

一氧化碳对切花月季瓶插寿命和抗氧化代谢的影响

凌腾芳 张 博 林锦山 刘 辉 魏守阳 孙永刚 沈文飚 *

(南京农业大学生命科学学院, 生命科学实验中心, 江苏南京 210095)

摘要: 研究了不同浓度 (0.001 、 0.01 和 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的外源一氧化碳 (CO) 供体高铁血红素 (Hematin, H) 对切花月季 ‘影星’ 的瓶插寿命和抗氧化代谢的影响。结果表明, 与对照相比, CO供体在 $0.001 \sim 0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, 随使用浓度的提高延长了切花月季的瓶插寿命, 其中 $0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理效果最明显, 而 $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的处理反而缩短切花月季的瓶插寿命。进一步研究发现, H $0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理还不同程度地上调前期过氧化物酶、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活性, 显著降低 MDA 含量。

关键词: 一氧化碳; 月季; 切花; 高铁血红素; 瓶插寿命; 抗氧化代谢

中图分类号: Q 945; S 685.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2006) 04-0779-04

Effects of Carbon Monoxide on Vase Life and Antioxidative Metabolism in Cut Rose Flower

Ling Tengfang, Zhang Bo, Lin Jinshan, Liu Hui, Wei Shouyang, Sun Yonggang, and Shen Wenbiao *
(College of Life Science, Life Science Laboratory Center, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China)

Abstract: Effects of exogenous carbon monoxide (CO) donor (Hematin) at 0.001 , 0.01 and $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ on vase life and antioxidative metabolism in cut rose ‘Movie Star’ flower were investigated. Compared with the control flowers kept in distilled water, application of CO donor hematin ($0.001 \sim 0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) resulted in the prolonged vase life of cut rose in a dose-dependent manner. Between these treatments, the effect of $0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hematin (H 0.01) was the most effective in extending the vase life. However, the opposite effect of $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ hematin (H 0.1) was also found. Furthermore, application of H 0.01 apparently and differentially up-regulated the activities of peroxidase, catalase and superoxide dismutase, resulting in the apparent decrease of MDA content during the early holding period.

Key words: Carbon monoxide; Rose; Cut; Hematin; Vase life; Antioxidative metabolism

一氧化碳 (CO) 一直被认为是一种有毒气体。2003年 Otterbein等^[1]首次发现低浓度的 CO 气体可以有效降低高氧胁迫诱导的肺组织早期脂质过氧化水平, 从而具有保护功能。目前, 植物内源产生的 NO 已经被认为具有显著的抗衰老作用, 这与抗氧化酶调控有关^[2]; 同时, NO 也是一种有效的气体切花保鲜剂。例如外源 NO 可以抑制乙烯的产生, 延长三友花 (*Chamaelaelium uncinatum*) 和极美泰洛帕 (*Telopea speciosissima*) 切花的货架期^[3]。Badiyan等^[4]发现外源 NO 供体预处理可以不同程度地延长金鱼草、飞燕草、菊花、郁金香、非洲菊、百合、月季和荷兰鸢尾切花的瓶插寿命, 其中非洲菊的瓶插寿命能够延长大约两倍, 菊花则为 10%。作者考虑与 NO 功能相类似的 CO 可能也具有同样的切花保鲜作用。由于高铁血红素 (Hematin, H) 也是血红素氧合酶 (HO) 的底物, 生物体中的 HO 往往可以直接催化高铁血红素使体内迅速释放 CO 气体, 因此 H 也常常被直接用作 CO 供体^[5]。本文首次报道了外源低浓度的 CO 供体 H 对切花月季的延衰保鲜作用, 并从抗氧化代谢方面进行了初步的机理探讨。

收稿日期: 2005 - 12 - 05; 修回日期: 2006 - 03 - 25

基金项目: 江苏省青年科技创新人才学术带头人项目 (BK2004417); 南京农业大学 SRT 项目 (0606A07)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: wbshenh@njau.edu.cn)



1 材料与方法

1.1 材料与处理

试材为切花月季‘影星’(*Rosa hybrida* ‘Movie Star’), 购于南京市的园艺场。在1 h内运回实验室, 复水2 h, 挑选开花级数^[6]为2的鲜花, 处理前修剪枝叶, 只保留两片复叶, 花枝长30 cm。每瓶插5枝, 每组处理30枝, 重复3次, 瓶插液250 mL, 室温为25~30℃, 相对湿度为35%~60%, 并在散射光下进行试验。瓶插处理时所用的高铁血红素(Hematin, H)是常用的CO供体^[5], 购自Sigma公司, 其它试剂均为国产分析纯。

