

荔枝果实发育过程中内源多胺含量的变化

李建国^{1,*} 刘顺枝^{1,2} 王泽槐¹

¹华南农业大学园艺学院, 广州 510642; ²广州大学生物与化学工程学院, 广州 510405

摘要 荔枝果实中多胺含量以亚精胺(Spd)最高, 腐胺(Put)其次, 精胺(Spm)最低, 三者分别于花后7 d和28 d各出现1个高峰。果皮、假种皮和种子中总多胺含量以各自发育初期为最高, 随后急速下降, 快速膨大期间的变化则不大。花后0~21 d, 单果中Put、Spd和Spm含量最低; 花后28 d, 出现第1个小高峰; 果实快速膨大期Spd含量急剧升高, Put和Spm升高较慢。

关键词 荔枝; 果实发育; 内源多胺

Changes in Endogenous Polyamine Contents During Fruit Development of Litchi (*Litchi chinensis*)

LI Jian-Guo^{1,*}, LIU Shun-Zhi^{1,2}, WANG Ze-Huai¹

¹College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642; ²College of Biology and Chemistry Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510405

Abstract Putrescine (Put), spermidine (Spd) and spermine (Spm) contents in the pericarp, seed and aril of 'Huaizhi' litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) were analysed during fruit development. The results showed that Spd level was the highest among the three polyamines in fruit, followed by Put and Spm. The contents of three polyamines peaked at 7 and 28 days after anthesis (DAA). The total endogenous polyamine contents in different fruit tissues were highest at their initial growth stage, then decreased steeply, and kept a stable level during stage II -b (56~70 DAA). In contrast, the contents of the three polyamines on per fruit basis were all the lowest during 0~21 DAA, and then exhibited a small peak at 28 DAA. But during fruit rapid growth, Spd content increased abruptly, while Put and Spm levels rose slowly.

Key words litchi (*Litchi chinensis*); fruit development; endogenous polyamines

多胺(Polyamines, PAs)存在于所有生物组织中, 参与高等植物体内的许多生理过程, 如形态发生、根系形成、开花和衰老等^[1]。虽然多胺在果实发育中的作用还未完全得到认识, 但从已有报道来看, 果实发育期间多胺含量变化动态可以归为两种类型: (1)类型 I, 多胺水平在果实发育早期高, 后随着发育进程逐渐降低, 这类果实包括苹果^[2]、葡萄^[3]、油梨^[4]、梨^[5]和草莓^[6]等; (2)类型 II, 多胺的含量在果实发育早期高, 后下降, 成熟期间则一直上升, 如柑桔^[7]、甜橙^[8]和番荔枝^[9]。这说明不同种类的果实, 其多胺含量的变化可能反映了果实的生长、发育和成熟的特征。

荔枝作为一类具假种皮的果实, 外源多胺可以促进它的早期坐果^[10,11], 这暗示多胺参与荔枝果实发育生理过程的调节。但至今有关荔枝果实发育期间内源多胺变化规律的报道极少且不全面。陈伟和吕柳新^[12]认为, 荔枝胚珠中内源多胺含量

以及(Spd+Spm)/Put的比例与胚胎发育有关; 陈杰忠等^[13]报道, 谢花后30 d喷施外源多胺可以提高内源多胺水平和坐果率。本文报道荔枝果实发育期间果皮、假种皮和种子中内源多胺含量的变化, 探讨多胺在荔枝果实发育中的作用。

材料与方 法

荔枝(*Litchi chinensis*)品种为“淮枝”, 树龄16年。于2001年4~7月, 在东莞市农业科学研究所果园选择生长发育良好、树势中等且一致的植株2株。于雌花盛开期(4月7日)起, 每隔7 d采摘发育正常的果实100~400 g, 用冰壶带回实

