

徐丽萍, 刘建兵, 喻方圆. 东京野茉莉授粉前后花瓣的生理生化变化[J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(3): 464–475.



东京野茉莉授粉前后花瓣的 生理生化变化

徐丽萍^{1,2}, 刘建兵³, 喻方圆^{2*}

(1. 南通理工学院 生物系, 江苏 南通 226001; 2. 南京林业大学 林学院/南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037; 3. 湖南省林产品质量检验检测中心, 湖南 长沙 410007)

摘要: 为探索东京野茉莉(*Styrax tonkinensis*)花瓣授粉前后的生理生化变化规律, 以东京野茉莉4个不同发育阶段的花瓣为研究对象, 测定其营养物质、内源激素、色素和抗性生理物质, 并分析了这些物质的变化特征。结果表明: 在开花前后, 花瓣内可溶性糖、蛋白质、一些大量元素以及ABA、IAA含量总体上呈现先升后降的趋势。而GA₃含量在开花以及衰老阶段增加, ZR含量先降后升。MDA及相对导电率、Pro虽各自上升幅度不同但都在增加, SOD和POD活性在开花后期都开始下降, 但是下降的趋势却不一样。pH在各时期都呈酸性, 开花当天最高。叶绿素总量变化趋势先下降再略升高, 花色素、类胡萝卜素、黄酮含量恰相反。通过HPLC分析, 在花朵各期色素成分含有芦丁、原花青素。因此, 授粉前, 花瓣细胞内有利于花期延长的成分含量总体上是增加的; 授粉后, 却是促进衰老的成分含量增加。

关键词: 东京野茉莉; 授粉; 营养物质; 色素

中图分类号: S685.16 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2019)03-0464-12

Physiological and Biochemical Changes in Petals before and after Pollination in *Styrax tonkinensis*

XU Li-ping^{1,2}, LIU Jian-bing³, YU Fang-yuan^{2*}

(1. Department of Biology, Nantong Institute of Technology, Nantong, Jiangsu 226001, China; 2. College of Forestry, Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037, China; 3. Hunan Quality Inspection and Testing Center for Forestry Products, Changsha 410007, China)

Abstract: To explore the physiological and biochemical changing rules of *Styrax tonkinensis* petals before and after pollination, the contents of nutrients, endogenous hormones, pigments, some elements and the activities of some enzymes in its petals during 4 different developmental stages were determined. The results

收稿日期: 2018-05-23 修回日期: 2019-03-14

基金项目: 江苏省高等教育优势学科建设项目(PAPD)、江苏省农业三新工程(SZX2014S0020)和南通理工学院首批中青年科研骨干培养项目(ZQNGG110)

Project supported by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD), Three-New Agricultural Engineering in Jiangsu Province (SZX2014S0020) and the First Batch of Young and Middle-aged Scientific Research Backbone Training Project of Nantong Institute of Technology (ZQNGG110)

作者简介: 徐丽萍(1970—), 女, 副教授, 博士, 主要从事生物教学和植物生理及资源开发与利用的研究, orcid.org/0000-0003-4626-6659, xuliping70@126.com; *通信作者: 喻方圆, 教授, orcid.org/0000-0002-4253-7127, fyyu@njfu.com.cn。

showed that: before and after blossom, soluble sugar, protein, some macro-elements and ABA, IAA contents increased in general. And the GA_3 contents rose in blossom and aging stages, ZR decreased first and then increased. MDA and relative conductivity and Pro contents increased although their amplitudes of increase were different; SOD and POD activity began to decline in the late blossom, but the downward trends were not the same. pH in each period was acidic, and the highest in blossom. The total chlorophyll contents decreased first and then increased slightly, while anthocyanin, carotenoid and flavonoid contents were on the contrary. There were rutin and procyanidins in petals in each period according to analysis of HPLC. Therefore, before pollination, the component content in favor of prolonging florescence in the petal cells increased in general; while after pollination, the aging components increased.

Keywords: *S. tonkinensis*; pollination; nutrient substance; pigment

植物花蕾形成、开花传粉等过程需要大量的各种养分,此时营养不良,可能出现发育不良,如花粉细小、花柱细长不均,不能正常授粉,导致落花(果)。另外,这个过程也需要酶类、激素的调节。张宪省等^[1]认为花瓣的衰老、子房的发育、花粉萌发和花粉管的伸长受乙烯调节,授粉后子房的发育需要生长素。

东京野茉莉(*Styrax tonkinensis*),安息香科安息香属,是很好的绿化、美化、香化及油用的树种。花是东京野茉莉的重要观赏部位,花色白、清香、花量大。近年来对东京野茉莉花的研究主要集中在花芽发育^[2]、雌雄蕊的显微观察^[3]、繁育器官和传粉生物学^[4]、花香和花色成分^[5-6]等方面,关于授粉前后花器官的生理变化的研究未见报道。

本文主要探究东京野茉莉花器官在授粉前后的生理生化变化,以期为东京野茉莉的花期控制、结实率的提高提供一些理论基础,为东京野茉莉花器官的开发利用提供一些理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试验材料采自南京市六合区马集河王坝水库边种植的东京野茉莉。采集图1中(体视显微镜拍摄,放大倍数都为0.7×)所示4个阶段不同时期的花:花蕾期、开花前期、开花当天(盛花期)、开花第3天(末花期),共取4次样品。下面各种指标的测定都是以花瓣作为测试材料。



(1)花蕾期;(2)开花前期;(3)盛花期;(4)末花期

(1)bud period (BP); (2)early flowering period (EFP); (3)flowering period (FP); (4)terminal flowering period (TFP)

图1 东京野茉莉的花期

Fig.1 Florescence of *S.tonkinensis*

1.2 方法

1.2.1 营养物质含量的测定 可溶性糖、淀粉的测定方法参照蒽酮法比色测定^[7],在 Du800 Beckman 紫外分光光度计 630 nm 下比色测定吸光值。

蛋白质的测定方法参照考马氏亮兰 G250 比色法^[7],在 Du800 Beckman 紫外分光光度计波长为 595 nm 测定吸光值。

1.2.2 营养元素含量的测定 总碳含量测定:方法采用重铬酸钾氧化-外加热法^[8]。

N、P、K、Mg、Ca矿质元素的测定:样品制备:称取0.1~0.5 g烘干的样品于试管中先加9 mL浓硫酸,再加1 mL高氯酸,摇晃,然后在高温消煮,直至溶液澄清,过滤定容100 mL。当进行K、Mg、Ca元素的含量测定时,吸取上述提取液1 mL,水稀释10倍,在原子火焰吸收分光光度计Unican 969 AA Spectrometer上测定。当进行N、P元素的含量测定时,采用酸消解总凯氮、磷测定。吸取上述提取液1 mL,4%稀硫酸稀释2倍,在AutoAnalyzer 3 High Resolution Digital Colorimeter上测定。其中:C/N=有机碳含量/氮含量。

