

外源多胺对富士苹果花和幼果内源多胺与激素的影响

徐继忠¹ 陈海江¹ 马宝¹ 章文才²

(¹ 河北农业大学园艺系, 保定 071001; ² 华中农业大学园艺系, 武汉 430070)

摘要: 红富士苹果花和幼果内均含有腐胺 (Put)、亚精胺 (Spd) 和精胺 (Spm), 其中以 Spd 含量最高。盛花期喷施 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ 的 Spd, 可提高花和幼果内 GA_3 、ZR 的含量, 但 IAA、ABA 含量下降; 喷施多胺合成抑制剂 MCBG 降低了喷后 10 d 幼果内 GA_3 含量, 却提高了花和幼果内 IAA 含量; 对内源多胺的测定结果表明, 盛花期喷施 Spd 提高了喷后 20 d 幼果内源 Put、Spd 及 Spm 含量, 降低了花内的含量; 喷施 MCBG 提高花和幼果内 Put 含量, 降低 Spd 及 Spm 含量。田间试验结果表明, 盛花期喷施 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ 的 Spd, 坐果率为对照的 144.1%, 而喷施 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ 的 MCBG, 坐果率为对照的 86.2%。

关键词: 苹果; 多胺; 激素; 坐果

中图分类号: S 661.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2001) 03-0206-05

多胺是生物体代谢过程中产生的具有重要生理活性的低分子量脂肪族含氮碱, 对植物的生长发育、形态建成和抗逆性等具有重要的调节作用^[1]。大量研究结果表明, 多胺能够提高苹果的坐果率。一些研究者从多胺与花粉萌发、胚珠寿命、内源乙烯等方面研究了提高坐果率的机制^[2~4], 而多胺与内源 IAA、 GA_5 、CTK、ABA 的关系鲜见报道。作者于 1995~1996 年两年的研究结果表明, 红富士苹果盛花期喷施 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ 的亚精胺 (Spd) 能明显提高坐果率 (为对照的 119.0%~144.1%)^[5]。在此基础上研究外源多胺及其合成抑制剂对内源激素及多胺的影响, 旨在为解释多胺的作用机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 试材

试验于 1996 年在河北省石家庄郊区大马果园进行。供试品种为 10 年生红富士, 株行距为 4 m × 6 m, 株形为自由纺锤形, 生长发育良好、整齐一致。

1.2 方法

1.2.1 喷施外源多胺及其合成抑制剂 MCBG [甲基乙二醛—双 (脒基脲)] 选择干周、花量相近的树 4 株, 再根据花量、枝粗、枝势及枝位等指标, 从每株树中选择 3 个大枝, 于盛花期 (花开 50% 时) 分别喷施 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ 的 Spd 和 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ 的 MCBG (药品均购自 Sigma 公司), 以喷清水为对照。喷布时以滴水为度。

收稿日期: 2000-09-01; 修回日期: 2000-12-12

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目 (395212)

1.2.2 样品采集 于喷前 1 d、喷后 1、10、20、30 和 40 d 采集花或幼果。样品均从 4 株树上采集, 混合, 每次每枝采 30~40 朵花, 共约 150 朵, 幼果每次每枝 20 个, 共计 80 个, 装入冰壶带回实验室, 贮入 -28℃ 冰箱中。

1.2.3 内源激素测定 内源激素测定在中国林业科学院森林生态环境研究室进行, 具体方法为: 准确称取新鲜样品 2 g, 用 80% 的冷甲醇研磨, 转入锥形瓶中, 在 4℃ 条件下超声波振荡 1 h, 过滤, 滤渣中加 80% 的冷甲醇, 放置于冰箱中过夜, 再过滤, 合并滤液, 减压浓缩。浓缩液通过 Sep-park C₁₈ 小柱, 用 1 mL 乙腈通过小柱, 收集滤液, 过 0.45 μm 滤膜后上机分析。采用 Water 244 型 HPLC。GA₃、IAA、ABA 的测定条件为: Novapak C₁₈ 柱 (0.5 cm ×15 cm), 流动相为 20% CH₃OH 20% CH₃CN 60% H₂O, 用 1% H₃PO₄ 调 pH 3.5, 流速为 0.7 mL min⁻¹, 检测器为 UV 254 nm ×0.1 AUFS, 外标法峰高定量。ZR 的测定条件为: Resolveapak C₁₈ 柱 (0.5 cm ×15 cm), 流动相为 25% CH₃CN 20% CH₃OH 55% H₂O, pH 3.5, 流速为 0.7 mL min⁻¹, 检测器为 UV 254 nm ×0.1 AUFS, 外标法峰高定量。测定重复 2 次, 取平均值。

