

一氧化氮对切花月季瓶插过程中 乙烯合成代谢的影响

张少颖, 饶景萍, 高 慧

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 为了分析外源 NO 处理对切花月季瓶插过程中乙烯生物合成代谢的影响。以月季切花为试材, 用 NO 供体硝普钠(SNP)和 NO 清除剂 PTIO (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide) 瓶插处理切花月季, 研究外源 NO 供体 SNP 对月季切花的保鲜作用。结果表明, 0.1 mmol/L SNP 释放的 NO 可降低月季切花的萎蔫率, 延长瓶插寿命, 增加花枝鲜重, 抑制花瓣中花色苷含量和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的升高, 抑制月季呼吸速率和乙烯释放量并延缓二者跃变高峰的出现, 抑制脂氧合酶(LOX)、ACC 合成酶(ACS)、ACC 氧化酶(ACO)活性的上升及 ACC 含量累积, 用 PTIO 处理则获得了理想的反证结果。以上结果表明, NO 对切花月季衰老的调节与月季花瓣中乙烯生物合成相关。

[关键词] 切花月季(*Rose hybrida*); 一氧化氮; 乙烯合成

[中图分类号] S685.12

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)11-0171-05

Effects of nitric oxide on ethylene synthesis and metabolism of cut rose during vase

ZHANG Shao-ying, RAO Jing-ping, GAO Hui

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract : To study the effect of exogenous NO and the ethylene biosynthesis in petals of cut rose, with sodium nitroprusside (SNP) used as a nitric oxide (NO) doner, its scavenger PTIO (2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide) were used for experimentation. The results showed that NO resulting from 0.1 mmol/L SNP aqueous solution decreased wilt rate, increased fresh mass, prolonged vase life, slowed down the increase of anthocyanin content and PAL activity, decreased the respiration rate and ethylene production, delayed the respiration and ethylene peaks, inhibited the increase of LOX, ACS and ACO activity, and decreased ACC accumulation. The contrary results were obtained in PTIO treated flowers.

Key words : rose (*Rose hybrida*); NO; ethylene synthase

近年来,一氧化氮(NO)被认为是在植物中普遍存在的关键信号分子^[1],它参与了植物许多生长发育过程的调控,包括促进种子的萌发和侧根的形成,抑制植物组织的成熟衰老,并作为信号分子参与植物抗病防御反应和胁迫响应^[2-4]等,具有广泛的生理

效应。在植物组织的成熟和衰老进程中,内源 NO 含量的下降与乙烯产量的升高密切相关^[5]。未成熟果实中的 NO 含量较成熟果实中高,且随着果实的成熟和衰老,其内源 NO 逐渐降低,乙烯含量逐渐升高,而施用外源 NO 可延缓果实的成熟和衰老,表明

†收稿日期] 2006-10-16

[基金项目] 陕西省科技攻关项目(2005 K01-G12-01)

[作者简介] 张少颖(1977-),女,陕西户县人,在读博士,主要从事园艺产品采后生理研究。

[通讯作者] 饶景萍(1957-),女,陕西汉中,教授,博士生导师,主要从事园艺产品采后生理研究。

NO 可作为植物的生长调节剂来调控果实的成熟和衰老^[6],其作用机制可能与抑制乙烯产生有关。因此,研究 NO 对植物成熟衰老过程中的作用及其与植物内源乙烯合成的关系具有非常重要的意义。用 PBN (N-t-butyl- α -phenylnitrone) 和 SIN-1 (3-morpholinosyl-nonimine) 等 NO 释放剂熏蒸三友花 (*Chanaelaucium uncinatum*) 和极美泰洛帕 (*Telopea speciosissima*) 鲜切花发现,花朵和萼片更加紧凑而舒展,货架期延长 50%~150%^[7]。同样,在康乃馨的培养液中加入 PBN 和 SIN-1 可以有效抑制 ACC 引起的花瓣变褐和萎蔫。因而 Leshem 等^[8]提出,NO 可能通过调控 ACC 合成酶及 ACC 氧化酶的活性而抑制乙烯的生物合成,调控植物组织的成熟与衰老。目前,有关这方面的研究还很少,而 NO 对乙烯的调控机制还有待于进一步证实。为此,本试验以月季切花为试材,研究了外源 NO 供体硝普钠 (SNP) 对月季切花的保鲜作用,并以月季瓶插过程中乙烯生物合成为切入点,试图了解 NO 延缓植物衰老的作用机制,以期 NO 在切花保鲜上的应用提供理论依据,并为揭示 NO 调控植物成熟衰老的作用机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为切花月季 (*Rose hybrida*) 品种 'Kardinal', 采自西北农林科技大学花卉基地。按照商业采收标准,即开花级数 2 级时采收月季花^[9]。NO 供体 SNP 和 NO 清除剂 2-苯基-4,4,5,5-四甲基咪唑啉-1-羟-3-氧 (PTIO), 均由 Sigma 公司生产。

