

小苍兰切花瓶插生理研究

袁媛^{1,2}, 余忆冬², 连芳青¹, 唐东芹^{2,*}

(¹江西农业大学园林与艺术学院, 南昌 330045; ²上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240)

摘要: 以小苍兰品种‘上农金皇后’为材料, 观察其鲜切花瓶插过程中花的发育变化及生理特性。结果表明, 小苍兰切花单花的瓶插寿命不足一周, 整个花序可达 10 d。花瓣中的含水量和可溶性蛋白含量在瓶插前期升高, 后期则加速下降。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性呈现相似的变化趋势, 在瓶插前期均呈上升趋势, 4 d 达到峰值后稳步下降; 过氧化物酶(POD)活性则在整个瓶插期间持续上升。超氧阴离子自由基(O_2^-)随瓶插时间增加而不断积累。丙二醛(MDA)含量和相对电导率(EL)也随瓶插时间增加而上升。失水、抗氧化酶活性下降、自由基的累积以及膜脂过氧化水平的增加是小苍兰切花衰老的主要原因。

关键词: 小苍兰; 切花; 活性氧; 抗氧化酶; 膜系统; 衰老

中图分类号: S 682.1+9

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 03-0579-08

Studies on Physiological Characteristics of Cut *Freesia* Flowers During Vase Holding

YUAN Yuan^{1,2}, YU Yi-dong², LIAN Fang-qing¹, and TANG Dong-qin^{2,*}

(¹College of Landscape and Art, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; ²School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: The cut flowers of *Freesia hybrida* ‘Shangnong Jinhuanghou’ were used as materials to study their phenotype changes and their physiologic response during vase holding. The results showed the vase life of an individual flower and a whole inflorescence was less than one week and 10 days, respectively. The contents of natural water and soluble protein in the petals increased at the early stage of vase holding, and then decreased 4 days later. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) increased in preceding stage, and decreased rapidly in later stage. However, the activity of peroxidase (POD) increased with the time postponing of vase holding. The content of superoxide radical (O_2^-) was accumulated during vase holding. Meanwhile, the malondialdehyde (MDA) content and the electrolyte leakage increased with the process of vase holding. The water loss, the decrease of activities of antioxidant enzymes and the accumulation of O_2^- and rising of lipid peroxidation level were considered to be the main physiological causes of senescence of cut *Freesia* flowers.

Key words: *Freesia*; cut flower; reactive oxygen species (ROS); antioxidant enzymes; membrane system; senescence

收稿日期: 2010-06-28; 修回日期: 2011-02-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30872061)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: dqtang@sjtu.edu.cn; Tel: 021-34205730)

小苍兰 (*Freesia hybrida*) 为鸢尾科小苍兰属球根花卉, 现代园艺意义上的小苍兰为其杂交品种的统称, 其花期在春节前后, 香气浓郁醇正, 形态绮丽, 具有很高的观赏价值, 是著名的鲜切花素材, 也是良好的盆栽花卉 (义鸣放和 Berghoef, 1994; 秦文英和林源祥, 1995; 车生泉等, 1997; 陈诗林和黄敏玲, 1997; 钱虹妹 等, 2006)。

在实际应用中, 小苍兰开花集中, 花期短暂, 离体切花衰老进程快, 且容易发生花朵萎蔫、花瓣变色等 (潘远智和刘维东, 1999)。采后保鲜技术成为小苍兰切花生产的关键问题。国内外对小苍兰切花生理的系统研究比较薄弱, 主要是围绕不同保鲜剂、化学药剂等对小苍兰切花观赏品质、瓶插寿命等的影响 (陈诗林和黄敏玲, 1991; 苏军和叶文, 1997; 余朝秀和关文灵, 2004; 刘武 等, 2008)。

本试验中通过对小苍兰切花瓶插衰老过程中的生理特性进行系统研究, 旨在了解其生理变化与瓶插寿命的关系, 探讨小苍兰切花衰老的生理机制, 为今后小苍兰切花保鲜技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

试验材料为小苍兰 (*Freesia hybrida*) 品种 ‘上农金皇后’ (秦文英和林源祥, 1995), 采自上海交通大学农业与生物学院温室, 采样时间为 2010 年 2 月下旬—3 月上旬。

