

赤霉素对休眠微型薯多酚氧化酶的影响

黄 伟¹, 谢奎忠¹, 李建军²

(1. 甘肃农业科学院马铃薯研究所, 甘肃兰州 730070; 2. 甘谷县农牧局, 甘肃甘谷 741200)

摘要: 为了明确赤霉素对微型薯休眠及其酚类物质的影响。对赤霉素处理后 20 d 的微型薯发芽率及其酚类物质进行测定。结果表明: 赤霉素能够显著地提高微型薯的发芽率, 其中 50 mg ° L⁻¹ GA₃ 处理的微型薯发芽率最高, 达 98.1%, 显著高于对照 66.8%; 酚类物质的测定结果表明, 赤霉素浓度在 50 mg ° L⁻¹ 左右时, 多酚氧化酶活性最低, 酚类化合物的总含量相应最低, 为 325.0 μg ° g⁻¹ FW; 酚类化合物中对微型薯休眠起主要作用的为儿茶酚和咖啡酸。

关键词: 赤霉素; 发芽率; 酚类物质; 多酚氧化酶

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)03-0047-03

Effect of Gibberellin on Polyphenoloxidase Activity and Phenolic Compounds in Dormant Mini-tubers

HUANG Wei¹, XIE Kui-zhong¹, LI Jian-jun²

(1. Potato Research Institute of Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070; 2. Agricultural and Animal Husbandry Bureau of Gangu County, Gangu, Gansu 741200)

Abstract: In order to master the gibberellin influence of dormant mini-tuber and phenolic compounds, the germination rate and phenolic compounds of mini-tubers treated by gibberellin for 20 days were measured. The result showed that gibberellin treatment could significantly increase the germination rate of mini-tubers, the optimum concentration of gibberellins was 50 mg ° L⁻¹, which could result in the highest germination rate. The study of phenolic compounds showed that the total content of phenolic compounds and polyphenoloxidase activity was the lowest, when the concentrations of gibberellin was about 50 mg ° L⁻¹. Catechol and caffeic acid in the phenolic compounds played a main role in dormant mini-tubers.

Key words: gibberellins; germination rate; phenolic compounds; polyphenoloxidase

随着我国马铃薯产业的迅速发展, 脱毒微型薯在种薯中的应用越来越广泛, 微型薯用种比切块播种具有巨大的生产优势, 它克服了大薯切块用种的许多弊端, 表现为高产、抗病、抗逆等优点, 是一项重要推广的技术^[1]。目前我国南方和北方的部分地区冬播马铃薯迅速发展, 但常会遇到切块种薯腐烂, 不能正常出苗的现象^[2], 而微型薯正好可以解决这些问题, 但是微型薯最好的繁殖时间为夏秋季节, 并且微型薯的休眠期比较长, 不易在当年秋冬季节作种用。生产中也常出现不知道微型薯的休眠特性而在当年秋或冬季种植, 导致出苗晚, 造成后期由于低温不能正常成熟, 损失严重的现象。国内外对马铃薯打破休眠的生理研究主要集中在马铃薯体内各种激素变化上^[2-8], 但是对打破微型薯的休眠, 与微型薯中酚类物质变化等少有相关

报道, 因此为了完善马铃薯休眠的机理, 对赤霉素打破微型薯休眠过程及微型薯体内的酚类物质变化加以研究。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验以收获 1 个月的甘农薯 1 号微型薯为材料。

1.2 种子处理方法

对甘农薯 1 号微型薯分别用不同浓度赤霉素处理, 同时用清水作对照 (CK), GA₃ 的浓度分别为 25、50、75、100 mg ° L⁻¹。各处理在室温 25 ° C 时浸种 7~8 h。

1.3 试验步骤

有赤霉素处理收获 1 个月的甘农薯 1 号微型薯, 处理后播种于湿润的蛭石盘中, 每盘 15 粒微型薯, 3 次重复, 温度保持在 22 ° C 左右。处理 5、10、15、20 d 后记录发芽的种子数, 计算发芽率。第 20 天收集各盘中微型薯, 去其芽, 用于酚类物质的测定。

收稿日期: 2008-08-27
第一作者简介: 黄伟 (1978-), 男, 甘肃秦安人, 研究实习员, 主要从事马铃薯育种与栽培生理的研究。Tel: 0931-7614924, 13609330543; E-mail: gsnlshw@126.com.

