

葡萄果实发育后期脱落酸来源的研究

黄丛林 张大鹏* 贾文锁

(中国农业大学果树分子发育生物学实验室, 农业部植物生理生化重点开放实验室, 北京 100094)

摘要: 以‘品丽珠’ (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Franc) 葡萄为试材, 对发育后期果实中脱落酸 (ABA) 的来源进行了研究。结果表明, 叶片合成的 ABA 可能是果实中 ABA 的重要来源, 而根部 ABA 的合成对果实中 ABA 含量贡献不大。种子中 ABA 的合成可能不是果肉中 ABA 的重要来源。果实具有独立合成和降解 ABA 的能力。对果实内 ABA 含量变化的代谢调控问题进行了讨论。

关键词: 葡萄; 果实; 发育; 脱落酸

中图分类号: S 663.1; Q 945 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2001) 05-0385-07

葡萄是非乙烯跃变型果实, 脱落酸 (ABA) 是启动葡萄果实成熟的激素信号^[1~5]。关于调控葡萄果实成熟的 ABA 信号来源于何处, 有人推测, 根、叶合成的 ABA 可以运输到葡萄果实中^[1,5~7], 但缺乏系统的实验证据, 尤其是没有估测从根、叶运入的 ABA 对果实中 ABA 含量的贡献, 并忽视了果实本身对 ABA 的独立代谢能力, 所以难以评估调控果实发育成熟的 ABA 来源。作者全面地考虑了根、叶、果的关系, 并对这些问题进行了系统的探索。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以中国农业大学科技园 4~5 年生盆栽‘品丽珠’ (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Franc) 葡萄为试材。测定果实生长曲线^[5]以确定生长发育时期: 幼果生长期约为 1 个月, 然后依次进入缓慢生长期 (约 15 d)、始熟期和成熟期。缓慢生长期和始熟期属于生长发育后期, 是果实成熟调控的关键时期^[1~5], 作为本研究所针对的主要时期。

1.2 始熟期前后 ABA 由根向果实运输的研究

从果实缓慢生长期至始熟期完成后 2 d 进行如下处理: (1) 整株干旱胁迫。根据胁迫程度确定取样日期, 基础水势 (黎明前叶片水势) 为 -0.14 MPa 时开始取样。取果穗同侧上部第 1 片叶、果穗穗梗木质部汁液、果粒等样品立即用液氮速冻, -30℃ 下保存待测 ABA 含量。(2) 半根胁迫。将盆栽葡萄根系小心地分为两部分, 其中一半用塑料袋套住, 然后种于盆中, 进行隔离水分胁迫处理, 另一半正常吸收水分。处理后第 1 天开始取样, 每隔 5 d 取样 1 次。方法同整株干旱胁迫。

收稿日期: 2001-02-08; 修回日期: 2001-04-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39870487, 39700100, 39730340)

*通讯作者。

1.3 果实在失水诱导下合成 ABA 能力的研究

果实缓慢生长期取果穗, 以实验室条件下自然失水为胁迫处理, 以采后在密封容器内保湿 (RH 100 %) 的果穗为对照。样品处理完后用液氮速冻, -30°C 下保存待测 ABA。

1.4 始熟期前后 ABA 从叶片向果实运输的研究

1.4.1 始熟期 ^3H ABA 叶片饲喂示踪 始熟期向果穗同侧上部第 1 片叶施喂剂量为 4.44×10^6 dpm 的 ^3H ABA (Amersham 公司), 然后间隔一定时间取果实样品, 按黄丛林等^[8]的方法进行抽提处理, 用 ABA 单克隆抗体沉淀抽提液测定放射强度。

1.4.2 枝条环剥试验 始熟期前 25 d 在果穗穗梗与枝条连接处上下约 2 cm 处同时进行环剥处理, 环剥圈宽度为 2~4 mm, 同时保证在缓慢生长期伤口不愈合。从环剥前 4 d (对照) 或环剥后到始熟期后 15 d, 每 4 d 取样 1 次, 重复 3 次 (以枝条为试验单元)。在田间取果穗同侧上部第 1 片叶及果实样品立即用液氮速冻, -30°C 下保存待测 ABA。

