

脱落酸和 2,4-表油菜素内酯对葡萄成熟过程中果实内源激素含量的影响

马立娜, 惠竹梅, 高翔, 霍珊珊, 栾丽英

(西北农林科技大学 葡萄酒学院 葡萄生理实验室, 陕西 杨凌 712100)

摘要:以酿酒葡萄“赤霞珠”和“烟 73”为试材,研究了脱落酸(ABA)、2,4-表油菜素内酯(EBR)和 BR 生物合成抑制剂油菜素唑(Brz)处理对葡萄果实乙烯生成量、内源生长素(IAA)和赤霉素(GA_3)含量的影响。结果表明:外源 ABA 和 EBR 处理促进了果实乙烯的释放,同时促进了果实着色,ABA 和 EBR 处理后果实内源 IAA 和 GA_3 含量略低于对照,但总体无显著差异。在不同浓度 EBR 处理中,以 0.4 mg/L EBR 处理效果最显著。Brz 处理抑制了乙烯的释放,推迟了果实着色,但对果实内源 IAA 和 GA_3 含量没有显著影响。

关键词:葡萄;脱落酸(ABA);2,4-表油菜素内酯(EBR);生长素(IAA);赤霉素(GA_3)

中图分类号:S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)17-0016-04

葡萄果实成熟是一系列复杂而有序的过程,一些与成熟相关的特征开始形成,果实逐渐达到品种固有的大小和色泽^[1-3],果品的成熟度和成熟时间,直接影响果实色泽和市场竞争能力^[4-6],而酿酒葡萄的品质更会影响到葡萄酒的质量和风格^[7]。影响葡萄成熟的因素有生长环境和栽培管理措施,包括:光照、紫外辐射、温度、湿度、病原菌侵染、营养状况和植物激素等^[7]。植物激素参与葡萄果实成熟过程的调控^[2-4],外源植物激素调控技术是生产中常用的提高葡萄果实品质的方法之一^[4],植物生长调节物质在葡萄上应用广泛,合理应用这些化合物,在葡萄果实品质提高、产量增加、防止脱落等方面,都发挥着重要的作用^[3,4,6-9]。目前研究表明促进葡萄成熟的植物激素有乙烯(Ethylene, ETH)^[3,10]、脱落酸(Absciscic acid, ABA)^[7,8,11]、油菜素内酯(Brassinosteroids, BRs)^[6,9]和赤霉素(Gibberellins, GAs)^[4],而抑制葡萄成熟的植物激素有生长素(Auxins)、细胞分裂素(Cytokinins)和水杨酸(Salicylic acid)^[4]。关于外源植物激素处理对葡萄

品质及花色苷合成的影响国内外已有较多报道,但外源植物激素处理后,果实内源激素含量变化还不清楚。现以欧亚种(*Vitis vinifera* L.)酿酒葡萄“赤霞珠”和“烟 73”为试材,研究外源脱落酸(ABA)和 2,4-表油菜素内酯(EBR)处理对葡萄成熟过程中果实乙烯释放量、生长素(IAA)和赤霉素(GA_3)含量的影响,以期外源植物激素调控葡萄果实成熟和花色苷的合成提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种为酿酒葡萄“赤霞珠”(‘Cabernet Sauvignon’)和“烟 73”(‘Muscat Hamburg × Alicante Bouschet’),2006 年 3 月定植,株行距 0.8 m×2.5 m,南北行向,单干双臂整形,常规管理。

1.2 试验方法

试验于 2011 年 5~9 月在陕西省咸阳市白王镇齐家寨酿酒葡萄基地进行,2011 年 5 月 15 日(葡萄盛花期),从长势基本一致的植株中选择生长期一致的果穗挂牌。于 7 月 2 日进行植物激素处理。油菜素内酯为 2,4-表油菜素内酯(2,4-Epibrassinolide, EBR),BR 生物合成抑制剂为油菜素唑(Brassinazole, Brz)。试验共设 6 个处理:(1)200 mg/L ABA;(2)0.1 mg/L EBR(BR1);(3)0.4 mg/L EBR(BR2);(4)0.8 mg/L EBR(BR3);(5)1 mg/L Brz;(6)清水对照(CK)。植物激素用 98%的乙醇溶解后稀释到适宜浓度,乙醇最终含量为 0.1%(V/V),用吐温-80 作为展开剂,最终含量为 0.1%(V/V)。激素溶

第一作者简介:马立娜(1985-),女,河北邯郸人,在读硕士,现主要从事酿酒葡萄生理学研究。E-mail:linama222@163.com.

