植物学通报 2001，18（1）：90～95
Chinese Bulletin of Botany

CPPU 提高柚树苗抗旱性的研究①

聂磊 刘鸿先 彭少麟
（中国科学院华南植物研究所 广州 510650）

摘要 水分胁迫下，柚树苗叶片 RWC、ψ_W、P_n 及可溶性蛋白质、叶绿素含量下降，游离脯氨酸、MDA 含量及 SOD 活性升高，CAT 活性先上升后下降，APX 活性、AsA 和 GSH 含量明显下降，抗旱性强的品种具有较高的活性氧清除能力。CPPU 处理提高柚树苗叶片 RWC、P_n、叶绿素、游离脯氨酸、AsA、GSH 含量，并增强 SOD、APX 活性，降低 MDA 水平，从而提高柚树苗抗旱性。实验结果表明，CPPU 处理提高叶片对膜脂过氧化作用的保护能力可能是其提高柚树苗抗旱性的原因。

关键词 CPPU，柚树苗，抗旱性

Enhancement of Drought Resistance in *Pomelo* Seedlings by CPPU

NIE Lei LIU Hong-Xian PENG Shao-Lin
（*South China Institute of Botany*, *The Chinese Academy of Sciences*, Guangzhou 510650）

Abstract Under water stress, leaf RWC, ψ_W, P_n, soluble protein and chlorophyll contents in pomelo seedlings were decreased, the contents of MDA and free proline, SOD activity were increased, CAT activity increased at first, then decreased. And activity of APX, the contents of AsA and GSH were declined too. The activated oxygen decomposing capacity in the drought-resistant variety was higher than that in the drought-sensitive one. CPPU treatment increased leaf RWC, P_n, chlorophyll, free proline, AsA, GSH contents, SOD, APX activities, and decreased the accumulation of MDA, therefore the drought resistance of pomelo seedlings was improved. These results indicated that CPPU treatment increased protective capacity against membrane lipid peroxidation, therefore resulted in the increase of drought resistance of pomelo seedlings.

Key words CPPU, Pomelo seedlings, Drought resistance

CPPU 是苯基脲类细胞分裂素物质，化学名称为 N-苯基-N′-(2-氯 4-吡啶基)脲，其诱导烟草细胞分裂和愈伤组织生长的活性是一般细胞分裂素的 1000 倍以上。目前 CPPU 已广泛用于果树、瓜类生产上，能够提高座果率、促进果实膨大、诱导单性结实（罗正荣，1993）。汤日圣等（1997）的研究指出 CPPU 与 KT、6-BA 等细胞分裂素一样，具有延缓植物叶片衰老的效应。柚类为亚热带名优水果，在自然条件下易受到土壤缺水的影响，即使在华南，植株仍遭受季节性的干旱。CPPU 对柚类抗旱性的效应未见报道，本实验以较抗旱的酸柚和抗旱性较弱的沙田柚为试验材料，试图阐明 CPPU 对不同柚类品种在水分胁迫下的效应，旨在为柚类的坡地高优栽培提供技术依据。

① 国家自然科学基金重大项目（No.39899370）资助课题。
作者简介：聂磊，男，1973 年出生，博士。主要从事热带亚热带果树生理生态研究，发表论文十余篇。刘鸿先，男，1933 年出生，研究员，博士研究生导师，广东省植物生理学会名誉理事长。主要从事热带亚热带植物生理生化研究，专长植物低温逆境生理与细胞生物学，发表学术论文 70 余篇。
收稿日期：1999-12-13 接受日期：2000-01-28 责任编辑：刘晖

