

郭巧会,章四庆,吴玲,等. 噻苯隆预处理结合低温储藏对杨桐切枝衰老的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):252-254.

噻苯隆预处理结合低温储藏对杨桐切枝衰老的影响

郭巧会¹, 章四庆², 吴玲², 申雪颖², 杨金雨露², 赖齐贤¹

(浙江农林大学风景园林与建筑学院, 浙江临安 311300)

摘要:为了研究噻苯隆(TDZ)预处理液对低温储藏过程中杨桐切枝品质和生理生化的影响,以杨桐切枝为试材,采用 TDZ 预处理液浸泡杨桐枝条基部 24 h,以湿藏法于 2~4 ℃ 环境中低温储藏 37 d。结果表明,TDZ 预处理结合低温储藏能够推迟杨桐叶片的黄化,延缓可溶性蛋白和叶绿素含量的下降,提高 CAT 和 SOD 活性,降低相对电导率、MDA 含量,增加切枝的瓶插寿命。

关键词:杨桐;噻苯隆(TDZ);低温储藏;衰老

中图分类号:S609+.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)08-0252-03

杨桐(*Cleyera japonica* Thunb.)在日本称为“神木”,大量用于供神祭佛已有 2 000 多年历史^[1],是日本插枝的主要原料,我国年均出口量约占日本年均总需求量的 65%,产生了巨大的社会效益和经济效益^[2]。日本对杨桐的需求一年四季不断^[3],为了提供长期的杨桐产品,国内各公司都会预先数周或 1 个月对产品进行制作和储藏,加上从我国内地到日本要经历 1 周时间的海运,所以储藏和运输最长需要 40 d,这段时间的低温环境对杨桐保鲜至关重要。噻苯隆(TDZ)是 Schering 公司 1976 年合成的新型植物生长调节剂,化学名为 *N*-苯基-*N'*-1,2,3-噻二唑-5-脒^[4]。TDZ 具有一般细胞分裂素 1 000 倍以上的活性,通常使用的浓度有高浓度(100 μmol/L)和低浓度(1 μmol/L),分别用在脱叶灵或组培中促进再生^[5]。近年来,Ferrante 等发现,TDZ 能延长六出花、菊花、羽扇豆、郁金香和夹竹桃等鲜切花的寿命,还能延缓叶片黄化,但其反应机制还未确定^[6-9]。另外,Ferrante 等对桉树切枝进行 24 h TDZ 脉冲处理的研究表明,它对桉树切枝的瓶插寿命影响不大,但可以很好地抑制叶绿素降解^[10]。本研究使用 TDZ 浸泡杨桐枝条基部 24 h,用湿藏法于 2~4 ℃ 环境中低温储藏 37 d,探讨低温储藏期新型保鲜预处理剂 TDZ 对杨桐品质及生理生化特性的影响,以期为杨桐的储藏运输和 TDZ 的应用提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

供试材料取自浙江省临安市高虹镇杨桐林木科技示范基地。选择发育程度和长短一致、无病虫害的杨桐当年生枝条,采摘后立即运回实验室,在水中剪去枝条基部,将叶片擦拭干净。留枝长 30~40 cm,叶子 10~20 张,随机分成 2 组,分别用 100 μmol/L TDZ 溶液和清水浸泡切枝基部 24 h,然后用湿水的脱脂棉包裹枝条底部,并用塑料纸包扎,最后于 4 ℃ 冰箱

中放置 37 d。

各处理的样品分为品质和生理测定组,品质组每处理 5 枝,每 3 d 观察并记录叶片颜色、斑点、萎焉、卷曲状况;生理组每处理 10 枝,隔 5 d 从 1 枝上随机取 1 张叶片进行生理指标测定,每组均 3 次重复。

1.2 测定指标及方法

瓶插寿命以瓶插日起至一半以上叶片严重萎焉、卷曲、黄化而失去观赏价值之日为标志;叶绿素含量测定使用 80% 丙酮乙醇混合液提取法^[11];相对电导率使用 DDS-11A 型电导率仪测定^[12]。

