

葡萄实生树阶段转变过程中的内源多胺含量变化

王广鹏¹ 张新忠^{1,*} 常瑞峰¹ 李春敏¹ 束怀瑞²

¹河北省农林科学院昌黎果树研究所, 昌黎 066600; ²山东农业大学园艺系, 泰安 271018

摘要 用高效液相色谱法测定二年生巨峰葡萄自然实生树不同节位叶片、芽、韧皮部中内源多胺含量的结果表明, 随着节位的升高, 在3种组织中的腐胺(Put)和亚精胺(Spd)含量增加, 21~25节腐胺增加幅度最大, 自21节起亚精胺含量陡增; 21~25节叶片中的精胺(Spm)含量出现高峰。说明21节左右可能是童性消失进入生殖生长期的临界点。

关键词 葡萄; 阶段转变; 多胺

Changes in Endogenous Polyamine Content During Phase Transformation in Grapevine(*Vitis vinifera* L. cv. Kyoho)

WANG Guang-Peng¹, ZHANG Xin-Zhong^{1,*}, CHANG Rui-Feng¹, LI Chun-Min¹, SHU Huai-Rui²

¹Changli Institute of Pomology, Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Changli 066600; ²Department of Horticulture, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018

Abstract Endogenous polyamine contents in leaves, buds and phloem of different nodes of 2-year-old open pollinated seedling vines were analyzed by high performance liquid chromatography in grapevine(*Vitis vinifera* L. cv. Kyoho). The putrescine(Put) and spermidine(Spd) contents in the leaves, buds and phloem were increased with the increased nodes, and the Put content increased intensely at the 21th–25th nodes and Spd increased intensely from the 21th node, spermine(Spm) peak appeared at 21th–25th nodes of leaves. These indicated that the 21th node were maybe the critical point from vegetative growth to reproductive growth.

Key words grapevine(*Vitis vinifera* L. cv. Kyoho); phase transformation; polyamines

果树实生树童期长是品种改良和资源利用的主要障碍之一, 寻找实生树童性的形态、生理生化标记对果树遗传育种和组培快繁来说很重要。多胺广泛分布于植物体中, 与果树的童期和花芽分化有密切关系^[1-3]。Heloir 等^[4]认为叶片中内源腐胺含量和腐胺/(精胺+亚精胺)比值可以作为判断黑比诺(Pinot noir)葡萄组培苗和实生树发育阶段的生理生化标记。葡萄实生树阶段转变过程中的内源多胺含量变化尚未见报道。本文对巨峰葡萄实生树主干不同节位的叶片、韧皮部和芽中的腐胺(putrescine, Put)、精胺(spermine, Spm)和亚精胺(spermidine, Spd)含量变化进行了测定, 以探讨内源多胺与阶段转变的关系。

材料与方法

二年生巨峰葡萄(*Vitis vinifera* L. cv. Kyoho)自然实生树, 篱架栽培, 春季近地面留双蔓, 一条蔓用于采样测定, 另一条用于次年结果。7月上旬随机选取30株实生树为1次重复, 共2次。从基部剪取1条主蔓, 以从根颈部起每5节为1个采样单位, 重复内相同节位混合采样, 装入塑料

袋, 置冰盒内带回实验室。洗净, 采集每个样品的芽、叶、韧皮部, 用纱布包好, 立即投入液氮速冻。

内源多胺的提取及测定参照刘俊等^[5]的方法并加以改进。具体方法是: 取液氮速冻的样品用冻干机冻干后, 研成粉末, 过40目筛。称取100mg细样粉, 置于7mL离心管中, 加入2mL预冷的5%高氯酸, 加冰超声波(300W, 28kHz)溶10min, 冰浴浸提1h后, 于4℃下, 以12000×g离心30min。取0.5mL上清液放入另1支7mL离心管中, 加入7μL苯甲酰氯, 再加入1mL 2mol·L⁻¹ NaOH, 涡旋混合30s, 放在37℃水浴锅中酰化20min。酰化液分别加入2mL饱和NaCl溶液和2mL乙醚, 震荡后以12000×g离心5min。取1.5mL醚相于DNA浓缩仪中干燥(约15min)。用200μL流动相涡旋溶解后过0.45μm滤膜, 取10μL进样。以Waters 510高效液相色谱仪测定,

收稿 2004-07-13 修定 2004-11-22

资助 河北省自然科学基金项目(C200400739)。

*通讯作者(E-mail: zhngs999@heinfo.net, Tel: 0335-2038238)。

条件为: Luna C₁₈ 柱, 250 mm×4.6 mm; Waters 2487 紫外检测器, 检测波长 230 nm; 流动相为甲醇:水(60:40, V/V), 流速 0.8 mL·min⁻¹。N2000 色谱工作站(浙江大学)采集处理数据, 外标法保留时间定性。将 Put、Spd、Spm 标样(购自 Fluka 公司)分别配成 1 mol·L⁻¹ 的母液, 各取 50 μL 母液与待测样品一起进行酰化, 酰化后的标样做标准曲线定量。

