

矮牵牛花期一些生理指标的变化

何开跃, 谢寅峰, 李鹏飞, 周 慧

(南京林业大学森林资源与环境学院植物学系, 江苏 南京 210037)

摘要: 选择了3种颜色的矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm): 粉红色、杂色和红色, 将其开花过程分为4个时期: 未出现花芽、花芽期、花蕾期和开花期, 测定各时期MDA、可溶性糖、激素水平和多胺含量等指标的变化。结果表明, 从无花芽期到开花期MDA含量有所升高; 可溶性糖含量呈现降低的趋势。在粉红色的矮牵牛叶片中, IAA含量在开花期升高; GA含量在无花芽期和花芽期时较高; 而ZR_s则在花蕾期较低, 在开花期时含量上升。3种多胺含量的变化不同, 腐胺在整个花期略有上升, 精胺和亚精胺则略有下降。

关键词: 矮牵牛; 开花; 生理指标

中图分类号: Q945.6⁺4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2002)04-0029-04

Variation of some physiological indexes during flowering phases of *Petunia hybrida* Vilm HE Kai-yue, XIE Ying-feng, LI Peng-fei, ZHOU Hui (Department of Botany, College of Forestry Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2002, 11(4): 29-32

Abstract: The flowering process of *Petunia hybrida* Vilm was divided into four phases, namely, phase of non-occurrence of flower buds, phase of flower buds, phase of occurrence of alabastrums and phase of flowering. The three kinds of flower colors (pink color, variegated color and red color) were chosen. The contents of MDA, soluble sugar, stimulins and polyamine were compared in four phases. The results indicated that the content of MDA increased, and that of soluble sugar decreased from phase of non-occurrence of flower buds to phase of flowering. In the leaf blades of *P. hybrida* with the pink flowers, the content of IAA increased in phase of flowering, GA exhibited a high level from phase of non-occurrence of flower buds to phase of flower buds; while the ZRs rose in phase of flowering. The putrescine rose slightly, spermine and spermidine decreased slightly during whole flowering process.

Key words: *Petunia hybrida* Vilm; flowering; physiological indexes

矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm)又名碧冬茄, 是多年生草本, 原产于南美, 于19世纪初在欧洲用一些原产于南美的野生种杂交选育而成。矮牵牛花色丰富, 易于栽培, 花期长, 是园艺中十分受青睐的种类之一。此外, 还是研究开花的模式植物之一。虽然矮牵牛在花发育的遗传学领域取得一系列成果^[1], 但有关其开花过程中体内生理变化的研究至今尚不多见。本研究选择3种颜色的矮牵牛, 在不同的生长发育阶段, 取功能叶片, 测定MDA、可溶性糖、激素和多胺含量等指标的变化, 为矮牵牛的开花生理学研究提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究所用矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm)由江

苏省·中国科学院植物研究所提供。选择3种颜色花瓣的植株: 红色、粉红色和杂色。功能叶片共取5次样, 每次5个重复。取样间隔时间为1~2周。分4个时期取样: 无花芽期(2002-03-13); 花芽期(2002-03-27); 花蕾期(2002-04-13); 开花期(2002-04-20)。

1.2 实验方法

1.2.1 MDA的测定^[2] 称取0.5 g叶片, 加少许石英砂和6 mL 50 mmol/L磷酸缓冲液(pH 7.8), 冰浴研磨, 浸提液8 000 r/min冷冻离心20 min, 取上清液1.5 mL加0.5% TBA 2.5 mL, 沸水浴20 min, 冰浴终止反应(约5 min), 3 500 r/min离心10 min, 取上清液分别在532 nm和600 nm下测吸光度。用水作参

收稿日期: 2002-07-17

作者简介: 何开跃(1959-), 女, 四川铜梁人, 博士, 副教授, 主要研究方向为生物化学与植物生理学。

比,测定结果按如下公式计算:

$$\text{MDA 含量}(\mu\text{mol/g}) = \frac{(\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600})/0.155 \times V \times S/A}{W}$$

