

大白菜抽薹过程叶色转变前后的生理变化

韩丹萍¹ 李春刚^{1, 2} 张耀伟^{1*}

(¹东北农业大学园艺学院, 黑龙江哈尔滨 150030; ²黑龙江省红旗农场, 黑龙江哈尔滨 150088)

摘要: 大白菜通过春化后至抽薹, 叶色由绿变灰, 这一叶色转变过程在弱冬性品系上的表现尤为突出。本试验以不同冬性的大白菜品系为材料, 从激素、色素含量变化和蛋白质组分变化等方面研究大白菜抽薹过程叶色转变前后的生理变化。结果表明: 激素、色素含量和蛋白质的变化均与叶色转变有一定关系, 叶绿素 a/b、IAA 和 GA₃ 含量均在叶色转变期出现峰值。

关键词: 大白菜; 抽薹; 叶色; 生理变化

中图分类号: S634.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-6346 (2011) 20-0034-05

Physiological Changes before and after Leaf Color Transition in the Bolting Process of Chinese Cabbage

HAN Dan-ping¹, LI Chun-gang^{1, 2}, ZHANG Yao-wei^{1*}

(¹College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China; ²Hongqi Farm of Heilongjiang Province, Harbin 150088, Heilongjiang, China)

Abstract: Chinese cabbage [*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis* (Lour.) Olsson] shows leaf color transition during the period from vernalization to bolting. After the change it will bud and then bolting, flowering. This phenomenon is particularly prominent in early-bolting species. In present study, Chinese cabbage cultivars of late-bolting and early-bolting were used to investigate the physiological changes during leaf color transition in the bolting process. The results revealed that there were some correlations between leaf color transition and the hormones, pigment content and protein composition. The content of chlorophyll (a/b), IAA and GA₃ reached their peak in bolting process, the stem initiates elongation growth after leaf color is changed. The changes of leaf color are physiological signal in Chinese cabbage bolting.

Key words: Chinese cabbage; Bolting; Leaf color; Physiological change

大白菜 [*Brassic campestris* L. ssp. *pekinensis* (Lour.) Olsson] 属于二年生蔬菜作物, 需要经历一个低温阶段才能顺利完成发育转变; 萌动的种子或幼苗感受低温通过春化后, 在一定的日照条件下即可由营养生长转到生殖生长, 进而抽薹开花。国内学者从春化温度、光周期反应、春化和抽薹生理机制、耐先期抽薹鉴定与遗传方面对大白菜春化与抽薹特性进行了广泛研究(奥岩松和李式军, 1997; 刘春香等, 2001; 余阳俊等, 2004; 赵香梅等, 2005; 夏广清等, 2006; 张鲁刚等, 2007)。

收稿日期: 2011-03-02; 接受日期: 2011-07-05

基金项目: 东北农业大学创新团队课题 (CXT002-2-2), 哈尔滨市科技创新人才研究专项 (2006RFQXN008)

作者简介: 韩丹萍, 硕士研究生, 专业方向: 蔬菜遗传育种, E-mail: hdp850923@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author): 张耀伟, 副研究员, 硕士生导师, 专业方向: 蔬菜遗传育种, E-mail: zhyw1271@yahoo.com.cn

大白菜通过春化至抽薹, 叶片颜色由绿转灰, 之后显蕾, 进而抽薹开花, 这个过程在弱冬性品种上表现尤为突出。有关作物春化到抽薹开花期间发生的叶色转变现象及其发生机制的研究尚未见报道。本试验通过探讨不同冬性的大白菜品种抽薹过程中不同时期的蛋白质、激素、色素含量的差异, 从各种激素、色素含量变化和蛋白质组分变化方面探讨大白菜抽薹过程中发生叶色转变的生理机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为东北农业大学大白菜课题组选育的 4 个不同冬性大白菜高代自交系: 弱冬性的 A151、A8-1-1 和强冬性的 C13-1、C30。

