

钙素对栽培牡丹花衰老的影响

张圣旺¹, 郑国生^{2*}, 孟 丽²

(1 山东农业大学资源与环境学院, 山东泰安 271018; 2 山东农业大学生命科学学院, 山东泰安 271018)

摘要:研究不同 Ca 浓度下牡丹花衰老过程中的生理生化变化。结果表明,随 Ca 浓度的增大,总花期可延长 1~2d,但高 Ca 却降低了成花率;施 Ca 可明显延缓可溶性蛋白质降解,降低 MDA、 O_2^- 含量以及乙烯释放速率,提高 SOD 酶活性和叶片光合作用,维持膜结构的稳定性,从而延缓牡丹花瓣衰老。

关键词: 钙;牡丹;衰老

中图分类号: S685.110.62

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2002)04-0483-05

Effect of calcium on senescence of cultivated tree peony

ZHANG Sheng-wang¹, ZHENG Guo-sheng², MENG Li²

(1 Resou. and Envir. College, Shandong Agric Univ., Taian 271018, China;

2 Life Sci College, Shandong Agric. Univ., Taian 271018, China)

Abstract: The physiological and biochemical changes during the senescence of tree peony flowers were studied with different Ca^{2+} contents. The results showed that, with the increase of Ca^{2+} content, total blossom period could be prolonged by 1~2 days, nevertheless, high Ca^{2+} content declined the blossom rate. Application of Ca^{2+} , some physiological and biochemical indexes such as MDA content, O_2^- production rate and ethylene release rate diminished and the soluble protein content, SOD activity and photosynthesis increased. Those changes obviously maintained the structure and integrity of membrane, and then alleviated the process of senescence of tree peony flowers.

Key words: Ca^{2+} ; tree peony; senescence

有关鲜花衰老的研究涉及面很广,绝大多数集中在鲜切花的衰老和保鲜方面,而对鲜花的自然脱落衰老方面的研究很少,也缺乏对各主要代谢过程之间相互联系的分析。对于中国的传统名花牡丹的衰老及其生理生化变化报道也很少。牡丹在自然状况下花期一般为一周左右,牡丹的花期长短,影响到牡丹的观赏质量,也影响到牡丹产区的经济效益。Ca 是植物必需的营养元素,自从 CaM 在植物中发现后, Ca^{2+} 与衰老的关系的研究越来越多^[1~3], 这些研究大多集中在 Ca 营养液与离体叶片的关系,对 Ca 与连体叶片的报道很少,在牡丹上还未见报道。搞清花瓣的衰老机理,对于改善牡丹的观赏价值有着非常重要的理论和实践意义。因此,以反季节盆

栽牡丹为试材,研究了不同 Ca 浓度下牡丹衰老进程,以期栽培条件下延长花期从而提高经济效益和培育新品种等方面提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验用牡丹品种为大胡红 (*Paeonia suffruticosa* cv. Da Hu Hong)。2000 年 10 月上旬,从菏泽市牡丹大田苗圃中精选单株 8~10 个枝条、牡丹花芽发育饱满的植株,拔出后洗净根部泥土,移栽至直径为 35cm、高 27cm 装有蛭石为介质的塑料盆内,待自然状况下新根长出且打破花芽休眠后,移至温室内存栽培管理。

试验设 5 个处理:即以含 Ca 40、80、160 和 240 mg/L 的

收稿日期:2001-11-16

基金项目:山东省良种产业化工程项目(三零)资助

作者简介:张圣旺(1976—),男,山东肥城人,硕士研究生,主要从事植物营养生理研究。* 通讯作者

Arnon 和 Hogland 培养液为施钙处理(分别用 Ca1、Ca2、Ca3 和 Ca4 表示),以缺 Ca 的培养液为对照(CK),每处理种 4 盆。按照牡丹开花 12 个物候期(牡丹,喻衡著)为依据施用营养液,以浇灌为主。在牡丹需肥大的显蕾期、立蕾期、小风铃期和圆桃期按各处理设计要求分别进行叶面喷施 1 次,以保证开花所需营养。采用 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 供 Ca,用 NH_4NO_3 补充 N 素,使各处理 N 浓度相等,3 次重复。温度、湿度和浇水(蒸馏水)等按温室栽培方式常规管理。