1.5 果实不同部位 ABA 分布的研究

从缓慢生长期开始到始熟期后 8 d, 每 4 d 取样 1 次, 以果穗为试验单元, 重复 3 次。取一个果穗, 先取果实样品, 再取同一果穗的穗梗木质部汁液。将果实分为果皮、外果肉、内果肉、种子。外果肉是指位于果皮以内、种子着生点以外的果肉, 内果肉是指种子着生点以内的果肉 (图 1)。果实的分割在 4°C 低温下进行。将样品采好并分割后立即用液氮速冻, -30°C 下保存待测 ABA。

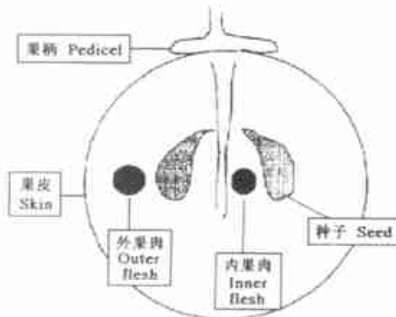


图 1 葡萄果粒不同部位取样示意图

Fig. 1 A diagram showing the sampling sites of grape berry

1.6 ABA 含量的测定

利用本实验室建立的以 ABA 单克隆抗体为基础的放射免疫法^[8]进行测定。ABA 单克隆抗体 MAC62 由 Quarrie S. A. 博士^[9]提供。

本试验结果经过 1997 和 1998 年两年验证。

2 结果

2.1 干旱时根部 ABA 向果实的运输以及失水时果实内 ABA 的合成

图 2 表明, 干旱胁迫使葡萄果皮、果肉、种子以及穗梗木质部汁液的 ABA 含量大幅度升高, 但在时间进程上有差异: 果皮、种子和来源于根部的穗梗木质部液流中 ABA 升高较早, 时间上也基本同步 (胁迫第 4~8 天), 但果肉中 ABA 升高较晚 (胁迫第 11 天)。

始熟期果实自然失水试验表明, 自然失水诱导了葡萄果皮、果肉和种子中 ABA 含量的显著升高 (图 3)。

半根胁迫没有对中午和黎明前叶片水势产生显著影响 (图 4), 也没有对叶片 ABA 含量产生显著影响 (图 5)。虽然使穗梗木质部上运液流中的 ABA 含量显著升高, 但整个果实中 ABA 浓度却没有因此而发生显著变化 (图 5), 其中果皮、果肉或种子中的 ABA 含量均如此。