责任作者:惠竹梅(1969-),女,陕西耀县人,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事葡萄与葡萄酒研究工作。E-mail:xizhumei@nwsuaf.edu.cn.

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-30);陕西省自然科学基金资助项目(2011JM3004);西北农林科技大学基本科研业务费专项资金资助项目(QN2009059)。

收稿日期:2012-05-07

液在果穗上均匀喷施,试验设 3 次重复,每重复 10 株葡萄,每株在树冠不同的方向选择 20 穗果实进行处理。

1.2.1 样品采集与处理 于 2011 年 7 月 2 日处理前采集各处理区样品,混合采样,3 次重复。以后约 7 d 采样 1 次,直至果实采收,“赤霞珠”葡萄转色期为 7 月 15 日(对照),采收期为 8 月 31 日;“烟 73”转色期为 7 月 5 日(对照),采收期为 8 月 16 日。样品采集时间为早晨 8:00~10:00。各处理小区分别采样,每个处理小区随机采 5 穗葡萄,选取不同着生方向和部位的果穗,采后立即放入冰盒,带回实验室后,用解剖剪从果穗上剪下果粒并混匀,样品放入 -80℃ 冰箱待用。

1.2.2 果实乙烯释放速率测定 乙烯释放速率测定参照 Chervin 等^[12]的方法,采用美国热电公司 Trace GC Ultra 气相色谱仪测定乙烯含量。检测器:FID(氢火焰离子检测器);色谱柱:2M 不锈钢填充柱(乙烯专用商品柱);柱温:70℃;进样口温度 70℃;检测其温度:150℃;载气: N_2 ; N_2 流速:40 kPa; H_2 流速:35 mL/min;空气流速:350 mL/min;进样量:1 mL,3 次重复。外标法,CF=0.9998。

1.2.3 果实 IAA 和 GA_3 含量测定 IAA 和 GA_3 提取与含量测定参照陈昆松等^[13]的方法,色谱条件色谱柱:Shimadzu-C18 柱(150 mm×4.6 mm);进样量:10 μ L;流动相:45%甲醇:54.2%水:0.8%乙酸,pH 3.2;紫外检测波长:254 nm;柱温:25℃;流速:1.0 mL/min;外标法定量。IAA 和 GA_3 均为 Sigma 公司产品。

1.3 数据分析

试验数据采用 SAS V8 数据处理软件结合 Excel 进行方差和显著性分析。

2 结果与分析

2.1 ABA 和 EBR 处理对“赤霞珠”和“烟 73”果实着色的影响

由图 1 可知,“烟 73”果实着色早于“赤霞珠”,2 个品种葡萄各处理果实着色变化趋势基本一致。外源 ABA 和不同浓度 EBR 处理均显著促进了“赤霞珠”和“烟 73”葡萄着色,果实着色初期 ABA 处理葡萄着色果实比例显著高于 EBR 处理($P<0.05$),在“赤霞珠”和“烟 73”葡萄进入成熟期后,各处理葡萄着色果实比例逐渐接近。在不同浓度 EBR 处理中,以 BR2(0.4 mg/L EBR)效果最显著,其次为 BR3(0.8 mg/L EBR)。Brz 处理推迟了葡萄着色,在葡萄成熟过程中 Brz 处理葡萄着色果实比例显著低于对照和其它处理。

2.2 ABA 和 EBR 处理对“赤霞珠”和“烟 73”果实乙烯释放速率的影响

由图 2 可知,在“赤霞珠”和“烟 73”葡萄成熟过程

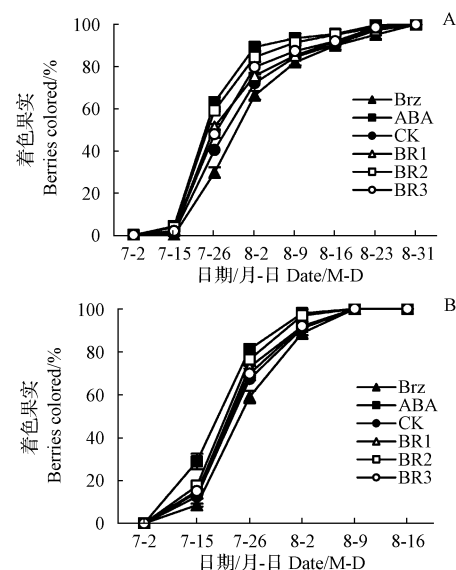


图 1 ABA 和 EBR 处理对“赤霞珠”(A)和“烟 73”(B)果实着色的影响

注:竖线为标准差(n=3)。下同。

Fig. 1 Effects of ABA and EBR on grape berry colouration of 'Cabernet Sauvignon' (A) and 'Yan 73' (B)

Note: Vertical bars represent SD(n=3). The same below.