1.2 采样和分析方法

在花盛开前 1 天起贴标签标记并取样,每天(上午 9 时至 10 时)取下第三层花瓣(最外层数起)和第二叶位叶片(从花托向下数)进行连续测定,直至最外层花瓣出现萎焉,同时统计各处理的总花期及成花率。

SOD 活性测定采用 NBT 法^[4,5];可溶性蛋白质测定采用考马斯亮蓝法,以 BSA 为标准蛋白^[6];丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法^[7];超氧自由基(O_2^-)测定采用王爱国法^[8];质膜透性采用相对电导法^[9];乙烯释放速率采用气相色谱法^[9];游离氨基酸总量采用茚三酮比色法^[10];叶片叶绿素总量采用丙酮法^[9]。每项指标测定重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 Ca^{2+} 对花期及成花率的影响

由表 1 看出,随着 Ca 浓度的增大,总花期呈增长趋势,Ca3 和 Ca4 处理比 CK 处理延长了 2d。但从成花率来看,Ca4 处理最低(78.2%),Ca3 最好(89.5%),其次是 Ca2(88.1%)。看来在缺 Ca 条件

下施 Ca 对花期有延长作用,但过量 Ca 会降低成花率。其原因有待进一步研究。

表 1 Ca^{2+} 对牡丹花期及成花率的影响
Table 1 Effect of Ca^{2+} on florescence and blossom rate of tree peony

处理 Treatment	CK	Ca1	Ca2	Ca3	Ca4
总花期(d)	17	18	18	19	19
Florescence					
成花率(%)	80.3	83.9	88.1	89.5	78.2
Blossom					

2.2 Ca^{2+} 对可溶性蛋白质和氨基酸的含量影响

不同 Ca 处理牡丹花瓣可溶性蛋白质含量均先小幅上升后缓慢下降,转为快速下降。Ca3 和 CK 与其他处理之间差异较明显,尤以 Ca3,缓升期较长而且速降期也比其他处理晚一天,与形态观察基本相似;CK 处理与此相反。说明适量的 Ca 处理可延长可溶性蛋白质含量缓降期。植株衰老时,蛋白质分解为氨基酸进行 N 转移^[11],因此衰老器官中游离氨基酸含量变化亦在一定程度上能反映蛋白质的降解情况,但表 2 中氨基酸的变化趋势与此不太相似,其峰值的出现比蛋白质快速下降期晚。花瓣氨基酸含量在衰老后期出现下降,这可能与营养物质转移有关。而 CK 的峰值明显比其他处理高(表 2)。

表 2 不同 Ca 处理对牡丹花瓣可溶性蛋白质和游离氨基酸含量的影响

Table 2 Effect of different Ca treatment on content of soluble protein and free amino acid in petals of tree peony

开花后天数 Days after anthesis	CK	Ca1	Ca2	Ca3	Ca4
可溶性蛋白质(mg/g, FW) Soluble protein					
1	1.609±0.023	1.848±0.038	2.012±0.120	2.129±0.069	2.052±0.129
2	1.778±0.043	2.031±0.123	2.153±0.036	2.289±0.135	2.230±0.152
3	1.643±0.045	1.896±0.097	2.076±0.120	2.400±0.036	2.117±0.036
4	1.604±0.013	1.819±0.130	2.003±0.181	2.204±0.062	2.042±0.075
5	1.302±0.113	1.556±0.099	1.765±0.118	2.163±0.177	1.822±0.079
6	1.063±0.055	1.337±0.114	1.330±0.120	1.871±0.109	1.248±0.064
7	0.647±0.070	0.876±0.086	1.082±0.064	1.121±0.029	0.634±0.082
游离氨基酸(μg/g, FW) Free amino acids					
1	195.5±19.60	192.1±18.83	140.0±25.21	145.3±21.74	223.9±8.52
2	134.9±22.54	104.2±19.95	117.9±14.84	120.9±16.07	82.6±23.34
3	267.7±22.46	253.3±14.71	187.5±26.47	194.9±11.53	312.5±9.96
4	298.2±25.07	261.7±34.11	194.2±18.21	209.4±11.98	342.2±5.96
5	372.2±15.80	294.5±24.05	242.2±11.57	213.9±26.97	351.4±10.38
6	410.0±19.18	322.1±32.30	273.9±28.43	241.7±16.63	366.6±7.07
7	216.4±16.59	198.1±34.08	178.5±21.69	159.5±33.98	260.3±14.23

