

非洲菊切花活性氧代谢的研究

吴岚芳¹ 黄绵佳¹ 蔡世英^{1,2}

(¹ 华南热带农业大学园艺学院, 儋州 571737; ² 农业部热带作物栽培生理学重点开放实验室, 儋州 571737)

摘要: 以非洲菊 (*Gerbera jamesonii*) 切花为材料, 研究衰老过程中活性氧的变化, 比较外源乙烯、外源活性氧对衰老的效应, 寻找缓解衰老的措施。结果表明, 非洲菊切花衰老过程中活性氧代谢活跃, 对外源活性氧的敏感性大于外源乙烯, 采用以抑制活性氧为主要成分的瓶插液能有效缓解切花衰老。

关键词: 非洲菊; 切花; 活性氧; 代谢; 衰老

中图分类号: S 68 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 01-0069-05

切花衰老与活性氧密切相关。活性氧会造成膜脂过氧化, 发生膜渗漏, 从而引起切花衰老^[1,2]; 3, 4, 5- 三氯苯酚阻止香石竹切花脂肪酸饱和度增加^[3]; 外源 $O_2^{\cdot-}$ 加入能明显加快花瓣脱落, 而 $O_2^{\cdot-}$ 清除剂则延缓脱落^[4]; 自由基清除剂苯甲酸钠可延缓切花寿命^[5]。非洲菊属于对乙烯不敏感的切花^[6], 采后花萼注射 ACC 可加速花萼细胞成熟, 增加其硬度, 减少弯头^[7]; 钙处理可延长切花寿命^[8]。作者以非洲菊切花为材料, 研究衰老过程中活性氧的代谢变化, 寻找缓解非洲菊切花衰老的相关因子, 为其贮运保鲜提供技术措施与理论依据。

1 材料与方法

供试的非洲菊 (*Gerbera jamesonii*) ‘florisajn’ 为深红色舌状花瓣, 黑色管状花序。取自海南省热带兰基地及华南热带农业大学园艺学院苗圃。选取外围舌状花瓣平展、内围 2~3 层管状花序 (环雄蕊) 开放、花直径大于 8 cm、花萼长度大于 45 cm 的健壮花枝。

花瓣喷洒处理: 分别以蒸馏水、0.05 % 百草枯 (paraquat PQ, 外源 $O_2^{\cdot-}$ 发生剂)、340 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 乙烯利 (Ethrel, 外源乙烯释放剂) 喷洒花瓣正反面 (以上各处理均含 0.05 % 吐温-20, 浓度参考文献 [4] 和 [9]), 待干后瓶插于蒸馏水中, 3 h 后测各项生理生化指标。

瓶插液处理: 在室温 (25~34 °C) 自然光下花梗插入瓶插液中 3~5 cm。以蒸馏水为对照, 测定有关生理生化指标。单一成分瓶插液处理, 分别是 1、2、5、和 10 mmol L^{-1} 的没食子酸丙酯 (propyl gallate, PG, $O_2^{\cdot-}$ 清除剂)、甘露醇 ($O_2^{\cdot-}$ 清除剂)、苯甲酸钠或氨基乙酸 (AOA, 乙烯合成抑制剂)、硫代硫酸银 (STS, 乙烯作用抑制剂) 的瓶插液, 观察切花瓶插寿命, 并选择 2 mmol L^{-1} PG、AOA 进行生理生化测定。复合保鲜液处理, 分别是 a, 2.5 % 蔗糖 + 125 mg L^{-1} 8-HQC, 用柠檬酸调 pH 4^[10]; b, 20 mg L^{-1} AgNO_3 + 150 mg L^{-1} 柠檬酸 + 50 mg L^{-1} $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ^[11]; c, 30 g L^{-1} 蔗糖 + 200 mg L^{-1} 8-HQC + 150 mg L^{-1} 柠檬酸 + 75 mg L^{-1} $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ^[12]; d, 2.5 % 蔗糖 + 225 mg L^{-1} 8-HQC + 2 mmol L^{-1} 甘露醇, 用柠檬酸调 pH 4 (作者自行设计)。选择瓶插寿命最长的保鲜液 d 处理进行生理生化测定。

