

外源腐胺提高荔枝子房中抗氧化酶活性和延长柱头容受性

刘顺枝^{1,2}, 李建国¹, 王泽槐¹, 罗诗³, 尹金华³

(1 华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642; 2 广州大学 生物与化学工程学院, 广东 广州 510400;

3 东莞市农业科学研究所, 广东 东莞 523079)

摘要:以‘糯米糍’荔枝(*Litchi chinensis* Sonn. cv. Nuomici)为试材, 研究了开花前 2 d 喷施 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 腐胺(Put)1 次对子房的抗氧化酶活性和柱头容受性的影响。结果表明: 在雌花开放前 2 d 喷施 Put 后, 不同授粉时期的处理均不同程度地提高了子房中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的活性; 在雌花开放的第 4 d 授粉, 处理的坐果率为 3.64%, 而对照则不能坐果。据此认为喷施 Put 提高坐果的重要原因之一可能与 Put 提高了抗氧化酶活性, 从而延缓了雌蕊衰老和延长了柱头容受花粉能力有关。

关键词:荔枝; 腐胺; 抗氧化酶; 柱头容受性

中图分类号: S667.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2003)03-0016-04

荔枝花量大, 坐果少, 产量低而不稳一直是生产中存在的主要问题。荔枝落果在雌花开放末期就大量发生, 有的年份经常可见“满树花, 半树果, 甚至颗粒无收”的现象。如名优‘糯米糍’荔枝一般有 4 次落果高峰, 第 1 次落果高峰发生在雌花开放后 5~12 d, 落果率高达 60%~80%^[1]。第 1 次大量落花落果的发生主要由授粉受精不良引起。多胺(PAs)被认为是高等植物生长促进物质, 可以促进多种果树的早期坐果^[2~9], 包括荔枝^[7~10]。

多胺促进植物开花坐果可能与其抑制乙烯合成和延缓细胞衰老等生理功能^[11]有关, PAs 通过直接清除自由基的作用是延缓细胞衰老的重要原因之一^[12]。抗氧化酶是清除体内自由基的重要物质, 而有关外源 PAs 提高坐果与抗氧化酶活性的关系在果树上国内外少见文献报道, 本试验以落果严重的‘糯米糍’荔枝为材料, 研究了外喷腐胺(Put)后于不同时期授粉对子房抗氧化酶活性的影响, 以探讨喷施多胺提高荔枝坐果的机理。

1 材料与方法

1.1 试验材料及处理

试验于 2001 年在广东省东莞市农业科学研究所果园进行。供试荔枝品种为‘糯米糍’, 树龄 16 年生。选择生长发育良好、树势中庸、一致的植株为试材。

选取雌花数量相近的花穗 10 条, 每穗中选留 10~12 朵 2 d 后能开放的雌花, 喷施质量浓度为 30

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的腐胺(Put)1 次, 并添加 $\varphi=0.01\%$ “吐温 20”, 喷布时以滴水为度。以喷清水为对照。去雄后套袋, 然后分别于雌花开放后 0、2、3、4 d 进行人工授粉, 授粉后去袋。定期取样(子房)称其质量冰冻保存, 用于抗氧化酶活性的测定。

1.2 坐果率统计

采收前统计坐果率。坐果率=(采收时果数/授粉时雌花数) $\times 100\%$, 单穗小区, 单枝区组, 重复 10 次。

1.3 酶液的提取和活性的测定

参照曾韶西^[13]的方法, 取荔枝果皮 1.00 g, 加入预冷的 4.0 mL $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 7.8 磷酸缓冲液和 $w=0.2\%$ PVP, 冰浴研磨。4℃下 13 000 r/min 离心 15 min, 上清液用于酶活性的测定。

SOD 活性的测定参照邵从平等^[14]的方法, 以抑制光氧化还原 50%为 1 个酶活力单位(U), 酶的活性以 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ 表示。POD 和 CAT 活性的测定参照曾韶西^[13]的方法, POD 活性以 $D_{470 \text{ nm}}$ 每分钟增加 0.01 为 1 个酶活力单位(U), 酶的活性以 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ 表示。CAT 活性以 $D_{240 \text{ nm}}$ 每分钟减少 0.1 为 1 个酶活力单位(U), 酶的活性以 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ 表示。重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 喷施 Put 对‘糯米糍’荔枝子房 SOD 活性的影响
在雌花开放的当天(0 d)授粉(图 1A), 处理和对

