

乙烯处理对番茄离体小花柄脱落的影响

王彦昌 李天来* 侯建平**

(沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161)

摘要:以番茄‘辽园多丽’品种为材料,比较花蕾期、开花期及幼果期的小花(果)柄对乙烯诱导脱落的敏感性。结果表明,开花期小花柄最易接受乙烯的诱导而脱落, $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 乙烯是最佳诱导浓度。该浓度处理的小花柄在脱落后期,各部位 POD、CMC-Na 酶及 Exo-PG 活性升高,但不同部位的 POD、CMC-Na 酶、Exo-PG 活性及可溶性蛋白含量变化不一致。

关键词:番茄;小花柄;乙烯;脱落

中图分类号: S 641.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 05-0554-05

器官脱落是各种植物普遍发生的生理现象,在番茄、棉花及菜豆等栽培作物中最引人关注,研究报道颇多。番茄落花、棉花落铃以及菜豆落荚仍然是目前生产中存在的重要问题。虽然关于激素诱导对脱落的生理作用研究已有很多报道^[1~5],但激素对不同植物器官脱落的作用特点尚不明确。此外,因受到田间复杂环境因素的影响,激素对番茄田间落花的作用系统,无法作为进一步研究脱落生理机制的优良试验系统。一些研究表明,乙烯诱导的花柄、叶柄、果柄离区折断强度的下降伴随着细胞壁降解酶活性的升高^[5,6]。其中纤维素酶(Cellulase, Cel)、多聚半乳糖醛酸酶(Polygalacturonases)、果胶酯酶(Pectinesterase, PE)的研究颇多^[1,5,7]。CMC-Na 酶作为纤维素酶之一,能水解植物细胞壁中的纤维素、木聚糖以及其它类型葡聚糖结构中的 $-1,4$ 键,与其它多种降解酶共同作用,导致细胞壁纤维素的完全降解^[7,8]。Exo-PG 是一类多聚半乳糖醛酸酶,主要参与降解大分子底物上非还原末端的单体^[9]。本文研究探讨室内控制条件下乙烯处理对番茄离体小花柄脱落的作用,以及乙烯诱导的脱落过程中小花柄不同部位可溶性蛋白含量、过氧化物酶活性、羧甲基纤维素酶活性以及多聚半乳糖醛酸外切酶活性的变化,以期为进一步明确番茄落花的生理生化机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 取样及培养方法

番茄品种为‘辽园多丽’,2001年2月15日播种,4月5日定植于日光温室内,4月下旬开始采花。其它管理均与正常生产相同。分别在花蕾期、开花期以及花后10 d共3个时期采样。

各时期取样要求大小一致,即取各株相同或相近位置花序上的小花,而且小花柄离层上下长度正常,子房、雌雄蕊大小正常。花蕾期是在开花前5~6 d取样,取样标准为从花蕾基部到顶端为1.5~1.8 cm,花萼微张约2~4 mm,微露白色;开花期取样标准为花瓣全部打开或者只有一瓣未打开,花瓣张开90°左右,花瓣呈新鲜的黄色;花后第10天取样标准为自开花当天标记,第10天采样(即幼果期),并且幼果直径在1~2.5 cm。

将样品立即用自来水冲洗,再用蒸馏水冲洗3次,剪去花(果)柄上端花冠(幼果或花蕾),只留小花(果)柄部分,插入事先准备好的装有1%琼脂培养基的培养皿中,并将其放入39 cm(长)×24 cm(宽)×20 cm(高)底部开口的玻璃培养箱中,底部用水密封。以空气为对照,乙烯处理液

收稿日期:2002-11-17;修回日期:2003-02-20

基金项目:国家“863”计划资助项目(2001AAZ47031),国家“十五”重点科技攻关项目(2001BA503B06)

*通讯作者, tianlai@mail.sy.ln.cn; **新疆农业大学在职硕士,现在克拉玛依城市建设局工作。

度为 10、20、40 和 $85 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, 分别将这些气体从玻璃培养箱侧壁的小孔注入。每处理 (1 个培养皿) 插入 40~50 个小花柄, 3 次重复。分别在处理 8、16、24、32、40 h 记录脱落花柄数量。花柄脱落的标准为: 用镊子沿花柄上段弯曲的方向轻碰一次就断裂者即被认为脱落。