设如下处理: 蒸馏水(对照); H 0.1 μmol·L⁻¹; H 0.01 μmol·L⁻¹; H 0.001 μmol·L⁻¹; HQS(8-羟基喹啉硫酸盐)200 mg·L⁻¹; H 0.01 μmol·L⁻¹+HQS 200 mg·L⁻¹; H 0.001 μmol·L⁻¹+HQS 200 mg·L⁻¹。所用化学试剂均直接添加到瓶插液中, 且对瓶插液所用的瓶子进行密封处理。

1.2 测定方法和统计分析

瓶插寿命终点判断以最外层花瓣展开与花茎呈直角且露心, 或花朵未展开即失水萎蔫、弯颈为标志^[7]。自瓶插之日起, 在0、1、2、4、6、8 d时每次至少取5枝花记录花朵级数, 并用游标卡尺量取花的直径^[6]; 分别称鲜样质量, 80℃烘干称恒干样质量, 计算含水量。

取从外向内数第3、4层花瓣约1 g, 加入5 mL酶提取液(0.05 mol·L⁻¹ pH 7.8的磷酸缓冲液, 含1% PVP), 冰浴研磨至匀浆, 4℃冷冻离心(10 000 ×g, 20 min), 上清液即为粗酶液。测定丙二醛(MDA)含量^[8], 蛋白质含量^[9], 过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性^[10], 其中以抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原50%的酶量为一个SOD活性单位(U)。每组处理重复3次, 数据用平均值±标准误表示。采用Excel 2003软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 CO供体 Hematin以浓度依赖性的形式影响切花月季瓶插寿命

与对照相比, CO供体 Hematin以浓度依赖性的形式影响切花月季‘影星’的瓶插寿命(表1)。其中H 0.001和0.01 μmol·L⁻¹的处理分别比对照平均延长切花瓶插寿命2.3 d和3.5 d, 并与处理4 d后开花级数的缓慢增长相一致(图1), 但对花径增大率则没有明显影响。相反, H 0.1 μmol·L⁻¹处理显著缩短‘影星’切花的瓶插寿命, 降低花径的大小, 处理6 d时开花级数就迅速达到6级, 花朵呈萎蔫状, 切花迅速衰老(表1)。

表1 不同处理对切花月季‘影星’瓶插寿命的影响

Table 1 Effects of various treatments on vase life of cut rose ‘Movie Star’

处理 Treatment (μmol·L ⁻¹)	瓶插寿命 Vase life (d)	较对照增加 Percent over control (%)
对照 Control	6.1 ±0.1	-
H 0.1	5.3 ±0.2	- 13.1
H 0.01	9.6 ±0.1 **	57.4
H 0.001	8.4 ±0.3 **	37.7

* * P < 0.01, t-test



图1 Hematin处理对切花月季‘影星’外观的影响

Fig. 1 Effect of hematin treatment on appearance of cut rose ‘Movie Star’ for 6 days

HQS是切花保鲜剂中常见的杀菌剂。进一步将CO供体 Hematin与HQS进行组合试验, 发现各组合在一定程度上也提高了‘影星’的切花瓶插寿命, 其中H 0.01 μmol·L⁻¹+HQS的处理效果比较好, 与对照相比平均延长了2.1 d, 开花级数的增长也比较缓慢, 但是效果略逊于单独H 0.01 μmol·L⁻¹。

L^{-1} 的处理。由于观察到混合溶液中发生了严重的变色现象，推测可能与 HQS 和 Hematin 发生的化学反应有关。而 $\text{H}_2\text{O}\cdot 0.001 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} + \text{HQS}$ 的处理效果则比较差（具体数据未列）。

2.2 CO 供体 Hematin 延缓切花衰老的生化机理

2.2.1 Hematin 处理对切花月季含水量的影响

通常在切花月季的瓶插期间，切花的含水量随瓶插时间的延长而逐渐下降^[7]。前期 $\text{H}_2\text{O}\cdot 0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理后切花月季整株的含水量变化和对照基本一致，但中后期则显著延缓了花瓣含水量的下降 ($P < 0.05$)，例如在 4 d 和 6 d 时分别比对照提高了 11.7% 和 16.9%（图 2）。

2.2.2 Hematin 处理对切花月季花瓣 POD、CAT、SOD 活性和 MDA 含量的影响 研究发现， $\text{H}_2\text{O}\cdot 0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的瓶插液处理后，‘影星’切花花瓣内的 3 种抗氧化酶活性变化趋势都是先升高后降低。例如 POD 和 CAT 在处理第 1 天内就达到了最大值，分别比对照提高了 95.2% 和 86.6%，而 SOD 活性在第 2 天也达到了最大值。同时， $\text{H}_2\text{O}\cdot 0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 有效缓解了处理 2 d 时的脂质过氧化，MDA 含量明显降低 ($P < 0.01$ ，图 3)。此