取 0.2 g 植物材料,加入少量石英砂于液氮中,研磨为粉末,然后加入 2% PVP 和预冷的 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH 值 7.8)研磨均匀,定容至 4 mL,于 12 000 g(4 ℃)离心 20 min,取上清液备用^[13],用于测定 SOD 活性、POD 活性、MDA 含量和可溶性蛋白含量。SOD 活性用 NBT 比色法测定^[14];POD 活性采用愈创木酚法测定^[15];CAT 活性采用可见光分光光度法^[16];MDA 含量用硫代巴比妥酸法^[17]测定;可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝染料结合法^[18]测定。

1.3 数据处理

采用 DPS 进行方差分析,使用 Excel 2007 处理数据并制作图表。

2 结果与分析

2.1 不同处理对杨桐切枝寿命和叶片状况的影响

由表 1 可知,储藏期 100 μmol/L TDZ 组保鲜效果较理想,而对照从 20 d 起出现黄化、斑点、萎焉的衰老现象,说明在 37 d 的 2~4 ℃ 低温储藏中 TDZ 预处理能够提升杨桐枝条的品质;瓶插期间对照在储藏后 3 d 失水加速,而 100 μmol/L TDZ 处理在 1 周后才衰老,也能延长枝条的瓶插寿命。

表 1 不同处理对杨桐切枝寿命及叶片状况的影响

| 处理 | 储藏期形态变化 | 瓶插寿命(d) |
|----------------|---|---------|
| 100 μmol/L TDZ | 叶片翠绿、无黄化现象,始终有光泽 | 9.33a |
| 清水(CK) | 20 d 后逐渐出现黄化现象,叶片在 22 d 时出现黄褐斑点,30 d 时叶片向外翻卷,轻度萎焉 | 4.83b |

注:同列数据后不同字母表示在 0.05 水平差异显著。

收稿日期:2013-01-31

基金项目:浙江省大学生科技创新基金(编号:100109)。

作者简介:郭巧会(1987—),女,河南洛阳人,硕士研究生,从事观赏植物衰老研究。E-mail:guoqiaohui111@163.com。

通信作者:赖齐贤,博士,教授。E-mail:laixian@zife.edu.cn。

2.2 不同处理对杨桐叶片可溶性蛋白的影响

大量研究表明,在器官衰老和细胞死亡过程中,蛋白质含量明显减少,它是导致衰老和死亡的一个主要原因。整个低温储藏期间可溶性蛋白含量先增加后降低,在储藏 13 d 时,可溶性蛋白含量达到最大值,随后逐渐降低。前期可能是由于叶片自身尚具有较高的蛋白质合成能力,蛋白质不断积累,因而可溶性蛋白含量上升,后期降低是由于衰老而分解。100 $\mu\text{mol/L}$ TDZ 处理的可溶性蛋白含量持续上升,一直到 25 d 时达到最大值,比对照的高峰推迟了 12 d,且含量始终高于对照。显著性分析结果表明,储藏 19 d 时,两者差异达到极显著水平,且后期差异一直极显著。因此,TDZ 预处理液在一定程度上能够缓解可溶性蛋白水平的下降。

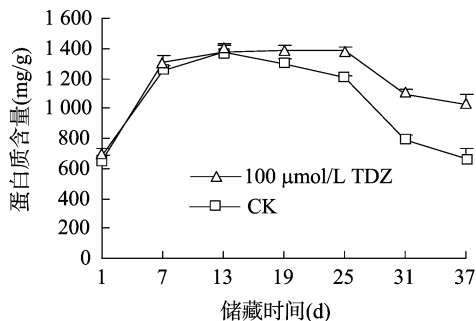


图1 不同处理对杨桐叶片可溶性蛋白的影响

2.3 不同处理对杨桐叶片叶绿素含量的影响

图 2 表明,在储藏的前 13 d,100 $\mu\text{mol/L}$ TDZ 处理和对照叶片的叶绿素含量均逐渐下降,后期则分别有不同程度的回升,这种回升可能是由于 TDZ 具有细胞分裂素活性,通过叶绿素的有关合成酶增加了叶绿素含量。100 $\mu\text{mol/L}$ TDZ 处理在储藏 19 d 时达到高峰,且比初始值提高了 10%,而此时对照则相应降低了 1.7%,100 $\mu\text{mol/L}$ TDZ 处理在后期能够维持一个较高的叶绿素水平,表明 TDZ 预处理在一定程度上能够延缓叶绿素的降解。

