姜花瓶插期间的形态及生理生化变化研究

许志强 廖 毅 王晓峰 陈建勋 (华南农业大学生物技术学院,广州 510642)

摘要 姜花花穗常由 $10 \sim 18$ 小花所组成,其小花由下向上依次开放.伴随着小花的开放,小花干鲜质量及花瓣组织中总可溶性糖和可溶性蛋白质含量均增加,至小花盛开时达到最高峰,其后下降;花瓣组织中超氧物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)的活性则是开花初期先行下降,然后升高,SOD 活性在小花盛开时达到最高峰,CAT、POD 活性则于小花弯曲时达到最高峰;而花瓣组织中 MDA 含量在整个瓶插期均有所升高,特别是盛开期之后,当 SOD 活性又下降时,升高更为明显;质膜相对透性前期稳定维持在一较低的水平,盛开期后,当 MDA 含量明显升高时,急剧增加,说明姜花的衰老很可能与其组织中活性氧代谢失调有关系.

关键词 姜花切花; 衰老; 活性氧代谢中图分类号 () 945.48

姜花(*Hedychium coronarium* Koen)颜色洁白,花形美丽,芬芳浓郁,是近年受欢迎的切花品种,但其瓶插寿命甚短,通常只有 2 d 左右,如何延缓其衰老,提高其瓶插寿命,是一新的课题.本文从其瓶插期间的生理生化变化,尤其活性氧代谢入手,探讨其衰老的可能机理,以求为提高其瓶插寿命,增加其观赏价值提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

姜花购至市场,水中剪成 40 cm 左右,插于清水中.

根据花序上小花的发育和衰老程度,将其分为 5 级:1 级,花蕾期(小花顶部花序苞片外露出 1 cm 左右).2 级,初开期(小花已完全伸出花序苞片之外,小花花瓣微展).3 级,盛开期.4 级,弯曲期(小花花梗向下弯曲,花瓣边缘开始出现皱折).5 级,衰败期(小花完全萎蔫).

取样时,以花穗中部上述各级小花的花瓣为材料,作分析测定.

1.2 测定方法

- 1.2.1 提取液的制备 取 4 朵小花的花瓣, 剪碎后混匀, 按 1.5(m/V)加入 50 mmol/ L 的磷酸缓冲液 (pH~7.8), 质量分数为 1%的水不溶性聚乙烯吡咯烷酮 (PVP), 冰浴研磨提取, 然后迅速于 $6\,000\,\mathrm{r/min}$ 离心 $15\,\mathrm{min}$, 上清液为粗提取液 .
- 1. 2. 2 SOD 活性测定 参照 Giannopolitis 和 Ries (1977)的方法, 并按衣海青等 (1996)的方法稍作改动. 3 mL 反应液中含甲硫氨酸 15 mmol/L, 氯化四氮唑蓝 (NBT)65 μmol/L, 核黄素2 mol/L 和 50 mmol/L 的磷酸缓冲液 (pH 7.8), 加适量酶液后在照度为 4 000 lx 的光下光照 15 min. 然后于黑暗中终止反应, 立即在 560 nm 下测定光密度, 以沸水浴中加热 15 min. 的相应酶液代替酶液为对

照,以缓冲液代替酶液为空白. 酶活性以抑制 NBT 光还原 50%为一个酶活性单位表示.

- 1.2.3 CAT 活性测定 参照 Chance 等(1955)的方法测定.
- 1.2.4 POD 活性测定 参照张志良(1990)的方法测定.
- 1.2.5 MDA 含量测定 参照何宇炯等(1994)方法测定.
- 1.2.6 蛋白质含量测定 按 Bradford (1976)方法测定.
- 1. 2. 7 可溶性糖含量测定 **蒽酮法测定**(山东农学院等, 1980).
- 1.2.8 质 膜相 对透 性测 定 以小花煮前电导率占煮后电导率的百分比表示. 以上测定均重复 3 次以上.

