

甘蓝体内蛋白酶活性与其春化逆转关系的研究

李文平 于锡宏* 蒋欣梅* 张玉 刘冬

(东北农业大学 园艺学院, 哈尔滨 150030)

摘要 为了解决甘蓝遇低温先期抽薹的难题,本试验采用 37 ℃ 高温进行春化逆转,以低温春化的植株作为对照,探讨甘蓝体内蛋白酶活性与春化逆转的关系。甘蓝早熟品种“8398”和中熟品种“京丰”经春化逆转,可溶性蛋白含量、硝酸还原酶(NR)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性比正常春化的植株分别下降了 13.1 和 6.6 mg/g,26.5 和 45.9 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,19.8 和 17.1 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$,11.6 和 9.6 U/(g·min)。试验发现,早熟品种“8398”其体内可溶性蛋白含量、POD、CAT 活性的降低幅度均比中熟品种“京丰”更大些;而中熟品种“京丰”体内 NR 活性比早熟品种“8398”活性强。结果表明,低水平的可溶性蛋白含量、POD、CAT、NR 活性有利于春化逆转的完成。

关键词 甘蓝; 春化逆转; 可溶性蛋白; 硝酸还原酶; 过氧化物酶; 过氧化氢酶

中图分类号 S 635.1

文章编号 1007-4333(2010)06-0042-04

文献标志码 A

Relations between changes of protease in cabbage with the devernalization

LI Wen-ping, YU Xi-hong*, JIANG Xin-mei*, ZHANG Yu, LIU Dong

(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract In order to solve the problem of cabbage early-bolting under low temperature, the relations between changes of protease in cabbage with the devernalization was investigated. Temperature at 37 ℃ was used for devernalization as a treatment, whereas low temperature vernalization of plants as a control. The content of soluble protein and the activity of NR, POD, CAT reduced by 13.1 and 6.6 mg/g, 26.5 and 45.9 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$, 19.8 and 17.1 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$, 11.6 and 9.6 U/(g·min) for the early maturing variety of cabbage ‘8398’, and for the mid-variety of Cabbage ‘Jingfeng’. The study found that the decline of the content of soluble protein, and the activity of POD, CAT in ‘8398’ was higher than that in ‘Jingfeng’; but the activity of NR in ‘Jing feng’ was higher than that in ‘8398’, the results showed that soluble protein contents, POD, CAT and NR activity at lower levels was benefit to devernalization.

Key words cabbage; devernalization; soluble protein; nitrate reductase; peroxidase; catalase

结球甘蓝属于喜凉性蔬菜,在未结球以前或者在幼苗期间,如遇一定的低温条件既可满足其春化要求,一旦再遇长日照,就无法继续长叶结球,而易形成生殖器官抽薹开花,这种现象在生产上称未熟抽薹或先期抽薹,使甘蓝的产量和质量遭受重大损失。因此,研究甘蓝春化及高温春化逆转为生产实践提供重要的指导意义。

在春化过程结束之前,30~45 ℃ 的高温可消除低温对成花诱导的效应,这种现象叫做春化逆转作用。高温对春化的解除是由于春化特异代谢途径中的某一环节中断导致最后不能生成春化活性物质并使之积累到一定的有效浓度水平所致^[1]。