其中:V:反应体积总量(mL);S:提取液总量(mL);A:测定时用提取液总量(mL);W:叶片质量(g)。

1.2.2 可溶性糖含量的测定^[2] 称取0.5 g叶片,加80%乙醇研磨后,置于10 mL离心管中,加80%乙醇至7 mL,于80℃水浴浸提并不时搅拌,提取30 min后冷却,3 500 r/min离心15 min,沉淀再用80%乙醇重复提取1次,将2次提取的上清液合并,用80%乙醇准确加至15 mL。取2 mL提取液于10 mL离心管中,于80℃水浴中蒸去乙醇,加水至10 mL,用玻璃棒仔细搅拌,使糖完全溶解,以3 500 r/min离心15 min,取上清液2 mL,加0.2%蒽酮试剂8 mL混匀,沸水浴12 min,静置20 min。在620 nm下测吸光度,用0.2%蒽酮试剂作参比。结果按下列公式计算:

$$\text{可溶性糖含量}(\%) = \frac{C \times 10/a \times V/b}{W}$$

其中:C:查标准曲线所得测定管葡萄糖含量(mg);a:显色时的取样量(mL);V:样品中可溶性糖的提取液总体积(mL);b:除色素时吸取提取液的量(mL);W:样品干质量(mg);10:除色素时可溶性糖的溶解体积(mL)。

1.2.3 激素含量测定^[3] 称取叶片或花瓣0.5 g,按李宗霆方法^[3]测定激素含量。所测的植物激素为IAA(吲哚乙酸)、GA(赤霉素)、ZR(玉米素)。

激素含量测定在南京农业大学植物激素实验室完成。

1.2.4 多胺含量的测定^[4] 称取植物叶片或花瓣0.5 g,加5 mL 5%高氯酸研磨匀浆,振荡30 min,7 000 r/min离心20 min,取200 μL提取液及多胺标准液(0.1 mmol/L),加400 μL丹磺酰氯(50 mg 丹磺

酰氯溶于10 mL丙酮)和200 μL饱和碳酸钠搅拌,室温过夜,加100 μL脯氨酸(100 mg/mL),搅拌反应30 min,加500 μL苯萃取2 min,静置,取上层有机相20 μL在硅胶薄层板上点样,展开。在紫外光下,画出荧光斑点,剥板,加3 mL乙酸乙酯涡旋15 s,自然沉淀,取上清液,在荧光分光光度计下(激发波长为337 nm,发射波长为495 nm)测定多胺含量。

1.3 统计学处理

本研究采用了标准误、方差分析和团体比较t检验等统计处理方法。

2 实验结果

2.1 矮牵牛叶片中MDA含量的变化

3种不同花色矮牵牛花期不同阶段叶片中MDA含量变化见表1。

由表1可以看出,矮牵牛叶片的MDA含量随着植物开花过程的延续而升高,且在开花时MDA含量达到最大。MDA是植物受伤害程度的指标,同时也是植物发生衰老的指标之一。因此植物的MDA含量升高可间接反映出植株开花的过程也是接近衰老的过程。

从花色来看,粉色花矮牵牛的MDA含量始终高于另外2种花色的矮牵牛,依MDA含量高低依次排序为:粉色花>红色花>杂色花。

2.2 矮牵牛叶片中可溶性糖含量的变化

3种不同花色矮牵牛花期不同阶段叶片中可溶性糖含量变化见表2。

由表2可知,3种花色矮牵牛叶片中可溶性糖含量变化非常显著,红色花和杂色花比粉色花变化更大,但均为无花芽期可溶性糖含量最高,以后逐渐降低。

表1 矮牵牛花期不同阶段叶片中MDA含量

Table 1 The contents of MDA in the leaves of *Petunia hybrida* Vilm at different phases during anthesis

(μmol/g)(FW)

花色 Flower color	MDA 含量 MDA content				P ¹⁾
	无花芽期 Phase of non-occurrence of flower buds	花芽期 Phase of flower buds	花蕾期 Phase of alabastrums	开花期 Phase of flowering	
红色花 Red flower	22.60 ± 0.820	32.82 ± 0.758	40.42 ± 0.437	50.76 ± 0.352	**
粉色花 Pink flower	28.40 ± 0.757	33.64 ± 0.637	51.30 ± 1.218	64.52 ± 0.736	**
杂色花 Variegated flower	22.60 ± 0.712	28.48 ± 0.237	31.30 ± 0.399	47.90 ± 1.598	**
P ¹⁾	**	**	**	**	

1) **: P ≤ 0.01; * : P ≤ 0.05

表 2 矮牵牛花期不同阶段叶片中的可溶性糖含量

Table 2 The contents of soluble sugar in leaves of *Petunia hybrida* Vilm at different phases during anthesis

(%)(DW)