2 结果和分析

2.1 姜花瓶插期间的形态变化

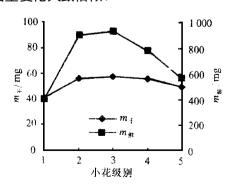
姜花花序为顶生穗状花序, 花序苞片呈覆瓦状排列, 每一苞片内有 2~3 朵小花, 瓶插时, 通常只有 1 朵小花能够正常开放. 发育良好的花序可开 10~18 朵小花, 其数目据花序发育状况而异. 开花时, 小花通常由花序下部向上部依次开放. 外观形态上, 先是花蕾由苞片中露出, 然后小花梗伸长, 整朵小花伸出花序苞片之外, 花蕾膨大, 花瓣从小花苞片中露出, 伸展, 直至呈盛开状态, 然后, 小花花梗开始向下弯曲, 花瓣边缘皱缩, 小花下垂, 最后, 花梗失去膨压, 整朵小花完全皱缩下垂, 整个过程历时 2 d 左右.

2.2 不同发育时期小花的干鲜质量变化

由图 1 可见, 小花发育初期, 干质量有明显的增加, 生物统计上, 花蕾期与初开期 2 个时期的干质量有显著差异; 而从初开期到弯曲期, 干质量则变化不明显, 衰败期干质量又有所下降, 此时干质量的减少, 可能是小花本身的大量消耗, 或营养物质的输出所致. 鲜质量上, 蕾期至初开期变化最明显, 而初开期至盛开期, 小花鲜质量变化不多, 弯曲期、衰败期小花鲜质量则急剧减少, 此多为小花失水所致.

2.3 不同发育时期小花组织中可溶性蛋白质与可溶性糖含量的变化

由图 2 可见, 小花发育初期, 花瓣组织中可溶性糖含量变化明显, 前期显著增加, 盛开期其含量达到最高, 随后明显下降; 而可溶性蛋白质含量变化相对和缓, 但其变化趋势与可溶性糖含量变化大致相似.



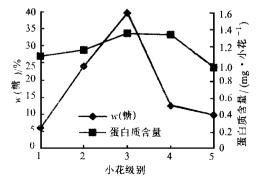


图 1 不同发育时期每朵小花的干鲜质量变化

图 2 不同发育时期可溶性糖和可溶性蛋白质含量变化

2.3 不同发育时期小花组织中 MDA 含量及质膜相对透性的变化

M DA 是膜脂过氧化的产物,而质膜相对透性则是表示质膜完整性的指标之一,由图 3 可见,随着小花的发育,其组织中 M DA 含量亦随之发生变化,前期(蕾期到盛开期), M DA 含量均有所增加,弯曲期之后, M DA 含量增加更为明显,小花完全萎蔫时, M DA 含量则增至最大。而质膜相对透性在小花发育前期(蕾期至盛开期),均维持在一较低水平,当小花开始弯曲, M DA 含量明显增加时,质膜相对透性亦开始有明显的增加,至小花萎蔫时,质膜相对透性增至最大。

从本实验的结果可见,随着姜花小花的发育和衰老,当 MDA 积累到一定程度时,质膜相对透性明显增加,表明此时小花质膜的完整性已受到破坏,由此说明姜花小花的衰老与膜脂的过氧化。造成膜结构的破坏有一定的关系.

2.4 不同发育时期小花组织中SOD、CAT、POD 活性的变化

SOD、CAT、POD 是植物组织中与活性氧代谢有关的酶,在清除组织活性氧中起着关键的作用,由图 4 可见,随着小花的发育,SOD、CAT、POD 的活性均有明显的变化,蕾期这 3 种酶活性均较高,初开期则显著下降,随后 3 种酶活性又复升高,SOD 活性于盛开期达到最高峰,随后显著下降,此时 MDA 含量有较明显的增加,质膜相对透性亦明显增加(图 3);而 CAT、POD 活性则在弯曲期达到最大值,至衰败期显著下降,此时 MDA 含量和质膜相对透性均增加至最大。由以上结果可见,当 SOD, CAT, POD 等酶活性下降时, MDA 含量增加,后期还伴随质膜相对透性的明显增加,而此时小花开始弯曲萎蔫,说明由于活性氧代谢失调而造成的膜脂过氧化很可能与姜花的衰老有关。