切花瓶插寿命指从瓶插开始至严重萎蔫、花瓣变薄、下垂、花色变暗、失去观赏价值的天数。测定 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率^[13]、 H_2O_2 含量^[14]、还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量^[15]、丙二醛 (MDA) 含量^[16]、电导率^[17]、可溶性蛋白质含量^[17]、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性 (以酶抑制 OD 值下降 50 % 为一个单位)^[18]、过氧化氢酶 (CAT) 活性 (以每分钟分解 1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 为一个活性单位)^[18]。均分别取样 3~4

收稿日期: 2002-02-04; 修回日期: 2002-06-05

个,测定3~4次,取平均值。相关分析采用统计软件 SAS 6.12。

2 结果与分析

2.1 切花衰老过程活性氧代谢及其调节

2.1.1 活性氧代谢 以蒸馏水为瓶插液的切花,瓶插寿命为5 d。切花衰老过程中 $O_2^{\cdot -}$ 处于较高水平(图1, a),采后2、4 d出现高峰,峰值分别是33.096和30.134 $\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$,为0 d的233.22%与212.35%。 H_2O_2 含量(图1, b)0 d为22.335 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$,0~3 d缓慢上升,4 d起快速上升,5 d升至35.629 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$,为0 d的159.38%。SOD活性(图1, c)0~3 d较高,后快速下降,从2690.001 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$ 降至1214.501 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$ 。CAT活性(图1, d)呈先升后降趋势,由0 d的82.108 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$ 升至第3天的155.317 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$,但第5天下降至98.615 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$ 。GSH含量呈降升降趋势(图1, e),由0 d 5.892 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$ 降至5 d 1.494 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$ 。MDA和电导率(图1, f, g)0~3 d变化不明显,4 d开始急剧上升,5 d达最大,分别达90.15 $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$ 和1691.373 $\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$,升幅分别为0 d的226.9%与241.85%。可溶性蛋白0~2 d由44.836 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$ 上升到55.262 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$,然后缓慢下降,第5天急剧下降至26.838 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$ (图1, h)。