SOD 活性达到高峰, 然后处理的 SOD 活性一直保持在较高水平, 而对照的活性则下降. 在雌花开放后的第 2 d 授粉(图 1B), 处理与对照子房中 SOD 的变化趋势较为相似, Put 处理后的 0~3 d 比较接近, 然后急剧上升, 在处理后第 5 d 达到高峰, 随后下降. 在雌花开放后的第 3 d 授粉(图 1C), 处理和对照 SOD 活性变化趋势大体一致, 处理后 0~3 d 变化幅度不大, 但从 3 d 后处理的 SOD 活性急剧上升, 至第 5 d 达到高峰, 随后快速下降, 而对照的变化较小. 在雌花开放后的第 4 d 授粉(图 1D), 处理后 0~5 d, 处理与对照 SOD 活性变化趋势基本一致, 且变化幅度不大, 在 Put 处理后第 5 d, 处理的 SOD 活性急剧上升, 而对照则变化不大. 总之, 从图 1 可以看出, 喷施 Put 后 0~3 d, 处理与对照 SOD 活性相差不大, 3 d 后处理的 SOD 活性一般较明显大于对照(在雌花开放后的第 3 d 授粉除外).

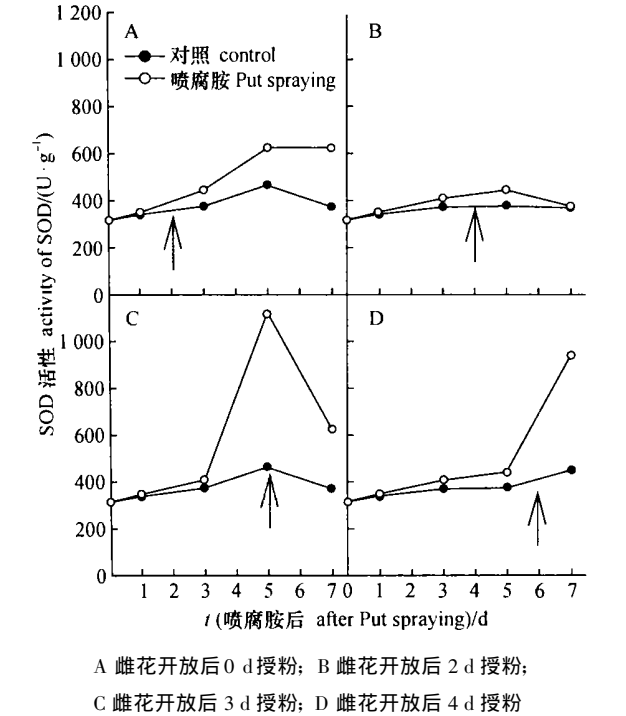


图 1 喷 Put 后于不同时期授粉对‘糯米糍’荔枝子房中 SOD 活性的影响(箭头示授粉时间)

Fig. 1 Effects of Put spraying on SOD activities in the ovaries of ‘Nuomici’ litchi pollinated at the different days after female bloom (Arrow indicates time of pollination)

2.2 喷施 Put 对‘糯米糍’荔枝子房 POD 活性的影响

如图 2 所示, 在雌花开放前 2 d 喷施 30 mg·L⁻¹ Put 后, 处理与对照子房中 POD 活性变化趋势基本一致, 处理后的 0~3 d, 两者 POD 活性差异不明显, 3 d

后 POD 活性都急剧上升, 但处理的 POD 活性较明显高于对照. Put 处理后, 于不同时期授粉(雌花开放 0、2、3 和 4 d), 均不同程度地提高了 POD 活性.