1.2 方法

月季采切后进行以下处理: (1) S 处理, 用 0.1 mmol/L SNP 溶液瓶插 3 h; (2) S + P 处理, 用 0.1 mmol/L SNP 溶液瓶插 3 h 后, 再于 0.05 mmol/L PTIO 溶液中瓶插 3 h; (3) 对照 (CK), 用蒸馏水瓶插 3 h。试验重复 3 次, 每次重复 30 枝花。每日定时混合取样 10 g 用于生理指标的测定。

瓶插寿命是从瓶插之日起到花瓣出现萎蔫、弯颈或蓝变前 1 d 的瓶插天数, 为 10 枝花的平均值; 萎蔫率为每 50 枝花中萎蔫枝数; 鲜重增加率/ % = (花枝鲜重 - 初始鲜重) / 初始鲜重 $\times 100$ %; 呼吸速率采用 HEL-7001 型红外二氧化碳测定仪测定; 乙烯释放速率用美国热电 GL-94PTF 气相色谱仪测定, FID 检测器, 柱温 70 $^{\circ}\text{C}$, 检测室温度 150 $^{\circ}\text{C}$, 外标法测定; 花色素苷含量参照庞学群等^[10]的方法测

定; 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性参考张兰等^[11]的方法测定, 以每 h 在 290 nm 处吸光度变化 0.01 为一个酶活单位 U, 酶活性用 U / (g $\cdot$ h) 表示; 脂氧合酶 (LOX) 活性按吴敏等^[12]的方法测定, 酶活性以 OD₂₃₄ / (min $\cdot$ g) 表示; ACC 合成酶 (ACS) 和 ACC 氧化酶 (ACO) 活性分别按照吴有梅等^[13]和 Nadeau 等^[14]的方法测定, ACS 和 ACO 活性用乙烯释放量表示, 记为 $\mu\text{L} / (\text{kg} \cdot \text{h})$; ACC 含量按 Lizada 等^[15]的方法测定。每项指标重复测定 3 次, 取 3 次重复的平均值, 数据统计分析采用 DPS 数据处理系统进行 Duncan's 多重比较检验。

2 结果与分析

2.1 外源 NO 对月季萎蔫率、瓶插寿命和鲜重增加率的影响

外源 NO 及其清除剂处理对萎蔫率、瓶插寿命和鲜重增加率的影响见表 1 和图 1。

表 1 外源 NO 及其清除剂处理对切花月季 'Kardinal' 萎蔫率和瓶插寿命的影响

Table 1 Effects of exogenous NO donor and its scavenger on wilt rate and vase life of cut rose 'Kardinal'

处理 Treatment	萎蔫率/ % Wilt rate	瓶插寿命/ d Vase life
CK	33.67 a	6.0 $\pm$ 0.0 b
S	25.67 b	7.0 $\pm$ 0.5 a
S + P	34.67 a	6.7 $\pm$ 0.3 a

注: 同列数据后的不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

Note: Different small letters after the same line data show significant difference at 0.05 levels.