1.2.3 内源激素含量的测定 参考He^[9]采用酶联免疫吸附法(ELISA),在中国农业大学测定并计算内源激素含量。

1.2.4 pH测定 方法参考Nakamura et al^[10],分别摘取4个阶段的新鲜花瓣,准确称取0.1 g,3次重复。将称取的花瓣装入RNase离心管中,用液氮迅速冷冻,然后用研磨杵快速捣碎成粉末状,然后迅速转入0.22 μm 孔径离心管中,在4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下用低温高速冷冻离心机(型号:5810-R, Eppendorf)进行12 000 r/min离心5 min,得到细胞液后采用便携式pH酸度计(型号:PB-21 sartorius)测定pH。

1.2.5 叶绿素含量的测定 称取新鲜花瓣0.1 g,参考李合生^[7]方法,制备待测液在649和665 nm下测定吸光度,体积分数为95%乙醇为空白对照。按公式计算叶绿素含量a和b的浓度(mg/L)及叶绿素总浓度。

1.2.6 丙二醛含量(MDA)、脯氨酸(Pro)含量和相对电导率测定 方法参考李合生^[7],分别根据硫代巴比妥酸TBA的三氯乙酸溶液与丙二醛的显色反应测定东京野茉莉花瓣中MDA的含量和磺基水杨酸法定Pro含量;用上海康仪仪器有限公司生产的DDS-307电导仪测定电导。

1.2.7 保护酶活性的测定 称取东京野茉莉的花瓣0.4 g于预冷的研钵中,加8 mL预冷的50 mmol/L磷酸缓冲液pH 7.0(含1%聚乙烯吡咯烷酮)研磨并冲洗转移到离心管中,在30 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心15 min,上清液即为酶粗提取液。参照高俊凤^[11]方法测定超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶活性(POD)活性。

1.2.8 花青素、类胡萝卜素、黄酮含量的比色测定 (1)花色素含量测定。方法参考刘萍^[12]、刘桂玲^[13]以及Nakamura^[10]有改动,取0.1 g新鲜东京野茉莉花瓣,加1 mol/L HCl溶液10 mL研磨,转移到具塞三角瓶中,静置2~3 h,离心,吸取上清液,再在原管中加入10 mL HCl,离心,最后定容25 mL,在525 nm下比色,测定吸光值OD。花青素含量= $1/958 \times V/100 \times 1/W \times OD_{525} \times 100\ 000$,式中V为体积,W为样品质量, OD_{525} 样品吸光度值。

(2)类胡萝卜素含量测定。参考颜少宾^[14]的方法,取0.1 g新鲜东京野茉莉花瓣制备待测液。先在200~700 nm波长范围内扫描,发现在325 nm吸收值大,所以在此处测定吸光值,整个过程要求避光,最后计算含量。 β -胡萝卜素标准品(分析纯)溶于丙酮:乙醇(V:V),之后分别稀释成1、2、4、8、16 $\mu\text{g/mL}$ 。

(3)黄酮含量测定。称取0.1 g新鲜东京野茉莉花瓣,参考张锐^[15]、徐丽萍等^[16]的亚硝酸钠-硝酸铝法,制成待测液。放置15 min后,先在200~700 nm波长范围内扫描,结果表明在325 nm处有最大吸收峰。故选定在325 nm显色测定其吸光值并计算黄酮含量(mg/g)。

1.2.9 色素HPLC分析 称取0.310 g冷冻花瓣,参考刘芳^[17]的方法,制得测定液,然后保存于-20 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中备用。运用waters液相色谱仪、紫外线检测器,在波长为330 nm下检测原花青素。原花青素标样购买的厂家为如吉生物科技。

黄酮和黄酮醇测定时,流速为0.7 $\mu\text{L/min}$,洗脱梯度:0 min,60% B,40% A;10 min,90% B,10% A。检测波长为330 nm。黄酮采用的是芦丁为标样(如吉生物科技),黄酮醇采用的是3-羟基黄酮为标样(如吉生物科技)。色素的相对含量计算采用归一法进行。

2 结果与分析

2.1 授粉前后营养成分变化

东京野茉莉不同阶段花瓣的可溶性糖和淀粉含量变化见图2。不同阶段花瓣的可溶性糖含量总体上呈现先升后降的趋势。淀粉含量总体上是下降趋势,但变化幅度不大。各期的可溶性糖含量大于淀粉含量,差距近10 mg/g。

由图2可知,在花蕾初期,植物提供给花蕾发育的营养物质比较充足,东京野茉莉花瓣内蛋白质合成速度大于分解速度,蛋白质逐渐积累,到开花前期达到最大值,随着花朵盛开完成授粉,花朵开始衰老,蛋白质含量随之下降。蛋白质的含量比可溶性糖含量低得多,含量最高时期在开花前期,在2.5 mg/g左右,在末花期蛋白质含量降到最低,为0.5 mg/g左右,与含量最高时期相比减少了近5倍。

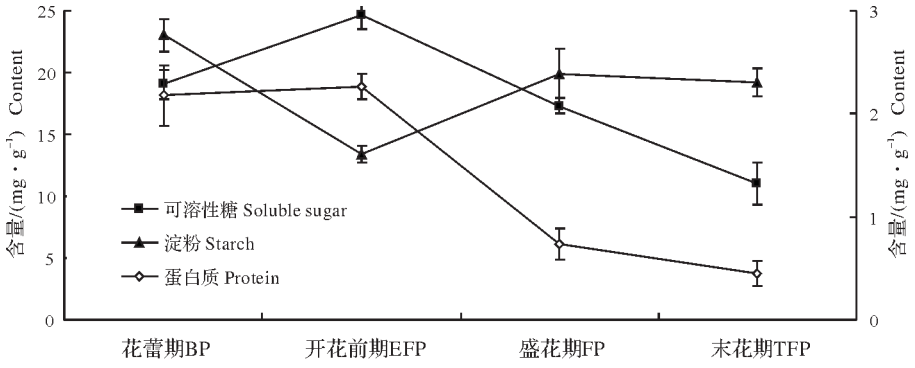


图2 不同发育阶段的东京野茉莉花瓣内营养成分的变化

Fig.2 Changes of nutrition in petals during *S. tonkinensis* flower development

2.2 授粉前后主要营养元素含量的变化

有机碳元素含量在开花之前逐渐增加,从46.62%增加到53.69%,开花传粉之后随之下降,含量为45.96%,这可能是开花之前花正处于发育生长阶段,细胞内积累大量的有机物,开花之后,花瓣开始萎蔫,一些有机物分解,而碳元素是构成有机物的基本骨架,所以花瓣内有机物含量的波动就影响到碳元素。