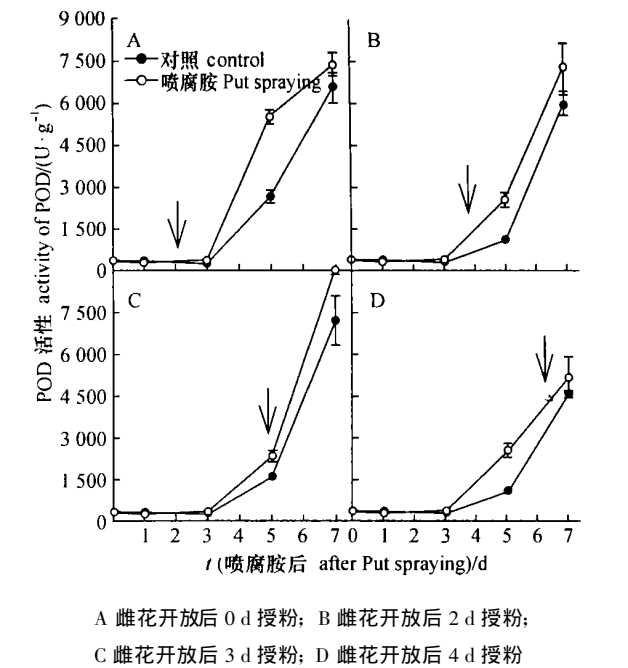
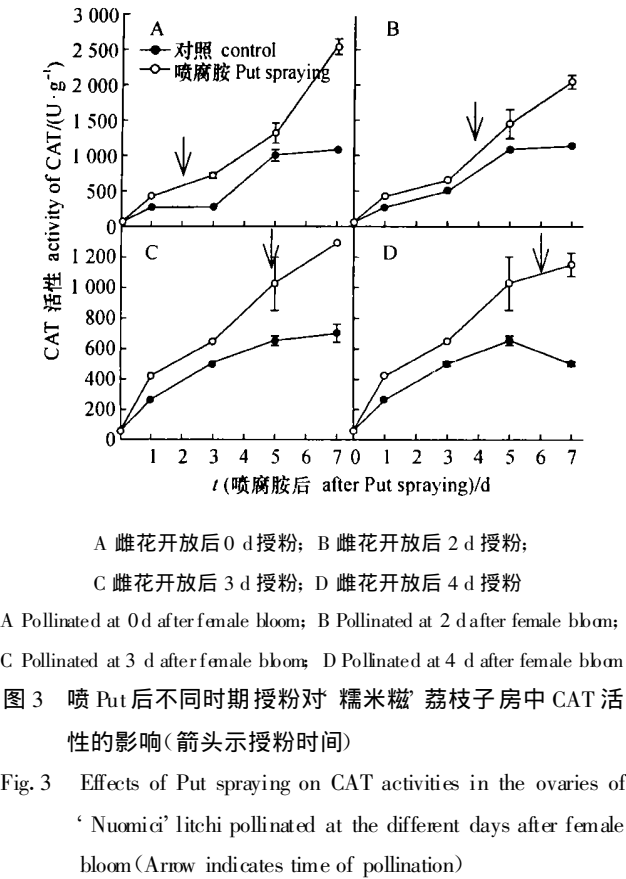


图 2 喷 Put 后不同时期授粉对‘糯米糍’荔枝子房中 POD 活性的影响(箭头示授粉时间)

Fig. 2 Effects of Put spraying on POD activities in the ovaries of ‘Nuomici’ litchi pollinated at the different days after female bloom (Arrow indicates time of pollination)

2.3 喷施 Put 对‘糯米糍’荔枝子房 CAT 活性的影响

在雌花开放前 2 d 喷施 30 mg·L⁻¹ Put 后, 于不同时期授粉, 处理的 CAT 活性均显著高于对照(图 3). 在雌花开放后 0 d 授粉(图 3A), 处理的 CAT 活性在处理 0~5 d 逐渐升高, 5 d 后其 CAT 活性仍保持上升趋势, 而对照的 CAT 活性在处理 1~3 d 变化缓慢, 随后 CAT 活性急剧上升, 处理 5 d 后 CAT 活性变化不大. 在雌花开放后的第 2 d 授粉(图 3B), 处理的 CAT 活性变化趋势在处理后的 0~3 d 逐渐升高, 3 d 后其变化幅度增强, 而对照的 CAT 活性在处理后的 0~5 d 逐渐升高, 5 d 后变化平缓. 在雌花开放后的第 3 d 授粉(图 3C), 处理和对照的 CAT 活性均逐渐提高, 而对照的 CAT 活性在处理后的第 5~7 d, 其增加趋势变缓. 在雌花开放后的第 4 d 授粉(图 3D), 处理和对照的 CAT 活性均逐渐提高, 在处理 5 d, 对照的 CAT 活性值达最大, 此后开始下降, 处理的 CAT 活性增加趋势则变缓.