1.4 多酚氧化酶(PPO)的活性及酚类化合物的测定

按照 Coseteng 等的方法,操作均在 0~4℃进行。所用缓冲液为 0.1 mol·L⁻¹ 枸橼酸~0.2 mol·L⁻¹ 磷酸氢二钠,用 pH S-3 C 型酸度计测定马铃薯试材的 pH,并在此 pH 下配制相应 pH 的缓冲液,测定 PPO 活性。

1.4.1 多酚氧化酶(PPO)的提取 丙酮粉制备:分别取各处理微型薯 100 g,分别加入 0.8 g 聚乙二醇(M=6 000),迅速加入 200 mL 冰丙酮(-40℃左右),用高速组织捣碎机匀浆 5 min,混合液用中速滤纸在漏斗架上过滤,残渣用冰丙酮反复冲洗,过滤,直至成为白色粉末,此粉末即为丙酮粉。放置室温干燥一夜后,称重,用滤纸包好,放入干燥器于 0℃左右冰箱中保存。

1.4.2 酶液制备 称取 1 g 丙酮粉,加入 20 mL 相应 pH 的缓冲液(0±1)℃,0℃下用磁力搅拌器匀浆 30 min,在 4 000 r·min⁻¹ 下离心 30 min,取上清液,过滤,得粗酶提取液。

1.4.3 多酚氧化酶(PPO)活性的测定 以儿茶酚为底物,2.75 mL 相应 pH 缓冲液,加入 0.15 mL 0.2 mol·L⁻¹ 儿茶酚溶液(儿茶酚最终浓度为 0.01 mol·L⁻¹,用相应 pH 的缓冲液配制)至比色杯中,加入 0.1 mL 酶液 5 s 后开始扫描 1 min 内 A_{42nm} 值的变化,酶活性以 $\Delta OD_{42nm}/min \cdot g^{-1}FW$ 表示,重复 3 次。

1.4.4 酚类化合物定性分析 用高压液相色谱法,色谱条件为:柱:μ-Bondapak Phenyl (0.4 cm×30 cm);流动相 I:35%甲醇-65% H₂O (H₃PO₄调至 pH 4.5);流速:1 mL·min⁻¹;检测器:UV 254 nm×0.1 AUFS。

作用的底物有:儿茶酸、咖啡酸、儿茶酚、没食子酸、绿原酸(浓度均为 0.01 mol·L⁻¹),阿魏酸、香豆酸(均为 0.03 mol·L⁻¹)。

吸取在(30±1)℃保温 10 min 的底物 2.9 mL(由相应 pH 缓冲液配制,最终底物浓度依其溶解度大小分别为 0.01 mol·L⁻¹和 0.03 mol·L⁻¹)于比色杯中,加入 0.1 mL 酶液 5 s 后开始扫描 1 min 内 A_{420 nm} 值的变化,酶活性以 $\Delta OD_{42nm}/min \cdot g^{-1}FW$ 表示,重复 3 次。

1.5 数据分析

实验数据采用 SPSS 软件统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的 GA₃对微型薯发芽率的影响

从表 1 可以看出,赤霉素处理后,微型薯的发芽率存在着极显著差异。与对照清水处理相比,在 5、10、15 d 清水处理的微型薯没有发芽,而 50 mg·L⁻¹ 赤霉素处理的微型薯发芽率最高,分别达到 40.1%、67.0%和 87.5%;在第 20 天清水处理微型薯开始出苗,出苗率只有 17.4%,而赤霉素处理的微型薯发芽率极显著的高于对照清水处理,其中 50 mg·L⁻¹ 赤霉素处理的微型薯发芽率最高,高于对照 80.7 个百分点。

表 1 不同浓度 GA₃处理的微型薯发芽率 %

GA ₃ 浓度/mg·L ⁻¹	5 d	10 d	15 d	20 d
0(CK)	0d	0C	0C	17.4C
25	27.8bc	46.3B	74.5AB	84.2AB
50	40.1a	67.0A	87.5A	98.1A
75	37.3ab	48.3AB	80.5AB	90.4AB
100	25.3c	37.1B	63.6B	74.7B