剪取大小一致、花序基部第 1 朵花完全显色的健康花枝 45 枝, 去除侧花枝, 仅保留其主花枝, 立即带回实验室置于蒸馏水中并剪去基部一段, 每个花枝保留约 15 cm 长, 插入盛有 250 mL 蒸馏水的三角瓶。采后当天及瓶插后 1~8 d, 每天取花枝上从基部向上数第 2 朵花蕾或小花的花瓣组织, 剪碎混合后用以测定自然含水量、可溶性蛋白含量、抗氧化酶的活性、 O_2^- 产生速率、MDA 含量及相对电导率。室内试验于 2010 年 3 月上旬—4 月中旬在上海交通大学农业与生物学院观赏植物种质资源实验室进行。

1.2 方法

1.2.1 瓶插期间花的表型观察

小苍兰花序上各小花的发育阶段参照 Spikman (1986, 1989) 的方法进行划分, 共分为 9 个阶段。6 级: 小绿蕾, 绝大部分被苞片包裹; 5 级: 小绿蕾, 只有基部被苞片包裹; 4 级: 浅绿色蕾, 瓣状被片开始显色; 3 级: 瓣状被片叶绿素颜色消失; 2 级: 花蕾开始开放; 1 级: 花蕾大部分开放; 0 级: 花蕾完全开放; -1 级: 花朵正在萎蔫; -2 级: 花朵已经萎蔫。

1.2.2 生理指标的测定方法

花瓣中自然含水量 (%) 的测定采用热烘干法 (陈建勋和王晓峰, 2006)。

可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定 (陈建勋和王晓峰, 2006)。

SOD 活性的测定采用 NBT 光化还原法; 通过测定 H_2O_2 的减少量来测定 CAT 的活性; POD 活性的测定采用愈创木酚法; 根据单位时间内 OD_{290} 的减少量, 计算 APX 的活性 (陈建勋, 2002)。

O_2^- 释放速率的测定采用陈建勋 (2002) 的方法。

MDA 含量的测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法 (李合生, 2000)。

相对电导率 (EL) 的测定: 将 0.1 g 花瓣组织剪成大小均一的长条, 加去离子水 10 mL。振荡 1 min 后用电导率仪测定其电导率值 EC_0 , 然后在室温下放置 12 h, 测定其电导率值 EC_1 , 再置沸水中 10 min, 取出冷却后摇匀, 测定其电导率值 EC_2 。电导率仪为 EUTECH INSTRUMENTS 公

司生产，型号为 Ecoscan con 6。按以下公式计算 EL 值： $EL(\%) = [(EC_1 - EC_0) / (EC_2 - EC_0)] \times 100$ 。

1.3 数据分析

所有试验均重复 3 次，取其平均值用于分析。采用 Excel 软件进行数据整理和作图，用 SPSS 11.5 软件进行统计分析，统计方法采用 Duncan’s New Multiple Range test ($P < 0.05$) 和 One-Way ANOVA。

2 结果与分析

2.1 瓶插期间花的发育进程

小苍兰花序为穗状花序，小花从基部到顶部逐步开放。观察发现，在瓶插期间，小苍兰切花衰老进程加快。

如表 1 所示，单朵花瓶插寿命不足一周，而整个花序的观赏期则可达 10 d 左右。花序基部第 1、2 朵小花前 4 d 中逐步开放，其它小花也随之不断成长开展，从第 5 天开始第 1、2 朵小花出现了萎蔫的症状，随着瓶插时间的延长，萎蔫的小花数不断增加，到第 8 天时，萎蔫小花数已经达到 5 朵，整体观赏价值大大下降。花色在瓶插期间也发生了明显改变，从花蕾期到盛开后萎蔫，其黄色成分逐渐加大，色素增加。同时，此品种小苍兰花朵萎蔫后不易脱落。瓶插期间，花序顶端往往会有 1~3 朵小花不开放或畸形。

表 1 小苍兰瓶插期间花序上小花的发育阶段
Table 1 The developmental process of cut *Freesia* flowers during vase holding

瓶插时间/d Vase days	第 1 朵 The 1 st flower	第 2 朵 The 2 nd flower	第 3 朵 The 3 rd flower	第 4 朵 The 4 th flower	第 5 朵 The 5 th flower	第 6 朵 The 6 th flower
0	3	4	5	6	6	6
1	3	4	5	5	6	6
2	3	4	5	5	5	6
3	2~1	3~2	3	4	5	6
4	0	1~0	2	3	4	5
5	0~-1	0~-1	1	2	3	4
6	-2	-2	0~-1	0	2	3
7	-2	-2	-1	0	0	0
8	-2	-2	-2	-1	0~-1	0

