅掌楸属 *Liriodendron* 的种间杂交所得, 后经几代人的努力, 获得相当数量的杂种, 并已在我国福建、湖南、湖北、浙江、江苏、山东、河南、北京和陕西等地试种。该杂种除保留亲本叶形奇特和花期长的优点外, 还表现出比双亲树种花色鲜艳, 速生, 抗逆性强, 适应性广, 无病虫害以及树型优美, 树干通直等特点, 具较强的杂种优势, 被公认为极具开发前景的园林绿化和用材两用型树种。本文以杂交鹅掌楸为对象, 研究不同家系间超氧化物歧化酶和过氧化物酶活力的变异情况, 并对酶活力与生长的关系进行相关性分析, 旨在了解杂交鹅掌楸体内 2 种酶的变异规律, 探寻杂种优势形成的生理基础。

收稿日期: 2004-10-10; 修回日期: 2005-05-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070633)

作者简介: 杨秀艳, 博士研究生, 从事林木遗传育种研究。E-mail: daiyxy@hotmail.com. 通讯作者: 季孔庶, 副教授, 博士 主要从事林木遗传改良和园林植物遗传育种研究。E-mail: ksj@njfu.edu.cn

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

参试材料为2年生苗,包括19个杂种家系和2个对照家系,全部植于南京林业大学江宁苗圃内。圃地地力均匀,光照充足。试验采用完全随机区组设计,3次重复。参试家系编号依次为:鹅掌楸 *Liriodendron chinense* 家系 C, 北美鹅掌楸 *L. tulipifera* 家系 T; 杂交种的家系 CC01, CC02, CC03, CT01, TC01, TC02, CH01, CH02, CH03, CH04, CH05, CH06, CH07, HC01, HC02, HC03, HC04, HH01, HH02。

### 1.2 试验方法

分别于2001年7月28日、9月9日和9月26日分3次采集植株中部向阳叶片作为试验样品,用冰瓶带回实验室,并分家系称取0.5g的样品3份(3次重复),置于超低温冰箱中保存待用。

SOD活力的测定:依据SOD抑制氮蓝四唑(NBT)的光化还原反应,在2.1 mL pH=7.8的磷酸缓冲液反应体系中,依次加入200  $\mu$ L 0.1  $\mu$ mol $\cdot$ L $^{-1}$ 的EDTA溶液、130  $\mu$ mol $\cdot$ L $^{-1}$ 甲硫氨酸溶液、2  $\mu$ mol $\cdot$ L $^{-1}$ 核黄素,适量酶液和200  $\mu$ L 175  $\mu$ mol $\cdot$ L $^{-1}$ 氮蓝四唑溶液,经振荡后,放置4 000 lx日光灯下进行光化反应,反应温度为25  $^{\circ}$ C,时间为30 min,然后立即用721型分光光度计在560 nm波长下比色测光密度值,以抑制NBT光化学还原50%为一个酶活力单位。

POD活力按愈创木酚法,在4 mL体积分数为3%的愈创木酚反应体系中,加入200  $\mu$ L 0.05 N H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和适量酶液反应1 min,用721型分光光度计在470 nm波长下比色测光密度值,以每分钟变化0.1个光密度值为一个酶活力单位(U),再经公式  $1U=16.7 \text{ nkat}$  换算。

## 2 试验结果与分析

### 2.1 家系 SOD 和 POD 活力的动态分析

对不同日期21个家系的SOD和POD这2种酶活力的测定发现,两种酶活力都有生长后期高于前期的趋势,特别是一些家系的过氧化物酶活力在9月份以后有较大幅度增加(图1~2)。

