

GSH 与 ASA 对牡丹花瓣生理生化的调控研究

刘 萍¹, 吕 艳 娜¹, 张 小 冰², 丁 义 锋¹, 付 大 军¹, 张 静¹

(1. 河南师范大学 生命科学院, 河南 新乡 453007; 2. 太原师范学院 生物系, 山西 太原 030031)

摘 要:以不同浓度的谷胱甘肽(GSH)+抗坏血酸(ASA)水溶液对牡丹“似荷莲”品种花蕾期进行全株喷雾处理,测定了整个花期花瓣中可溶性糖、可溶性蛋白含量,超氧化物歧化酶(SOD)活力、超氧阴离子(O_2^-)产生速率和丙二醛(MDA)含量的变化。结果表明:不同浓度GSH+ASA组合均能提高牡丹花瓣中SOD活力、可溶性蛋白和可溶性糖含量,降低花瓣中 O_2^- 产生速率和MDA含量,其中以GSH100 mg/L+ASA100 mg/L处理效果最佳。

关键词:牡丹;GSH;SOD; O_2^- ;MDA;可溶性蛋白质;可溶性糖

中图分类号:S 685.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)11-0107-03

牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr.)为芍药科落叶亚灌木,其花大艳丽,有“花王”之美称,并且品种繁多、花型各异、五彩缤纷,具有很高的观赏价值。在自然状况下,牡丹的花期较短,单花寿命仅为1周左右,其中具较高观赏价值的时间仅有2~3 d,且开花时间过于集中,远不能满足观赏需要^[1]。因此,延长牡丹单花寿命和自然花期的研究具有较为重要的意义。

GSH是由L-谷氨酸、L-半胱氨酸和甘氨酸经肽键缩合而成的三肽生物活性物质^[2,3],GSH有抗自由基、抗衰老、抗氧化等多种重要的生理功能,尤其是在维持生物体内适宜的氧化还原环境中起着至关重要的作用^[4]。ASA是一种超氧自由基的有效清除剂,能保护细胞免受氧化剂和自由基的伤害^[5]。当前对植物GSH的研究主要集中在二方面:一是GSH生物合成的调控;二是胞内GSH水平和氧化还原状态是如何与环境胁迫相适应的^[6]。其在栽培牡丹花瓣抗氧化中的应用尚未见报道。

现初步研究了GSH和ASA组合对牡丹“似荷莲”品种花期花瓣生理活动的影响,旨在为提高牡丹花瓣抗氧化衰老、延长单花寿命和增加观赏价值以及其它相关研究提供一定的依据,同时也为GSH和ASA在花卉生产中的应用提供理论支持和实践指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试牡丹品种为“似荷莲”,取自河南师范大学牡丹园。

第一作者简介:刘萍(1958-),女,教授,现主要从事植物生理学教学与研究工作。E-mail:liuping5812@sina.com。

基金项目:河南省重点攻关资助项目(8210220013,092102310171);河南省教育厅自然科学基础资助项目(2007180032)。

收稿日期:2010-02-10

1.2 试验方法

1.2.1 材料处理 试验材料为初蕾期大田栽培的牡丹植株,按随机区组设计方案,分别以GSH 50 mg/L+ASA 100 mg/L、GSH 100 mg/L+ASA 100 mg/L和GSH 150 mg/L+ASA 100 mg/L 3个浓度组合的水溶液对牡丹进行全株喷雾处理,以喷蒸馏水作为对照(下午17:30~18:00进行),每3 d处理1次,至花开为止。每处理组最终选取形态和生长发育一致的植株6株作为测定材料。

1.2.2 生理生化指标的测定 从花开的第1天(上午7:00最外层花瓣展开达伸直状态为花开第1天)至第6天(花瓣开始凋谢脱落),每24 h对牡丹花瓣进行1次生理生化指标的测定。以改良的蒽酮比色法测可溶性糖含量^[7,8];以考马斯亮蓝G-250比色法测定可溶性蛋白含量^[9];以氮蓝四唑(NBT)法测定SOD活力^[10];以羟胺氧化法测定 O_2^- 产生速率^[11];以硫代巴比妥酸(TBA)法测定MDA含量^[12]。