2.2 自然含水量及可溶性蛋白含量的变化

小苍兰切花在采后瓶插过程中，花瓣中自然含水量呈现先上升后下降的变化趋势。采后初期，随着花蕾的生长以及吸水量的增加，花瓣鲜样质量增加，自然含水量也缓慢增加，第 4 天达到最大（图 1，A）。瓶插前 4 d 花瓣自然含水量从 81.0% 显著上升到 94.4%；从采后第 5 天开始，花瓣中自然含水量开始降低，一直到持续到处理结束。从表型上看，前 4 d 处于花朵逐步开放的过程，第 4 天花蕾完全开放，而后 4 d 花瓣逐步发展至衰老，从第 5 天开始花瓣开始失水萎蔫，到第 8 天花瓣完全干枯萎蔫，失去光泽。

图 1，B 表明，小苍兰切花在采后瓶插过程中，花瓣中可溶性蛋白含量前 4 d 呈现缓慢上升的趋势，后 4 d 则显著下降，至第 8 天花瓣中的可溶性蛋白分别为最高点（第 4 天）和刚采时的 55.0% 和 76.2%。

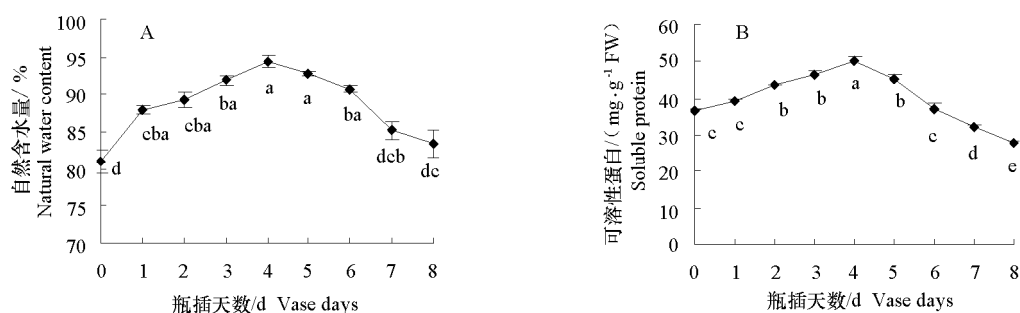


图 1 小苍兰切花采后花瓣中自然含水量(A)和可溶性蛋白含量(B)的变化

不同字母表示任意两个数值之间在 0.05 水平上有显著差异。下同。

Fig. 1 Changes of natural water content (A) and soluble protein content (B) in cut *Freesia* flowers during vase holding

Values followed by the same letter are not significantly different at $P < 0.05$ based on

Duncan's new multiple range test. The same below.

2.3 抗氧化酶活性的变化

通过测定小苍兰切花采后瓶插过程中的多种抗氧化酶活性的变化发现,其体内抗氧化酶系统发生了很大改变。其中,SOD、CAT 和 APX 的酶活性表现出类似的变化趋势,而 POD 活性的变化与前 3 种不同(图 2)。