从图3可以看出,东京野茉莉的花中Ca、Mg含量变化幅度不大,分别保持在0.33%和0.17%左右,含量都达到了mg/g级,一定程度上说明东京野茉莉对逆境有一定的适应性,还说明东京野茉莉花经过加工可作为食品中一个好的钙源。P可以在植物体内也可以反复利用,可以从衰老的器官转移到生命力旺盛的器官中。图3显示了P含量从花蕾初期到开花前期是增加的,开花后,P含量降低,从峰值0.18%减少到0.10%。从图中还可以看出,Ca、Mg、P含量远小于碳元素、K和N元素的含量,K和N元素的含量在开花和衰老的过程中也是逐渐减少的。总之,以上这些元素含量在东京野茉莉的花瓣从形成、成熟至衰老的过程中变化幅度不是太大,总体上都是降低的趋势。

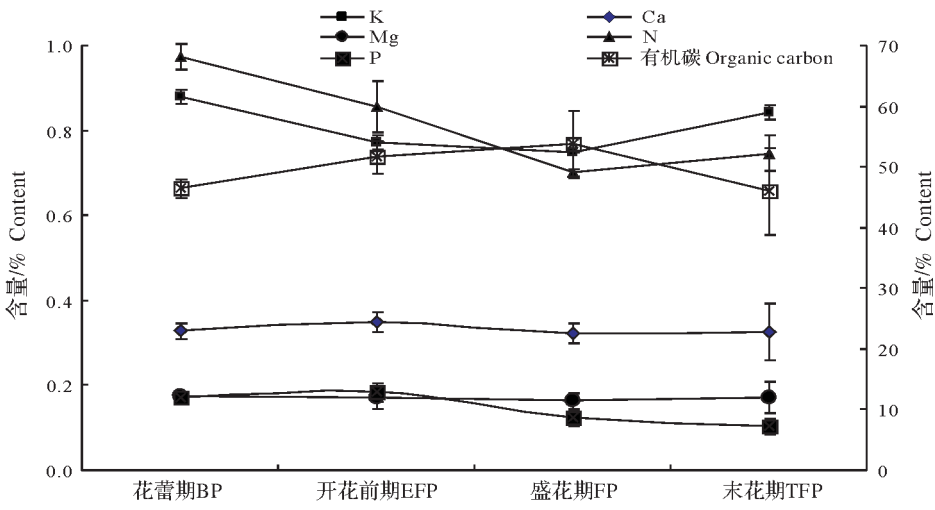


图3 不同发育阶段的东京野茉莉花瓣内大量元素含量的变化

Fig.3 Changes of macro-elements contents in petals during *S. tonkinensis* flower development

2.3 授粉前后pH的变化

花瓣细胞是薄壁细胞,内部有大液泡,液泡里的pH影响物质的分布,也影响花色素的呈色。从图4中可看出,东京野茉莉花瓣的pH在各时期都呈酸性,花蕾期至开花时pH上升,在开花当天pH最高,开花后开始下降。

2.4 授粉前后叶绿素含量的变化

由图5可知,叶绿素a含量呈一个平缓下降的趋势,变化幅度不大,而叶绿素b的含量在各阶段都比叶绿素a要高些,且变化幅度大,表现出先下降再略升高,然后再减少,因此叶绿素总量变化趋势也与叶绿素b类似。在花蕾初期叶绿素含量较高,所以花瓣的颜色有点白中带绿,而到开花前期,叶绿素b及其总含量急剧下降,另外,叶绿素不稳定,在酸性条件下,容易失去镁元素,成为去镁叶绿素,所以后期的花瓣呈现白色。

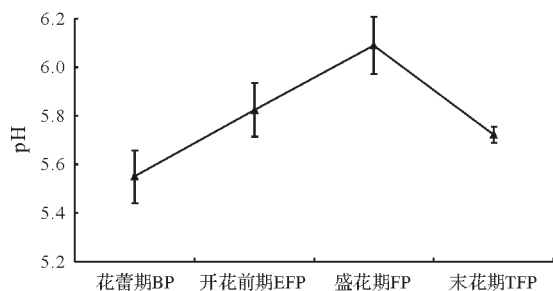


图4 不同发育阶段的东京野茉莉花瓣pH

Fig.4 pH of petals during *S. tonkinensis* flower development

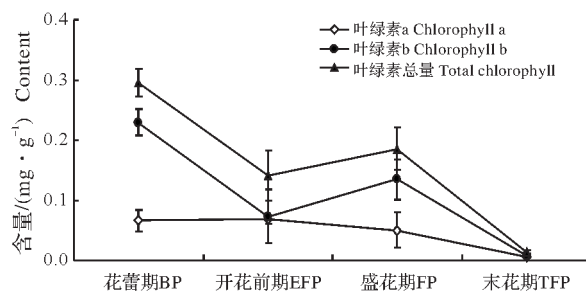


图5 不同阶段的东京野茉莉花瓣叶绿素含量的变化

Fig.5 Changes of chlorophyll content in different stage of *S. tonkinensis* petals

2.5 授粉前后丙二醛、脯氨酸含量和细胞相对透性的变化

MDA为细胞膜脂氧化指标,它既是过氧化产物,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,MDA含量的不断上升是花朵迅速衰老的标志之一。从图中可看出东京野茉莉的花朵中MDA含量在发育及开花授粉期间呈上升趋势(图6)。在花蕾初期细胞相对透性较小(图7),从开花前期到盛花期以及末花期相对电导率迅速上升,表明细胞膜受到严重伤害,电解质外渗。这可能是MDA在细胞中积累,毒害细胞,损伤细胞膜,使得细胞膜相对透性迅速升高,说明东京野茉莉开花与衰老的过程是细胞膜脂过氧化加剧的过程。Pro是植物蛋白质的组分之一,并可以游离状态存在,Pro含量在一定程度上反映了植物的抗逆性(图6)。在东京野茉莉的开花前后,花瓣里的Pro含量也发生了剧烈的变化。在盛花期前Pro含量一直处于低迷的状态,在5 μg/g左右,而一旦发生了传粉后,在花后3 d,其含量急剧上升,含量为26.23 μg/g,增加了5倍多。

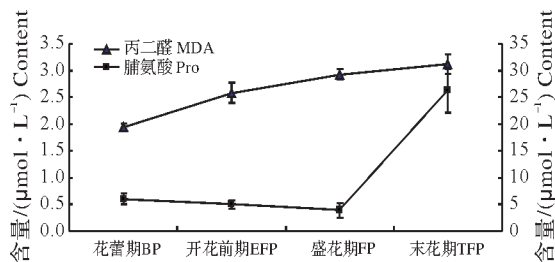


图6 不同阶段的东京野茉莉花瓣MDA和Pro含量的变化

Fig.6 Changes of MDA and Pro contents in different stage of *S. tonkinensis* petals

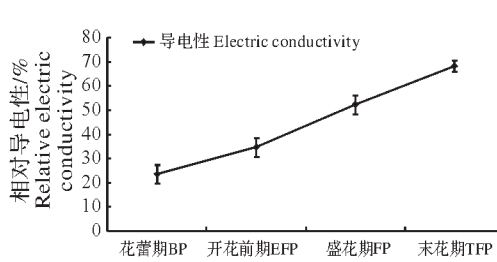


图7 不同发育阶段东京野茉莉花瓣相对电导率的变化

Fig.7 Changes of relative electric conductivity of petals during *S. tonkinensis* petal development