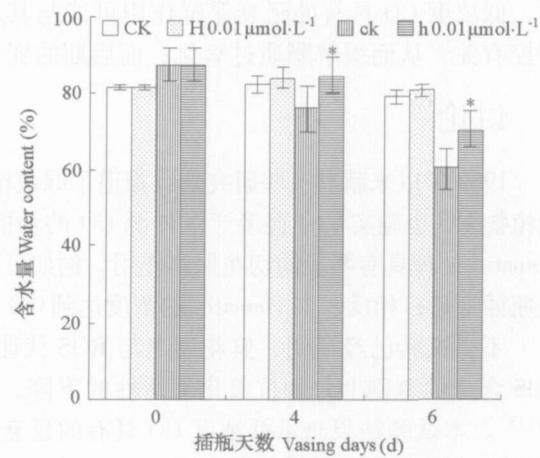


图 2 Hematin 对切花月季‘影星’瓶插期间整株 (CK, H 0.01) 和花瓣 (ck, h 0.01) 含水量的影响

Fig 2 Effects of hematin on water of flower (CK, H 0.01) and flower petal tissues (ck, h 0.01) in cut rose ‘Movie Star’ during vase
* $P < 0.05$, t -test

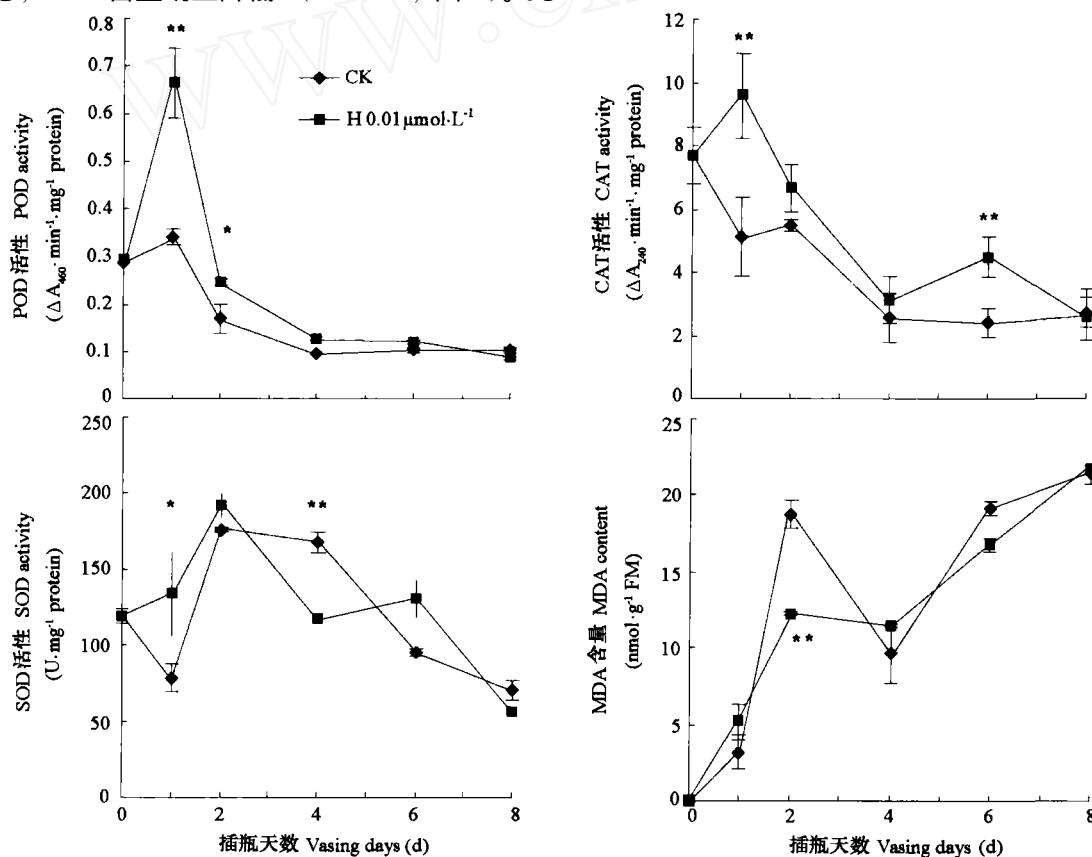


图 3 Hematin 对切花月季瓶插期间花瓣 POD、CAT、SOD 活性和 MDA 含量的影响

Fig 3 Effects of hematin treatment on the activities of POD, CAT, SOD and MDA content of flower petals in cut rose during vase

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. t -test

外， H_2O $0.001 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$ 处理也有类似的结果，不过诱导程度较低（具体数据未列）。另一方面，在切花衰老的后期， H_2O $0.01 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$ 处理的 POD 活性与对照相比没有显著差异，而 CAT 在第 6 天比对照提高了 86.7%，SOD 活性在第 4 天提高了 37.9%；MDA 含量则开始趋同（图 3）。上述结果表明，低浓度 CO 具有的延衰保鲜作用可能与其对前期活性氧（Reactive oxygen species, ROS）代谢的调控有关，从而缓解脂质过氧化；而后期的变化则可能是花开始不同程度劣变后的伴随现象。