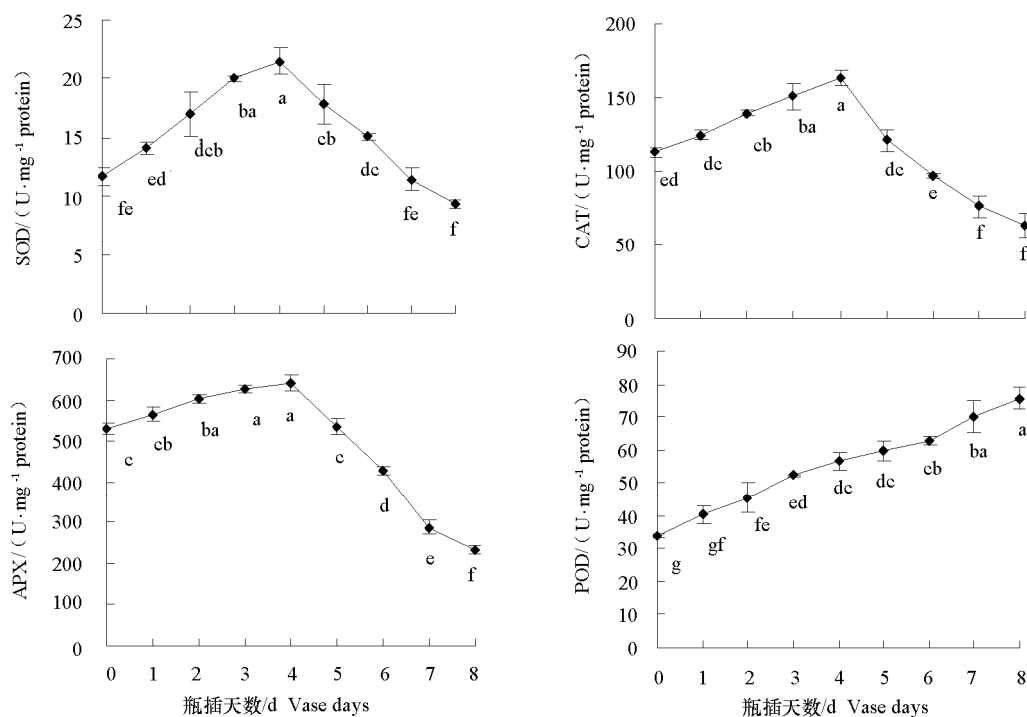


图 2 小苍兰切花采后抗氧化酶活性变化

Fig. 2 Changes of antioxidant enzymes activities in cut *Freesia* flowers during vase holding

SOD 活性在前 4 d 逐渐上升至最高值,比刚采时上升了 83.8%,4 d 后其活性逐渐下降,8 d 时的活性仅为第 4 天的 43.3%,相当于刚采时 SOD 活性的 79.4%。CAT 活性同样在第 4 天达到峰值然后下降,而且下降幅度(61.2%)大于上升幅度(44.2%),8 d 后 CAT 活性仅为刚采时的 55.9%。

APX 活性的变化同 SOD、CAT 基本相似, 前 4 d 表现为缓慢上升, 上升幅度为 20.9%, 到第 4 天达到一个高值后其活性则呈现快速下降趋势, 各时间点之间差异显著, 到第 8 天时, APX 活性仅为第 4 天的 36.1%, 为刚采收时活性的 43.6%。在整个瓶插期间, POD 活性处于持续上升趋势, 刚采时活性最低, 到第 8 天时 POD 活性达到最高, 相当于刚采时的 2.24 倍。

2.4 O_2^- 产生速率、MDA 含量及 EL 的变化

从图 3 可以看出, 小苍兰切花在采后瓶插期间, 其花瓣中的 O_2^- 产生速率、MDA 含量及 EL 值均呈现持续上升的趋势, 第 8 天时达到最高。 O_2^- 产生速率相比刚采时提高了 3 倍多; 第 8 天时的 MDA 含量相当于刚采时的 227.9%; 同样 EL 值也在第 8 天达到最高(50.0%), 相当于刚采时的(8.4%) 6 倍多。