1.2 生理测定

选用 $20 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯处理, 取小花柄脱落前的样品^[10,11]用于 POD、Exo-PG 活性及可溶性蛋白含量测定; 取处理 20 h 小花柄未脱落的样品及 48 h 小花柄全部脱落的样品用于 CMC-Na 活性测定。POD 活性用分光光度计法测定。用 1.2 % CMC-Na 为反应底物, 每克组织每小时内黏度下降 1 % 作为一个 CMC-Na 酶活单位^[12]; 0.6 % 柑橘果胶为反应底物, 每克组织每小时内黏度下降 1 % 作为一个 Exo-PG 酶活单位^[13]; 可溶性蛋白含量用考马斯亮兰法测定。

2 结果与分析

2.1 激素对小花柄脱落的影响

2.1.1 不同发育期的番茄离体小花柄脱落敏感性 图 1 表明, 开花当天 (即花期) 的番茄小花柄比蕾期及花后 10 d (即幼果期) 的小花 (果) 柄更易发生脱落, 而外源乙烯明显促进了各时期小花 (果) 柄的脱落。3 个时期的小花 (果) 柄的脱落敏感性不同, 与对照及 $10、20 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯处理相比, 开花当天的小花柄对 $40 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯处理的敏感性明显降低, 与幼果果柄的脱落反应相似。3 个时期小花 (果) 柄的自然脱落过程 (对照) 比较说明, 花蕾柄以及花后 10 d 的幼果果柄在 48 h 内基本不脱落。长时间的无菌培养发现, 花蕾柄或幼果的果柄在组织中水分消耗完而且失去吸水能力干缩后离层维管束断裂之前不会发生自动的生理性脱落, 在本试验处理时间内脱落率始终为 0。乙烯的存在显然诱导了小花 (果) 柄离层的主动脱落。从变化的斜率看, 花蕾及幼果的小花 (果) 柄随乙烯浓度增大, 脱落高峰向前转移; 而开花期的小花柄在 $10 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯处理下 16 h 就达到脱落高峰。

2.1.2 不同乙烯浓度处理下番茄离体小花柄的脱落率 图 2 说明, 乙烯处理促进了开花当天的花柄脱落, 但并非浓度越高, 脱落率越高, $10、20 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯处理 16 h 后的脱落率高于 $85 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理, $40 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理与对照的脱落率最低; 几种浓度的乙烯处理后, 小花柄均在 8~16 h 达到最高脱落率, 之后脱落率降低, 而 $20 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯处理后各时间段的脱落率均最高。对于开花当天的小花柄, $10 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙烯就足以在 16 h

