

荔枝果实发育期间内源激素含量动态

季作梁 梁立峰 柳建良 王钢涛

(园艺系)

摘要 本研究测定了荔枝果实发育期间内源激素含量的动态。结果表明果实发育前期细胞分裂素 (CTK), 生长素 (IAA) 含量较高; 中期乙烯 (Eth), 赤霉素 (GA), 的含量较高, 这与果实的生长发育及落果有密切相关。同时, 果实发育前期应用外源 CTK、中期应用 GA、处理果穗可显著提高座果率。

关键词 荔枝; 果实发育; 内源激素; 座果率

荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 原产我国, 是具有很高经济价值典型亚热带水果。生产上主要的问题是产量低而不稳, 其中落果严重是低产的主要原因之一。要解决这一难题, 则要了解落果的机理。许多材料已证明, 果实的脱落与内源激素水平有密切关系, 如苹果^[9,10], 芒果等^[11], 有关荔枝落果、保果的研究主要是应用外源植物生长调节剂保果, 对内源激素与荔枝果实发育及脱落的关系研究较少, 因此保果效果不稳定, 重现性较差。袁荣才^[12]等对荔枝落果与内源脱落酸 (ABA) 关系作了研究。本文主要对荔枝果实发育过程中 IAA, CTK, GA, 及 Eth 的含量动态进行研究, 并在了解内源激素与荔枝果实发育和落果关系基础上, 应用外源植物生长调节物质提高座果率。目的为荔枝生产上减少落果提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

荔枝品种为准枝, 采自本校荔科技园及东莞市林果研究所。于盛花后每隔 7 至 10 天采摘发育正常果实 50~100 g, 采后立即放入冰瓶内带回实验室, 称重并置入低温冰箱内 (-35° 至 -40°) 保存。果实发育前期 (谢花后 10 天) 用整个子房及幼果, 中、后期用种子和果皮供激素测定。重复 2 次。

试验时间, GA, IAA 于 1985, 1986 年进行 CTK、Eth, 于 1988, 1989 年进行。

1.2 内源激素提取及纯化

内源激素的提取、分离、参照丁静^[1]方法并作改进, 见图 1, 图 2。

1.2.1 活性炭-塞里脱柱层析^[4] 取活性炭 2.5 g, 塞里脱 2.5 g, 加水混合装柱 (100 ml 直径 1.2 cm)。用 250 ml 丙酮洗脱, 真空蒸干, 再用 2 ml 丙酮溶解。IAA, GA₃ 回收率为 86.13% 以上, 洗脱液无 ABA 光斑。

1.2.2 纸层析 上述样液用吹氮法浓缩至 0.5 ml, 进行点样层析。层析纸为新华 3 号滤纸, 展开剂为异丙醇: 氨水: 水 (8: 1: 1) 黑暗中展开, 按标准 R_f 值剪下、层析纸用丙酮浸提 4 次, 合并真空抽干、用 2 ml 丙酮洗出。标准样 R_f 值 IAA 为 0.55, GA₃ 为 0.7, ABA 为 0.8。

