

五种山药叶片形态和抗氧化酶活性比较

吴 岳¹,楼鹏强¹,李 霄¹,邵果园¹,陆旭辉²

(1. 浙江农林大学 农业与食品科学学院,浙江 临安 311300;2. 浙江省金华陆丰农业开发有限公司,浙江 金华 321030)

摘要:为选育和栽植优质山药品种,以 5 种山药为研究对象,进行叶形、叶脉、叶面积及抗氧化活性等方面研究。结果表明:参薯 SH01 的革质厚叶,叶色墨绿;参薯 SH02 的黄绿色心型叶片;参薯 SH03 箭头型叶形;参薯 SH04 披针型叶片;山薯 SH05 叶片发皱。在叶片抗氧化酶活性方面,SH01 具有最高含量的可溶性蛋白质、SOD 和 APX,SH04 具有最高的 CAT 活性,SH02 具有最高活性的 POD。综合抗氧化酶活性比较,SH01 具有比其它品种更高的抗氧化活性,表现出更强的抗逆性。

关键词:山药;叶片形态;抗氧化酶活性

中图分类号:S632.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)10-0075-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.10.0075

山药,别名薯蓣,属薯蓣科山药属(*Dioscorea* L.),是一年生或多年生缠绕藤本植物,肥大的地下肉质块茎供为食用或药用,在我国南方、西北、西南等地区普遍种植,是我国卫生部公布的药食两用蔬菜^[1]。山药是营养价值很高的食品,含有大量的蛋白质、维生素和有益的微量元素、粘质多糖,此外山药还含有尿囊素、山药素、皂苷、胆碱等药用成分,有强身、固肾、益精、补肺、健脾胃等医疗保健作用^[2-4]。

目前山药产区种植的品种较为混乱,常常有同物异名、异名同物现象发生,对山药的规范生产和合理开发利用带来了不利的影响^[5]。以 5 种各具特色的山药为研究对象,通过这 5 种山药叶片形态以及叶片内抗氧化酶活性的研究,比较分析其在叶片形态和抗逆性方面的差异,筛选抗氧化活性优良的山药品种,这对山药优良品种种植、品种选育等有一定的指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为 5 个类型的山药品种,其编号为 SH01(皮白瓢白)、SH02(皮红瓢白)、SH03(瓢

红)、SH04(瓢紫)、SH05(瓢白)。

1.2 方法

1.2.1 叶片形态测定 随机摘取 10 片生长良好、成熟健康的植株中部叶片,观察叶形、叶脉、叶色等,测量叶长、叶宽,计算长宽比,测定叶片面积^[6]。

1.2.2 酶液的提取 称取 0.3 g 叶片样品于研钵内,以 1 mL 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液(pH7.8,含 0.2 mmol·L⁻¹ EDTA)和 3 μ L 的 2% 的 PVP 进行冰上快速研磨至匀浆,再加 2 mL 缓冲液搅拌均匀后,用 1 mL 移液枪将匀浆均匀转入至 2 支 2 mL 的离心管,4℃ 12 000 g 离心 20 min,保留上清液,冰中保存备用。

1.2.3 可溶性蛋白含量测定 考马斯亮蓝制备:准确称取 0.05 g 的 G250,溶于 25 mL 的 95% 乙醇,加入 50 mL 的 85% (W/V) 磷酸,定容至 500 mL,过滤后在 4℃ 冰箱中保存。

可溶性蛋白测定:吸取上述酶液 15 μ L,与 3 mL 考马斯亮蓝混合后,利用紫外分光光度计在 595 nm 波长下测定 OD 值。

1.2.4 抗氧化酶活性的测定 (1) 过氧化氢酶(CAT)活性的测定:5 mL 离心管中依次 1 700 μ L 25 mmol·L⁻¹ 的磷酸缓冲液(pH7.0,含 0.1 mmol·L⁻¹ EDTA)、100 μ L 酶液和 200 μ L 的 100 mmol·L⁻¹ H₂O₂,混匀后转入比色敏中进行 240 nm 下比色,时间 30 s,记录活力值。(2) 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的测定:5 mL 离心管中依次 1 700 μ L 25 mmol·L⁻¹ 的磷酸缓冲

收稿日期:2015-05-09

基金项目:浙江省公益技术研究农业资助项目(2013C32092);浙江省农业新品种培育重大科技专项资助项目(2012 C12903-5-2);浙江省金华市科学技术研究农业类重点资助项目(2013-2-010)