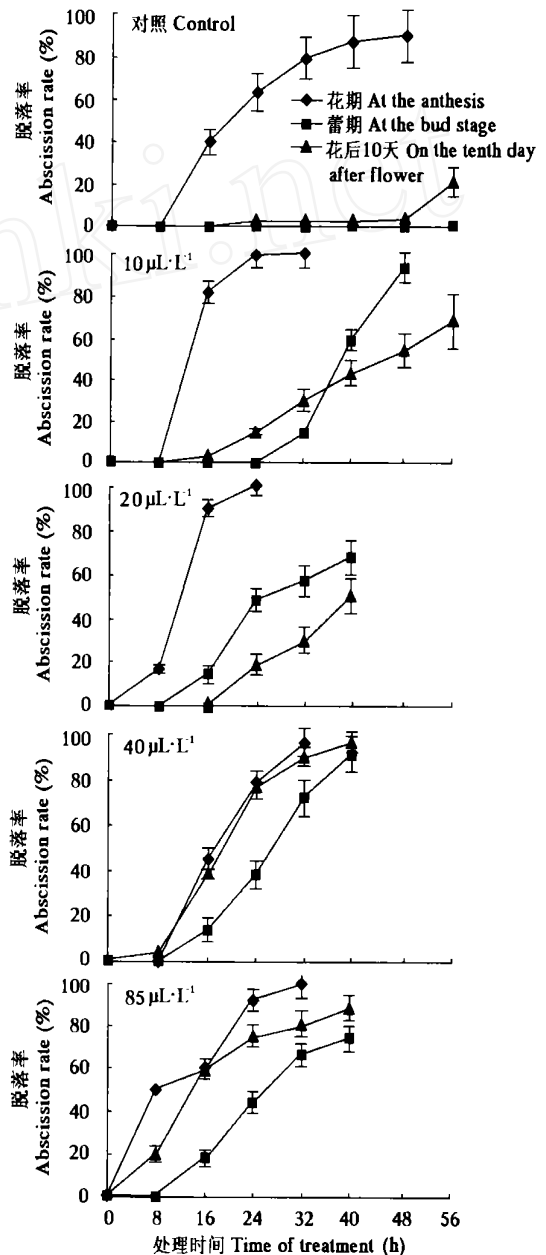


图 1 乙烯处理下不同发育期的番茄离体小花 (果) 柄脱落率

Fig. 1 Comparison of abscission rate of tomato pedicels in vitro harvested at three developmental stages during treatment with different ethylene concentration

达到 80 % 的脱落率。

图 3 表明, 小花柄在 $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 乙烯中处理 8 h 后, 转入 $50 \mu\text{g g}^{-1}$ IAA 中继续处理 12 h 后才开始脱落, 延缓了脱落的启动, 但此后脱落率仍升高到 45 %。用 $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 乙烯分别处理 16、20 及 24 h 后再在 $50 \mu\text{g g}^{-1}$ IAA 中处理, 脱落率变化不大, 升高的幅度越来越小, 依次是: 38.8 % ~ 57.5 %, 61.76 % ~ 67.65 %, 83.75 % ~ 87.5 %。

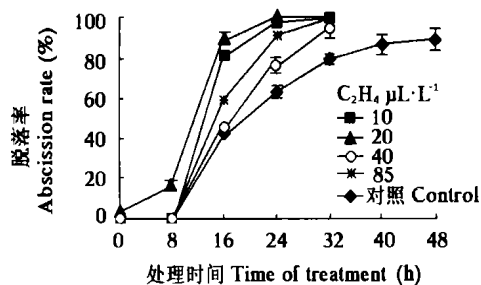


图 2 开花当天不同浓度乙烯处理对番茄离体小花柄外植体脱落的影响

Fig. 2 Changes of abscission rate of pedicels at anthesis in vitro expose to different concentration ethylene

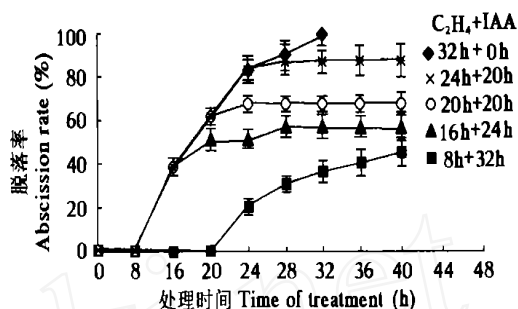


图 3 小花柄经 $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 乙烯处理不同时间后在 $50 \mu\text{g g}^{-1}$ IAA 中的脱落进程

Fig. 3 Abscission of pedicels in vitro in $50 \mu\text{g g}^{-1}$ IAA after $20 \mu\text{L L}^{-1}$ ethylene treatment for different time

2.2 脱落过程中的生理变化

2.2.1 可溶性蛋白含量 小花柄在 $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 乙烯诱导的脱落过程中, 不同部位的可溶性蛋白含量变化显著不同 (图 4)。最初, 离区及近轴端、远轴端的蛋白含量随处理时间增加而升高。近轴端的蛋白含量在乙烯处理 20 h 突然降低, 而离区的蛋白含量总是高于近轴端。在小花柄的远轴端, 乙烯处理 16 ~ 20 h 使蛋白含量明显降低, 而在脱落前 (处理 24 h) 又突然升高。