1　材料和方法

1.1　材料及处理

试验于 1999 年 9 ~ 10 月进行，试验材料为二年生盆栽实生柚（*Citrus grandis* Osbeck.）树苗，试验品种为酸柚和沙田柚。水分胁迫处理时，每品种选择 9 盆生长一致的幼苗，其中 6 盆停止浇水，另 3 盆正常浇水作为对照。停止浇水第 1d，用 20 mg·l^{-1} CPPU 溶液喷施试验植株叶面，一周后喷施第二次，以喷清水为对照。CPPU 由四川大学化学系提供。当对照植株出现中度缺水（处理第 8 天）和严重缺水（处理第 14 天）症状时，分别取样进行测定，中度缺水和严重缺水按 Hsiao（1973）的划分标准进行划分：RWC 减低 10% ~ 20% 属中度缺水，RWC 减低 20% 以上的属严重缺水。取样在早晨 8：00 ~ 9：00 进行，试样均取自当年春梢第 2 ~ 3 片叶。

1.2　测定方法

叶片水势（ψ_W）测定采用压力室法。叶片相对含水量（RWC）按华东师范大学的方法测定（1980）。丙二醛（MDA）含量的测定参照 Raeri 等方法（1993）。可溶性蛋白质含量按 Bradford（1976）的方法测定，用牛血清蛋白作标准曲线。叶绿素含量按 Arnon（1949）方法测定。净光合速率（P_n）用氧电极法测定。游离脯氨酸用茚三酮比色法，在 751 分光光度计上用 515nm 比色测定，重复 3 次。超氧化物歧化酶（SOD）活性按 Giannopolitics 和 Ries（1977）的方法进行，酶活性采用抑制 NBT 光化学还原 50% 的酶量为一个酶活性单位表示。过氧化氢酶（CAT）活性采用 Klapheck 等（1990）方法测定。抗坏血酸过氧化物酶（APX）活性和还原型谷胱甘肽（GSH）含量测定按曾韶西和王以柔（1990）方法进行。抗坏血酸（AsA）含量按 Tanaka 等（1985）方法测定。以上各项测定均重复 3 次以上。

2　结果与分析

2.1　CPPU 对水分胁迫下柚树苗叶片水势、相对含水量和 MDA 含量的影响

在预备实验中，以不同浓度 CPPU 溶液喷施干旱条件下的柚树苗，5d 后测定叶片 MDA 和叶绿素含量，5 ~ 50 mg·L^{-1} CPPU 处理均可提高叶片叶绿素含量，降低 MDA 含量，以 20 mg·L^{-1} CPPU 处理效果最好，初步证明 CPPU 具有提高柚树苗抗旱性的作用，故本实验采用 20 mg·L^{-1} CPPU 处理。

从表 1 可知，在正常供水条件下，2 个品种之间叶片水势和 RWC 差别不大，水分胁迫处理明显降低了柚树苗叶片水势和 RWC，其中抗旱性强的酸柚下降幅度小于抗旱性弱的沙田柚，相对应下，水分胁迫下叶片 MDA 含量明显增加，且抗旱性强品种上升幅度小于抗旱性弱品种。经相关分析表明，叶片水势和 RWC 的下降与 MDA 的增加呈显著负相关。[$y = -445.876 - 28.64x$，y 为 MDA 含量，$r = -0.971^{**}$；$y = 6.261 - 0.491x$，y 为 MDA 含量，$r = -0.988^{**}$]。显示水分胁迫下叶片水势和 RWC 的下降与膜脂过氧化程度加剧密切相关。CPPU 处理后，叶片相对含水量有所增加，MDA 含量下降，说明 CPPU 处理可提高柚树苗的抗旱性。CPPU 对抗旱性强的品种效果好于抗旱性弱品种。

https://www.cnki.net/kcms/detail/51-1361/S.20000109-148

表 1 CPPU 对水分胁迫下柚树苗叶片水势、相对含水量和 MDA 含量的影响
Table 1 Effects of CPPU on leaf water potential, relative water content and MDA content in pomelo seedlings under water stress