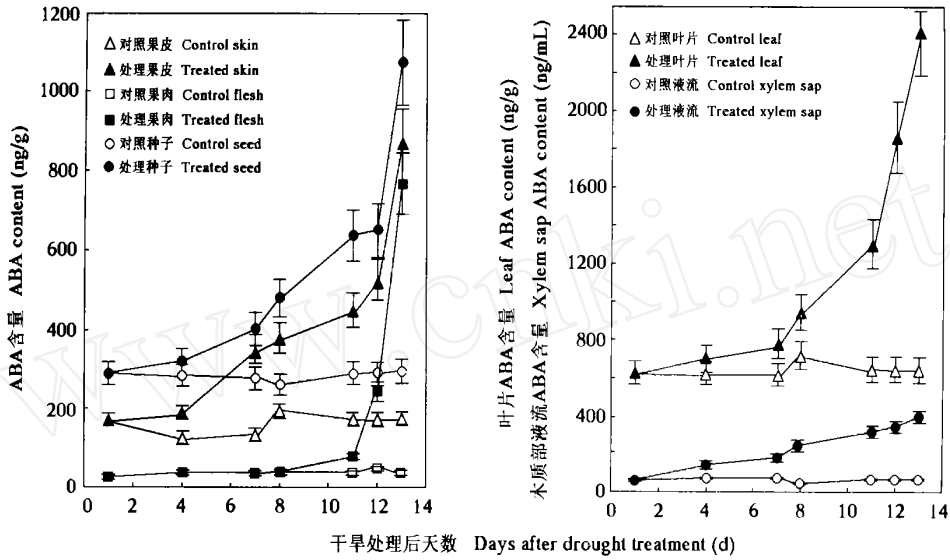


图2 果实缓慢生长期干旱胁迫下盆栽品丽珠葡萄器官和组织中 ABA 含量的变化

Fig. 2 Effects of drought treatment on changes in ABA content in grape berries of the potted 'Cabernet-Franc' during lag growth phase

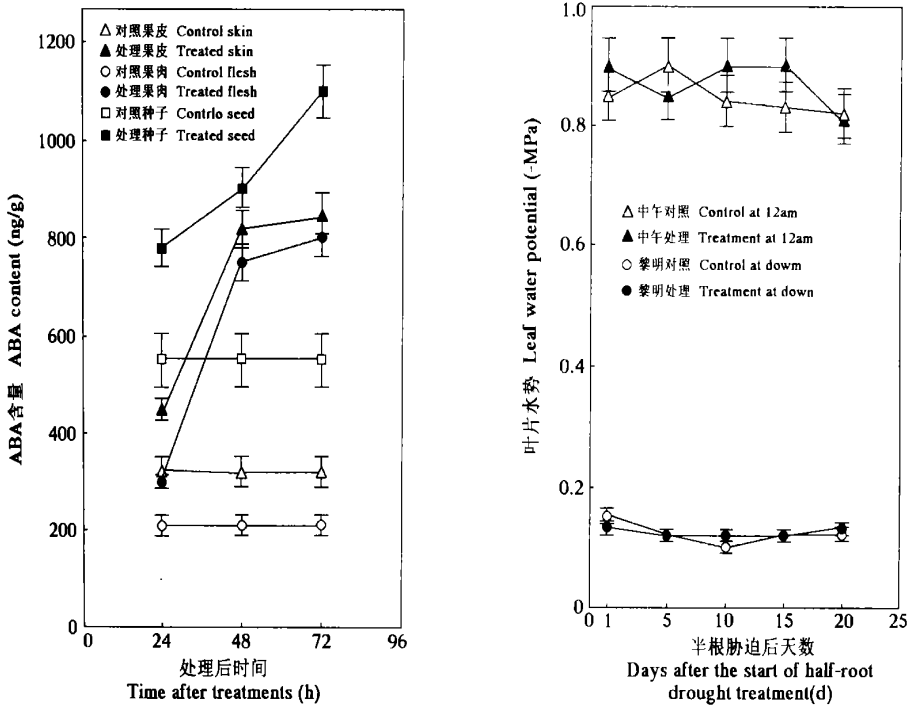


图3 始熟期葡萄果粒自然失水对 ABA 合成的诱导作用

Fig. 3 Effects of the natural dehydration in free air on ABA biosynthesis in grape berries harvested at veraison

图4 果实缓慢生长期半根干旱胁迫对盆栽品丽珠葡萄叶片中午和黎明水势的影响

Fig. 4 Effects of half-root drought treatment on leaf water potential at midday and at dawn of the potted 'Cabernet-Franc' grapevine during lag phase of grape berries

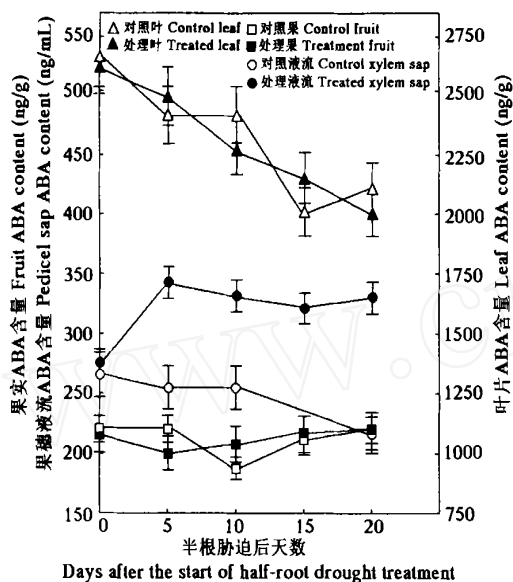


图5 果实缓慢生长期半根胁迫对盆栽品丽珠葡萄器官和组织中ABA含量的影响(果实指整个果粒)