1.2.4 内源多胺的测定 提取和测定参照 Smith 等的方法^[6]。高效液相色谱仪型号为 Water 510, 色谱柱为 Zorbax ODX 反相柱, 柱温 (20 ±1)℃, 柱压小于 300 kg cm⁻², 洗脱液为甲醇和水, 流速为 1.0 mL min⁻¹, 采用梯度洗脱。用 Water 470 荧光检测器检测, 荧光检测器激发波长 337 nm, 发射波长 495 nm。外标法定量。测定重复 2 次, 取平均值。

2 结果与分析

2.1 红富士苹果花和幼果内源多胺与激素含量变化

2.1.1 内源多胺 分析红富士苹果喷清水对照处理花及幼果内源多胺的含量变化, 结果表明花及幼果内均含有游离态 Put、Spd 和 Spm, 其含量高低的顺序为: Spd > Put > Spm, 含量范围为 72.7~146.5、46.8~86.7、24.7~59.8 nmol g⁻¹ FW。花与幼果相比, 除喷清水后 40 d 幼果 Put 含量高于花外, 其它时间花内 3 种多胺含量均高于幼果。Spd、Spm 含量均在喷清水后 1 d 达最高, 分别为 146.5 和 59.8 nmol g⁻¹ FW, 然后降低, 其中以 Spd 下降速度最快, Spm 下降比较平缓, 这与 Biasi 等^[7]以首红为试材的研究结果相同; Put 在喷清水后 1 d 含量升高, 达 78.8 nmol g⁻¹ FW, 以后下降, 20 d 达最低点, 然后逐渐升高, 40 d 时达最高。

2.1.2 内源激素 喷施清水当天至喷后 40 d, 花及幼果内源 GA₃、IAA、ZR、ABA 含量均有一高峰, GA₃、IAA、ZR 的高峰期出现在喷后 10 d, 其含量分别为 0.76、0.95 和 0.32 μg g⁻¹ FW。ABA 在喷后 20 d 含量最高, 为 0.36 μg g⁻¹ FW。

对比分析 3 种多胺与 4 种内源激素的含量可以看出, 内源多胺的含量高于内源激素含量, 是其 10 倍至几百倍; 两类物质的变化规律基本相同, 但多胺的高峰期出现较早。

2.2 外源多胺对花和幼果内源激素及内源多胺含量的影响

2.2.1 对内源激素的影响 红富士苹果盛花期喷施 1×10^{-5} mol L⁻¹ Spd 后, 花及幼果内源 GA₃ 含量变化趋势与对照基本相同 (图 1, A), 但高峰期提前, 即喷施 Spd 后第 1 天 GA₃ 含量明显升高, 达 0.93 μg g⁻¹ FW, 以后下降。由图 1, A 可见, 喷后 20~40 d, 内

源 GA_3 含量高于对照, 喷后 30、40 d 分别为对照的 185.7 % 和 128.1 %。 GA_3 是促进坐果的一类激素, 喷施 Spd 能明显提高红富士苹果花及幼果内 GA_3 含量, 必将对坐果产生积极的影响。田间试验结果^[5]表明, Spd 处理后坐果率为对照的 144.1 %, 达 1 % 差异显著水平。Spd 处理降低了花及幼果内源 IAA 水平, 喷后 1 ~ 10 d, IAA 含量为 $0.31 \sim 0.40 \mu\text{g g}^{-1} \text{FW}$, 而对照则为 $0.34 \sim 0.94 \mu\text{g g}^{-1} \text{FW}$ 。喷后 10 d, 幼果内 IAA 含量仅为对照的 42.6 %, 喷后 20 ~ 40 d 也稍低于对照 (图 1, B)。

Spd 处理后 1 d, 花内 ABA 含量提高后下降。喷施 Spd 后 10 ~ 30 d, 幼果内源 ABA 含量为对照的 62.5 % ~ 77.8 % (图 1, C)。

喷前及喷后 10 d 内, 对照花或幼果内 ZR 含量较高, 10 d 后含量很低, 未检测出。喷施 Spd 降低了喷后 10 d 幼果的 ZR 含量, 但提高了喷后 40 d 幼果的 ZR 含量。

