

砧木对梨叶芽休眠的影响及其与多胺代谢的关系

李璇, 孙权, 赵辉, 陆新敏, 冯轶, 韦军*

扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州225009

摘要: 以分别嫁接在杜梨和豆梨上的砂梨品种‘丰水’为试材, 研究了2008和2009年11~12月气温变化和不同砧木对‘丰水’梨叶芽休眠进程的影响, 分析叶芽中游离态和束缚态内源多胺种类和含量的变化, 结果表明: 嫁接在豆梨上的‘丰水’叶芽自然休眠结束的时间要比嫁接在杜梨上的‘丰水’叶芽早10 d左右, 且游离态和束缚态腐胺(Put)、戊二胺(Cad)、己二胺(Hex)、亚精胺(Spd)和精胺(Spm) 5种内源多胺含量开始升高的时间与供试材料叶芽自然休眠结束的时间一致, 表明梨叶芽的休眠进程与砧木种类和多胺代谢有密切关系, 尤其是与束缚态多胺含量变化的关系更为密切。

关键词: 休眠; 梨; 叶芽; 多胺代谢; 砧木

Effects of Rootstocks on the Dormancy of Leaf Buds in Pear Trees (*Pyrus serotina* cv. ‘Housui’) and Its Relation to Polyamine Metabolism

LI Xuan, SUN Quan, ZHAO Hui, LU Xin-Min, FENG Yi, WEI Jun*

College of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China

Abstract: ‘Housui’ pear trees (*Pyrus serotina* cv. ‘Housui’) grafted on *P. betulaefolia* and *P. calleryana* separately were used as experimental materials in this article. The effects of temperature variations at orchard from November to December and different rootstocks on the dormant process of leaf buds were compared, and content changes of free and bound polyamines in leaf buds of ‘Housui’ pear trees were analyzed during the dormant periods in 2009 and 2010. The results showed that the time when the rate of leaf bud germination appeared over 50% in ‘Housui’ pear trees grafted on *P. calleryana* was 10 d earlier than that in ‘Housui’ pear trees grafted on *P. betulaefolia*. Also the time when the contents of five kinds of endogenous polyamines, free and bound putrescine (Put), cadaverine (Cad), hexanediamine (Hex), spermidine (Spd) and spermine (Spm), began to increase was consistent with the period that dormancy ended in the leaf buds of the experimental materials. The research indicates that the dormant process changes of pear buds are influenced by the rootstock varieties and the polyamine metabolism. It seems that the effects of the content changes of bound polyamines in the pear buds on the dormant process are clearer than those of free polyamines.

Key words: dormancy; ‘Housui’ pear (*Pyrus serotina* cv. ‘Housui’); leaf bud; polyamine metabolism; rootstock

近年来, 随着对植物休眠生理研究的不断深入, 发现植物细胞内多胺代谢与果树芽的休眠进程密切相关。Sood和Nagar (2005)发现, 不同休眠时期的晚香玉鳞茎, 其内源多胺含量也不同; Ben Mohamed等(2010)也发现, 葡萄枝条中游离态腐胺(putrescine, Put)、亚精胺(Spd, spermidine)和精胺(spermine, Spm)含量在叶芽自然休眠过程中呈逐渐下降的趋势。由于植物细胞中的内源多胺一般以游离态和束缚态两种形式存在, 而束缚态多胺的含量测定较为复杂, 迄今为止, 国内外关于多胺与植物休眠的关系研究均集中在游离态多胺种类和含量变化方面, 而砧木对接穗品种休眠的影响尚未见报道。本文就砧木对‘丰水’梨叶芽休眠进

程的影响及其与叶芽细胞组织中束缚态和游离态多胺代谢的关系进行了初步探讨。

材料与方法

1 材料

试验在扬州大学教学果园进行, 选择嫁接在豆梨(*Pyrus calleryana* Decne)、杜梨(*Pyrus betulaefolia* Bunge)砧木上的砂梨品种‘丰水’(*Pyrus se-*

收稿 2010-12-22 修定 2011-03-30

资助 国家农业科技华东创新中心开放课题(2009006)和江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(09)611]。