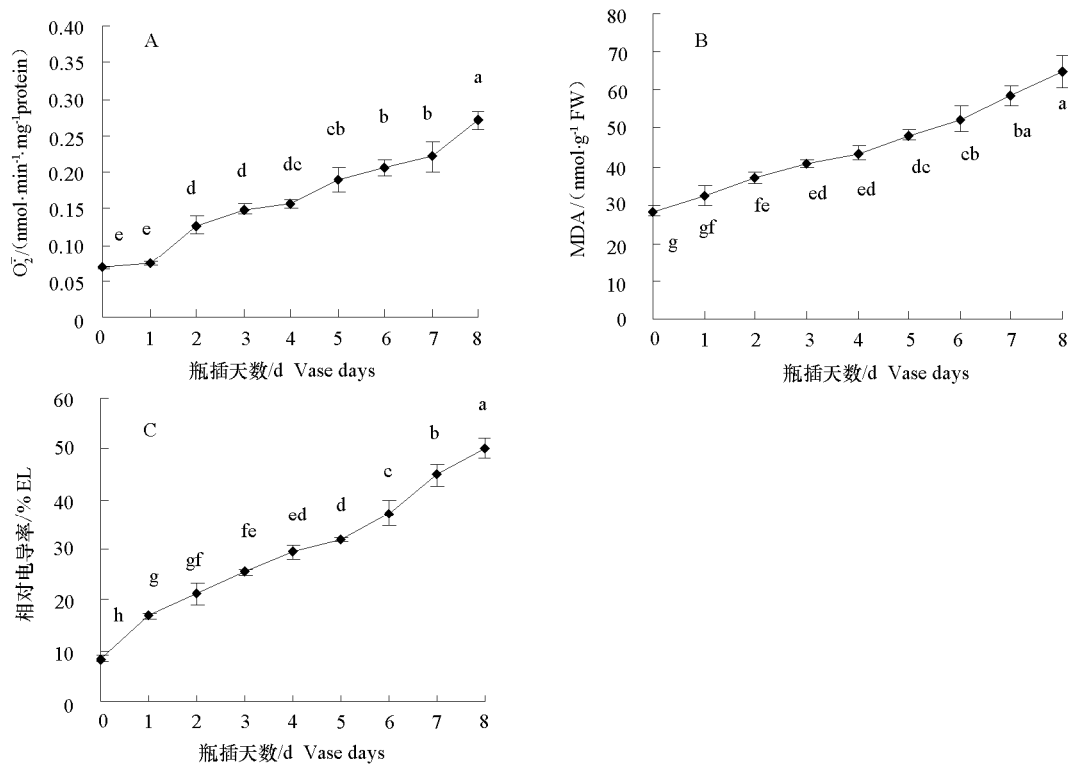


图 3 小苍兰切花采后 O_2^- 释放速率 (A), MDA 含量 (B) 和 EL (C) 的变化

Fig. 3 Changes of O_2^- production rate (A), MDA content (B) and EL (C) in cut *Freesia* flowers during vase holding

3 讨论

3.1 小苍兰切花瓶插过程中含水量和蛋白质含量的变化

水分代谢是鲜切花采后的主要生理过程, 当鲜花失水对正常的质量功能产生影响时, 即出现水分平衡失调, 水分的失调是导致鲜花衰败的主要原因 (孙守家 等, 2003)。小苍兰切花鲜样质量的 85% 左右都由水构成, 在花发育至盛开的过程中必须保持高水平的紧张度才能维持机体正常的生理代谢活动。瓶插初期, 切花花枝良好的吸水能力促进了花瓣开放, 表现为含水量增加; 瓶插后期由于花枝导管阻塞、细菌侵扰等原因, 蒸腾速率超过吸水速率, 体内水分平衡被破坏, 植物组织的水势降低, 花瓣中自然含水量逐步降低, 一直到持续到处理结束。花瓣含水量的降低表明植物及其器官趋向衰老。

在植物衰老的过程中,蛋白质的合成能力会减弱,与此同时,由于参与乙醛酸循环的酶、核糖核酸酶、肽酶、蛋白酶等水解酶的活性增强,蛋白质、膜磷脂等大分子发生分解,可溶性蛋白含量下降(van Doorn & Woltering, 2008)。在本试验中,小苍兰于第1朵小花刚显色时采收,花朵尚未发育成熟,采后初期以蛋白质合成为主,随发育程度的加深,可溶性蛋白含量随着花瓣的发育而缓慢增加。而从第5天开始,随着含水量的下降,切花的吸水与失水间的平衡打破,花瓣的生理活动开始衰退,花瓣开始衰老,可溶性蛋白水解加强,因此表现为其含量在瓶插第4天后出现了明显下降的趋势。

3.2 小苍兰切花瓶插过程中抗氧化酶活性的变化

小苍兰切花在瓶插过程中 O_2^- 释放速率不断提高,表明自采后瓶插开始,花瓣细胞就开始受到活性氧的伤害,并且受伤程度随着瓶插时间的延长而不断加深。细胞中 SOD、CAT、和 APX 等抗氧化酶的活性在小苍兰瓶插前期上升,表明保护酶类清除活性氧的能力逐渐提高,以及对轻微逆境的适应结果。到瓶插后期,细胞中抗氧化酶不足以清除过多的自由基,而导致花瓣衰老进程加快。与上述3个抗氧化酶活性先上升再下降的趋势不同的是,POD 活性在小苍兰鲜切花衰老过程中一直呈上升趋势,这与 Pauls 和 Thompson (1984)、刘雅莉等 (2000)、林如和薛秋华 (2002) 以及薛秋华等 (2005) 的研究结果一致。而 POD 活性在瓶插期间持续上升的机理一直不是很清楚,其原因有可能与 POD 利用 SOD 除自由基时产生的 H_2O_2 以及 POD 与乙烯的自身催化合成等因素有关(于凤鸣, 2000)。

