

# 保鲜剂对麝香石竹切花 SOD 和 POD 同工酶的影响 Effects of Antistaling Agent on Isoenzyme of Superoxide Dismutase and Peroxidase in the Cut-Flower of Carnation

周巧劲

Zhou Qiaojin

(广西师范大学生物系 桂林 541004)

(Biological Department, Guangxi Normal University, Guilin, 541004)

**摘要** 用聚丙烯酰胺凝胶电泳法分析麝香石竹 (*Dianthus caryophyllus* L.) 切花的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 同工酶, 结果表明保鲜剂可使 SOD 的活性增强, 能保持 SOD 酶带不缺失和出现新的酶带; 使 POD 活性比对照减弱。保鲜剂对 SOD 同工酶的影响比 POD 同工酶明显; 对不同器官的酶活性和其同工酶有不同的效果。

**关键词** 超氧化物歧化酶 过氧化物酶 同工酶 麝香石竹 保鲜剂

**Abstract** The isoenzyme of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in the cut-flower of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) were analysed by PAG electrophoresis. The results showed that the activity of SOD was higher than that of the control, new isoenzyme bands of SOD appeared in some organs of the cut-flower, after 48 days treated by the antistaling agent. The treatment of antistaling agent could decrease the activity of POD as compared with the control. The effect of antistaling on isoenzyme of SOD was more remarkable than that on isoenzyme of POD. For different organs, the antistaling had different effects on isoenzyme.

**Key words** SOD, POD, isoenzyme, *Dianthus caryophyllus* L., antistaling

**中图分类号** Q946.546; S681.5

同工酶分析广泛应用于植物生理、病理、细胞代谢、生物类型、物种起源及遗传变异等研究中。但用于切花保鲜研究, 尚未有报道。为了探讨鲜切花的衰老机理和保鲜技术, 本文用聚丙烯酰胺凝胶电泳法分析麝香石竹 (*Dianthus caryophyllus* L.) 切花的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 等同工酶, 研究保鲜剂对切花 SOD、POD 的影响, 为促进鲜切花生产和科学研究提供一些资料。

## 1 材料与方方法

1.1 材料 供试材料麝香石竹采自桂林市蔬菜研究所花圃, 选用初开无病的新鲜花枝, 用利刀以 45°角斜度截取 45 cm, 分别插于盛有蒸馏水 (对照 I) 和保鲜剂 (5%蔗糖+200 mg/L 8-HQ+50 mg/L 硝酸银) 的培养罐中, 置于室内散射光下 48 d, 另以当天采集未经瓶插的鲜麝香石竹作对照 II。取幼芽、花瓣、子房和叶片提取酶。

1.2 酶的提取 取以上材料, 每样 200 mg, 置于预冷的小研钵中, 加 0.1 mol/L Tris-HCl (pH 值 8.0~8.3) 提取缓冲液 1 mL, 在冰浴中匀浆, 离心 (5 000 r/min) 10 min, 取上清液供电泳用。

1.3 电泳 本实验采用聚丙烯酰胺凝胶柱状电泳法, 胶浓度为 7%; 电极缓冲液为高浓度的 Tris-甘氨酸液, pH 值 8.3; 电流为每管 2 mA~3 mA, 电压为 20 V~30 V; 加样量为每管 50  $\mu$ L。由于进样量相同, 便于从酶带的浓度比较活性。电泳在 10℃ 以下进行, 时间约需 2 h<sup>[2]</sup>。

1.4 染色 电泳结束后, 将凝胶置于染色液中, 至酶带清晰为止。染色后, 凝胶柱用水漂洗并保存。SOD 染色: 将凝胶浸泡在  $2.45 \times 10^{-4}$  mol/L 的 NBT 溶液中 20 min, 然后转移到 0.028 mol/L 四甲基乙二胺,  $2.8 \times 10^{-5}$  mol/L 核黄素和 0.036 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 值 7.8) 中浸泡 20 min, 最后将胶放在 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 值 7.8),  $10^{-4}$  mol/L 的 EDTA 溶液中, 光照 20 min 显带<sup>[2]</sup>。POD 染色液的配制: 0.2 mol/L 的 NaAc 20 mL, 0.12% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 mL, 5 mol/L 的 MnSO<sub>4</sub> 2 mL, 联苯胺-愈创木酚混合液 (联苯胺 50 mg, 愈创木酚 135 mg 溶于 25 mL 10% HAc 中) 5 mL, 混合均匀后使用<sup>[1]</sup>。

## 2 结果

用聚丙烯酰胺凝胶电泳法分析麝香石竹切花幼芽、花瓣、子房和叶片中的 SOD 和 POD 同工酶。为了便于叙述, 根据酶的迁移情况, 将所分离的酶带, 由正极端向负极端进行编号。结果 (图 1) 表明, 经保鲜的幼芽和叶片具 1、2、3、4 共 4 条 SOD 酶带, 对照 I、对照 II 具