收稿 2003-05-06 修定 2003-08-25

资助 国家自然科学基金(30370995)和广东省自然科学基金项目(960440)。

* E-mail: jianli@scau.edu.cn, Tel: 020-85288265

实验室。先称单果重, 然后分开果皮、种子和假种皮, 置于低温冰箱(-20℃)内保存备用。单株为1个重复, 共重复2次。

参照Flores和Galston^[14]的方法提取多胺。称取1.00 g果皮(种子早期0.50 g, 后期1.00 g; 果肉3.00 g), 用4 mL预冷的5%(W/V)高氯酸(HClO₄) 在冰浴中研磨成匀浆, 冰浴中浸提1h, 低温(0~4℃)下以15 000 × g离心30 min, 上清液用于多胺测定。取1.0 mL多胺提取液, 加入1.0 mL 2 mg·L⁻¹ NaOH, 10 μL 苯甲酰氯, 旋涡振动20 s后于30℃下保温30 min, 再加入2.0 mL饱和NaCl、2.0 mL乙醚, 旋涡振动20 s后于1 300 × g下离心5 min, 收集1.0 mL醚相于小指管中, 用40℃热空气吹干, 残基于-20℃下保存备用。多胺含量的测定采用高效液相色谱法(HPLC), 参照王富民和薛应龙^[15]的方法并略加改进。供作标样的腐胺(Put)、精胺(Spm)为Fluka公司产品, 亚精胺(Spd)为Sigma公司产品。高效液相色谱仪为日本岛津LC-10AT型(Shimadzu LC-10AT)。紫外检测器为SPD-10AV, 柱相CPO-10A, 波长为254 nm, 色谱柱为CLC-ODS反向柱(6.0 mm × 150 mm), 流动相为甲醇:乙腈:水=64.0:2.5:33.5, 流速0.5 mL·min⁻¹。柱温30℃, HPLC样品用200 μL 60%(V/V)甲醇(去离子水配制)溶解, 过滤后用于测定。进样量为25 μL, 用外标法定量计算。峰面积计算在CLASS-LC-10化学工作站进行。

实验结果

1 荔枝果实的生长发育进程

如图1所示, 花后的前21 d 荔枝果实鲜重增加非常缓慢, 21~35 d生长逐渐加快, 35~49 d生长进一步加快, 49 d以后进入快速生长期。根据李建国等^[16]的荔枝果实发育时期划分标准, 结合本文的结果, 可以认为, 花后0~35 d为果实发育第I期, 35~49 d为果实发育第II-a期, 49~70 d为果实发育的第II-b期。

2 果实及其各组织中的内源多胺含量

从图2可见:

(1)花后0 d果皮中Put含量最高, 此后下降, 21 d开始上升, 35 d达到峰值, 后又下降, 63 d后略有回升; Spd含量在花后呈下降趋势, 仅在35 d有一微小峰值, 35 d后又一直呈下降趋

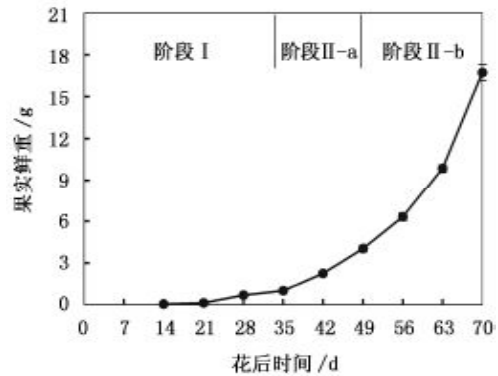


图1 荔枝果实的鲜重变化

Fig. 1 Change in fruit fresh weight of litchi

竖线表示标准误, $n=10$ 。阶段I、阶段II-a和阶段II-b分别示果实不同发育阶段。

势; Spm含量在花后一直下降, 42 d达到一小高峰后才缓慢下降。在整个果实发育期间, Spd始终明显大于Put和Spm, Put虽然较Spm含量高, 差异主要在第I期的早期和末期。

(2)种子发育早期, 3种多胺含量均最高, 后迅速下降, 花后28 d Put含量开始升高, 49 d达到小高峰后下降; Spd含量在花后49 d开始升高, 56 d达到小高峰后变化比较平缓; Spm含量在花后一直呈下降趋势, 且变化平缓。在果实发育的第I期的早期(花后21 d之前), Spd含量最高, Put次之, Spm最少。