2.2 不同浓度的 GA₃对微型薯的多酚氧化酶活性的影响

从图 1 可以看出,赤霉素的浓度对多酚氧化酶的活性影响很明显,随着赤霉素浓度的由低到高,多酚氧化酶活性先是由高到低,之后又由低到高成抛物线状。通过图 1 的回归方程得知,当赤霉素浓度为 57.2 mg·L⁻¹ 时,多酚氧化酶活性最低,为 2.78 $\Delta OD_{42nm}/min \cdot g^{-1}FW$ 。

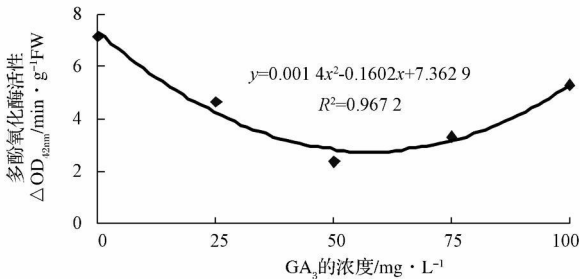


图 1 GA₃的浓度对 PPO 活性的影响

2.3 不同浓度的 GA₃对微型薯的酚类物质总量的影响

从图 2 看出,随着赤霉素浓度的由低到高,酚类物质总含量先是由高到低,之后由低到高。赤霉素浓度从 0~50 mg·L⁻¹ 时,酚类物质的总含量由高逐渐变低,到 50 mg·L⁻¹ 时最低,为 325.0 μg·g⁻¹FW;当赤霉素浓度从 50~100 mg·L⁻¹ 时,酚类物质的总含量直线上升。这说明赤霉素浓度对酚类物质总量的影响极为明显。

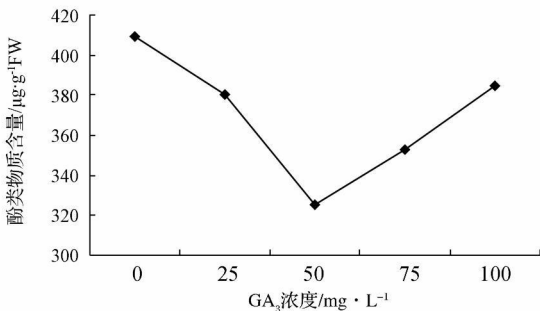


图 2 GA₃的浓度对酚类物质总量的影响

2.4 不同浓度的 GA₃对微型薯的酚类物质各含量的影响

用高压液相色谱对微型薯中的酚类物质进行分析鉴定,不同处理的微型薯中所含的主要酚类物质不同

(见图3),在微型薯中检出的酚类物质主要有咖啡酸、儿茶酚、没食子酸、绿原酸、儿茶酸、香豆酸和阿魏酸。随着处理赤霉素浓度的变化,儿茶酸和绿原酸变化不大,香豆酸和阿魏酸先略升高后又降低;变化最明显的儿茶酚和咖啡酸,随着处理赤霉素浓度的升高,儿茶酚和咖啡酸的含量先降低,之后又升高,在赤霉素浓度为 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时两者的含量最低。这说明酚类物质中儿茶酚和咖啡酸对种子休眠的影响最大。

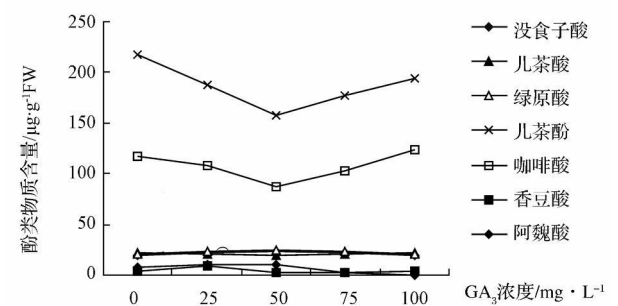


图3 GA₃的浓度对各酚类物质含量的影响

3 结论

3.1 赤霉素的浓度在 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,打破微型薯休眠的效果最好,甘农1号微型薯的发芽率达98.1%,显著高于对照。