* 通讯作者(E-mail: weijun@yzu.edu.cn; Tel: 0514-87991566)。

rotina cv. 'Housui')各3株,株行距4 m×5 m,七年生。采样时间2008年和2009年11月20日至下一年度2月10日。

2 方法

2.1 萌芽率测定

每隔10 d从供试树上采集一年生枝条,去除枝条先端部分腋化芽,剪成30~40个单芽枝,顶端剪口用塑料薄膜绑扎,减少水分散失,再将枝条迅速移入人工气候室(温度23 °C,湿度80%)催芽,萌芽以叶芽顶端露绿为准,培养30 d内,萌芽率超过50%,即可记作供试材料通过自然休眠(王力荣等2003)。

2.2 温度测定

实验期间,利用田间温度自动记录仪(HOBO)记录每天天气温变化,统计日最低温小于0 °C、日最高温大于7.2 °C和日平均温0~7.2 °C出现的天数。

2.3 游离态多胺含量测定

每隔10 d从供试树一年生枝条中部采集饱满芽24个,去鳞片称重,分为3次重复,参照韦军(1993)的方法,测定叶芽内游离态多胺含量,测定仪器为岛津公司RF-10Ax1荧光检测器,LC-10ADvp泵。

2.4 束缚态多胺含量测定

游离态多胺抽提后得到的沉淀用5 mL 12 mol·L⁻¹ HCl溶解,在100 °C下水解18 h,将束缚态多胺转变为游离态多胺,加入蒸馏水调pH为中性后,采用游离态多胺的测定方法。

实验结果

1 供试材料累积萌芽率的Probit分析

为降低试验误差对试验结果分析的干扰,对试验数据采用Probit方程(正态累积函数)进行统计分析(莫惠栋1991)。结果显示,供试材料累积萌芽率的Probit方程均达到极显著水平(表1),‘丰水’叶芽的累积萌芽率呈单S型变化(图1)。当 $P=5$,供试叶

芽累积萌芽率为50%时,叶芽进入萌芽盛期。两个年度嫁接在豆梨砧木上的‘丰水’[‘丰水’/(豆梨)]叶芽萌芽率超过50%的时间均比嫁接在杜梨上的‘丰水’[‘丰水’/(杜梨)]叶芽早10 d左右(图1、表1),说明不同砧木对接穗品种叶芽的休眠进程有显著影响。另外,2008~2009年度供试芽萌芽率超过50%的时间比2009~2010年度均早20 d左右(图1、表1),其原因可能是:(1)2008年11~12月期间,日最低温低于0 °C的天数比2009年同期少10 d;(2)2008年11~12月期间,日平均温为0~7.2 °C的天数比2009年同期多8 d(表2)。

2 ‘丰水’/(豆梨)和‘丰水’/(杜梨)休眠期叶芽内源多胺种类、形态和含量的变化

图2表明,2008~2009年度12月30日之前,‘丰水’梨叶芽的游离态戊二胺(cadaverine, Cad)、己二胺(hexanediamine, Hex)和Spm含量小于10 nmol·g⁻¹ (FW),色谱峰未出现,此后游离态多胺含量开始迅速升高,Put、Cad、Hex、Spd和Spm的色谱峰均能测出;而2009~2010年度,‘丰水’梨叶芽中游离态多胺含量开始迅速升高的时间比2008~2009年度推迟20 d,为1月20日。两个年度束缚态内源多胺与游离态内源多胺种类和含量的变化趋势相同,只

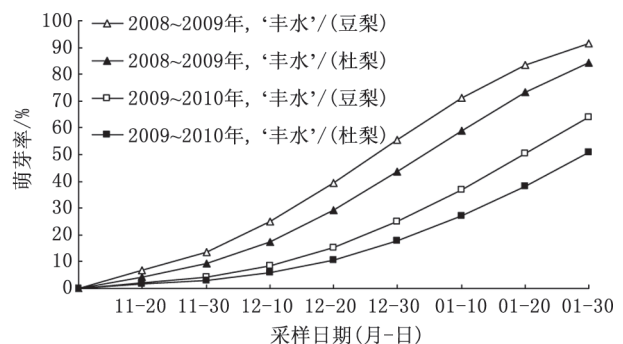


图1 不同砧木‘丰水’梨叶芽累积萌芽率的变化
Fig. 1 Changes of accumulated germination rate in leaf buds of ‘Housui’ pear grafted on different rootstocks

