

PP₃₃₃对桂花幼树生长及叶片抗氧化酶活性的影响

时朝¹, 郑彩霞¹, 徐莎²

(1. 北京林业大学 生物科学与技术学院, 北京 10083; 2. 北京东城区园林局 北京 100007)

摘要: 运用实验生态学和生物化学的方法, 研究了 PP₃₃₃ 对蒙山金桂、‘早银桂’和‘佛顶珠’3个桂花品种的生长及叶片抗氧化酶活性的影响。结果表明: 外施 PP₃₃₃ 可显著抑制桂花枝条的伸长生长, 促进加粗生长, 并使枝条节间长度缩短, 2 000 mg/L 的 PP₃₃₃ 处理早银桂 30 d 后, 与对照相比, 其枝条长度和平均节间长度分别缩短 11.8 cm 和 1.8 cm, 粗度增加 0.2 cm。另外, 经不同浓度 PP₃₃₃ 处理后, 3 种桂花叶片中抗氧化防御系统的关键酶超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(Peroxidase, POD)均表现为在低浓度($\leq 1\,000$ mg/L)时受到诱导作用, 在高浓度($\geq 2\,000$ mg/L)时受到抑制作用; PP₃₃₃ 处理后过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性普遍呈下降趋势, SOD 和 POD 活性的变化与 CAT 的活性变化不存在相关性。

关键词: 桂花; 多效唑; 超氧化物歧化酶; 过氧化物酶; 过氧化氢酶

中图分类号: S 685.13 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)12-0152-04

桂花(*Osmanthus fragrans* Lour.)为木樨科常绿木本植物, 是原产于我国西南山区的一种集绿化、香化、美化为一体的优良的园林树种。在香料、药材、食品工业等方面也有广阔的应用前景。随着桂花产业化发展, 我国北方地区也开始大面积种植桂花, 然而由于北方地区冬季气温寒冷, 气候干燥, 桂花的伸长生长不利于其安全越冬。用植物生长抑制剂处理可以解除植物的顶端优势, 诱导侧枝的发生, 抑制枝条的伸长生长, 是替代人工修剪的一条有效途径。多效唑(Paclobutrazol, PP₃₃₃)是一类高效低毒的植物生长调节剂, 它能够阻碍内源赤霉素(GA)的合成^[1], 延缓植物生长, 抑制茎枝伸长, 使茎秆粗壮; 促进植物分枝、分蘖、生根、成花及坐果, 增加叶片叶绿素、蛋白质和核酸的含量, 提高光合速率和抗氧化酶的活性, 增强植物的抗寒性和抗旱性^[2-4]。目前, 国内外已将多效唑大面积应用在水稻、小麦、棉花、油菜和果树等多种农作物生产上^[5-6], 并取得了较好的经济和社会效益。该研究采用 PP₃₃₃ 处理 3 个品种的桂花幼树, 探讨 PP₃₃₃ 对桂花生长、蛋白质含量及抗氧化酶活性的影响, 以期对桂花北移栽培措施的制定提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

第一作者简介: 时朝(1980-), 男, 在读博士, 现主要从事植物生理生化研究工作。E-mail: shizhao_bj@126.com。

通讯作者: 郑彩霞(1955-), 女, 博士, 教授, 主要研究方向为植物生长与发育生物学。

收稿日期: 2010-03-01

‘蒙山金桂’(*O. fragrans* ‘Mengshan Jin’), ‘早银桂’(*O. fragrans* ‘Zao Yingui’)和‘佛顶珠’(*O. fragrans* ‘Foding Zhu’)3种桂花均种植于北京东城区柳荫公园苗圃, ‘早银桂’与‘佛顶珠’自江苏引进, 为 2 a 生女贞嫁接苗; ‘蒙山金桂’自山东临沂引进, 为 4 a 生流苏嫁接苗。2008 年 8 月初对试材进行统一修剪, 使树型一致。

1.2 试验方法

1.2.1 PP₃₃₃ 对桂花处理 PP₃₃₃ 为 15% 的可湿性粉剂, 根据预试验结果设置 500、1 000、2 000、3 000 mg/L 4 个浓度, 为使药剂易于附着在叶片上, 可向药液中加入几滴吐温。在桂花幼树新梢长到 7 cm 左右时进行喷施, 喷洒时使整个植株的叶片和茎表面湿润, 药液欲滴而不流为准。每个处理 3 株, 对照株喷施清水。自第 1 次喷洒后, 每隔 5 d 喷 1 次药, 连续喷 3 次。