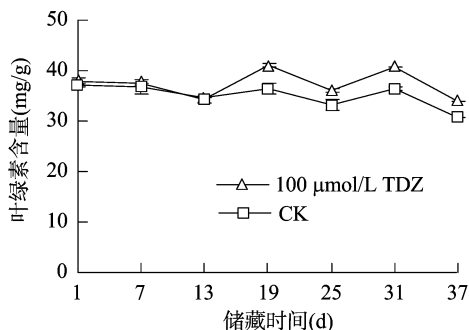


图2 不同处理对杨桐叶片叶绿素含量的影响

2.4 不同处理对杨桐叶片 CAT 和 SOD 活性的影响

图 3 显示,在整个低温储藏期间,CAT 活性从开始骤降后一直处于较低水平,而 100 $\mu\text{mol/L}$ TDZ 处理 CAT 活性在储藏的前 7 d 与对照组相比变化不大,储藏后 13 d 开始显著高于 CK,表明 TDZ 预处理能够提高杨桐枝条在低温储藏期的 CAT 活性水平。2 组处理的 SOD 活性都是先下降再上升后又下降,100 $\mu\text{mol/L}$ TDZ 处理的 SOD 活性一直高于对照组,表明低温储藏期 TDZ 预处理能够提高杨桐枝条的 SOD 活性。

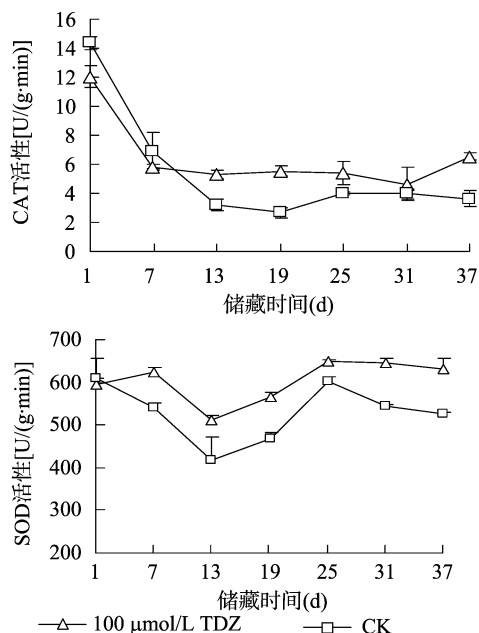


图3 不同处理对杨桐叶片CAT和SOD活性的影响

2.5 不同处理对杨桐叶片 MDA 含量的影响

植物器官衰老时或在逆境条件下,往往发生过氧化作用,MDA 是膜脂过氧化的最终产物,因此 MDA 的积累程度可作为膜和细胞受伤害的重要指标。MDA 含量在储藏期逐渐下降,可能是由于 2 个处理的叶片细胞内在低温储藏下产生的自由基受到了有效抑制,但 CK 在前 6 d 有一个积累过程,表明前期自由基清除的速率高于自由基产生速率;经 TDZ 处理的 MDA 含量一直显著低于对照,表明 TDZ 预处理结合低温储藏的膜脂过氧化程度小于对照,有利于延缓衰老。