2 结果与分析

2.1 不同浓度GSH+ASA对牡丹花瓣中可溶性糖含量的影响

由图1可知,在牡丹“似荷莲”的整个花期中,花瓣中可溶性糖含量整体变化呈单峰曲线,即开花初期上升,中期到达峰值后下降。各处理组花瓣中可溶性糖含量均高于对照组,其中以GSH 100 mg/L+ASA 100 mg/L处理组花瓣中可溶性糖含量最高。

2.2 不同浓度GSH+ASA对牡丹花瓣中可溶性蛋白含量的影响

由图2可知,在牡丹“似荷莲”的整个花期中,花瓣中可溶性蛋白含量的变化呈现单峰曲线,峰值出现在开花第3天,盛花期过后开始下降。经不同浓度的GSH+ASA处理后,花瓣可溶性蛋白含量均高于对照组,其中

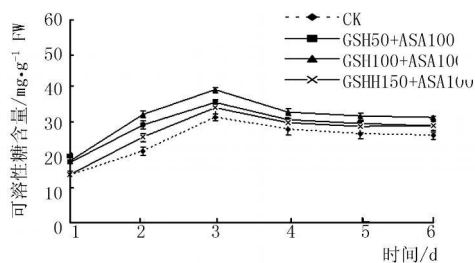


图1 GSH+ASA对牡丹“似荷莲”花瓣中可溶性糖含量的影响

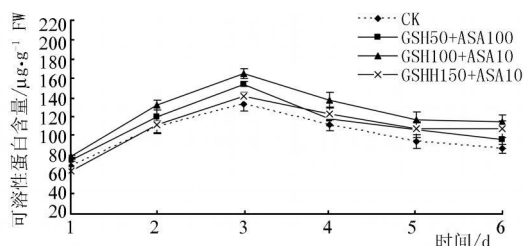


图2 GSH+ASA对牡丹“似荷莲”花瓣中可溶性蛋白含量的影响

以GSH 100 mg/L+ASA 100 mg/L处理组花瓣中可溶性蛋白含量最高。

2.3 不同浓度GSH+ASA对牡丹花瓣中SOD活力的影响

由图3可知,在牡丹“似荷莲”的整个花期中,花瓣中SOD活力的变化呈双峰曲线,峰值在花开第3天和第5天,与 O_2^- 产生速率峰值出现的时间相呼应(见图4)。经不同浓度的GSH+ASA处理后,花瓣中的SOD活力均高于对照组,其中以GSH 100 mg/L+ASA 100 mg/L处理组花瓣中SOD活力最高。

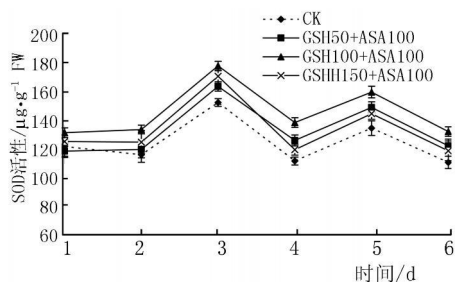


图3 GSH+ASA对牡丹“似荷莲”花瓣中SOD活力的影响

2.4 不同浓度GSH+ASA对牡丹花瓣中 O_2^- 产生速率的影响

由图4可知,在牡丹“似荷莲”的整个花期中,花瓣中 O_2^- 产生速率有2个峰值,分别在花开的第2天和第4天,在第3天和第5天 O_2^- 产生速率最低。花瓣中 O_2^- 产生速率2次最低值恰与2次SOD活力的峰值时间相

一致(见图3)。花开第6天时,花瓣中 O_2^- 产生速率回升。经不同浓度的GSH+ASA处理后,花瓣中 O_2^- 产生速率均低于对照组,其中以GSH 100 mg/L+ASA 100 mg/L处理组花瓣中 O_2^- 产生速率最低。

