

文章编号: 1674-7054(2017)01-0048-04

在文心兰不同开花阶段施用保鲜剂 对切花衰老的影响

程裕轩¹ 杨翠萍¹, 田晓岩¹, 石乐松¹, 胡进¹, 闫冰玉¹,
巩笑笑¹, 庄玉粉¹, 潘英文², 刘进平¹

(1. 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室/海南大学 农学院, 海口 570228;

2. 海南出入境检验检疫局 热带植物隔离检疫中心, 海口 570311)

摘 要: 为了了解保鲜剂对不同开花阶段文心兰鲜切花的保鲜效果, 利用乙烯作用剂硫代硫酸银(silver thiosulfate, STS)、1-甲基环丙烯或聪明鲜(1-methylcyclopropene, 1-MCP) 及乙烯释放剂乙烯利对不同开放阶段的鲜切花进行处理。结果表明: 乙烯利处理在半开放期后可明显缩短文心兰切花的衰老进程, STS 处理可延长盛开前期和盛开期的时间, 而 1-MCP 处理可延长衰老初期和衰老期的时间。同时, 对文心兰开花各个阶段乙烯释放和 1-氨基环丙烷 1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC) 含量进行了测定, 结果显示: 蕊柱和花萼中 ACC 含量在绽口期和半开放期基本稳定, 而半开放期之后开始增加, 而乙烯释放量在盛开前期后上升。花瓣 ACC 含量在盛开前期后缓慢增加, 在衰老初期达到峰值。表明文心兰花器官内源乙烯生物合成的启动对保鲜剂不同阶段的处理效果有一定的影响和相关性。

关键词: 文心兰; 花衰老; 保鲜剂; STS; 1-MCP; 乙烯利; 乙烯释放; ACC 含量

中图分类号: S 682.31

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2017.01.008

文心兰(*Oncidium*) 又名舞女兰、跳舞兰、金蝶兰, 是世界上重要的切花, 具有较高的观赏价值。目前, 文心兰产业以切花生产为主, 盆花为零星栽培。文心兰是兰科文心兰属植物的总称, 全世界栽培的文心兰切花品种以南茜(*Oncidium* Gower Ramsey) 及其变异种为主^[1-4]。文心兰切花衰老快慢和寿命长短是评价观花植物品质好坏的一个重要指标。开展文心兰鲜切花保鲜和衰老机理的研究, 对于延缓文心兰鲜切花衰老速度, 减少流通过程中的损耗量, 延长瓶插寿命, 提高其市场竞争力具有十分重要的意义^[5-6]。此外, 热带兰花生产是热带地区高科技农业的重要组成部分, 是最具活力的农业产业领域之一。文心兰作为重要的鲜切花, 在热带兰花产业中占有重要的比重^[7]。目前, 对文心兰切花生理和采后保鲜研究相对较少, 仅见少量切花采后冷藏保鲜的研究^[5-6]。尚未见采用保鲜剂在文心兰切花保鲜上的应用研究。笔者采用保鲜剂硫代硫酸银(silver thiosulfate, STS)、1-甲基环丙烯或聪明鲜(1-methylcyclopropene, 1-MCP) 及乙烯释放剂乙烯利, 在文心兰开花开放的不同阶段, 处理鲜切花, 研究其对文心兰切花衰老快慢的影响, 以确定在那个阶段处理比较有效。同时, 由于文心兰花瓣衰老为典型的乙烯敏感型, 笔者对文心兰开花各个阶段乙烯释放和乙烯生物合成的直接前体 1-氨基环丙烷 1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC) 含量进行了测定, 旨在了解文心兰内源乙烯生物合成对保鲜剂处理效果的影响及其与处理窗口期的相关性。

收稿日期: 2016-11-18

修回日期: 2017-01-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31560573); 海南省科技项目(ZDZX2013023); 2015 年度海南省普通高等学校研究生创新科研课题(Hys2015-02)