2.4 喷施 Put 对荔枝柱头容受性的影响

在雌花开放前 2 d 喷施 Put 后, 于不同时期授粉, 对荔枝坐果的影响不同(图 4). 于雌花开放的当天授粉, 对照的坐果率显著高于处理; 于雌花开放后的第 2 d、第 3 d 和第 4 d 授粉, 处理的坐果率除第 3 d 外则显著高于对照, 特别是第 4 d 授粉, 处理的坐果率为 3.64%, 而对照则不能坐果, 说明喷 Put 延长了柱头的容受能力.

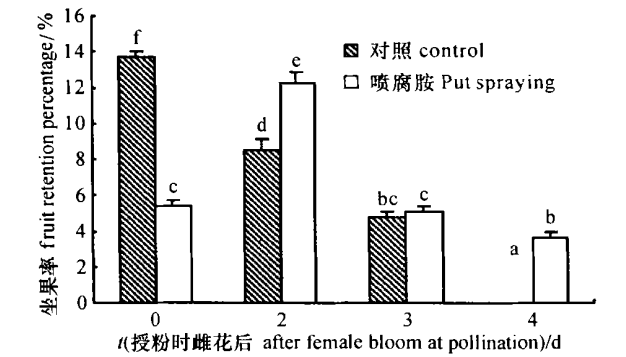


图 4 喷 Put 后不同时期授粉对 '糯米糍' 荔枝坐果率的影响 (柱上不同英文字母表示差异显著, P < 0.05, DMRT)

Fig. 4 Effects of Put spraying on fruit retention percentage in 'Nuomici' litchi pollinated at the different days after female bloom (Different letters with pillars differ significantly at P

< 0.05, DMRT, n = 10)

3 讨论

PA_s 具有延缓植物细胞衰老的生理功能^[1]. 植物组织的衰老与自由基所引起的膜脂过氧化及乙烯生成有关. 植物衰老时体内的自由基产生系统和清除系统的平衡失调, PA_s 作为自由基清除剂, 不仅可以维持组织自身的自由基清除能力, 同时可直接抑制体内自由基的产生^[12]. 另外, 外源 PA_s 还可提高自由基清除酶类如 SOD、POD、CAT 等的活性^[15], 延缓衰老. 但 PA_s 是如何提高这些酶的活性, 目前还不清楚.

荔枝雌花开放时柱头对花粉便有容受性, 并保持 3 d. 3 d 后柱头颜色变褐变干, 同时失去光泽, 不能容受花粉^[16]. 笔者在试验中观察到, 处理和对照雌蕊柱头在雌花开放的第 2 d, 其色泽新鲜分别为雪白色和白色, 在雌花开放的第 3 d 和第 4 d, 处理柱头颜色分别为淡白色和淡黄色, 对照则分别为淡黄色和淡褐色. 这表明 Put 处理, 延缓了雌蕊柱头的衰老, 延长了雌蕊寿命, 使其容受花粉的时间延长. 这可能是花前喷施 Put 显著提高荔枝坐果率的原因之一.

外源多胺提高坐果率在其他果树上也有报道, 如油橄榄^[2]、梨^[3]、芒果^[4]、苹果^[5]和沙田柚^[6], 其原因被认为与 PA_s 可以延长雌蕊寿命和增强受精能力有关. 本研究则发现喷施 Put 可以明显提高荔枝子房中 SOD、POD、CAT 的活性, 因此认为喷施 Put 提高坐果的重要原因之一可能与 Put 提高了抗氧化酶活性, 从而延缓了雌蕊衰老和延长了柱头容受花粉能力有关. 至于在雌花开放的当天授粉, 处理的坐果率却明显低于对照, 是否是因为喷施 Put 后, 推迟了雌蕊的成熟有关, 则有待证实.

参考文献:

[1] 李建国, 王泽槐. 荔枝第二期雄花对花期落果的影响及其对策研究[J]. 中国南方果树, 1999, 28(3): 27—28.

[2] RUGINI E, MENCUCINI M. Increased yield in the olive with putrescine treatment[J]. HortScience, 1985, 20(1): 102—103.

