

2,4—D对甜橙幼果脱落及离区纤维素酶活性的抑制效应

陈乃荣 周溅平

(园艺系)

提 要

暗柳橙 (*Citrus sinensis* Osbeck) 第一次生理落果期 (3月下旬~4月中旬) 的果实外植体脱落过程中, 离区纤维素酶A、B的活性明显升高; 第二次落果 (4月下旬~5月中旬) 期的果实脱落过程中, 纤维素酶A的活性也显著提高, 但纤维素酶B活性变化较小。细胞内、外纤维素酶的活性在外植体脱落过程中也不断升高。2,4—D能明显抑制胞内、外纤维素酶及纤维素酶A的活性, 同时还能抑制外植体及非离体果实内乙烯的产生, 但对纤维素酶B活性的影响无明显效应。田间喷布低浓度的2,4—D, 明显地减少第一次生理落果, 但对第二次落果的作用不如赤霉素。本文还讨论了果实的脱落、纤维素酶活性与乙烯之间的相互关系, 及2,4—D的调控作用。并认为采用外植体的方法不失为研究脱落问题的有效手段。

关键词 甜橙; 脱落; 2,4—D; 纤维素酶; 乙烯产生

引 言

1947年Stewart和Klotz首次在美国加州喷布2,4—D显著地减少了伏令夏橙的采前落果, 嗣后, 应用2,4—D于许多柑桔品种上都成功地减少了采前落果, 或幼果脱落^[1]; 但也有使用无效, 或不稳定, 或导致严重落果的报道^{[2][3][5]}。2,4—D抑制柑桔果实离区纤维素酶活性, 从而抑制脱落, 前人有过报道^{[6][7][9][10][11]}。关于纤维素酶, Lewis等(1970)首先从菜豆叶柄离区中提取出两种同功酶分子, 即纤维素酶A (溶于缓冲液) 和纤维素酶B (溶于盐溶液), 其后在柑桔离区中也发现了它们^[8]。本文旨在讨论2,4—D对暗柳橙, 这种广东主栽柑桔品种两个主要生理落果期幼果脱落、离区纤维素酶及其同功酶活性的影响, 及2,4—D调节座果的可能途径。

1988年9月28日收稿

材 料 和 方 法

(一) 田间喷布

以8年生红桔砧、生长正常的暗柳橙 (*Citrus sinensis* Osbeck) 为试材。单株小区, 每株上选七个大小一致的枝序设处理, 随机排列, 重复4次。2,4-D处理设5、10、20、50、100ppm五个浓度, 及赤霉素(上海溶剂厂产) 50ppm与清水对照共七个处理。用0.05%的吐温-20作展着剂。于谢花3/4及其后20天各喷布一次。分别于两次生理落果后检查座果数。

(二) 果实外植体的脱落及离区纤维素酶的提取、测定

外植体(包括幼果及带离区的果柄) 分别于两次生理落期从上述未经处理的橙树上采集, 采集部位为中部树冠外围。外植体迅速带回用1.2%的NaClO灭菌10分钟, 再在10或20ppm的2,4-D中浸15分钟, 凉干表面, 插入盛有1.1%琼脂培养基的培养皿中, 自然光下保湿及防污染。脱落统计参照胡安生^[3]和Ratner等^[11]的方法。每处理用外植体20个, 切下离区及周围组织(长约2.5~3.0mm) 称重, 加入0.1M pH7.0的磷酸缓冲液(含0.05%半胱氨酸), 在冰浴上研磨至匀浆, 然后在4℃、10,000g下离心10分钟, 取上清液定容至10ml, 用作酶活性测定。胞内、胞外酶按Rasmussen^[10]的方法提取, 但离心条件为4℃、15,000g 10分钟。酶活性的测定及表示, 均按胡安生等^[3]提出的方法。纤维素酶A、B的提取及测定参照Kossuth^[8]的方法。