一般说来7月至8月,苗木正处于生长旺盛阶段,而从9月中旬以后,苗木生长开始减缓,叶片也开始衰老。由图1~2可以看出,2种酶的活力在苗木生长前期(7月至8月)均处于较低水平,在7月和8月21个家系平均SOD酶活力分别为2.33和2.03  $\mu$ kat $\cdot$ g $^{-1}$ ,POD酶活力平均值为10.41和12.06  $\mu$ kat $\cdot$ g $^{-1}$ ;到了后期(9月底)活力开始上升,SOD和POD 2种酶活力分别达到了2.84和15.78  $\mu$ kat $\cdot$ g $^{-1}$ 。植物生理学的分析认为,超氧化物歧化酶和过氧化物酶与植物逆境和衰老有关,自由基伤害理论认为逆境与衰老都伴随着氧自由基的增加。超氧化物歧化酶是氧自由基清

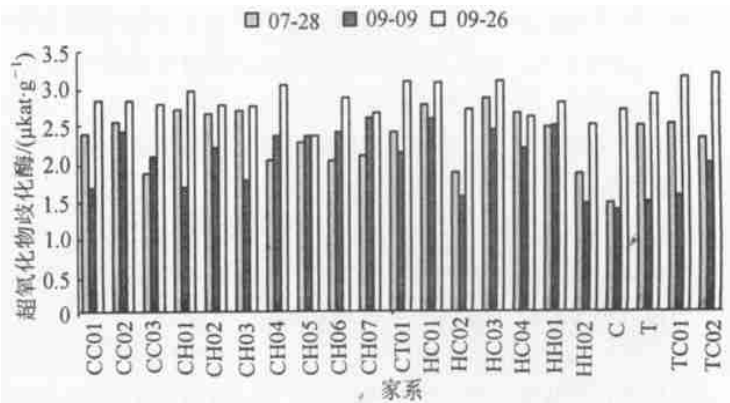


图1 不同家系杂交鹅掌楸超氧化物歧化酶活力动态

Figure 1 Dynamics of SOD activity of different series at different dates

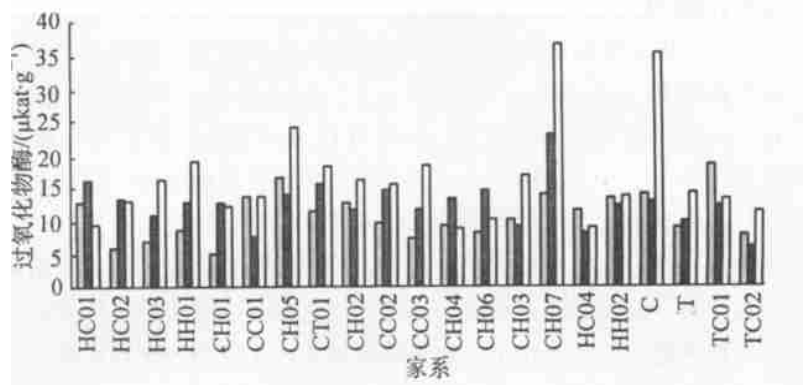


图2 不同家系杂交鹅掌楸过氧化物酶活力动态

Figure 2 Dynamics of POD activity of different series at different dates

1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

除酶促防御系统中的重要成员<sup>[5]</sup>, 与植物抗氧化能力直接相关<sup>[6]</sup>。过氧化物酶则不仅与植物抗逆和衰老有关, 同时它还具有与植物生长素氧化酶相似的性质<sup>[7]</sup>, 它对植物的生长有调节作用, 参与细胞壁多种结构成分的聚合作用, 因此在植物生长发育过程中起着重要作用<sup>[8]</sup>。本次测定的 SOD 与 POD 活力的动态趋势与苗木生长过程中叶片内细胞的成熟与老化相一致, 验证了 2 种酶在鹅掌楸属树种中的生理作用。

## 2.2 不同家系 SOD 和 POD 活力的比较

对不同家系杂交鹅掌楸超氧化物歧化酶和过氧化物酶活力测定的结果表明, 除 9 月 26 日所测得的超氧化物歧化酶活力在家系间差异不显著外, 在其他几个时间所测定的酶活力在家系间的差异都达到了显著或极显著水平(表 1)。