表1 不同砧木‘丰水’梨叶芽累积萌芽率的Probit分析

Table 1 Probit analysis of the accumulated germination rate in leaf buds of ‘Housui’ pear grafted on different rootstocks

年份	砧木	萌芽盛期(月-日)	Probit方程	相关系数
2008~2009	豆梨	12-27	$P=3.080564+0.041271x$	0.9952**
	杜梨	01-05	$P=2.893951+0.038926x$	0.9948**
2009~2010	豆梨	01-20	$P=2.598357+0.034427x$	0.9332**
	杜梨	01-29	$P=2.498619+0.031478x$	0.9695**

数据用Probit分析,**表示显著相关性达到极显著水平。

表2 2008和2009年11~12月不同温度的天数

Table 2 Days of different temperatures from November to December in 2008 and 2009

观测时间	日最低温小于 0 °C 天数/d	日最高温大于 7.2 °C 天数/d	日平均温度为 0~7.2 °C 天数/d
2008年11~12月	10	37	31
2009年11~12月	20	36	23

由于日最低温小于0 °C、日最高温大于7.2 °C和日平均温0~7.2 °C的情况可能出现在同一天,故观察期间3种温度变化天数的总计大于61 d。

是束缚态多胺含量较低。

由图3可见,2008~2009年度1月10日之前,‘丰水’叶芽的游离态Cad、Hex和Spm含量小于10 nmol·g⁻¹ (FW), 色谱峰未能检测;1月10日之后,游离态多胺含量开始迅速升高,Put、Cad、Hex、Spd和Spm的色谱峰均能检测。2009~2010年度‘丰水’叶芽的游离态多胺含量迅速升高的时间为1月30日,推迟了20 d。两个年度束缚态多胺与游离态多胺变化趋势相同,但含量相对较低。

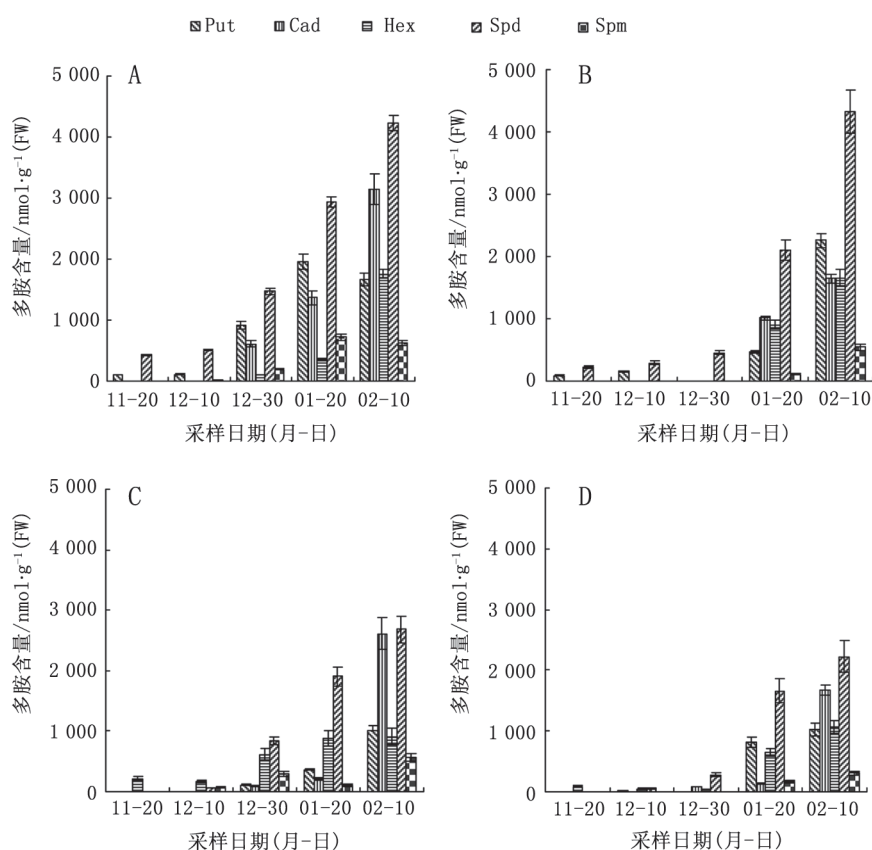


图2 ‘丰水’/(豆梨)梨休眠期叶芽游离态和束缚态多胺形态、种类和含量的变化

Fig.2 Changes in the morphologies, types and contents of free and bound polyamines in leaf buds of ‘Housui’ pear grafted on bean pear during dormancy

