

高温胁迫下耐热性不同番茄多胺水平变化的差异

杜永臣 毛胜利 王孝宣 朱德蔚 李树德 戴善书 高振华

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 研究了高温条件下番茄 4 个耐热和 2 个不耐热品种体内腐胺、精胺和亚精胺水平变化的差异。结果表明, 在苗期和开花期, 不耐热品种叶片和花器官中精胺和亚精胺含量在昼/夜温度 33/25℃ 下显著高于对照 (25/20℃), 38/28℃ 下显著低于对照; 耐热品种都随温度升高而升高, 38/28℃ 时最高。在 25/20℃、33/25℃ 下, 不耐热品种的精胺和亚精胺含量与耐热品种相当或者高于耐热品种, 在 38/28℃ 高温下耐热品种显著高于不耐热品种。所有参试番茄品种在不同温度处理中腐胺含量的变化没有明显的规律性。

关键词: 番茄; 耐热性; 多胺

中图分类号: S 641.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 03-0281-06

番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 是喜温作物, 对高温的适应性不强, 但品种之间对高温的适应性存在差异。国外已经育成了一些耐热性较强的品种^[1~3], 并对这些耐热品种的遗传特性、生理基础进行研究。早期的一些研究表明, 番茄花粉中的脯胺酸含量与高温下花粉的萌发能力呈正相关^[4,5]。高温能诱导番茄体内 ABA 含量的增加, 并已证明这种增加是 ABA 合成代谢活性增加的结果^[6]。Dinar 等利用离体花蕾培养和同位素示踪技术, 证明耐热品种的花器官在高温条件下比不耐热品种具有较强的“库”活性^[7,8]。

最近, 越来越多的研究表明, 多胺与植物对不良环境的抗性有关^[9~11]。多胺广泛存在于植物中, 其中研究较多的有腐胺、亚精胺和精胺。在植物细胞质的 pH 条件下, 多胺带有多个正电荷, 因此能与带负电荷的膜磷脂紧密结合。这种结合有利于细胞膜在胁迫环境下保持稳定^[12]。已有研究报道, 与不耐寒的植物相比, 耐寒的植物在低温条件下能显著地提高内源多胺的水平。沈文云等用黄瓜耐冷性较强的品种‘津春 3 号’和耐冷性较弱的日本‘四叶’为材料进行研究, 发现‘津春 3 号’叶片中的亚精胺含量在低温条件下显著增加, 而在‘四叶’中未观察到此现象发生^[13]。进一步分析表明, 耐冷的黄瓜品种在低温条件下体内多胺合成酶的活性大幅度提高。Song 等报道, 在培养基中加入外源多胺可以明显地改善番茄花粉在高温下的萌发能力^[14]。但是, 多胺与植物耐热性的关系尚缺乏系统的研究, 高温条件下体内多胺合成能力的强弱是否是决定植物抗热性强弱的生理基础之一, 尚未得出结论。因此, 本研究的目的是通过比较耐热性不同番茄在高温条件下体内多胺水平的变化特点, 探讨多胺与番茄耐热性的关系。

1 材料与方法

首先在 1998~1999 年连续两年利用夏季自然高温进行了耐热和不耐热材料的筛选。根据国外普遍采用的坐果率评价方法筛选出了耐热品种 991-258、991-259、991-260 (引自亚洲蔬菜研究发展中心, 简称 258、259、260) 和 Saladelette (引自美国加州大学 Davis 分校, 简称 Sa), 以及不耐热品种中蔬 5 号、中蔬 6 号 (中国农业科学院蔬菜花卉所育成, 简称为中 5 和中 6)。

试验重复进行两次, 分别于 2001 年 1 月和 9 月在温室中播种, 采用营养钵育苗。每个品种的幼苗分成两组, 分别于 4 片真叶时和第一穗花刚显蕾时移至 HPG-280B 光照培养箱中培养。设昼/夜温度

收稿日期: 2002-09-28; 修回日期: 2003-02-11

基金项目: 农业部蔬菜遗传与生理重点实验室资助项目

25/20℃ (对照)、33/25℃、38/28℃ 3 个处理, 每个处理 6 株, 3 次重复。每天光照培养 12 h、暗培养 12 h, 光照强度为 $350 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。分别在培养 2 d 和 4 d 后采摘叶片及花朵进行多胺含量分析。