2.6 授粉前后SOD和POD活性变化

SOD可以通过清除超氧阴离子自由基来缓解膜脂过氧化,保护膜结构不被破坏;POD活性可以反映植物体内某一阶段的代谢变化,因为POD参与植物体内的呼吸作用、光合作用、生长素的氧化等活动。由图8可知,在东京野茉莉的开花与衰老过程中,SOD和POD活性在花蕾初期都保持较高,随着花的发育进程,这2种酶的活性都开始下降,但是下降的趋势却不一样。SOD活性在开花前期下降后,盛花期略微增加,基本上2个阶段保持平衡,传粉后,花瓣内SOD活性急剧减少,与开花前期相比,减少了70.4%。POD活性由开花前期的急剧减少到盛花期大幅增加,然后末花期又略降低,与开花前期相比,减少了86.5%。

2.7 授粉前后内源激素含量的变化

图 9 为东京野茉莉开花和衰老过程中,各种内源激素含量及其比值的动态变化。花瓣发育初期 ABA 含量处于较高水平,随着花瓣的伸长生长加快,ABA 呈现下降趋势;IAA 含量在盛花期前是逐渐增加的,而盛花期后却减少;GA₃ 含量在开花以及衰老阶段都是在增加的,ZR 含量从花蕾初期到盛花期逐渐减少,盛花期后却明显增加。

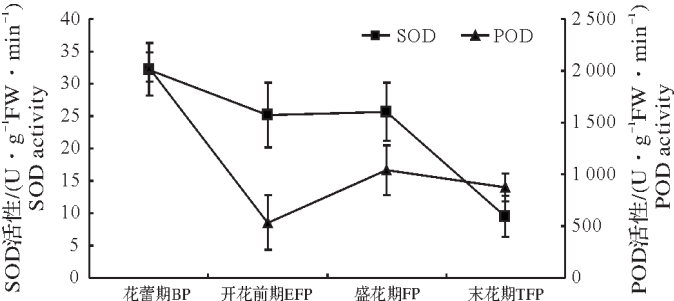


图 8 不同阶段的东京野茉莉花瓣SOD和POD活性的变化
Fig.8 Changes of SOD and POD activities in different stage of *S. tonkinensis* flowers

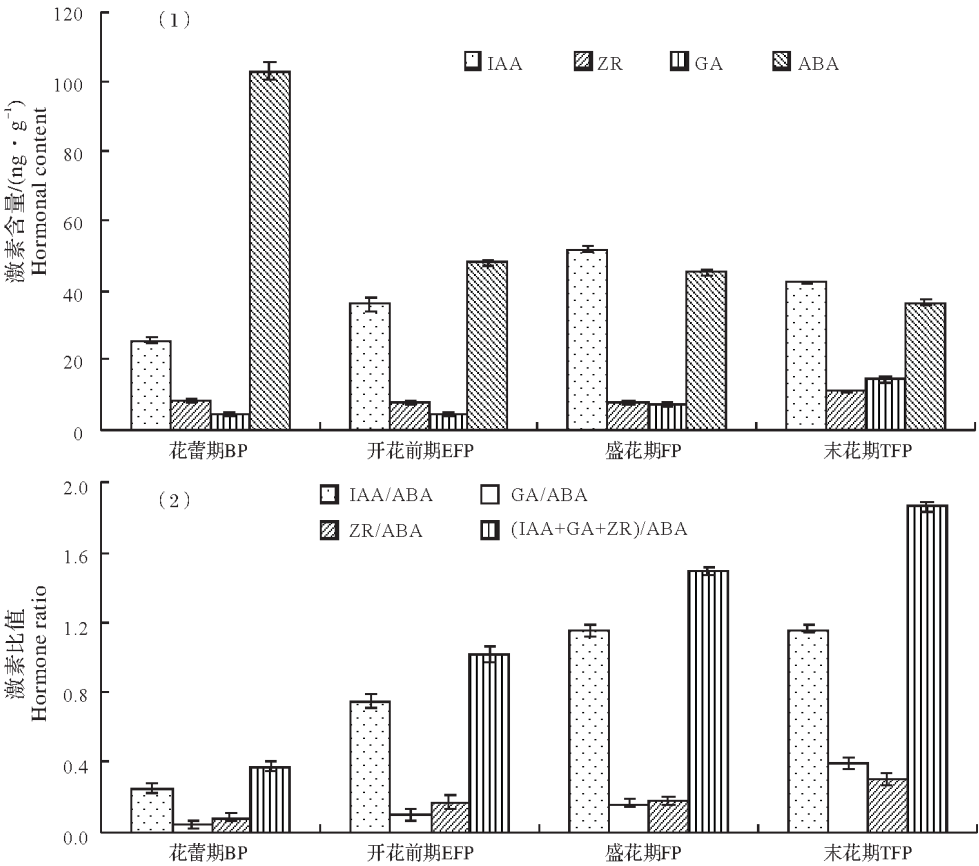


图 9 不同阶段的东京野茉莉花瓣内源激素含量及其比值的变化
Fig.9 Changes of hormonal content and ratio of petals from *S. tonkinensis* flower development

东京野茉莉花的发育过程是各种内源激素之间相互作用的结果,比较花瓣内源激素 IAA/ABA、GA₃/ABA、ZR/ABA 和 (IAA+GA₃+ZR)/ABA 的比值变化后发现(图 9),东京野茉莉的开花至衰老过程中出现生长促进物质与生长抑制物质的比值都是增高,说明内源激素平衡对花瓣的发育起着重要的调节作用。在东京野茉莉的花器官发育过程中,(IAA+GA₃+ZR)/ABA 平衡变化的幅度显著大于 IAA/ABA,其次是 ZR/ABA,GA₃/ABA 增加的幅度最小。这可能是东京野茉莉花朵开放的速度较快,持续时间 3~4 d,衰老速度较慢的重要生理原因。

2.8 授粉前后花青素、类胡萝卜素和黄酮含量的变化

东京野茉莉花瓣虽是乳白色,但经过本实验的光谱扫描和理化检测,花瓣里也含有其他的色素。图 10 反应了花瓣在不同时期东京野茉莉花瓣内的花色素、类胡萝卜素以及黄酮含量的变化趋势。由图 10 可知,花色素在盛花期前是稳步上升的,到了末花期时又急剧下降,从峰值 3.32 单位/g 降为 1.04 单位/g。类胡

萝卜素含量是花蕾期最高,达到 5.69 mg/g。但是随着开花的进程发展,类胡萝卜素含量一直降低,在末花期降到 1.58 mg/g。黄酮含量从花蕾初期到开花前期缓慢增加,然后从盛花期到末花期时又下降,开花前期最大值是 18.16 mg/g,末花期最低值是 6.65 mg/g,下降了 63.38%。