1.2 试验方法

1.2.1 春化处理 试验于 2009~2010 年春季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。4 个大白菜自交系种子播于 8 cm×8 cm 营养钵内; 子叶展平后放在光照培养箱内进行春化处理, 温度为 8 ℃/3 ℃(昼/夜, 下同)、光照 16 h/8 h; 低温春化 25 d 后, 于 5 月 20 日定植露地, 使其在适温长日照下生长。在实体解剖镜下观察其花芽分化情况, 在解剖镜下生长点可见数个透明无茎花芽突起即为花芽分化期, 当花芽突起伸长出现花茎时即为花茎分化期, 新叶颜色由绿转灰时即为叶色转变期, 肉眼可见花蕾时为花茎伸长期。

分别在低温春化处理前和处理后、花芽分化期、花茎分化期、叶色转变期、花茎伸长期取样, 取植株生长点部位新生幼嫩叶片测定叶片中色素、激素含量, 并进行可溶性蛋白电泳分析。

1.2.2 色素含量测定 色素提取采用丙酮法, 以 80%丙酮为空白, 在波长 663、645、470 nm 处测定光吸收值。3 次重复。

1.2.3 激素含量测定 取 0.5 g 鲜样, 3 次重复, 用液氮冷冻后置于-80 ℃保存。内源激素(IAA、ABA、GA₃)采用高效液相色谱法(美国 Waters HPLC 系统)(罗正荣等, 1990)测定。色谱条件: 色谱柱为 Spherisorb C₁₈, ID 4 nm×250 mm, 5 μm; 预柱为 C₁₈, ID 4 nm×30 mm, 柱温为 40 ℃, 0.8 mL·min⁻¹ 恒流洗脱; 检测波长为 207 nm。流动相为乙腈: 甲醇: 60%乙酸=5 V: 50 V: 45 V。

1.2.4 可溶性蛋白分析 可溶性蛋白提取采用尚礼邵等(1993)的方法, SDS-PAGE 采用陈钧辉等(2003)的方法。电泳后, 把胶放入脱色液微波加热 30 s, 在脱色摇床上摇 5 min 至条带很淡, 然后换染色液微波加热 30 s, 摇至条带清晰, 然后用凝胶成像系统照相。

1.2.5 数据处理方法 色素和激素含量采用 DPS 数据处理系统(唐启义, 2010)进行方差分析, 用 Duncan's 新复极差法进行显著检验。

2 结果与分析

2.1 大白菜抽薹过程中色素含量的变化

2.1.1 大白菜抽薹过程中 3 种色素含量变化分析 从图 1、2 可以看出, 强冬性品系 C13-1 和 C30 的叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量在花芽分化期均处于较低水平, 而后迅速增加, 在花茎分化期达到最高, 随后下降, 至叶色转变期达到低值, 随后升高; 弱冬性品系 A151 和 A8-1-1 的 3 种色素含量均在花茎分化期降到最低, 在花茎伸长期达到最高。即强冬性品系色素含量最高值出现的时期恰是弱冬性品系色素含量最低值出现的时期; 另外, 强冬性品系从花茎分化期开始 3 种色素含量均显著高于弱冬性品系。