多胺的提取参照 Chein 等^[15]和 Mary 等^[16]的方法, 略有改动。称 1 g 新鲜番茄叶片和花朵, 加入液氮研磨; 再加入 5 mL 预冷的 5% HClO_4 , 冰浴 1 h; 离心 30 min ($14000\times g$); 取上清液 1 mL, 加 2 mL 2 mol/L NaOH 和 15 μL 苯甲酰氯, 混匀 10 s; 室温下放置 20 min; 加 2 mL 饱和 NaCl 和 2 mL 乙醚混匀萃取; 离心 5 min ($10000\times g$); 取 1 mL 乙醚相, 在超净台中将乙醚吹干; 溶于 100 μL 甲醇, 保存在 -20°C 冰箱中待测。多胺含量定量测定在农业部“蔬菜遗传与生理重点实验室”进行。HPLC 流动相为 64% 的色谱级甲醇溶液。腐胺、精胺和亚精胺标样购自美国 Sigma 公司。HPLC 检测条件: ODS-反相 C18 柱 (150 mm \times 6 mm), SPD-6AV 紫外检测, 波长 254 nm, 柱温 25°C , 流速 0~12 min 为 $0.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 12~20 min 为 $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 20~40 min 为 $1.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 标样进样量 1 μL , 样品进样量 8 μL 。

2 结果与分析

2.1 高温对不同耐热性番茄苗期叶片多胺含量的影响

苗期叶片多胺水平分析的结果表明, 耐热性不同番茄之间存在着明显的差异, 并且这种差异在不同种类的多胺中也表现不一样。从图 1 中可看出, 耐热品种 (258、259、260、Sa) 叶片精胺 (Spm) 含量随温度的升高而升高, 38/28℃ 处理时的精胺水平最高; 不耐热品种 (中 5、中 6) 33/25℃ 处理高于对照 (25/20℃), 而 38/28℃ 处理却低于对照; 培养 2 d 和 4 d 的变化趋势相似。不耐热品种在 25/20℃ 和 33/25℃ 处理条件下精胺含量与耐热品种相当或高于耐热品种, 而在高温 38/28℃ 处理条件下明显低于耐热品种。

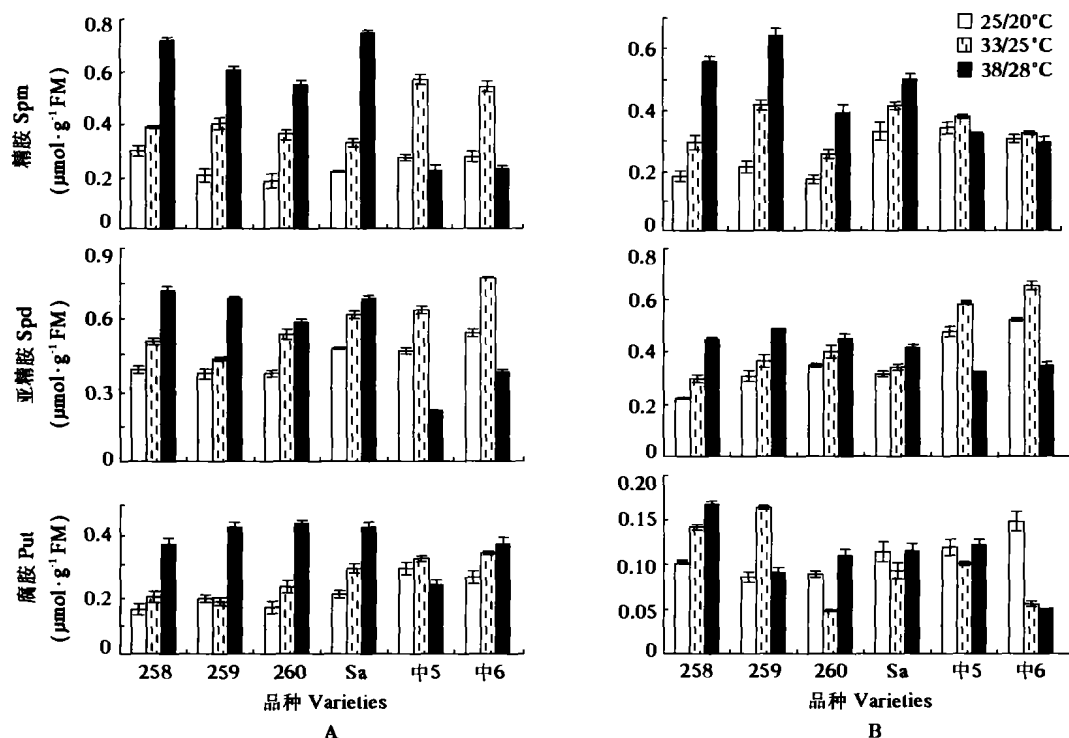


图 1 高温对耐热性不同番茄苗期叶片内源多胺水平的影响

A: 处理 2 天; B: 处理 4 天

Fig. 1 Effect of high temperatures on endogenous polyamine levels of seedling leaves in tomato plant with different heat-tolerance