本实验过程中发现纤维素酶的最适底物pH与前人不同^{[3][11]}, 为4.8—6.2, 本实验采用5.5。

(三) 非离体果实离区纤维素酶A、B活性的测定

于第二次生理落果期进行。依据Lima^[9]的方法, 用20ppm 2,4-D涂果, 重复4次, 酶活性的测定同上。

(四) 乙烯的测定

外植体称重后置于已知体积的密闭容器中, 释放乙烯2小时。然后取样测定。果实组织内乙烯按王坤范^[1]的减压取样法取样。用Hitachi-Ni¹⁶³型气相色谱仪测定, 火焰离子化检测器(FID)检测, 4×20,000mm填充涂有1.5%Apiezon的Al₂O₃担体的玻璃柱, 柱温与FID温均为90℃, 载气(N₂)流速30ml·min⁻¹。

试 验 结 果

(一) 2,4-D与果实外植体脱落、纤维素酶及乙烯产生

1. 2,4-D对抑制果实外植体脱落及离区纤维素酶活性的效应

果实外植体脱落过程中, 无论是胞外或是胞内纤维素酶的活性都明显升高(图1);

2,4-D抑制了胞内、胞外纤维素酶活性的提高,也抑制了脱落。

2. 外植体与离区纤维素酶A、B及乙烯产生的关系

无论是第一次还是第二次生理落果期采集的果实外植体,在脱落过程中,纤维素酶A均明显上升(图2,3)。经2,4-D处理的离区纤维素酶A都较对照低,酶活性受到抑制的同时,脱落也延缓了(图3,4)。此外,第一次生理落果期的果实外植体,在脱落过程中,纤维素酶B活性也明显升高(图2),但第二次落果期酶B活性变化较小(图3)。2,4-D处理对酶B活性无明显影响(图2,3)。

果实外植体在脱落过程中,乙烯的产生也增加(图4),2,4-D处理后乙烯产生受到抑制,并延缓了脱落。

(二) 2,4-D对非离体果实的脱落、纤维素酶及果实内乙烯产生的影响

非离体果实在脱落过程中,离区纤维素酶A及果实组织内乙烯量都同时增加(图5),经2,4-D处理后,果实脱落率、纤维素酶A活性以及乙烯量都受到抑制,但对酶B的影响不明显。这些规律与前述的外植体相似。

(三) 田间喷布2,4-D对暗柳橙座果的效应

表1的试验结果表明,2,4-D对减少第一次生理落果的效应比第二次的好,两年的试验结果也一致。1987年2,4-D各种试验浓度都不同程度地减少了第一次落果。其中20ppm和50ppm处理的着果率分别为对照的163.6%和157.4%,统计分析结果达到了显

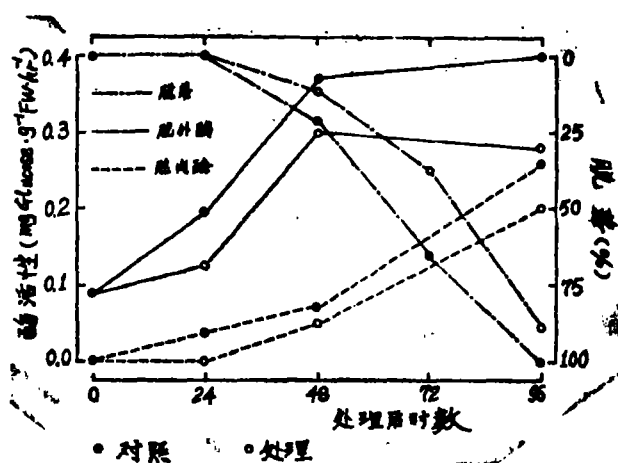


图1 2,4-D处理对暗柳橙第一次生理落果期果实外植体脱落及离区胞内、外纤维素酶活性的影响

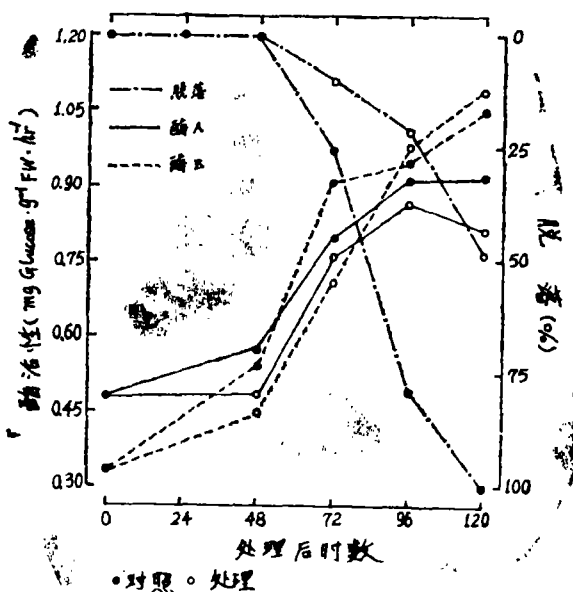


图2 2,4-D处理对暗柳橙第一次生理落果期果实外植体脱落及离区纤维素酶活性的影响 (1988, 3)