• 本文为国家自然科学基金资助项目
1991-09-02 收稿

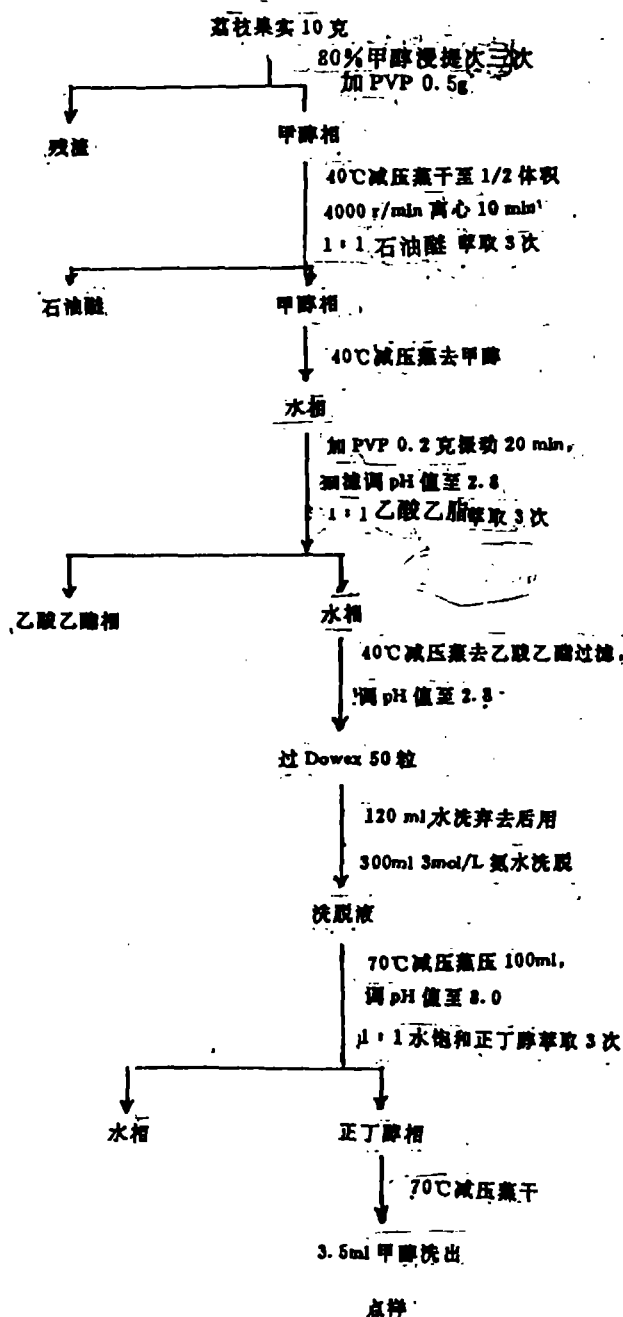
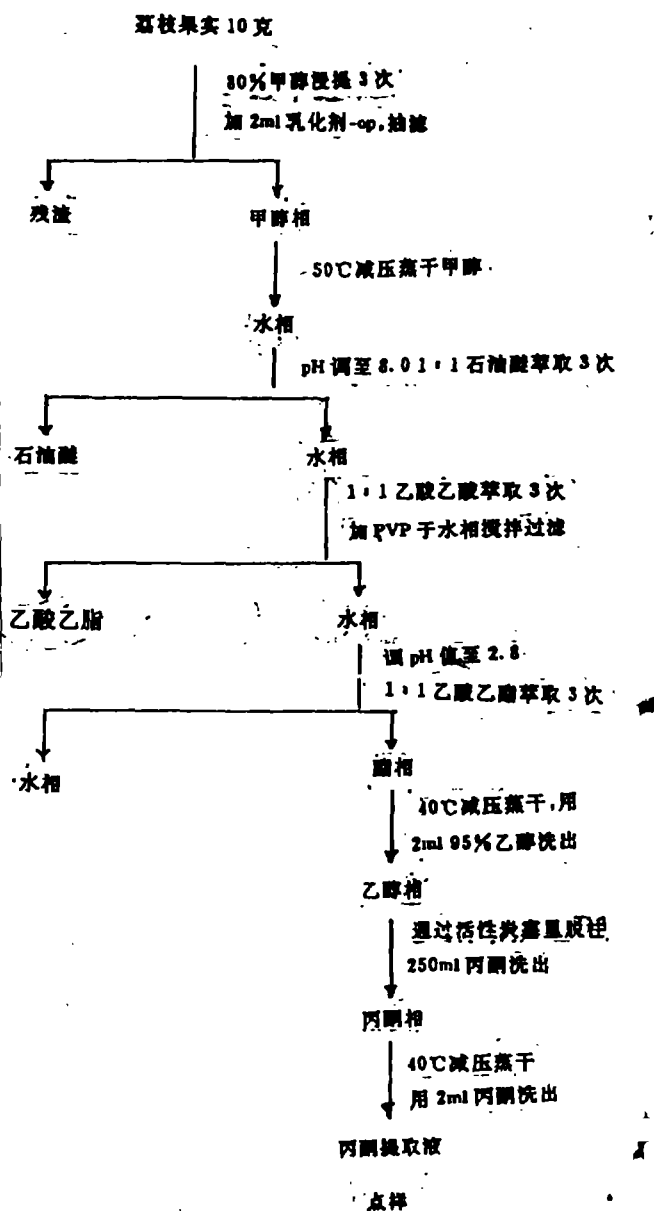


