

# 切花月季开花进程差异与花瓣内肽酶活性的关系

赵喜亭, 宋萍萍, 王会珍

(河南师范大学 生命科学院 河南 新乡 453007)

**摘要:**以瓶插期开花进程不同的切花月季萨蔓莎和贝拉米为试材,探讨了切花月季开花进程差异与花瓣内肽酶活性的关系。结果表明:开花进程中萨蔓莎花瓣起主导作用的是 pH 10 下的内肽酶,贝拉米花瓣中起主导作用的是 pH 6 下的内肽酶,且前者活性远高于后者的。开花进程中花瓣金属蛋白酶在萨蔓莎中一直存在且活性较高,而在贝拉米中逐步被启动,初开期表现活性且随开花进程而增大;花瓣巯基蛋白酶在萨蔓莎盛开之前存在,之后活性消失,而在贝拉米盛开之后活性升高;花瓣酸性丝氨酸蛋白酶在二者中活性均基本不变,但整体在萨蔓莎中的活性高于贝拉米的;花瓣碱性丝氨酸蛋白酶在盛开期前萨蔓莎中的活性远高于贝拉米的,盛开后相反。由此推测,初开期金属蛋白酶的诱导差异及盛开前后巯基蛋白酶和碱性丝氨酸蛋白酶的活性差异可能与二者开花进程差异有关。

**关键词:**月季;切花;开花进程;内肽酶

**中图分类号:**S 685.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)10-0102-04

月季切花是世界四大切花之一,在国内市场上占有非常重要的地位。但是月季切花开花速度快,易于衰老,瓶插寿命短,主要表现在易弯头和花瓣萎蔫、蓝变或脱落等<sup>[1]</sup>。迄今为止,研究者在月季切花衰老机理和衰老调控方面做了大量研究工作,研究重点集中在乙烯与

月季切花衰老的关系上,高俊平等认为月季的乙烯代谢类型因品种而异<sup>[2]</sup>。刘晓辉等的研究也表明了 2 个乙烯敏感型月季切花在乙烯敏感性上存在差异,无论从形态变化还是生理指标的变化上都表现出 Kardinal 比 Samantha 更为敏感;进一步研究发现,外源乙烯处理会引起花瓣内肽酶活性的剧烈升高,切花月季品种开放和衰老对外源乙烯反应的不同可能与相应花瓣内肽酶的变化程度有关<sup>[3]</sup>,但是对不同切花月季品种开花进程差异与花瓣内肽酶活性的关系尚不清楚。在试验中发现,月季切花红色品种萨蔓莎(*Rosa hybrida*, Samantha)和粉

**第一作者简介:**赵喜亭(1971-),女,河南洛阳人,博士,副教授,研究方向为果蔬花采后保鲜与加工。E-mail:zhaoxt0411@126.com。

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(39870490)。

**收稿日期:**2008-05-03

## Chlorophyll Content Trends During Seedling Stage of Ten Staple Alfalfa Varieties in Ningxia with NaCl and Water Compound Stress

LIU Gen-hong, XIE Ying-zhong, LAN Jian, YANG Rui, ZHAO Gong-qiang

(Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

**Abstract:** The experiment was conducted to study chlorophyll content trends during seedling stage and give tentative evaluation about their capability to resist water and NaCl stress of ten Staple Alfalfa varieties in Ningxia with NaCl and water compound stress by using quadratic general spinning design. The results showed determine effect of chlorophyll content variation for all Alfalfa varieties displayed negative effect, Single effect displayed chlorophyll content for all decreased with NaCl stress being serious, while increased in some extent with water stress being serious and enough water added. To interaction effect of Water and NaCl on chlorophyll content variation, only Algonguin with negative effect and CW200 with positive effect existed, others had effect insignificantly. Put in order tentatively according chlorophyll content from high to low to evaluate ten staple alfalfa varieties about their compound resistance to NaCl and water as follow: CW30 > CW200 > Zhaoyang > Golden Empress > Ningmu No1 > Algonguin > Neimeng > Longdong > Sandi > Xingjiang.

