

外源 ABA、NO 和 H₂O₂ 对葱莲花瓣及叶片表皮气孔开闭的影响

谢雯琦, 张金平, 谭建仪, 玄晓丽, 王永飞, 马三梅*

(暨南大学生物工程学系, 广州 510632)

摘要: 以葱莲(*Zephyranthes candida*)为材料, 研究不同浓度外源脱落酸、硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)及过氧化氢对花瓣和叶片表皮气孔开闭的影响, 以期三者为切花保鲜中的应用提供新的依据。实验结果表明, 10 ~ 1000 μmol/L 脱落酸和硝普钠均能不同程度地引起花瓣和叶片表皮气孔关闭, 且花瓣气孔较叶片气孔有更高的敏感性。过氧化氢对叶片表皮气孔开闭的影响大于对花瓣气孔的影响, 花瓣表皮的气孔孔径仅在 1000 μmol/L 处理时变化显著。这说明在外源信号物质延缓切花衰老的过程中, 花瓣表皮气孔的运动也可能起到了一定的作用。适当外源信号物质处理能诱导花瓣表皮气孔关闭, 从而使花瓣的蒸腾作用减小, 维持植物体内水势, 延缓切花衰老。

关键词: 葱莲; 外源信号物质; 气孔运动; 切花衰老

中图分类号: Q945.78

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2013)03-0278-08

Effects of Exogenous Abscissic Acid, Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide on Stomatal Movement in Petals and Leaves of *Zephyranthes candida*

XIE Wen-Qi, ZHANG Jin-Ping, TAN Jian-Yi, XUAN Xiao-Li, WANG Yong-Fei, MA San-Mei*

(Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: To illustrate the effect of ABA, SNP (sodium nitroprusside) and H₂O₂ on stomata in the petals and leaves of *Zephyranthes candida* and explain the application of endogenous signal substances in cut flower perservation, the rate of change in stomatal apertures was measured. Results showed that 10 – 1000 μmol/L SNP and ABA could induce different degrees of stomatal closure in petals and leaves, with stomata in petals having higher sensitivity than that in leaves. When undergoing H₂O₂ treatments, stomata in petals were only affected at 1000 μmol/L less sensitive than that in leaves. These results revealed that the movement of stomata in petals may help delay flower senescence when flowers undergo exogenous hormone treatments. Appropriate exogenous ABA and SNP treatment could delay flower senescence by inducing the closure of petal stomata, reducing the transpiration rate of petals, and maintaining the water potential of plant cells.

Key words: *Zephyranthes candida*; Exogenous signal compounds; Stomatal movement; Flower senescence

气孔是植物表皮上的一种特殊结构, 由成对的保卫细胞及保卫细胞之间的孔隙组成^[1], 主要分布于植物叶片上, 部分植物的花朵、果实、块茎及种子上也有分布。其中, 位于花朵上的气孔广泛分

布于花萼、花瓣、花丝、花药、子房、花柱和蜜腺等部位的表皮^[2,3]。气孔对植物的光合作用、呼吸作用、水分代谢^[4]以及免疫反应^[5,6]等具有重要的意义。当植物受到缺氧、干旱、冷害等胁迫时, 气

收稿日期: 2012-10-15, 修回日期: 2013-04-12。

基金项目: 广东省农业攻关重大专项基金(2011B020303006) [Key Research Project of Science and Technology of Guangdong Province of China(2011B020303006)]。

作者简介: 谢雯琦(1990 –), 女, 硕士研究生, 主要从事植物形态学、生理学研究(E-mail: slowdance0903@gmail.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: msmwdw@163.com)。

孔还能通过有序开闭将胁迫对植物的损害降至最低^[7]。在此过程中, 作为植物体内重要的信号分子, ABA、NO 和 H₂O₂ 会影响到叶片表皮气孔的运动, 增强叶片的保水能力。如在初始盐胁迫下, 随着植物体内 ABA 含量的升高, 胡杨叶片的气孔关闭, 抑制不良环境对植物的进一步损伤^[8]。对干旱胁迫下的杨树叶片施加 NO 供体硝普钠, 叶片的蒸腾作用会因叶片表皮气孔导度降低而减弱。另外, 植物在高渗条件下能产生并积累 H₂O₂, 诱导气孔关闭^[9]。然而, 这些报道多集中于叶片表皮气孔, 有关外源激素对花瓣气孔运动影响的研究还比较少见。