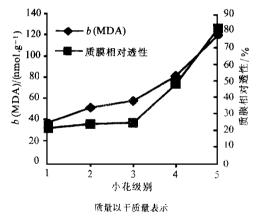
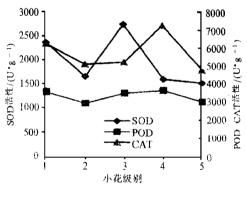


图 3 不同发育时期小花组织中 M DA 含量 及质膜相对透性的变化



质量以干质量表示

图 4 不同发育时期小花组织中 SOD、POD、 CAT 活性的变化

3 讨论

3.1 姜花衰老与营养的关系

营养状况与切花的瓶插寿命有密切的关系,这已有较多报道(姜微波等,1988). 从不同发育时期姜花小花的干质量及可溶性糖含量变化可见,小花发育初期,干质量及可溶性糖含量均明显增加,说明此时的小花可能仍处于生长之中,还有大量营养物质的输入,以供其生长发育所需,盛开期到弯曲期,小花中的可溶性糖含量急剧减少,干质量与可溶性蛋白质含量则变化

相对缓慢,至衰败期可溶性糖含量继续下降,可溶性蛋白质含量则下降至最低点,同时,干质量亦有所下降,这可能是由于小花的消耗所致,也可能与物质从小花中外运,供后续小花生长发育有关。在瓶插液中补充 3 % ~ 6%的蔗糖,可明显增加开花的小花总数,平均小花总数由 10.5 朵增加至 15.5 朵,说明充足的营养对于小花的发育,以致开放确有相当大的作用,但外源蔗糖并不能明显延缓单个小花的衰老进程,对整株切花的瓶插寿命影响也不太显著,这可能说明单个小花的衰老与其营养状况并无直接的关系;但也不能排除小花发育后期,小花间发生营养的重新分配,物质从已开放的小花中外运,供后续花生长所需,而导致小花的衰老,当然这有待干进一步的研究。

3.2 姜花衰老与活性氧代谢的关系

自由基学说是动植物衰老机理的学说之一,该学说认为衰老过程其实质是活性氧代谢失调的过程(哈姆莱等,1990;王建华等,1989),近年来已有不少资料支持这一学说(李柏林等,1989;林植芳等,1984),有资料表明,某些切花的衰老与活性氧代谢失调有直接的关系(王华等,1994;哈姆莱等,1990).

在植物组织中、SOD、CAT、POD等酶促防御系统保护酶在清除活性氧中起着关键的作用、SOD的主要作用是清除超氧物阴离子自由基 (O_2^-) ,而 CAT、POD的作用则是清除细胞内过多的 H_2O_2 ,以维持组织中 H_2O_2 于低水平,三者协调作用,保护细胞,尤其是膜系统免遭自由基的伤害,一旦 SOD等酶促防御系统保护酶活性削弱,则植物组织中 O_2^- 和 H_2O_2 浓度升高,从而加剧膜脂的过氧化,引起膜结构和功能的破坏,导致植物的衰老和死亡。从我们的实验结果可见,随着姜花的发育与衰老,开花初期小花中 SOD、CAT、POD的活性均有所下降,此时小花中丙二醛含量有所上升;随后 SOD、CAT、POD活性上升,SOD活性在盛开期达到最高,此时丙二醛含量有所增加,但相对和缓,盛开期之后,SOD活性大幅下降,此时丙二醛含量有较明显的增加,质膜相对透性也明显提高,弯曲期之后,CAT、POD活性亦开始下降,此时质膜相对透性和丙二醛含量均大幅增至最高,而小花也皱缩萎蔫,说明姜花小花的衰老与活性氧代谢失调,膜脂过氧化,造成膜结构的破坏有关