着水平。1988年只有 5 ppm和 10ppm处理减少了落果, 着果率分别为对照的108.8%和 137.2%, 但未达到显著水平, 其余浓度都促进了落果。两年的结果表明, 50ppmGA 对减少第一次落果的效果不如2,4-D好。至于第二次生理落果, 1987年 5 ppm和10ppm的 2,4-D处理着果率高于对照, 但差异不显著; 而GA50 ppm处理则显著高于对照, 是对照的11倍。但是, 1988年的试验结果表明, 所有的处理实际上都促进了落果。

讨 论

(一) 2,4-D喷布与甜橙幼果脱落

两年的试验结果表明, 低浓度的2,4-D可以减少第一次生理落果量, 且效果略比GA好, 特别是低浓度(10ppm)有良好效应。1988年尽管第一次喷布至第二次喷布的20天内有11天的阴雨天气, 但着果率仍为对照的137.2%。结果还表明, 1988年幼果脱落期阴雨较多的条件下, 2,4-D的使用浓度偏低低于常规浓度, 效果更好些。如1987年20ppm的效果最好, 但1988年却促进了落果, 说明使用2,4-D的有效浓度, 依环境条件不同而异。试验结果还表明, 2,4-D减少第二次生理落果的效应不明显, 且不稳定, 更远不如GA处理效果好(表1)。2,4-D对抑制暗柳橙生理落果效应先优而后劣的现象, 前人在锦橙上也观察到^[4]。

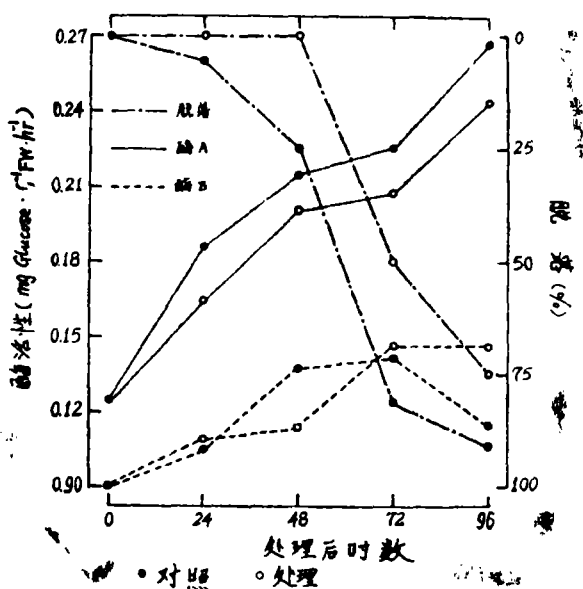


图3 2,4-D对暗柳橙第二次生理落果期果实外植体脱落及离区纤维素酶活性的效应 (1988.4)

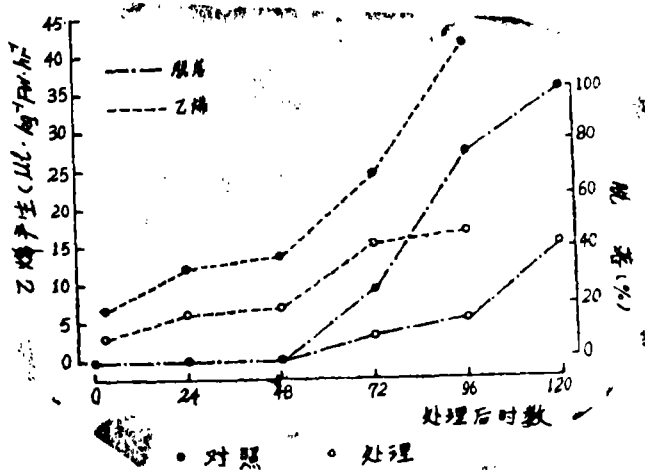


图4 2,4-D暗柳橙第一次生理落果期果实外植体脱落和乙烯产生的影响 (1988.3)