**Key words:** NaCl; Water; Compound stress; Chlorophyll content; Ningxia; Staple Alfalfa

色品种贝拉米(*Rosa hybrida*, Belami)采后在瓶插过程中开花进程不同,前者开得快,且能充分开放,后者开得很慢,且常出现“僵花”现象。该试验对二者开花进程中花瓣内肽酶的变化进行比较探讨,以在寻找引起它们开花进程不同的可能原因。

1 材料与方法

1.1 材料处理

月季切花选用红色品种萨蔓莎(*Rosa hybrida*, Samantha)和粉色品种贝拉米(*Rosa hybrida*, Belami),购自河北省固安园艺场,采收长度35 cm,开花级数2级,为秋季花材。

取回在室温下平衡4 h后,按枝长25 cm、留3片复叶水下剪切。在22~25℃、相对湿度30%~50%、光/暗周期12 h/12 h、光照度25.7 mE/(m<sup>2</sup>·s)下蒸馏水中瓶插。

1.2 形态学观测

瓶插期间开花级数采用黄绵佳等的方法<sup>[4]</sup>、花径增大

率采用蔡蕾等的方法<sup>[5]</sup>测定,均以10朵花的平均值计算。

1.3 指标测定

在瓶插过程中,按开花级别取样。取从外到内5~8层花瓣,单枝花样本,3次重复。内肽酶活性和种类的测定:依据Barbara等<sup>[6]</sup>的方法略有改进<sup>[7]</sup>。

2 结果与分析

2.1 瓶插期品种间花朵开花进程的比较

开放程度用花径增大率来衡量,开放进程速度以同一时间开花级数表示。表1表明,萨蔓莎和贝拉米花径增大率均在瓶插第4天达到最大,萨蔓莎花径增大率最大值为90.18%,远大于贝拉米的60.21%。对开花级数分析表明,萨蔓莎在瓶插第2天盛开(4级),第6天萎蔫(6级),而贝拉米在瓶插第3天盛开(4级),第5天由于僵花而萎蔫(6级)。说明,萨蔓莎瓶插期间能充分开放,贝拉米不能充分开放易出现僵花,而且前者开花进程比后者快。

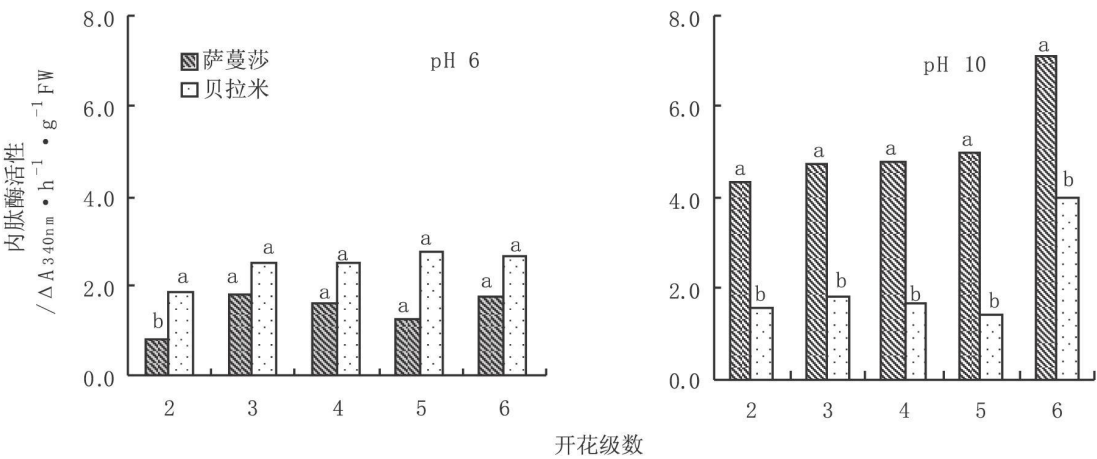


图1 月季切花开花进程中花瓣内肽酶活性的变化  
注:不同字母表示经 Duncan's 新复极差测验达 0.05 显著水平。

表1 月季切花瓶插期花径增大率和开花级数的变化

瓶插天数 /d	花径增大率/%		开花级数	
	萨蔓莎	贝拉米	萨蔓莎	贝拉米
0	0a	0a	2.0	2.0
1	54.87a	32.02b	2.0	2.0
2	68.32a	38.74b	3.7	3.0
3	88.57a	55.30b	4.8	4.3
4	90.18a	60.21b	5.2	5.5
5	79.60a	51.57b	5.6	6.0
6	64.71a	44.55b	6.0	6.0