品种及处理 Cultivars and treatment	ψ_W(MPa)	RWC(%)	MDA(μmol·g^{-1} FW)
酸柚 Suanyou			
正常供水 Normal irrigation	−0.9±0.1a	88.04±3.22a	32.21±1.69e
中度缺水 Moderate stress			
对照 Control	−1.5±0.2b	75.33±2.14b	56.22±2.02c
CPPU	−1.3±0.1b	80.20±2.90ab	41.37±0.83d
严重缺水 Severe stress			
对照 Control	−2.2±0.3cd	53.12±0.78d	78.05±2.17a
CPPU	−2.0±0.4c	61.39±1.53c	65.44±1.31b
沙田柚 Shatianyou			
正常供水 Normal irrigation	−0.8±0.1a	86.67±2.05a	41.50±0.95d
中度缺水 Moderate Stress			
对照 Control	−1.9±0.2b	68.26±1.17b	64.97±1.20c
CPPU	−1.8±0.3b	71.15±1.69b	58.11±1.46c
严重缺水 Severe stress			
对照 Control	−2.8±0.4d	46.01±0.95d	93.62±3.22a
CPPU	−2.5±0.2c	53.50±1.81c	79.03±2.71b

* 表中每列数字后相同字母表示差异不显著,显著水平为 5%。Mean within columns followed by the same letter are not significantly different at 5% level.

2.2 CPPU 对水分胁迫下柚树苗叶片净光合速率和叶绿素、可溶性蛋白质、游离脯氨酸含量的影响

水分胁迫引起柚树苗叶片净光合速率、叶绿素、可溶性蛋白质含量下降,随水分胁迫程度加深,下降趋势更为明显,CPPU 处理明显抑制它们的降低。抗旱性强与抗旱性弱品种经 CPPU 处理后,中度缺水条件下叶片净光合速率、叶绿素、可溶性蛋白质含量较正常供水分别下降 7.9%,10.1%,5.4%和 4.3%,7.1%,5.1%,在严重缺水条件下,则分别少下降 7.3%,8.0%,5.7%和 6.5%,7.5%,8.6%。水分胁迫下柚树苗叶片游离脯氨酸含量明显增加,抗旱性强品种上升幅度大于抗旱性弱品种。在中度缺水条件下,酸柚与沙田柚叶片游离脯氨酸含量较对照分别上升 50.9%,109.2%和 17.5%,56.1%。CPPU 处理有利于叶片中游离脯氨酸的积累(表 2)。

2.3 CPPU 对水分胁迫下柚树苗叶片膜脂过氧化保护系统的影响

水分胁迫下,柚树苗叶片 SOD 活性明显提高,随胁迫程度加大而上升(表 3)。两个品种叶片 CAT 活性在中度缺水时均提高,而在严重缺水时又急剧降低,表现出‘先上升后下降’的趋势。CPPU 处理似乎对 CAT 活性影响不大。水分胁迫明显地降低了柚树苗叶片

APX 活性和 AsA、GSH 含量，其下降水平与胁迫的程度有关，胁迫越重，降低的越多。此外还可看出，抗旱性强的品种具有较高的 SOD、APX 活性及 AsA、GSH 含量。CPPU 处理有助于提高叶片的 SOD、APX 活性和 AsA、GSH 含量，从而增强细胞内抗氧化能力，提高叶片抗旱性。

表 2　CPPU 对水分胁迫下柚树苗叶片净光合速率和叶绿素、可溶性蛋白质、游离脯氨酸含量的影响
Table 2　Effects of CPPU on leaf P_n and the contents of chlorophyll, soluble proteins, free proline in pomelo seedlings under water stress

