

外源钙对苹果果实乙烯生成的影响

刘会超 韩振海* 许雪峰

(中国农业大学园艺学院园艺植物研究所, 北京 100094)

摘要: 外源 Ca^{2+} 浓度低于 $350 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 可促进‘红富士’苹果果实乙烯释放, 在 $400 \sim 1\,000 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间时, 乙烯的释放速率仅为对照的 $29.8\% \sim 41\%$ 。分别用高浓度 ($500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 与低浓度 ($80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) CaCl_2 处理果实 12 h, 随处理时间延长, 低浓度钙促进乙烯释放量持续增加, 12 h 时乙烯释放量是 2 h 时的 2.9 倍, 而高浓度钙抑制乙烯生成的效应比较稳定, 保持在 $12.6 \sim 14.4 \text{ nL} \cdot \text{g}^{-1}$ 。低浓度的 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 也有刺激乙烯生成的作用。 Ca^{2+} 的胞内流动抑制剂 La^{3+} 及 CaM 的抑制剂 TFP (三氟啦嗪) 在 $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CaCl_2 存在时, 明显抑制乙烯释放。

关键词: 苹果; 果实; 外源钙; 乙烯

中图分类号: S 661.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2002) 03-0258-03

1 目的、材料与方法

乙烯是影响果实成熟的关键因子, 钙对乙烯的产生有重要调控作用^[1]。外源钙既有促进乙烯生成的报道, 也有抑制生成的报道^[2~4]。本研究用不同浓度的外源钙处理苹果果实, 试图确定其对乙烯产生促进或抑制影响的浓度范围, 并对其促进乙烯生成的机制进行探讨。

将采收的成熟‘红富士’苹果果实贮存在 $0 \sim 4^\circ\text{C}$ 冷库中, 一个月后取出进行外源钙处理 (参照 Ferguson 的方法^[2], 略有修改)。将果实横剖, 取果心线以外的果肉组织, 用打孔器将其分割为直径 0.7 cm 、厚 0.3 cm 的圆片, 先在 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MES 缓冲液 (含 $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甘露醇、 1% PVP, pH 3.8) 中平衡 10 min, 称取 4.0 g 果实圆片转入由 MES 缓冲液配制的不同孵育液 (pH 3.8, 50 mL 三角瓶密封) 中, 25°C 下保温震荡 8 h, 转速为 100 r/min , 所有试验均重复 3 次。试验分 5 次进行。不同浓度 CaCl_2 处理对果实乙烯生成的影响: CaCl_2 的浓度为 0 、 1 、 5 、 10 、 20 、 40 、 50 、 60 、 70 、 80 、 100 、 200 、 300 、 400 、 500 、 600 、 700 、 800 及 $1\,000 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。以 $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 为低钙处理, $500 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 为高钙处理, 孵育 12 h, 每 2 h 测定乙烯释放量, 比较两种浓度对乙烯生成影响的动态变化。三种二价阳离子对乙烯释放影响的比较: 在 MES 缓冲液中, 配制浓度为 5 或 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CaCl_2 、 MgCl_2 、 MnCl_2 的三种溶液, 处理果实圆片。在 $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2 下, 分别加入 0.1 、 0.5 、 1.0 、 2.0 、 5.0 及 $10.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 LaCl_3 处理果实, 探讨外源钙的作用位点。以 TFP (三氟啦嗪) $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ + LaCl_3 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、TFP $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ + LaCl_3 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ + CaCl_2 $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 LaCl_3 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ + CaCl_2 $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 CaCl_2 $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理果实圆片, 探讨外源钙是否进入胞内与 CaM 结合引发促进乙烯的反应。

乙烯的测定: 用一次性医用注射器取气 0.5 mL , 用岛津 GC-17A 气相色谱仪测定, 3% Chrom104 柱, FID 检测器, N_2 流速 $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, H_2 流速 $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 空气流速 $375 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 50°C , 进口温度 125°C 。

收稿日期: 2002-01-23; 修回日期: 2002-04-10

基金项目: 北京市重点实验室项目; “教育部高等院校优秀青年教师教科奖励基金”资助项目

*通讯作者。

2 结果分析与讨论

2.1 不同浓度 CaCl_2 处理对乙烯释放的影响

经 CaCl_2 处理的果实圆片，其乙烯产生量随着 CaCl_2 处理浓度的变化出现以下趋势，当 Ca^{2+} 浓度在 350 mmol L^{-1} 以内时，乙烯释放速率高于对照；在 $0 \sim 80 \text{ mmol L}^{-1}$ 范围内，随着 Ca^{2+} 浓度升高，乙烯释放速率逐渐增大；至 Ca^{2+} 80 mmol L^{-1} 时，乙烯释放速率达到最大值，为 $12.9 \text{ nL g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ，是对照的 3 倍；当 Ca^{2+} 浓度在 350 mmol L^{-1} 以上时，抑制乙烯的生成（图 1），在 $400 \sim 1\,000 \text{ mmol L}^{-1}$ 范围内，乙烯释放速率保持在 $1.4 \sim 2.4 \text{ nL g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 之间。说明外源钙对果实乙烯的生成具有两种特性，在低浓度（ $<350 \text{ mmol L}^{-1}$ ）时促进乙烯产生，在高浓度（ $>400 \text{ mmol L}^{-1}$ ）时产生抑制作用。