3.2 赤霉素浓度打破微型薯休眠时对其体内多酚氧

化酶的活性有很明显影响,赤霉素浓度在 $57.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,微型薯体内多酚氧化酶的活性最低。

3.3 赤霉素浓度对酚类物质总量的影响极为明显,赤霉素浓度在 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,酚类物质总含量最低,为 $325.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ 。

3.4 对微型薯中各酚类物质含量进行鉴定分析,结果表明酚类物质中儿茶酚和咖啡酸对种子的休眠的影响最大。

参考文献:

[1] 范小峰.脱毒马铃薯微繁中几个参数值得探讨[J].陇东学院学报,2004,14(2):57-59.

[2] 郑顺林,袁继超,马均,等.外源赤霉素对小整薯休眠解除中的激素变化及物质转化的影响[J].西南农业学报,2008,21(2):323-327.

[3] 卓小能,林伯年,沈德绪.打破巨峰葡萄种子休眠及时生苗阶段发育中内源激素的研究[J].果树科学,1995,12(2):79-83.

[4] 张丽莉,陈伊里,金黎平,等.马铃薯块茎休眠及休眠调控研究进展[J].中国马铃薯,2003,17(6):352-356.

[5] Krijthe N. Observations on the spouting of seed potatoes[J]. European Journal of Potato Research, 1962, 5: 316-313.

[6] van Ittersum M K, Aben F B, Keijzer C J. Morphological changes in tuber during dormancy and initial sprout growth of seed potatoes[J]. Potato Research, 1992, 35: 249-260.

[7] 王鹏,连勇,金黎平,等.赤霉素解除马铃薯块茎休眠的调控敏感位初探[J].中国马铃薯,2002,16(2):67-69.

[8] 周志钦.马铃薯从休眠到发芽过程差异表达基因的分析[J].西南农业大学学报,2001,23(3):213-215.

(上接第37页)

从表2看出气孔导度、蒸腾速率亚有限品种大小顺序为HS93-4118>铁丰31>OhioFG1,有限品种叶片气孔导度、蒸腾速率大小顺序为沈农6号>铁丰29>铁丰27。

3 结论

从不同时期来看光合速率从上到下随着叶龄增长而增加,到第5节位达最大,向下随着叶片衰老光合速率下降,结荚期亚有限大豆品种叶位数明显大于有限品种,不同节位叶片光合速率差异变大。鼓粒期末期各品种光合速率与开花期和结荚期都比下降很多,从上到下各节位光合速率下降幅度也变缓。

不同品种在整个生育期间叶片光合速率动态变化不同,有的品种前期光合速率高,后期衰老较快,有的品种前期并不太高,而后期光合速率高;有的品种整个生育期光合速率都较高。如有限大豆品种铁丰29在各时期光合速率都相对较高,OhioFG1前期高,而后期衰老较快,HS93-4118前期并不高,而后期却表现出较

高的光合活力;有限大豆品种沈农6号开花期之前光合速率低于另两个品种,之后叶片变得浓绿,光合速率也一直表现较高。所以在选育品种不能只看某一时期的瞬时光合速率,还要看整个生育时期的光合速率动态变化^[4-5]。

气孔导度、蒸腾速率在不同时期不同品种间与光合速率表现出趋势一致性变化。

参考文献:

[1] 沈允钢.动态光合作用[M].北京:科学出版社,1998.

[2] 李明启.关于植物的光能利用效率与作物产量问题[J].光合作用研究进展,1980(2):171-178.

[3] 邹琦.植物生理学与农业生产[M]//邹琦,李德全.作物栽培生理研究.北京:中国农业出版社,1998.

[4] 张荣铄,高忠.小麦品种和品种间叶片展开后光合特性的差异及其机理[M]//邹琦,王学臣.作物高效生理研究进展.北京:科学出版社,1994:35-45.

[5] Demming-Adams B, Adams W W III, Logan B A, et al. Xanthophyll cycle-dependent energy dissipation and flexible PSII efficiency in plants acclimated to light stress[J]. Aust J Plant Physiol, 1995, 22: 261-276.