结果与讨论

26 节后所采芽体不足量, 未测定; 其它所测得数据除韧皮部的精胺外 2 次重复间差异不大, 且趋势一致, 说明试验测定方法重复性好。2 次重复数据做了如下分析。

1 Put 含量的变化

如图 1 显示, 叶片中 Put 含量高于芽和韧皮部, 韧皮部含量最低, 3 种组织中的变化趋势基本一致; 随着节位的升高含量逐渐增加, 21~25 节的含量增加幅度最大, 出现高峰, 而后稍有降低, 26 节后变化幅度不大。

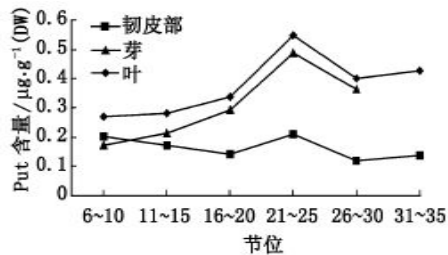


图1 巨峰葡萄实生树阶段转变过程中Put含量的变化
Fig. 1 Changes in Put content during phase transformation in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Kyoho)

2 Spd 含量的变化

从图 2 可见, 巨峰葡萄实生树叶片中 Spd 含量最高且变幅最大, 芽和韧皮部次之, 两者相差不多, 3 种组织中的含量变化趋势一致, 都随着节位的升高而逐渐增加。21 节以前含量变化幅度较小, 21~25 节以后, 含量急剧上升, 说明 21 节是巨峰葡萄实生树的一个生理转折点。

3 Spm 含量的变化

巨峰葡萄实生树韧皮部中 Spm 含量的 2 次重复间差异较大, 其结果未列出; 芽中 Spm 含量较低, 16 节起有升高趋势; 叶片中 Spm 含量也是 16 节起有上升趋势, 21~25 节含量陡增, 明显出现高峰, 之后又基本上恢复到 16 节以下的水平(图 3)。

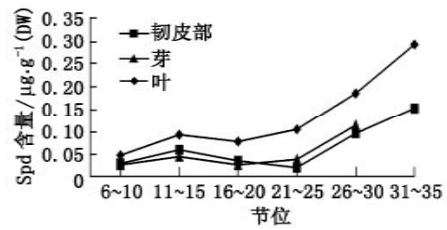


图2 巨峰葡萄实生树阶段转变过程中Spd含量的变化
Fig. 2 Changes in Spd content during phase transformation in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Kyoho)

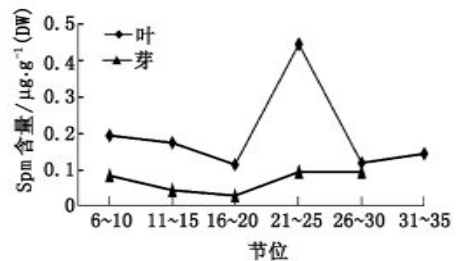


图3 巨峰葡萄实生树阶段转变过程中Spm含量的变化
Fig. 3 Changes in Spm content during phase transformation in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Kyoho)

一般来说, 巨峰葡萄实生树的开花起始点在 21 节左右^[6], 根据本文中 3 种内源多胺含量随着节位升高的变化趋势, 可以认为随着实生树童期向成年期转变, 多胺含量在 21~25 节达到“阈值”时, 即引起分生组织发生质变从而改变基因表达导致发育阶段转变, 21 节可能是童性消失进入成年生殖生长期的临界点。所以, 在此时期可采用适当施用生长调节剂等措施促进提早开花。生殖生长期后, Put 和 Spd 含量都明显高于前期发育阶段, 含量变化与 Heloir 等^[4]的 Put 的结果一致。本文中 Spd 也呈现相同的变化趋势, 因此, 我们认为 Spd 含量似也可作为实生树阶段转变的标志。

参考文献

- Zimmerman RH. Juvenility and flowering of fruit trees. *Acta Hort.* 1973, 34:139~142
- Cabanne F. Hydroxycinnamic acid amides and ripening to flower of *Nicotiana tabacum* cultivar Xanthi nc. *Plant Physiol*, 1981, 53(3):445~451
- Galston AW, Sawhney RK. Polyamines in plant physiology. *Plant Physiol*, 1990, 94: 406~410
- Heloir MC, Fournioux JC, Barbie RM et al. Endogenous polyamine concentrations in juvenile, adult and micropropagated grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir). *Vitis*, 1998, 37(1): 61~62
- 刘俊, 吉晓佳, 刘友良. 检测植物组织中多胺含量的高效液相色谱法. *植物生理学通讯*, 2002, 38(6): 596~598
- 卓小能, 林伯年, 沈德绪. 打破巨峰葡萄休眠及实生苗阶段发育中内源激素的研究. *果树科学*, 1995, 12(2): 79~83