中,各处理果实乙烯释放速率变化趋势基本一致,在果实着色初期乙烯含量有短暂的增加,当果实花色苷开始快速积累时,其含量急剧降低,随着葡萄进入成熟期,乙烯释放量逐渐下降到很低的水平。外源 ABA 和不同浓度 EBR 处理提高了乙烯的释放量,提高幅度由高到低依次为 ABA>BR2>BR3>BR1,且各处理间差异显著($P<0.05$)。数据统计分析结果表明,在处理初期,ABA

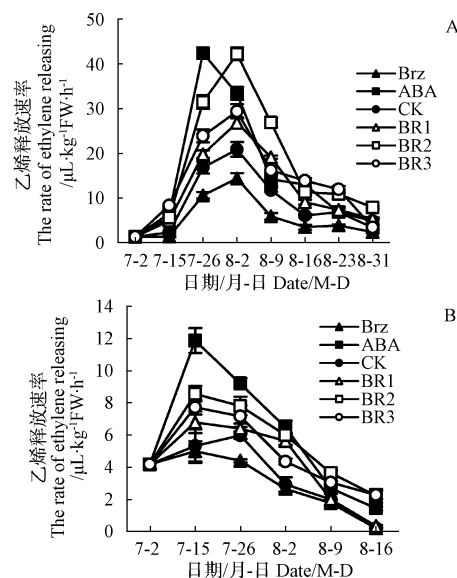


图 2 ABA 和 EBR 处理对“赤霞珠”(A)和“烟 73”(B)果实乙烯释放速率的影响

Fig. 2 Effects of ABA and EBR on ethylene production of grape berries of 'Cabernet Sauvignon' (A) and 'Yan 73' (B)

处理果实乙烯释放量显著高于 BR2 处理,但果实进入成熟期后,2 个处理葡萄乙烯释放量逐渐接近,至果实采收时 BR2 处理果实乙烯释放量显著高于 ABA 处理;BR3 处理显著促进了葡萄果实乙烯的释放,而 BR1 处理在处理初期显著促进了 2 个品种果实乙烯的释放,但果实成熟后期与对照无显著差异。Brz 处理后“赤霞珠”葡萄乙烯释放量显著低于对照,但“烟 73”乙烯释放与对照无显著差异。

2.3 ABA 和 EBR 处理对“赤霞珠”和“烟 73”果实 IAA 含量的影响

由图 3 可知,在“赤霞珠”和“烟 73”葡萄成熟过程中,果实 IAA 含量变化较小,各处理葡萄 IAA 含量变化趋势相同,果实着色前 IAA 含量呈降低趋势,果实进入成熟期后其含量略有增加,果实成熟后期 IAA 含量开始降低。外源 ABA 和不同浓度 EBR 处理总体降低了葡萄果实 IAA 含量,Brz 处理使果实 IAA 含量增加,但数据统计分析结果表明,除处理后第 2 周(7 月 15 日)ABA 和 BR2 处理葡萄 IAA 含量显著低于对照,Brz 处理显著高于对照外,其它时期各处理均与对照之间无显著差异($P < 0.05$)。

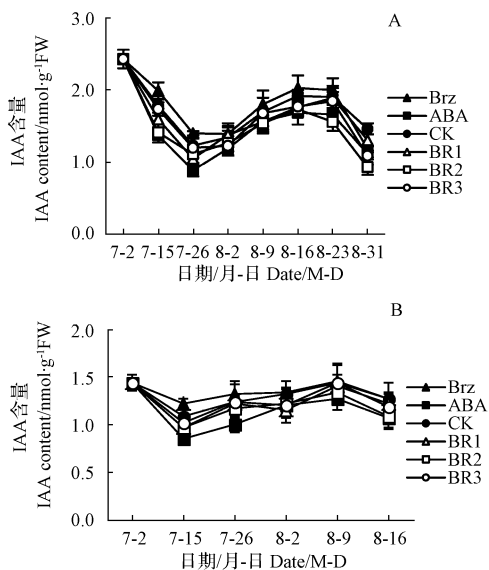


图 3 ABA 和 EBR 处理对“赤霞珠”(A)和“烟 73”(B)果实 IAA 含量的影响

Fig. 3 Effects of ABA and EBR on IAA content of grape berries of 'Cabernet Sauvignon' (A) and 'Yan 73' (B)