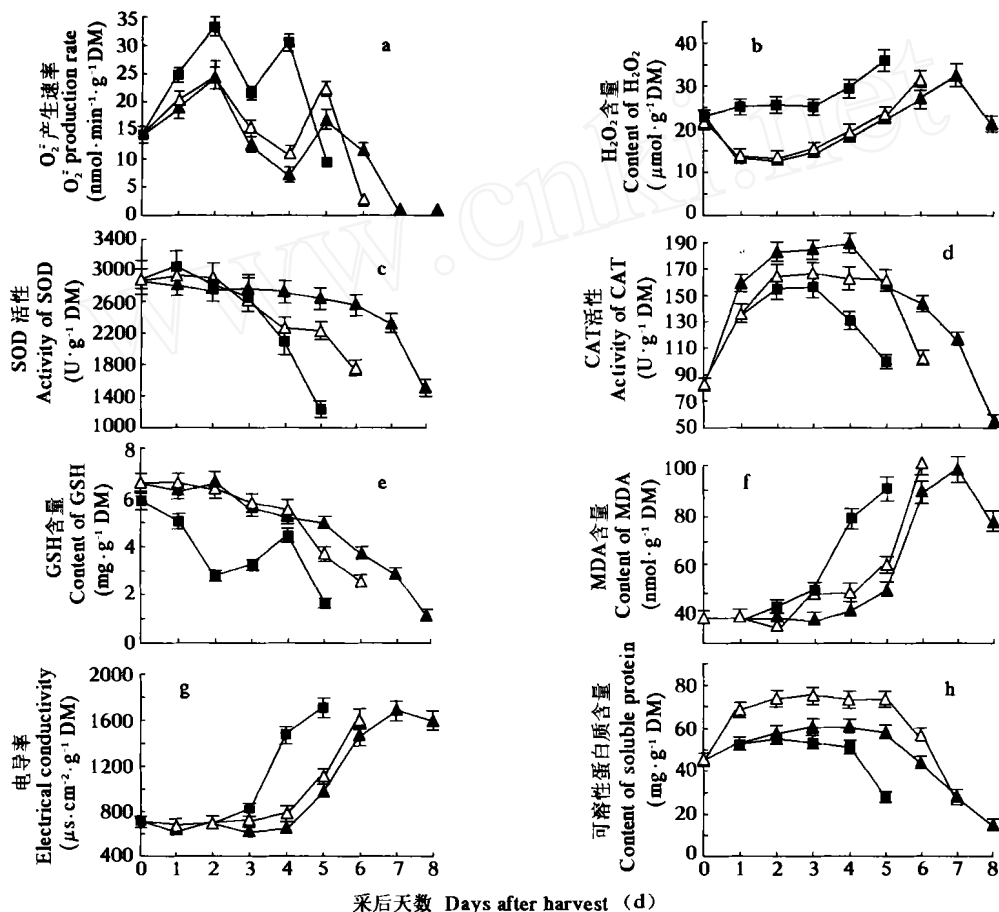


图1 非洲菊切花活性氧代谢及瓶插保鲜液d、没食子酸丙酯对活性氧代谢的影响

水(对照); 2 mmol L⁻¹没食子酸丙酯; 保鲜液d。

Fig. 1 Active oxygen metabolism of cut gerbera and effect of preservative solution and propyl gallate on active oxygen metabolism

Water (Control); 2 mmol L⁻¹ Propyl gallate; Preservative d.

总之,非洲菊切花的活性氧产生系统较为活跃,衰老进程中产生与清除活性氧的平衡系统破坏,导致活性氧积累,膜脂过氧化(MDA含量上升),膜透性增加(电导率迅速上升)MDA与电导率呈极

显著正相关, 因此衰老也十分迅速, 瓶插寿命短。在采后第 5 天可溶性蛋白含量下降, 说明蛋白质降解是衰老的结果而非衰老的原因。

2.1.2 活性氧发生剂及清除剂对活性氧代谢的调节 外源 $O_2^{\cdot -}$ 发生剂百草枯喷洒花瓣, 瓶插寿命由 5 d 缩短至 2.5 d (59 h), $O_2^{\cdot -}$ 高峰提前 (在处理 27 h) 出现, 峰值明显高于对照; H_2O_2 含量呈先升后降趋势, 处理 3 h 即达到 $32.414 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{DM}$, 处理 3 ~ 35 h 平均比对照高 53.2 % (图 2, a), SOD 和 CAT 活性持续下降 (图 2, b), 处理 59 h 活性下降了 44.44 % 和 91.3 %; GSH 含量持续下降, 35 h 即下降到 0 (图 2, c)。MDA、电导率含量上升 (图 2, d), 35 h 即出现高峰, 分别为对照的 4.3 和 3.9 倍。经显著性分析, 百草枯处理与对照均达极显著差异 ($P < 0.01$)。说明外源活性氧 PQ 处理能大幅度提高非洲菊活性氧产生与积累 ($O_2^{\cdot -}$ 、 H_2O_2), 降低活性氧清除能力 (SOD、CAT、GSH), 导致膜脂过氧化加剧, 使膜透性增加, 加速切花衰老, 瓶插寿命缩短。