A: 游离态,2008~2009年; B: 游离态,2009~2010年; C: 束缚态,2008~2009年; D: 束缚态,2009~2010年。

讨 论

豆梨在江苏扬州地区一般在3月上旬开始萌芽,杜梨则在3月下旬开始萌芽。应用Probit方程对两年的萌芽率变化过程进行分析,发现‘丰水’/(豆梨)叶芽萌芽率达50%的时间要比‘丰水’/(杜梨)早(图1),说明砧木的需冷量与接穗品种‘丰水’叶芽的

休眠进程有密切关系,低需冷量砧木有利于加速接穗品种的休眠进程,而高需冷量砧木延缓了接穗品种的休眠进程。比较两个年度中同一砧木上的‘丰水’叶芽休眠进程的变化发现,2008年‘丰水’叶芽自然休眠解除时间比2009年要早20 d左右。从观察期间温度变化的天数分析,2008年11~12月

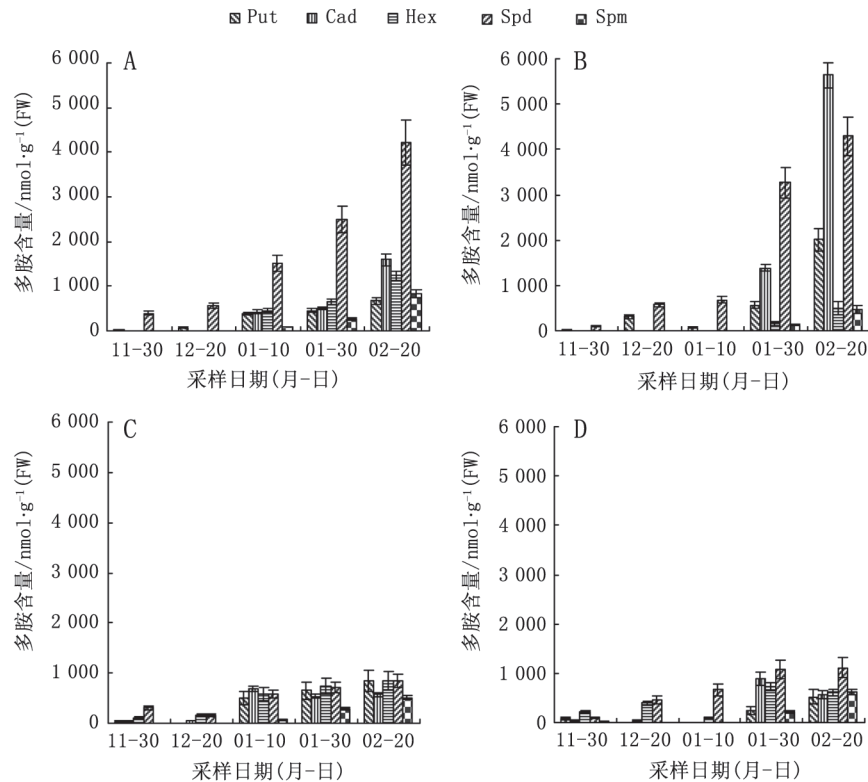


图3 ‘丰水’/(杜梨)梨休眠期叶芽游离态和束缚态多胺形态、种类和含量的变化

Fig.3 Changes in the morphologies, types and contents of free and bound polyamines in leaf buds of ‘Housui’ pear grafted on birch-leaf pear during dormancy