作者简介: 程裕轩(1997-), 男, 海南大学农学院 2015 级生物科学实验班本科生. E-mail: 1157346811@qq.com

通信作者: 刘进平(1970-), 男, 教授. 研究方向: 热带植物遗传育种. E-mail: liu3305602@163.com

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为文心兰‘黄金 3 代’(*Oncidium Gower Ramsey ‘Gold 3’*) 商品鲜切花, 购自海南出入境检验检疫局热带植物隔离检疫中心。

1.2 试验方法 保鲜剂处理参照文献[8-9]的方法, 乙烯释放和 ACC 含量测定参考文献[10]的方法。

1.2.1 文心兰切花保鲜剂处理和衰老进程观察 文心兰切花购买回后, 对花序枝上分别处于花苞期、绽口期、半开放期、盛开前期、盛开期、衰老初期、衰老期和脱落干枯期 8 个阶段的花朵进行挂牌记录, 切去花茎下端 0.1 cm 后进行如下处理: 0.5 mmol · L⁻¹ STS 溶液瓶插培养 4 h 后, 换成对照自来水继续瓶插培养; 1-MCP 处理方法为预先于密封塑料箱内放置 1-MCP 片剂, 按照说明书加入 2 mL 的水溶解, 将文心兰切花放入其中迅速密封, 室温处理 4 h, 取出后用自来水继续瓶插培养; 均匀喷洒 1 mmol · L⁻¹ 乙烯利溶液 1 min 后, 用自来水继续瓶插培养; 插入自来水中(每 2 d 换 1 次水), 作为对照。每组处理 15 枝。之后每天上午对花衰老进程进行观察, 记录每朵花到达下一阶段所需要的时间。

1.2.2 文心兰切花各阶段乙烯释放测定 用锋利的剪刀(在刀口处喷洒 75% 的酒精消毒) 将商品文心兰鲜切花下端切口剪去, 插入无菌水中进行复水约 2 h。将鲜切花分成 3 组, 在每组中取同一时期的花 45 朵。将每朵花的花器官(花萼、花瓣和蕊柱) 部分分别收集放置在 1 个 20 mL 的顶空瓶中。盖上盖子 25 °C 保温 1 h, 然后用 Agilent 7890 气相色谱仪进行乙烯测定。测定时放到 Agilent CTC 进样器中, 500 r · min⁻¹ 振荡 30 s。取 1 mL 气体用于检测乙烯浓度。气相色谱条件: 色谱柱为 HP-5 毛细管柱(30.0 m × 320 μm × 0.25 μm), 柱温 60 °C, 载气 He 流速 30 mL · min⁻¹, 燃气 H₂ 流速 30 mL · min⁻¹, 空气流速 300 mL · min⁻¹; FID 温度 250 °C, 进样口温度 105 °C, 分流比 30 : 1。乙烯释放速率 S 用如下公式计算:

$$S = C \times V \times 1\,000 \div (m \times t)$$

式中: S : 乙烯释放速率 nL(g · h⁻¹) ; C : 乙烯浓度(μL · L⁻¹) ; 容器容积 V (mL) ; m : 组织质量(g) ; t : 密闭时间(h) 。测定完乙烯后, 将材料从顶空瓶中取出分别称重、记录, 并保存在 -80 °C 的冰箱中用于后面 ACC 含量的测定。

1.2.3 文心兰切花各阶段 ACC 含量的测定 称取约 0.3 g 上述样品, 在液氮中研碎, 加入约 0.05 g 的 PVP, 继续碾磨呈面粉状; 转移至 10 mL 离心管中, 加入 4 mL 80% 乙醇(4 °C) , 剧烈振荡, 4 °C 静置过夜; 在 4 °C 条件下 12 000 r · min⁻¹ 离心 20 min, 取上清液装入另一 10 mL 离心管中, 加入 3 mL 氯仿以溶解色素, 混合充分后, 在 4 °C 条件下 4 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 取上清即为 ACC 提取液。ACC 含量的测定: 冰浴条件下, 取 1 mL ACC 提取液至顶空瓶中, 加入 0.1 mL 25 mmol · L⁻¹ 的 HgCl₂ 溶液使蛋白变性, 密封顶空瓶, 用 1 mL 的微量注射器注入 0.3 mL 5% 的 NaClO: 饱和 NaOH 混合液($V : V = 2 : 1$) , 混匀并冰浴 2 h 后测定 ACC 含量。