注:同一行相同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 0.05 水平上差异不显著,n=10。

2.2 瓶插期开花进程中品种间花瓣内肽酶活性的比较

前期的研究表明,花瓣中内肽酶活性,萨蔓莎在 pH

10 出现活性高峰,而贝拉米却分别在 pH 6 和 pH 10 出现活性高峰<sup>[8]</sup>,为此,在最适温度 37℃下分别选取 pH 6 和 pH 10 对开花进程中二者花瓣内肽酶活性进行测定,结果如图 1。随开花进程,萨蔓莎、贝拉米花瓣内肽酶活性变化趋势相同,均为瓶插至盛末期(5 级)以前有所降低,盛末期(5 级)时最低,以后迅速增加。但又存在不同,萨蔓莎花瓣在 pH 10 条件下的内肽酶活性,在整个瓶插过程中远大于 pH 6 条件下的内肽酶活性;而贝拉米在盛末期(5 级)之前,pH 6 条件下的内肽酶活性大于 pH 10 条件下的;盛末期(5 级)之后 pH 10 时的活性显著提高,即开花进程中萨蔓莎花瓣起主导作用的是 pH 10 下的内肽酶,贝拉米花瓣起主导作用的是 pH 6 下的

内肽酶,且前者活性远高于后者。说明,花瓣内肽酶活性高低可能是供试二者开花进程不同的一个原因。

2.3 瓶插期品种间花瓣内肽酶种类的比较

2.3.1 萨蔓莎 分别在 37℃ pH 6 和 pH 10 条件下对萨蔓莎开花进程中花瓣内肽酶活性进行不同抑制剂试验,由表 2 可知,开花进程中萨蔓莎花瓣中存在金属蛋白酶,对较高浓度的 EDTA 敏感,该酶在 pH 6 时有较高活性,瓶插至盛花期(4 级)时是该类内肽酶活性变化的转折点;在瓶插初期(盛花期之前)花瓣中存在巯基类蛋白酶,该酶在 pH 6 时有较高活性,盛花期(4 级)以后,该酶活性消失;开花进程中花瓣有丝氨酸蛋白酶存在,且可能有两种存在形式:一种在 pH 6 条件下能较好发挥作用,另一种在 pH 10 条件下能较好发挥作用,后者作用大于前者,且丝氨酸蛋白酶活性在开花进程中基本不变。

表 2 EDTA、IA、PMSF 对切花月季萨蔓莎开花进程中花瓣内肽酶活性的影响

抑制剂 /mmol·L <sup>-1</sup>	pH 值		抑制百分比/%					
			None	2 级	3 级	4 级	5 级	6 级
EDTA	1.0	6.0	0.00a	4.60a	3.33a	9.39a	8.73a	8.31a
			0.00c	38.46a	40.19a	23.29b	39.45a	35.09a
	1.0	10.0	0.00a	0.00a	0.00a	2.54a	1.57a	0.00a
			0.00a	8.04a	5.37a	8.42a	1.02a	9.57a
IA	1.0	6.0	0.00c	13.70b	36.52a	1.86c	0.00c	0.00c
			0.00b	31.00a	33.70a	10.51b	7.55b	8.17b
	1.0	10.0	0.00a	0.00a	5.22a	0.00a	0.00a	0.00a
			0.00a	5.59a	8.67a	0.00a	0.00a	1.24a
PMSF	1.0	6.0	0.00b	12.67a	12.57a	19.96a	10.61a	17.65a
			0.00b	43.16a	45.14a	52.08a	46.53a	43.27a
	1.0	10.0	0.00b	17.01a	18.25a	21.09a	20.39a	23.26a
			0.00b	56.78a	71.52a	63.90a	64.22a	48.45a

注 1)EDTA, 乙二胺四乙酸二钠; IA, 碘乙酸; PMSF, 苯甲基磺酰氟化物。2) None 表示不加抑制剂 3)下同。

2.3.2 贝拉米 表 3 可知,贝拉米花瓣中存在金属蛋白酶,该酶的活性在 pH 6 时有较高活性,而且活性是在初花期(3 级)开始出现,到萎蔫期(6 级)达最大值;巯基类内肽酶在贝拉米开花进程中一直存在,且开始时活性较低,4 级以后活性有所升高,该酶的活性在 pH 6 时较高,开花进程中花瓣有丝氨酸蛋白酶存在,且可能有 2 种存在形式:一种在 pH 6 条件下能较好发挥作用,另一种在 pH 10 条件下能较好发挥作用。前者活性在开花进程中基本不变,后者活性绽蕾期至盛花期(2~4 级)较低,盛末期至萎蔫期(5~6 级)较高。