无论是对种子春化型还是绿体春化型植物的研究都是停留在低温春化过程。谭克辉等^[2-3]研究认

收稿日期: 2010-04-26

基金项目: 东北农业大学创新团队课题(CXT002-2-2); 黑龙江省教育厅寒地蔬菜生物学重点实验室项目

第一作者: 李文平, 硕士研究生, E-mail: Leewenping@163.com

通讯作者: 于锡宏, 教授, 主要从事植物生长发育与设施园艺研究, E-mail: yxh100@sohu.com

蒋欣梅, 副研究员, 主要从事植物生长发育与设施园艺研究, E-mail: jxm0917@163.com

为低温诱导植物开花是由于植物体内蛋白质代谢发生变化所致,而春化过程后期是与春化过程有关的蛋白质合成的关键时期,有新蛋白质出现。青花菜体内的POD活性随着春化的进程而增加,进入花芽分化临界期时POD活性开始剧增^[4-5]。油菜低温春化过程中硝酸还原酶(NR)活性增强^[6],而陈秋明等^[7]研究发现高温处理条件下百合植株体内POD、CAT活性均持续下降。蒋欣梅等^[8]研究发现,高温春化逆转前随着低温春化处理时间的延长,经高温春化逆转后需要再春化的天数不断减少;品种不同,完成春化逆转前所要求低温春化时间也不同,其中“8398”春化处理18 d、“京丰”春化处理21 d时可以完全逆转春化,此时春化程度较浅,高温可以消除春化效应,逆转回到正常的营养生长状态。春化逆转后,甘蓝体内核酸、DNA和RNA含量以及RNA/DNA比值显著下降,而正常春化的植株则均呈缓慢上升趋势。迄今为止,在高温春化逆转过程中可溶性蛋白含量及酶活性变化尚未见报道。为此,本研究以强冬性甘蓝早熟品种“8398”和冬性中熟品种“京丰一号”为试材,通过分析春化逆转对甘蓝植株体内可溶性蛋白含量及酶活性的变化,旨在为植物的成花机理提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及设计

试验于2008—2009年在东北农业大学设施中心和黑龙江省教育厅寒地蔬菜生物学重点实验室进行。试材为甘蓝(*Brassica oleracea* var. *capitata* L.)早熟品种“8398”和中熟品种“京丰”,由中国农业科学院蔬菜花卉研究所提供。

2009-05-10温室播种育苗,幼苗长至1~2片真叶时分苗于8 cm×8 cm营养钵中,苗期按常规管理。按照赵荣秋^[9]进行的甘蓝不同苗龄对低温感应试验的方法,选取“8398”长至7片真叶、茎粗大于4.93 mm,“京丰”长至9片真叶、茎粗大于6.00 mm大小均匀一致的幼苗各120株放入光照培养箱中进行处理。“8398”低温春化[昼/夜温度=(10±1)℃/(5±1)℃],光照时间12 h/d,光照培养箱中叶面上接受的光照强度为72 μmol/(m·s)至18 d,“京丰”低温春化(温度和光照条件同“8398”)至21 d时,分别取60株于37℃高温处理12 h,检测高温春化逆转过程中甘蓝植株体内可溶性蛋白含量及酶活性的变化,以低温春化处理但不进行春化逆转的幼

苗为各自的对照。

在高温春化逆转可以完成的12 h内,每隔3 h随机选取9株,取甘蓝茎尖及靠近茎尖的1~2片叶,每次0.5 g,重复3次,共取样5次。

1.2 测定项目及方法

可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝G-250法,NR活性采用离体法,CAT活性采用紫外吸收法,POD活性采用分光光度法^[10]

2 结果与分析

2.1 高温春化逆转对甘蓝体内可溶性蛋白含量的影响

如图1所示,春化逆转初期,早熟品种“8398”可溶性蛋白含量为17.6 mg/g,随着春化逆转时间延长,处理后3 h开始缓慢下降,至处理后6 h可溶性蛋白含量降至14.0 mg/g,处理后9 h时开始急剧下降,至处理后12 h下降至最低值;“京丰”春化逆转初期可溶性蛋白含量为11.4 mg/g,处理后3 h时其含量比初期下降了2.1 mg/g,处理后9 h时开始急剧下降,至12 h可溶性蛋白含量下降至最低值。而对照植株一直呈缓慢上升趋势。

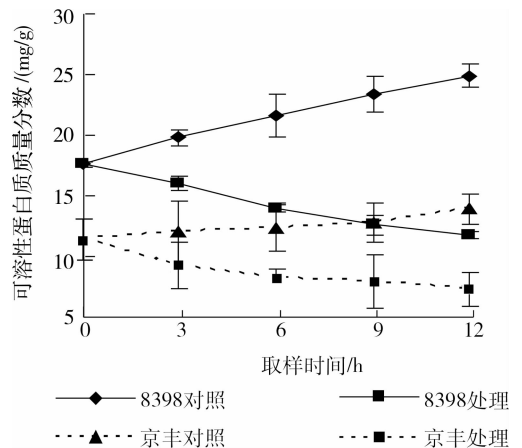


图1 “8398”和“京丰”春化逆转过程中的可溶性蛋白含量变化

Fig. 1 Change of soluble protein content during devernalization in “8398” and “Jingfeng” cabbage

2.2 高温春化逆转对甘蓝体内硝酸还原酶(NR)活性的影响

如图2所示,早熟品种“8398”春化逆转处理初期,NR活性为30.2 μg/(g·h),处理后3 h内NR活性与低温春化的植株相比基本无变化,处理6 h

开始明显下降,处理后 9 h 时 NR 活性为 $20.4 \mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$,春化逆转 12 h 降至最低值;中熟品种“京丰”春化逆转初期 NR 活性比早熟品种“8398”活性强,春化逆转处理 3 和 6 h 时与低温春化的植株相比基本无变化,其后随着春化逆转时间的延长,至 12 h 时下降至最低值。明显低于一直处在低温条件下的植株。