在样品 ACC 的含量测定前, 首先进行 ACC 标准曲线的制作。称取 10 mg 的 ACC 标准品, 用 1 mL 水溶解作为母液; 取 100 μL 母液用 10 mL 水稀释作为备用液。取 500 μL 备用液用 1 mL 水稀释, 依次类推, 配制 6 个一定浓度梯度的 ACC 标准品样品, 最后 1 个 ACC 标准品样品是取前 1 次样品 500 μL 用 500 μL 水稀释, 每个浓度梯度设置 3 个重复。余下步骤同 ACC 含量测定步骤, 同样冰浴 2 h。以 ACC 标准品作为横坐标, 以其转换的乙烯浓度为纵坐标, 做标准曲线, 根据标准曲线计算待测样品中 ACC 的含量。

2 结果与分析

2.1 文心兰切花保鲜剂处理对花衰老进程的影响 从图 1 可知, 大体上从半开放期(C 阶段) 后, 乙烯利处理大幅度缩短文心兰切花的衰老进程, 尤其是盛开前期(D 阶段) 、盛开期(E 阶段) 和衰老初期(F 阶段) 分别比对照缩短 3.9、3.71 d 和 2.51 d; STS 溶液处理后, 文心兰切花的盛开前期(D 阶段) 和盛开期(E 阶段) 分别比对照延长 1.21 d 和 0.72 d; 1-MCP 处理与对照在盛开期(E 阶段) 之前区别不大, 但在衰老初期(F 阶段) 和衰老期(G) 分别比对照延长 1.06 d 和 0.60 d。

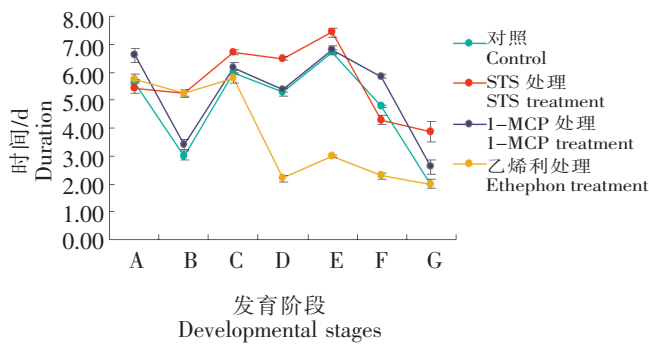


图1 文心兰切花保鲜剂和乙烯利处理对花衰老进程的影响
Fig. 1 Effect of preservatives and ethephon on the senescence of *Oncidium* cut flowers

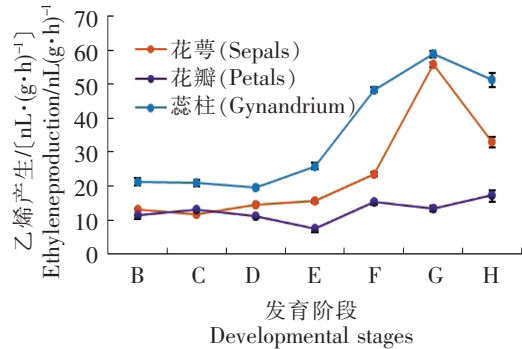


图2 文心兰切花不同开花阶段的乙烯释放量
Fig. 2 Ethylene production at different flowering stages of *Oncidium* cut flowers

2.2 文心兰切花开放各个阶段的乙烯释放 从图2可知,蕊柱乙烯释放量在整个花衰老过程中均高于花萼和花瓣,其次是花萼。蕊柱和花萼盛开前期(D阶段)和盛开期(E阶段)之间缓慢上升,盛开期(E阶段)和衰老期(G)之间急剧上升。衰老期(G)到达乙烯释放速率顶点后随之下降。而花瓣乙烯释放速率总体上呈现波动状态,变化趋势不明显,在衰老初期(F阶段)达到高峰。