2.9 授粉前后色素的组成变化

东京野茉莉花瓣色素成分复杂,本实验探索性的选择了黄酮类色素,如芦丁、3-羟基黄酮,以及花青素的前体原花青素进行了在 330 nm 下 HPLC 分析,图 11 是标样

和东京野茉莉花瓣色素的 HPLC 总离子流图。从图中可以看出,东京野茉莉花瓣在 4 个时期的色素种类成分复杂,在花蕾初期有 15 个峰,在开花前期有 14 个峰,盛花期 11 个峰,末花期有 12 个峰,说明随着开花的进程,花瓣内的色素种类总体上在减少。根据 3 个标样的测试结果推测,在花蕾初期花瓣色素成分含有芦丁、原花青素,含量分别为 0.9%、2.3%,3-羟基黄酮含量为 0.4%(根据出峰时间相差在 ± 0.2 min 之内);开花前期的花瓣色素成分含有芦丁 0.6%、原花青素 1.1%;因为 3-羟基黄酮或原花青素、芦丁保留时间在 2.694~2.597 区间非常接近,盛花期花瓣内的色素可能是这三者中的一种,含量为 0.6%;末花期的花瓣色素成分含有芦丁 6.8%、原花青素 1.9%;由此看来,这 3 种成分在花瓣的发育衰老过程中其含量除了芦丁在末花期比花蕾初期增加外,其余总体上都是减少的。

3 讨论与结论

3.1 授粉前后营养成分和激素含量变化

植物花芽孕育到开花都是一个耗能过程。植物体内的糖类能为各种有机物代谢提供碳架,是有机物代谢的中心,其中可溶性糖是植物代谢活动的物质基础,其含量的高低也与花的品质特性之间有着密切的关系^[18]。

不同阶段东京野茉莉花朵的可溶性糖含量总体上呈现先升后降的趋势;淀粉含量总体上是下降趋势,但变化幅度不大;各期的可溶性糖含量大于淀粉含量^[19]。可溶性糖是鲜花维持生命活动的主要能源物质,在末期可溶性糖含量降低会导致鲜花的抵抗力下降,加速鲜花的衰老进程。东京野茉莉花瓣内蛋白质到开花前期达到最大值,随着花朵盛开完成授粉,花朵开始衰老,蛋白质含量随之下降。花朵衰老过程中的主要代谢变化是细胞组成物质的水解,其中蛋白质水解造成蛋白质含量下降与衰老关系最为密切^[19]。曾有学者分析花瓣衰老过程中可溶性蛋白质含量下降^[20-21]及电泳过程中一些蛋白质条带逐渐减弱甚至消失,一些新的条带出现^[22]。由此看来,东京野茉莉开花进程中消耗了可溶性糖和蛋白质,所以若对东京野茉莉花进行离体培养作为切花观赏的话,可以在培养液中适当添加可溶性糖和蛋白质。

一些元素含量在东京野茉莉的花瓣中从形成、成熟至衰老的过程中变化幅度不是太大,总体上都是降低的趋势。这些元素参与构成花瓣内各种物质,开花之前花正处于发育生长阶段,元素含量相对有所增加,开花后花瓣衰老,可以利用的元素转移,含量下降。Ca 可以作为植物生长发育的第二信使以及参与植物适应环境胁迫^[23-24],另外,Ca 是人体骨质的主要成分,而且能增强毛细血管壁致密度,降低其通透性,减少渗出,具抗炎、消肿、抗组织胺作用^[25]。钾元素、镁元素能减少心血管疾病,是降血脂和血压的有效成分。若从营养的角度来看,东京野茉莉的开花前期花瓣可以提供 K、Ca、Mg 和 P 元素,至于微量元素含量有待进一步的探讨。

以上这些营养成分和大量元素在植物体内转移的原因之一是内源激素在起着动员作用。东京野茉莉花在发育初期 ABA 含量处于较高水平,随着花瓣的伸长生长加快,ABA 呈现下降趋势;IAA 含量是在盛花期前是逐渐增加的,而盛花期后却减少;GA₃ 含量在开花以及衰老阶段都是在增加的,ZR 含量从花