品种及处理 Cultivars and treatment	净光合速率（P_n）（$\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$）	叶绿素（$mg \cdot g^{-1}$ FW）	可溶性蛋白质（$\mu mol \cdot g^{-1}$ DW）	游离脯氨酸（$\mu g \cdot g^{-1}$ FW）
酸柚 Suanyou				
正常供水 Normal irrigation	4.805 ± 0.267a	2.417 ± 0.365a	53.25 ± 1.32a	
中度缺水 Moderate stress				
对照 Control	3.741 ± 0.202b	1.812 ± 0.121bc	40.15 ± 0.66b	23.54 ± 0.49c
CPPU	4.026 ± 0.050b	2.034 ± 0.108b	42.73 ± 1.59b	28.08 ± 1.03c
严重缺水 Severe stress				
对照 Control	3.253 ± 0.088c	1.650 ± 0.071d	32.64 ± 0.81cd	32.60 ± 1.21b
CPPU	3.608 ± 0.091b	1.845 ± 0.136bc	35.10 ± 0.73c	39.47 ± 0.90a
沙田柚 Shatianyou				
正常供水 Normal irrigation	5.127 ± 0.120a	2.304 ± 0.085a	57.19 ± 2.26a	
中度缺水 Moderate stress				
对照 Control	4.130 ± 0.168b	1.728 ± 0.121bc	46.18 ± 1.77c	19.22 ± 0.45c
CPPU	4.315 ± 0.203b	1.890 ± 0.050b	50.39 ± 1.25b	24.80 ± 0.16ab
严重缺水 Severe stress				
对照 Control	3.321 ± 0.116d	1.453 ± 0.244d	38.77 ± 1.04d	25.65 ± 0.32ab
CPPU	3.760 ± 0.045c	1.669 ± 0.043bc	43.20 ± 0.85c	28.01 ± 1.14a

* 表中每列数字后相同字母表示差异不显著，显著水平为 5%。Mean within columns followed by the same letter are not significantly different at 5% level.

3　讨论

有证据表明细胞分裂素类物质具有延缓衰老的功能，其机理在于提高植物的自由基清除能力，延缓体内可溶性蛋白质和叶绿素分解，降低叶片 ABA 水平（Dhindsa，1982；Leshem，1981）。植物抗旱性与活性氧代谢关系方面已积累大量证据，表明抗旱性强的品种具有强的活性氧清除能力和抗氧化能力（Smirnoff，1993）。蒋明义等（1991）的研究显示，水稻抗旱品种较不抗旱品种在干旱条件下具有较高的或更大幅度提高活性氧清除能力。本试验中，CPPU 处理后抗旱性强的酸柚和抗旱性弱的沙田柚的叶片相对含水量提高，说明提高了柚树苗的抗旱性。相应的，叶片净光合速率、叶绿素、可溶性蛋白质含量的下降

也有不同程度的缓解。叶片水势和相对含水量与丙二醛(MDA)含量的相关性分析结果表明。抗旱性强弱与 MDA 含量呈显著负相关。而 CPPU 处理可以减少细胞内 MDA 积累,降低叶片膜脂过氧化水平,从而提高抗旱性。

表 3 CPPU 对水分胁迫下柚树苗叶片膜脂过氧化保护系统的影响
Table 3 Effects of CPPU on leaf protective systems against membrane lipid peroxidation of pomelo seedlings under water stress