3.3 小苍兰切花瓶插过程中细胞膜的变化

在植物细胞内,受自由基伤害最敏感的部位是细胞膜,这是因为细胞膜含有较多的不饱和脂肪酸,加之在膜的双层结构中有非极性区,氧的溶解度大(刘时中, 1983)。宋纯鹏和梅慧生 (1990) 用苯甲酸、没食子酸丙酯等自由基清除剂,通过推迟膜完整性的丧失,控制极性脂类分解以及过氧化脂类的大量产生,使康乃馨切花寿命延长。这直接证明了膜结构及功能的损伤直接来自自由基造成的伤害。在小苍兰鲜切花瓶插过程中,自由基逐步积累,活性氧胁迫增加,导致膜脂中最易受自由基的攻击的不饱和双链酸发生过氧化作用,而过氧化过程中又促进新的自由基产生,从而进一步加剧膜脂过氧化,最终导致膜的完整性受到破坏(通常会表现为膜透性增大和离子泄漏)。这正是小苍兰切花在采后瓶插期间丙二醛含量与相对电导率持续上升的原因所在。

综上所述,小苍兰切花采后瓶插过程中,前期花瓣自然含水量增加,蛋白质以合成为主,花瓣细胞内的抗氧化酶活性增加,表现出对逆境的前期适应。瓶插后期,随着水分平衡的打破,蛋白质不断分解,自由基的不断累积,抗氧化酶活性的下降,最终导致膜脂过氧化程度加强,渗透性增强,细胞膜的结构与功能受损。这一系列的生理变化共同促进了小苍兰切花的衰老。

References

- Che Sheng-quan, Sheng Yue-ying, Qin Wen-ying. 1997. Effects of light quality on meristem of *Freesia refracta* test tube culture. *Acta Horticulturae Sinica*, 24 (3): 269 - 273. (in Chinese)
- 车生泉, 盛月英, 秦文英. 1997. 光质对小苍兰茎尖试管培养的影响. *园艺学报*, 24 (3): 269 - 273.
- Chen Jian-xun. 2002. *Plant physiology experiments guidance*. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 陈建勋. 2002. *植物生理学实验指导*. 北京: 高等教育出版社.
- Chen Jian-xun, Wang Xiao-feng. 2006. *Plant physiology experiments guidance*. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 陈建勋, 王晓峰. 2006. *植物生理学实验指导*. 北京: 高等教育出版社.
- Chen Shi-lin, Huang Min-ling. 1991. Effects of pretreatment with chemicals on fresh preservation of cut *Freesia* flowers. *Subtropical Plant*