水分平衡是影响切花衰老速度的重要因素之一^[10], 切花作为脱离母体的活体, 失去水分供应后仍在持续进行蒸腾作用, 往往受到水分胁迫而衰老加速。为最大限度地保持切花的观赏价值, 低浓度的 ABA 和 NO 已广泛用于切花的保鲜。叶姝等发现低浓度天然 ABA 对月季切花具有延长花期、保持切花品质的作用^[11]。NO 供体硝普钠的处理可以明显延缓非洲菊切花弯茎的出现和花枝鲜重变化率的降低, 延长切花瓶插寿命。另外, 添加适当浓度的 H₂O₂ 于百合切花的瓶插液中, 不仅能增大其花径还能延缓衰老^[12]。由于外源 ABA、NO 和 H₂O₂ 能通过调控叶片气孔运动而使植物抗逆生长, 三者对切花寿命的影响也可能与其对花瓣表皮气孔运动的调节作用相关。

葱莲 (*Zephyranthes candida*) 是石蒜科 (Amaryllidaceae) 葱莲属 (*Zephyranthes* Herb) 的一种多年生草本植物, 别名葱兰、玉帘、白花菖蒲。现阶段关于 ABA、NO 对不同切花品种的保鲜作用已有大量报道, 但主要集中在对激素处理浓度的优化和作用验证, 关于低浓度激素处理延缓切花衰老的原因还没有统一的说法。葱莲作为一种广泛种植的观赏性花卉, 叶片和花瓣表皮上的气孔数量较多, 有利于外源激素处理和实验观察。结合低浓度 ABA、NO 在切花保鲜中的广泛用途及活性氧物质与切花衰老的密切关系, 我们采用不同浓度的 ABA、NO 和 H₂O₂ 对花瓣和叶片进行处理, 以期探讨外源 ABA、NO 和 H₂O₂ 对葱莲叶片和花瓣表皮气孔开闭的调控作用, 并进一步探究三者作用切

花保鲜的机理。

1 材料和方法

1.1 植物材料

葱莲 (*Zephyranthes candida* (Lindl.) Herb) 取自暨南大学 (北纬 23°8', 东经 113°17') 校园内。7 月至 8 月, 早上随机采摘生长一致、花瓣大小相同的葱莲进行实验, 取材部位为完全展开的葱莲花瓣和长度一致的叶片近、远轴面中部。用去离子水洗净植物材料, 采用直接撕片法制作临时装片, 毛笔小心刷除黏附的叶肉细胞, 分割成长约 10 mm、宽 5 mm 的表皮条。^[13]

1.2 ABA、SNP 和 H₂O₂ 处理

将表皮条放入盛有表皮缓冲液 (10 mmol/L MES/KOH, 50 mmol/L KCl, 100 μmol/L CaCl₂, pH 6.20) 的培养皿中, 置于 25℃和可见光 (光强 300 μmol·m⁻²·s⁻¹) 下保温 3 h 以促使气孔开放。

将部分表皮条分别放置于由表皮缓冲液配置的浓度各为 10、100 和 1000 μmol/L ABA、SNP 和 H₂O₂ 处理缓冲液中, 继续在 25℃和可见光下保温 3 h。在相同培养条件下, 另外取部分表皮条于表皮缓冲液中处理 3 h, 作为空白对照^[14,15]。其中, SNP (sodium nitroprusside, 硝普钠) 是外源性 NO 的供体, SNP 分子中含有亚硝基, 亚硝基不稳定极易分解, 释放出 NO。

1.3 气孔孔径变化的测定

在 Nikon YS100 光学显微镜 40 倍物镜下, 观察 ABA、SNP 和 H₂O₂ 处理后以及单独表皮缓冲液处理后的表皮条气孔孔径, 每个处理均随机测量 40 个气孔, 取平均值, 实验重复 3 次。

利用以下公式计算 ABA、SNP 和 H₂O₂ 对葱莲花瓣及叶片表皮气孔孔径变化的影响:

$$\alpha = (R_0 - R) / R_0 \times 100\%$$

α 为气孔孔径变化率, R_0 为单独表皮缓冲液处理后表皮条的气孔孔径, R 为 ABA、SNP 或 H₂O₂ 处理后表皮条的气孔孔径。

1.4 数据统计和分析

运用 SPSS 13.0 软件对 ABA、SNP 和 H₂O₂ 处理后以及单独表皮缓冲液处理后的表皮条气孔孔径大小进行 t 检验, 分析在有无 ABA、SNP 和

H₂O₂ 时气孔孔径的变化量是否显著。

2 实验结果

2.1 葱莲花瓣的表皮形态特征

葱莲花瓣的近、远轴面均由表皮细胞和气孔两部分构成，没有表皮毛分布。花瓣表皮细胞呈多边形，叶片的表皮细胞呈较规则的长方形，二者的垂周壁均较平直。花瓣和叶片的近、远轴面上均有气孔分布，呈肾形。花瓣表皮气孔的分布位置不定，而叶片表皮气孔主要分布于表皮细胞顶端，且气孔保卫细胞与叶片表皮细胞相平行(图 1)。