图 1 CTK 提纯流程表

图 2 IAA GA₁₊ 提取流程表

1. 2. 3 薄层层析 支持剂用荧光氧化铝, 支持板 20 cm×7 cm 软质玻璃板; 展开剂为正丁醇:氨水(比重 0.9):水(2:8:1)在黑暗中展开至 10 cm 处取出、在紫外灯下观察 CTK 暗斑位置, 刮下暗斑区粉末, 用 95%乙醇提取 3 次, 浓缩至 2 ml, CTK Rf 值为 0.55~0.95, 回收率 60.04%。

1. 2. 4 甲酯化^[2] 用真空避光抽干样品提取液加入乙醚—重氮甲烷混合液 1 ml, 放入冰箱(2~4℃)过夜, 次日取出真空干燥。

1. 2. 5 三氟乙酰化将避光干燥的样品加入去水乙酸乙酯 2 ml, 并加入少量无水硫酸钠, 旋涡混合后加入 0.5 ml 三氟乙酰酐, 于 20℃至 25℃下旋涡混合反应 1 h, 真空干燥后样品再用 0.5 ml 乙酸乙酯溶解。

1. 3 内源激素的鉴定

1. 3. 1 CTK 生物鉴定用尾穗苋黄化幼苗子叶苋红合成法^[1] 每样本 10 g, 重复 2 次。

1. 3. 2 GA 生物鉴定用 α -淀粉酶法^[3]

1. 3. 3 IAA, GA₁₊₇ 气相色谱定量测定 色谱条件: 玻璃柱 1.5 m×4 mm, 固定液 OV-17 3%, 柱温 180℃, ECD 检测器, 温度 220℃, 进样口温度 230℃, N₂ 68 ml/min; IAA 保留时间 1' 29"; GA₁₊₇ 4' 22"。进样前甲基化、乙酰化。重复 2 次。

1. 3. 4 乙烯气相色谱测定 仪器 Hitachi-163 型 GC, 检测器 FID, 玻璃柱 2 m×4 mm, 担体 Al₂O₃, 60~80 目, 固定液 1.5% Apiezon, 柱温 90℃, 进样器温度 100℃, 载气 N₂ 30 ml/min. 进样量 1 ml, 采气样方法是果实浸入水内, 用真空集气法、真空度 20 mm Hg 柱抽 20 S 每样本 20 g, 重复 2 次。

1. 4 外源激素应用田间试验

1. 4. 1 CTK 应用 5, 10, 20, 40 ppm BA 分别于谢花后 6, 18 和 37 天喷幼果及果柄, 每处理喷 10 个果穗, 处理前统计果数, 喷后 8 至 10 天调查果数, 并统计座果率。

1. 4. 2 外源 GA 处理 用 50 ppm GA₃ 开花前喷 25 个短花穗, 就近选相似大小数量花穗喷水对照。谢花后 36 天选 25 个相似大小果穗调查果数后喷 50 ppm GA₃, 10 天后调查果数。