2.3 Ca^{2+} 对质膜透性的影响

质膜透性变化反映了细胞完整性程度。各处理在牡丹花瓣衰老期间质膜透性一直呈上升趋势,但CK和Ca4在盛花后就一直高于其他处理,Ca4在后期明显更高,说明缺Ca和高Ca都可促进牡丹花瓣衰老,高Ca在后期这种作用更明显(图1)。

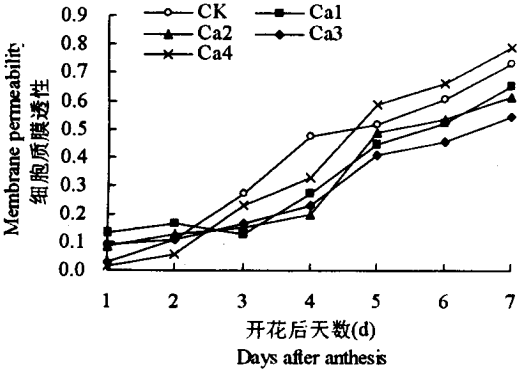


图1 衰老过程中花瓣细胞质膜透性变化
Fig. 1 Changes of membrane permeability in petals during senescence

2.4 Ca^{2+} 对MDA含量和SOD活性的影响

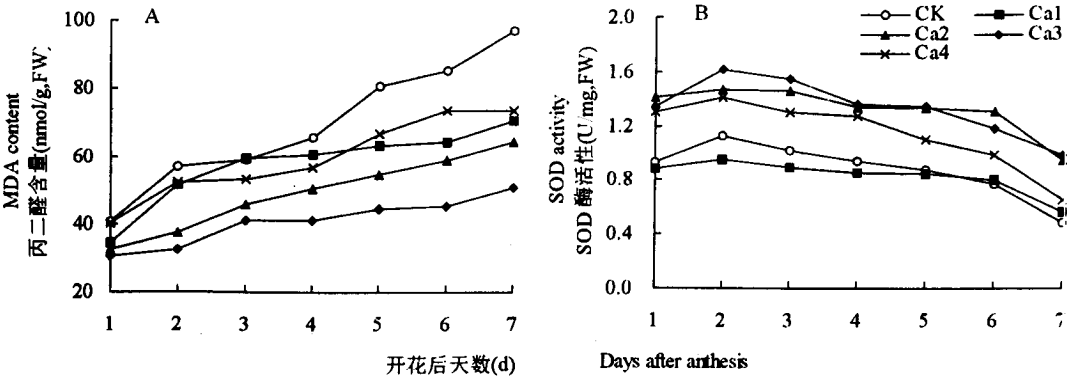


图2 衰老过程中花瓣MDA含量(A)和SOD活性(B)变化
Fig. 2 Changes of MDA content(A) and SOD activity(B) in petals during senescence

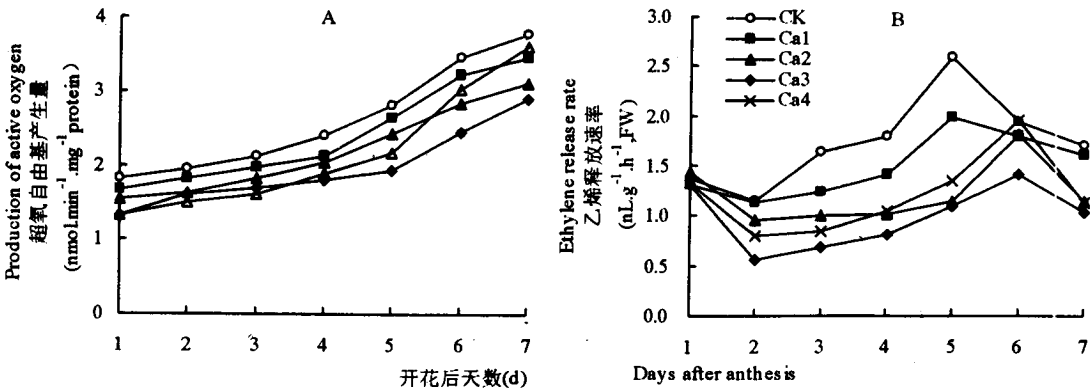


图3 衰老过程中花瓣 O_2^- 产生量(A)和乙烯释放速率(B)变化
Fig. 3 Changes of production of active oxygen(A) and ethylene release rate(B) in petals during senescence