2.2 外源 ABA 对葱莲花瓣上气孔的影响

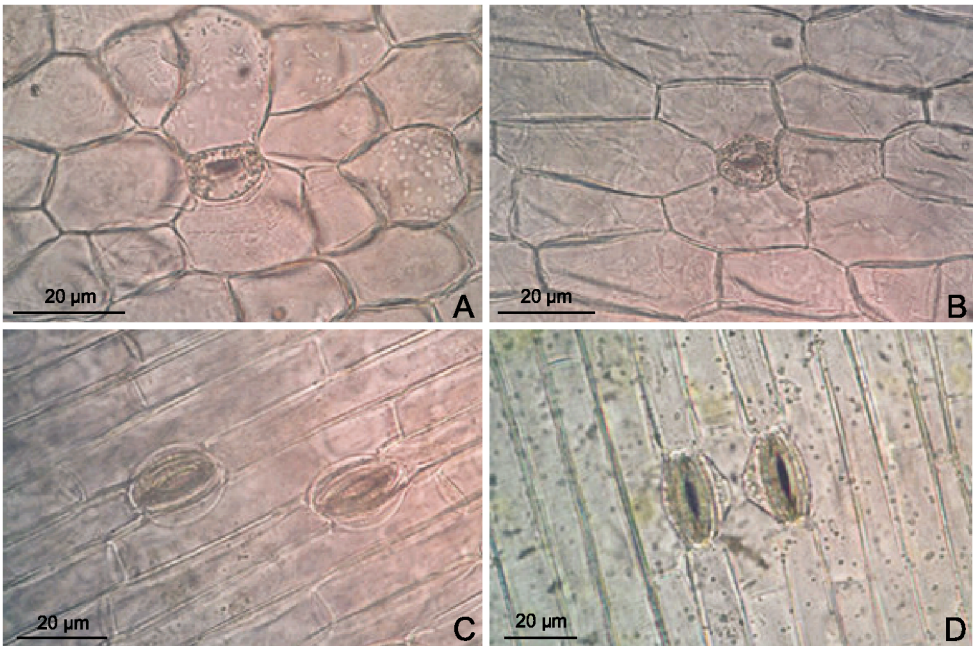
对葱莲花瓣近轴面进行 10~1000 μmol/L ABA 处理时，气孔的开闭能被 ABA 有效调节，与单独用表皮缓冲液处理的表皮条相比较，气孔孔径差异极显著($p < 0.01$)，气孔孔径变化率为 26.80%~43.39%(表 1)。其中，100 μmol/L ABA 处理后的气孔孔径变化率最大，为 43.39%。10~1000 μmol/L 外源 ABA 处理叶片近轴面后，气孔孔径与对照组的差异均极显著($p < 0.01$)，气孔孔径变化率为

14.23%~19.96%(表 1)。

对葱莲花瓣远轴面进行 10~1000 μmol/L ABA 处理时，气孔孔径的变化率会随着处理浓度的增大而逐渐增大(表 2)。其中，10 μmol/L ABA 处理后，气孔孔径变化率为 15.73%，与单独用表皮缓冲液处理的表皮条相比较，气孔孔径差异不显著($p > 0.05$)；100 μmol/L 或 1000 μmol/L ABA 处理后，气孔孔径与对照组的差异均极显著($p < 0.01$)，气孔孔径变化率升至 29.47% 和 36.62%。对叶片远轴面处理 10 μmol/L ABA 后，叶片远轴面上气孔孔径变化率仅为 3.93%，差异不显著($p > 0.05$)。而 100 μmol/L 或 1000 μmol/L ABA 处理后，表皮条的气孔孔径相较于对照组差异显著($p < 0.01$)，气孔变化率分别为 33.63%、26.27%(表 2)。

2.3 外源 SNP 对葱莲花瓣上气孔的影响

葱莲花瓣和叶片的近轴面经 10 μmol/L SNP 处理后，花瓣近轴面气孔孔径变化率为 19.33%，与单独用表皮缓冲液处理的表皮条相比较，气孔孔径差异未达到显著水平($p > 0.05$)；100 μmol/L 或



A: 花瓣近轴面表皮细胞和气孔的形态; B: 花瓣远轴面表皮细胞和气孔的形态; C: 叶片近轴面表皮细胞和气孔的形态; D: 叶片远轴面表皮细胞和气孔的形态。
A: Stomata and epidermis cells in petal adaxial epidermis; B: Stomata and epidermis cells in petal abaxial epidermis; C: Stomata and epidermis cells in leaf adaxial epidermis; D: Stomata and epidermis cells in leaf abaxial epidermis.