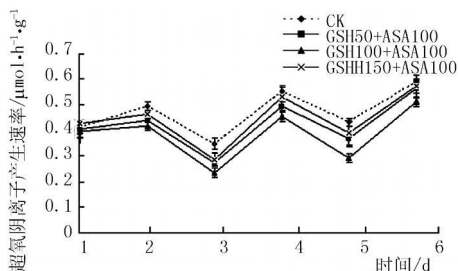


图4 GSH+ASA对牡丹“似荷莲”花瓣中超氧阴离子产生速率的影响

2.5 不同浓度GSH+ASA对牡丹花瓣中MDA含量的影响

从图5可知,牡丹“似荷莲”花瓣中MDA含量随着花的开放进程而增加,在花开的第5天之后其增加幅度明显提高。各处理组在整个花期中MDA的含量均低于对照组,其中以GSH 100 mg/L+ASA 100 mg/L处理组花瓣中MDA的含量最低。

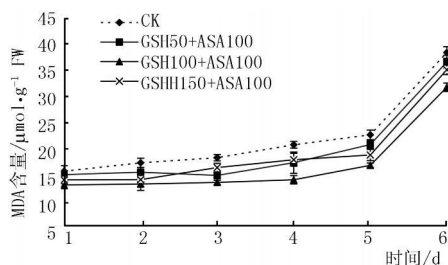


图5 GSH+ASA对牡丹“似荷莲”花瓣中MDA含量的影响

3 讨论与结论

该研究表明,在牡丹开花前期,由于大量的营养物质向花器官运输,花器官本身也合成能源物质,因此花开初期花瓣中可溶性糖含量呈上升趋势,至盛花期达到最大值。此后,花瓣开始走向衰老,呼吸作用加剧,糖类有机物消耗增加,花瓣中可溶性糖含量下降^[13]。

花瓣中蛋白质含量的变化也可作为植物衰老的重要依据,且花瓣的可溶性蛋白质含量变化与质膜透性变化呈显著的负相关性^[14]。该研究发现,牡丹开花初期花瓣中可溶性蛋白质含量逐渐上升,在盛花期达到最高值,之后开始下降。原因可能是盛花期过后花瓣的衰老上调基因开始表达,蛋白质合成速度下降而分解加快,各种水解酶类增加,如核酸酶、蛋白酶等^[15]。

在牡丹整个花期中,花瓣中SOD活力的2个高峰

值与 O₂⁻ 产生速率的 2 个最低值相呼应,而花开第 6 天时,花瓣中 SOD 活力的迅速下降与花瓣中 O₂⁻ 产生速率的明显回升以及 MDA 含量显著增加相伴随。说明 SOD 作为重要的保护酶,能够有效的清除超氧阴离子自由基,对保护生物有机大分子和膜系统的完整性具有重要的作用。SOD 活力在盛花后升高被认为是植物抗氧化衰老的一种防卫响应,随着活性氧物质的增加,防御系统启动, SOD 活性达到第 2 个峰值^[16]。在花瓣衰老时 SOD 活力迅速下降,致使花瓣中 O₂⁻ 大量积累,导致细胞的生物大分子物质氧化降解,细胞膜脂过氧化使 MDA 含量增加,MDA 既是细胞膜脂过氧化产物又可强烈地与细胞内各种成分发生反应,使多种酶和膜系统遭受严重损伤,细胞衰老加速^[1]。因此,MDA 是反映生物膜损伤程度的重要生化指标之一^[17],其含量的快速大幅度升高也是牡丹花瓣衰老的重要标志之一。该研究发现 GSH 和 ASA 能在一定程度上降低自由基引发的膜脂过氧化作用,保护膜的完整性。

也有报道,补充 ASA 可以使 GSH 转化为 GSSG(氧化型谷胱甘肽)减少,可见 ASA 与体内一些抗氧化系统如 SOD、CAT、GSH-PX 等有着共同作用,在防止自由基生成、清除自由基和避免细胞伤害中起重要作用^[5]。该研究结果表明,用 GSH 和 ASA 处理牡丹能有效地提高花瓣中可溶性糖和蛋白的含量以及 SOD 的活力,同时降低了 O₂⁻ 产生速率和 MDA 的含量,从而延缓了花瓣细胞中大分子有机物的降解,使膜脂过氧化水平降低。