第一作者简介:吴岳(1993-),男,浙江省金华市人,学士,从事作物栽培生理研究。E-mail:295207629@qq.com。

通讯作者:邵果园(1978-),副教授,从事园艺植物栽培与遗传育种研究。E-mail:shaoguoyuan@zafu.edu.cn。

液(pH7.0,含 0.1 mmol·L⁻¹ EDTA)、100 μL 酶液、100 μL 的 20 mmol·L⁻¹ H₂O₂ 和 100 μL 的 5 mmol·L⁻¹ AsA,混匀后转入比色敏中进行 290 nm下比色,时间 30 s,记录活力值。(3) 过氧化物酶(POD)的测定:5 mL 离心管中依次 1 700 μL 25 mmol·L⁻¹的磷酸缓冲液(pH 7.0,含 0.1 mmol·L⁻¹ EDTA)、100 μL 酶液、100 μL 的 20 mmol·L⁻¹ H₂O₂和 100 μL 的 1%愈创木酚,混匀后转入比色敏中进行 470 nm 下比色,时间 60 s,记录活力值。(4) 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定:在暗室中吸取 3 mL NBT 反应液于 5 mL 试管中,加入酶液 50 μL,混匀后在 25℃下照光 25 min,于 560 nm 波长处测定吸光值 OD₅₆₀。

对照管设置:3 mL NBT 反应液+50 μL,50 mmol·L⁻¹缓冲液(pH7.8,含 0.1 mmol·L⁻¹ EDTA),黑暗放置 25 min,测定 OD₅₆₀。

1.2.5 数据分析 采用 SSPS 统计分析软件对抗氧化酶活性部分的数据进行单因素方差分析。使用 SSR 法进行多重比较。

表 1 山药叶形、叶脉数等性状比较

Table 1 The comparison on the leaf shape,leaf number and other traits of <i>Dioscorea</i> L.					
材料编号 No.	叶形 Leaf shape	叶脉数 Veins number	叶脉色彩 Vein color	叶色 Leaf color	叶片质感 Leaf texture
SH01	叶尖舌型、叶基紧凑心型	7.0	白	墨绿	革质、较厚
SH02	叶尖舌状、叶基心型	7.0	黄绿	淡绿偏黄	纸质、薄叶
SH03	叶尖三角状、叶基箭状	7.6	绿	绿偏黄	纸质、薄叶
SH04	叶尖披针状、叶基心型	7.0	淡黄	深绿	革质、较厚
SH05	叶尖舌状、叶基心型	6.8	淡黄	绿	纸质、较薄

表 2 山药叶片长度和宽度及叶面积比较

Table 2 The comparison on leaf length,width and leaf area of <i>Dioscorea</i> L.				
材料编号 No.	叶平均长度/cm Average length of leaf	叶平均宽度/cm Average width of leaf	长宽比 Aspect ratio	叶平均面积/cm ² Average area of leaf
SH01	14.5	6.2	2.3	33.5
SH02	12.3	6.6	1.9	30.3
SH03	11.1	5.1	2.2	53.5
SH04	11.6	4.8	2.4	38.3
SH05	9.6	5.0	1.9	30.1

2.2 可溶性蛋白质比较

由表 3 可见,SH01 品种山药具有最高含量的可溶性蛋白质,其余品种按高低顺序为SH04>SH05>SH03>SH02。经过 SSPS 统计软件进行

2 结果与分析

2.1 山药叶片形态对比

从表 1 可知,5 种山药叶形通常为卵状三角形至宽卵形或戟形,全缘叶片,叶脉网状,品种间的差异主要体现在了叶片基部以及叶尖上。在叶色上,划分成墨绿色、绿色、黄绿色以及深绿色。在叶片质感上,划分为纸质与革质。在叶脉方面,95%的叶脉数是奇数,叶脉颜色上,可分为绿色、白色和黄绿色 3 种。

从表 2 看出,在叶片长宽、叶面积方面,所有品种山药叶片的长度均超过叶片宽度近 2 倍,这使山药叶片普遍狭长。SH01 的平均叶长最长,SH05 最短。SH03 的平均面积最大,达到了明显的 53.5 cm²。而其它品种的山药较为平均地分布在 30~40 cm²这一面积区间内。