2.2.2 POD 活性 乙烯处理过程中, 小花柄离区及近轴端、远轴端的 POD 活性随乙烯处理时间延长而明显增大, 离区 POD 活性高于近轴端, 而且在脱落前不久, 离区 POD 活性迅速升高; 远轴端 POD 活性, 从乙烯处理 8 h 后即降低, 在临近脱落完成前 8 h 左右又升高, 但大部分时间内仍低于离区。临近脱落前, 小花柄外植体的 POD 活性高低顺序是, 离区 > 近轴端 > 远轴端 (图 5)。

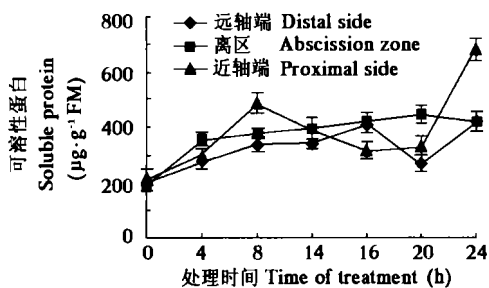


图 4 乙烯 $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 处理对番茄离体小花柄各部位可溶性蛋白含量的影响

Fig. 4 Changes of soluble protein content at three positions of pedicels in vitro treated by $20 \mu\text{L L}^{-1}$ ethylene

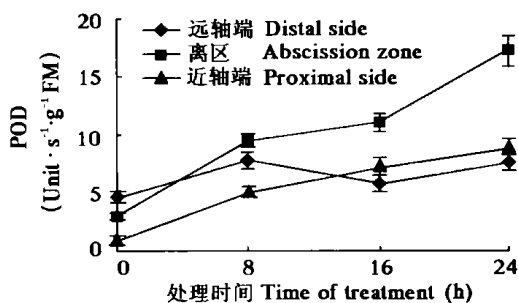


图 5 乙烯 $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 处理对番茄离体小花柄各部位 POD 活性的影响

Fig. 5 Changes of POD activity at three positions of pedicels in vitro treated by $20 \mu\text{L L}^{-1}$ ethylene

2.2.3 CMC-Na 酶活性 从图 6 可见, 即将脱落前 (20 h), 远轴端的 CMC-Na 酶活性高于离区, 离区高于近轴端, 3 个部位的 CMC-Na 酶活性在脱落前均升高, 但脱落完成后, 3 个部位的 CMC-Na 酶活性均有所下降。

2.2.4 Exo-PG 活性 图 7 表明, 在乙烯诱导的脱落过程中, 小花柄 3 个部位的 Exo-PG 活性均升高, 离区、远轴端的 Exo-PG 活性始终高于近轴端, 而诱导初期 (16 h) 离区 Exo-PG 活性高于远轴端, 但在脱落前, 远轴端的 Exo-PG 活性迅速升高, 与离区接近。

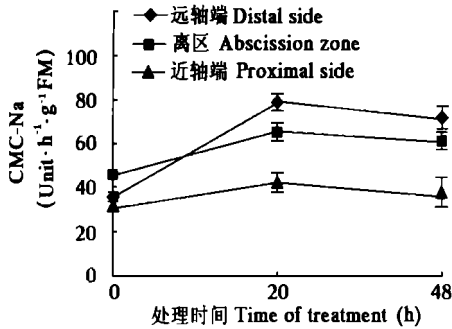


图6 乙烯 $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 处理对番茄离体小花柄各部位 CMC-Na 酶活性的影响

Fig. 6 Changes of CMC-Na activity at three positions of pedicels in vitro treated by $20 \mu\text{L L}^{-1}$ ethylene

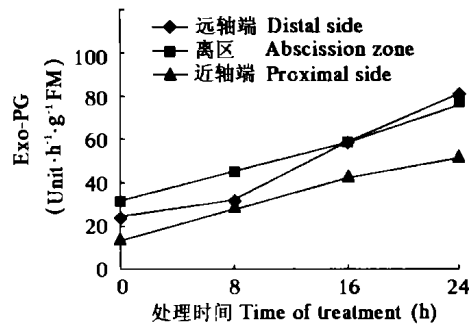


图7 乙烯 $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 处理对番茄离体小花柄各部位 Exo-PG 活性的影响