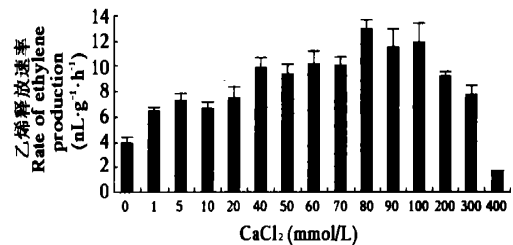


图1 不同浓度 CaCl_2 对乙烯释放的影响

Fig. 1 Effects of different concentration of CaCl_2 on ethylene production

2.2 高浓度及低浓度钙处理对乙烯生成影响的动态变化

由图 2 可以看出，低钙处理的乙烯释放量皆高于高钙处理及对照，随着处理时间延长，这种趋势更加明显。2 h 时，低钙处理及对照的乙烯释放量分别为 49.3 nL g^{-1} 和 20.5 nL g^{-1} ，两者相差 28.8 nL g^{-1} ；12 h 时，分别为 132.7 nL g^{-1} 和 42.5 nL g^{-1} ，两者相差 90.2 nL g^{-1} ，说明低钙对刺激果实中乙烯的释放有累加效应。高钙处理的乙烯释放量低于对照，从第 4 h 开始，高钙处理的乙烯释放量稳定在 $12.6 \sim 14.4 \text{ nL g}^{-1}$ 之间，说明从处理后 4 h 开始，高钙能稳定地抑制乙烯释放。

2.3 三种二价阳离子对乙烯释放的影响比较

由图 3 看出，在 5 mmol L^{-1} 及 50 mmol L^{-1} 两种浓度下， Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 三种二价阳离子均能促进乙烯的生成，乙烯生成速率均高于对照，三种处理之间差异不显著。在浓度为 5 mmol L^{-1} 时， Mg^{2+} 比 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 乙烯生成速率高；在浓度为 50 mmol L^{-1} 时， Ca^{2+} 比 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 高。说明 Ca^{2+} 刺激乙烯生成不是专一的，其它二价阳离子也有此功能。

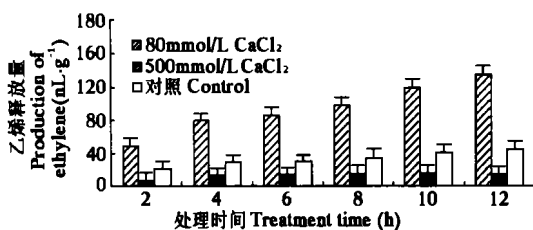


图2 CaCl_2 处理对乙烯释放影响的动态变化

Fig. 2 Effect of CaCl_2 on dynamic changes of ethylene production

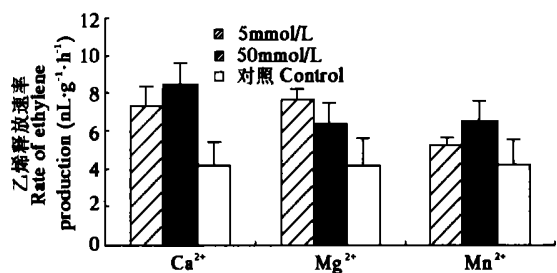


图3 二价阳离子对乙烯释放的影响

Fig. 3 Effect of cations on ethylene production

2.4 外源钙刺激乙烯生成的机制

使用 Ca^{2+} 抑制剂 LaCl_3 及刺激乙烯生成的最大效应浓度 $80 \text{ mmol L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 处理果实，结果如图 4 所示。 $0.1 \text{ mmol L}^{-1} \text{LaCl}_3$ 不能抑制 $80 \text{ mmol L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 所刺激的乙烯生成，与 $80 \text{ mmol L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 处理相比无明显差异。 $0.5 \sim 10 \text{ mmol L}^{-1} \text{La}^{3+}$ 均能抑制 $80 \text{ mmol L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 所刺激的乙烯生成，与 $80 \text{ mmol L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 处理相比有明显差异（ $P < 0.05$ ）。说明 Ca^{2+} 刺激乙烯的生成的作用位点在胞内。

用 TFP 判断进入胞内的外源钙是否通过与 CaM 结合启动生成乙烯的反应。由图 5 可以看出，在 $80 \text{ mmol L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 孵育液中加入 CaM 的抑制剂 TFP，降低了外源 Ca^{2+} 的作用，乙烯释放量高于对照，