图 1 葱莲花瓣表皮气孔、叶片表皮气孔和表皮细胞的形态特征
Fig. 1 Epidermal characteristics of stomata in petals, leaves and epidermis cells of *Zephyranthes candida*

表 1 不同浓度 ABA、SNP 或 H₂O₂ 对花瓣和叶片近轴面气孔孔径变化的影响 (n = 120)

Table 1 Effect of ABA, SNP or H₂O₂ at different concentrations to stomatal apertures in petal and leaf adaxial epidermis of *Zephyranthes candida* (n = 120)

外源信号物质 Exogenous signal compounds	浓度 Concentration (mol/L)	气孔孔径 [◆] (μm) Stomatal aperture							
		花瓣近轴面 Petal adaxial epidermis				叶片近轴面 Leaf adaxial epidermis			
		空白组 (平均值 ± 标准误) Blank treatment (mean value ± SE)	处理组 Treatment	孔径变化率 Rate of change in stomatal aperture (%)	显著性 Significance	空白组 (平均值 ± 标准误) Blank treatment (mean value ± SE)	处理组 Treatment	孔径变化率 Rate of change in stomatal aperture (%)	显著性 Significance
ABA	10 ⁻⁵	4.44±0.51	3.25±0.68 ^a	26.80	**	5.06±0.42	4.34±0.42 ^a	14.23	**
	10 ⁻⁴	4.31±0.42	2.44±0.62 ^a	43.39	**	5.31±0.63	4.25±0.40 ^a	19.96	**
	10 ⁻³	5.00±0.83	3.44±0.75 ^a	43.39	**	5.63±0.55	4.56±0.41 ^a	19.01	**
SNP	10 ⁻⁵	3.88±0.80	3.13±0.90 ^a	19.33	NS	5.19±0.61	4.19±0.44 ^a	19.27	**
	10 ⁻⁴	3.81±0.55	2.88±0.49 ^b	24.41	**	5.09±0.50	4.34±0.42 ^a	14.73	**
	10 ⁻³	4.25±0.47	3.31±0.67 ^c	22.12	**	5.00±0.51	4.31±0.51 ^a	13.38	**
H ₂ O ₂	10 ⁻⁵	3.38±0.80	2.88±0.57 ^a	14.79	NS	5.00±0.42	4.25±0.31 ^a	15.00	**
	10 ⁻⁴	4.06±0.89	3.38±0.57 ^a	13.75	*	5.38±0.49	4.19±0.50 ^a	22.12	**
	10 ⁻³	3.75±0.63	3.06±0.42 ^b	15.73	**	5.06±0.55	4.06±0.34 ^a	19.76	**

注：◆测定单独施用 K⁺-MES 缓冲溶液以及在 K⁺-MES 缓冲溶液中添加不同浓度 ABA、SNP 或 H₂O₂ (10⁻⁵、10⁻⁴ 或 10⁻³ mol/L) 时花瓣和叶片近轴面的气孔孔径平均值 (n = 120)。* (p < 0.05)、** (p < 0.01) 和 NS (p > 0.05) 分别代表表皮条在有 ABA、SNP 或 H₂O₂ 处理时气孔孔径的差异显著、极显著和不显著。不同的小写字母表示 0.05 水平时，不同浓度 SNP 处理组间差异显著。

Notes: ◆Stomata in petal and leaf adaxial epidermis were subjected to 10⁻⁵, 10⁻⁴ or 10⁻³ mol/L ABA, SNP or H₂O₂ treatment for 3 h, stomatal aperture were measured with and without ABA, SNP or H₂O₂ treatment in K⁺-MES buffer (n = 120). * Significant at 0.05 level; ** Significant at 0.01 level; NS means no significance difference. Difference between values with the same letter in each row was not significant at p = 0.05.

表 2 不同浓度 ABA、SNP 或 H₂O₂ 对花瓣和叶片远轴面气孔孔径变化的影响 (n = 120)

Table 2 Effect of ABA, SNP or H₂O₂ at different concentrations to stomatal apertures in petal and leaf abaxial epidermis of *Z. candida* (n = 120)

外源信号物质 Exogenous signal compounds	浓度 Concentration (mol/L)	气孔孔径 [◆] (μm) Stomatal aperture							
		花瓣远轴面 Petal abaxial epidermis				叶片远轴面 Leaf abaxial epidermis			
		空白组 (平均值 ± 标准误) Blank treatment (mean value ± SE)	处理组 Treatment	孔径变化率 Rate of change in stomatal aperture (%)	显著性 Significance	空白组 (平均值 ± 标准误) Blank treatment (mean value ± SE)	处理组 Treatment	孔径变化率 Rate of change in stomatal aperture (%)	显著性 Significance
ABA	10 ⁻⁵	3.56±0.88	3.00±0.61 ^a	15.73	NS	5.34±0.51	5.13±0.54 ^a	3.93	NS
	10 ⁻⁴	3.19±0.51	2.25±0.59 ^b	29.47	**	5.56±0.58	3.69±0.47 ^b	33.63	**
	10 ⁻³	3.25±0.65	2.06±0.58 ^a	36.62	**	7.88±0.65	5.81±0.61 ^b	26.27	**
SNP	10 ⁻⁵	3.00±0.51	2.88±0.29 ^a	4.00	NS	6.13±0.60	5.56±0.38 ^b	9.30	*
	10 ⁻⁴	3.81±0.47	1.94±0.38 ^a	48.70	**	5.31±0.82	4.00±0.56 ^a	24.67	**
	10 ⁻³	3.38±0.61	2.31±0.37 ^a	31.66	**	5.19±0.50	3.81±0.55 ^a	26.59	**
H ₂ O ₂	10 ⁻⁵	2.75±0.52	2.44±0.32 ^a	11.27	*	4.25±0.42	3.31±0.37 ^a	22.12	**
	10 ⁻⁴	3.06±0.74	3.00±0.37 ^a	1.96	NS	4.50±0.47	3.75±0.53 ^a	16.67	**
	10 ⁻³	3.50±0.45	3.25±0.51 ^a	7.14	NS	4.63±0.54	3.81±0.43 ^a	17.71	**