(3)假种皮中Put和Spd的变化趋势近似: 花后28 d最高, 然后快速下降, 进入II-a始期(花后42 d)上升, 1周后达到高峰, 此后又持续下降; 而Spm的含量也是在花后28 d最高, 然后快速下降至较低水平后, 变幅即不大。在假种皮发育早期Put和Spd的含量相近, 第II期Put>Spd, Spm含量最低。

(4)从全果单位鲜重中多胺含量变化来看, Spd含量最高, Put次之, Spm最低。Put的变化有3个较为明显的高峰, 分别出现在花后7、28和49 d; Spd含量以花后7 d最高, 后快速下降, 28 d回升至一小高峰, 后再次下降, 42 d又回升; Spm含量在总体上表现为前期高后期低, 但变化较为平缓。

3 果实不同组织中的总多胺含量

图3显示: (1)花后0~7 d果皮中总多胺含量

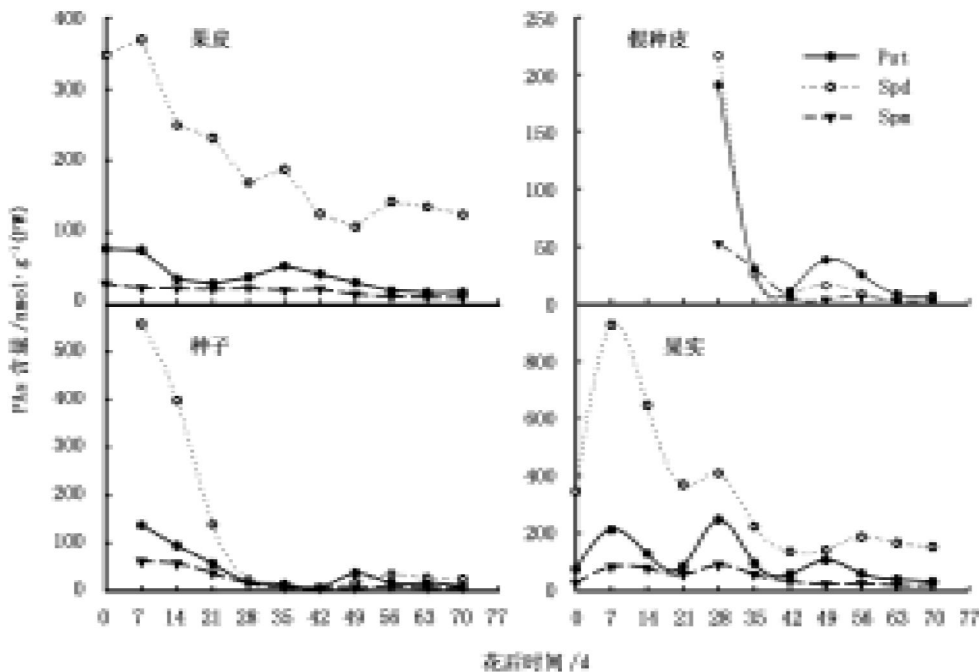


图2 荔枝果实发育期间果实及其各部分内源多胺含量的变化

Fig. 2 Changes in endogenous polyamine contents in fruit and its tissues during fruit development of litchi

最高, 随后下降, 28 d回升, 35 d达到一个小高峰, 此后下降, 49 d后变化较为平缓; (2) 花后7~28 d种子中总多胺含量急剧下降, 此后至成熟变化幅度不大; (3) 花后28 d假种皮中总多胺含量最高, 随后急剧下降, 42 d后变化不大; (4) 在果实发育的第I期早期(0~21 d), 总多胺含量是果皮小于种子, 此后果皮始终高于种子; 假种皮中总多胺含量只是在其发生初期(28~35d)高于种子, 其余时期与种子相差不大。