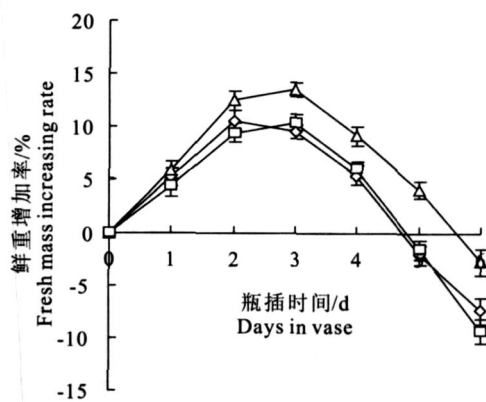
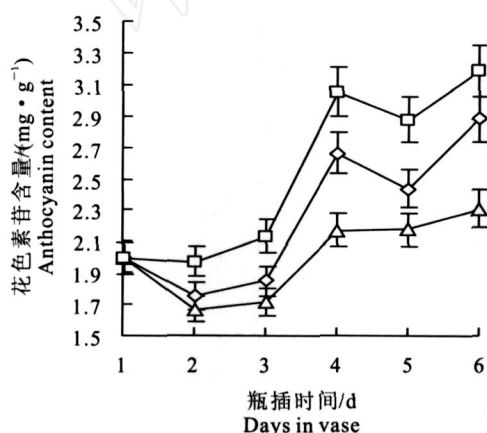


图 1 外源 NO 及其清除剂处理对切花月季 'Kardinal' 瓶插期间鲜重增加率的影响

Fig. 1 Effects of NO donor and its scavenger on fresh mass increase of cut rose 'Kardinal' during vase

- ◇ - CK; - △ - S; - □ - S + P

由表 1 可知, S 处理月季的萎蔫率显著低于对照和 S + P 处理, 对照与 S + P 处理差异不显著。S 和 S + P 处理月季的瓶插寿命分别较对照增加 1.0 和 0.7 d, 差异达显著水平, 但 S 和 S + P 处理月季的瓶插寿命差异不显著。由图 1 可以看出, 在月季瓶插期间, 对照与各处理花枝的鲜重增加率均呈现先上升后下降的变化趋势, 但不同处理切花月季的鲜重增加率 0 值出现的时间不同, 对照和 S + P 处理的 0 值都在瓶插第 4~5 天出现, S 处理则在第 5~6 天达到 0 值。在整个瓶插期间, S 处理花枝的鲜重增加率均显著大于对照和 S + P 处理 ($P < 0.05$), 且其随后的下降速度也较对照和 S + P 处理缓慢。因此, 外源 NO 处理可以延缓月季切花 'Kardinal' 的衰老, 延长其货架期。



2.2 外源 NO 对月季花瓣中花色素苷含量和 PAL 活性的影响

花色素苷是苯丙氨酸代谢途径的产物, 其合成与 PAL 活性密切相关。由图 2 可以看出, 月季花瓣中花色素苷含量在采后第 2 天有所下降, 随后上升, 于采后第 4 天达到峰值, 在花瓣衰老后又略有下降, 随后又因花瓣失水其相对含量再次上升。S 处理的花色素苷含量瓶插期间均显著低于对照 ($P < 0.05$), 而 S + P 处理抑制 SNP 的这一效应, 使花瓣中花色素苷含量增加。在月季瓶插期间, 各处理的 PAL 活性变化趋势相似, 即先缓慢上升, 再迅速上升, 而后上升速度趋于平缓。SNP 处理花瓣中 PAL 活性在整个瓶插期间均显著低于对照 ($P < 0.05$), 而 S + P 处理使花瓣的 PAL 活性再次升高。

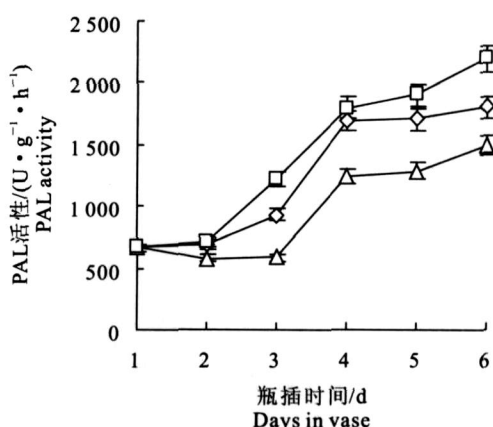


图 2 外源 NO 及其清除剂处理对切花月季 'Kardinal' 花瓣中花色素苷含量和 PAL 活性的影响

Fig. 2 Effects of exogenous NO donor and its scavenger on anthocyanin content and PAL activity in petals of cut rose 'Kardinal' during vase