2.3 文心兰切花开放各个阶段的ACC含量 从图3可知,在文心兰切花开放各个阶段,蕊柱中ACC含量均高于花萼和花瓣中的ACC含量。蕊柱和花萼中ACC含量变化趋势一致,绽口期(B阶段)和半开放期(C阶段)

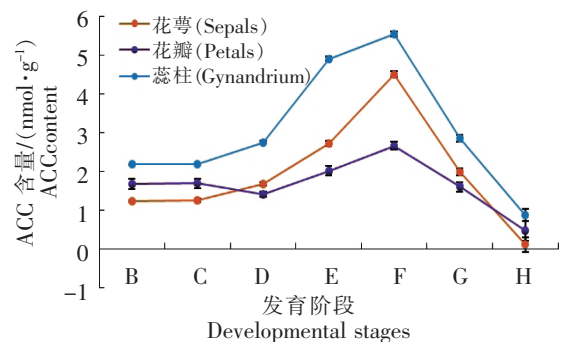


图3 文心兰切花不同开花阶段ACC的含量
Fig. 3 ACC contents at different flowering stages of *Oncidium* cut flowers

期间基本稳定,而半开放期(C阶段)到盛开前期(D阶段)缓慢增加,盛开前期(D阶段)后急剧增加,到衰老初期(F阶段)达到顶点,随后急剧下降。花瓣中的ACC含量盛开前期(D阶段)后缓慢增加,同样在衰老初期(F阶段)达到顶点,随后下降。

3 讨论

乙烯缩短乙烯敏感型切花寿命,乙烯作用抑制剂如1-MCP和STS可延缓乙烯敏感型切花衰老和增加瓶插寿命已广泛报道^[8-9],但这些试剂作用的最佳时期则研究较少。本研究结果表明,乙烯利对花开放早期影响不明显,但可大幅度缩短盛开前期(D阶段)、盛开期(E阶段)和衰老初期(F阶段)的时间。1-MCP处理与对照在盛开期(E阶段)之前区别不大,但却延长了衰老初期(F阶段)和衰老期(G)的时间。类似效果似乎具有物种依赖性。Xu X等^[11]报道,外源乙烯处理可降低紫茉莉(*Mirabilis jalapa*)切花寿命20%,但主要是大幅缩短了从完全开放到衰老初期的时间。In B C等^[12]报道,康乃馨最初的衰老形态指标在花的乙烯合成高峰期(即呼吸跃变期或呼吸高峰期)后出现,而一旦进入呼吸跃变期或呼吸高峰期,则乙烯受体竞争性抑制剂1-MCP阻断乙烯就不能抑制康乃馨花衰老进程。

为了找出不同开放阶段文心兰乙烯生物合成对保鲜剂处理效果的影响,及其与处理窗口期的相关性,笔者对文心兰开花各个阶段乙烯释放和ACC含量进行了测定。结果表明,ACC含量增加曲线与乙烯释放量变化趋势基本相同,但ACC含量的快速增加时间要早于乙烯释放量快速增加时间。蕊柱乙烯释放量和ACC含量的增加值均高于花萼和花瓣。这种在柱头或蕊柱中乙烯释放与ACC含量增加值高于其他花部分的情况在其他物种中也存在^[13-17]。

乙烯敏感型花衰老一般都存在乙烯生成量的跃变峰,即乙烯产生在开花前期较小,在开花末期迅速增加。乙烯产生跃变峰的出现会促进花的衰老。但不同的物种或品种跃变峰出现的时间早晚略有差

异^[18-23] 如条叶糖芥(*Erysimum linifolium*) 在衰老初期时内源乙烯产生高峰,而对乙烯不敏感的百合水仙(*Alstroemeria*) 则在掉落前产生乙烯合成高峰^[24]。本实验中,文心兰乙烯释放速率在衰老期(G 阶段) 到达顶点,而 ACC 含量峰值则出现在衰老初期(F 阶段)。