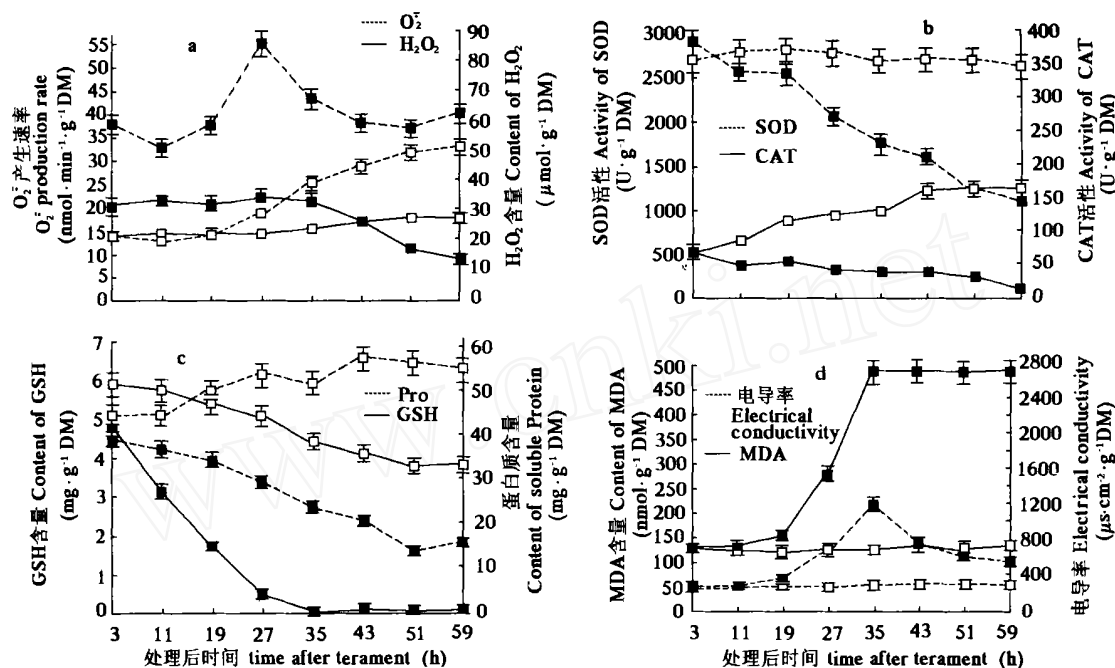


图 2 百草枯 (PQ) 对非洲菊切花活性氧代谢的影响

百草枯: 水 (对照)

Fig. 2 Effect of paraquat (PQ) on active oxygen metabolism in cut flower of gerbera

Paraquat; Water (Control)

$O_2^{\cdot -}$ 清除剂没食子酸丙酯能使非洲菊瓶插寿命延长 1 d; 处理后 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率降低 (图 1, a), 第 2 高峰出现推迟 1 d, 峰值下降 27 %; H_2O_2 含量降低, 5 d 内平均下降 39.76 % (图 1, b); GSH 下降速度减慢 (图 1, e); MDA 含量和电导率在前 3 d 与对照差异不显著, 4 d 后显著低于对照 ($P < 0.01$), 第 5 天分别比对照下降 32.71 % 和 34.59 % (图 1, f, g); SOD、CAT 活性与对照差异不显著 (图 1, c, d)。说明没食子酸丙酯有降低活性氧产生的效应, 但对活性氧清除酶效应不大。

2.1.3 非洲菊切花保鲜剂的筛选与确定 分别使用单独活性氧清除剂没食子酸丙酯、甘露醇、苯甲酸钠溶液进行的瓶插试验结果表明, 2 和 5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甘露醇效果最好, 可延长寿命 1.5 d。

4 种以甘露醇为主要成份的非洲菊瓶插复合保鲜液中 a、b、c 均未延长切花瓶插寿命, 只有瓶插液 d 由对照的 5 d 延长至 8 d。

2.1.4 保鲜剂对切花活性氧代谢的效应 保鲜液 d 能降低非洲菊切花 $O_2^{\cdot -}$ 产生速率 (图 1, a), 使峰值降低并使第 2 峰推迟 1 d 出现, 第 2 峰峰值比对照下降 45.04 %。瓶插 0 ~ 5 d, H_2O_2 含量 (图 1,

b) 平均降低 41.81 %, SOD (图 1, c) 平均升高 23.57 %, CAT 活性平均提高 35.16 %。采后第 5 天, GSH 含量 (图 1, e) 高出对照 2.32 倍, 且下降幅度较对照慢; MDA 含量、电导率低于对照 (图 1, f、g) 43.74 %与 42.76 %; 可溶性蛋白含量高出 119.26 % (图 1, h)。各指标均与对照达极显著差异 ($P < 0.01$)。说明保鲜剂 d 能有效缓解切花活性氧的产生与积累, 提高活性氧清除能力, 延缓膜结构的破坏与蛋白质降解, 延长切花瓶插寿命。

分析表明, 切花瓶插寿命与 O_2^- 第 2 高峰出现时间、峰值大小、 H_2O_2 含量、SOD 每天下降量、MDA 含量、电导率均呈显著正相关或负相关 ($P < 0.05$)。

2.2 外源乙烯及其抑制剂的效应

非洲菊切花经外源乙烯 (乙烯利喷洒花瓣) 处理后发生萎蔫, 瓶插寿命仅为 3.1 d (75 h), 比对照缩短 38 %。 O_2^- 产生速率 (图 3, a) 和 SOD 活性与对照差异不显著。瓶插 3 ~ 75 h, H_2O_2 含量 (图 3, a) 平均下降 23.34 %, GSH 含量 (图 3, b) 平均下降 22.85 %。CAT 活性 (图 3, b) 呈先升后降趋势, 瓶插 3 ~ 59 h 上升而后下降, 75 h 下降为对照的 30.32 %。MDA 含量和电导率前期与对照差异不显著, 后期快速上升。