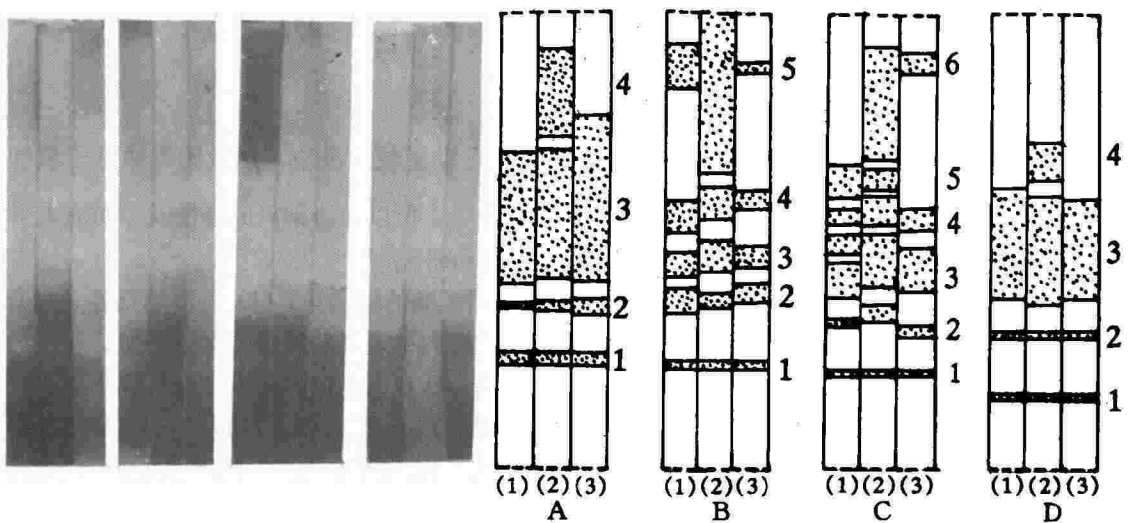


图 1 麝香石竹切花超氧化物歧化酶 (SOD) 同工酶谱

A: 幼芽; B: 花瓣; C: 子房; D: 叶片; (1) 0 天对照 I; (2) 保鲜处理; (3) 蒸馏水对照 I。

1、2、3共3条酶带；经保鲜的子房和对照Ⅱ具1、2、3、4、5、6共6条酶带，对照Ⅰ具1、2、3、4、6共5条酶带；保鲜花瓣与对照Ⅰ、Ⅱ在酶带数目上无明显差异，均具1、2、3、4、5共5条SOD酶带，但经保鲜的酶带较两组对照的宽且明显，尤其是第5条。从SOD同工酶图谱可见，保鲜幼芽、叶片新增加第4条带；保鲜子房保持对照Ⅱ第5条酶带，对照Ⅰ缺失第5条带；同时，保鲜的4种材料SOD同工酶酶带宽且明显，表明其酶活性比两组对照的大，与前人研究结果相符<sup>[3,4]</sup>。

图2表明，保鲜子房具2、3、4、5共4条POD酶带，对照组Ⅰ具1、2、3、4、5共5条酶带，对照Ⅱ具2、3、4、5共4条带；保鲜幼芽、花瓣、子房均比对照组Ⅱ酶带宽，又较对照Ⅰ酶带窄，表明麝香石竹切花在瓶插过程中POD活性有所增加，保鲜剂能降低POD的活性，与前人研究情况相符<sup>[4,6]</sup>。