品种及处理 Cultivars and treatment	SOD (Unit·mg^{-1} protein)	CAT (μmol·mg^{-1}·min^{-1})	APX (μmol·mg^{-1}·min^{-1})	AsA (μmol·g^{-1} DW)	GSH (μmol·g^{-1} DW)
酸柚 Suanyou					
正常供水 Normal irrigation	30.40 ± 0.72d	35.29 ± 1.02c	0.36 ± 0.02a	9.36 ± 0.24a	4.58 ± 0.06a
中度缺水 Moderate stress 对照 Control	41.23 ± 1.61c	50.40 ± 2.11a	0.25 ± 0.04c	7.02 ± 0.13bc	3.46 ± 0.11c
CPPU	45.08 ± 2.14b	44.62 ± 1.50ab	0.32 ± 0.05b	7.81 ± 0.20b	4.15 ± 0.13ab
严重缺水 Severe stress 对照 Control	47.27 ± 2.09b	29.05 ± 1.35d	0.18 ± 0.01d	4.27 ± 0.08d	2.40 ± 0.09d
CPPU	56.16 ± 1.25a	25.41 ± 0.87d	0.24 ± 0.04c	6.15 ± 0.15c	3.23 ± 0.18c
沙田柚 Shatianyou					
正常供水 Normal irrigation	26.58 ± 0.33d	45.17 ± 2.08c	0.29 ± 0.02a	8.90 ± 0.36a	4.21 ± 0.27a
中度缺水 Moderate stress 对照 Control	33.51 ± 1.07bc	62.77 ± 2.49a	0.19 ± 0.03bc	6.84 ± 0.17bc	3.14 ± 0.20bc
CPPU	38.04 ± 1.12b	55.03 ± 0.72ab	0.23 ± 0.05b	7.56 ± 0.25b	3.62 ± 0.15b
严重缺水 Severe stress 对照 Control	42.66 ± 0.86ab	34.50 ± 0.76d	0.12 ± 0.02d	4.03 ± 0.10d	1.87 ± 0.14de
CPPU	48.02 ± 2.05a	38.62 ± 1.44cd	0.16 ± 0.03c	5.72 ± 0.21c	2.30 ± 0.07d

* 表中每列数字后相同字母表示差异不显著,显著水平为 5%。Mean within columns followed by the same letter are not significantly different at 5% level.

水分胁迫导致柚树苗叶片积累脯氨酸,这一现象已在柑橘、大豆等多种植物上观察到,并被认为是植物对水分胁迫的一种普遍反应,研究发现植物体内的 Pro 具有清除活性氧的作用(Veeranjaneyulu,1989)。本试验中发现抗旱性强的品种累积的脯氨酸明显较抗旱性弱品种多,CPPU 处理加大这一趋势。

SOD,CAT,APX 和 AsA,GSH 构成植物体内重要的酶促和非酶促活性氧清除系统。水分胁迫下柚树苗叶片的 SOD 活性提高,CPPU 处理增强叶片 SOD 活性,CAT、APX、AsA、GSH 组成了一个清除 H_2O_2 的系统,CAT 存在于过氧化物酶体,而后几种存在于叶绿体。本文观察到,CPPU 处理与对照的 CAT 活性并无明显差异,可能表明 CPPU 提高柚树苗抗旱性的效应与 CAT 活性变化无关,这与前人结果类似(郭振飞,1998)。水分胁迫过程中,

http://www.chinagrs.com/ 版权所有 仅供学习参考

叶片 APX 活性和 AsA、GSH 含量均降低，而 CPPU 处理提高了 APX 活性和 AsA 与 GSH 含量，说明 CPPU 提高了叶绿体清除 H_2O_2 的能力。以上结果说明 CPPU 提高了叶片自由基清除能力是其提高柚树苗抗旱性的重要原因。

参 考 文 献

华东师范大学植物生理教研组，1980. 植物生理学实验指导. 北京：人民教育出版社，1 ~ 2

汤日圣，梅传生，陈以峰，吴光南，1997. 4PU-30 对水稻叶片衰老与内源激素的调控. 植物生理学报，**23**：169 ~ 174

罗正荣，1993. 新植物生长调节剂 CPPU 及其在果树和蔬菜上的应用. 植物生理学通讯，**29**：297 ~ 299

郭振飞，卢少云，李宝盛，李明启，1998. 三唑酮对绿豆幼苗叶片衰老的延缓作用. 植物学报，**40**：442 ~ 447

蒋明义，荆家海，王韶唐，1991. 渗透胁迫对水稻幼苗膜脂过氧化及体内保护系统的影响. 植物生理学报，**17**：80 ~ 84

曾韶西，王以柔，1990. 低温胁迫对黄瓜子叶抗坏血酸过氧化物酶活性和谷胱甘肽含量的影响. 植物生理学报，**16**：37 ~ 42

Arnon D, 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in Beta vulgris. *Plant Physiol*, **24**: 1 ~ 15