A: 2 days; B: 4 days

亚精胺 (Spd) 水平在高温下的变化情况与精胺相似。处理 2 d 和 4 d 的结果都显示: 不耐热品种中 5、中 6 亚精胺含量由高至低依次是 33/25℃、25/20℃、38/28℃ 处理; 耐热品种 258、259、260、Sa 的亚精胺水平随温度的上升而增加, 38/28℃ 时水平最高; 在 25/20℃、33/25℃ 下耐热品种略低于不耐热品种, 但是在高温 38/28℃ 下耐热品种明显高于不耐热品种。

腐胺 (Put) 含量的变化较复杂, 有的品种随温度升高而升高, 而有的却随温度的升高而降低; 相同处理条件下处理 2 d 和 4 d 的变化趋势也不相同; 看不出品种耐热性与之变化的规律。

2.2 高温对不同耐热性番茄开花期叶片多胺含量的影响

图 2 结果显示: 无论是耐热品种还是不耐热品种, 开花期叶片中精胺含量随温度变化的趋势与苗期完全一致, 但均明显低于苗期。不耐热品种在 25/20℃ 和 33/25℃ 下精胺含量与耐热品种相当或者高于耐热品种, 而在 38/28℃ 处理下明显低于不耐热品种。

开花期番茄叶片中亚精胺的含量比苗期低得多。处理 2 d 和 4 d 的结果显示: 亚精胺含量随温度变化的趋势与精胺相似, 不耐热品种的亚精胺浓度大小依次是 33/25℃、25/20℃、38/28℃; 耐热品种的亚精胺水平随温度的上升而增加, 38/28℃ 时水平最高; 耐热品种在 25/20℃ 和 33/25℃ 下低于不耐热品种, 但在 38/28℃ 下明显高于不耐热品种。