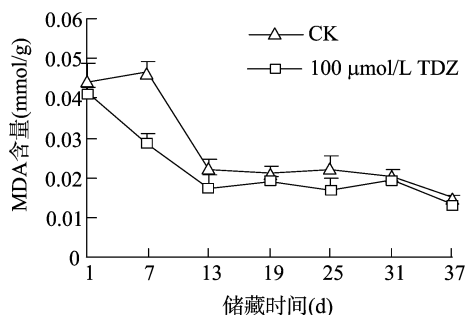


图4 不同处理对杨桐叶片MDA含量的影响

2.6 不同处理对杨桐叶片相对电导率的影响

细胞膜透性是反映细胞受损程度的一个重要指标。膜脂过氧化作用使膜结构遭到破坏,膜内电解质外渗,电导率即可与细胞膜透性呈完全正相关关系。试验结果表明,低温储藏期间,叶片相对电导率均是先下降再上升后下降,且 TDZ 预处理组与清水对照差异不显著(图 5),说明在低温储藏初期细胞内蛋白质等合成能力较高(图 1),使得相对电导率也增加;但随着储藏时间的推迟,细胞膜也受到一定的伤害,因而有所上升,后期又下降可能是由于体内过氧化酶系统能够有效清除自由基(图 4),延缓了杨桐叶片细胞膜的损害。

3 结论与讨论

对杨桐切枝衰老过程进行了研究,结果发现,植物在低温

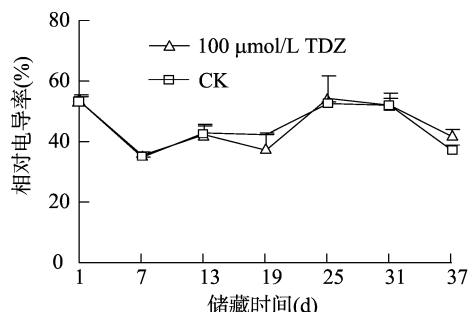


图5 不同处理对杨桐叶片相对电导率的影响

储藏期间发生了一系列形态、生理等方面的变化。从形态上看,失水和黄化是叶片衰老失去观赏价值的最初症状,随之表现为叶片卷曲,而后枯萎死亡。在生理上则表现为叶绿素、蛋白质含量迅速下降,体内自由基大量积累,相应的抗氧化酶活性发生变化,同时破坏膜透性,使细胞逐渐死亡。

试验表明,TDZ 预处理后低温储藏期间杨桐叶片的叶绿素含量与清水对照相比在后期保持了较高的水平,能够推迟叶片的黄化,延长其瓶插保鲜寿命。Ferrante 等曾报道六出花经 10 μmol/L TDZ 脉冲处理 24 h 后,延迟离体叶片黄化时间达到 2 个月^[6]。在研究紫罗兰保鲜中发现,TDZ 可以延缓叶片在整个有光阶段(30 d)中的黄化,虽然对经黑暗储藏的花朵没有太多的保鲜效果,但也能延缓叶绿素的降解,达 10 ~ 12 d^[19]。在桉树瓶插保鲜研究中发现,TDZ 虽然不能延长保鲜寿命,但是是一种很好的叶绿素降解抑制剂^[10]。这可能是由于 TDZ 具有高效的细胞分裂素活性,通过抑制细胞分裂素氧化酶的活性来催化细胞分裂素 N₆ 上不饱和侧链裂解而使其彻底失活^[20],进而增加细胞分裂素的积累,然而也有报道提出细胞分裂素激活有关叶绿素生物合成酶——NADH 还原酶能够减少叶绿素的损失^[11],有关 TDZ 的细胞分裂素活性机制还须作更深的研究。

植物细胞通过多途径产生 ·OH、O₂⁻、H₂O₂ 等自由基,同时植物体内存在 SOD、CAT、POD 等多种抗氧化酶,能够很好地清除这些自由基。植物衰老时,这种平衡被破坏,自由基积累导致膜脂过氧化,同时产生大量的过氧化物 MDA,这种细胞内部酶活性与细胞膜透性变化也是细胞应对外界环境而做出的适应性防御。在本试验的 4 ℃ 储藏环境下,100 μmol/L TDZ 处理的叶片中 MDA 含量一直减少,说明受到低温胁迫后枝条细胞在相应的抗氧化酶系统的调节下做出了积极的防御反应,即 SOD 和 CAT 酶活性的增加清除了体内产生的自由基,能够在 4 ℃ 中维持较好的细胞膜透性,延缓衰老。