2.3.3 比较分析 2 种形式的丝氨酸蛋白酶和 pH 6 条件下具有活性的金属和巯基蛋白酶,但花瓣内肽酶种类及活性在二者瓶插期各阶段的变化存在不同:在开花进程中,金属蛋白酶在萨蔓莎中一直存在且活性较高,而在贝拉米中逐步被启动,初花期表现活性且随开花进程

而增大;巯基蛋白酶在萨蔓莎盛开之前存在,之后活性消失,而在贝拉米盛开之后活性升高;酸性丝氨酸蛋白酶在二者中活性均基本不变,但整体上在萨蔓莎中的活性高于贝拉米的;盛花期前碱性丝氨酸蛋白酶在萨蔓莎中的活性远高于贝拉米的,盛开后相反。由此推测,盛开花前后花瓣中金属蛋白酶、巯基蛋白酶和碱性丝氨酸蛋白酶变化不同,整个开花进程中酸性丝氨酸蛋白酶活性高低不同是萨蔓莎和贝拉米瓶插期开花进程不同的可能原因之一。

表 3 EDTA、IA、PESF 对切花月季贝拉米开花与衰老进程中花瓣内肽酶活性的影响

抑制剂 /mmol·L <sup>-1</sup>	pH 值		抑制百分比/%					
			None	2 级	3 级	4 级	5 级	6 级
EDTA	1.0	6.0	0.00c	0.00c	6.57b	12.65ab	17.18a	19.48a
			0.00c	0.00c	27.17b	28.88b	44.05a	40.40a
	1.0	10.0	0.00a	0.00a	0.00a	1.39a	0.00a	1.36a
			0.00a	0.00a	0.00a	1.66a	0.00a	0.00a
IA	1.0	6.0	0.00c	16.38b	15.65b	25.14a	23.02a	24.51a
			0.00c	23.45b	26.70b	31.14a	31.57a	31.75a
	1.0	10.0	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
			0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
PMSF	1.0	6.0	0.00b	20.07a	27.06a	18.81a	18.09a	17.28a
			0.00b	21.57a	24.00a	15.01a	14.42a	19.60a
	1.0	10.0	0.00c	40.34a	39.61a	31.18a	13.95b	18.66b
			0.00c	44.67b	55.09b	83.68a	95.98a	96.67a

3 讨论

该试验在最适温度和 pH 条件下对内肽酶活性进行检测表明,开花进程不同的品种,花瓣中起主导作用的内肽酶不同,开花进程快的红色品种萨蔓莎是在最适温度 37℃下,适宜 pH 值为 10 时的内肽酶;开花进程慢的粉色品种贝拉米是在最适温度 37℃下,适宜 pH 值为 6 时的内肽酶。同时发现,在整个瓶插过程中萨蔓莎花瓣在 37℃、pH 10 条件下的内肽酶活性一直高于贝拉米 37℃、pH 6 和 pH 10 条件下活性的叠加值。说明,这可能正是萨蔓莎较贝拉米开放进程快,能充分开放的原因之一。

一般地说,内肽酶活性是随着植物生长发育而有所变化,并且在不同生长发育阶段内肽酶种类可能发生变化。Dominguez 和 Cejudo 通过测定麦粒内肽酶的活性,表明在发育早期丝氨酸蛋白酶大量存在,天门冬氨酸蛋白酶、金属蛋白酶在后期大量存在,花后 15 d 全酶活性最高<sup>[9]</sup>。Fischer 等发现香附子叶片衰老后期丝氨酸蛋白酶受到强烈诱导<sup>[10]</sup>。可见,各个阶段起主要作用的酶在不同植物中是不同的。研究发现,在瓶插初期(盛开以前)萨蔓莎花瓣中金属蛋白酶、巯基蛋白酶和丝氨酸蛋白酶具较高活性;后期金属蛋白酶活性仍较高,碱性丝氨酸蛋白酶活性有所降低而巯基蛋白酶活性消失。