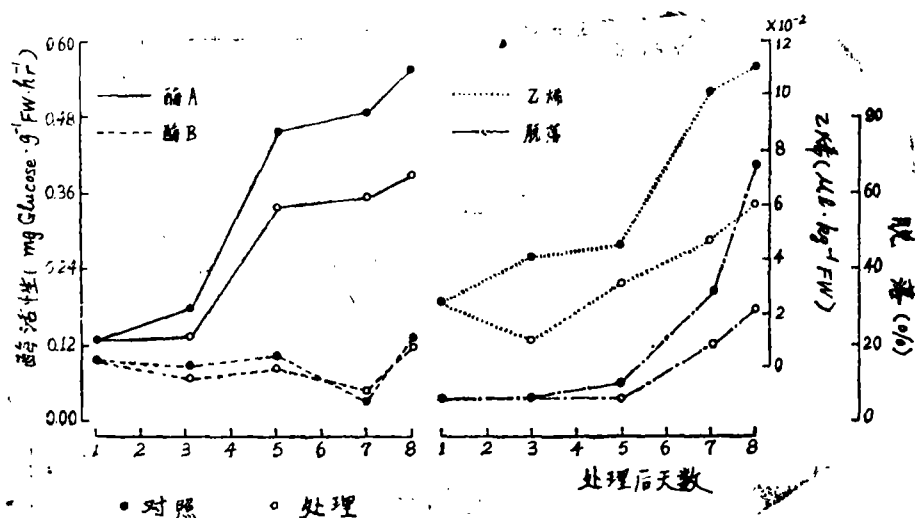


图5 2,4-D对暗柳橙第二次生理落果期非离体果实组织内乙烯量、
离区纤维素酶活性及脱落的影响 (1988. 4)

表1 不同浓度的2,4-D处理对暗柳橙座果的效应 (1987—1988)

处理	第一次生理落果		第二次生理落果	
	1987年	1988年	1987年	1988年
2,4-D				
5 ppm	45.7 ^X (105.3) ^{Y a Z}	16.1 (108.8) ab	0.5 (166.7) ab	1.1 (30.6) ab
10 ppm	52.7 (121.7) a	20.3 (137.2) a	0.7 (233.3) ab	0.7 (19.4) abc
20 ppm	71.0 (163.6) b	11.5 (77.7) ab	0.2 (66.7) a	0.4 (11.1) bc
50 ppm	66.6 (157.4) b	10.1 (68.2) bc	0.1 (33.3) a	0.1 (2.8) cd
100 ppm	63.1 (145.4) ab	2.9 (19.6) c	0.0 (0.0) a	0.0 (0.0) d
GA 50 ppm	61.4 (141.5) ab	19.0 (128.4) ab	3.3 (1100.0) b	1.9 (52.8) be
对照	43.4 (100.0) a	14.8 (100.0) ab	0.3 (100.0) a	3.6 (100.0) e

注: X—着果率(%), Y—与对照比的百分率, Z—邓肯氏多重比较测验5%的显著水平, 百分率均经arcsin θ转换。

2,4-D在生产上, 往往由于浓度稍高而导致严重落果^[2]。本试验结果也证实了这一点, 特别是对第二次生理落果, 浓度稍高即促进脱落, 尤其是1988年这种天气条件下(表1)。因此, 2,4-D在实际应用中宜慎重, 就暗柳橙而言, 低浓度(≤20ppm)可以用于减少第一次生理落果, 而对减少第二次生理落果则以GA为好。

(二) 甜橙脱落与纤维素酶、乙烯的关系及2,4-D的调节作用

无论是叶柄、果实外植体和非离体果实,在脱落过程中,纤维素酶活性都显著提高,2,4-D、三十烷醇和乙烯抑制或促进酶的活性和脱落^{[3][8][11]}。2,4-D还能抑制沙莫蒂甜橙果实离区胞内、外纤维素酶的活性^[7]。本试验结果与上述一致。结果还表明,在两次生理落果期的果实外植体脱落开始之前及其过程中,纤维素酶A活性都显著提高(图2,3),2,4-D抑制酶A活性的上升,从而延缓了脱落;非离体果实脱落过程中,酶活性变化及2,4-D的抑制作用与外植体的反应规律相同(图5)。据此可以认为,纤维素酶A在甜橙幼果脱落过程中起重要作用,而且,应用外植体来研究脱落问题是一个简便而有效的手段。Lima等^[9]和Rasmussen^[10]的非离体果实脱落研究结果与Goren等^[8]、Ratner等^[11]及Huberman等^[7]在外植体上结果的一致性也支持了这一论点。