◇: CK; △: S; □: S + P

2.3 外源 NO 对月季呼吸速率和乙烯释放速率的影响

呼吸速率和乙烯释放量是反映园艺产品采后成熟衰老的重要指标。由图 3 可知, 切花月季 'Kardinal' 近似为呼吸跃变型切花。S 处理和对照的呼吸速率分别在瓶插第 5 天和第 4 天出现呼吸高峰, S 处理较对照的跃变高峰推迟 1 d, 且峰值较对照低 15.10%, 除第 6 天外, S + P 处理的呼吸速率均显著高于 S 处理 ($P < 0.05$), 但二者呼吸高峰出现时间一致。相对于呼吸跃变峰, 切花月季 'Kardinal' 的乙烯跃变高峰出现更早, 对照和 S 处理分别出现在瓶插第 3 天和第 4 天, 为 41.795 和 23.429 $\mu\text{L}/(\text{kg} \cdot \text{h})$, S 处理较对照低 43.94%; S + P 处理使月季乙烯释放速率增大, 峰值升高, 跃变峰较 S 处

理提前 1 d, 由此推测, NO 可能参与月季衰老过程中内源乙烯的生物合成。

2.4 外源 NO 对月季花瓣中 LOX、ACS、ACO 活性及 ACC 含量的影响

研究表明, 植物体内 ACC 含量和乙烯释放量受控于 ACS 和 ACO 活性的高低^[12], 而柯德森等^[16]研究发现, 脂氧合酶催化的脂质过氧化产物也参与植物体内源乙烯的合成。因此, LOX、ACS、ACO 活性及 ACC 含量的变化可以反映植物体内乙烯的生成状况。

LOX 与组织衰老密切相关。月季瓶插期间花瓣组织中 LOX 活性变化见图 4。由图 4 可以看出, 在瓶插第 2 天, 3 个处理的 LOX 活性均出现一小峰, 第 3 天有所下降, 而后又上升, 对照和 S + P 处理

的 LOX 活性最大值出现在瓶插第 5 天, S 处理活性的最大值则出现在第 6 天, 较前两者推后 1 d, 其峰值最低(低于对照 18.18%)。由此表明, NO 可以抑

制月季瓶插期间 LOX 活性的上升, 延缓月季切花的衰老进程。

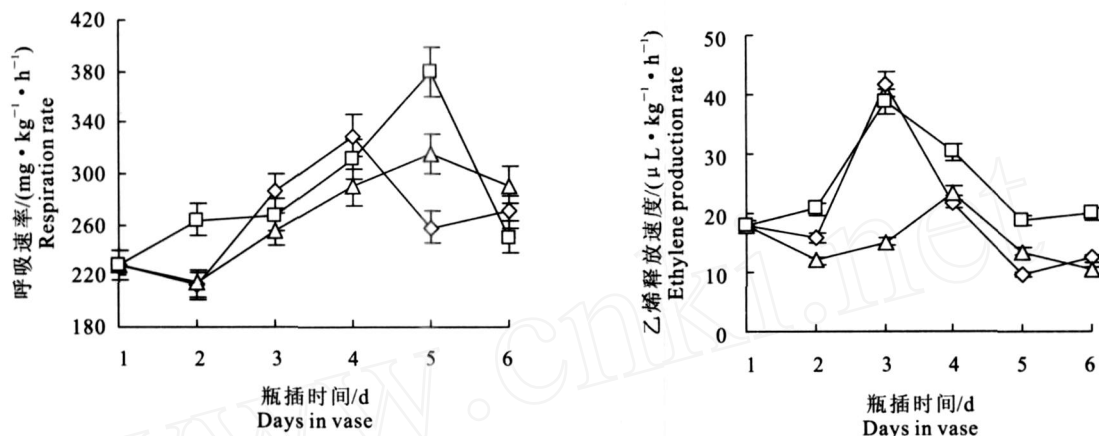


图 3 外源 NO 及其清除剂处理对切花月季 'Kardinal' 瓶插期间呼吸速率和乙烯释放速率的影响

Fig. 3 Effects of exogenous NO donor and its scavenger on respiration rate and ethylene production rate in petals of cut rose 'Kardinal' during vase

