

# GA<sub>3</sub> 解除川贝母种子休眠过程中酯酶和过氧化物酶同工酶的变化

金兰 (青海师范大学生命与地理科学学院, 青海西宁 810008)

**摘要** [目的] 研究不同浓度的 GA<sub>3</sub> 对解除川贝母种子休眠过程中酯酶同工酶和过氧化物酶同工酶变化的影响。[方法] 用浓度 0 (CK)、20、40、60、80 mg/L 的 GA<sub>3</sub> 处理川贝母种子, 对不同浓度 GA<sub>3</sub> 下的酯酶同工酶和过氧化物酶同工酶进行电泳分析。[结果] 浓度 40 和 60 mg/L GA<sub>3</sub> 处理时, 川贝母种子酯酶同工酶在图谱上增加 2 条 R<sub>f</sub> 分别为 0.389 3 和 0.937 的新谱带; 而其过氧化物酶同工酶在图谱上分别增加 2 条 R<sub>f</sub> 为 0.833 和 0.937 的新谱带, 且在浓度 60 mg/L GA<sub>3</sub> 处理时, 图谱中又增加 1 条 R<sub>f</sub> 为 0.771 的新谱带。[结论] 浓度 40 mg/L 和 60 mg/L GA<sub>3</sub> 对川贝母种子休眠的解除有一定的作用。

**关键词** 川贝母; 种子; 休眠; 赤霉素; 酯酶同工酶; 过氧化物酶同工酶

**中图分类号** S561.23\*1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)22-10492-02

## Changes of Esterase and Peroxidase Isozyme in the Process of GA<sub>3</sub> Relieves to *Fritillaria cirrhosa* Seeds Dormancy

JIN Lan (College of Biology and Geography Science, Qinghai Normal University, Xining, Qinghai 810008)

**Abstract** [Objective] To investigate the effects of esterase and peroxidase isozyme in the process of GA<sub>3</sub> relieves to *Fritillaria cirrhosa* seeds dormancy. [Method] *Fritillaria cirrhosa* D. Don seeds which were treated by GA<sub>3</sub> of 0 mg/L, 20 mg/L, 40 mg/L, 60 mg/L, 80 mg/L made electrophoresis of esterase and peroxidase isozyme with different GA<sub>3</sub> concentrations. [Result] With the GA<sub>3</sub> treatment of 40 mg/L and 60 mg/L, esterase isozyme of *Fritillaria cirrhosa* D. Don seeds increased 2 new bands which R<sub>f</sub> were 0.389 3 and 0.937 respectively on the map; while through peroxidase isozyme increased 2 new bands which R<sub>f</sub> were 0.833 and 0.937 respectively on the map, and with the treatment of 60 mg/L GA<sub>3</sub>, 1 new bands which R<sub>f</sub> were 0.771 was increased on the map. [Conclusion] GA<sub>3</sub> of 60 mg/L and 40 mg/L had a certain action on relieving the *Fritillaria cirrhosa* D. Don seeds dormancy.

**Key words** *Fritillaria cirrhosa* D. Don; Seed; Dormancy; GA<sub>3</sub>; Esterase isozyme; Peroxidase isozyme

川贝母(*Fritillaria cirrhosa* D. Don)为百合科(Liliaceae)贝母属(*Fritillaria* L.)多种植物的干燥鳞茎,是常用名贵中药材,味苦、甘,性微寒,具有清热润肺、化痰止咳的功效,川贝母主要分布在海拔 3 200~4 200 m 的川西高原的灌丛、草甸地带,主产于我国四川、青海、西藏、陕西、湖北和甘肃等地。川贝母商品主要来源于野生植物资源,长期的过量采挖,使曾经盛产优质川贝母区域中的川贝母成片绝迹,这不仅直接影响到相关中成药制剂的产量和质量,甚至对其种源构成了威胁,保护川贝母资源,对这一濒危中药材品种进行规模化生产和推广已是刻不容缓的重要工作。笔者对川贝母种子的萌发机理进行了初步研究,以期为提高川贝母人工有性繁殖的繁殖率提供一定的依据。