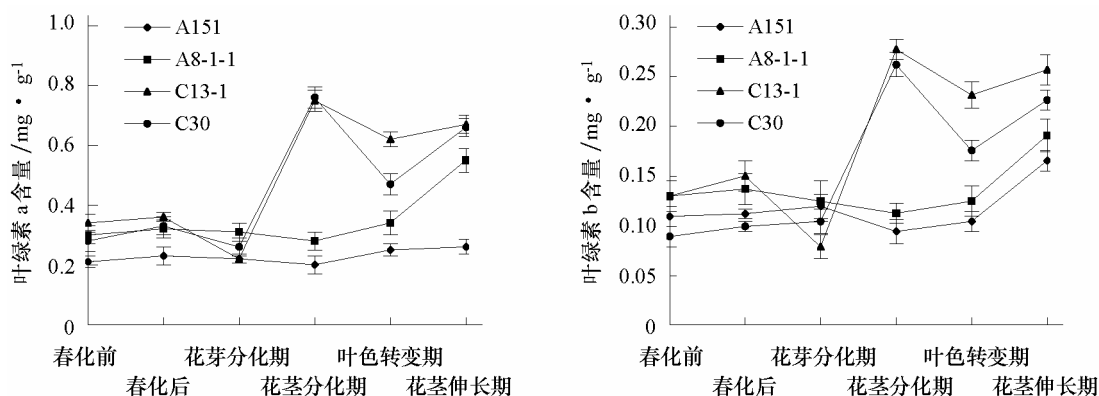


图 1 大白菜抽薹过程叶绿素 a、叶绿素 b 含量变化

2.1.2 大白菜抽薹过程中色素间比值变化分析
大白菜抽薹过程中色素之间的比值变化分析结果表明 (图 3): 供试 4 个大白菜自交系中除 A8-1-1 叶绿素 a/b 的值外, 其他均在叶色转变期最高, 而 A8-1-1 在叶色转变期叶绿素 a/b 的值也高于前期, 在花茎伸长期达到最高。而叶绿素 (a+b)/类胡萝卜素的值变化较为复杂, 总体上是春化后比值比春化前稍微增高, 花芽分化期下降, 此后比值逐渐增高, 在叶色转变期达到最高, 花茎伸长期稍微下降。

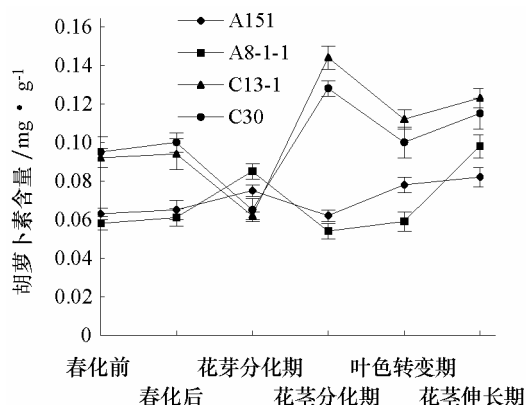


图 2 大白菜抽薹过程胡萝卜素含量变化

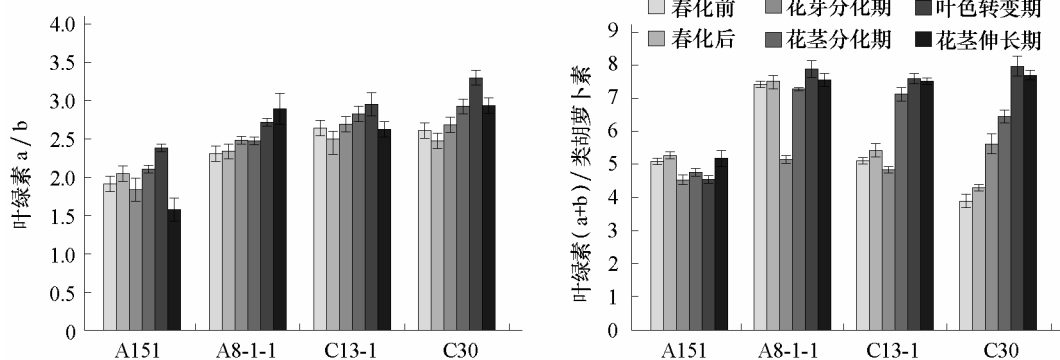


图 3 大白菜抽薹过程叶绿素 a/b、叶绿素 (a+b)/类胡萝卜素变化

2.2 大白菜抽薹过程中激素含量变化

由图 4 可以看出, 不同冬性的大白菜品系抽薹过程中 IAA 含量均出现两个峰值, 分别在花芽分化期和叶色转变期, 在叶色转变期达到最高, 而且在花芽分化期与叶色转变期随品系冬性的增强, IAA 含量逐渐降低。

不同冬性的大白菜品系 GA_3 含量变化趋势基本一致, 在花芽分化期稍有降低, 而随着显蕾期的临近 GA_3 含量逐渐上升, 在叶色转变期达到最大值, 而且此时强冬性的品系其 GA_3 含量低, 其后伴随花茎的伸长 GA_3 含量逐渐下降。

从图 5 可以看出,不同冬性的大白菜品系 ABA 含量变化趋势也基本一致,除在花茎分化期稍降低外,随着发育进程 ABA 含量越来越高,在花茎伸长期达到最大值,同期强冬性品系 ABA 含量高于弱冬性品系。