结果表明, 喷施 Spd 可提高红富士苹果花和幼果内 GA_3 /ABA 比值, 喷后 1、10、20、30、40 d 时, 其比值分别为 2.27、2.25、1.50、1.86、1.58; 而对照则分别为 1.78、2.38、0.89、0.78、1.78。结合红富士苹果的落花落果动态^[8]可以看出, 大量的落花落果发生在 GA_3 含量下降和 ABA 含量升高时, 因此较高的 GA_3 /ABA 比值对红富士苹果坐果十分必要。

2.2.2 对内源多胺的影响 红富士苹果盛花期喷施 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ Spd 可使花、幼果内源多胺含量发生明显变化。喷后 20 d, 幼果内 Put、Spd 含量明显升高 (图 2, A、B), 分别为对照的 173.9 % 和 117.8 %, 喷后 40 d 幼果内 Put 却低于对照; Spd 处理后降低了喷后 1 d (花) 和 10 d (幼果) Spd、Spm 含量, 分别为对照的 78.4 % ~ 80.3 % 和 48.1 % ~ 59.7 % (图 2, C), 但提高了喷后 20 d 幼果 Spm 含量, 为对照的 129 %, 30 ~ 40 d Spm 含量降低。

2.3 多胺合成抑制剂对内源激素及多胺含量的影响

试验结果表明, 盛花期喷施 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ MCBG, 明显降低了红富士苹果花的坐果率 (为对照的 86.2 %)^[5], 因此, 我们研究了 MCBG 对内源激素及多胺的影响。

2.3.1 对内源激素的影响 喷施 MCBG 降低了喷后 10 d 幼果 GA_3 的含量, 其含量仅为对照的 47.4 %, 但喷后 20 ~ 30 d 幼果 GA_3 含量高于对照。而喷施 MCBG 却明显提高了花及幼果 IAA 含量, 喷后 1 d 和 20 d, 含量分别为对照的 320.6 % 和 170.4 %。喷施 MCBG 对 ABA 含量影响较小 (图 1, A、B、C)。喷施 MCBG 1 d 后内源 ZR 含量提高, 以后 ZR 含量下降至不能检出水平。

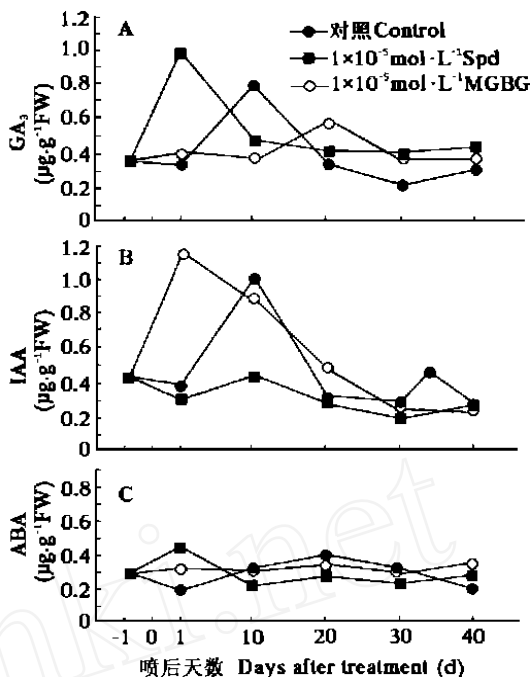


图 1 红富士苹果盛花期喷施 Spd 或 MCBG 对花和幼果内源 GA_3 、IAA、ABA 含量的影响

Fig. 1 Effects of Spd and MCBG sprayed at the full bloom on the endogenous GA_3 , IAA and ABA contents in the flowers and fruitlets of Red Fuji apple

2.3.2 对内源多胺的影响 由图 2 可以看出, 喷施 MGBG 可提高花及幼果内 Put 含量, 降低 Spd、Spm 含量。喷后 10 和 20 d, Put 含量分别为对照的 123.9 % 和 188.0 %; 喷后 10 d Spd 含量仅为对照的 62.1 % (图 2, A、B、C)。