乙烯抑制剂 (AOA) 的效应经多次反复试验, 证实对非洲菊几乎没有任何效应 (未列表图)。

上述结果说明, 外源乙烯对非洲菊 O_2^- 产生速率、SOD 活性效应不甚明显。而 AOA 既不能降低非洲菊活性氧的产生, 也不能提高活性氧清除能力, 更不能延长非洲菊瓶插寿命。说明乙烯加速非洲菊切花衰老, 不是通过 O_2^- 的活性氧系统起作用。

3 讨论

非洲菊对乙烯敏感性不明显^[6], 为非跃变型切花, 当管状花序开放, 花序发育完全成熟时, 呼吸速率较高^[19], 呼吸链产生和积累 O_2^- , 活性氧代谢处于高水平, 呈现 O_2^- 的第一高峰, 但此时活性氧清除酶 (SOD, CAT) 也处在较高水平, 活性氧产生与清除相对平衡。当非洲菊进入衰老, 呼吸速率逐渐下降, 电子传递途径受阻, 开始向抗氰呼吸转换^[19], 加速 O_2^- 的产生和积累, 出现第二个 O_2^- 高峰; 与此同时 SOD 的活性急剧下降, 活性氧代谢平衡遭到破坏。随着衰老的进程, 活性氧对植物体内代谢破坏更明显, 导致 MDA、电导率剧增, 可溶性蛋白大量下降, 加上呼吸对有机物的消耗^[19], 促进了非洲菊的衰老。

外源活性氧能导致非洲菊活性氧产生能力加强与消除活性氧能力下降, 促进膜的破坏, 加速衰老; 而活性氧清除剂能消除这种效应, 延缓衰老。

外源乙烯对非洲菊 O_2^- 的活性氧代谢影响不大, 但能加速膜破坏, 缩短瓶插寿命, 这暗示乙烯促

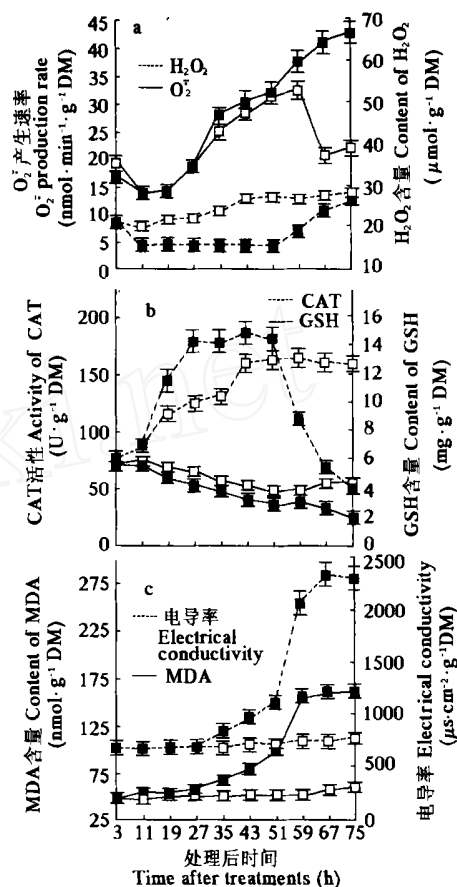


图3 乙烯利对非洲菊切花活性氧代谢的影响
乙烯利; 水。

Fig. 3 Effect of Ethrel on active oxygen metabolism
in cut flower of gerbera
Ethrel; Water.