注：◆测定单独施用 K⁺-MES 缓冲溶液以及在 K⁺-MES 缓冲溶液中添加不同浓度 ABA、SNP 或 H₂O₂ (10⁻⁵、10⁻⁴ 或 10⁻³ mol/L) 时花瓣和叶片远轴面的气孔孔径平均值 (n = 120)。* (p < 0.05)、** (p < 0.01) 和 NS (p > 0.05) 分别代表表皮条在有 ABA、SNP 或 H₂O₂ 处理时气孔孔径的差异显著、极显著和不显著。不同的小写字母表示 0.05 水平时，不同浓度 SNP 处理组间差异显著。

Notes: ◆Stomata in petal and leaf abaxial epidermis were subjected to 10⁻⁵, 10⁻⁴ or 10⁻³ mol/L ABA, SNP or H₂O₂ treatment for 3 h, stomatal aperture were measured with and without ABA, SNP or H₂O₂ treatment in K⁺-MES buffer (n = 120). * Significant at 0.05 level; ** Significant at 0.01 level; NS means no significance difference. Difference between values with the same letter in each row was not significant at p = 0.05.

1000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理后, 气孔孔径与单独用表皮缓冲液处理后的差异均极显著 ($p < 0.01$), 气孔孔径变化率升至 24.41%、22.12% (表 1)。其中, 100 $\mu\text{mol/L}$ SNP 对花瓣近轴面气孔开闭的影响最大。在对叶片近轴面的处理中, 10~1000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 均能有效诱导叶片近轴面气孔关闭, 气孔孔径变化率分别为 19.27%、14.73%、13.80%, 气孔孔径与对照组的差异均达到极显著水平 ($p < 0.01$), 其中, 10 $\mu\text{mol/L}$ SNP 对叶片近轴面的气孔开闭影响最大 (表 1)。

用 100 $\mu\text{mol/L}$ 或 1000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理葱莲花瓣远轴面后, 气孔孔径与单独用表皮缓冲液处理后的差异极显著 ($p < 0.01$), 气孔孔径变化率分别为 48.70%、31.66%。100 $\mu\text{mol/L}$ 或 1000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理叶片远轴面后, 气孔孔径与单独用表皮缓冲液处理后的差异也极显著 ($p < 0.01$), 气孔孔径变化率分别为 24.67%、26.59% (表 2)。另外, 10 $\mu\text{mol/L}$ SNP 对花瓣和叶片的远轴面上气孔开闭调节作用均最小。花瓣远轴面气孔孔径与对照组的差异不显著 ($p > 0.05$), 气孔孔径变化率仅为 4.00%。叶片远轴面与单独表皮缓冲液处理的气孔孔径差异显著 ($p < 0.05$), 气孔孔径变化率为 9.30% (表 2)。

2.4 外源 H_2O_2 对葱莲花瓣上气孔的影响

用 10 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 处理葱莲近轴面不能有效调节其花瓣近轴面气孔开闭, 气孔孔径变化率为 14.79%, 与单独用表皮缓冲液处理的表皮条相比较, 差异不显著 ($p > 0.05$)。而 100 $\mu\text{mol/L}$ 或 1000 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 处理后, 花瓣近轴面气孔孔径变化率升至 16.57%、15.73%, 气孔孔径与对照组的差异显著 ($p < 0.05$)。其中, 100 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 对花瓣近轴面的气孔运动影响最大。10~1000 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 均能有效调控叶片近轴面气孔运动, 处理后的气孔孔径相较于对照组差异显著 ($p < 0.01$), 气孔孔径变化率分别为 15.00%、22.12%、19.76%。其中, 100 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 对叶片近轴面的气孔运动影响最大 (表 1)。

用 10~1000 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 处理葱莲花瓣远轴面后, 气孔孔径与单独用表皮缓冲液处理后的差异均不显著 ($p > 0.05$), 气孔孔径变化率为 1.96%~