由实验结果可知,文心兰切花大体上从半开放期(C 阶段) 后,乙烯利处理可大幅度加速文心兰切花的衰老进程。相对应的是,蕊柱和花萼中 ACC 含量在绽口期(B 阶段) 基本稳定,而半开放期(C 阶段) 之后开始增加,而乙烯释放量在盛开前期(D 阶段) 后上升。可见乙烯利对乙烯生物合成的促进作用与 STS 及 1-MCP 对乙烯的抑制作用主要在乙烯生物合成开始之后发挥作用。表明文心兰花器官内源乙烯生物合成的启动对保鲜剂不同阶段的处理效果有一定的影响和相关性。

参考文献:

- [1] 吕复兵. 文心兰育种概况与展望[J]. 花卉, 2007(2): 28-29.
- [2] 刘晓荣,王碧青,朱根发. 文心兰研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2007, 36(3): 85-90.
- [3] 叶炜,尚伟,夏潮水. 文心兰育种研究进展[J]. 三明农业科技, 2008, 112(3): 17-19.
- [4] 罗远华,黄敏玲,吴建设. 文心兰育种研究进展[J]. 江西农业学报, 2012, 24(10): 15-20.
- [5] 潘英文,林明光,韩松. 文心兰切花采后冷藏保鲜技术研究[J]. 热带作物学报, 2011, 32(4): 752-755.
- [6] 周慧,林明光,潘英文,等. 冰袋预冷处理对文心兰鲜切花瓶插寿命及生理指标的影响[J]. 北方园艺, 2016(8): 118-121.
- [7] 范武波,凌绪柏,吴多清,等. 大力发展文心兰产业,促进海南新农村建设[J]. 热带农业科学, 2008, 28(2): 55-58, 75.
- [8] 高娟,贾培义,王彦杰,等. 外源乙烯及 1-MCP 对牡丹 CTR 基因表达的影响[J]. 西北植物学报, 2011, 31(1): 19-26.
- [9] 马男,蔡蕾,陆旺金,等. 外源乙烯对月季(*Rosa hybrida*) 切花花朵开放的影响与乙烯生物合成相关基因表达的关联[J]. 中国科学 C 辑生命科学, 2005, 35(2): 104-114.
- [10] 高兆银,胡美姣,李敏,等. 芒果蒂腐病菌对芒果采后乙烯释放和 ACC 含量的影响[J]. 热带作物学报, 2010, 31(10): 1785-1789.
- [11] Xu X, Gookin T, Jiang, et al. Genes associated with opening and senescence of *Mirabilis jalapa* flowers[J]. J. Exp. Bot., 2007, 58(8): 2193-2201.
- [12] In B C, Binder B M, Falbel T G, et al. Analysis of gene expression during the transition to climacteric phase in carnation flowers (*Dianthus caryophyllus* L.) [J]. J. Exp. Bot., 2013, 64(16): 4923-4937.
- [13] Hoekstra F A, Weges R. Lack of control by early pistillate ethylene of the accelerated wilting of *Petunia hybrida* flowers[J]. Plant Physiol, 1986, 80(2): 403-408.
- [14] Kovaleva L V, Timofeeva G V, Zakharova E V, et al. Ethylene synthesis in petunia stigma tissues governs the growth of pollen tubes in progamic phase of fertilization[J]. Russ J. Plant Physiol, 2011, 58(3): 402-408.
- [15] 史国安,郭香凤,李春丽,等. 牡丹花枝不同发育时期各器官乙烯释放和 ACC 含量的变化[J]. 园艺学报, 2010, 37(1): 77-82.
- [16] Nichols R. Sites of ethylene production in the pollinated and unpollinated senescing carnation (*Dianthus caryophyllus*) in flower[J]. Planta, 1977, 135: 155-59.
- [17] 沈红香,刘晓辉,谭辉,等. 三类切花月季品种花器乙烯生成量和 ACC 含量的时空变化[J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 1899-1903.
- [18] 刘雅莉,王飞,黄森. 百合花朵不同发育期乙烯释放量与膜脂过氧化作用的研究[J]. 西北植物学报, 1999, 19(6): 143-147.
- [19] 王荣花,刘雅莉,李嘉瑞. 不同发育阶段牡丹和芍药切花生理特性的研究[J]. 园艺学报, 2005, 32(5): 861-865.
- [20] 史国安,郭香凤,韩建国,等. 牡丹开花和衰老期间乙烯及脂质过氧化的研究[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(5): 50-53.
- [21] 柯德森,王爱国,罗广华. 花的脱落与乙烯、生长素类似物及超氧自由基的关系[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(1): 18-21.
- [22] 王哲,史国安,马雪情,等. 芍药‘桃花飞雪’开花衰老期间乙烯代谢生理机制的研究[J]. 园艺学报, 2014, 41(11): 2268-2274.
- [23] 高俊平,张晓红,黄绵佳,等. 月季切花开花和衰老进程中乙烯变化类型初探[J]. 园艺学报, 1997, 24(3): 274-278.
- [24] Salleh F M, Mariotti L, Spadafora N D, et al. Interaction of plant growth regulators and reactive oxygen species to regulate petal senescence in wallflowers (*Erysimum linifolium*) [J]. BMC Plant Biol., 2016, 16: 77.