综上所述,姜花小花的衰老很可能与活性氧代谢失调有密切的关系。但造成植物的衰老的原因是十分复杂的,活性氧代谢失调是造成姜花衰老的一个重要原因,但可能并非唯一的原因,小花的营养状况以及小花之间营养的重新分配可能也在姜花的衰老中起作用。如果小花之间营养重新分配的机制确实在姜花小花的衰老中起作用的话,那什么因素左右小花间的营养分配模式也有必要进一步研究。因为从增加姜花观赏价值的角度来看,延长单个姜花小花的寿命,应比单纯增加小花总数更有利。

参考文献

山东农学院. 西北农学院. 1980. 植物生理学实验指导. 济南: 山东科技出版社, 196~205 王建华, 刘鸿先, 徐 同. 1989. 超氧物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老中的作用. 植物生理学通讯, (131): 1~7

王 华 张继澍. 1994. 小苍兰花朵发育与衰老过程中膜脂过氧化的研究. 西北农业大学学报. $22(2):72\sim75$ 李柏林, 梅慧生. 1989. 燕麦叶片衰老与活性氧代谢的关系. 植物生理学报. $15(1):6\sim12$

· 衣海青, 王建华、1996. 芦丁和抗坏血酸对 NBT 光还原法测定植物组织 SOD 活性的干扰. 植物生理学通 ? 1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://v 讯, 32(4): 276~278

张志良. 1990. 植物生理学实验指导. 第2版. 北京:高等教育出版社. 154~155 何宇炯,徐如涓,赵毓橘. 1996. 表油菜素内酯对绿豆幼叶衰老的促进作用. 植物生理学报. 22(1):58~

62

林植芳, 李双顺, 林桂珠, 等. 1984. 水稻叶片的衰老与超氧物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系. 植物学报, 26(6): 605~615

姜微波, 孙自然, 于 梁, 等. 1988 蔗糖处理对唐菖蒲切花的影响. 北京农业大学学报, 14(4): 435~440 莱谢姆 Y Y, 哈勒维 A H, 法伦克尔 C, 著 . 1990 植物衰老过程的调控. 胡文玉等译. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1~203

Bradford M M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein—dye binding. Anal Biochem, 72(1~2): 248~254

Chance B, Maehly A C. 1955. Assay of catalase and peroxidase. In: Colowick S P, Kaplan N O, eds. Methods in Enzymol. New York; A cademic Pr. 2, 764~775

Giannopolitis C N, Ries S K. 1977. Superoxide dismutase: Purification and quantitative relationship with water—soluble protein in seedlings. Plant Physiol. 59(2): 315 ~ 318

CHANGES OF SOME PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEM ICAL ACTIVITIES IN CUT Hedychium coronarium SPIKE DURING VASE—HOLDING LIFE

Xu Zhiqiang Liao Yi Wang Xiaofeng Chen Jianxun (College of Biotechnology, South China Agric. Univ. Guangzhou, 510642)

Abstract

During the vase—holding life of cut *Hedychium coronarium* spike, the dry weight of flowerets and their contents of soluble protein and soluble carbohy drate increased at first and decreased after full bloom. The activities of SOD, CAT, POD decreased at first and then increased, the activity of SOD peaking in the fully bloom floweret, while the activities of CAT, POD reached peaks at a relatively later time when the flowerets began to bend. The content of MDA increased all the time, but increased significantly only at the later period when the activities of SOD, CAT, POD began to decrease again. The plasma membrane permeability was stable at first and increased sharply after full bloom when the content of MDA accumulated to a high level. These indicated that disorder of active oxygen metabolism was probably responsible for the senescence of cut *H*. coronarium spike during the vase—holding life.

key words Hedychium coronarium Koen, senescence, metabolism of active oxygen

[责任编辑 李 玲]