-◇-. CK; -△-. S; -□-. S+P

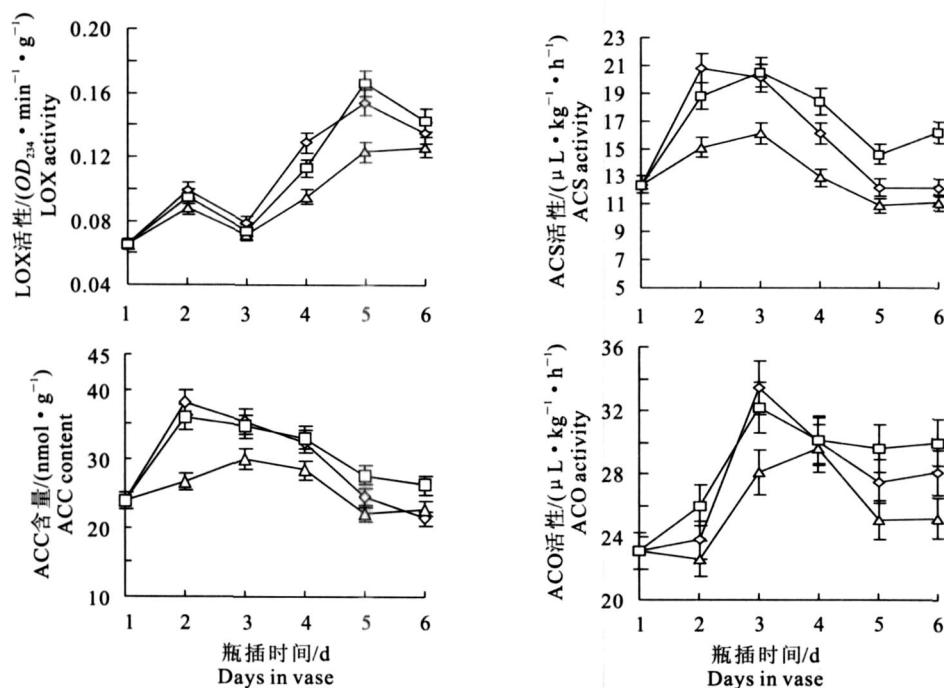


图 4 外源 NO 及其清除剂处理对切花月季 'Kardinal' 花瓣中 LOX、ACS、ACO 活性及 ACC 含量的影响

Fig. 4 Effects of exogenous NO donor and its scavenger on LOX, ACS, ACO activity and ACC content in petals of cut rose 'Kardinal' during vase

-◇-. CK; -△-. S; -□-. S+P

图 4 表明, 月季瓶插期间 ACS 活性表现为先升后降的趋势。与对照相比, S 处理极显著抑制了月季瓶插期间 ACS 活性的升高(峰值下降 22.60%), 并推迟了峰值的出现时间(推后 1 d), 而 S+P 处理

使 ACS 活性再次升高。表明 NO 可能通过调节 ACS 活性调控月季衰老过程中的乙烯合成。

由图 4 可见, 随着 ACS 活性的上升, 月季花瓣中 ACC 含量也上升, 除第 6 天外, S 处理花瓣中

ACC 含量显著低于对照 ($P < 0.05$), 且其峰值较对照推后 1 d, 而 S + P 处理不但可使花瓣中的 ACC 含量再次升高, 而且其峰值较 S 处理提前 1 d。由此推断, NO 可能参与了切花衰老过程中 ACC 的合成。

ACO 是植物衰老过程中乙烯生物合成的另一个关键酶。如图 4 所示, 月季花瓣中 ACO 活性也呈现先上升后下降的变化趋势, S 处理的 ACO 活性峰值显著低于对照 ($P < 0.05$), 且峰值推后 1 d; S + P 处理使 ACO 活性峰值较 S 处理提前 1 d, 在整个瓶插期间, 除第 1 天、第 4 天外, S + P 处理 ACO 活性均显著高于 S 处理 ($P < 0.05$)。由此可见, NO 也可以通过降低衰老过程中的 ACO 活性抑制乙烯的生物合成, 从而延缓切花的衰老。

3 讨论

本研究结果表明, SNP 处理减少了月季切花的萎蔫率, 延长了瓶插寿命, 延缓了切花衰老过程中的水分丧失, 保持了较好的花瓣膨压, 延缓了月季切花的衰老。外源 NO 能降低切花的呼吸和乙烯释放 (与 Wills 等在草莓上的试验结果相似^[16]), 推迟二者的跃变高峰, 说明 NO 可能通过抑制切花内源乙烯的作用来延缓月季切花衰老的启动, 从而延长切花的瓶插寿命。PAL 活性与切花花瓣中花色苷含量密切相关, 外源 NO 可以通过抑制花瓣中 PAL 活性而降低花色苷含量, 延缓由于衰老引起的花色加深。