表 1 不同家系超氧化物歧化酶和过氧化物酶活力方差分析

Table 1 ANOVA of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) activities of different series

变异来源	测定日期	自由度	SOD 酶活力			POD 酶活力		
			离差	离差平方和	F 值	离差	离差平方和	F 值
家系	07-28	20	8 439 933.66	421 996.68	2.41 **	673 345 546	33 667 277	2.67 **
	09-09	20	6 456 519.75	322 825.99	3.01 **	681 665 590	35 877 136	3.94 **
	09-26	20	2 426 483.15	121 324.16	0.90	11 756 527 478	87 826 373	2.14 *
	全生长季	20	3 522 901.64	176 145.08	1.95 *	11 670 989 095	83 549 454	3.36 **

说明: \* 表示在 0.05 水平上差异显著; \*\* 表示在 0.01 水平上差异极显著。

不同家系苗木 2 种酶的活力表现是不同的。如 HC03 和 HC01 等家系在生长期内一直保持较高的超氧化物歧化酶活力, 整个生长季的平均值分别为 2.81 和 2.79  $\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结合苗高和地径生长量的调查数据, 发现此 2 个家系的生长量也属所有参试家系较大者, 暗示着苗期生长量与整个生长季 SOD 和 POD 平均活力间可能存在一定的相关性。同时发现, 家系 C, CH05 和 CH07 的过氧化物酶活力在 9 月底急剧上升, 达到了 19.90, 17.48 和 23.50  $\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$ , 处于全部家系的前 3 位。产生此现象的原因有待作进一步调查。

## 2.3 生长性状与 2 种酶活力的相关分析

进一步对苗木的生长性状(苗高和地径)与 2 种酶活力进行相关分析(表 2), 表明苗木的高生长和地径生长与超氧化物歧化酶活力极显著或显著相关, 与过氧化物酶活力负相关不显著。这说明超氧化物歧化酶活力与生长的关系密切, 该酶活力强的家系生长快, 如家系 HC03 和 HC01 等。

## 2.4 杂种家系和亲本之间 2 种酶活力的比较

对杂种家系与其两亲本在整个生长季中两种酶活力的大小进行比较(表 3)。可见, 亲本鹅掌楸及北美鹅掌楸在 2 种酶活力水平上表现是不同的。两亲本在整个生长季中 SOD 酶活力均较低, 处于第 1 位和第 5 位, POD 酶活力二者差距较大, 鹅掌楸的活力较高排在第

表 2 生长性状与超氧化物歧化酶和过氧化物酶活力的相关系数

Table 2 Correlation coefficients between growth characters and SOD, POD activities in hybrid series

相关性	苗高	地径	超氧化物歧化酶	过氧化物酶
苗高	1	0.795 62 **	0.551 75 **	-0.292 12
地径		1	0.471 81 *	-0.269 40
超氧化物歧化酶			1	-0.259 47

说明: \* 表示在 0.05 水平上相关显著; \*\* 表示在 0.01 水平上相关极显著。

20 位, 北美鹅掌楸较低处于第 7 位。通过杂交(包括正交、反交、回交及 F1 代个体杂交)得到的杂种家系在 2 种酶活力上也有所不同。通过杂交, 有 84.2% 的家系 SOD 酶活力较两亲本要高, 其余表现为两亲本的中间类型; 有 63.2% 杂种家系的 POD 酶活力表现为两亲本的中间类型, 31.6% 的家系活力低于北美鹅掌楸, 0.05% 的家系活力高于鹅掌楸。结合生长性状与 2 种酶活力的相关分析来看, 通过杂交所获得的多数杂种家系 SOD 和 POD 酶活力变化对其生长是有利的。特别是 SOD 酶, 试验中所有杂种家系的酶活力都高于鹅掌楸, 而 SOD 酶活力大小又与苗高和地径生长呈极显著和显著相关。