花色 Flower color	可溶性糖含量 Soluble sugar content				P ¹⁾
	无花芽期 Phase of non-occurrence of flower buds	花芽期 Phase of flower buds	花蕾期 Phase of alabastrums	开花期 Phase of flowering	
红色花 Red flower	2.508 ± 0.019 6	1.310 ± 0.028	0.475 ± 0.013 2	0.362 ± 0.011 1	**
粉色花 Pink flower	2.181 ± 0.370 0	1.263 ± 0.321	1.379 ± 0.066 9	1.153 ± 0.040 6	**
杂色花 Variegated flower	2.061 ± 0.057 9	0.863 ± 0.029	0.798 ± 0.038 8	0.445 ± 0.006 0	**
P ¹⁾	**	**	**	**	

1) ** : P ≤ 0.01; * : P ≤ 0.05

不同花色矮牵牛相比较,无花芽期和花芽期中红色矮牵牛的可溶性糖含量最高,其次为粉色,杂色花矮牵牛含量最低;在花蕾期和开花期,粉色矮牵牛叶片可溶性糖含量最高,红色含量最低。

2.3 矮牵牛叶片中激素含量的变化

粉红色矮牵牛花期不同阶段叶片中激素含量变化过程如图 1 所示。

结果说明,在粉色花的矮牵牛中激素含量变化较大,且所测的 3 种激素含量变化各不相同。IAA 在花芽期升高,在花蕾期下降,然后又持续上升;在无花芽期和花芽期 GA 含量较高,然后下降;ZR_s 含量从无花芽期开始降低,至花蕾期达到低谷,然后上升。

2.4 矮牵牛叶片中多胺含量的变化

粉红色矮牵牛花期不同阶段叶片中多胺含量的变化如图 2 所示。

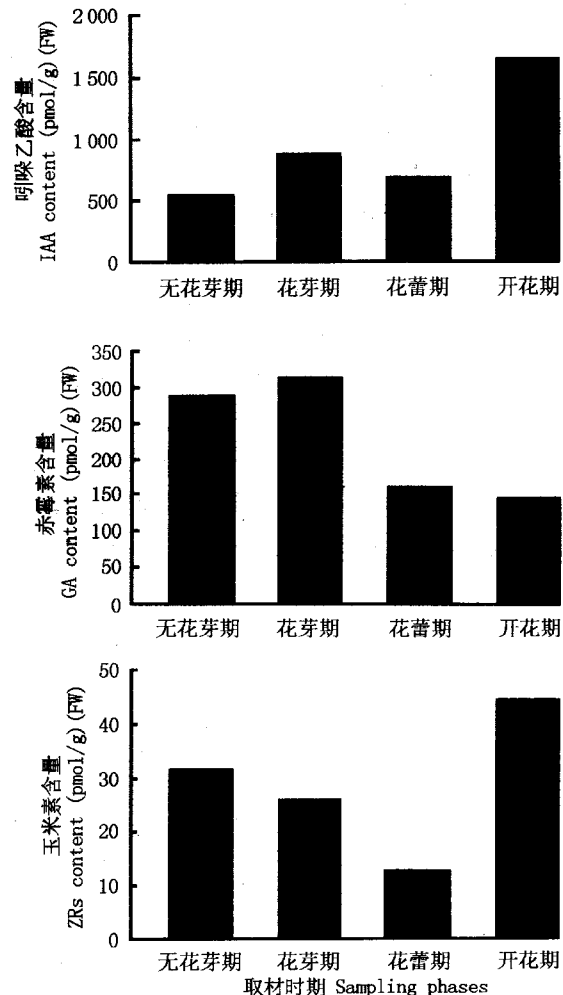
从图 2 可以看出,矮牵牛花期叶片中 3 种多胺含量的变化稍有差异。其中腐胺(Put)含量从无花芽期到开花期呈上升趋势,而精胺(Spm)和亚精胺(Spd)变化较一致,在整个开花过程中略有下降。

3 讨论

MDA 是具有细胞毒性的物质,它能与膜结构上的蛋白质和酶结合、交联而使之失去活性,从而进一步破坏膜结构。在正常营养生长的植物体内 MDA 含量极少,但在开花过程中,植物体内 MDA 含量会升高,这可视为植株从生长旺盛通过花期而接近衰老的指标之一。