- Science, 20 (1): 40 - 44. (in Chinese)
- 陈诗林 黄敏玲. 1991. 化学药剂预处理对小苍兰蕾期切花的保鲜效果. 亚热带植物通讯, 20 (1): 40 - 44.
- Chen Shi-lin, Huang Min-ling. 1997. Soluble protein analysis and phylogenetic relationship of *Freesia* cultivars. Acta Horticulturae Sinica, 24 (3): 305 - 307. (in Chinese)
- 陈诗林 黄敏玲. 1997. 小苍兰品种间可溶性蛋白质及其亲缘关系分析. 园艺学报, 24 (3): 305 - 307.
- Li He-sheng. 2000. Plant physiology and biochemistry experimental principle and technology. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社.
- Lin Ru, Xue Qiu-hua. 2002. A research on the activities of antioxidant enzymes and the level of membrane lipid peroxidation in senescence process of *Gladiolus hybridus* cut flowers. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Nat Sci Ed, 31 (3): 352 - 355. (in Chinese)
- 林 如, 薛秋华. 2002. 唐菖蒲鲜切花瓶插衰老过程中抗氧化酶活性和膜脂过氧化水平初探. 福建农林大学学报: 自然科学版, 31 (3): 352 - 355.
- Liu Shi-zhong. 1983. Free radical and senescence. Biological Science, 14 (2): 147 - 152. (in Chinese)
- 刘时中. 1983. 自由基与衰老. 生物科学进展, 14 (2): 147 - 152.
- Liu Wu, Zhang Yu-ping, Lu Si-min, Li Ying-shan. 2008. Study on freshness preserving technologies of *Freesia* cut flower. Anhui Agricultural Science, 36 (23): 10173 - 10174. (in Chinese)
- 刘 武, 章玉平, 卢思敏, 黎颖珊. 2008. 小苍兰切花保鲜技术研究. 安徽农业科学, 36 (23): 10173 - 10174.
- Liu Ya-li, Wang Fei, Zhang En-rang, Zhou Cun-tian. 2000. Study on the relation of some changes of lily physiology and senescence in different growth periods. Acta Universitatis Agriculturae Boreali-occidentalis, 28 (1): 109 - 112. (in Chinese)
- 刘雅莉, 王 飞, 张恩让, 周存田. 2000. 百合花不同发育期生理变化与衰老关系的研究. 西北农业大学学报, 28 (1): 109 - 112.
- Pan Yuan-zhi, Liu Wei-dong. 1999. The impact of some chemical agents on freshness preserving of *Freesia* cut flower. Sichuan Forestry Science and Technology, 20 (1): 10 - 14. (in Chinese)
- 潘远智, 刘维东. 1999. 一些化学药剂对香雪兰切花保鲜的影响. 四川林业科技, 20 (1): 10 - 14.
- Pauls K P, Thompson J E. 1984. Evidence for the accumulation of peroxidized lipids in membranes of senescing cotyledons. Plant Physiol, 75: 1152 - 1157.
- Qian Hong-mei, Zhang Hua-lin, Gao Qiang, Yang Hui, Tang Dong-qin. 2006. Study on *in vitro* culture of bulblets from *Freesia refracta* Shangongjinghuanghou. Journal of Shanghai Jiao Tong University: Agricultural Science, 24 (5): 485 - 488. (in Chinese)
- 钱虹妹, 张华林, 高 强, 杨 晖, 唐东芹. 2006. 小苍兰“上农金黄后”球茎组织培养的初步研究. 上海交通大学学报: 农业科学版, 24 (5): 485 - 488.
- Qin Wen-ying, Lin Yuan-xiang. 1995. The research of *Freesia*. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press. (in Chinese)
- 秦文英, 林源祥. 1995. 小苍兰研究. 上海: 上海科学技术出版社.
- Spikman G. 1986. The effect of water stress on ethylene production and ethylene sensitivity of *Freesia* inflorescences. ISHS Acta Horticulturae, 181: 34 - 140.
- Spikman G. 1989. Development and ethylene production of buds and florets of cut *Freesia* inflorescences as influenced by silver thiosulphate, aminoethoxyvinylglycine and sucrose. Scientia Horticulturae, 39: 73 - 81.
- Song Chun-peng, Mei Hui-sheng. 1990. Regulation of formation and transformation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) in higher plants. Plant Physiology Communications, (4): 13 - 19. (in Chinese)
- 宋纯鹏, 梅慧生. 1990. 高等植物体内 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) 的形成, 转化的调节. 植物生理学通讯, (4): 13 - 19.
- Su Jun, Ye Wen. 1997. Effect of preservative containing ascorbic acid on several senescence indicators of *Freesia* cut flower. Acta Agriculturae Shanghai, 13 (4): 80 - 82. (in Chinese)
- 苏 军, 叶 文. 1997. 含抗坏血酸保鲜剂对小苍兰切花几个衰老指标的影响. 上海农业学报, 13 (4): 80 - 82.
- Sun Shou-jia, Chang Zong-dong, Qu Hong-yun, Zhao Lan-yong. 2003. A review of senescence mechanism and its preservative technology of postharvest cut flower. Shandong Forestry Science and Technology, (6): 50 - 53. (in Chinese)
- 孙守家, 常宗东, 曲红云, 赵兰勇. 2003. 鲜花采后衰老生理研究进展. 山东林业科技, (6): 50 - 53.
- van Doorn W G, Woltering E J. 2008. Physiology and molecular biology of petal senescence. J Exp Bot, 59 (3): 453 - 480.