与苗期所观察到的结果基本相同, 开花期叶片中腐胺含量的变化, 无论在不同温度处理之间, 还是在耐热性不同品种之间, 均未发现有规律性的变化。

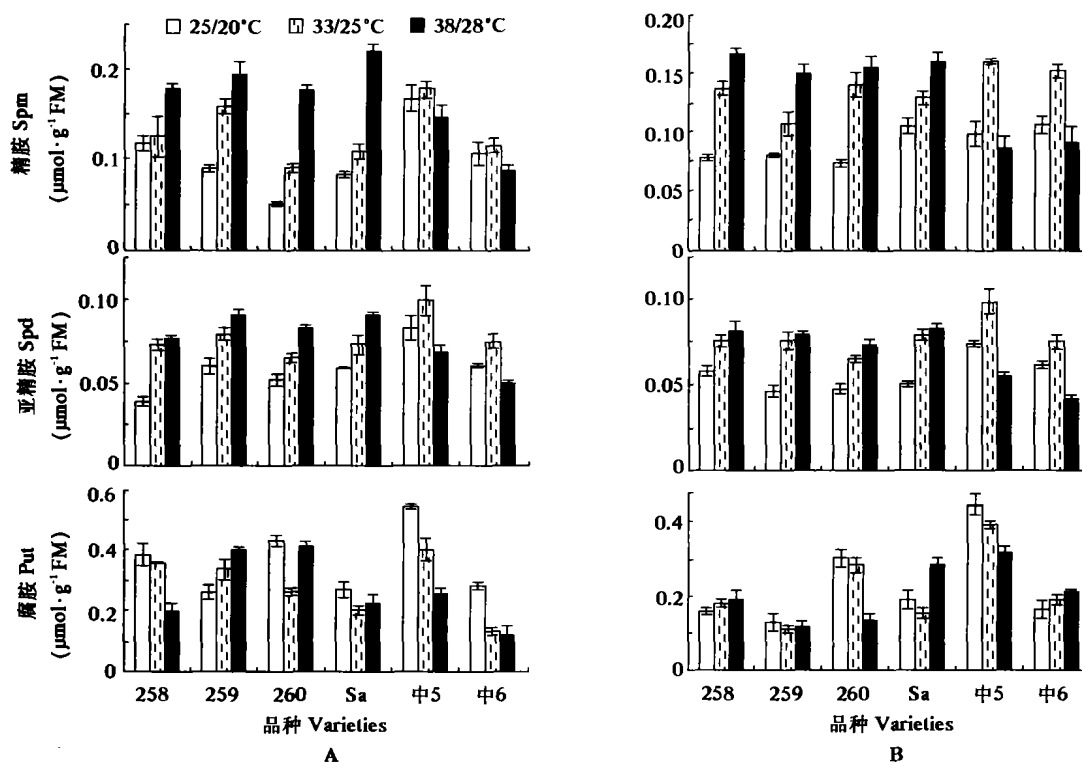


图 2 高温对耐热性不同番茄花期叶片内源多胺水平的影响

A: 处理 2 天; B: 处理 4 天

Fig. 2 Effect of high temperatures on endogenous polyamine levels of blooming leaves in tomato plant with different heat-tolerance

A: 2 days; B: 4 days

2.3 高温对耐热性不同番茄花器官多胺含量的影响

所有参试品种的花器官精胺和亚精胺含量显著高于同期叶片中精胺和亚精胺的含量 (图 3)。耐热品种花器官精胺含量随着温度的升高而增加, 在 38/28℃ 时最高, 而不耐热品种的精胺含量由高至

低依次是 33/25℃、25/20℃、38/28℃ 处理；在 33/25℃ 处理下的精胺含量远高于 25/20℃ 处理，增长幅度较明显，而 38/28℃ 处理下的精胺含量低于 25/20℃ 处理。

在 25/20℃、33/25℃ 温度处理下，耐热品种的亚精胺含量都低于不耐热品种；然而在 38/28℃ 温度处理下耐热品种的亚精胺含量明显高于不耐热品种。

所有品种花器官中的腐胺含量随温度的变化与苗期和开花期叶片中的变化相似，无论是耐热品种还是不耐热品种，都没任何规律性。

3 讨论

日益增加的证据表明，多胺与植物对逆境环境的应答反应有密切的关系。Kuehn 等用耐旱的首宿在缺水条件下进行细胞培养，结果发现：精胺和亚精胺含量增加，而腐胺的含量降低^[17]。橡树叶在高渗透下，其 ADC (Arginine decarboxylase 精氨酸脱羧酶) 的活性和腐胺水平都增加，ADC 活性的增加能促进精胺和亚精胺的合成^[18]。Krishnamurthy 等报道，在盐胁迫下，耐盐水稻品种的根系中精胺、亚精胺水平急剧增加，腐胺的含量相对降低；而不耐盐水稻却相反，其根系中腐胺大量积累，精胺和亚精胺水平相对较低^[19]。

Lee 等研究发现，经低温处理后，耐冷水稻幼苗根中的腐胺、精胺、亚精胺含量及 ADC 活性都增加；而不耐冷水稻幼苗根中均急剧下降。在热胁迫下，耐热水稻品种的 ADC 和 PAO (polyamine oxidase 多胺氧化酶) 活性增加的幅度大于不耐热品种，ADC 和 PAO 与精胺、亚精胺的合成紧密相关^[20]。综观所有有关多胺与胁迫关系的研究报道，大多研究结果表明，精胺和亚精胺水平的增加与抗逆性的增强相一致，而腐胺的变化与抗逆性之间很少呈现出规律性的关系^[21]。