11.27%。叶片远轴面上的气孔运动能有效被 10~1000 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 调节, 气孔孔径变化率为 16.67%~22.12%, 与对照组相比较, 差异极显著 ($p < 0.01$) (表 2)。

3 讨论

ABA 作为植物的外源激素对切花瓶插寿命的影响具有双重性, 低浓度 ABA 处理有助于切花的保鲜, 而高浓度 ABA 则会加速切花的衰老^[11,16]。叶姝在对月季切花处理过程中发现, 1.0 mg/L (约 3.79 $\mu\text{mol/L}$) 和 2.0 mg/L (约 7.58 $\mu\text{mol/L}$) 的 S-ABA (天然脱落酸) 对月季切花的外观品质保持效果较好, 而催花效果最佳的浓度为 200 mg/L (约 757.58 $\mu\text{mol/L}$)^[11]。Ahmad 发现用 1.0 mg/L (约 3.79 $\mu\text{mol/L}$) 和 0.1 mg/L (约 0.38 $\mu\text{mol/L}$) 较低浓度的 ABA 浸渍绢毛相思的叶片或添加 ABA 于其插液中, 不仅绢毛相思水分平衡有所提高, 瓶插寿命较添加前也分别延长了 1.5 和 1.8 倍, 而 10.0 mg/L (约 37.88 $\mu\text{mol/L}$) 高浓度 ABA 处理却不能有效延长绢毛相思的瓶插寿命。且经过低浓度 ABA 处理后的绢毛相思对瓶插液的吸收量降低, 表明 ABA 诱导了绢毛相思叶片气孔的关闭, 叶片气孔的运动可能在 ABA 延缓绢毛相思衰老过程中起到了作用^[17]。本实验结果表明, 10~1000 $\mu\text{mol/L}$ ABA 均可诱导葱莲花瓣气孔关闭, 且 ABA 对花瓣远轴面气孔运动的影响具有浓度效应, 施用的 ABA 浓度越大, 气孔关闭越明显。10 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 低浓度 ABA 会诱导花瓣表皮气孔关闭, 使切花的蒸腾作用降低, 从而衰老过程得以延缓。1000 $\mu\text{mol/L}$ 高浓度 ABA 处理促进切花衰老的原因, 可能不仅与以往报道的 ABA 诱导乙烯释放^[18] 相关。高浓度 ABA 能大幅度诱导切花花瓣表皮气孔关闭, 使切花的蒸腾作用和呼吸作用均被严重抑制, 切花能量供应减少后正常的生命活动过程难以继续, 从而迅速衰老。本实验还发现相同浓度 ABA 处理后, 花瓣表皮气孔孔径变化率普遍大于叶片。说明 ABA 对葱莲花瓣表皮气孔运动的影响大于叶片, 在外源 ABA 延缓切花衰老的过程中花瓣表皮气孔关闭的程度更大, 可能起到了主要的保水作用。

NO 是一种重要的生物活性分子, 常温下不稳定, 通常用 SNP 作为 NO 的外源供体。张少颖对月季切花处理 100 $\mu\text{mol/L}$ SNP 后, 切花的萎蔫率下降且衰老延缓, 认为外源 NO 能降低切花的呼吸和乙烯释放, 推迟二者的跃变高峰, 延缓切花衰老^[19]。D. Badiyan 等^[20]研究发现, NO 的供体 DETA (Diethylenetriamine, 二乙烯三胺) 能广泛用于 *Antirrhinum majus* L. ‘Chitchat’、*Delphinium ajacis* L. ‘Bellissimo’、*Dendranthema grandiflora* RAM. ‘Regan’、*Tulipa hybrid* ‘Gloden Brush’、*Gerbera jamesonii* H. Bolus ‘Manovale’、*Lilium asiaticum* L. ‘Specisiom Slimplon’、*Rosa hybrid* L. ‘Carnavale’、*Iris hollandica* Tub. ‘Blue Magic’ 的保鲜, 且当施用的 DETA 浓度为 10 mg/L (约 97.09 $\mu\text{mol/L}$) 时, 以上切花的瓶插寿命最长; 100 mg/L (约 970.87 $\mu\text{mol/L}$) 的 DETA 虽然也能延缓切花衰老, 但部分切花的瓶插时间比用 10 mg/L (约 97.09 $\mu\text{mol/L}$) DETA 处理时有所减少。曾长利的研究也进一步证明 100 $\mu\text{mol/L}$ SNP 延缓切花衰老作用最佳^[21]。本实验结果表明, 100~1000 $\mu\text{mol/L}$ SNP 均能诱导花瓣和叶片气孔关闭, 且花瓣近、远轴面上的气孔均在 100 $\mu\text{mol/L}$ SNP 作用时气孔孔径变化率达到最大。推测 100 $\mu\text{mol/L}$ SNP 处理诱导花瓣表皮气孔关闭程度最大, 此时切花通过蒸腾作用丧失的水分最少, 因此切花的衰老减缓。另外, 我们还发现, 当 SNP 处理浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 或 1000 $\mu\text{mol/L}$ 时, 花瓣气孔的关闭程度大于叶片气孔, 花瓣表皮气孔运动的影响均大于叶片。说明在施用 NO 对切花进行保鲜的过程中, 花瓣气孔也可能起到了主要的保水作用。