## 1 材料与方

**1.1 材料** 川贝母种子采自海拔 4 300 m 的青海省果洛州藏族自治州的野生品种,为当年采收的种子。

## 1.2 方法

**1.2.1 种子的预处理。**种子去杂后,20℃条件下用蒸馏水浸种 24 h,待用。

**1.2.2 不同浓度 GA<sub>3</sub> 对种子的处理。**将经过预处理的种子放在含有已消毒的滤纸培养皿中,在培养皿中分别倒入 20、40、60、80 mg/L GA<sub>3</sub> 并全部淹没浸泡,开始计时,32 h 后取出,晾干水汽后,统一进行电泳分析,同时以蒸馏水处理作对照。

**1.2.3 过氧化物酶同工酶的测定。**将不同 GA<sub>3</sub> 处理的种子取样后进行过氧化物酶同工酶的电泳测定。过氧化物酶同工酶的电泳参考袁晓华等<sup>[1]</sup>的方法进行。分离胶浓度 10%,浓缩胶浓度 4%。点样量为 50 μl。稳流电泳,电流强度为

20~40 mA。染色采用联苯胺-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 法。

样品的提取:精确称取材料 1 g,加入浓度 0.1 mol/L pH 值 8.5 的 Tris-HCl 缓冲液 4 ml,再加入少许石英砂后于冰浴条件下充分研磨,4 层纱布过滤,滤液于 0~4℃,8 000 r/min 离心 15 min,取上清液与浓度 10% 甘油 1:1 混合,加入少许溴酚蓝后点样。

**1.2.4 酯酶同工酶的测定。**将不同 GA<sub>3</sub> 处理的种子取样后进行酯酶同工酶的测定。酯酶同工酶的电泳参照袁晓华等<sup>[1]</sup>的方法进行。采用聚丙烯酰胺垂直板凝胶电泳。分离胶浓度 10%,浓缩胶浓度 4%。稳流电泳,电流强度 20~40 mA。整个电泳过程需要 3.5 h。染色液含浓度 7% 醋酸-α-萘酯的丙酮溶液 0.5 ml,坚牢蓝-RR 盐 12.5 mg,浓度 0.2 mol/L 的 Tris-HCl 缓冲液 1 ml, pH 值 7.1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3.4 ml。

样品的提取方法同“1.2.3”

## 2 结果与分析

**2.1 不同浓度的 GA<sub>3</sub> 对酯酶同工酶的影响** 由图 1 可知,休眠状态时,川贝母种子的酯酶同工酶共由 6 条谱带组成。浓度 20、80 mg/L 处理谱带条数没有变化;浓度 40、60 mg/L 处理后,在图谱上增加 2 条 R<sub>f</sub> 分别为 0.893 和 0.937 的新谱带。

**2.2 不同浓度的 GA<sub>3</sub> 对过氧化物酶同工酶的影响** 由图 2 可知,休眠状态的川贝母种子,过氧化物酶同工酶的图谱共由 5 条带组成。在不同浓度 GA<sub>3</sub> 处理时,20 mg/L 处理谱带条数没有变化;40、80 mg/L 处理在图谱上增加 2 条 R<sub>f</sub> 分别为 0.833 和 0.937 的新谱带;60 mg/L 处理后,在图谱中又增加 1 条 R<sub>f</sub> 为 0.771 的新谱带。

## 3 结论与讨论

关于 GA<sub>3</sub> 溶液浸种能促进种子内部生理生化变化,部分解除种子休眠的报道有很多<sup>[2-3]</sup>。其机理也有不同的解释,Khan 认为,ABA 是普遍存在于种皮、胚或胚乳内的抑制物质,而 GA<sub>3</sub> 与 CTK 是与之相对的萌发促进物质,GA<sub>3</sub> 对种子