1.2.2 幼树生长量测定 自第 1 次喷施后, 每隔 10 d 测量 1 次桂花新梢的伸长长度、粗度、枝条节数和节间长度, 测定时每株选 3 个外围顶梢, 取平均值。

1.2.3 叶片蛋白质含量的测定 取 0.2 g 样品剪碎后, 放入预冷研钵中, 加入 5 mL pH 7.0 的 PBS 缓冲液(0.1 mol/L)冰浴研磨提取, 提取液在 6 000 r/min 冷冻离心 20 min, 上清液即为酶蛋白提取液, 用于测定蛋白质含量及酶活性的分析, 同时采用考马斯亮蓝法^[7]测定蛋白质含量。

1.2.4 SOD 活性测定 采用 Bewley 等^[8]改进的氮蓝四唑(NBT)光化学还原反应法。1 个 SOD 活力单位定义为: 能引起反应初速度(指不加酶提取液时)抑制 50%

时的酶用量。

1.2.5 POD 活性测定 采用 Srivestava 等^[9] 改进的愈创木酚法。酶活性单位定义为: 每分钟内 ΔA_{470} 变化 0.01 为 1 个 POD 活力单位。

1.2.6 CAT 活性测定 采用高锰酸钾滴定法^[10], 用每 108 个细胞 1 min 内分解 H_2O_2 的毫克数。以上蛋白质含量及酶活性测定试验均重复 3 次。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 和 SPSS 13.0 软件进行试验数据的统计分析。

2 结果与分析

2.1 多效唑对桂花生长的影响

如图 1 所示, 多效唑对 3 种桂花枝条生长的影响十分显著。以‘早银桂’为例, 多效唑处理后桂花枝条伸生长和加粗生长, 多效唑与对照相比能显著抑制桂花枝

条的伸长, 增加枝条的粗度, 随着浓度的升高, 抑制枝条伸长生长效果越好, 增粗效果越明显。与对照相比, 2 000 mg/L 多效唑处理 30 d 后对桂花枝条长度的抑制率达到 32.2%($P<0.05$); 3 000 mg/L 多效唑处理 40 d 后枝条粗度增加 36.2%($P<0.05$)。对伸长生长影响大约在处理后 10~30 d 期间, 对增粗生长的影响比伸长生长晚, 大约在处理 20 d 后才有效果。

如图 2 所示, 多效唑抑制桂花枝条的伸长生长主要是通过抑制枝条节间的生长, 而不是抑制节间数的增加。不同浓度多效唑对桂花枝条节数没有显著的影响, 都在 6 节左右。但不同浓度多效唑对桂花幼树节间长度有显著的影响, 多效唑浓度越高节间越短, 与对照相比, 3 000 mg/L 多效唑处理 30 d 后对桂花枝条节间长度的抑制率达到 40.7%($P<0.05$)。

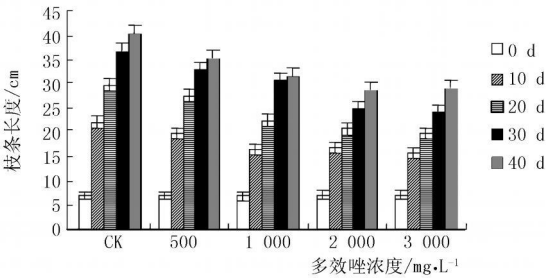


图 1 多效唑处理对 早银桂 枝条长度和粗度的影响

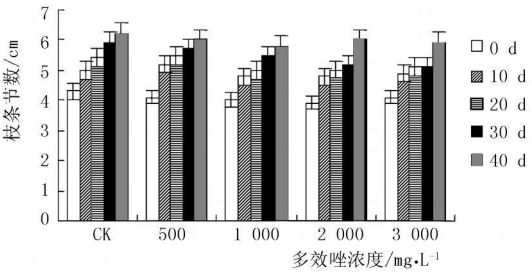
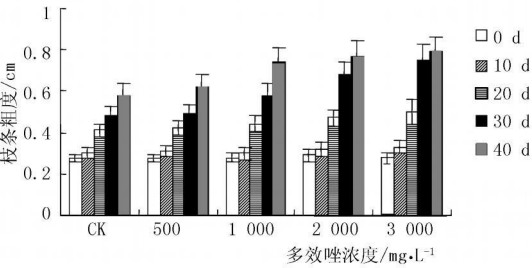
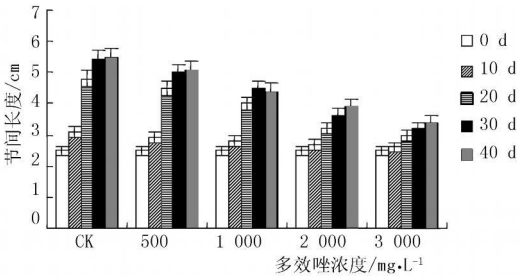