A: 游离态, 2008~2009年; B: 游离态, 2009~2010年; C: 束缚态, 2008~2009年; D: 束缚态, 2009~2010年。

日最低温低于 0°C 的天数比2009年少10 d; 日平均温为 $0\sim 7.2^{\circ}\text{C}$ 的天数比2009年多8 d (表2), 说明日最低温低于 0°C 天数少, 而日平均温 $0\sim 7.2^{\circ}\text{C}$ 的天数多, 有利于供试材料需冷量的满足, 因而我们认为, 虽然植物需冷量的估算模型有小于 7.2°C 、 $0\sim 7.2^{\circ}\text{C}$ 和犹它模型3种, 但不同植物种类或生态地区有其适宜的需冷量估算模型, $0\sim 7.2^{\circ}\text{C}$ 模型对于估算梨属植物需冷量可能更为适宜。王力荣等(2003)认为, $0\sim 7.2^{\circ}\text{C}$ 模型适于估算河南郑州桃品种的需冷量; 杨义伶等(2010)也发现, $0\sim 7.2^{\circ}\text{C}$ 更适于测定猕猴桃品种的需冷量。

连续两年的试验结果表明, 供试材料叶芽中游离态Cad、Hex在自然休眠期(萌芽率超过50%之前)含量极低, 小于 $10\text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 色谱峰未能出现, 而自然休眠解除(萌芽率超过50%)后, 含量迅速升高, 色谱峰均能出现, 这与韦军(1995)对苹果叶芽休眠过程中内源多胺变化分析的结果相似, 表明Cad和Hex对供试材料生长的启动有重要调节

作用。但本实验中, Spm含量在‘丰水’叶芽自然休眠期很低, 有时色谱峰也未能测出, 这可能是由于树种不同或采样时间不同而造成的差异。比较供试叶芽不同形态内源多胺含量的变化, 发现游离态和束缚态多胺含量变化与休眠进程有密切关系, 但嫁接在两种砧木的‘丰水’梨叶芽中游离态多胺含量变化差异较小, 而束缚态多胺含量变化差异较大, 豆梨砧木上的‘丰水’叶芽中束缚态Cad和Spd含量一直是杜梨砧木上‘丰水’叶芽的2~3倍。上述结果一方面说明砧木对接穗品种的多胺代谢有重要影响, 另一方面则暗示游离态多胺含量变化与休眠进程有关。如陈淳等(2010)认为游离态Spd含量变化对开花期建兰叶片的低温胁迫有影响, Ben Mohamed等(2010)也发现游离态多胺含量变化与葡萄叶芽休眠进程有关; 而束缚态多胺含量变化与‘丰水’梨叶芽休眠进程关系可能更为密切, 但迄今为止, 国内外尚未开展植物叶芽休眠过程中束缚态多胺种类和含量变化的研究。

‘丰水’/(豆梨)中Put、Cad、Hex、Spd和Spm色谱峰均能检测的时间要比‘丰水’/(杜梨)早10 d (图2和3), 且供试材料中5种内源多胺含量色谱峰均能检测的时间和萌芽率超过50%的时间一致(图1~3), 表明‘丰水’叶芽的多胺种类和含量变化与休眠进程密切相关。我们认为, Cad和Hex色谱峰未能测出[含量小于 $10 \text{ nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)]时, 意味着此时供试材料叶芽仍处于自然休眠期, 而当5种内源多胺的色谱峰同时出现, 则暗示着‘丰水’叶芽休眠的解除, 但5种内源多胺含量变化是导致休眠进程变化的原因还是结果仍有待研究。

参考文献

陈淳, 陈丽璇, 柯合作, 陈丽虹, 刘黎卿(2010). 低温胁迫对建兰叶片

内源多胺含量的影响. 亚热带植物科学, 39: 1~4

莫惠栋(1991). 农业试验统计. 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 308~355

王力荣, 朱更瑞, 方伟超, 左覃元(2003). 桃品种需冷量评价模式的探讨. 园艺学报, 30: 379~383

韦军(1993). 植物体内微量多胺的分离和测定. 植物生理学通讯, 29: 195~197

韦军(1995). 苹果叶芽和花芽在生长期和休眠期内源多胺的变化. 园艺学报, 22 (1): 99~101

杨义伶, 高洁, 曲雪艳, 辜青青, 刘善军, 徐小彪(2010). 猕猴桃不同品种需冷量的研究. 中国南方果树, 39 (1): 75~76

Ben Mohamed H, Vadela AM, Geunsb JMC, Khemiraa H (2010). Biochemical changes in dormant grapevine shoot tissues in response to chilling: possible role in dormancy release. Sci Hortic, 124: 440~447

Sood S, Nagar PK (2005). Alterations in endogenous polyamines in bulbs of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) during dormancy. Sci Hortic, 105: 483~490