

PP₃₃₃ 对离体苹果苗乙烯代谢影响

马锋旺 李嘉瑞 周燕飞

(西北农业大学园艺系·陕西杨陵)

摘要

本文研究了 PP₃₃₃ 对苹果试管苗乙烯代谢的影响。试验结果表明, PP₃₃₃ 抑制内源乙烯的释放和 ACC 的合成, 而使乙烯形成酶的活性略有增强。PP₃₃₃ 处理可以增加游离蛋氨酸的含量。近年来的研究结果表明, PP₃₃₃ 对多种果树的生长, 发育和果实的贮藏性等方面具有重要的影响, 显示了在果树生产上的利用价值。在离体培养中, Snir (1988) 发现, 培养基中加入 0.2—0.8PPm PP₃₃₃ 可显著地抑制新梢的生长, 减少芽的数量; 马锋旺等 (1988) 也报道了 PP₃₃₃ 对苹果试管苗生根和移栽的效应。

PP₃₃₃ 是一种抑制赤霉素生物合成的植物生长延缓剂。对于 PP₃₃₃ 对其它内源激素的影响目前研究较少。本试验利用苹果离体生根苗研究了 PP₃₃₃ 对内源乙烯代谢的影响。

材料和方法

试材为离体培养的长富—2 苹果苗。在生根培养基中(半量 MS 培养基附加 IBA 0.5PPm, 蔗糖 1%, 琼脂 0.5%, PH 5.8) 加入 0.5PPm PP₃₃₃, 以不加为对照。将能够生根的无根新梢切割后接于培养基中, 在温度为 25℃, 光照强度 2000Lux, 每天光照 16 小时的培养室中培养 6 周后以生根苗为材料按下列方法测定乙烯释放量, 乙烯形成酶 (EFE) 活性、1—氨基环丙烷—1—羧酸 (ACC) 和蛋氨酸含量。

乙烯释放量的测定: 将生根苗切去根部, 放入试管中, 用血清瓶塞封闭后于 25℃ 下放置 8 小时后用注射器抽取内部气体, 于 Shimadzu GC—9A 气相色谱仪上测定。这样量为 1ml。分析条件为: 固定相 GDX—502, 柱温 90℃, 气化室温度 130℃, 载气 N₂, 流速 500ml/分, 氢气压力 0.5kg/cm², 空气压力 0.5kg/cm², 用氢焰离子化检测器检测。测完后用重量法标定试管空间。乙烯释放量以 nl (毫微升) /g · FW · hr. 表示。

乙烯形成酶 (EFE) 的活性: 用打孔器将叶片打成圆片, 取 1g 于试管中, 每处理重复三次, 加 6ml 1mM ACC 溶液(内含 5% 甘露醇), 用血清瓶塞密封后置于 26℃ 恒温水浴下保温 4 小时后, 取气样 1ml, 用气相色谱仪测定乙烯, 以叶片转变外源 ACC 为乙烯的能力表示

EFE活性大小。

ACC 含量: 称取 1g 叶圆片放入研钵中, 每处理重复三次, 加入 10ml 95% 乙醇研磨成匀浆, 置离心管内于 10000g 下离心 15 分钟, 倒出上清液于培养皿中, 40℃ 下于真空干燥器中减压蒸干。用 1ml 氯仿溶解色素, 然后加 5ml 蒸馏水, 振荡 1 分钟后在 4000 转/分离心 10 分钟, 弃去氯仿层, 其水相即为 ACC 制备液。吸取 0.5ml 于试管中, 在 Hg^{2+} 存在下与 $\text{NaOCl}-\text{NaOH}$ 混合液 (体积比 2:1) 反应生成乙烯。取 1ml 气样在气相色谱仪上测定乙烯。

蛋氨酸的含量: 称 0.5g, 样片研磨后用 80% 乙醇提取, 在 70℃ 恒温水浴蒸干后, 用 6ml 柠檬酸缓冲液和 4ml 5% 磺基水杨酸稀释, 4000 转/分离心 15 分钟, 取上清液在 121MB 型氨基酸分析仪上测定。

结 果 和 讨 论

试验结果表明, PP_{333} 可以降低乙烯的释放量和 ACC 含量。经过 PP_{333} 处理后, 乙烯释放量仅为对照的 18.0%, ACC 含量为对照的 45.5%。 PP_{333} 处理的苹果离体苗其乙烯形成酶的活性略高于对照, 为对照的 106.7%。通过氨基酸分析表明, PP_{333} 处理后其游离蛋氨酸的含量较高, 而对照的蛋氨酸含量甚微, 在氨基酸分析仪上几乎检测不出来。

表 PP_{333} 对离体苹果苗乙烯代谢的影响

	乙 烯 (nl/g·FW·hr)	ACC (nmol/g·FW)	EFE (nmol/g·FW·hr)	蛋 氨 酸 (mg/100g·FW)
处 理	0.913 (18.0)	0.555 (45.5)	0.653 (106.7)	1.88
对 照	5.06 (100)	1.22 (100)	0.612 (100)	微

注: 括号内数字是处理占对照的百分数。

Luo 等 (1987) 和 Elfving 等 (1987) 研究表明, 在采前喷布 PP_{333} 可以使苹果果实在采收时或贮藏后乙烯生成量减少, 增加果实的耐贮性。但 Wang 和 Steffens (1987) 发现, PP_{333} 喷布后对果实乙烯生成量, ACC 含量影响不大。Wang 和 Steffens (1987) 还报道, 用 PP_{333} 处理苹果实生苗后, 可以减少由于水分胁迫而导致的 ACC 和乙烯的累积。由本试验可以看出, PP_{333} 抑制内源乙烯的产生并不是由于 ACC 向乙烯的转化受到抑制, 而是由于 PP_{333} 减少了 ACC 合成的缘故。而 ACC 含量的减少并不是由于前体物质蛋氨酸的合成受阻, 而是由于蛋氨酸向 S-腺苷蛋氨酸 (SAM) 或 SAM 向 ACC 转化受阻的结果。

本试验在离体条件下首次研究了 PP_{333} 对苹果内源乙烯代谢的影响, 并为研究内源激素代谢和其它代谢过程提供了一条新的研究方法和辅助手段。(收稿时间 1988年10月12日)