**基金项目** 青海省重点科技攻关项目(2007-J-Q47)。

**作者简介** 金兰(1965-),女,青海湟中人,硕士,副教授,从事植物及中藏药生理研究。

**收稿日期** 2009-04-20

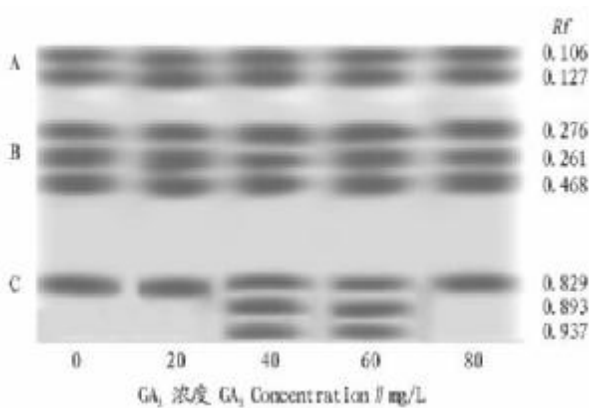


图 1 川贝母种子在不同浓度 GA<sub>3</sub> 解除休眠过程中酯酶同工酶的电泳图谱

Fig. 1 Electrophoretogram of esterase isozyme of different GA<sub>3</sub> concentrations relieving to *Fritillaria cirrhosa* seeds dormancy

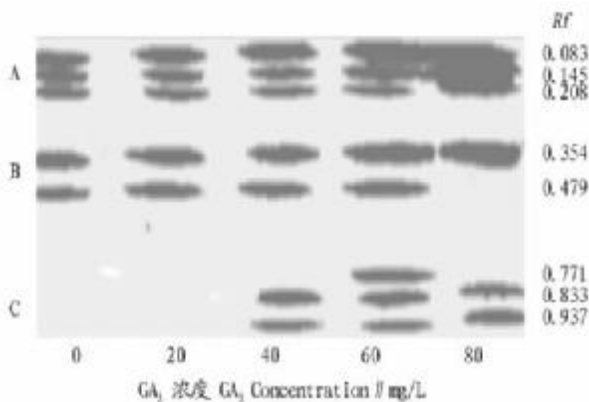


图 2 川贝母种子在不同浓度 GA<sub>3</sub> 解除休眠过程中过氧化物酶同工酶的电泳图谱

Fig. 2 Electrophoretogram of peroxidase isozyme of different GA<sub>3</sub> concentrations relieving to *Fritillaria cirrhosa* seeds dormancy

的萌发是必需的,不管有无抑制剂存在,它的缺乏将导致休眠<sup>[4]</sup>。

①有研究表明,酯酶在植物体内广泛存在,它可能参与酯代谢,与内膜系统的发育有关,也参与若干酶类的修饰、激活或钝化<sup>[5]</sup>。高文远等对浙贝母种子休眠研究指出,酯酶同工酶的变化或新酶带的增加,说明 mRNA 的翻译有所增加,进而导致种子内在生理代谢的活跃<sup>[6]</sup>。该研究中,川贝母种子在浓度 40、60 mg/L GA<sub>3</sub> 处理后,在图谱上增加 2 条 Rf 分别为 0.893 和 0.937 的新谱带,说明川贝母种子在 40、60 mg/L 浓度的 GA<sub>3</sub> 处理后,体内 mRNA 的代谢可能与浙贝母代谢具有相似的特性,从而使细胞内在代谢体系活跃,这种活跃的最终结果便是种子休眠的解除。

②有研究显示,过氧化物酶同工酶分布在植物体的各个器官,与植物的生长发育及生理状态有密切关系,它是植物生长发育的生化标志之一<sup>[7]</sup>。该研究通过对川贝母的过氧化物酶同工酶谱带的分析,发现浓度 40、60、80 mg/L GA<sub>3</sub> 处理时,在图谱上增加 2 条 Rf 分别为 0.833 和 0.937 的新谱带;浓度 60 mg/L GA<sub>3</sub> 处理后,在图谱中又增加 1 条 Rf 为 0.771 的新谱带。新谱带的出现显示生长发育可能与生理状态有密切关系,它是植物生长发育的生化标志,进一步导致了各部位生理代谢的变化,当这种变化积累到一定水平时,使种子解除休眠。