Fig. 5 Effects of half-root drought treatment on ABA contents of the potted 'Cabernet-Franc' grapevine during lag phase of grape berries

ABA in fruit = ABA in whole berry including skin, flesh and seed

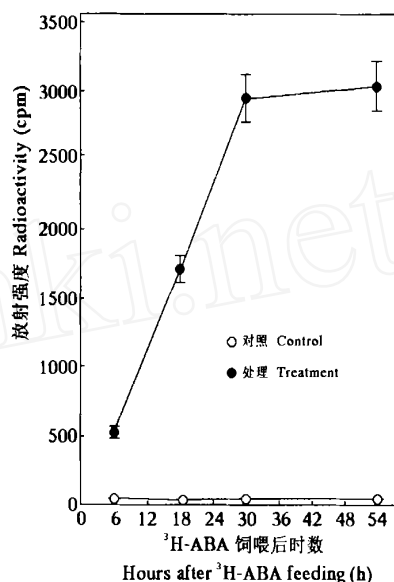


图6 葡萄果实始熟期叶片饲喂 ^3H -ABA后不同时间单粒果实放射活性的变化

Fig. 6 Changes in the radioactivity of grape berry at different times after ^3H -ABA feeding of leaves at veraison

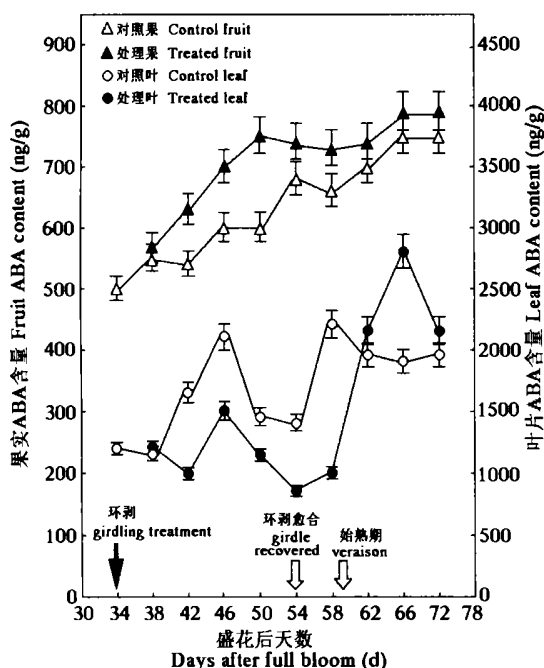


图7 环剥处理对发育过程中葡萄器官和组织ABA含量的影响

Fig. 7 Effects of girdling on ABA contents in fruit and leaf of 'Cabernet-Franc' grapevines

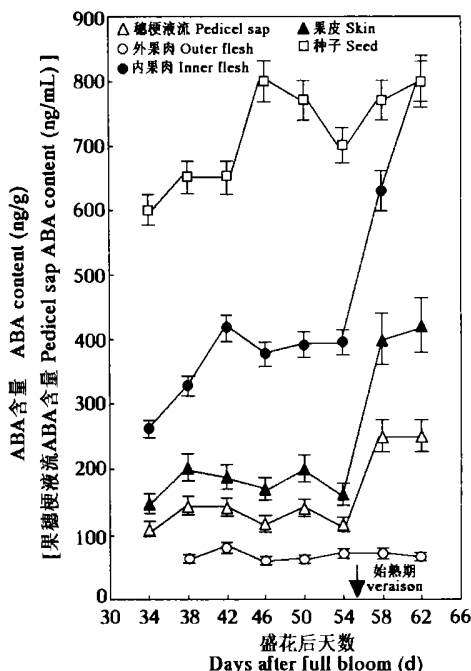


图8 生长发育期果实不同部位及穗梗木质部液流中ABA含量的变化

Fig. 8 Changes in the ABA concentrations in different parts of grape berries and pedicel xylem sap during the developmental period