Pollen Germination in Situ and Stigma Receptivity of Cassava

ZHOU Yaqiu¹, SUN Qi¹, CHEN Xia¹, LAI Hanggui¹, CHEN Songbi², YE Jianqiu²

(1. College of Agronomy, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou, Hainan 571737, China)

Abstract: The pollen germination and stigma receptivity is an important part of plant reproduction, and it is the basis for the artificial pollination in reproduction and crossbreeding. The pollen germination rate and pollen tube growth of cassava varieties SC5 and SC7 were observed by using the method for pollen germination in situ and in vivo, and the stigma receptivity was detected by using the benzidine-hydrogen peroxide test. The differences of the pollen tube germination process in selfing or crossing of these two cassava varieties were analyzed to determine the best pollination time for the stigmas of the pistil of cassava. The results show that there are differences in pollination affinity of the cassava varieties in the self- and cross-pollination, and that cross pollination had obvious advantages in pollen germination speed and rate. The best pollination time for the stigma was 2–5 h after the female flowers opened, and the stigma receptivity was the highest within 5–24 h. The stigma receptivity turned to be weaker with time and was no longer available after 72 h.

Keywords: Cassava; pollen; germination in situ; stigma; receptivity

(上接第 51 页)

Effects of Preservatives Applied at Different Flowering Stages on Cut Flower Senescence of *Oncidium* Gower Ramsey

CHENG Yuxuan¹, YANG Cuiping¹, TIAN Xiaoyan¹, SHI Lesong¹, HU Jin¹,
YAN Bingyu¹, GONG Xiaoxiao¹, ZHUANG Yufen¹, PAN Yingwen², LIU Jinping¹

(1. Hainan Key Laboratory for Sustainable Utilization of Tropical Bioresources, College of Agronomy, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Post-Entry Quarantine Station for Tropical Plants, Hainan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Haikou, Hainan 570311, China)

Abstract: *Oncidium* flowers (*Oncidium* Gower Ramsey) at different flowering stages were treated with ethylene agents such as silver thiosulfate (STS) and 1-methylcyclopropene (1-MCP), and ethylene releaser ethephon to observe the effects of the ethylene agents used as preservatives on cut flowers. The results show that the aging process of *Oncidium* flowers could be obviously shortened by ethephon application after the half-opened stage. The STS treatment could prolong the prior-to-full-opening stage and the full-opened stage of flowers. The 1-MCP treatment could delay the senescing progression of flowers at the initial stage of senescence and the senescence stage. The ethylene production and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) content of the flower parts at different flowering stages were determined. The results showed that ACC contents of the gynandria and sepals of the cut flowers were steady during the bud-burst stage and the half-opened stage, but rose after the half-opened stage, and that ethylene production increased after the prior-to-full-opening stage. ACC contents of petals increased slowly after the prior-to-full-opening stage and peaked at the initial stage of senescence. The effectiveness of the preservatives appeared to be strongly affected by the initiation of endogenous ethylene biosynthesis in *Oncidium* cut flowers.

Keywords: *Oncidium* Gower Ramsey; flower senescence; preservative; STS; 1-MCP; ethephon; ethylene production; ACC content