#### 参考文献

- [1] 袁晓华,杨中汉. 植物生理生化实验[M]. 北京:高等教育出版社,1985: 138.
- [2] 刘永庆,罗泽民. 赤霉素和脱落酸对番茄种子发芽的生理调控[J]. 园艺学报,1995,22(3):267-271.
- [3] 徐凯,孙启祥,肖圣元. 板栗种子休眠与萌发的研究[J]. 中国农学通报,1998,14(1):24-28.
- [4] KHAN A A. 种子休眠与萌发的生理生化[M]. 王沙生,译. 北京:农业出版社,1985.
- [5] SANDERS T H, PATTE H E. Peanut alkaline lipase[J]. Lipids, 1975,10(1):50-54.
- [6] 高文远,李志亮,肖培根. 浙贝母种子低温解除休眠过程中酯酶同工酶的电泳分析[J]. 中国中药杂志,1997,22(6):333-334.
- [7] SCANDALIOS J G. Isozyme in development and differentiation[J]. Ann Rev Plant Physiol, 1974,25:225-258.

(上接第 10450 页)

#### 参考文献

- [1] 杨学明,张晓平,方华军,等. 北美保护性耕作及对中国的意义[J]. 应用生态学报,2004,15(2):335-340.
- [2] 吴崇友,金诚谦,魏佩敏,等. 保护性耕作的本质与发展前景[J]. 中国农机化,2003(6):8-11.
- [3] DERPSCH R. Frontiers of conservation tillage and advances in conservation practice[C]//West Lafayette Institute. Paper presented at the 10th ISCO conference. USA: West Lafayette Institute, 1999:24-28.
- [4] 高焕文. 旱地机械化保护性耕作技术教材[M]. 北京:中国农业大学,2001.
- [5] 高焕文,李洪文,陈君达. 可持续机械化旱作农业研究[J]. 干旱地区农业研究,1999,17(1):57-62.
- [6] 周兴祥,高焕文,刘俊峰. 华北平原一年两熟保护性耕作体系试验研究[J]. 农业工程学报,2001,17(6):81-84.
- [7] 王晓燕,高焕文,李洪文,等. 保护性耕作对农田地表径流与土壤水蚀影响的试验研究[J]. 农业工程学报,2000,16(3):66-69.
- [8] 刘恒新. 抓住机遇 努力工作 推动保护性耕作迈上新台阶——刘恒新

副司长在 2006 年保护性耕作项目工作上的讲话(摘要)[J]. 农机科技推广,2006(5):4-6.

- [9] 王法宏,冯波,王旭清. 国内外免耕技术应用概况[J]. 山东农业科学,2003(6):49-53.
- [10] 陈永成,梅卫江,胡斌. 新疆绿洲灌溉区机械化保护性耕作技术的研究[J]. 石河子大学学报:自然科学版,2004,22(5):435-438.
- [11] DRURY C F, TAN C F, WELACKY T W, et al. Red clover and tillage influence on soil temperature, water content, and corn emergence [J]. Agronomy Journal, 1999, 91(1):101-108.
- [12] 严洁,邓良基,黄剑. 保护性耕作对土壤理化性质和作物产量的影响[J]. 中国农机化,2005(2):31-34.
- [13] 余泳昌,鲁传涛,冯春丽,等. 豫东平原实施保护性耕作的研究与实践[J]. 河南农业科学,2005(7):61-64.
- [14] 黄丽芬,庄恒扬. 长期少免耕对稻麦产量与土壤肥力的影响[J]. 扬州大学学报,1999,2(1):48-52.
- [15] 刘世平,庄恒扬,陆建飞,等. 免耕法对土壤结构影响的研究[J]. 土壤学报,1998,25(1):59-65.