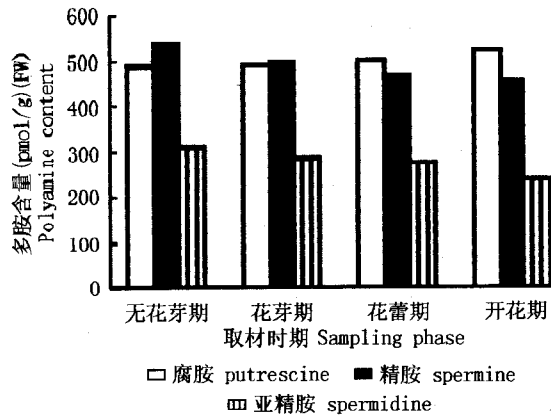
植物体内的有机物种类繁多,糖类是有机物代谢的中心,它为各种有机物代谢提供碳架,把它们串联起来形成一个整体。此外植物体内具有自动调节

代谢的功能,所以植物体内各种有机物具有高度的组织性和协调性。可溶性糖含量在矮牵牛生长发育不同时期的变化是因为矮牵牛在不同的生育期都有明显的生长中心,这 4 个时期的生长中心依次为叶



无花芽期: phase of non-occurrence of flower buds;
花芽期: phase of flower buds; 花蕾期: phase of alabastrums;
开花期: phase of flowering

图 1 粉红色矮牵牛花期不同阶段叶片中激素含量
Fig. 1 The contents of stimulins in the leaves of *Petunia hybrida* Vilm with pink flower at different phases during anthesis



无花芽期: phase of non-occurrence of flower buds;
花芽期: phase of flower buds; 花蕾期: phase of alabastrums;
开花期: phase of flowering

图 2 粉红色矮牵牛花期不同阶段叶片中多胺含量

Fig. 2 The content of polyamine in the leaves of *Petunia hybrida* Vilm. with pink flower at different phases during anthesis

片、花芽、花蕾、花瓣,所以从无花芽期至开花期叶片中的可溶性糖含量逐渐降低,有可能因为可溶性糖大多分配到花芽、花蕾和花瓣中的缘故。

植物开花的激素调控作用已有大量报道,其中 GA 对植物开花的调控作用最大^[5]。本研究发现,GA 含量在无花芽期和花芽期时维持较高水平,说明在花芽刚刚分化时,GA 就起到了一定的作用。而 IAA 和 ZRs 则在开花期含量较高,说明 IAA 和 ZRs 在维持花期的时间上起了一定的作用。

多胺(PAs)是一类新的植物生理活性物质。大量研究表明^[6],多胺参与了植物生长和发育的许多过程,如细胞分裂、胚胎发生、花芽分化、果实发育和

衰老等,尤其是腐胺(Put)、精胺(Spm)和亚精胺(Spd)这 3 种多胺与植物生长发育的关系最为密切。王世平等人^[7]的研究表明,在苹果(*Malus pumila* Mill.)开花过程中,其花药的 3 种多胺含量逐渐降低。陈以俊^[8]等人的研究则表明,在石竹(*Dianthus chinensis* L.)离体叶花芽形成过程中,内源多胺含量呈不同的变化趋势,其中 Put 和 Spd 含量上升,而 Spm 则含量下降,这说明不同植物体内多胺含量的变化呈现不同的规律。本研究中,Put 含量保持较高水平,说明其在开花过程中起了很重要的作用。

致谢:本研究的实验材料由江苏省·中国科学院植物研究所刘启新研究员提供,特此致谢!

参考文献:

- [1] 国凤利,孟繁静.矮牵牛花器官发育的研究进展[J].植物生理学通讯,1997,33(4):292-296.
- [2] 邹琦.植物生理生化实验指导[M].北京:中国农业出版社,1995.
- [3] 李宗霆,周燮.植物激素及免疫检测技术[M].南京:江苏科学技术出版社,1996.
- [4] 杨浚,贺平清,俞炳果.植物多胺的薄层-荧光测定法[J].植物生理学通讯,1988,(6):63-66.
- [5] 林晓东.激素调节花芽分化的研究进展[J].果树科学,1997,14(4):269-274.
- [6] 沈惠娟,谢寅峰.多胺(PAs)与植物的几种胁迫反应[J].南京林业大学学报,1997,21(4):26-29.
- [7] 王世平,宋长冰,李连朝,等.三种多胺在苹果开花及坐果初期的生理作用[J].园艺学报,1996,23(4):319-325.
- [8] 陈以俊,沈惠娟.石竹花芽发生与内源多胺含量的关系[J].园艺学报,1999,26(5):341-342.