图 2 多效唑处理对 早银桂 枝条节数和节间长度的影响



2.2 多效唑对桂花叶片蛋白质含量的影响

如图 3 所示, 500 mg/L 多效唑处理后 3 种桂花叶片蛋白质含量与对照相比无显著差异。当处理浓度为 1 000~2 000 mg/L 时, 3 种桂花的叶片蛋白含量均表现为诱导性上升, 对于‘早银桂’, 1 000 mg/L 多效唑处理组蛋白质含量上升显著, 比对照提高了 72.1%($P<0.01$); 当处理浓度增至 3 000 mg/L 时, 处理组的蛋白质含量有下降的趋势。其中对‘佛顶珠’和‘早银桂’的蛋白含量抑制率分别达到 36.9%($P<0.05$)和 22.3%($P<0.05$)。

2.3 多效唑对桂花叶片 SOD 活性的影响

如图 4 所示, 低浓度多效唑处理对‘蒙山金桂’和

‘佛顶珠’叶片 SOD 活性几乎无影响, 只有‘早银桂’的 SOD 活性成上升趋势; 当浓度为 1 000 mg/L 时, 所有处理组的 SOD 活性均表现为诱导性上升, 且幅度显著, ‘蒙山金桂’、‘早银桂’、‘佛顶珠’比对照分别提高了 129.4%、189.4%和 65.2%($P<0.01$)。随着多效唑浓度的加大, 3 种桂花叶片 SOD 活性呈下降趋势, 3 000 mg/L 多效唑对早银桂和佛顶珠叶片 SOD 活性抑制率分别为 74.6%和 77.6%($P<0.01$)。

2.4 多效唑对桂花叶片 POD 活性的影响

如图 5 所示, 500 mg/L 多效唑处理后 3 种桂花叶片 POD 活性与对照相比无显著差异; 当浓度为

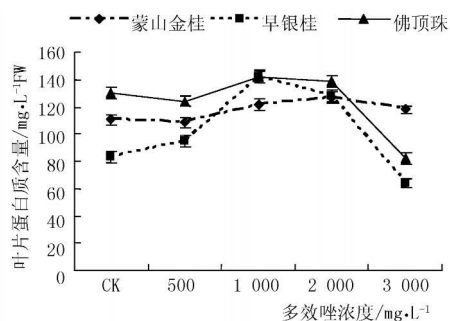


图3 多效唑对3种桂花叶片蛋白质含量的影响

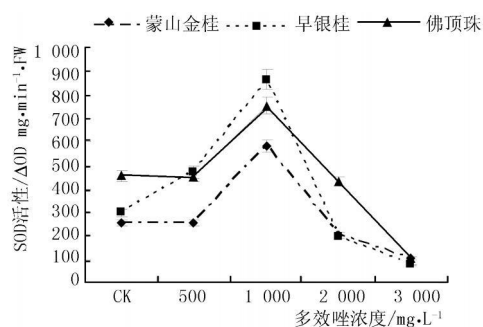


图4 多效唑对3种桂花叶片SOD活性的影响

1 000 mg/L时,‘早银桂’和‘佛顶珠’的SOD活性表现为诱导性上升,且幅度显著,分别提高了513.2%和162.8%($P<0.01$),但‘蒙山金桂’与对照相比几乎无变化。随着多效唑浓度增至2 000 mg/L时,‘蒙山金桂’的叶片POD活性才表现为诱导性上升(比对照提高56.6%),此时另外2种桂花叶片SOD活性已呈下降趋势;当处理浓度继续增加至3 000 mg/L时,所有处理组均为下降趋势,对‘早银桂’和‘佛顶珠’叶片SOD活性抑制率分别达到82.8%($P<0.01$)和43.5%($P<0.05$)。