关于纤维素酶B,其活性除第一次生理落果期的果实外植体脱落过程中明显升高外(图2),其它情况下变化较小(图3、5),2,4-D对其活性的影响也不明显。Kossuth^[8]等报道,刺进乙烯产生的处理,促进了离区纤维素酶A活性提高,而对酶B影响不大。可能酶B在第二次生理落果期作用不大,而在第一次落果中的作用有待进一步研究。

本试验表明,在脱落发生前,纤维素酶(包括胞内、胞外纤维素酶及纤维素酶A)的活性、外植体乙烯的产生及果实组织内乙烯几乎是平行上升,2,4-D对它们都有抑制效应(图2、3、4、5)。据报道,果实组织内乙烯浓度升高与离区纤维素酶(包括胞内、胞外酶)活性的上升密切相关^{[9][10]}。乙烯促进胞内酶新的合成,以及胞内酶向胞外分泌,从而对脱落起作用^[9]。据此推测,可能2,4-D首先通过抑制乙烯的产生,进而抑制了胞内纤维素酶,特别是酶A的新合成,以及胞内酶向胞外渗透,从而抑制了果实离区胞壁的水解,最后控制果实脱落;抑或2,4-D直接作用于纤维素酶,来调控果实脱落。

引用文献

- [1] 王坤范,植物生理学通讯,1982,(2):48—49
- [2] 陈章佳,江西柑桔科技,1987,(1):38—39
- [8] 胡安生,林蓓芬,任道顺,陈继友,园艺学报,1985,12(2):77—82
- [4] 黄俊良,四川农业,1959,(9):36—38
- [5] Coggins C.W.Jr. and H.Z. Hield. In: W. Reuther, D. Batachlor and H. J. Webber (Eds.), The Citrus Industry. University of California, 1968; 2:371—386
- [6] Goron R., M. Huberman and M.J. JAFFE. Proc. Int. Soc. Citriculture,

- 1977; 2 : 677-683
- [7] Huberman M. and Goren R. *Physiol. Plant.*, 1979; 45 : 189-196
- [8] Kossuth S.V. and R.H. Biggs. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1977; 102(2) :
609-612
- [9] Lima J.E.O. and F.S. Davies. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1984; 109(1) :
100-104
- [10] Rasmussen G.K. *Plant Physiol.*, 1973; 51 : 626-628
- [11] Ratner A., R. Goren and S.P. Monselise. *Plant Physiol.*, 1969; 44 : 1717
-1723

THE SUPPRESSIVE EFFECTS OF 2,4-D ON PREMATURE DROP OF ORANGE
AND CELLULASE ACTIVITY IN THE ABSCISSION ZONE

Chen Nairong Zhou Jianping

(Department of Horticulture)

ABSTRACT

The cellulase A (buffer-soluble) and B (salt-soluble) activities in abscission zone of fruit explants of "Anliu-cheng" orange (*Citrus sinensis* Osbeck) rose markedly during premature drop just after petal fall (first fruit drop). cellulase A activity in the abscission layers of fruit explant and attached fruit also increased significantly in the course of the shedding at the disc (second fruit drop), but there was little change in cellulase B during that time. 2,4-D could inhibit not only the abscission of fruit explants collected in the two fruit drops just mentioned above, but also first fruit drop in the field by low concentration spraying, due to the marked depression of the exo- and endo-cellular cellulase, cellulase A activity and ethylene production. But it had no significant effect on cellulase B activity in this experiment. The use of gibberellic acid in decreasing fruit shedding during the second drop was more effective than that of 2,4-D. The relationships among fruit abscission, cellulase activity and ethylene production and the regulating mechanism of 2,4-D on fruit drop were discussed.

Key words: Sweet orange; Abscission; 2,4-D; Cellulase; Ethylene production