本研究发现，在热胁迫下，各番茄品种的精胺和亚精胺水平随温度变化而变化的趋势极其一致。耐热品种 258、259、260、Sa 在苗期、开花期叶片中的精胺和亚精胺都随温度的升高而升高，即在热胁迫下，耐热番茄品种总能保持较高水平的精胺和亚精胺，这说明高水平的精胺和亚精胺与番茄的耐热特性相对应。这一结果与 Philipps 等^[22]关于在热胁迫下耐热植物趋向于维持或者增加总的多胺含量（只指精胺和亚精胺）的观点较一致，但与其不同的是，Philipps 认为精胺和亚精胺总水平是在消耗腐胺基础上而增加的，而本研究结果显示精胺和亚精胺的增加并非发生在腐胺水平降低的基础上。不耐热品种中 5 和中 6 的精胺和亚精胺含量随温度变化而变化的趋势却与上述耐热品种不同。两品种的精胺和亚精胺含量都是在 33/25℃ 下最高，在 38/28℃ 最低，造成这一现象的原因可能是：33/25℃ 对番茄而言属于亚适宜温度，不会产生大的伤害，在这样的温度下，不耐热番茄品种具有一定的适应调节能力。因此在 33/25℃ 下两品种的精胺和亚精胺含量要高于对照。这和不耐寒的植物在低温下表现出的情况非常类似^[13]。Roy 等^[23]曾对耐热和不耐热水稻愈伤组织进行高温处理，发现在 45℃ 下耐热品种体内的自由多胺（只包括精胺和亚精胺）和结合多胺水平大幅度增加，且远高于不耐热品种。本研究结果与 Roy 等的结果基本一致，但不同的是他们的研究发现高温下不耐热品种的腐胺水平也增加。

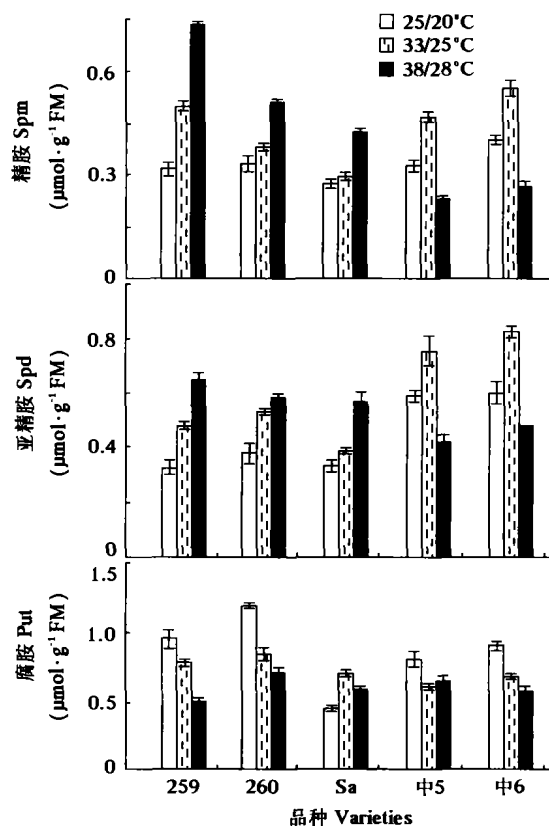


图3 高温对耐热性不同番茄花器官内源多胺水平的影响 (4 天)
Fig. 3 Effect of high temperatures on endogenous polyamine levels of tomatoes flowers with different heat-tolerance (4 days)

而本研究中耐热品种 258、259、260、Sa 以及不耐热品种中 5、中 6 无论是苗期叶片、花期叶片, 还是花器官中腐胺的含量变化没有规律性。番茄花器官是对高温最敏感的部分。耐热品种 259、260、Sa 花器官精胺和亚精胺含量随温度变化而变化的趋势与苗期和花期叶片中的变化基本一致, 都是在 38/28℃ 的高温处理中呈现大幅度的增加。作者在另外的研究中发现, 耐热品种花粉在 8℃ 的萌发率远远高于不耐热的品种。耐热品种花粉的这种耐热性可能与花器官中的高水平多胺有关。Song 等^[14]研究了番茄花粉中 SAMDC (S-腺苷蛋氨酸脱羧酶, 精胺和亚精胺合成过程的一种主要限速酶) 活性与高温下 (38℃) 花粉萌发率和花粉伸长之间的关系, 发现如果用专性抑制剂降低花粉萌发过程中 SAMDC 活性, 花粉的萌发率也随之下降, 用外源精胺处理可以部分恢复花粉在高温下的萌发能力。但是, 本研究中所观察到的耐热品种和不耐热品种花器官在高温条件下内源多胺水平的差异, 是不是决定番茄花粉萌发过程中耐热性不同的主要原因, 尚需进一步研究。

参考文献:

- 1 Abdul Baki A A, John R S. Pollen viability and fruit set of tomato genotypes under optimum and high temperature regimes. *HortSci.*, 1995, 30 (1): 115 ~ 117
- 2 Berry S Z, Uddin W R. Effect of high temperature on fruit set in tomato cultivars and selected germplasm. *HortSci.*, 1988, 23: 606 ~ 608
- 3 Fenny D, Hunter A G, Chambliss O L. Fruit set, pollen fertility, and combining ability of selected tomato genotypes under high temperature field conditions. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1991, 116 (5): 906 ~ 910
- 4 Douglas C M, Croxdale J, Markeley J L. Thermal damage to chloroplast envelope membranes. *Plant Physiology*, 1989, 90: 606 ~ 609
- 5 Weaver M L, Timm H. Screening tomato for high temperature tolerance through pollen viability tests. *HortSci.*, 1989, 24: 493 ~ 495
- 6 Sharma N K, Bhutani R D, Singh A, et al. Breeding tomato for heat tolerance - a review. *Crop Research*, 1993, 6 (1): 51 ~ 58
- 7 Dinar M, Rudich J. Effect of heat stress on assimilate partitioning in tomato. *Annals of Botany*, 1985, 56: 239 ~ 248
- 8 Dinar M, Rudich J. Effect of heat stress on assimilate metabolism in tomato flower buds. *Annals of Botany*, 1985, 56: 249 ~ 257
- 9 Floers H E. Polyamines and plant stress. In: Alscher R C, Cumming J R. Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms. New York: Wiley-Liss, 1990. 217 ~ 239
- 10 Kumer A, Altabella T, Taylor M A, et al. Recent advances in polyamine research. *Trend. Plant Sci.*, 1997, 2: 124 ~ 130
- 11 Bouchereau A, Aziz A, Larher F, et al. Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sci.*, 1999, 140: 103 ~ 125
- 12 Roberts D R, Dumdoff E B, Thompson J E. Exogenous polyamines alter membrane fluidity in bean leaves: a basis for potential misinterpretation of their true physiological role. *Planta*, 1986, 167: 395 ~ 401
- 13 Shen W Y, Nada K, Tachibana S. Involvement of polyamines in chilling tolerance of cucumber cultivars. *Plant Physiology*, 2000, 124: 431 ~ 439
- 14 Song J J, Nada K, Tachibana S. Suppression of S-adenosyl methionine decarboxylase activity is a major cause for high-temperature inhibition of pollen germination and tube growth in tomato. *Plant Cell Physiology*, 2002, 43: 619 ~ 627
- 15 Chein T C, Ching H K. Senescence of rice leaves XXX. levels of polyamines and dark-induced senescence of rice leaves. *Plant Cell Physiology*, 1992, 32 (7): 935 ~ 941
- 16 Mary A S, Peter J D. Separation and Quantitation of polyamines in plant tissue by high performance liquid chromatography of their dansyl-derivatives. *Plant Physiology*, 1986, 126: 23 ~ 32
- 17 Kuhn G D, Bagga S. Biosynthesis of uncommon polyamines in higher plants and their relation to abiotic stress responses. In: Flores H E, Arteca R N. Polyamines and Ethylene: Biosynthesis, Physiology and interactions. New York: American Society of Plant Physiology, 1990. 9913 ~ 9915
- 18 Masgrau C, Altabella T. Inducible overexpression of oat arginine decarboxylase in transgenic tobacco plants. *Plant J.*, 1997, 11: 465 ~ 473
- 19 Krishnamurthy R, Bhagnat K A. Polyamines as modulators of salt tolerance in rice cultivars. *Plant Physiology*, 1984, 91: 500 ~ 504
- 20 Lee T M, Lur H S, Chu C. Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice seedling. 2. Modulation of free polyamine levels. *Plant Science*, 1997, 126: 1 ~ 10
- 21 Bouchereau A, Aziz A, Larher F, et al. Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Science*, 1999, 140: 103 ~ 125
- 22 Philipps G C, Kuehn G D. Uncommon polyamines in Flores. *Biochemistry and physiology of polyamine in plants*. Boca Raton: CRC Press, 1991. 121 ~ 123
- 23 Roy M, Ghosh B. Polyamine, both common and uncommon, under heat stress in rice (*Oryza sativa*) callus. *Physiology Plant*, 1996, 98: 196 ~ 200

The Different Changes of Endogenous Polyamines in Tomato Plants with Different Heat-tolerance under High Temperatures

Du Yongchen, Mao Shengli, Wang Xiaoxuan, Zhu Dewei, Li Shude, Dai Shanshu, and Gao Zhenhua

(*Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China*)