[3] CRISOSTO C H, LOMBARD P B, SUGAR D, et al. Putrescine influences ovule senescence, fertilization time, and fruit set in 'Comice' pear[J]. J Amer Soc Hor Sci, 1988, 113(5): 708—712.

[4] SINGH Z, SINGH L. Increased fruit set and retention in man- go with exogenous application of polyamines[J] . J Hort Sci, 1995, 70: 271— 277.

[5] 徐继忠, 陈海江, 马宝麟 等. 外源 PAs 对富士苹果花和 幼果内源 PAs 与激素的影响[J] . 园艺学报, 2001, 28 (3): 206— 210.

[6] 钟晓红. 三种 PAs 在沙田柚开花及坐果初期的生理作 用[J] . 湖南农业大学学报, 2000, 26(6): 453— 456.

[7] MITRA S K, SANYAL D. Effect of putrescine on fruit set and quality of litchi[J] . Gartenbauwissenschaft, 1990, 55: 83— 84.

[8] STERN R A, GAZIT S. Application of the polyamine pu- trescine increased yield of ‘Maunius’ litchi (*Litchi chinensis* Sonn.)[J] . J Hort Sci Biotech, 2000, 75(5): 612— 614.

[9] 刘顺枝, 李建国, 王泽槐. 等. 外源腐胺对 ‘糯米糍’ 荔 枝座果的影响[J] . 福建果树, 2002 (1): 10— 13.

[10] 陈杰忠, 骆小兵, 王泽槐. 等. 多胺对荔枝坐果率及内 源多胺含量的影响[A] . 雷建军, 陈日远, 陈厚彬. 园 艺学进展[C] . 广州: 广州出版社, 2002. 303— 307.

[11] EVANS P T, MAIMBERG R L. Do polyamines have roles in plant development[J] . Annu Rev Plant Physiol Mol Biol, 1989, 40: 235— 269.

[12] BESFORD R T, RICHARDSON C M, CAMPOS J L, et al. Effect of polyamines on stabilization of molecular complexes in thylakoid membranes of osmotically — stressed out leaves [J] . Planta, 1993, 189: 201— 206.

[13] 曾韶西. 低温光照下与黄瓜子叶叶绿素降低有关的酶 促反应[J] . 植物生理学报, 1991, 17(2): 171— 182.

[14] 邵从平, 罗广华, 王爱国. 等. 几种检测超氧化物歧化 酶活性反应比较[J] . 植物生理学通讯, 1983 (5): 46— 49.

[15] 徐仰仓, 王 静, 刘 华. 等. 外源精胺对小麦幼苗抗 氧化酶活性的促进作用[J] . 植物生理学报, 2001, 27 (4): 349— 352.

[16] 张展薇. 荔枝品种与栽培图说[M] . 广州: 广东经济出 版社, 1997. 134— 135.

Application of Putrescine Increased Antioxidant Enzymes Activities in the Ovaries and Extended the Stigma Receptivity in *Litchi chinensis*

LIU Shun-zhi^{1,2}, LI Jian-guo¹, WANG Ze-huai¹, LUO Shi³, YIN Jin-hua³

(1 College of Horticulture, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 College of Biology and Chemistry Engineering, Guangzhou Univ., Guangzhou 510405, China;

3 Agricultural Sciences Institute, Dongguan City, Dongguan 523079, China)

Abstract: Effects of pre—bloom spray of putrescine on the antioxidant enzymes activities in the ovaries and the stigma receptivity in litchi (*Litchi chinensis* Sonn. cv. Nuomici) were studied. The results showed that a single putrescine spray at 30 mg ·L⁻¹ 2 days before female bloom increased the activities of SOD、POD and CAT in the ovaries and extended the stigma receptivity by 2—3 days. And the fruit set percentage of treatment with application of putrescine was 3.64% and that of the control was zero when pollination was done on the fourth day after female bloom. It is suggested that fruit set increased by pre—bloom putrescine spray in litchi is associated with the increase of antioxidant enzymes activities in the ovaries and the extended the stigma receptivity.

Key words: litchi (*Litchi chinensis* Sonn.); putrescine; antioxidant enzyme; stigma receptivity

【责任编辑 柴 焰】