综上所述,TDZ 预处理液处理有利于延缓叶片衰老,但长时间的低温储藏对杨桐切枝保鲜有一定的局限,在较长的低温储藏期间水分的控制至关重要,TDZ 预处理作为防止冷藏中叶片黄化是有效的,对长时间储藏运输保鲜也是可行的措施。在低温储藏期间,各种代谢虽然有所减缓,但切枝仍消耗自身的养分,所以经低温储藏后再进行瓶插的寿命可能比常温下直接瓶插的短,这与刁留彦在马蹄莲的预处理液结合低温储藏研究的结果^[21]相同,而经 TDZ 预处理后瓶插寿命有所延长,因此 TDZ 预处理液有一定的商业应用价值。

参考文献:

[1] 徐昌荣. 杨桐苗的人工繁育[J]. 新农村,2003(5):11-12.

- [2] 吴海峰. 破解杨桐铃木出口难题[J]. 中国花卉园艺,2007(7):24-25.
- [3] 钱玉红,孙丽华. 浙江杨桐考察[J]. 浙江林业科技,1994,14(1):42-46.
- [4] 陈肖英,叶庆生,刘伟. TDZ 研究进展[J]. 亚热带植物科学,2003,32(3):59-63,58.
- [5] Grossmann K. Induction of leaf abscission in cotton is a common effect of urea and adenine-type cytokinins[J]. Plant Physiol,1991(95):234-237.
- [6] Ferrante A, Hunter D A, Hackett W P, et al. Thidiazuron—a potent inhibitor of leaf senescence in *Alstroemeria* [J]. Postharvest Biol Technol,2002,25:333-338.
- [7] Ferrante A, Tognoni F, Mensuali-Sodi A, et al. Treatment with thidiazuron for preventing leaf yellowing in cut tulips and chrysanthemum [J]. Acta Hort,2003(624):357-363.
- [8] Sankhla N, Mackay W A, Davis T D, et al. Reduction of flower abscission and leaf senescence in cut phlox inflorescence by thidiazuron [J]. Acta Hort,2003,628(2):837-841.
- [9] Sankhla N, Mackay W A, Davis T D, et al. Effect of thidiazuron on senescence of flowers in cut inflorescences of *Lupinus densiflorus* Benth [J]. Acta Hort,2005(669):239-243.
- [10] Ferrante A, Mensuali-Sodi M, Serra G, et al. Effects of ethylene and cytokinins on vase life of cut *Eucalyptus parvifolia* Cambage branches [J]. Plant Growth Regulation,2002,38(2):119-125.
- [11] 张宪政. 植物叶绿素含量测定——丙酮乙醇混合液法[J]. 辽宁农业科学,1986(3):26-28.
- [12] Xu Q, Huang B. Growth and physiological responses of creeping bentgrass to differential shoot and root temperatures [J]. Crop Science,2000,40:1363-1368.
- [13] Zhu Z J, Gerendas J, Bendixen R, et al. Different tolerance to light stress in NO₃⁻ and NH₄⁺ grown *Phaseolus vulgaris* L. [J]. Plant Biology,2000,2:558-570.
- [14] Beyer W F Jr, Fridovich I. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions [J]. Analytical Biochemistry,1987,161(2):559-566.
- [15] 华东师范大学生物系植物生理教研组. 植物生理学实验指导 [M]. 北京:高等教育出版社,1980:143-147.
- [16] Bailly C, Binamar A, Corbineau F. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging [J]. 1996,97:104-110.
- [17] 赵世杰,许长成,邹琦,等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进 [J]. 植物生理学通讯,1994,30(3):207-210.
- [18] 李如亮. 生物化学实验 [M]. 武汉:武汉大学出版社,1998:57-58.
- [19] Ferrante A, Mensuali-Sodi M, Serra G, et al. Effect of thidiazuron and gibberellic acid on leaf yellowing of cut stock flowers [J]. Cent Eur J Biol,2009,4(4):461-468.
- [20] 徐晓峰,黄学林. TDZ:一种有效的植物生长调节剂 [J]. 植物学通报,2003,20(2):227-237.
- [21] 刁留彦. 预处理液及低温储藏保鲜技术对马蹄莲切花保鲜效应的研究 [D]. 雅安:四川农业大学,2007:29.