2.4 ABA 和 EBR 处理对“赤霞珠”和“烟 73”果实 GA₃ 含量的影响

由图 4 可知,在“赤霞珠”和“烟 73”葡萄进入成熟期前,果实 GA₃ 含量逐渐降低,果实进入成熟期后,GA₃ 含量基本稳定,各处理 GA₃ 含量变化趋势基本一致。外源 ABA 处理后,果实 GA₃ 含量低于对照,处理后 2~3 周差异达显著水平。但数据统计分析结果表明,不同浓度 EBR 和 Brz 处理使葡萄果实 GA₃ 含量与对照之间无显

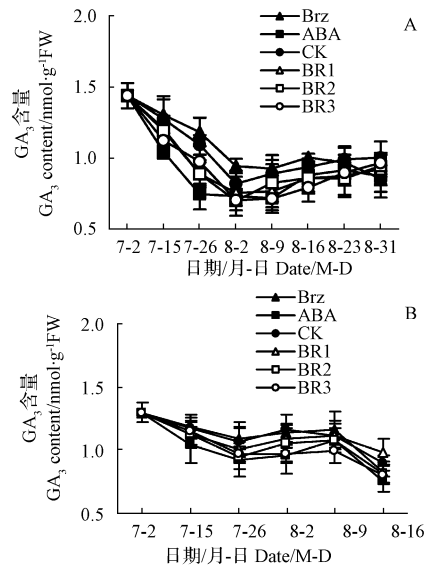


图 4 ABA 和 EBR 处理对“赤霞珠”(A)和“烟 73”(B)果实 GA₃ 含量的影响

Fig. 4 Effects of ABA and EBR on GA₃ content of grape berries of 'Cabernet Sauvignon' (A) and 'Yan 73' (B) 著差异。

3 讨论与结论

已有研究普遍认为,乙烯在呼吸跃变型果实成熟过程中发挥着关键的调控作用,但乙烯对非呼吸跃变型果实成熟的调控一直存在争议^[4],近年来有研究指出,非呼吸跃变型果实成熟过程中某些分子调控机制与跃变型果实非常相似,非跃变型果实诸多成熟相关过程也直接受乙烯调控^[5,14]。早期有研究者指出,外源乙烯处理能够调控葡萄果实成熟^[3],在“赤霞珠”葡萄着色前乙烯含量有短暂上升,但葡萄进入成熟期后其含量迅速降低^[12]。在该研究条件下,“赤霞珠”和“烟 73”葡萄着色初期,乙烯含量迅速增加,当果实花色苷开始大量合成时乙烯含量开始快速降低,这与前人研究结果相似。外源 ABA 和 EBR 处理促进了果实内源乙烯的释放,同时促进了果实着色;而 Brz 处理后果实乙烯释放量低于对照,同时果实着色也被推迟,说明乙烯参与葡萄花色苷合成的调控。Chervin 等^[12]认为在果实着色初期较高的乙烯含量以及对乙烯信号的感应,对果实膨大,含酸量降低和花色苷积累十分重要,但早期的研究显示乙烯在葡萄成熟过程中并没有起到关键的调控作用^[3],乙烯可能在葡萄成熟的启动过程中发挥了重要的调控作用,但葡萄果实进入成熟期后,乙烯的调控作用及对乙烯信号的感应仍需进一步研究。

研究表明,葡萄果实 IAA 和 GA₃ 在花期和幼果期含量较高,而后开始降低,当果实进入着色期时,IAA 和 GA₃ 含量已经很低^[4,15]。Symons 等^[6]认为在“赤霞珠”葡萄发育成熟过程中,果实内源生长素(IAA)和赤霉素(GA₃)含量没有明显的变化。在该研究条件下,“赤霞

珠”和“烟 73”葡萄着色前,果实 IAA 和 GA_3 含量呈下降趋势,当果实进入着色期后至果实采收,IAA 含量略有上升,而 GA_3 含量基本没有变化。葡萄果实成熟期 IAA 含量增加可能与此时果实体积再次增大有关。已有研究表明,外源生长素^[2-3,8]和赤霉素^[16]处理能够调控葡萄成熟。在该研究条件下,外源 ABA 和 EBR 处理总体降低了果实 IAA 含量,但对果实 GA_3 含量没有显著影响。根据葡萄果实内源生长素和赤霉素含量变化及其对葡萄成熟的调控作用推测,生长素和赤霉素可能主要参与葡萄果实早期生长发育的调控^[17],而果实成熟过程主要受乙烯、脱落酸和油菜素内酯的调控。在葡萄果实成熟过程中,植物激素的作用十分复杂,参与成熟过程调控的植物激素并不是单独发挥作用的,激素之间相互影响交织成一个复杂的网络^[18],植物激素对果实成熟的调控,尤其是果实成熟过程中各种激素间的相互作用,值得深入研究。