3 讨论

3.1 多胺与内源激素的关系

Dai 等^[9]和 Kaur-Sawhney 等^[10]报道, 施用 GA₃ 可促进矮豌豆节间伸长, 同时提高 ADC 酶的活性及多胺含量。Smith 等^[11]和 Wang 等^[12]发现, 高杆豌豆、普通苹果树枝条内的多胺含量高于低杆豌豆及矮化苹果树内的多胺含量。这些结果表明, 多胺与 GA₃ 的关系十分密切。本试验结果表明, 盛花期喷施 $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ Spd, 可增加红富士苹果花及幼果内源 GA₃ 含量, 喷施多胺合成抑制剂 MGBG 降低了 GA₃ 含量, 从正反两方面证明 GA₃ 对多胺的反应迅速。果实内源激素的主要来源有母体分生组织、花粉及花粉管和受精胚珠。因此认为盛花期喷施 Spd 或 MGBG 引起 GA₃ 含量升高或降低与花粉萌发、花粉管伸长及胚珠的衰老密切相关, 并且 Spd 与花粉萌发、花粉管伸长及胚珠的衰老已有试验验证^[2]。关于外源多胺对内源 ABA 的影响报道较少, 檀建新^[13]认为, 在水分胁迫条件下, Spd 对玉米幼苗根和叶片中 ABA 含量没有影响。ABA 与 GA₃ 是互为拮抗的两种激素, 本试验中, 喷施 Spd 后 GA₃ 含量上升, 而 ABA 含量下降, 从而提高了 GA₃/ABA 比值。高 GA₃/ABA 比值对苹果坐果无疑将产生十分有利的影响, 这可能是外源多胺提高苹果坐果率的重要原因之一。此外, MGBG 抑制 SAM 脱羧, SAM 是乙烯生物合成的前体之一, 喷施 MGBG 后会导致乙烯的大量形成, 从而引起花果脱落; 另一方面, 也使 Put 不能进一步形成 Spd 和 Spm 而累积, 多量的 Put 有毒害作用, 对坐果不利。

外源 IAA 可诱导体内 Put、Spd 和 Spm 含量上升, 生长素在诱导细胞分裂或其它形态学变化时, 都伴随着组织多胺水平的上升, 且先于形态学变化。这说明多胺可能是生长素发生生理效应不可缺少的因子^[14]。但本试验结果表明, 盛花期喷施 Spd 降低花内 IAA 含量, 喷施多胺合成抑制剂 MGBG 提高了 IAA 含量, 其原因还需进一步研究。

3.2 外源多胺与内源多胺的关系

盛花期喷施 Spd, 降低了红富士苹果花内源 Put、Spd、Spm 含量, 这可能是由于红富士苹果花内源多胺含量较高或反馈抑制等缘故; 喷后 20 d 时, 内源 Put、Spd 和 Spm 含量高于对照, 外源 Spd 能增加内源 Put 含量在烟草和小麦上已有报道, 这可能是由于植物体

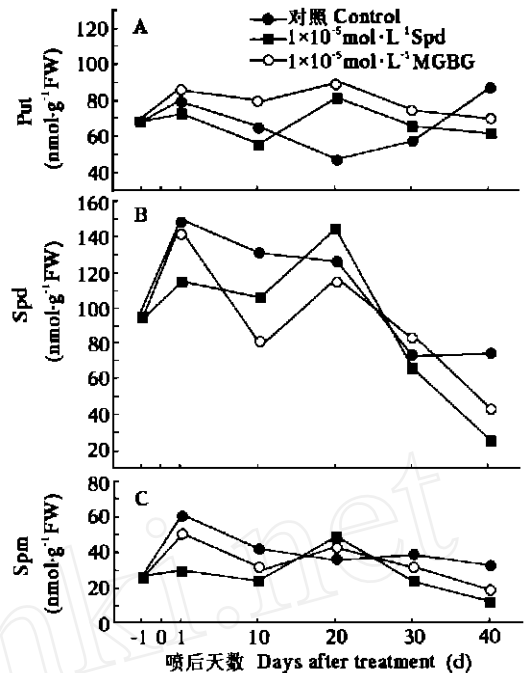


图 2 红富士苹果盛花期喷施 Spd 或 MGBG 对花和幼果内源腐胺、亚精胺及精胺含量的影响

Fig. 2 Effects of Spd and MGBG sprayed at the full bloom on the endogenous Put, Spd and Spm contents in the flowers and fruitlets of Red Fuji apple