2 结 果

2. 1 荔枝果实发育期间内源激素含量动态

2. 1. 1 CTK 含量动态 荔枝果实发育期间种子和果皮中 CTK 含量在花后 3 周内处于较高水平, 花后 10 天内含量最高, 以后逐渐下降并维持在较稳定的低水平上(图 3-A)。

2. 1. 2 IAA 含量动态, 荔枝花谢后含量较低, 以后随着果实生长加速而含量增加, 花后 25 天种子中 IAA 含量达到最高峰, 随着下降, 到 40 天降至最低点, 接着又上升至第 60 天

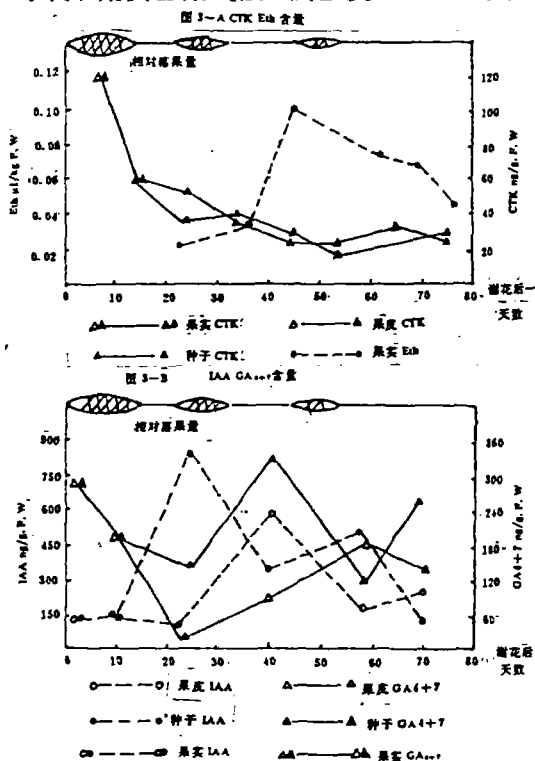


图 3 荔枝果实发育期间内源激素含量动态

出现第二个高峰,然后又下降直至果实成熟(图3-B)。

2. 1. 3 GA_{4+7} 含量动态 花后 GA_{4+7} 含量较高随着果实生长不断下降,但花后第23天种子内 GA_{4+7} 开始急剧增加至40天达高峰,随后又下降至第60天为最低点,以后随着果实成熟又逐渐增加(图3-B)。

结果还表明果皮中 IAA 与 GA_{4+7} 与种子中的含量动态趋势相似,但高峰期比种子的迟15天出现,峰值也较低(图3-B)。CTK 无此现象(图3-A)

2. 1. 4 荔枝果实发育前期乙烯含量较低,花后37天开始上升,45天左右达到高峰,以后逐渐下降,直至发育后期。

2. 2 外源激素应用效果

结果表明(表1)、谢花后6天用5~40 ppm BA 处理果穗可极显著地提高座果率,但花后第18和37天用BA处理的,座果率与对照接近。

从表2可看出,用50 ppm GA_3 处理花穗座果率低于对照,谢花后36天处理座果率高于对照。

表1 外源 BA 处理对荔枝座果率的影响*

处 理	时 间 处 理	谢花后 6 天	谢花后 18 天	谢花后 37 天
		座果率	座果率	座果率
对照		28.44	62.87	86.28
5ppm		42.84**	66.89	87.76
10 ppm		52.84**	63.89	85.99
20 ppm		49.86**	59.57	86.53
40 ppm		42.75**	61.91	89.36

* $p < 0.01$

** 达极显著水平 BA 处理前果数为100%计算。

n=10

表2 外源 GA_3 处理对座果率的影响*

处 理	处 理 时 期	处理花穗	谢花后 36 天处理果穗		
		平均果数/穗	处理前果数/穗	处理后果数/穗	座果率
GA_3 50 ppm		4.9**	8.0	7.0	87.5**
对照		10.23	6.4	4.6	71.9