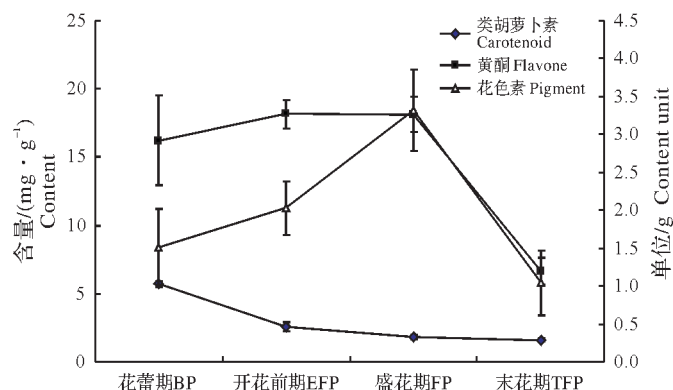
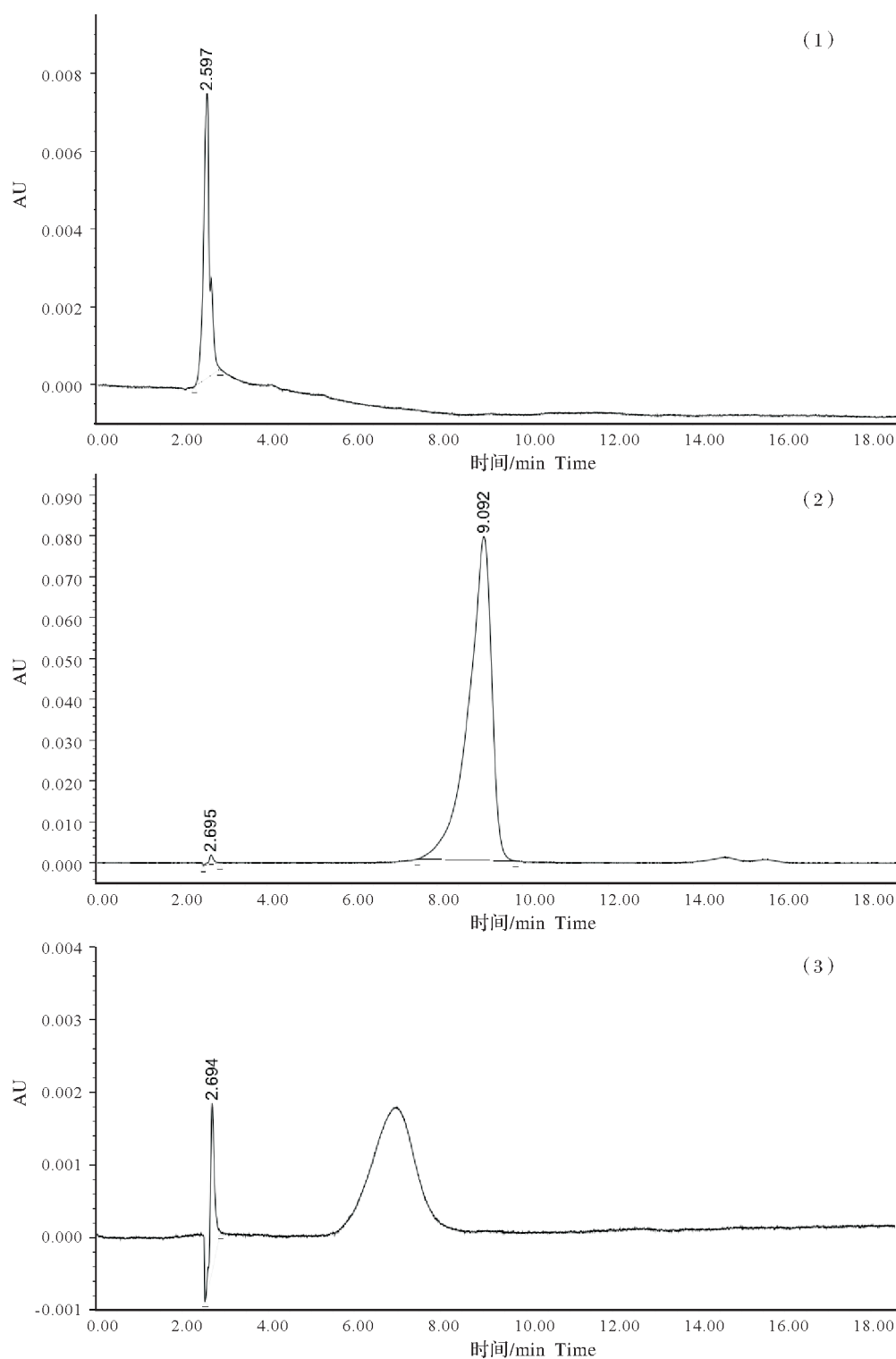
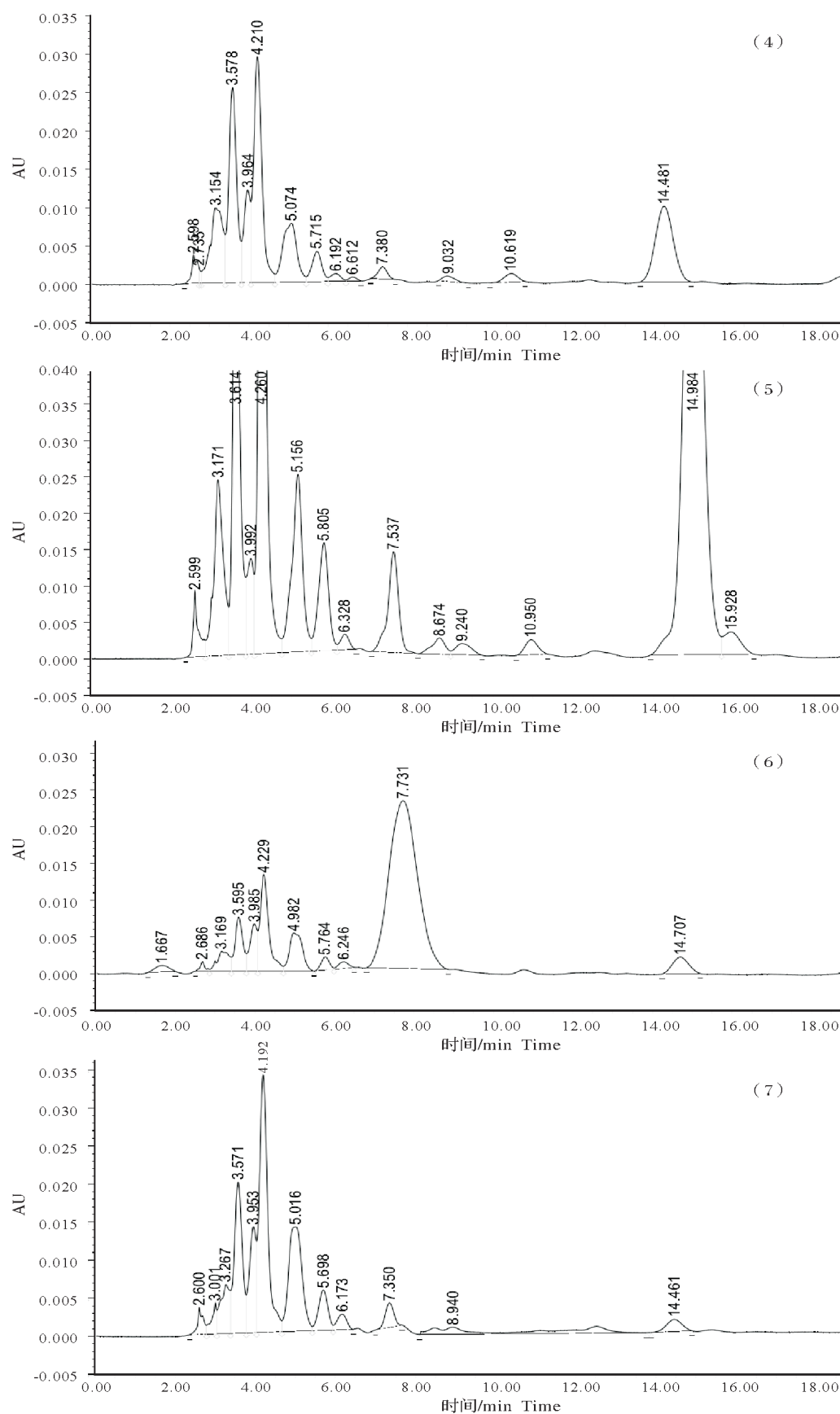


图 10 不同阶段东京野茉莉花瓣色素含量的变化

Fig.10 Changes of pigments contents of petals from *S. tonkinensis* flower development

蕾初期到盛花期之间是逐渐减少,盛花期后却显著增加。李德全等^[26]认为 IAA 在授粉时可能促进花粉粒在柱头上的萌发和花粉管在花柱中的伸长生长。因此王忠等^[27]也认为授粉受精过程中生长素含量显著增加。在东京野茉莉的花器官发育过程中,不仅仅是某种激素的绝对含量起作用,激素之间也是相互作用的。内源激素(IAA+GA₃+ZR)/ABA 比值的变化可以作为控制代谢的重要生理信号^[28]。(IAA+GA₃+ZR)/ABA 平衡变化的幅度显著大于 IAA/ABA,说明 IAA+GA₃+ZR)/ABA 比值的变化可以作为控制东京野茉莉的开花至衰老过程的重要生理信号,进一步说明内源激素平衡对东京野茉莉花瓣的发育起着重要的调节作用。





(1)原花青素标样,(2)芦丁标样,(3)3-OH黄酮标样,(4-7)样品1-4

(1)Standard sample of procyanidin;(2)Standard sample of rutin;(3)Standard sample of flavone 3-OH;(4-7)Sample 1-4