H_2O_2 作为重要的活性氧物质, 一直被认为与植物的衰老过程密切相关。 H_2O_2 能产生强氧化性的羟自由基并对细胞造成伤害^[22]。正常情况下, 拟南芥中 H_2O_2 的浓度在 60~1000 $\mu\text{mol/L}$ ^[23], 玉米和水稻中为: 1000~1000 $\mu\text{mol/L}$ ^[24,25]。虽然 H_2O_2 在不同植物内对细胞造成损伤的浓度有所差别, 但其均会被植物体内高效的抗氧化系统所调节。低于细胞损伤浓度的 H_2O_2 能作为信号物质在植物体内发挥众多作用, 它不仅能调控植物的生长和发育过程, 还能帮助植物适应不良环境, 如盐胁迫

迫, 高温胁迫及干旱胁迫等。近来有研究表明, H_2O_2 还具有延缓切花衰老的作用。对百合切花进行 600 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 处理后, 百合切花的瓶插寿命从 9.8 d 延长至 12.8 d^[12]。结合本实验结果, 10~1000 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 均能诱导叶片近、远轴面上气孔关闭, 花瓣近、远轴面上气孔的运动能分别被高浓度 H_2O_2 和低浓度 H_2O_2 有效作用。说明 1000 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 处理能诱导花瓣表皮气孔关闭, 这可能是高浓度 H_2O_2 具有延缓切花衰老的一方面原因。而因为 H_2O_2 、ABA 和 NO 之间存在协同作用, H_2O_2 能由 NADPH 氧化酶合成并介导 ABA 促进气孔关闭的信号转导过程^[26], 还能位于 NO 的上游, 在黑暗、UV-B 等引发的保卫细胞气孔关闭的过程中诱导 NO 合成^[27]。推测并非低浓度的 H_2O_2 本身诱导了花瓣表皮气孔关闭, 而是由低浓度 H_2O_2 所介导合成的 ABA 和 NO 影响了气孔开闭。

Azda 研究发现郁金香 (*Tulipa gesnerina*) 的花瓣表皮气孔能随着外界温度变化而张开或关闭, 以保持花瓣中的水分平衡^[28]。刘逸冷在对非洲菊衰老过程的研究中发现, 花瓣近、远轴面的气孔开度与切花衰老指标变化正相关^[29]。以上研究均说明花瓣表皮气孔可能在切花衰老过程中存在一定的作用。本研究认为外源 ABA 和 NO 诱导花瓣表皮气孔关闭的现象能部分解释二者在延缓切花衰老中所具有的双重作用。在对切花进行低浓度 ABA 和 NO 处理时, 切花花瓣的表皮气孔被诱导关闭, 切花的蒸腾作用减小, 水势得以维持而从延缓切花的衰老过程。而又由于 ABA 和 NO 对花瓣气孔的作用具有浓度效应, 高浓度的 ABA 和 NO 会诱导花瓣表皮气孔大幅度关闭, 切花的呼吸作用被严重抑制, 衰老加速。而与此相反, H_2O_2 仅在高浓度时能延缓切花衰老, 这可能是因为 H_2O_2 与 ABA 和 NO 延缓切花衰老的途径有所不同, 确切原因还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Hetherington A M, Woodward F I. The role of stomata in sensing and driving environmental change [J]. *Nature*, 2003, 424(6951): 901–908.
- [2] Smyth D R, Bowman J L, Meyerowitz E M. Early