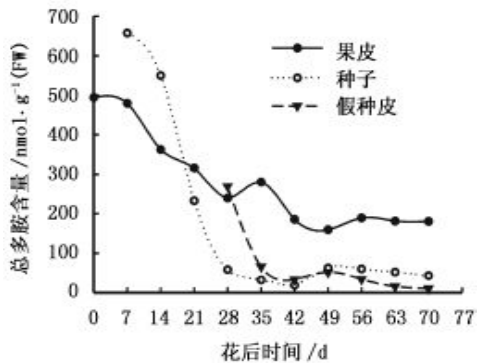


图3 荔枝果实发育过程中果皮、种子和果肉中总多胺含量的变化

Fig. 3 Changes in the total polyamine contents in pericarp, seed and aril during fruit development of litchi

4 单果中总多胺的含量

从图4可以看出, 花后0~21 d(I期的前期)3种多胺含量最低; 21 d起上升, 28 d达到第1个小高峰, 随后降低; 花后35~49 d(II-a期)再次上升; 49~70 d (II-b期), 只有Spd含量急剧升高, Put和Spm含量上升不明显。

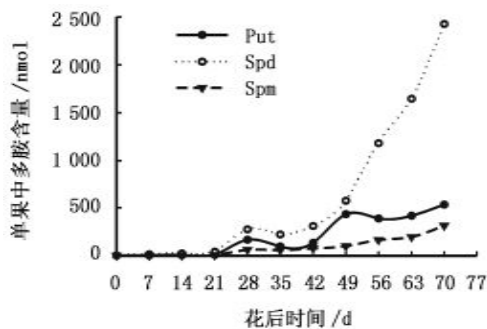


图4 荔枝果实发育过程中单果中总多胺含量的变化
Fig. 4 Changes in the total polyamine contents per fruit during fruit development of litchi

讨 论

荔枝果实的个体发育可划分2个时期(第I期和第II期), 第II期又分为2个亚期(II-a和II-b) [16]。

第 I 期以果皮和种皮发育为主, 是果实缓慢生长阶段; II-a 期是种胚(子叶)的快速生长时期; II-b 期是假种皮的快速膨大生长时期。结合本文结果, 可以认为, 花后 0~35 d 为果实发育的第 I 期, 35~49 d 为果实发育的 II-a 期, 49~70 d 为果实发育的 II-b 期。

虽然多胺在果实发育中的作用还未完全得到认识, 但许多研究表明, 多胺含量与果实生长发育有关, 特别是多胺水平(以单位鲜重计)在果实发育早期最高^[2~9]。本文显示荔枝果实不同组织中总多胺含量也是在各自形成的早期含量最高。看来, 果实发育早期多胺含量高是普遍的规律。一般认为, 绝大部分果实发育早期均以细胞分裂为主, 而多胺则是促进细胞分裂的^[17]。因此, 可以认为, 荔枝果皮、种子和假种皮中出现的多胺含量高峰与其旺盛的细胞分裂活动是吻合的。

一般认为, 果实发育早期 Spd 和 Put 的作用比 Spm 大, 因为前两者含量比 Spm 高, 但 Spd 和 Put 的含量孰高孰低, 文献报道的并不一致。如在葡萄^[3]、苹果^[2]、柑橘^[7]等果实中是 Put 高于 Spd, 而梨则相反^[18]。本文结果表明, 在果皮和种子的发育早期, Spd 含量明显高于 Put, 假种皮中两者含量近似。说明 Spd 在荔枝果皮和种子早期发育的作用最大, 而在假种皮开始形成期, Spd 和 Put 同等重要。另外, Biasi 等^[2]指出, 苹果果实中 3 种多胺水平(以单果含量计)的快速上升出现在苹果果实快速膨大期; 而我们的结果则是在果实快速膨大的 II-b 期, 仅 Spd 含量与假种皮的快速膨大同步增长, 这似乎说明 Spd 在假种皮的细胞膨大过程中也有作用。