乙烯是促进成熟衰老的激素, 增加乙烯生成量和改变组织对乙烯的敏感性均可调节切花的衰老。植物体中的乙烯是通过 ACC 合成酶 (ACS) 催化 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 形成 ACC, 随后 ACC 被 ACC 氧化酶 (ACO) 氧化形成乙烯。乙烯的生物合成过程中有自由基和氢过氧化物的参与。LOX 途径中产生的超氧自由基参与了 ACC 生成乙烯的过程^[17-18], 自由基可以作为 ACC 氧化酶激活剂^[16], 促使乙烯的生物合成。Lynch 等^[19]研究表明, 康乃馨花组织中 ACC 向乙烯的转化过程就有 LOX 催化的脂质过氧化产物的参与。本试验结果显示, 外源 NO 抑制了 LOX 活性, 而外源 NO 加其清除剂的处理使其活性再次升高, 由此推断 NO 参与了月季衰老过程中的 LOX 活性调节, 抑制了衰老过程中活性氧自由基的产生, 从而抑制了由于脂质过氧化引发的乙烯生物合成, 延缓了月季切花的衰老, 延长了切花月季 'Kardinal' 的瓶插寿命。在植物组织乙烯生

物合成过程中, ACS 和 ACO 是乙烯生物合成中的 2 个关键酶^[5]。研究表明, NO 参与乙烯生物合成的调控过程, 可以通过其辅引子 (抗坏血酸和 Fe^{2+}) 的氧化灭活作用抑制顺乌头酸酶和 ACC 合成酶活性, 从而降低乙烯及其相关物质的释放速率^[20]。本试验结果显示, 外源 NO 既可抑制月季切花乙烯合成中关键酶 ACS 的活性, 减少关键酶 ACO 催化的底物 ACC 的产量, 同时又降低了 ACO 的活性, 从而抑制了乙烯的生物合成。这恰好验证了 Leshem 等^[8]的假说, 即 NO 可以通过调控 ACC 合成酶及 ACC 氧化酶而抑制乙烯的合成。综上所述认为, 在切花月季瓶插过程中, 外源 NO 供体 SNP 可能通过调节衰老过程中 LOX 的活性, 抑制由于脂质过氧化引发的乙烯合成; 也可以通过调控乙烯生物合成中的关键酶 ACS 和 ACO 的活性, 抑制由于乙烯引发的切花衰老, 从而延长切花月季的瓶插寿命。

[参考文献]

- [1] 程红焱, 宋松泉. 植物一氧化氮生物学的研究进展[J]. 植物学通报, 2005, 22(6): 723-737.
- [2] He Y K, Zhang F X, Liu Y Z, et al. Nitric oxide: a new growth regulator in plants[J]. J Plant Molecular Biol, 2002, 28(5): 325-332.
- [3] Mata C G, Lamattina L. Nitric oxide and abscisic acid cross talk in guard cells[J]. Plant Physiol, 2002, 128: 790-792.
- [4] Ferguson B J, Mathesius U. Signaling interactions during nodule development[J]. J Plant Growth Regul, 2003, 22: 47-72.
- [5] Leshem Y Y, Haramaty E. The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn. foliage[J]. J Plant Physiol, 1996, 148: 258-263.
- [6] 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[J]. Biol Plant, 1998, 41: 1-10.
- [7] Leshem Y Y, Wills R B H, Ku V V V. Evidence for the function of the free radical gas-nitric oxide (NO)-as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants[J]. Plant Physiol Biochem, 1998, 36(11): 825-833.
- [8] Leshem Y Y, Wills R, Ku V. Applications of nitric oxide (NO) for postharvest control[J]. Acta Hort ISHS, 2001, 553: 571-575.
- [9] Ye Z H, Varner J E. Induction of cysteine and serine proteases during xylogenesis in *Zinnia elegans*[J]. Plant Molecular Biology, 1996, 30: 1233-1246.
- [10] 庞学群, 张昭其, 段学武, 等. pH 和温度对荔枝花色苷稳定性的影响[J]. 园艺学报, 2001, 28(1): 23-27.