2.2 叶片 ABA 向果实的输入

试验表明, 在葡萄果实始熟期向叶片饲喂的³HABA 可以很快(6 h 之内)直接运送到果实中, 并在果实中积累(图 6)。环剥导致了果实中 ABA 含量的显著降低, 以及与果实有直接维管束联系的叶片中的 ABA 含量的上升(图 7)。环剥圈愈合后, 果实中的 ABA 迅速上升以至于超过对照, 而叶片中的 ABA 则下降至对照的水平(图 7)。

2.3 果实各部位 ABA 含量的差异

图 8 表明, 种子中 ABA 含量最高, 其次是果皮和内果肉, 外果肉中最低。特别是外果肉与内果肉的 ABA 含量在果实发育不同阶段均有较大差异, 果皮 ABA 含量远高于果肉(图 2、图 3、图 8)。

3 讨论

3.1 果实具有独立合成和降解 ABA 的能力, 根部 ABA 上运对果实中 ABA 含量贡献不大

干旱胁迫下, 在穗梗木质部汁液中 ABA 含量升高时, 果皮和种子中的 ABA 含量均同步升高, 只有果肉中 ABA 升高较迟(图 2)。这些结果初步表明, 干旱胁迫下果实中的部分 ABA 来源于根系, 但是初步说明穗梗木质部上运液流中的 ABA 对果皮和种子中的 ABA 含量影响不大。进一步的试验表明, 自然失水可以显著诱导葡萄果皮、果肉和种子中 ABA 的生物合成(图 3), 说明干旱胁迫下葡萄果实各组织均有自主合成 ABA 的能力。

半根胁迫试验可以在果实和叶片中没有干旱诱导 ABA 合成的情况下, 探索干旱诱导根部合成的 ABA 上运对果实中 ABA 含量的影响。在本试验中, 半根胁迫没有对中午和黎明前叶片水势产生显著影响, 也没有对叶片 ABA 含量产生显著影响, 这是因为虽然部分根系受到水分胁迫而具备了诱导合成 ABA 的条件, 但另外一半充分灌水的根系完全能够满足整个植株的水分需求, 所以不会对叶片施加水分胁迫而诱导叶片 ABA 浓度的上升^[10]。半根胁迫虽然使穗梗木质部上运液流中的 ABA 含量显著升高, 但果实中 ABA 含量却没有发生显著变化(图 5), 说明果实可以自主代谢消除通过穗梗木质部上运液流输入的 ABA, 从而维持本身 ABA 含量的稳定。

已有研究证明, 缓慢生长期和始熟期葡萄果实与根之间的水分交换十分活跃^[11]。穗梗木质部上运液流中的 ABA 可以随水分转运到果实中, 但由于葡萄果实不但可以自主合成 ABA, 而且可以降解代谢 ABA, 所以根部合成的 ABA 的上运并不能显著影响果实中 ABA 含量的变化。事实上, 从 ABA 代谢的特点来看, 正常情况下代表根部上运的穗梗木质部液流中的 ABA 含量是很低的, 而且在生长发育过程中变化不大(图 8); 根部 ABA 的大量合成是植物适应逆境的一种反应, 尤其是在水分胁迫时有大量的 ABA 合成^[10], 所以这种在某种程度上依赖于偶发因素合成的 ABA 调控果实发育成熟这样一个高度有序和按部就班的 process 的可能性不大。