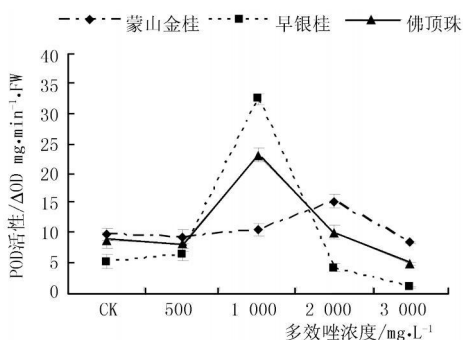


图5 多效唑对3种桂花叶片POD活性的影响

2.5 多效唑对桂花叶片CAT活性的影响

由图6可知,不同浓度的多效唑均能降低‘早银桂’和‘佛顶珠’的CAT活性,而且表现出明显的剂量—效应

关系。当浓度大于500 mg/L时,3种桂花的CAT活性全部呈现下降趋势,3 000 mg/L多效唑对‘蒙山金桂’、‘早银桂’和‘佛顶珠’CAT活性的抑制率分别为80.5%($P<0.01$)、96.9%($P<0.01$)和68.6%($P<0.01$)。

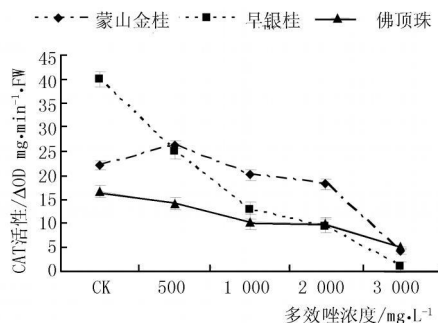


图6 多效唑对3种桂花叶片CAT活性的影响

3 讨论

多效唑属于三唑类植物生长调节剂,它能够提高吲哚乙酸氧化酶的活性,降低植物内源生长素(IAA)的水平,抑制内源赤霉素(GA)的合成,从而对植物的生长起到抑制作用。低浓度多效唑能增进植物的光合效率,高浓度则抑制光合效率。该研究中,多效唑对于抑制桂花枝条的伸长生长、增加枝条的粗度和促进桂花树型的美观度等方面效果十分明显,但处理浓度不宜过高,在浓度过高的时候会出现药物毒害现象,此时桂花的叶片特别是顶端的新生叶会干枯死亡。对于‘早银桂’和‘佛顶珠’,多效唑较适宜的浓度在1 000~1 500 mg/L,‘蒙山金桂’较适宜的浓度约在2 000 mg/L左右。植物体内抗氧化防御机制包括酶促机制和非酶促机制。在酶促机制中,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)起着至关重要的作用^[11-13]。SOD和POD能够清除植物细胞内的活性氧自由基,CAT能够消除H₂O₂对细胞的损伤。植物抗氧化防御机制对外来化合物胁迫的耐受性与植物的生理状况以及植物种类进化程度有关^[4]。目前关于多效唑对玉米^[15]、薯类^[16]、大麦^[3]等高等植物抗氧化防御系统影响的研究较多,研究表明,低浓度多效唑可显著促进植物SOD、POD和CAT活性,从而提高植物的抗逆性。该试验在研究多效唑对3种桂花叶片抗氧化酶活性的影响中发现,低浓度(≤1 000 mg/L)多效唑处理3种桂花后,其叶片内SOD和POD活性均表现为诱导性上升,高浓度(≥2 000 mg/L)处理组SOD和POD活性则受到抑制,原因可能是,低浓度多效唑使桂花叶片活性氧的量上升,从而激活更多的SOD和POD来清除活性氧,而随着多效唑浓度的升高,桂花叶片的活性氧自由基过量产生导致整个抗氧化防御系统遭到破坏,表现为SOD和