3 讨论

1959 年以来就有一些研究陆续报道了绿色植物在光照下能直接释放 CO^[11]，而且目前的研究已经发现植物 HO 也确实具有直接产生内源 CO 的功能^[12]。在本试验中我们发现 $0.01 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$ 的 CO 供体 Hematin 处理具有明显的切花保鲜作用。例如可以提高处理中后期‘影星’切花月季花瓣的含水量，延缓瓶插寿命；相反，当 Hematin 的浓度达到 $0.1 \mu\text{mol} \cdot L^{-1}$ 时，切花月季的瓶插寿命明显缩短。

不少试验已经证明，鲜花衰老与 ROS 代谢有着密切的关系。在切花衰老的同时往往伴随着早期 ROS 含量的急剧上升和抗氧化酶活性的下降，从而导致严重的脂质过氧化，并进一步加速了衰老进程^[13]。本试验结果暗示低浓度 CO 具有的延衰保鲜作用可能与其对前期 ROS 代谢的调控有关，从而缓解脂质过氧化。

与 NO 相比，由于 CO 不是自由基，在切花保鲜的应用过程中 CO 所导致的氧化损伤会远低于 NO 处理。已经发现动物组织中的内源 CO 具有类似于 NO 的功能，因此植物 CO 的研究也将逐渐深入。总之，今后如何将 CO 与其它有效的配套措施相结合，并广泛地应用于不同切花品种的采后保鲜，还有待于进一步的探索，但无疑将具有广泛的应用前景。

参考文献：

- 1 Otterbein L E, Otterbein S L, Ifedigbo E, Liu F, Morse D E, Feams C, Ulevitch R J, Knickelbein R, Flavell R A, Choi A M. MKK3 mitogen-activated protein kinase pathway mediates carbon monoxide-induced protection against oxidant-induced lung injury. *American Journal of Pathology*, 2003, 163: 2555 ~ 2563
- 2 Tu J, Shen W B, Xu L L. Regulation of nitric oxide on the aging process of wheat leaves. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45: 1055 ~ 1062
- 3 Leshem Y Y, Wills R B H. Harnessing senescence delaying gases nitric oxide and nitrous oxide: a novel approach to postharvest control of fresh horticultural produce. *Biologia Plantarum*, 1998, 41: 1 ~ 10
- 4 Badiyan D, Wills R B H, Bowyer M C. Use of a nitric oxide donor compound to extend the vase life of cut flowers. *HortScience*, 2004, 39: 1371 ~ 1372
- 5 Lamar C A, Mahesh V B, Brann D W. Regulation of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) secretion by heme molecules: a regulatory role for carbon monoxide? *Endocrinology*, 1996, 137: 790 ~ 793
- 6 白双义, 刘青林. 月季切花不同品种衰老征兆及瓶插寿命的比较. *园艺学报*, 2001, 28 (4): 364 ~ 366
Bai S Y, Liu Q L. Preliminary study on the senescence symptom and vase life of different cultivars of cut rose. *Acta Horticulturae Sinica*, 2001, 28 (4): 364 ~ 366 (in Chinese)
- 7 蔡永萍, 聂凡, 张鹤英, 于红秀. 水杨酸对月季切花的保鲜效果和生理作用. *园艺学报*, 2000, 27 (3): 228 ~ 230
Cai Y P, Nie F, Zhang H Y, Yu H X. Influence of salicylic acid on vase life and physiological action of cut rose flower. *Acta Horticulturae Sinica*, 2000, 27 (3): 228 ~ 230 (in Chinese)
- 8 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2003. 260 ~ 263
Li H S. Principles and techniques of plant physiological and biochemical experiment. Beijing: High Education Press, 2003. 260 ~ 263 (in Chinese)
- 9 Bradford M W. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248 ~ 254
- 10 Ruan H H, Shen W B, Xu L L. Protective effects of nitric oxide on salt stress-induced oxidative damage to wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *Chinese Science Bulletin*, 2002, 47: 677 ~ 681
- 11 Wilks S S. Carbon monoxide in green plants. *Science*, 1959, 129: 964 ~ 966
- 12 Muramoto T, Tsurui N, Terry M J, Yokota A, Kohchi T. Expression and biochemical properties of a ferredoxin-dependent heme oxygenase required for phytochrome chromophore synthesis. *Plant Physiology*, 2002, 130: 1958 ~ 1966
- 13 Hodges D M, Lester G E, Munro K D, Toivonen P M. Oxidative stress: importance for postharvest quality. *HortScience*, 2004, 39: 924 ~ 929