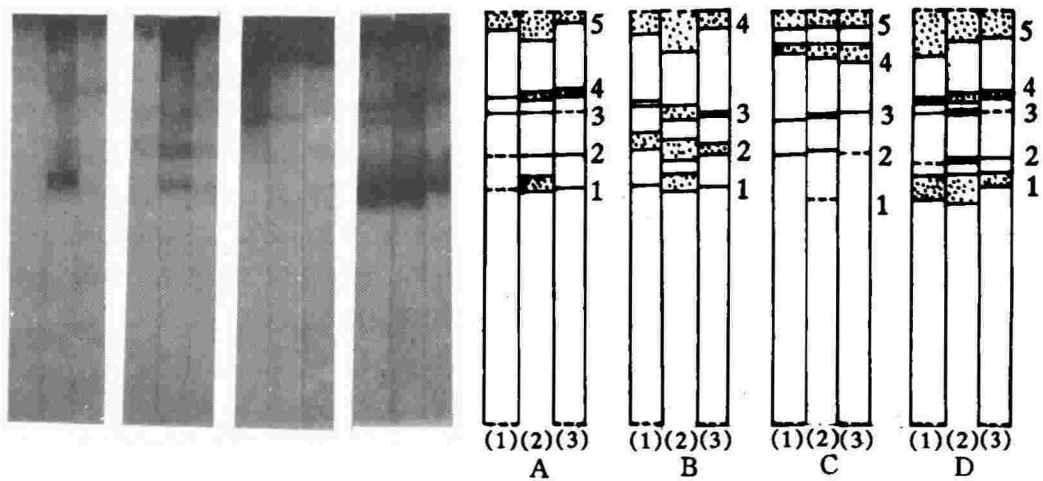


图2 麝香石竹切花过氧化物酶(POD)同工酶图谱

A: 幼芽; B: 花瓣; C: 子房; D: 叶片; (1) 0天对照Ⅰ; (2) 蒸馏水对照Ⅰ; (3) 保鲜处理。

### 3 讨论

SOD是一种细胞保护酶，能催化超氧自由基 $O_2^-$ 发生歧化反应，产生无毒的分子氧和 $H_2O_2$ ： $2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} O_2 + H_2O_2$ 。由于SOD能够清除 $O_2^-$ ，所以在防御氧的毒性及预防衰老等方面起着重要作用<sup>[8]</sup>，近年来越来越引起人们的重视和研究<sup>[2,3,5,9,10,11]</sup>。

本实验结果表明，保鲜剂对麝香石竹切花SOD同工酶的影响是：(1)提高酶活性，对麝香石竹切花具有延缓衰老的作用；(2)保持酶带不缺失和出现新的酶带。其中子房、花瓣的SOD同工酶带多于幼芽、叶片的酶带。Boveris认为，SOD在细胞内的分布往往与体细胞内产生自由基的部位和组织有关<sup>[13]</sup>，幼芽、叶片作为营养器官，SOD酶带数目相同，酶带宽度，着色程度相似；子房为生殖器官，酶带明显比花瓣多1条，比幼芽、叶片多2条；而花瓣作为叶变态而来的营养器官间于子房与幼芽、叶片之间，这些差异是否与不同的器官或植物的生长发育有关，尚待进一步研究。

Dilley认为，POD可以促进乙烯的自动催化合成或者与衰老细胞的活动相关<sup>[14]</sup>。许多研

究表明, 该酶活性的变化, 与鲜切花的衰老密切相关。随着花器官的衰老, 切花在贮藏过程中 POD 活性一直呈上升趋势<sup>[12]</sup>。Ishida 等也认为: 随着植物细胞生长的停滞或逐渐衰老, POD 活性总是显著地增加<sup>[15]</sup>。本实验结果表明: 保鲜剂可抑制麝香石竹切花 POD 活性、提高切花寿命的作用。同时, 酶的表达具有组织特异性, 从实验结果可见, 花瓣具 4 条 POD 酶带, 其它 3 种材料均具有 4 条酶带, 但子房仅在当天采的新鲜材料中出现 5 条, 经保鲜剂或蒸溜水瓶插后, 都缺失第 1 条 POD 酶带。

本实验在保鲜剂对麝香石竹切花保鲜中仅做了初步探索, 要揭示保鲜剂对鲜切花的调控机理, 还有待于进一步研究。

### 参考文献

- 1 吴少伯. 植物组织中的蛋白质及同工酶——聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳. 植物生理学通讯, 1979, (1): 30~33.
- 2 陈一舞等. 盐胁迫下大豆超氧化物歧化酶的变化. 作物学报, 1994, 20 (3): 363~367.
- 3 石贵玉等. 保鲜剂对夏季香石竹切花衰老的延缓作用. 广西植物, 1994, 14 (4): 341~344.
- 4 何宇炯, 徐如涓等. 表油菜内酯对绿豆幼叶衰老的促进作用. 植物生理学报, 1996, 22 (1): 58~62.
- 5 周巧劲. 保鲜剂对香石竹切花生理效应的研究. 广西师范大学学报, 1997, (2).
- 6 苏军等. 预处理对切花菊贮藏中含糖量及过氧化物酶活性的影响. 园艺学报, 1991, 18 (1): 94~96.
- 7 Y. Y. 莱谢姆等. 植物衰老过程和调控. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1990. 111~119.
- 8 方允中, 李文杰. 自由基与酶. 北京: 科学出版社, 1989. 111~161.
- 9 罗广华等. 超氧化物歧化酶在植物细胞内的分布. 植物生理学报, 1985, 11 (2): 163~170.
- 10 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 (4): 323~328.
- 11 王爱国. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究. 植物生理学报, 1983, 9 (1): 77~83.
- 12 田煦等. 鲜切花衰老机理及保鲜技术研究进展. 湖南农业大学学报, 1995, 21 (4): 414~419.
- 13 Boveris A. Cadenas E Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide in mitochondria. In: Oberler LW (ed) Superoxide Dismutase. CRC Press, Vol. 2, chapter 2, 1983. 15~28.
- 14 Dilley D R. Biochemistry of fruits and their products enzymes. New York: Academic Press, 1970.
- 15 Ishida A et al. Cell wall-associated peroxidase in cultured cells of liverwort, *Marchantia polymorpha* L. Changes of peroxidase level and its localization in the cell wall. PlantCell Reports, 1985, 4: 54.