Abstract: The changes of endogenous polyamine levels induced by high temperatures were investigated in tomato plants with different heat-tolerance. Plants were treated at temperatures of 25/20°C (day and night), 33/25°C and 38/28°C at seedling or blooming stage. The results showed that the levels of spermidine and spermine in heat-tolerant varieties significantly increased with increase of growing temperature, and the maximum was observed at 38/28°C. In contrast, in heat-sensitive varieties, the highest levels of spermine and spermidine occurred at 33/25°C. The temperature treatment of 38/28°C remarkably decreased spermine and spermidine contents both in leaves and flowers compared with 33/25°C in heat-sensitive varieties. The putrescine content showed no regular changes both in temperature treatments and varieties. The involvement of polyamines in tomato heat tolerance is discussed.

Key words: Tomato; Heat-tolerance; Polyamines

冷藏和气调处理对青花菜 Glucoraphanin 含量的影响

汪俏梅¹ 胡家恕² (¹ 浙江大学园艺系, 杭州 310029; ² 浙江大学生物化学研究所, 杭州 310029)

Effects of Cold Storage and Controlled Atmospheres on the Content of Glucoraphanin in Broccoli Florets

Wang Qiaomei¹ and Hu Jiashu² (¹ Department of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; ² Institute of Biochemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

关键词: 青花菜; Glucoraphanin (4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷); 冷藏; 气调

中图分类号: S 635 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 03-0286-01

Glucoraphanin (4-甲基亚磺酰丁基芥子油苷) 在青花菜中含量丰富, 其降解产物 Sulforaphane 具很强的抗癌活性。本试验以 'Marathon' 青花菜为试材, 将新鲜花球切成小花球后用 100 mg/L 的 NaClO 表面消毒 1 min, 清水洗净。分别取 650 g 花球置于 0°C、5°C 和 10°C 冷藏, 并在 5°C 下进行 5 种气调处理: 1) Air, 2) Air + 10% CO₂, 3) Air + 20% CO₂, 4) 1% O₂, 5) 1% O₂ + 10% CO₂。每一处理分别在处理当天、处理后 3、6、9、12 d 取样 50 g, 真空冷冻干燥, 并研磨成粉末状贮藏于 4°C 待用。将 0.2 g 冷冻干燥样品在沸水中煮 10 min, 3 500 g 离心 5 min 后, 取上清液, 再用 2 mL 重蒸水溶解沉淀后同法离心, 合并上清液。提取液经 DEAE-Sephadex A-25 柱层析后, 加入 100 μL 0.1% 的芳香基硫酸酯酶 (aryl sulphatase) 过夜, 最后用 1 mL 重蒸水过柱得到洗脱液供 HPLC 分析。HPLC 分析的色谱条件为: 150 mm × 4.6 mm Spherisorb C-18 柱, 以乙腈和水作为流动相, 1.5% ~ 20% 的乙腈线性洗脱 30 min, 流速为 1.0 mL/min, 采用 226 nm 和 280 nm 双波长检测, 以烯丙基芥子油苷 (sinigrin) 和硝基苯基半乳糖吡喃糖苷 (NPG) 作为内标。

试验结果表明, 在 0°C 和 5°C 冷藏期间, 青花菜花球中的 Glucoraphanin 含量无明显下降; 而在 10°C 下贮藏 9 d, 其含量开始明显下降, 且此时的花蕾黄化, 外观品质差。因此 10°C 条件下贮藏时间不宜超过 9 d。在 5°C 的气调贮藏中, 较高的 CO₂ (Air + 10% CO₂, Air + 20% CO₂) 对 Glucoraphanin 含量无显著影响, 而较低的 O₂ (1% O₂, 1% O₂ + 10% CO₂) 则使其含量在 0~9 d 持续下降。从贮藏的效果来看, 处理 3 可引起细胞汁液的渗出和酸味的产生, 使产品的外观品质明显下降, 而处理 2、4、5 均有较好的效果, 货架寿命在 30 d 以上。但较低的 O₂ 使 Glucoraphanin 含量明显降低。从产品的外观品质和 Glucoraphanin 含量综合考虑, 处理 2 较好。有报道表明, 低 O₂ 条件下, 青花菜产品更易腐烂和发酵, 而低 O₂ 逆境可能引起 Glucoraphanin 的代谢或降解, 从而引起其含量的变化, 具体机理尚待进一步研究。

收稿日期: 2002-10-21; 修回日期: 2003-02-24

基金项目: 教育部和浙江省留学回国基金资助项目