内存在一种多胺氧化酶, 能催化 Spd 和 Spm 形成 Put^[15]。MCBG 能够抑制 SAMDC 酶的活性, 从而使内源 Spd 含量降低, 本试验结果也证明这一点, 盛花期喷施 MCBG 能增加 Put 含量, 这在小麦和豌豆上也有报道, 可能是由于 Spd 合成受阻使 Put 累积, 或 ODC 酶活性被激活或 DAO 酶活性被抑制^[16,17]。

参考文献:

- 1 孙文全. 多胺代谢与园艺植物开花的关系—文献综述. 园艺学报, 1989, 16 (3): 178~184
- 2 徐继忠, 史常青, 马宝^图, 等. 外源多胺对苹果花粉管伸长及胚珠寿命的影响. 园艺学报, 1998, 25 (1): 91~92
- 3 王世平, 宋长冰, 张连朝. 三种多胺在苹果开花及坐果初期的生理作用研究. 园艺学报, 1996, 23 (4): 319~325
- 4 Rugini E, Bagni G, Mencuccini M. Effect of putrescine, L-arginine and cobalt on fruit set, ethylene content and apparent parthenocarp in olive (*Olea europaea* L.). Acta Horti., 1986, 179: 365~368
- 5 徐继忠, 陈海江, 邵建柱, 等. 外源多胺及其合成抑制剂对苹果花粉萌发及坐果的影响. 河北农业大学学报, 1999, 22 (4): 42~45
- 6 Smith M A, Davis P T. Separation and purification of polyamines in plant-tissue by high performance liquid-chromatography of their dansyl derivatives. Plant Physiol., 1985, 78: 89~91
- 7 Biasi R. Polyamine metabolism as related to fruit set and growth. Plant Physiol. Biochem., 1991, 29 (5): 497~506
- 8 徐继忠. 多胺在苹果花芽分化和坐果中的效应研究: [博士学位论文]. 武汉: 华中农业大学, 1997. 41
- 9 Dai Y R., Kaur-Sawhney R, Galston A W. Promotion by gibberellic acid of polyamine biosynthesis in internodes of light-grown dwarf peas. Plant Physiol., 1982, 60: 103~105
- 10 Kaur-Sawhney R, Dai Y R, Galston A W. Effect of inhibitors of polyamine biosynthesis on gibberellin-induced internode growth in light-grown dwarf peas. Plant Cell Physiol., 1986, 27 (2): 253~260
- 11 Smith M A. Role of polyamine in gibberellin-induced internode growth in peas. Plant Physiol., 1985, 78: 92~99
- 12 Wang S Y, Faust M. Comparison of seasonal growth and polyamine content in shoots of orchard-grown standard and genetic dwarf apple trees. Physiol. Plant., 1993, 89: 376~380
- 13 檀建新. 水份胁迫、CaCl₂ 和 Spd 处理对玉米幼苗内源激素和多胺的影响: [硕士学位论文]. 保定: 河北农业大学, 1993. 13~20
- 14 朱大恒, 韩锦峰, 林学梧, 等. 多胺与植物激素的关系. 河南农业大学学报, 1993, 27 (1): 10~15
- 15 Smith T A. Putrescine, spermidine and spermine in higher plants. Phytochemistry (Oxf), 1990, 9: 1479~1486
- 16 Heby O. Role of polyamines in the control of cell proliferation and differentiation. Differentiation, 1981, 19: 1~20
- 17 Minnocha S C. Polyamines and somatic embryogenesis in carrot. Plant & Cell Physiol., 1991, 32 (3): 395~402

Effects of Exogenous Spermidine on the Levels of Endogenous Hormones and Polyamines in the Flowers and Fruitlets of Red Fuji Apple

Xu Jizhong¹, Chen Haijiang¹, Ma Baokun¹, and Zhang Wencai²

(¹ Department of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding 071001; ² Department of Horticulture, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

Abstract: Effects of exogenous polyamines and their biosynthesis inhibitor MCBG on fruit set and the contents of the endogenous hormones and polyamines during flowering and fruit setting were studied with Red Fuji apple. The results showed that application of Spd at $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ at full bloom could increase fruit set and the contents of GA₃ and ZR in the flowers and fruitlets of Red Fuji apple, but reduced IAA and ABA contents. MCBG basically had an opposite effects. The Spd treatment could also increase endogenous Put, Spd and Spm contents in the fruitlet of Red Fuji apple, but reduced their contents in the flowers, MCBG treatment decreased the endogenous Spd contents but increased Put contents.

Key words: Apple; Polyamines; Hormones; Fruit setting