推测巯基蛋白酶的存在与否及碱性丝氨酸蛋白酶活性大小与萨蔓莎开花进程关系密切; 在瓶插初期贝拉米花瓣中金属蛋白酶逐步被启动、巯基蛋白酶和丝氨酸蛋白酶具有较低活性; 后期金属蛋白酶活性增强, 巯基蛋白酶和碱性丝氨酸蛋白酶活性急剧升高。推测金属蛋白酶活性的启动、巯基蛋白酶和碱性丝氨酸蛋白酶活性的提高与贝拉米开花进程密切相关。萨蔓莎和贝拉米开花进程不同, 采后各阶段起主要作用的内肽酶不同, 尤其盛开前后金属蛋白酶、巯基蛋白酶和碱性丝氨酸蛋白酶的活性变化不同, 这可能是二者开花进程不同的原因之一。

参考文献

[ 1] Zieslin N. Postharvest control of vase life and senescence of rose flowers [ J] . Acta Horticulturae 1989, 61: 257-264.  
[ 2] 高俊平, 张晓红, 黄绵佳, 等. 月季切花开花和衰老进程中乙烯变化类型初探 [ J] . 园艺学报, 1997, 4(3): 274-278.  
[ 3] 刘晓辉, 朱旭晖, 赵喜亭, 等. 两个切花月季品种花朵开放和衰老对

乙烯的反应及其与内肽酶的关联 [ J] . 中国农业科学, 2005, 38(3): 589-595.  
[ 4] 黄绵佳, 高俊平, 张晓红, 等. PPOH 延缓月季切花开花和衰老的研究 [ J] . 园艺学报, 1998, 25(1): 70-74.  
[ 5] 蔡蕾, 张晓红, 沈红香, 等. 乙烯对不同切花月季品种开花和衰老的影响 [ J] . 园艺学报, 2002, 29(5): 467-472.  
[ 6] Barbara N, Stefania C, Raffaella V, et al. Purification and characterization of an endoprotease from alfalfa senescent leaves [ J] . Phytochemistry, 1998, 49(3): 643-649.  
[ 7] 赵喜亭, 丛日晨, 单宁伟, 等. 切花月季品种间失水胁迫耐性与花瓣内肽酶活性之间的关联 [ J] . 园艺学报, 2005, 32(5): 854-860.  
[ 8] 丛日晨, 赵喜亭, 刘晓辉, 等. 月季切花采后花瓣内肽酶活性的变化 [ J] . 园艺学报, 2003, 30(2): 232-235.  
[ 9] Dominguez F, Cejudo F J. Characterization of the endoproteases appearing during wheat grain development [ J] . Plant Physiology, 1996, 112: 1211-1217.  
[ 10] Fischer A, Brouquisse R, Raymond P. Influence of senescence and of carbohydrate levels on the pattern of purple nutsedge ( *Cyperus rotundus* L. ) Leaf Proteases [ J] . Physiologia Plantarum, 1998, 102: 385-390.

Relationship Between Endopeptidase Activity in Petals and the Process of Opening to Senescence of Two Cut Rose Cultivars

ZHAO Xi-ting, SONG Ping-ping, WANG Hui-zhen

(College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007, China)

**Abstract:** This work was aimed the investigate to relationship between the difference in the process of opening to senescence and the activity and type of endopeptidase (EP) in different cultivars of cut roses (*Rosa hybrid*). Two cultivars, ‘Samantha’ and ‘Belami’ were used as materials. In the process of opening to senescence, the former was faster than the later, and the former can open enough largely, while the later becomes always stereotyped. The results showed that, In the process of opening to senescence, EP activity of pH 10 played a key role in petals of ‘Samantha’ and EP activity of pH 6 played a key role in petals of ‘Belami’, at the same time, EP activity of the former was higher by far than that of the later. In the process of opening to senescence, activity of metallo-proteinase in ‘Samantha’ petals was always high, while that in ‘Belami’ petals was activated at the stage 3 and increased with the process of floral opening. Activity of thiol-proteinase in ‘Samantha’ petals was higher before the stage 4, that was out after the stage 4, while that in ‘Belami’ petals increased after stage 4. Acidic serine proteinase of ‘Samantha’ and ‘Belami’ petals all kept invariability, but activity of ‘Samantha’ petals was higher than that of ‘Belami’ petals. Activity of alkaline serine proteinase in ‘Samantha’ petals was higher by far than that in ‘Belami’ petals before the stage 4, the station was oppositive after the stage 4. The results above suggested that the difference of the process of opening to senescence between two cultivars might be related to the induced difference of metallo-proteinase at the stage 3 and the difference of thiol-proteinase and serine proteinase activities in petals before and after the stage 4.

**Key words:** Rose (*Rosa hybrida*); Cut flower; The process of opening to senescence; Endopeptidase