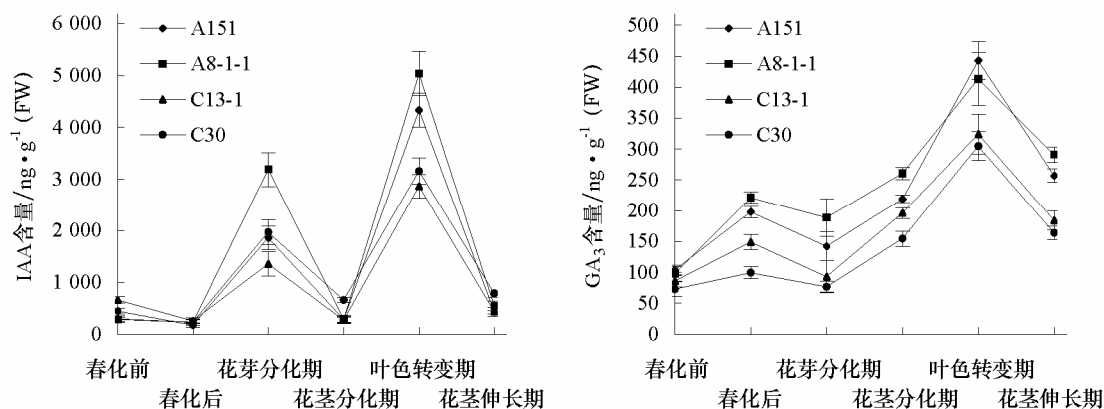


图 4 大白菜抽薹过程中 IAA、GA₃ 含量变化

2.3 大白菜抽薹过程中可溶性蛋白分析

由图 6 可以看出,不同冬性的大白菜品系抽薹过程中可溶性蛋白表达水平不同,其中分子量约为 51 kD 的蛋白质表达量最大,其在不同冬性材料的各个阶段表达,但在春化前表达微弱,在春化后表达量骤然上升,随着营养生长到生殖生长的转变其表达量又有所下降。该蛋白质在弱冬性品系中表达量要比强冬性品系稍高一些。另外分子量约为 18 kD 的蛋白质在各品系春化前不表达,春化后微弱表达,随着生长发育表达量逐渐增强,在叶色转变期表达量达到最大,随后在花茎伸长期只有微弱表达或者不表达。

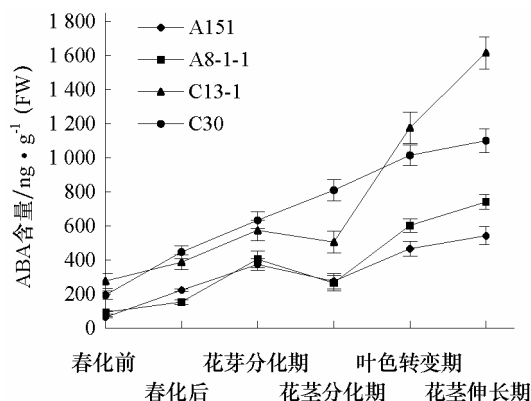


图 5 大白菜抽薹过程中 ABA 含量变化

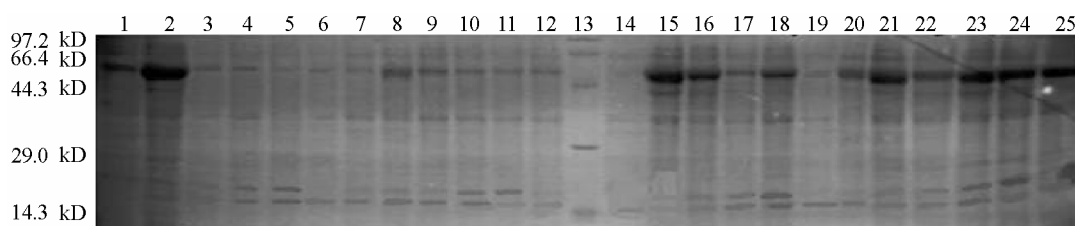


图 6 大白菜抽薹过程中可溶性蛋白分析

13 为小分子量蛋白质 marker; 条带 1~6、7~12、14~19、20~25 分别为 C13-1、C30、A151、A8-1-1 的春化前、春化后、花芽分化期、花茎分化期、叶色转变期、花茎伸长期可溶性蛋白条带。