可见,参薯 SH01 的革质厚叶与墨绿叶色;参薯 SH02 的黄绿色心型叶片;参薯 SH03 具有较大的叶片,且具有与其它不同的箭头型叶形;参薯 SH04 披针型叶片;山薯 SH05 叶片发皱。说明这些叶片特征可用于区分这 5 种山药。

方差分析得出,SH01 与 SH04、SH05 差异不显著,与 SH03、SH02 差异极显著。SH04、SH05、SH03 之间差异不显著。

表 3 叶片可溶性蛋白质含量显著性差异比较

Table 3 Significant difference comparing of leaf soluble protein content

材料编号 No.	可溶性蛋白含量/(U·g ⁻¹ ·g ⁻¹) Enzymatic activity
SH01	6.6 aA
SH04	5.7 abAB
SH05	5.4 abABC
SH03	4.2 bBC
SH02	1.5 cC

不同大、小写字母分别表示在 0.01 和 0.05 水平差异显著性。下同。

Different capital letters and lowercases mean significant difference at 0.01 and 0.05 level. The same below

2.3 山药叶片抗氧化酶活性比较

2.3.1 过氧化氢酶(CAT) 过氧化氢酶作为一类抗氧化剂,其作用是催化过氧化氢转化为水和氧气的反应^[14]。由表 4 可见,CAT 酶活性大小排序为 SH04>SH02>SH01>SH03>SH05。SH04 拥有最高的 CAT 活性,与 SH02、SH01 的差异不明显,与 SH03、SH05 两种山药差异极显著。SH02 和 SH01 的 CAT 活性差异不显著且比较相近,SH03 和 SH05 两者的 CAT 活性差异不显著。

表 4 叶片 CAT 活性显著性差异比较

Table 4 Significant difference comparing of leaf CAT activity

材料编号 No.	CAT 酶活性/(U·min ⁻¹ ·g ⁻¹) Enzymatic activity
SH04	201 aA
SH02	190 abAB
SH01	187 abAC
SH03	94 bB
SH05	73 bB

2.3.2 抗坏血酸过氧化物酶(APX) 由表 5 可知,SH01 的 APX 活性最高,与其它 4 种山药之间的差异均达到极显著水平。SH04 和 SH02 之间差异性不显著,SH04 与 SH05、SH03 差异极显著。SH02 与 SH05 差异性不显著,与 SH03 差异极显著。SH05 与 SH03 之间差异性显著,但未达到极显著水平。

表 5 叶片 APX 活性显著性差异比较

Table 5 Significant difference comparing of leaf APX activity

材料编号 No.	APX 酶活性/(U·g ⁻¹) Enzymatic activity
SH01	0.176 aA
SH04	0.142 bB
SH02	0.125 bcBC
SH05	0.119 cCD
SH03	0.104 dD

2.3.3 过氧化物酶(POD) 从表 6 可以看出,SH02 的 POD 活性最高,其次分别为 SH04>SH05>SH01>SH03。经过 SSPS 统计分析,SH02 除了与 SH04 差异不显著外,与 SH05、SH01、SH03 差异达到极显著。SH04 与 SH05 以及 SH05 与 SH01 之间差异性不显著,SH05 与 SH03 差异极显著,SH04 与 SH03 的差异性达到了极显著水平。

表 6 叶片 POD 活性显著性差异比较

Table 6 Significant difference comparing of leaf POD activity

材料编号 No.	POD 酶活性/(U·min ⁻¹ ·g ⁻¹) Enzymatic activity
SH02	1180 aA
SH04	903 abAB
SH05	605 bcBC
SH01	487 cdCD
SH03	339 deD

2.3.4 超氧化物歧化酶(SOD) 表 7 可知,SH01 叶片的 SOD 酶活性最高,与 SH04 的 SOD 活性差异不显著外,与 SH05 差异显著,与 SH03、SH02 差异极显著。SH04 和 SH05 之间的差异不显著,SH04 与 SH03 之间差异表现为显著,但未达极显著。SH05 与 SH03 表现为不显著,但与 SH02 表现为显著。

表 7 叶片 SOD 活性显著性差异比较

Table 7 Significant difference comparing of leaf SOD activity

材料编号 No.	SOD 酶活性/(U·g ⁻¹) Enzymatic activity
SH01	66 aA
SH04	57 abAB
SH05	54 bcABC
SH03	41 cBC
SH02	14 dC