Biasi 等^[2]还指出, 苹果果实的落果高峰一般都发生在多胺水平(以单位鲜重计)下降阶段, 如果以单果中含量计, 则是发生在含量较低的时期。本文结果显示, 荔枝果实中多胺水平(以单位鲜重计)的明显下降时期分别发生在花后 7~21 d 和 28~42 d, 此期也是单果中总多胺含量最低的时期。它们分别处于原胚形成至球形胚形成期以及子叶快速发育期, 这也是“淮枝”等大核品种果实发育期间的 2 个主要生理落果高峰期^[19]。由此看来, 果实发育期间多胺含量变化与荔枝果实生理落果的发生存在某种程度的联系。

参考文献

- 1 Evans MI, Malmerberg RL. Do polyamines have roles in plant development? *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1989, 40: 235~269
- 2 Biasi R, Bagni N, Costa G. Endogenous polyamines in apple and their relationship to fruit set and fruit growth. *Physiol Plant*, 1988, 73: 201~205
- 3 Shiozaki S, Ogata T, Horiuchi S. Endogenous polyamines in the pericarp and seed of the grape berry during development and ripening. *Sci Hortic*, 2000, 83: 33~41
- 4 Kushad MM, Yelenosky G, Knight R. Interrelationship of polyamine and ethylene biosynthesis during avocado fruit development and ripening. *Plant Physiol*, 1988, 87: 463~467
- 5 Toumadje A, Richardon DG. Endogenous polyamines concentrations during development, storage and ripening of pear fruits. *Phytochem*, 1988, 27: 335~338
- 6 Ponappa T, Miller AR. Polyamines in normal and auxin-induced strawberry fruit development. *Physiol Plant*, 1996, 98: 447~454
- 7 Nathan R, Altman A, Monselise SP. Changes in activity of polyamine biosynthetic enzymes and in polyamine contents in developing fruit tissues of 'Murcott' mandarin. *Sci Hortic*, 1984, 22: 359~364
- 8 Hasdai D, Bar-Akiva A, Goren R. Chemical and morphological characteristics of developing fruits from old clone vs. nucellar shamouti orange trees. *J Hortic Sci*, 1986, 61: 389~395
- 9 Escribano MI, Merodio C. The relevance of polyamine levels in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) fruit ripening. *J Plant Physiol*, 1994, 143: 207~212
- 10 Stern RA, Gazit S. Application of the polyamine putrescine increased yield of 'Mauritius' litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). *J Hortic Sci Biotech*, 2000, 75(5): 612~614
- 11 刘顺枝, 李建国, 王泽槐等. 外源腐胺对“糯米糍”荔枝坐果的影响. *福建果树*, 2002, (1): 10~13
- 12 陈伟, 吕柳新. 荔枝胚珠中 PAs 含量变化与胚珠败育的关系. *热带亚热带植物学报*, 2000, 8(3): 229~234
- 13 陈杰忠, 骆小兵, 王泽槐等. 多胺对荔枝坐果率及内源多胺含量的影响. 见: 雷建军, 陈日远, 陈厚彬主编. *园艺学进展*. 广州: 广州出版社, 2002. 303~307
- 14 Flores HE, Galston AW. Analysis in higher plant by high performance liquid chromatography. *Plant Physiol*, 1982, 69: 701~706
- 15 王富民, 薛应龙. 植物组织内多胺含量的测定. *植物生理学通讯*, 1988, (1): 39~41
- 16 李建国, 黄辉白, 黄旭明. 对荔枝果实发育时期重新划分的探讨. *园艺学报*, 2003, 30(3): 307~310
- 17 Kakkur R, Ray V. Plant polyamines in flowering and fruit ripening. *Phytochem*, 1993, 143: 207~212
- 18 韦军. 多胺与梨果实生长关系的探讨. *果树科学*, 1995, 12(增刊): 77~79
- 19 Yuan RC, Huang HB. Litchi fruit abscission: its pattern effect of shading and relation to endogenous abscisic acid. *Sci Hortic*, 1988, 36: 281~292