Fig. 7 Changes of Exo-PG activity at three positions of pedicels in vitro treated by $20 \mu\text{L L}^{-1}$ ethylene

3 讨论

在空气中, 开花期的小花柄比蕾期、幼果期小花(果)柄更容易脱落。乙烯诱导促进了3个时期的小花(果)柄脱落, 但是开花期的小花柄更敏感, 花蕾柄比幼果柄更敏感。从脱落率看, 它们的脱落进程不同。番茄不论在蕾期、开花期还是幼果期, 脱落时的分离部位总是在小花(果)柄的凹痕处, 此凹痕正是离区部位。日本研究者田渊俊人通过解剖研究观察到, 离区的细胞与组织特征完全形成于开花期, 此前用光学显微镜能观察到离区细胞特征的最早时期是在花萼分化期^[14,15], 说明离区分化不完全, 组织尚未成熟, 这可能是花蕾柄不易脱落的原因。对于幼果柄, 由于培养前离区远轴端幼果的存在影响到离区上下各种激素的分布, 使乙烯的敏感性降低所致^[1,4], 此外也可能与小花柄的木质化程度有关。

通过本试验长时间乙烯处理发现, 如果小花柄的群体量足够大, 就会有一些小花柄对乙烯极不敏感, 不能在正常的时间内完成生理性脱落, 这些花柄与更早脱落的花柄可能对乙烯存在不同的生理反应, 需要进一步研究。乙烯 $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 在 24 h 左右足以引起大部分开花期的离体小花柄完成脱落。本研究中, 乙烯处理后的小花柄继续在 $50 \mu\text{g g}^{-1}$ IAA 中培养, 脱落虽然能继续发生, 但随后的脱落可以被强烈抑制, 可见这两种激素相互作用, 在一定程度上决定着小花柄的命运。深入研究脱落的生理机制, 需要在稳定的诱导条件下进行, 本试验说明, 乙烯 $20 \mu\text{L L}^{-1}$ 在密闭的环境条件下处理, 是番茄花期小花柄脱落诱导的较好条件, 在此条件下, 取样有足够的时间间隔, 脱落变化稳定。

本研究的结果证明, CMC-Na 酶、Exo-PG 活性的升高伴随着乙烯诱导的小花柄分离过程。但是这两种酶在离区及其近轴端与远轴端的反应有所不同, 特别是离区远轴端的 CMC-Na 酶及 Exo-PG 活性在脱落前几个小时迅速升高, 是否暗示远轴端在脱落信号反应过程中有特殊性, 尚需进一步研究。此外越来越多的研究者认为, 细胞壁的降解是由复杂的降解酶系统共同作用的结果, 不是由少数几种酶单独完成的^[7], 所以了解这个酶系统的成员及其作用顺序是了解细胞壁降解过程的必要步骤。由于乙烯诱导小花柄脱落是一个复杂的信号传递过程, 其中有激素受体以及酶系统的参与, 有报道显示, 在番茄 Nr 突变体中, 由于乙烯受体 *etr1* 发生突变, 导致离区对乙烯不敏感, 纤维素酶活性没有变化, 脱落受到强烈抑制, 说明乙烯受体对于脱落的重要性^[16,17]。

POD 的活性也与离区组织的分离密切相关。一般脱落过程中伴随着 POD 活性升高, 但是不同部位 POD 活性变化不一致^[10], 本研究的结果也证明了这一点。POD 的功能之一是参与木质素单体的多聚化以及木质素与木栓质在细胞壁中的镶嵌^[7,18], 这些功能可能与组织的保护性反应有关, 但目前关于离区 POD 的确切功能还知道不多。

乙烯处理后小花柄各部位可溶性蛋白含量变化是否也说明了组织的反应顺序、反应方式不同尚不

明确, 但有研究证明, 在乙烯诱导的脱落过程中确有新的蛋白质产生^[19], 其功能还不清楚。关于番茄小花柄在脱落过程中的胞壁降解酶系统的作用, 以及特异蛋白的作用, 有待于进一步研究。