进非洲菊切花衰老是通过其它途径进行的。

参考文献：

- 1 Mayark Shimon, Raymond L L, John E T. Superoxide radical production by microsomal membranes from senescing carnation flowers: An effect on membrane fluidity. *Ohytochemistry*, 1983, 22 (6): 1375 ~ 1830
- 2 朱 诚, 刘非燕, 郭达初, 等. 桂花开花和衰老过程中乙烯及脂质过氧化水平初探. *园艺学报*, 1998, 25 (3): 275 ~ 279
- 3 Paulin A, Droillard MJ, Bureau J M. Effect of a free radical scavenger-3,4,5-trichlorophenol on ethylene production and on changes in lipids and membrane integrity during senescence of petals of cut carnation (*Dianthus caryophyllus*). *Physiol. Plant*, 1986, 67: 465 ~ 471
- 4 柯德森, 王爱国, 罗广华. 花脱落与乙烯、生长素类似物及超氧物自由基的关系. *植物生理学通讯*, 1995, 31 (1): 18 ~ 21
- 5 Wang C Y, J E Baker. Vase life of cut flowers treated with rhizobitoxin analogs, sodium benzoate and isopentenyl adenosine. *HortScience*, 1979, 14 (1): 59 ~ 60
- 6 高俊平. 切花衰老与乙烯. *园艺学年评*, 1995, 1: 85 ~ 106
- 7 D Gerasopoulos. Effects of scape-injected 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) on the vase life of 'Testarossa' cut gerberas. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1998, 123 (5): 921 ~ 924
- 8 D L Salukhe, B M Nowyk. Postharvest biotechnology of flower and ornamental plants. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1990, 16 ~ 17
- 9 Carlos G Bartoli, Marceka Simontacchi, Edgardo Montaldi, et al. Oxidative stress, antioxidant capacity and ethylene production during aging of cut carnation (*Dianthus caryophyllus*) petals. *Journal of Experimental Botany*, 1996, 47 (297): 595 ~ 601
- 10 Wouter G. van Doorn and Yke de Witte. Effect of bacteria on scape bending in cut *Gerbera jamesonii* flower. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1994, 119 (3): 568 ~ 571
- 11 高 勇, 吴绍锦. 切花保鲜剂研究综述. *园艺学报*, 1989, 10 (2): 139 ~ 145
- 12 熊兴耀. 切花保鲜实用技术. 长沙: 湖南农业出版社, 1997. 1 ~ 33
- 13 王爱国, 罗广华. 植物的超氧物自由基与羟胺反应的定量关系. *植物生理学通讯*, 1990, 6: 55 ~ 57
- 14 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 等. 衰老叶片叶绿体 H_2O_2 的累积与膜脂过氧化的关系. *植物生理学报*, 1988, 14: 16 ~ 22
- 15 晏 斌, 汪宗立, 刘晓忠, 等. 涝渍逆境下玉米叶片中谷胱甘肽的含量变化及其作用. *植物生理学通讯*, 1993, 29 (6): 416 ~ 419
- 16 李柏林, 梅慧生. 燕麦叶片衰老与活性氧的关系. *植物生理学报*, 1989, 15: 6 ~ 12
- 17 西北农业大学. 基础生物化学实验指导. 宝鸡: 陕西科学技术出版社, 1986. 92 ~ 93
- 18 周倩萍, 蔡世英, 邓小江, 等. 橡胶种子 SOD 及其同工酶研究. *热带作物学报*, 1987, 8 (1): 35 ~ 44
- 19 吴岚芳, 黄绵佳, 蔡世英. 蝴蝶兰、非洲菊切花呼吸代谢的调控. *热带作物学报*, 2002, (1): 40 ~ 46

Studies on Metabolism of Active Oxygen during Senescence of Cut Gerbera

Wu Lanfang¹, Huang Mianjia¹, and Cai Shiyang^{1,2}

(¹ College of Horticulture, South China University of Tropical Agriculture, Danzhou 571737, China; ² Key Laboratory of Ministry of Agriculture for Tropical Crops Physiology, CATAS, Danzhou 571737, China)

Abstract: The metabolism of active oxygen was investigated during senescence of cut *Gerbera jamesonii* and effects of exogenous ethylene and exogenous active oxygen species on the cut flowers were studied in terms of modern plant senescence theory and by means of modern detected method. The technical measures that delayed the senescence of cut gerbera were found and the corresponding mechanisms were discussed in this paper. The results showed that the level of active oxgen metabolism during the senescence of cut gerbera flower was high. Gerbera was much more sensitive to the kinds of exogenous active oxygen than that to exogenous ethylene. The suitable concentration of active oxygen scavengers could retard the senescence of cut gerbera.

Key words: Gerbera; Cut flower; Active oxygen metabolism; Senescence