3 结论与讨论

从本试验结果可以看出,强冬性的品系从花茎分化时期开始 3 种色素含量均显著高于弱冬性品系,强冬性品系色素含量最高值出现的时期恰是弱冬性品系色素含量最低的时期,同

时发现抽薹过程中叶绿素 a/b 的值在叶色转变期达到一峰值, 有理由推断其与叶色转变存在一定关系。

本试验还发现, 不同冬性的大白菜品系抽薹过程中 IAA 含量在花芽分化期和叶色转变期有 2 个峰值, 与王淑芬等 (2003) 研究在萝卜抽薹开花过程中, IAA 含量大约在花芽分化期和抽薹前期出现 2 个峰值的结果相似; 而且与夏广清等 (2006) 对不同生态型的大白菜抽薹时内源激素含量研究结果比较一致的是发现冬性越弱的品种 IAA 含量越高, 说明 IAA 的增加有利于大白菜花芽分化, 能够促进大白菜由营养生长向生殖生长的转变, 同时也促进抽薹。

Pharis 和 King (1985) 研究发现赤霉素在低温春化抽薹开花过程中发挥着重要的调节作用。本试验中发现大白菜抽薹过程中 GA₃ 含量在花芽分化期相对较低, 而随着显蕾期的临近含量逐渐上升, 在叶色转变期达到最大值, 而且冬性越强的品系赤霉素含量越低, 说明大白菜抽薹前夕 GA₃ 有一临界浓度, 达到这一临界浓度则促进大白菜抽薹开花。

关于 ABA 是否参与或影响花芽分化及抽薹开花的认识不一致。本试验发现 ABA 含量在大白菜抽薹过程中叶色转变后、花茎伸长期达到峰值, 并且冬性越强的品系 ABA 的含量越高, 说明较高浓度的 ABA 可能促进大白菜抽薹开花。

对应植株任何一种形态上的变化, 实际上都是由于植株体内蛋白质的变化所引起的, 大白菜发育过程中形态发生变化源于植株体内蛋白质发生变化。本试验中蛋白质电泳分析结果表明, 一种分子量约为 18 kD 的蛋白质在叶色转变期表达量最大, 可能与叶色转变、抽薹有关, 但其是否为成花特异蛋白质, 还需进一步分离纯化并对其进行结构和功能研究。

综合分析, 大白菜抽薹过程中, 叶绿素 a/b 的值、IAA 和 GA₃ 含量均在叶色转变期出现峰值, 叶色转变后开始花茎伸长, 说明叶色转变是大白菜抽薹的一个生理信号。

参考文献

- 奥岩松, 李式军. 1997. 大白菜发育过程中可溶性蛋白质的变化. 中国蔬菜, (2): 19-21.
- 陈钧辉, 陶力, 李俊, 朱婉华, 袁玉荪. 2003. 生物化学实验. 北京: 科学出版社: 110-114.
- 刘春香, 韩玉珠, 栗长兰, 张汉卿. 2001. 大白菜的春化特性及未熟抽薹研究进展. 吉林农业大学学报, 23 (3): 61-64.
- 罗正荣, 朱丽华, 吴谋成. 1990. 植物组织中赤霉素含量的高效液相色谱测定. 植物生理学通讯, (2): 50-52.
- 尚礼邵, 乔新芝, 石晓东. 1993. 豆科植物可溶性叶蛋白的测定和提取. 生物学通报, (11): 45.
- 唐启义. 2010. DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社: 85-87.
- 王淑芬, 徐文玲, 何启伟, 刘继宝, 张传坤. 2003. 春化深度对萝卜抽薹的影响及抽薹过程 GA₃ 和 IAA 含量的变化. 山东农业科学, (6): 23-27.
- 夏广清, 何启伟, 王翠花. 2006. 赤霉素处理对大白菜开花的诱导效应. 中国蔬菜, (5): 19-20.
- 余阳俊, 张凤兰, 赵岫云, 张德双, 张振贤. 2004. 大白菜晚抽薹性快速评价方法. 中国蔬菜, (6): 16-18.
- 张鲁刚, 孔小平, 惠麦侠, 张明科. 2007. 大白菜新品种‘冠春’的春化特性及其遗传表现. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 35 (2): 93-96.
- 赵香梅, 孙守如, 张晓伟, 原玉香. 2005. 大白菜春化与抽薹特性的研究进展. 中国蔬菜, (1): 33-35.
- Pharis R P, King R W. 1985. Gibberellins and reproductive development in seed plants. Annual Review of Plant Physiology, 36: 517-568.