(下转第 180 页)

标,十六烷值对柴油机的运转影响较大,内燃机车用柴油必须有合适的十六烷值,否则将引起柴油机的敲缸、机件的加速磨损,甚至损坏连杆轴承。较高的十六烷值能使生物柴油在发动机中运行更流畅,噪音更小。本研究制备的生物柴油的十六烷值接近 0# 柴油。

2.3.11 馏程 表 5 表明,生物柴油中的各种脂肪酸甲酯结构较为相似,沸点范围较窄,在 325~350 °C,馏程影响燃料的表现和安全性,及发动机的启动和暖化,样品 50 %回收温度超过了国家标准,表明本研究制备的生物柴油中低碳数的脂肪酸甲酯较少。

综合以上研究结果可以看出,本研究制备的生物柴油的主要性能指标大部分达到或接近国家 0# 柴油标准,其余指标还可在桐油制备生物柴油的工艺中进一步进行改进。说明桐油可以作为生物柴油的原料,由桐油制备的生物柴油可以作为矿质柴油的替代品或者调和组分。

[参考文献]

- [1] 翼 星, 郝小林, 孔林河, 等. 生物柴油技术研究进展与产业前景[J]. 中国工程科学, 2002, 4(9): 86-93.
- [2] 谭天伟. 生物柴油的开发与应用[J]. 现代化工, 2002, 22(2): 4-6.
- [3] Fangrui M, Milford A, Hanna. Biodiesel production: a review[J]. Bioresource Technology, 1999, 70: 1-15.
- [4] 范 航, 张大年. 生物柴油的研究与应用[J]. 上海环境科学, 2000, 19(11): 516-518.
- [5] 邵崇斌. 概率论与数理统计[M]. 北京: 中国林业出版社, 2003.
- [6] Zheng S, Kates M, Dube M A, et al. Acid-catalyzed production of biodiesel from waste frying oil[J]. Biomass and Bioenergy, 2006, 30: 267-272.
- [7] 盛 梅, 郭登峰, 张大华. 大豆油制备生物柴油的研究[J]. 中国油脂, 2002, 27(1): 70-72.
- [8] Zullaikah S, Lai C C, Vali S R, et al. A two-step acid-catalyzed process for the production of biodiesel from rice bran oil[J]. Bioresource Technology, 2005, 96: 1889-1896.
- [9] GB 252 - 2000, 中华人民共和国轻柴油标准[S].
- [10] 刘伟伟, 张无敌. 生物柴油的理化性质及质量指标[J]. 能源工程, 2006, 1: 27-31.
- [11] 张 兰, 郑永华, 汪 峰, 等. 热激处理对冷藏蚕豆种子褐变和有关酶活性的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2003, 29(4): 327-331.
- [12] 吴 敏, 陈昆松, 张上隆. 桃果实采后成熟过程中脂氧合酶活性变化[J]. 园艺学报, 1999, 26(4): 227-231.
- [13] 吴有梅, 刘 愚. 番茄果实成熟过程中钙调素含量变化及其与乙烯生成的关系[J]. 植物生理学报, 1990, 16(3): 245-250.
- [14] Nadeau J A, Zhang X S, Nair H, et al. Temporal and spatial regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase in the pollination-induced senescence of orchid flowers[J]. Plant Physiol, 1993, 103: 31-39.
- [15] Lizada M C C, Yang S F. A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid[J]. Analytical Biochemistry, 1979, 100: 140-145.
- [16] 柯德森, 王爱国, 罗广华. 自由基与乙烯生物合成的关系[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(6): 447-450.
- [17] Wills R B H, Ku V V V, Leshem Y Y. Fumigation with nitric oxide to extend the postharvest life of strawberries[J]. Postharvest Biology and Technology, 2000, 18(1): 75-79.
- [18] Kacperska A, Kubacka-Zebalska M. Formation of stress ethylene depends both on ACC synthesis and on the activity of free radical-generating system[J]. Physiol Plant, 1989, 77: 231-237.
- [19] Lynch D V, Sridhara S, Thompson J E. Lipoxygenase-generated hydroperoxides account for the nonphysiological features of ethylene formation from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid by microsomal membranes of carnations[J]. Planta, 1985, 164: 121-125.
- [20] 朱树华, 周 杰, 束怀瑞. 植物中一氧化氮与园艺产品的成熟和衰老[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(6): 733-740.

(上接第 175 页)