* $P < 0.1$ 水平

** 显著差异 n=25

3 讨论

据倪耀源观察^[7]荔枝果实生长发育分三个阶段,第一阶段为谢花后至34天左右,是胚、

种皮和果皮的发育,每二阶段从谢花后34天至50天左右,是子叶迅速发育阶段,第三阶段由谢花后50天至果实成熟,是假种皮迅速生长发育时期。袁荣才观察^[10]荔枝整个果实生长发育期间都有落果现象,但也有相对集中期,其中有3次落果高峰,第1次花后7~10天,第2次为谢花后27~30天,第3次是谢花后50天左右;同时果实内源ABA含量高峰与落果高峰相对应。本研究通过果实发育期间CTK、IAA、GA₄₊₇, Eth含量的测定及外源生长调节物质的应用也证明了荔枝果实的生长发育;落果与内源激素的含量动态密切相关。

荔枝果实中CTK在果实发育前期,即谢花后第2~3周内含量高,这时正是受精合子发育初生胚乳分裂与原胚形成期^[1],果实的生长主要是增加细胞的数目。而CTK对促进细胞的分裂起着积极的促进作用。高水平的CTK含量可促进细胞分裂,从而使胚发育正常,减少果实前期的落果^[4]。本试验用外源BA对荔枝作保果试验,结果表明仅在谢花后第6天使用才能获得显著效果,其它时期用BA处理效果不显著、进一步证明了CTK在果实发育前期的重要作用。

荔枝种子IAA含量高峰出现在果实发育第一阶段后期至第二阶段,这与果实胚的形成和假种皮(果肉)生长有关。苹果^[11],葡萄^[16],中IAA含量也有相似的趋势。种胚发育和种子的形成本身需要某些植物激素促进,同时也合成新的植物激素,IAA是其中之一^[12]。所以,在果实发育第一阶段后期应用有类似生理作用的植物生长调节剂,对减少第二次落果高峰是很有前途的。但它的作用机理不详,是促进营养物质的集中,加速细胞分裂和增大,还是抑制脱落物质的合成;有待进一步的研究。

本研究指出,荔枝种子和果皮内源GA含量发育第一阶段低,第二阶段和第三阶段初含量达到高峰。外源GA₃应用只在降低第三次落果高峰有效。柑桔类也有类似的规律^[1]。这时期还是果实体积和重量开始进入迅速增长期。所以,内源GA的含量为果实膨大及增重密切相关^[7]。乙烯是促进果实成熟,脱落的激素^[8],芒果^[13],桃^[14]使用外源乙烯处理可以促进落果。本研究测得在谢花后40~50天乙烯含量有一高峰,这正是第三次落果高峰期^[15],所以乙烯与荔枝果实脱落有关。

荔枝果实发育期间IAA和GA₄₊₇种子与果皮中含量的动态趋势相似,但种子中含量高峰的出现比果皮早15天左右,峰值也比果皮高。这证明IAA、GA的生物合成与种子的发育密切相关,种子在发育过程中能合成上述二种激素^[1]。而CTK含量种子与果皮差别不明显,因为CTK的生物合成在根部,通过木质部上升液流通往地上部份^[1]。

Lieberman^[12]认为果实的成熟,生长发育是多种激素作用的结果,植物激素对果实发育的调节与控制起多种激素综合平衡作用^[6]。本研究的各种内源激素在荔枝果实发育过程含量的动态与他提出的果实发育期间内源激素水平的理论动力曲线相似。荔枝果实生长发育整个过程中内源激素含量是动态变化的过程,果实发育不同的阶段有不同的激素起主要作用,这种激素不足将会失去平衡而引起落果,及时增加相应的外源激素将减少落果。本研究使用外源激素保果试验的结果证实上述结论。所以生产上在荔枝果实发育不同阶段及时应用不同的外源激素植物生长调节剂,是减少落果、获得增产的有效途径之一。

参 数 文 献

- 1 丁静,沈镇德,方亦维等.植物内源激素的提取、分离和生物学鉴定.植物生理学通讯,1979(2), 27~34
- 2 沈镇德,丁静.用气液色谱—电子捕获检测器测定脱落酸.植物生理学通讯,1984,(3): 47~49.