参考文献

[1] 闫志佩.牡丹花期花瓣生理活动的初步探讨[J].曲阜师范大学学报, 2004, 30(2):1119-1130.
[2] 沈亚领,李爽,迟莉丽,等.谷胱甘肽的应用与生产[J].工业微生物,

2000, 30(2): 207-210.
[3] 王大慧,卫功元.谷胱甘肽的应用前景及生产研究现状[J].化学与生物工程, 2004(3): 167-169.
[4] Izawa S, Inoue Y, Kimura A. Oxidative stress response in yeast: effect of glutathione on adaptation to hydrogen peroxide stress in Sacchar[J]. FEBS Lett, 1995, 368: 73-76.
[5] 张洪斌.谷胱甘肽和维生素 E、C 与自由基[J].新疆师范大学学报(自然科学版), 1999, 18(3):86-89.
[6] 陈坤明,宫海军,王锁民.植物谷胱甘肽代谢与环境胁迫[J].西北植物学报, 2004, 24(6): 1119-1130.
[7] 杨建雄.生物化学与分子生物学实验技术教程[M].北京:科学出版社, 2002:30.
[8] 张妙霞,孔祥生,张秀溪,等.萘酚法测定可溶性糖显色条件的研究[J].洛阳农专学报, 1997, 17(4): 24-25.
[9] 刘萍,李明军.植物生理学实验技术[M].北京:科学出版社, 2007: 82-83.
[10] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社, 2000: 167-169.
[11] 王爱国,罗广华.植物的超氧物自由基与羟胺的反应的定量关系[J].植物生理学通讯, 1990(6): 55-57.
[12] 越世杰,许长成.植物组织中丙二醛测定方法的改进[J].植物生理学通讯, 1994, 30(3):207-210.
[13] 刘萍,徐克东,孙莉萍,等.木槿花期花瓣生理生化变化的研究[J].河南师范大学(自然科学版), 2008, 36(3): 86-89.
[14] 张圣旺,郑荣生,孟丽,等.牡丹花衰老过程中的生理生化变化[J].山东农业大学学报, 2002, 33: 166-169.
[15] 史国安,杨正申.温度和化学药剂对牡丹切花乙烯释放及贮藏品质的影响[J].北方园艺, 1997(6):62-63.
[16] 陈洪国,马容明.GA₃对菊花开花和花瓣某些生理生化指标的影响[J].安徽农业科学, 2006, 34(6):1050-1051.
[17] 马丽,崔崇士,张耀伟.黑龙江南瓜疫病菌毒素的研究[J].北方园艺, 2003(4): 52-53.

(该文作者还有于娜,张少帅,单位同第一作者。)

Study of GSH and ASA on Biological and Physiological Changes of the Peony Petals

LIU Ping¹, LV Yan-na¹, ZHANG Xiao-bing², DING Yi-feng¹, FU Da-jun¹, ZANG Jing¹, YU Na¹, ZHANG Shao-shuai¹
(1. College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007; 2. Department of Biology, Taiyuan Normal University, Taiyuan, Shanxi 030031)

Abstract: By spraying the watery solution of GSH and ASA with different concentrations to the entire carries of the tree peony “SiHeLian” in the the bud stage. Then the changes of the soluble sugar, the soluble protein, superoxide smutase (SOD) activity, the superoxide anion(O₂⁻) production rate and the malondialdehyde(MDA) content was been measured in the entire flowering season. The results indicated that different concentrations GSH and ASA can enhance the SOD vigor and the soluble protein and the soluble sugar content, reduce the O₂⁻ production rate and the MDA content in the flower petal, the flowering season has the varying degree lengthening, processing effect was the best by GSH 100 mg/L+ASA 100 mg/L.

Key words: tree peony; GSH; SOD; O₂⁻; MDA; soluble protein; soluble sugar