图11 东京野茉莉花瓣色素的HPLC总离子流图

Fig.11 Total ionic chromatogram of petal pigment of *S. tonkinensis*

3.2 授粉前后花瓣抗性物质和相关酶活性的变化

本实验中,东京野茉莉开花与衰老的过程中,MDA及相对导电率虽各自上升幅度不同但都在增加,MDA含量在发育及开花授粉期间呈缓慢上升趋势。当然,与桂花相比^[18],东京野茉莉的花朵中MDA含量不算高,膜脂氧化程度相对较低,表现出花期相对较长,单朵花可以盛开3~4 d才萎蔫。相对导电率从开花前期到盛花期以及末花期相对电导率迅速上升。这可能是MDA在细胞中积累,毒害细胞,损伤细胞膜,电解质外渗,使得细胞膜相对透性迅速升高,花冠萎蔫衰老。

Pro含量在一定程度上反映了植物的抗逆性。东京野茉莉花瓣里的Pro含量总体上增加了。有资料表明^[29],为了适应不良环境及抵抗衰老,植物体内Pro这类渗透调节物质会增加,以延长生育期。SOD和POD都是植物体内清除活性氧成员之一^[30],本研究中这些酶活性在末期降低,说明抗衰老能力减弱。Attri^[31]认为花受精后,一些酶的活性增强,导致糖类、蛋白质等大分子分解。

这说明植物一方面在生命活动中不可避免的积聚了MDA等促进衰老的物质,另一方面,又产生了Pro和SOD、POD等抗衰老的物质,进一步说明这些物质之间相互拮抗,表现出东京野茉莉单花可以盛开3~4 d才萎蔫,群体的盛花期维持2周左右。

3.3 授粉前后花瓣色素的变化

东京野茉莉花瓣在刚露出花萼时为绿色,随着花苞的长大,逐渐转变为乳白色,但经过本实验的光谱扫描和理化检测,其花瓣里有一些色素。有些色素表现出来还受细胞内pH的影响。东京野茉莉的花瓣pH在各时期都呈酸性,花蕾期至开花时pH上升,在开花当天pH最高,开花后开始下降。Mazza^[32]认为pH<2时,花色苷主要以C-3-O sugar(红色)或C-3-H(黄色)形式存在。本实验中pH在5.5~6.2,看来花瓣便没有显出红色,一方面受花瓣色素种类及含量的影响,另一方面还有糖类结构形式等因素的影响。

花色素、类胡萝卜素种类繁多。东京野茉莉花瓣内的花色素在盛花期前是稳步上升的,到了末花期时又急剧下降。类胡萝卜素含量是花蕾期最高,但是随着开花的进程发展,类胡萝卜素含量一直降低。植物体中花色素苷的积累受光、温度、激素、糖等多种因子的影响^[33]。黄酮含量从花蕾初期到开花前期缓慢增加,然后从盛花期到末花期时又下降,类似于Nakamura^[10]研究的*Petunia hybrida*。Attri^[31]认为花青素、类胡萝卜素参与代谢,受精后可加速生理生化变化诱导花瓣衰老。通过HPLC分析,东京野茉莉花瓣在不同发育阶段出现的峰数不一样,从15个减少为12个,说明东京野茉莉花瓣在4个时期的色素种类成分复杂,且会随着开花的进程,花瓣内的色素种类总体上在减少。

以上这些研究说明花色不仅源自不同的色素,而其它因素如糖含量、细胞的pH值、激素等均影响花色的形成^[34]。从上述成分的变化可看出东京野茉莉花部含有较多的营养成分,因此,有人提出将其花晒干入药,或用来做清火茶饮用,可清咽利喉,主治喉痛、牙痛^[35]。

总之,在东京野茉莉开花进程中,可溶性糖、可溶性蛋白、花色苷、类黄酮含量在盛花期达到高峰^[36],营养物质、抗逆物质、抗氧化酶的含量越高,过氧化物的累积量越少则能延缓花瓣的衰老,维持更长的花期持续时间^[37],这说明可以通过加强水肥管理和适当外施激素等措施,从而增加东京野茉莉花瓣内营养物质含量和调节激素平衡,来实现农业生产中延长花期、增加观赏性的目的,并且提高花茶的营养价值。

参考文献:

- [1] 张宪省,李全梓,郑成超.生长素与乙烯对兰花授粉后花发育的调节作用[J].植物生理学报,1999,25(2):178-186.
Zhang X S, Li Q Z, Zheng C C. Hormonal regulation of postpollination development of *Doritaenopsis* flowers by auxin and ethylene[J]. *Acta Phytophysiological Sinica*, 1999, 25(2): 178-186.
- [2] 徐丽萍,喻方圆.东京野茉莉花芽发育过程中的生理特性[J].江苏农业科学,2018,46(5):120-123.
Xu L P, Yu F Y. Physiological changes during flower bud development of *Styrax tonkinensis*[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018, 46(5): 120-123.
- [3] 徐丽萍,喻方圆.东京野茉莉雌雄蕊的形态及显微结构[J].南京林业大学学报(自然科学版),2017,41(2):34-40.
Xu L P, Yu F Y. Micro-observation on pistils and stamens in *Styrax tonkinensis*[J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition)*, 2017, 41(2): 34-40.