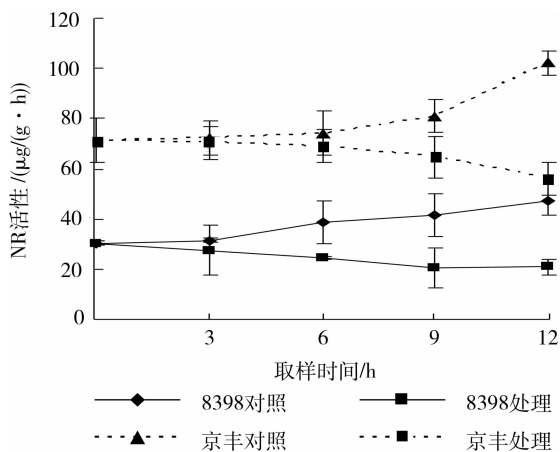


图 2 “8398”和“京丰”春化逆转过程中的 NR 活性变化
Fig. 2 Change of NR activities during devernialization in “8398” and “Jingfeng” cabbage

2.3 高温春化逆转对甘蓝体内过氧化物酶(POD)活性的影响

如图 3 所示,春化逆转初期,早熟品种“8398” POD 活性为 $23.5 \mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{min})$,随着春化逆转的进行,处理后 3 h 时开始下降,以后的 6 和 9 h 时 POD 活性与 3 h 相比基本无变化,至 12 h 降至最低值,一直处在低温条件下的植株,随着处理时间的延长呈上升趋势,处理后 6 h 开始急剧上升,至 12 h 上升到最高点;中熟品种“京丰”春化逆转处理初期 POD 活性强于早熟品种“8398”,随着春化逆转的进行,处理后 3 h 开始 POD 活性持续下降,至 12 h 下降到最大值,处于低温条件下的甘蓝植株,在测定的 12 h 内一直呈缓慢上升趋势。

2.4 高温春化逆转对甘蓝体内过氧化氢酶(CAT)活性的影响

如图 4 所示,甘蓝春化逆转初期,早熟品种“8398”和中熟品种“京丰”CAT 活性基本相同,早熟品种“8398”在春化逆转处理后 3 h 时 CAT 活性开

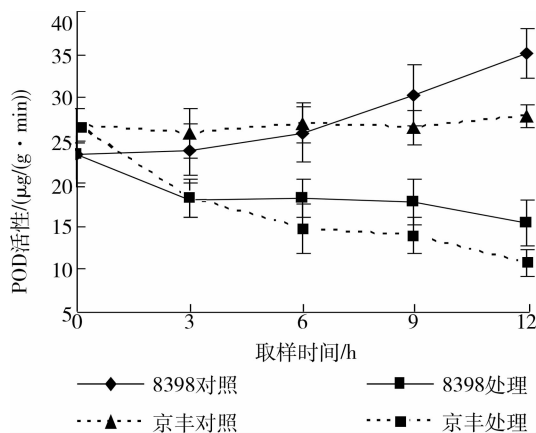


图 3 “8398”和“京丰”春化逆转过程中 POD 活性变化
Fig. 3 Change of POD activities during devernialization in “8398” and “Jingfeng” cabbage

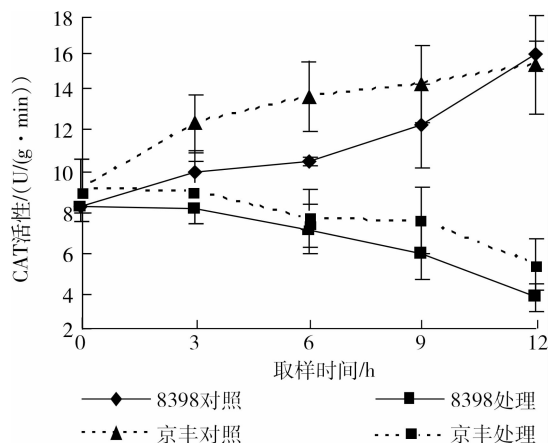


图 4 “8398”和“京丰”春化逆转过程中 CAT 活性变化
Fig. 4 Change of CAT activities during devernialization in “8398” and “Jingfeng” cabbage

始下降,至 12 h 下降至最低值,一直在低温春化条件下处理的甘蓝植株,在春化处理后 3 h 开始上升,至 12 h 上升至最大值;中熟品种“京丰”在处理 3 h 开始下降,至 12 h 下降最低值,对照植株呈缓慢上升趋势。