丙二醛(MDA)为细胞膜脂过氧化指标,它既是过氧化产物,又可强烈地与细胞内各种成分发生反应,使多种酶和膜系统遭受严重损伤。从图2A可以看到处理间MDA缓升期差异不大,速升期内差异逐渐增加,Ca4处理在衰老后期突然升高,Ca3在整个花瓣衰老期间都比较低。说明Ca3浓度处理具有降低牡丹花瓣衰老后期细胞膜脂过氧化的作用。

SOD是生物防御活性氧毒害的关键性保护酶之一,可以维持体内各种代谢之间的平衡,衰老后期花瓣内SOD活性降低,自身清除氧自由基能力下降,造成细胞内活性氧积累而产生毒害使器官快速衰老。在缺Ca条件下,施Ca可明显提高SOD活性,延缓花瓣衰老(图2B)。

2.5 Ca^{2+} 对 O_2^- 产生速率和乙烯释放速率的影响

超氧自由基(O_2^-)为植物衰老中危害最大的一种无机自由基,其产生量对牡丹花衰老具有重要影响。不同Ca处理牡丹花衰老过程中其产生量表现为先持续上升,后期转为快速升高。不同Ca处理在缓升期差别不大,快升期CK处理高于其他处理,而Ca3则较低(图3A)。由此看来,施Ca对延缓牡丹花衰老具有重要作用。

图 3B 看出,不同 Ca 处理间乙烯释放速率都出现 2 个峰,虽然峰值都差不多,但 CK、Ca1 处理的高峰比其他处理早出现一天,Ca4 处理的第 2 峰值比 Ca2 和 Ca3 要高。乙烯为一种衰老激素,其释放高峰的出现与花瓣快速衰老有密切关系。各处理间高峰出现的时间及峰值的不同,说明适量的 Ca 营养可以延缓花瓣的衰老进程。

表 3 不同 Ca 处理对牡丹花瓣衰老期间叶片叶绿素含量的影响(mg/g, FW)
Table 3 The effect of different calcium treatments on chlorophyll content in leaves

开花后天数 Days after anthesis	CK	Ca1	Ca2	Ca3	Ca4
1	0.116±0.008	0.129±0.005	0.133±0.006	0.138±0.006	0.123±0.004
2	0.123±0.008	0.137±0.004	0.138±0.007	0.141±0.008	0.129±0.005
3	0.130±0.007	0.141±0.006	0.149±0.003	0.150±0.005	0.149±0.004
4	0.133±0.004	0.139±0.008	0.143±0.010	0.156±0.004	0.150±0.005
5	0.125±0.007	0.130±0.009	0.142±0.006	0.147±0.006	0.153±0.009
6	0.108±0.005	0.119±0.005	0.130±0.005	0.140±0.010	0.136±0.009
7	0.094±0.006	0.112±0.006	0.120±0.004	0.135±0.011	0.104±0.012

3 讨论

前人就 Ca 对植物的生理效应作过较多研究, Poovaiah 等^[12]用玉米叶片为材料研究发现,0.1~100mmol/L 的 CaCl₂ 溶液使离体叶片的膜透性下降,对衰老具有延缓作用;宋纯鹏等^[13]发现,高浓度的 Ca²⁺使叶绿体产生 O₂⁻的能力下降,膜的流动性降低,并抑制了 ACC 形成乙烯。梁颖等^[14]和段咏新等^[15]用外源 Ca 离子处理水稻叶片,发现离体叶片蛋白质和叶绿素含量均保持较高水平,从而减缓衰老;种康等^[16]用 0.5~10mmol/L Ca²⁺处理离体菠菜叶片后发现,不论是光下还是暗中,均能使蛋白质和叶绿素含量保持比对照高的水平。这些报道说明 Ca 的生理效应是多方面的。但是,这些试验均是研究在不同 Ca 浓度下离体材料衰老时的生理状况。本文研究了不同 Ca 营养水平下连体材料衰老时的生理性状,所得出的数据更接近大田实际状况,更有利于指导生产。