参考文献:

- 1 Brown K M. Ethylene and abscission. *Plant Physiology*, 1997, 100: 567 ~ 576
- 2 Clouse S D, Sasse J M. Brassinosteroids: Essential regulators of plant growth and development. *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.*, 1998, 49: 427 ~ 451
- 3 Hartmond U, Yuan R, Burns J K, et al. Citrus fruit abscission induced by methyl-jasmonate. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 2000, 125: 547 ~ 552
- 4 Roberts J A, Schindler, Tucker G A, et al. Ethylene-promoted tomato flower abscission and the possible involvement of an inhibitor. *Planta*, 1984, 160: 164 ~ 167
- 5 陆定志, 傅加瑞, 宋松泉. 植物衰老及其调控. 北京: 中国农业出版社, 1997. 65 ~ 92
- 6 del Campillo E, Bennett A B. Pedicel breakstrength and cellulase gene expression during tomato flower abscission. *Plant Physiology*, 1996, 111: 813 ~ 820
- 7 van Doorn W G, Stead A D. Abscission of flowers and floral parts. *Journal of Experimental Botany*, 1997, 48: 821 ~ 837
- 8 Brummell D A, Lashbrook C C. Plant Endo-1, 4- α -D-glucanase: Structure, properties and physiological function. *Amer. Chem. Soc. Symp. Ser.*, 1994, 566: 100 ~ 129
- 9 Hadfield K A, Bennett A B. Polygalacturonase: many genes in search of a function. *Plant Physiology*, 1998, 117: 337 ~ 343
- 10 Henry E W, Valdovinos J G, Jensen T E, et al. Peroxidases in tobacco abscission zone tissue. . Time-course of peroxidase activity during ethylene-induced abscission. *Plant Physiology*, 1974, 54: 192 ~ 196
- 11 Marion M B. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248 ~ 254
- 12 Artes F, Cano A, Fern T. Pectolytic enzyme activity during intermittent warming storage of peaches. *J. Food Sci.*, 1996, 61 (2): 311 ~ 313
- 13 Riov J. A Polygalacturonase from citrus leaf explant. *Plant Physiology*, 1974, 53: 312 ~ 316
- 14 田渊俊人. トマトの小花柄における离层の形成と发达. *园学杂*, 1999, 68: 993 ~ 999
- 15 Tabuchi T, Ito S, Noriko Arai, et al. Development of the abscission zones in $j-2^{in}$ pedicels of galapagos wild tomatoes. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 2000, 69: 443 ~ 445
- 16 Tucker G A, Schindler C B, Roberts J A, et al. Flower abscission in mutant tomato plants. *Planta*, 1984, 160: 164 ~ 167
- 17 Patterson S E, Hueter S M. Floral organ abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 1994, 105 (Suppl.): 181
- 18 李雄彪, 吴 爱. 植物细胞壁. 北京: 北京大学出版社, 1993. 129 ~ 151
- 19 Del Campillo E, Lewis L N. Identification and kinetics of accumulation of proteins induced by ethylene in bean abscission zones. *Plant Physiology*, 1992, 98: 955 ~ 961

Effect of Ethylene on Abscission of Tomato Pedicel in Vitro

Wang Yanchang, Li Tianlai, and Hou Jianping

(Horticultural Department of Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: Pedicels of *Lycopersicon esculentum* Mill 'liaoyuanduoli' were harvested at three developmental stages, namely at the anthesis, bud stage and on the tenth day after flower. The abscission sensitivity of pedicels explants induced by ethylene was investigated. The results were showed as following: Anthesis was the stage most liable to shell of pedicels explants induced by ethylene and the optimum concentrate was $20 \mu\text{L L}^{-1}$. There was a significant increasement in the activity of POD and CMC-Na enzyme in abscission zone, distal side and proximal side of pedicels explants at the end of ethylene treatment in optimum concentrate. However, no clear relationship between the activity of these enzymes and the soluble protein content was observed.

Key words: Tomato; Pedicel; Ethylene; Abscission