低于单独 $80 \text{ mmol L}^{-1} \text{CaCl}_2$ 处理, 在 TFP 和 La^{3+} 的共同作用下, 乙烯释放量明显低于对照, 是对照的 $1/2$ 左右, 与其它处理相比, 有明显差异 ($P < 0.05$)。在 TFP 存在而无 La^{3+} 的情况下, 抑制乙烯释放的效果不显著, 与 80 mmol/L CaCl_2 处理相比, 无显著差异。

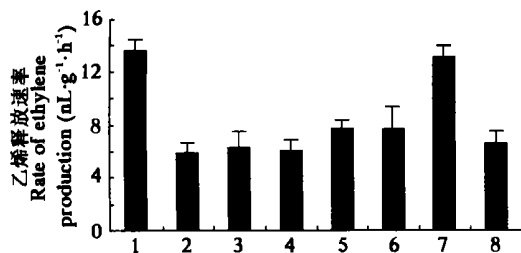


图4 钙抑制剂 (La^{3+}) 对乙烯释放速率的影响

Fig. 4 Effects of inhibitor of Ca^{2+} (La^{3+}) on ethylene production

1. $\text{LaCl}_3 0.1 \text{ mmol L}^{-1} + \text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$; 2. $\text{LaCl}_3 0.5 \text{ mmol L}^{-1} + \text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$; 3. $\text{LaCl}_3 1 \text{ mmol L}^{-1} + \text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$;
4. $\text{LaCl}_3 2 \text{ mmol L}^{-1} + \text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$; 5. $\text{LaCl}_3 5 \text{ mmol L}^{-1} + \text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$;
6. $\text{LaCl}_3 10 \text{ mmol L}^{-1} + \text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$;
7. $\text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$; 8. 对照 Control.

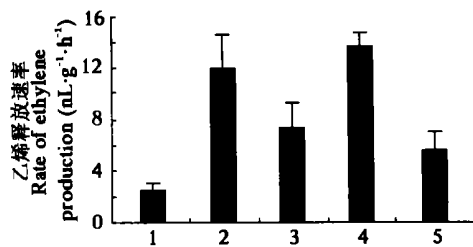


图5 CaM 抑制剂 TFP (三氟啦嗪) 对乙烯释放的影响

Fig. 5 Effects of TFP on ethylene production

1. $\text{TFP } 0.5 \text{ mmol L}^{-1} + \text{LaCl}_3 1 \text{ mmol L}^{-1} + \text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$;
2. $\text{TFP } 0.5 \text{ mmol L}^{-1} + \text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$;
3. $\text{LaCl}_3 1 \text{ mmol L}^{-1} + \text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$;
4. $\text{CaCl}_2 80 \text{ mmol L}^{-1}$; 5. 对照 Control.

参考文献:

- 1 Bush D S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol.*, 1995, 46: 95 ~ 112
- 2 Ferguson I B. Calcium stimulation of ethylene production induced by 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid indole-3-acetic acid. *J. Plant Growth Regul.*, 1983, 2: 205 ~ 214
- 3 Burns J K, Evensen KB. Ca^{2+} effects on ethylene, carbon dioxide and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase activity. *Physiol. Plant*, 1986, 66: 609 ~ 615
- 4 关军锋, 束怀瑞, 黄天栋. 钙对新红星苹果乙烯生成的作用. *园艺学报*, 1991, 18 (3): 205 ~ 209

The Effect of Exogenous Calcium on Ethylene Production of Apple Fruit

Liu Huichao, Han Zhenhai, and Xu Xuefeng

(Institute for Horticultural Plants, College of Horticultural Science of China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: Slices of 'Fuji' apple fruit which was stored at 0 - 4 °C for 1 month were treated with different concentrations of CaCl_2 to evaluate the influence of exogenous Ca^{2+} on changes of their ethylene productions. The results showed that Ca^{2+} enhanced the ethylene production when CaCl_2 concentrations were lower than 350 mmol L^{-1} , while it inhibited the ethylene production when Ca^{2+} concentration was higher than 350 mmol L^{-1} . During 0 - 12 h period of treatment, lower level of Ca^{2+} (80 mmol L^{-1}) produced more ethylene continuously, while the higher level of Ca^{2+} (500 mmol L^{-1}) inhibited ethylene production steadily. Not only low concentration of Ca^{2+} is a factor of cation to stimulate ethylene production, but Mg^{2+} and Mn^{2+} also showed the similar effect as Ca^{2+} did. La^{3+} (the inhibitor of Ca^{2+}) and trifluoperazine (the inhibitor of CaM) inhibited ethylene production in the presence of low Ca^{2+} (80 mmol L^{-1}) treatment.

Key words: Apple; Fruit; Exogenous calcium; Ethylene