Bradford M, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein ultilizing the of protein-dye binding. *Anal Biochem*, **72**: 248 ~ 254

Dhindsa R S, Dhindsa P P, Reid M, 1982. Leaf senescence and lipid peroxidation: Effects of some phytohormones, and scavengers of free radicals and singlet oxygen. *Physiol Plant*, **56**: 453 ~ 457

Giannopolitics C N, Ries S K, 1977. Superoxide dismutase. Ⅰ. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*, **59**: 315 ~ 318

Hsiao T C, 1973. Plant responses to water stress. *Ann Rev Plant Physiol*, **24**: 519 ~ 570

Klapheck S, Zimmer I, Cosse H, 1990. Scavenging of hydrogen peroxide in the endosperm of *Ricinus communis* by ascorbate peroxidase. *Plant Cell Physiol*, **11**; **1005 ~ 1013**

Leshem Y Y, Wurzburger J, Grossman S, **1981**. Cytokinin interaction with free radical metabolism and senescence: Effects of endogenous lipoxygenase and purine oxidation. *Physiol Plant*, **53**: 9 ~ 12

Raeri A, Lencioni L, Schenone G, 1993. Glutathione-ascorbic acid cycle in pumplein plants grown under polluted air in open-up chambers. *J Plant Physiol*, **142**: 286 ~ 290

Smirnoff N, 1993. The role of active oxygen in the responses of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol*, **125**: 27 ~ 58

Tanaka K, Suda Y, Kondo N, Nakano Y, 1985. Ozone tolerance and the ascorbate-dependent hydrogen peroxide decomposing system in chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, **26**: 1425 ~ 1431

Veeranjaneyuiu K, Ranjita K B D, Kar M, 1989. Proline metabolism during water stress in mulberry. *J Exp Bot*, **214**: 581 ~ 583

欢迎订阅《生物学通报》

《生物学通报》是 1952 年由政务院文化教育委员会指示创办的学术刊物。现由国家新闻出版署批准出版，中国科学技术协会主管，中国动物学会、中国植物学会和北京师范大学主办。20 世纪 90 年代以来，先后 3 次荣获中国科协和北京市优秀学术期刊奖，为全国核心期刊之一。本刊办刊方针是：主要为中学生物教学服务，兼顾其他有关生命科学领域研究进展的介绍，主要读者对象是：全国中等学校生物学教师、大专院校师生和一般生物学工作者。本刊主要刊登下列内容的文章：介绍生物学各学科的基础知识、基础理论、国内外生物科学进展及新成就、新技术；生物课教学中加强基础知识、基础理论、基本技能训练方面的经验体会；生物教学改革的经验；介绍国内外最新中学生物学教材及参考资料；考试与命题；开展生物课外科技活动的探索性题目及研究方法、简便的实验技术、教具制作；与生物资源持续利用有关的国内外参考资料；新书介绍及评价、问题解答、简讯等。

2001 年，全体编委、编辑除坚持办出本刊的特色外，将做出更大的努力，使刊物更加适合读者的需要。为配合逐渐恢复生物学高考的新形势，我们将继续刊登参考资料。

《生物学通报》广告许可证：京海工商广字 0137 号。本刊将利用发行量大、影响面广的优势，提供价格合理的最佳的广告服务，欢迎刊登广告。

《生物学通报》为月刊、16 开、48 页、彩色封面（封一、封四），每期定价 3.70 元，全年定价 44.40 元。每月 20 日出版，国内外公开发行。国际标准刊号：ISSN 0006-3193，国内统一刊号：CN11-2042/Q，国外代号：M320，国内邮发代号：2-506。全国各地邮局均可订阅。如在当地未订上，可直接汇款到期刊社函购，免收邮费。如要挂号，每期加挂号费 2.00 元。款直接寄北京师范大学《生物学通报》期刊社，邮编 100875，附言中说明购刊期数、册数。联系电话：（010）62207645。