POD 活性降低, 进而对叶片细胞产生伤害。而各多效唑处理组的 CAT 活性普遍小于对照组, 并没有表现出低浓度促进高浓度抑制的现象, 试验发现 SOD 和 POD 活性的变化与 CAT 的活性不存在相关性, 其作用机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Guo D P, Shah G A, Zeng G W, et al. The interaction of plant growth regulators and vernalization on the growth and flowering of cauliflower (*Brassica oleracea* var. botrytis) [J]. *Plant growth regulation* 2004, 43(2): 163-171.
- [2] Chutichudet B, Chutichudet P, Chanaboon T. Effect of chemical paclobutrazol on growth, yield and quality of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) Harilium cultivar in northeast Thailand [J]. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2007, 10(3): 433-438.
- [3] 曾旭, 张怀琼, 罗培高, 等. 多效唑对小麦叶片衰老及产量的影响 [J]. *华北农学报* 2007, 22(2): 136-140.
- [4] Hajihashemi S, Kiarostami K, Saboori A, et al. Exogenously applied paclobutrazol modulates growth in saltstressed wheat plants [J]. *Plant Growth Regulation*, 2007, 53(2): 117-128.
- [5] Ozmen A D, Ozdemir F, Turkan I. Effects of paclobutrazol on response of two barley cultivars to salt stress [J]. *Biologia Plantarum*, 2003, 46(2): 263-268.
- [6] 龙旭. 多效唑的作用机理及其在农业生产上的应用 [J]. *植物医生*, 2002, 15(1): 4-6.
- [7] 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.

- [8] Bewley R D. Physiological aspects of desiccation tolerance [J]. *Rev Plant Physiol*, 1979, 20: 195-238.
- [9] Srivastava O P, Van Huystee P B. Evidence for close association of POD polyphenoloxidase and IAA oxidase isoenzyme of peanut suspension culture medium [J]. *Can J Bot*, 1973, 51: 2207-2215.
- [10] 李合生, 孙群, 赵世杰. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 165-167.
- [11] Shama Pallavi, Dubey R S. Involvement of oxidative stress and role of antioxidant defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum [J]. *Plant Cell Reports* 2007, 26(11): 2027-2038.
- [12] LIU Xiao-l, ZHANG Shu-zhen, SHAN Xiao-quan, et al. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidant enzyme responses to cadmium and arsenate cocontamination [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 68(2): 305-313.
- [13] 蔡恒江, 唐学玺. 3 种海洋赤潮微藻抗氧化酶活性对 UV-B 副射增强的响应 [J]. *中国海洋大学学报 (自然科学版)*, 2006, 36(1): 81-84.
- [14] Karthikeyan B, Jaleel C A, Gopi R, et al. Alterations in seedling vigour and antioxidant enzyme activities in *Catharanthus roseus* under seed priming with native diazotrophs [J]. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 2007, 8(7): 453-457.
- [15] Pinheiro R G, Rao M V, Paliyath G. Changes in activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol-induced chilling tolerance of maize seedlings [J]. *Plant Physiology*, 1997, 114(2): 695-704.
- [16] Jaleel C A, Manivannan P, Omathinayagama G, et al. Responses of antioxidant potentials in *Dioscorea rotundata* Poir. following paclobutrazol drenching [J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2007, 330(11): 798-805.

Effects of PP₃₃₃ on Growth and Activities of Antioxidative Enzymes of *Osmanthus fragrans* Saplings

SHI Zhao¹, ZHENG Cai-xia¹, XU Sha²

(1. College of Biology Science and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083; 2. Beijing Dongcheng District Garden Bureau, Beijing 100007)

Abstract: We explored effects of paclobutrazol (PP₃₃₃) on the growth and antioxidant enzyme activities of *O. fragrans* ‘Mengshan Jin’, *O. fragrans* ‘Zao Yingui’ and *O. fragrans* ‘Foding Zhu’, using bioecology and biochemistry methods. The results indicated that PP₃₃₃ could inhibit the shoot length significantly, accelerate the shoot diameter, shorten the shoot node. After 30 days with 2 000 mg/L PP₃₃₃ treatment on *O. fragrans* ‘Zao Yingui’, comparing with the control, shoot length and average internode length were reduced 11.8 cm and 1.8 cm, while thickness increased 0.2 cm. Additionally, it was proved that the different treatments make superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) of three different osmanthus, the key enzymes of antioxidant defense system, had induction at lower concentration ($\leq 1\ 000$ mg/L) and inhibition at higher concentration ($\geq 2\ 000$ mg/L); the different treatments decreased the activities of catalase (CAT) of three osmanthus, but the changes of SOD and POD had no correlation with the activity of CAT.

Key words: *Osmanthus fragrans* Lour.; paclobutrazol (PP₃₃₃); superoxide dismutase (SOD); peroxidase (POD); catalase (CAT)