因此通过杂交可以改善杂种后代的酶活力状况及生长状况。

### 3 结论与讨论

表3 杂交鹅掌楸家系及其亲本超氧化物歧化酶和过氧化物酶活力平均值的比较

Table 3 Comparisons of SOD, POD activities in hybrid series and their parents

亲本及杂种家系	SOD 酶活力/ ( $\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$ )	SOD 酶活力 排序	POD 酶活力/ ( $\mu\text{kat}\cdot\text{g}^{-1}$ )	POD 酶活力 排序
C	1.84	1	19.90	20
T	2.29	5	10.65	7
CC01	2.29	6	11.24	9
CC02	2.60	19	12.75	14
CC03	2.24	4	11.96	11
CH01	2.45	12	9.68	3
CH02	2.54	17	9.23	15
CH03	2.40	9	11.57	10
CH04	2.47	13	10.08	4
CH05	2.32	7	17.48	19
CH06	2.43	10	10.59	6
CH07	2.45	11	23.50	21
CT01	2.54	16	14.48	18
HC01	2.81	21	12.25	12
HC02	2.04	3	10.40	5
HC03	2.79	20	10.95	8
HC04	2.48	14	9.26	2
HH01	2.58	18	12.98	16
HH02	1.93	2	12.67	13
TC01	2.40	8	14.12	17
TC02	2.50	15	8.18	1

杂交鹅掌楸多数家系苗木的 SOD 和 POD 活力在生长季的后期高于前期。可能与苗木生长过程中叶片内细胞的成熟与老化有关。在不同家系间除在生长季末期(9月26日)超氧化物歧化酶活力在家系间无明显差异外,在其他阶段家系间超氧化物歧化酶和过氧化物酶活力均有显著或极显著差异。

苗期生长性状(苗高和地径)与2种酶活力的相关分析说明超氧化物歧化酶活力升高对生长是有利的,可以用来评价和预测生长性状。

超氧化物歧化酶通过提高植物逆境中的抗逆性来促进其生长。本研究发

现杂交鹅掌楸各家系苗期生长性状与 SOD 活力呈现显著的正相关关系,可以认为具有较高的 SOD 活力水平是杂交鹅掌楸杂种优势产生的另一个重要生理基础,因为较高的 SOD 活力使杂种具有更强的抗逆性。

本次研究中虽然过氧化物酶与生长性状的相关未达到显著程度,不宜将它们单独作为家系评选的指标使用,同时也不应忽视它们与生长之间关系的存在。酶是由基因决定的,具有遗传性,直接影响林木的生长和发育,但在植物生长的不同时期可能具有不同的遗传变异规律,因此,进行各种酶活力与林木生长性状在不同时期的相关性研究是十分必要的。同时植物的生长状况有多种评价指标,如生理指标和形态指标等,若将这些指标综合起来,对植物生长的预测将更具客观性和可靠性。

超氧化物歧化酶和过氧化物酶是植物体内抗氧化保护酶系统中的重要成员,其酶活性大小与植物抗氧化胁迫能力的大小直接有关。研究已证明,超氧化物歧化酶和过氧化物酶与植物逆境和衰老有关<sup>[9]</sup>,当然即使在植物细胞正常代谢过程中,活性氧也可由多种途径产生。高等植物叶绿体光合电子传递链 PS I 的受体端存在大量的自动氧化酶类,能够通过米勒反应将氧光还原成超氧化物。最近研究发现,在强光处理的类囊体及完整的叶绿体中,超氧化物和  $\text{H}_2\text{O}_2$  同样可由 PS II 产生,而自由基伤害理论认为氧自由基的增加会对植物产生伤害,影响植物生长。SOD 与 POD 对保持植物体内较低的氧自由基水平起着重要作用,特别是 SOD 就处于这一系统的第一线,因而它对植物抗氧化胁迫能力的高低影响十分关键。有研究发现它与水稻 *Oryza sativa* 品种氧抑光合程度的大小有关<sup>[10]</sup>,证明氧抑光合程度小的品种超氧化物歧化酶活性高于氧抑光合程度大的品种。超氧化物歧化酶可能是通过提高植物在逆境中的光合效率来促进生长的。C4 植物甘蔗 *Saccharum officinarum* 和玉米 *Zea mays* 比 C3 植物花生和水稻具有较高的 SOD 活力水平,因此 C4 植物对光氧化胁迫的敏感性略低于 C3 植物<sup>[4]</sup>。