3 结论与讨论

研究发现,参薯 SH01 的革质厚叶与墨绿叶色;参薯 SH02 的黄绿色心型叶片;参薯 SH03 具有较大的叶片,且具有与其他不同的箭头型叶形;参薯 SH04 披针型叶片;山薯 SH05 叶片发皱。这些叶片特征可用于区分出这 5 种山药。另外薯蓣类植物栽培变异大,尤其在叶片体现地明显,而本试验所用的山药更是具有丰富的表型变异^[5],这样的变异有利于植物对环境变化更为适应,有利于山药优良品种的选育。以形态学或植物表型来研究植物遗传变异是最直接且有效地方法^[7]。

植物抗逆性具体可以表现对寒冷、炎热、干旱、盐碱、抗涝等不良环境的抵抗能力;其次病虫害的抵抗能力以及人为胁迫如农药化肥、环境污染等的抵抗能力。这些不利于植物生长的条件会胁迫植物体产生比植物正常生理活动更多的活性氧。SOD 是活性氧清除反应过程中第一个发挥作用的抗氧化酶,能将超氧化物阴离子自由基(O_2^-)快速歧化为过氧化氢 H_2O_2 和分子氧。尽管过氧化氢仍是对机体有害的活性氧,但体内的过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)会立即将其分解为完全无害的水。这样,三种酶便组成了一个完整的防氧化链条。研究发现,参薯 SH01、参薯

SH02、参薯 SH04 抗氧化酶整体活性表现优良,抗逆性强。参薯 SH01 可溶性蛋白质含量较其他品种山药高,其余各项抗氧化酶活性也表现出众,尤其在 SOD 与 APX 两种酶活性上表现优异。由此推断植物可溶性蛋白质含量与各项酶活性可能有正相关关系。综合几种抗氧化酶活性比较,SH01 具有比其他品种更高的抗氧化活性,而表现出 5 种山药中最强的抗逆性。在综合抗氧化酶活性表现突出的还有参薯 SH02 和参薯 SH04。

参考文献:

- [1] 俞德浚,吴征镒,崔鸿宾. 中国植物志 [M]. 北京:科学出版社,1985.
- [2] 温州市医药志编纂委员会. 温州市医药志 [M]. 天津:天津大学出版社,1996: 25-27.
- [3] 贾士奇. 山药低聚糖的免疫增强作用[J]. 河南大学学报, 2009,28(1):44-48.
- [4] 王丽霞. 山药蛋白多糖体外抗氧化作用的研究[J]. 现代生物医学进展,2008,8(2):242-245.
- [5] 吴志刚. 温州山药表型性状多样性研究[J]. 浙江农业科学, 2010,4:735-738.
- [6] 肖强. 利用数码相机和 Photoshop 软件非破坏性测定叶面积的简便方法[J]. 生物学杂志,2005,24(6):711-714.
- [7] 玉光慧,方宣钧. 表型组学的概念以及植物表型组学的发展[J]. 分子植物育种,2009,7 (4):639-645.

Study on Leaf Characteristics and Antioxidant Enzyme Activities of Different *Dioscorea* L.

WU Yue¹, LOU Peng-qiang¹, LI Xiao¹, SHAO Guo-yuan¹, LU Xu-hui²

(1. Zhejiang A & F University, Lin'an, Zhejiang 311300; 2. Jinhua Lufeng Agricultural Development Limited Company, Jinhua, Zhejiang 321031)

Abstract: In order to breed and plant high quality *Dioscorea* L. varieties, taking five kinds of *Dioscorea* L. as materials, the leaves characteristics and antioxidant enzyme activities were studied. The results showed that SH01 had thick leathery leaves with the color of dark green; SH02 had heart-shaped leaves with the color of chartreuse; SH03 had the average maximum leaves and arrow-shaped leaves, which were different from other varieties; SH04 had lanceolate shaped leaves; SH05 had the wrinkled leaves. In leaf antioxidant activity areas, SH01 had the highest content of soluble protein, the highest activity of SOD and APX, SH04 had the highest CAT activity; SH02 had the highest activity of POD. Comprehensive comparison of antioxidant enzyme activity, SH01 was higher than other varieties of antioxidant activity and showed stronger resistance.

Keywords: *Dioscorea* L.; characteristics of leaf; antioxidant enzyme activities