- flower development in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 1990, 2(8): 755–767.
- [3] 黄博, 姜兆玉, 屈红霞, 马三梅. 龙牙花不同花器官的表皮形态[J]. 植物学报, 2010, 5: 594–603.
- [4] Belin C, Thomine S, Schroeder J I. Water balance and the regulation of stomatal movements [M]// *Abiotic Stress Adaptation in Plants*. Netherlands: Springer, 2010: 283–305.
- [5] Melotto M, Underwood W, Koczan J, Nomura K, He S Y. Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion [J]. *Cell*, 2006, 126(5): 969–980.
- [6] Kumar A S, Lakshmanan V, Caplan J L, Powell D, Czymmek K J, Levia D F, Bais H P. Rhizobacteria *Bacillus subtilis* restricts foliar pathogen entry through stomata [J]. *Plant J*, 2012, 72(4): 1–13.
- [7] Bai T H, Li C Y, Li C, Liang D, Ma F. Contrasting hypoxia tolerance and adaptation in *Malus* species is linked to differences in stomatal behavior and photosynthesis [J]. *Physiol Plant*, 2012, 147(4): 514–523.
- [8] 张云霞, 石勇, 王瑞刚, 陈少良, 李妮亚, 邵杰, 张华. 初始盐胁迫下 ABA 与 CaM 对胡杨叶片气体交换的调控[J]. 林业科学, 2008, 44(1): 57–64.
- [9] 付士磊, 周永斌, 王森, 金福宇, 唐庆华. 外源 NO 和 ABA 杨树气孔运动和 SOD 及 POD 活性的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2004, 35(1): 29–32.
- [10] Terfa M T, Poudel M S, Roro A G, Gislerød H R, Olsen J E, Torre S. Light emitting diodes with a high proportion of blue light affects external and internal quality parameters of pot roses differently than the traditional high pressure sodium lamp [J]. *Acta Horticult*, 2012, 956: 635–642.
- [11] 叶姝, 李凌. 天然脱落酸 (S-ABA) 在月季切花保鲜上的应用[J]. 现代农业科学, 2008, 15(1): 31–36.
- [12] Wei B L, Mei L Z, Gao B H, Yu J H. Hydrogen peroxide in the vase solution increases vase life and keeping quality of cut Oriental × Trumpet hybrid lily ‘Manissa’ [J]. *Sci Hortic*, 2012, 139: 32–38.
- [13] 张小莉, 王鹏程, 宋纯鹏. 植物细胞过氧化氢的测定方法[J]. 植物学报, 2009, 44(1): 103–106.
- [14] Neill S J, Desikan R, Clarke A, Hancock John T. Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells [J]. *Plant Physiol*, 2002, 128(1): 13–16.
- [15] Trejo C L, Davies W J, Ruiz L M P. Sensitivity of stomata to abscisic acid (an effect of the mesophyll) [J]. *Plant Physiol*, 1993, 102(2): 497–502.
- [16] 李敏, 耿兴敏, 刘俊. ABA 和蔗糖预处理对索邦百合切花保鲜效果影响[J]. 林业科技开发, 2012, 26(2): 41–11.
- [17] Ahmad I, Joyce D C. Abscisic acid treatment has inconsistent effects on the water relations and longevity of cut *Acacia holosericea* foliage [J]. *J Hortic Sci Biotechnol*, 2011, 86(2): 107–112.
- [18] Ronen M, Mayak S. Interrelationship between abscisic acid and ethylene in the control of senescence processes in carnation flowers [J]. *J Exp Bot*, 1981, 32(4): 759–765.
- [19] 张少颖, 饶景萍, 高慧. 一氧化氮对切花月季瓶插过程中乙烯合成代谢的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2007, 35(11): 172–175.
- [20] Badiyan D, Wills R B H, Bowyer M C. Use of a nitric oxide donor compound to extend the vase life of cut flowers [J]. *Hort Sci*, 2004, 39(6): 1371–1372.
- [21] Zeng C L, Liu L, Xu G Q. The physiological responses of carnation cut flowers to exogenous nitric oxide [J]. *Sci Hortic*, 2011, 127(3): 424–430.
- [22] 杨淑慎, 高俊凤. 活性氧、自由基与植物的衰老 [J]. 西北植物学报, 2001, 21(2): 215–220.
- [23] Veljovic J S D, Pignocchi C, Noctor G, Foyer C H. Low ascorbic acid in the *vtc-1* mutant of *Arabidopsis* associated with decreased growth and intracellular redistribution of the antioxidant system [J]. *Plant Physiol*, 2001, 127(2): 426–435.
- [24] Jiang M, Zhang J. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidant defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings [J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42(11): 1265–1273.
- [25] Lin C C, Kao C H. Abscisic acid induced changes in cell wall peroxidase activity and hydrogen peroxide level in roots of rice seedlings [J]. *Plant*

Sci, 2001, 160(2): 323–329.

[26] Rayhanur J, Misugi U, Miho M, Islam M M, Bloom R E, Nakamura Y, McClung C R, Schroeder J I, Mori I C, Murata Y. Roles of intracellular hydrogen peroxide accumulation in abscisic acid signaling in *Arabidopsis* guard cells [J]. *J Plant Physiol*, 2011, 168(16): 1919–1926.

[27] 宋喜贵, 余小平. 过氧化氢和一氧化氮在气孔运动中的作用[J]. 淮海工学院学报, 2011, 20(1): 46–50.

[28] Azad A K, Sawa Y, Ishikawa T, Shibata H. Temperature-dependent stomatal movement in tulip petals controls water transpiration during flower opening and closing[J]. *Ann Appl Biol*, 2007, 15(1): 81–87.

[29] 刘逸泠, 彭向永. 非洲菊切花衰老相关的生理指标变化与花瓣电镜扫描观察[J]. 闽江学院学报, 2010, 31(5): 108–111.

(责任编辑: 王豫鄂)