本研究结果表明,超氧化物歧化酶活力与杂交鹅掌楸苗木生长呈显著正相关,其活力的升高对生

长是有利的, 初步认为可以用来评价和预测苗期生长情况。同时发现过氧化物酶活力与苗木生长负相关不显著。

### 参考文献:

- [1] 罗立新, 崔克明, 李正理, 等. 杜仲形成层活动周期及过氧化物酶和酯酶同工酶的变化[J]. 北京大学学报: 自然科学版, 1999, 35 (2): 209-216.
- [2] 彭长连, 林植芳, 林桂珠. 光氧化胁迫下几种植物叶片的超氧自由基产生速率和光合特性[J]. 植物生理学报, 2000, 26 (2): 81-87.
- [3] 殷亚方, 姜笑梅, 魏令波. 毛白杨形成层的活动周期及其 POD 同工酶的变化[J]. 林业科学, 2002, 38 (1): 103-109.
- [4] 谢寅峰, 沈惠娟. 水分胁迫下 3 种针叶树幼苗抗旱性与硝酸还原酶和超氧化物歧化酶活性的关系[J]. 浙江林学院学报, 2000, 17 (1): 24-27.
- [5] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27 (2): 84-90.
- [6] Sairam R K, Saxena D C. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance [J]. *J Agron Crop Sci*, 2000, 184 (1): 55.
- [7] 徐如涓, 赵毓楠. 表油菜素内酯对黄瓜幼苗下胚轴过氧化物酶和 IAA 氧化酶活性的影响[J]. 植物生理学报, 1989, 15 (3): 263-267.
- [8] Huystee V, Zheng X H. Cationic peroxidase and the oxidase of ferulic acid [J]. *Phytochem*, 1993, 34: 933-939.
- [9] 王建华, 刘鸿先, 徐同. 超氧化物歧化酶(超氧化物歧化酶)在植物逆境和衰老生理中的作用[J]. 植物生理学通讯, 1989, 15 (1): 1-7.
- [10] 王荣福, 崔继林, 聂毓琦. 水稻品种超氧化物歧化酶(超氧化物歧化酶)活性与氧抑光合的关系[J]. 植物生理学报, 1987, 13 (3): 257-264.

## Activity variation of superoxide dismutase and peroxidase in hybrid tulip tree seedlings

YANG Xiu-yan<sup>1</sup>, JI Kong-shu<sup>2</sup>, WANG Zhang-rong<sup>2</sup>, LAI Huan-lin<sup>2</sup>

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, Zhejiang, China;

2. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

**Abstract:** Activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in different series of the hybrid tulip tree were measured in different growth stages, and their relationship with growth traits were analyzed. The results showed that the activities were lower in early growth stage than in late stage while there was significant difference in activities of 2 enzymes in different series. Correlation analysis indicated that the activity of SOD was significantly correlated with height and collar diameter, which suggested the high activity of SOD would facilitate the growth of seedlings. In addition, the activity of SOD in 84.2 % of the hybrid families was higher than that in their parents, and activity of POD of 63.2 % of the hybrid series was in the middle level. The SOD could be used as one of physiology and biochemistry indices to evaluate and predict the growth of the hybrid tulip tree. [Ch, 2 fig. 3 tab. 10 ref.]

**Key words:** tree physiology; hybrid tulip tree (*Liriodendron chinense* × *L. tulipifera*); superoxide dismutase; peroxidase; correlation