参考文献

- [1] 李华,王华,袁春龙,等.葡萄酒工艺学[M].北京:科学出版社,2007:41-43.
- [2] Davies C,Boss P K,Robinson S P. Treatment of grape berries,a nonclimacteric fruit with a synthetic auxin,retards ripening and alters the expression of developmentally regulated genes[J]. Plant Physiology,1997,115(3):1155-1161.
- [3] Coombe B G,Hale C R. The hormone content of ripening grape berries and the effects of growth substance treatments[J]. Plant Physiol,1973,51(4):629-634.
- [4] Davies C,Böttcher C. Hormonal control of grape berry ripening[M]. Dordrecht Heidelberg London New York:Springer,2009:229-261.
- [5] 蒋天梅,殷学仁,王平,等.乙烯调控非跃变型果实成熟衰老老研究进展[J].园艺学报,2011,38(2):371-378.
- [6] Symons G M,Davies C,Shavrukov Y,et al. Grapes on steroids. Brassinosteroids are involved in grape berry ripening[J]. Plant Physiology,2006,140(1):150-158.
- [7] Jeong S T,Goto-Yamamoto N,Kobayashi S,et al. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins[J]. Plant Science,2004,167(2):247-252.
- [8] 霍珊珊,惠竹梅,马立娜,等.植物生长调节剂对赤霞珠葡萄果实品质的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,40(1):183-189.
- [9] 马焕普,陈静,刘志民,等.天然芸苔素和茉莉酸酯对葡萄果实品质及成熟期的影响[J].北方果树,2004(4):8-9.
- [10] El-Kereamy A,Chervin C,Roustan J P,et al. Exogenous ethylene stimulates the long-term expression of genes related to anthocyanin biosynthesis in grape berries[J]. Physiologia Plantarum,2003,119(2):175-182.
- [11] Gagne S,Cluzet S,Merillon J M,et al. ABA Initiates Anthocyanin Production in Grape Cell Cultures[J]. Journal of Plant Growth Regulation,2011,30(1):1-10.
- [12] Chervin C,El-Kereamy A,Roustan J P,et al. Ethylene seems required for the berry development and ripening in grape,a non-climacteric fruit[J]. Plant Science,2004,167(6):1301-1305.
- [13] 陈昆松,徐昌杰,李方,等. HPLC 法检测果实组织中内源 IAA、ABA 方法的改进[J].果树学报,2003,20(1):4-7.
- [14] Giovannoni J. Molecular biology of fruit maturation and ripening[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,2001,52:725-749.
- [15] Zhang X R,Luo G G,Wang R H,et al. Growth and developmental responses of seeded and seedless grape berries to shoot girdling[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science,2003,128(3):316-323.
- [16] Tesztrak P,Gaal K,Shahin M,et al. Influence of grapevine flower treatment with gibberellic acid (GA_3) on polyphenol content of *Vitis vinifera* L. wine[J]. Analytica Chimica Acta,2005,543(1-2):275-281.
- [17] 夏国海,张大鹏,贾文锁. IAA、 GA_3 和 ABA 对葡萄果实¹⁴C 蔗糖输入与代谢的调控[J].园艺学报,2000,27(1):6-10.
- [18] Ross J J,Weston D E,Davidson S E,et al. Plant hormone interactions: how complex are they[J]. Physiologia Plantarum,2011,141(4):299-309.

Effects of Absciscic Acid and 2,4-Epibrassinolide on the Endogenous Content of Plant Hormone of Berries in the Process of Grape Ripening

MA Li-na,XI Zhu-mei,GAO Xiang,HUO Shan-shan,LUAN Li-ying

(College of Enology,Northwest Agriculture and Forestry University,Yangling,Shaanxi 712100)

Abstract: Using wine grape ‘Cabernet Sauvignon’ and ‘Yan 73’ as test materials,after applied absciscic acid (ABA),2,4-epibrassinolide (EBR) and brassinazole (Brz,BR synthesis inhibitor) to the grape berries,the effects of the treatment on the production of ethylene and the content of endogenous IAA and GA_3 of grape berries were analyzed. The results showed that the evolution of ethylene and the biosynthesis of anthocyanin of grape berries treated with ABA and EBR was promoted. The content of IAA and GA_3 of berries treated with ABA and EBR were lower than that of control,but the difference was not significantly. Among varied concentration of EBR treatment,0.4 mg/L had more significant effects than others. After applied Brz to the grape berries,the ethylene production of berries were inhibited,and the berries coloration were also delayed,but the content of IAA and GA_3 of grape berries was not significantly different with that of the control.

Key words: grape;absciscic acid;2,4-Epibrassinolide;auxins;gibberellins