在缺 Ca 条件下增加 Ca 营养可延长牡丹花期。高 Ca 条件下牡丹群体的花期也会延长,具体表现为个体开花延迟。从各衰老指标的变化可以看出,高 Ca 处理下质膜透性、O₂⁻、MDA 在衰老前期变化平稳,在花瓣进入快速衰老期时,其含量变化相当明显。这可能是因为衰老后期在高 Ca 条件下大量胞外 Ca 进入胞内,激发各种水解酶活性从而使细胞结

2.6 Ca²⁺对叶片叶绿素含量的影响

表 3 看出,牡丹叶片衰老时各处理叶绿素含量先缓慢上升,达最大值后持续下降。不同处理之间差异在前期不太明显,但在后期 CK 明显比其他处理下降的快,其次是 Ca1。Ca 是叶绿体的组成部分,低 Ca 可影响叶片的光合作用。

构解体,导致细胞死亡,加速花瓣衰老。同时,供 Ca 过高也会降低成花率,降低观赏性。这可能是高 Ca 可延迟开花,但开花时间的延迟可能使花蕾失去最佳的吸收营养的时机,从而因营养缺乏而不能开花。

本试验条件下,综合花期与成花率,以营养液中 Ca 浓度 160mg/L 的 Ca3 处理为最好。供 Ca 水平最高的 Ca4 处理,虽然在延缓牡丹花瓣衰老方面某些生理指标效果也很明显,但其成花率太低,无法满足大田生产需要。

参考文献:

[1] Evensen K B. Effect of calcium on ethylene and ethane production and 1- aminocyclopropane-1-carboxylic acid content in potato discs [J]. *Physiol. Plant*, 1984, 60:125-128.

[2] Ferguson I B. Calcium stimulation of ethylene production induced 1- aminocyclopropane-1-carboxylic acid[J]. *J. Plant Growth Regul.*, 1983, 2:205-214.

[3] Leshem Y Y. Membrane phospholipid catabolism and Ca²⁺ activity in control of senescence[J]. *Physiol. Plant*, 1987, 69:551-559.

[4] 王爱国,罗文华,邵从本,等. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究 [J]. *植物生理学报*, 1983, 9(1):77-83.

[5] Giannoplitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants[J]. *Plant Physiol.*, 1977, 59:309.

[6] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Anal. Biochem.*, 1976, 72:248-254.

[7] 许长城,赵世杰,邹琦. 植物膜脂过氧化水平硫代巴比妥酸测定中的干扰因素[J]. *植物生理学通讯*, 1993, 29(5):361-363.

- [8] 王爱国,罗文华. 植物超氧自由基与羟胺反应的定量关系[J]. 植物生理通讯,1990, 6:25-28.
- [9] 山东农业大学植物科学系. 植物生理实验技术[M]. 济南:山东科学技术出版社,2000.
- [10] 山东农业大学植物科学系. 植物生理学实验指导[M]. 济南:山东科学技术出版社,1985,239-246.
- [11] 刘道宏. 植物叶片的衰老[J]. 植物生理学通讯, 1983,(2):14-19.
- [12] Poovaiah B W and Leopold A C. Deferral of leaf senescence with calcium[J]. Plant Physiol., 1973, 52:236-239.
- [13] 宋纯鹏,梅慧生. Ca^{2+} 对叶绿体中超氧化物自由基产生及由 ACC 形成乙烯的影响[J]. 植物生理学报, 1992, 18(1):55-62.
- [14] 梁颖,王三根,李帮秀. Ca 对离体水稻叶片和地上部衰老的影响[J]. 西南农业大学学报,1997,19(2):121-125.
- [15] 段咏新,宋松泉,傅家瑞. Ca 对杂交水稻立体叶片衰老的影响[J]. 中山大学学报,1998, 37(5):83-87.
- [16] 种康,敬兰花,杨成德. 外源 Ca^{2+} 对离体菠菜叶片衰老的影响[J]. 西北植物学报,1993, 13(3):179-185.