- [4] 徐丽萍,张子晗,喻方圆.东京野茉莉繁育系统和传粉生物学研究[J].江西农业大学学报,2017,39(2):253-260.
Xu L P, Zhang Z H, Yu F Y. Study on breeding system and pollination biology in *Styrax tonkinensis* [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2017, 39(2): 253-260.
- [5] Xu L P, Yu F Y. Corolla structure and fragrance components in *Styrax tonkinensis* [J]. Trees-structure and function, 2015 (29): 1127-1134.
- [6] 徐丽萍,喻方圆.东京野茉莉花色成分的初步研究[J].江西农业大学学报,2016,38(5):935-939.
Xu L P, Yu F Y. Preliminary study on color component of *Styrax tonkinensis* flower [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2016, 38(5): 935-939.
- [7] 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,2000:169-172.
Li H S. Experimental principle and technology of plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 169-172.
- [8] 中华人民共和国林业部科技司.森林土壤有机质的测定及碳氮比的计算[M].北京:中国林业出版社,1987:163-165.
The People's Republic of China Ministry of Forestry Science and Technology. Determination of organic matter in forest soil and calculation of carbon and nitrogen ratio [M]. Beijing: China Forestry Publishing Press, 1987: 163-165.
- [9] He Z. A laboratory guide to chemical control technology on field crop [M]. Beijing: Beijing Agricultural University Press, 1993: 60-68.
- [10] Nakamura K, Matsubara K, Watanabe H, et al. Identification of *Petunia hybrida* cultivars that diurnally emit floral fragrances [J]. Scientia Horticulturae, 2006, 108: 61-65.
- [11] 高俊凤.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2006:211-214.
Gao J F. Plant physiology experiment [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 211-214.
- [12] 刘萍,李明军.植物生理学实验技术[M].北京:科学出版社,2007:182.
Liu P, Li M J. Plant physiology experiment technology [M]. Beijing: Science Press, 2007: 182.
- [13] 刘桂玲,李海霞,郭宾会,等.不同提取方法对甘薯花青素含量测定的影响[J].中国农学通报,2007,23(4):91-94.
Liu G L, Li H X, Guo B H, et al. Effects of different extraction methods on anthocyanin content in sweet potato [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23(4): 91-94.
- [14] 颜少宾,张好艳,马瑞娟,等.杏果肉中类胡萝卜素的提取方法研究[J].江西农业学报,2011,23(9):159-161.
Yan S B, Zhang S Y, Ma R J, et al. Study on extraction method of carotenoid from Apricot fruit [J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2011, 23(9): 159-161.
- [15] 张锐.不同产地丁香中总黄酮和挥发性物质的比较研究[D].武汉:湖北中医药大学,2014.
Zhang R. Analysis of total flavonoids and volatile substances of *Eugenia caryophyllata* Thunb. from different origins [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2014.
- [16] 徐丽萍,喻方圆,陈浩,等.超声波提取杜仲皮总黄酮工艺[J].林业科技开发,2010,24(4):82-84.
Xu L P, Yu F Y, Chen H, et al. A study on extraction of flavonoids from *Eucommia ulmoides* barks [J]. China Forestry Science and Technology, 2010, 24(4): 82-84.
- [17] 刘芳.大丽花花朵形态及花色的遗传变异研究[D].泰安:山东农业大学,2011.
Liu F. Research on genetic variation of flowers form and color in *Dahlia pinnata* [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2011.
- [18] 杨秀莲.桂花生殖生物学及淹水胁迫生理的研究[D].南京:南京林业大学,2009.
Yang X L. Studies on reproductive biology and physiology of waterlogging stress of sweet Osmanthus [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2009.
- [19] Leshem Y Y, Halevy A H, Frenkel C. 植物衰老过程和调控[M].沈阳:辽宁科学技术出版社,1990:50-150.
Leshem Y Y, Halevy A H, Frenkel C. Process and regulation of plant senescence [M]. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1990: 50-150.
- [20] 陈洪国.桂花开花进程中花瓣色素、可溶性糖和蛋白质含量的变化[J].武汉植物学研究,2006,24(3):231-234.
Chen H G. Changes of pigment, soluble sugar and protein content of petal during florescence and senescence of *Osmanthus fragrans* Lour [J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 2006, 24(3): 231-234.
- [21] 朱诚,曾广文.桂花花衰老过程中的某些生理生化变化[J].园艺学报,2007,27(5):356-360.
Zhu C, Zeng G W. Physiological and biochemical changes in flower senescence of *Osmanthus fragrans* Lour [J]. Acta Horti-

- culturae Sinica, 2007, 27(5): 356-360.
- [22] Eason J R. Development and senescence of *Sandersonia aurantiaca* (Hok.) flowers [J]. Scientia Horticulturae, 1995, 63: 113-121.
- [23] 耶兴元. Ca^{2+} 与植物抗逆性研究概况[J]. 信阳农业高等专科学校学报, 2008, 1(1): 124-126.
Ye X Y. Advances in the research of Ca^{2+} on hardness resistance of plants under stress [J]. Journal of Xinyang Agricultural College, 2008, 1(1): 124-126.
- [24] Knight H. Calcium signaling during abiotic stress in plants [J]. International Review of Cytology, 2000, 195: 269-324.
- [25] 赵云涛, 李琨, 黄燕, 等. 海螵蛸入药部分和废弃部分8种无机元素分析[J]. 微量元素与健康研究, 2003, 4(2): 26.
Zhao Y T, Li K, Huang Y, et al. Analysis of 8 inorganic elements in medicinal parts and abandoned parts of cuttlebone [J]. Studies of Trace Elements and Health, 2003, 4(2): 26.
- [26] 李德全. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 129-148.
Li D Q. Plant physiology [M]. Beijing: China Agricultural Scientific Press, 1999: 129-148.
- [27] 王忠. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 264-430.
Wang Z. Plant physiology [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2004: 264-430.
- [28] 史国安. 牡丹开花与衰老的生理生化机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
Shi G A. Studies on physiological and biochemical mechanisms of blooming senescence in tree peony [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010.
- [29] 李永华, 闫双喜, 尚玉萍, 等. 不同品种菊花花瓣衰老生理机制的比较研究[J]. 河南农业大学学报, 2009, 43(4): 385-388.
Li Y H, Yan S X, Shang Y P, et al. Comparative studies on physiological mechanism of senescence petals in different chrysanthemum varieties during flowering [J]. Journal of Henan Agricultural University, 2009, 43(4): 385-388.
- [30] 李映乐, 孔维鹤, 尚忠海, 等. 水淹胁迫对青竹复叶槭叶片部分生理指标的影响[J]. 河南农业大学学报, 2008, 42(1): 32-34.
Li Y L, Kong W H, Shang Z H, et al. Effect of waterlogging stress on some physiological traits of *Acer negundo* L. 'Qingzhu' blades [J]. Journal of Henan Agricultural University, 2008, 42(1): 32-34.
- [31] Attri L K, Nayyar H, Bhanwra R K, et al. Post-pollination biochemical changes in the floral organs of *Rhynchostylis retusa* (L.) Bl. and *Aerides multiflora* Roxb. (Orchidaceae) [J]. Journal of Plant Biology, 2007, 50(5): 548-556.
- [32] Mazza G, Brouillard R. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions [J]. Phytochemistry, 1990, 19: 1097-1102.
- [33] Weiss D, van Blokland R, Kooter J, et al. Gibberellic acid regulates chalcone synthase gene transcription in the corolla of *Petunia hybrida* [J]. Plant Physiology, 1992, 98(1): 191-197.
- [34] 安田齐. 花色的生理生物化学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1989: 15-100.
An T Q. Physiological biochemistry of colors [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1989: 15-100.
- [35] 吴征镒. 新华本草纲要[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990: 1112-1113.
Wu Z Y. Xinhua materia medica outline [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1990: 1112-1113.
- [36] 程怡, 张云婷, 王清明, 等. 月季花发育过程中花色变化的生理生化研究[J]. 西北植物学报, 2014, 34(4): 733-739.
Chen Y, Zhang Y T, Wang Q C, et al. Correlation analysis of flower color during flower development of *Rosa hybrida* [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2014, 34(4): 733-739.
- [37] 吴桂容, 王上伟, 苏德生, 等. 3个牡丹品种花期进程中花瓣的生理生化特征[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(1): 85-87.
Wu G R, Wang S W, Su D S, et al. Physiological and biochemical characteristics of petals of three *Paeonia suffruticosa* varieties during flowering process [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2018, 46(1): 85-87.