3.2 叶片中的 ABA 向果实的输入可能是果实中 ABA 的重要来源

叶片饲喂的³HABA 可以很快运送到果实并在果实中积累(图 6)。环剥试验证明, 切断果实与叶片的韧皮部联系, 导致了果实中 ABA 含量显著降低, 以及与果实有直接维管束联系的叶片中的 ABA 含量的上升(图 7); 果实与叶片的维管束联系重新接通后, 果实中的 ABA 迅速上升, 而叶片中的 ABA 则下降(图 7), ABA 由叶片向果实运输的通道是畅

通有效的。通过韧皮部运送叶源 ABA 可能是果实中 ABA 的重要来源。成熟叶片中高含量的 ABA (是果实中 ABA 含量的 2~10 倍, 见图 2、图 5、图 7) 可能是 ABA 从叶片传输到果实的基础。

应该注意到, 环剥试验为果实具有独立代谢 ABA 的能力提供了进一步的佐证: 环剥处理虽然降低了果实中 ABA 的积累, 但 ABA 含量与对照的变化趋势和时间进程基本同步 (图 7), 并没有改变果实内 ABA 含量变化的典型曲线^[6,12]。从果实发育的角度看, 这种自主调节是至关重要的: 面对叶片 ABA 源源不断的输入, 以及环境 (如干旱) 或其它物理和化学因素诱导的 ABA 的运入, 只有通过这种主动的代谢调节才能避免 ABA 含量过高, 尽量避免生长发育过程中的异常干扰。

3.3 种子合成的 ABA 并非是果皮和果肉中 ABA 的重要来源

由于葡萄种子中的 ABA 含量明显高于果皮和果肉中, Cawthon, Mullins 等^[13,14]认为, 果实中的 ABA 主要由种子合成, 然后运到果皮和果肉。然而本试验结果 (图 8) 似乎并不能支持这种推论, 本试验取样 (图 1) 的外果肉和内果肉均紧靠种子, 而它们之间的 ABA 含量在果实发育各个阶段均相差甚远; 果皮与种子之间存在果肉的隔离, 而 ABA 含量却远高于果肉 (图 2、图 3、图 8)。所以, 种子中合成的 ABA 随浓度梯度的外运, 尤其是在果实发育后期种皮硬化形成穿越屏障^[12]后, 似乎对于果实发育并不重要。Inaba 等^[12]发现, 无籽果实 ABA 合成与有籽果实可以类比, 从而得出的推论与本试验是一致的。

参考文献:

- 1 Coombe B G. The development of the fleshy fruits. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1976, 27: 507~528
- 2 Coombe B G. The grape berry as a sink. *Acta Hort.*, 1989, 239: 149~158
- 3 Coombe B G. Research on development and ripening of the grape berry. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1992, 43: 101~110
- 4 Palejwala V A, Parikh H R, Modi V V. The role of abscisic acid in the ripening of grapes. *Physiol. Plant.*, 1985, 65: 498~502
- 5 张大鹏, 许雪峰, 张子连, 等. 葡萄果实始熟机理的研究. *园艺学报*, 1997, 24 (1): 1~7
- 6 During H, Lang A, Oggionni G. Patterns of water flow in riesling berries in relation to developmental changes in their xylem morphology. *Vitis*, 1987, 26: 123~131
- 7 Loveys B R. Absciscic acid transport and metabolism in grapevine (*V. vinifera* L.). *New Physiol.*, 1984, 98: 575~582
- 8 黄丛林, 吴忠义, 贾文锁, 等. 葡萄果实脱落酸含量的放射免疫测定. *园艺学报*, 1999, 26 (3): 152~156
- 9 Quarrie S A, Whitford P N, Appleford N E J, et al. A monoclonal antibody to (S)-abscisic acid: its characterization and use in a radioimmunoassay for measuring abscisic acid in crude extracts of cereal and lupin leaves. *Planta*, 1988, 173: 330~339
- 10 Davies W J, Zhang J. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.*, 1991, 42: 55~76
- 11 张大鹏, 罗国光. 成熟期葡萄果实的水分出入运动. *植物学报*, 1993, 35 (1): 1~11
- 12 Inaba A, Ishida M, sobajima Y. Changes in endogenous hormone concentrations during berry development in relation to the ripening of Delaware grapes. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, 1976, 3: 245~252
- 13 Cawthon D L, Morris J R. Relationship of seed number and maturity to berry development, fruit maturation, hormonal changes, and uneven ripening of concord (*V. labrusca* L.) grapes. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 1982, 107: 1097~1104
- 14 Mullins M G, Bouquet A, Williams L E. *Biology of the Grapevine*. Cambridge: Cambridge University Press, 1992. 121~146