3 讨论

3.1 可溶性蛋白含量与春化逆转的关系

杨华庚和陈慧娟^[1]研究表明,蝴蝶兰幼苗经过 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理 2 d 后,其植株体内蛋白质合成加强,抗氧化酶活性增强,但在 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理下,蛋白质含量明显下降。本试验研究结果表明:随着高温春化逆

转的进行,可溶性蛋白含量也呈下降趋势。其原因可能是短时间的高温处理,蛋白质合成受阻,可溶性蛋白降解。可溶性蛋白含量降低,可能有利于高温春化逆转的完成。

3.2 酶活性与春化逆转的关系

硝酸还原酶活性可能与细胞分裂及蛋白质合成有关^[6]。本试验中植株经高温春化逆转后可溶性蛋白含量的降低可能与植株体内的 NR 活性降低有关。NR 活性下降可能是春化逆转完成的有利条件之一。

有研究表明,在高温逆境条件下,POD 活性的提高有利于植物细胞迅速清除活性氧,消除过氧化氢的危害,控制脂质氧化,减少膜系统的伤害^[12]。刘媛媛等^[13]研究高温胁迫对水稻影响时发现,随着高温处理时间延长,水稻叶片中 POD 活性呈下降趋势。本试验经 3 h 的测定也得出一致结果,至于少于 3 h 时 POD 活性是否升高,还有待于进一步研究。POD 活性下降原因可能是短时间高温处理,使植株细胞迅速清除活性氧,消除过氧化氢的危害,POD 分解速度加快。可见,POD 活性降低可能有利于春化逆转的完成。

过氧化氢酶活性受环境温度的影响较大,高祥斌、张秀省^[14]研究高温对高羊茅的影响时发现,温度越高,过氧化氢酶活性下降幅度越大。这与本试验的研究结果相一致,即在测定的 12 h 内随着高温春化逆转的进行,CAT 活性也呈下降趋势。

4 结 论

本试验发现,与对照相比,早熟品种“8398”其体内可溶性蛋白含量、POD、CAT 活性的降低幅度均比中熟品种“京丰”大;而中熟品种“京丰”其体内 NR 活性比早熟品种“8398”活性强;结果表明,低水平的可溶性蛋白含量、POD、CAT、NR 活性有利于春化逆转的完成。

参 考 文 献

- [1] 王定藩. 关于冬型禾谷类作物春化过程中形成春化活性物质的问题[J]. 植物生理学通讯, 1996(4): 29-34
- [2] 谭克辉, 王文宏, 李守全, 等. 代谢抑制剂对冬小麦春化作用的影响[J]. 植物学报, 1981, 23: 371-376
- [3] 谭克辉. 低温诱导植物开花的机理[C]//北京植物生理协会, 植物生理生化进展, 北京: 科学出版社, 1983: 90-107
- [4] 蒋欣梅, 于锡宏. 低温处理青花菜萌动种子对花芽分化的促进作用[J]. 植物生理与分子生物学报, 2004, 30(4): 421-427
- [5] 蒋欣梅, 马红, 于锡宏. 青花菜花芽分化前后内源激素含量及酶活性的变化[J]. 东北农业大学学报, 2005, 36(2): 156-160
- [6] 凌俊, 林振武. 春化对油菜叶片硝酸还原酶活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(2): 90-93
- [7] 陈秋明, 尹慧, 李晓艳, 等. 高温胁迫下外源水杨酸对百合抗氧化系统的影响[J]. 中国农业大学学报, 2008, 13(2): 44-48
- [8] 蒋欣梅, 赵荣秋, 于锡宏. 高温春化逆转对甘蓝体内核酸类物质含量的影响[J]. 植物生理学通讯, 2009, 7(45): 673-676
- [9] 赵荣秋. 碳、氮、核酸代谢在甘蓝绿叶春化中的变化[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006
- [11] 杨华庚, 陈慧娟. 高温胁迫对蝴蝶兰幼苗叶片形态和生理特性的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(11): 123-127
- [12] Quartacci M F, Navarilzzo F. Water stress and free radical mediated changes in sunflower seedling [J]. Plant Physiol, 1991, 139(5): 621-625
- [13] 刘媛媛, 滕中华, 王三根, 等. 高温胁迫对水稻可溶性糖及膜保护酶的影响研[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2008, 30(2): 59-63
- [14] 高祥斌, 张秀省. 高温对高羊茅几个生理指标的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(14): 153-156