- 3 吕柳新, 余小玲, 叶明志. 荔枝胚胎发育机制的探讨. 福建农学院学报, 1989, 18 (2), 149~155
- 4 希尔曼, J. R. 化学分析中的分离方法. 北京: 科学出版社, 1983, 45~46
- 5 李明启. 果实生理. 北京: 科学出版社, 1984, 117~133
- 6 胥洱, 王大元, 李建和. 6-卡啉呤和赤霉素控制华盛顿脐橙生理落果的研究. 园艺学报, 1986, 9 (2), 5~12
- 7 倪耀源, 吴素芬, 1990. 荔枝栽培, 北京: 农业出版社, 1990. 90~92
- 8 增田雄芳, 胜见允行, 今吴英雅. 辽宁铁岭农学院译, 植物激素. 北京: 科学出版社, 1978. 145~146
- 9 Crane J. C. The role of hormones in fruit set and development, Hortscience, 1969, 4, 108~111
- 10 Goldacre P. L. and Bottomley W. A Kinin in apple fruitlets, Nature 1959, 184, 555~556
- 11 Hopping M. E. and Bukovac M. J. Endogenous plant growth substances in developing fruit of prunus cerasus L. II Isolation of indole-3-acetic acid from the seed, J. Am. Soc. Hortl. Sci. 1975, 100 (4), 384~401
- 12 Lieberman M. Post harvest responses and plant growth regulators, Pesticide chemistry in the 20th century, American chem. Society, 1977, 283~285
- 13 Lukwill L. C. Studies of fruit development in relation to plant hormones I, Hormone production by the development apple seed in relation to fruit drop, J. Hortisci. 1957, 28, 14~24
- 14 Martin G. C. et al, Hormones in pear seeds I, J. Am. Soci. Hortsci 1977, 102 (1), 16~19
- 15 Nitsch J. P. et al, Natural growth substances in concord and concord seedless grapes in relation to berry development, Am. J. Bot. 1960, 47, 566~576
- 16 Noga G. Physiological mechanism of leaf and fruit abscission in peach, Plant growth regulator abstracts 1984, 10 (11), 155
- 17 Ram S. and Pal S. Studies on the naturally occurring gibberellins in mango fruit, J. Hortl. Sci. 1979, 54 (3), 209~215
- 18 Tommy A. Proceedings of the Florida State Horticultural Society Publ. 1984, 185~188
- 19 Yuan R. C. (袁荣才) and Huang H. B. (黄辉白) Litch fruit abscission, Its patterns, effect of shading and relation to endogenous abscisic acid, Scientia Hortic. 1988, 36, 281~292

STUDIES ON THE CHANGES OF ENDOGENOUS HORMONE CONTENTS IN LITCHI (*Litchi chinensis* SONN.) FRUITS DURING DEVELOPMENT

Ji Zuoliang Liang Lifeng Liu Jianliang Wang Gangtao
(Horticulture Department)

Abstract Contents of endogenous hormones in Litchi fruits (*Litchi chinensis* Sonn. Var. Huaizhi) were determined during fruit development. The data showed that the contents of the cytokinin (CTK) and Indole-3-acetic acid (IAA) were higher during the early stages of fruit development. There were a peak of gibberellin level and a peak of ethylene level at the second stage of fruit development. The fluctuations of these endogenous hormone levels were correlated respectively with growth, development and drop of fruits. Treated fruiting panicles with CTK at the first stage or GA₃ at the second stage could increase the rate of fruit setting obviously.

Key words · Litchi (Lychee); Fruit development; Fruit set; Endogenous hormone