A Study of the Sources of Absciscic Acid in Grape Berry during Its Late Developmental Phases

Huang Conglin, Zhang Dapeng, and Jia Wensuo

(Laboratory of Molecular Developmental Biology of Fruit Trees, Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract: Absciscic acid (ABA) has been considered as a trigger in grape fruit ripening. Potted 'Cabernet-Franc' grapevines (*Vitis vinifera* L.) were used in the experiment to determine the sources of ABA in grape berry. The results showed that ABA synthesized in leaves could be rapidly and efficiently transported into a grape berry, and constituted an important source of ABA in the fruit. Although the ABA synthesized in roots, especially induced by water stress, could be transported into the fruit, it did not contribute much to the ABA content in grape berry. ABA biosynthesized in seeds seemed unlikely to be an important source of ABA in the flesh of grape berry. ABA was efficiently biosynthesized and catabolised independently by a grape berry, which could mediate ABA concentration in the fruit tissues through their ABA metabolic system in favor of the berry development.

Key words: Grape; Berry; Development; Absciscic acid

欢迎订阅 2002 年下列期刊

《中国农学通报》是中国农学会主办的农业综合性学术期刊。双月刊，双月 25 日出版，国内外公开发行，国内统一刊号 CN11-1984/S，大 16 开本，120 页，每期定价 8 元，全年 48 元。邮发代号 2-772。如错过邮局订阅，可与本刊直接联系订阅，订购款汇：北京市朝阳区麦子店街 20 号楼，中国农学会编辑出版部（开户银行：北京农行朝阳支行，帐号：873-25428，户名：中国农学通报编辑部），邮政编码：100026，电话：(010) 64194480，传真：(010) 64194705，E-mail: edit@cav.net.cn。

《上海农业学报》2002 年征订工作即将开始，请新、老订户及时到各自所在地邮局（所）办理订购手续，邮发代号：4-523。漏订者可直接汇款到本刊编辑部购买。每期单价 10 元，全年 4 期共 44 元（含平寄邮资），若需挂号，另加 8 元/年。编辑部地址：上海市北翟路 2901 号，上海市农业科学院内，邮编：201106 联系电话：(021) 62208660-3175。

《果农之友》是中国农业科学院郑州果树研究所主办的果树瓜类科普刊物。双月刊，大 16 开，56 页套色印刷。每期 4 元，全年 24 元。编辑部常年办理订阅手续（直接从邮局汇款到编辑部即可），欢迎集体订阅（50 份以上优惠 10%，100 份以上优惠 20%），如需邮挂每期另加 2 元。编辑部地址：河南省郑州市航海东路南中国农业科学院郑州果树研究所《果农之友》编辑部；邮编：450009；电子信箱：gnzy@371.net；电话：0371-6815740；传真：0371-6815771；银行收款单位：中国农业科学院郑州果树研究所；开户行：郑州市农行管支，帐号：3030801073725。

《农村实用技术与信息》读者对象：农民、科技工作者、农业管理人员、农业学校师生、乡镇企业职工、农村专业户。邮发代号：38-185。全国各地邮局（所）均可订阅。定价 1.60 元，全年 19.20 元。在当地局（所）订阅不便者，也可汇款到杂志社订阅，订户可免费刊登一次 60 字内求购信息。地址：武汉华中农业大学《农村实用技术与信息》杂志社，邮编：430070，电话：027-87287369。