

包膜对越冬期苹果枝条内源脱落酸和赤霉素含量变化的影响

牛自勉

(山西省农业科学院果树研究所, 太谷 030800)

房耀仁

(北京林业大学, 北京 100083)

许月明 陆 军

(浙江省林业科学研究所, 杭州 310023)

摘 要 用气相色谱法和高效液相色谱法测定了越冬期间不同处理苹果枝条内源脱落酸和赤霉素的含量变化。结果表明: ① 越冬前期包膜和露地枝条皮层的脱落酸含量高, 2月20日开始迅速下降, 包膜枝条下降快, 3月5日至4月5日显著低于露地枝条 ($P < 0.05$); ② 包膜枝条营养芽内源脱落酸1月20日达 $1.47 \times 10^{-3} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 峰值, 在其后15d中脱落酸含量迅速下降, 3月5日至4月5日维持低而稳定的水平; ③ 越冬期间两个处理营养芽内源赤霉素呈上升趋势, 包膜枝条上升快, 其含量始终高于露地枝条, 分别于2月5日和3月20日出现明显高峰, 包膜枝条4月5日显著高于露地枝条 ($P < 0.01$)。

关键词 苹果 枝条 包膜 脱落酸 赤霉素

脱落酸 (ABA) 是与苹果树越冬休眠密切相关的植物内源激素之一^[4~10], 近10年来国内外对露地越冬条件下苹果枝条皮层^[5~7]、营养芽^[4,6]、芽鳞片及分生组织^[8]的内源ABA含量变化及盆栽变温越冬条件下内源ABA含量变化方面进行了一些研究。迄今为止, 对越冬包膜条件下苹果枝条皮层、营养芽内源ABA含量变化及营养芽赤霉素 (GA_3) 含量变化国内外尚未有研究报道。本试验通过包膜和露地两个不同越冬条件下苹果枝条内源ABA和 GA_3 含量变化的对比分析, 探讨了越冬包膜处理之后苹果枝条内源ABA、 GA_3 的特殊变化规律, 分析了这种枝条内源激素的变化对处理树萌芽成枝的影响。

1 材料和方法

1.1 植物材料

试材取自山西省农业科学院果树研究所2~3年生富士和金冠苹果 (*M. pumila* Mill) 幼树, 砧木为八棱海棠 (*M. micromalus* Makino)。枝条皮层组织ABA含量测定于1986年

12月至1987年4月进行。枝条营养芽 ABA 和 GA_3 含量测定于1989年12月至1990年4月进行。试验处理分为塑料薄膜包裹、埋土越冬和自然露地越冬3种, 处理树每年12月中下旬修剪后即进行试验处理。枝条包膜材料选用0.01mm白色聚乙烯薄膜, 第二年4月10日解除包扎材料。处理树各60株。

枝条取样在不同越冬时期进行。每次从处理树外围随机取20个长枝, 在室内4℃条件下剪取中部5~10节的枝段; 皮层样品取节间树皮约10g, 从混合样中精确称样2g, 在-15℃冰箱中保存备用。营养芽在4℃下剥掉外层两片鳞片, 用手术刀从芽基部切下芽体, 称鲜样2g, 用80%甲醇5ml浸泡, 密封后在-15℃下保存。

1.2 ABA 的提取、分离及 GC 分析

ABA 提取和分离参照谭志一、Allen 等介绍的方法^[1,3]并作了两点调整: (1) 枝条样品色素类物质含量低, 试验取消了石油醚萃取过程。(2) 用四甲基氢氧化铵和碘甲烷酯化样品, 即取0.4ml二甲基乙酰胺和0.1ml甲醇溶解样品, 依次加入24%四甲基氢氧化铵和碘甲烷各10 μ l, 室温下反应30min。

ABA 气相色谱分析参照邵开基等介绍的方法^[2]进行。定性分析在严格控制气相色谱分析条件下, 用经过2537Å紫外线照射的脱落酸甲酯作对照, 按顺式脱落酸甲酯(Cis-Me-ABA)和反式脱落酸甲酯(Trans-Me-ABA)保留时间定性, 用极性不同的色谱柱验证。ABA的定量分析用外标法进行, 进样后绘制峰面积-浓度曲线图, 用内插法求出样品ABA含量。

ABA 标样由瑞士生产, 在4℃温度条件下保存。

1.3 GA_3 的提取、分离及 HPLC 分析

用80%甲醇浸泡低温保存的营养芽在0℃下研磨, 在1500r/min离心机上离心5min, 上清液过滤, 脱色后用旋转蒸发器浓缩至10 μ l, 进行HPLC分析。 GA_3 的分析用美国Waters公司高效液相色谱仪。色谱条件: Zorbax ODS柱(250×4.6mm), 流动相为甲醇: 乙腈: 水(2:2:6, v/v)。检测器为UV-254nm。

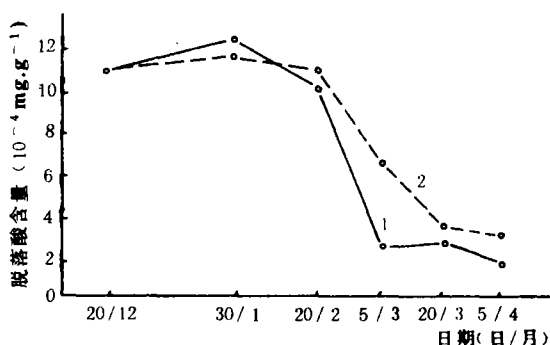


图1 苹果枝条皮层组织越冬期内源ABA的含量变化

1 包膜枝条; 2 露地枝条

2 结果与分析

2.1 枝条皮层组织内源ABA的含量变化

1986年12月至1987年4月分期测定了包膜和露地枝条皮层组织ABA含量(图1)。结果表明, 从12月30日至2月20日, 两处理树皮层组织内源ABA处于高含量时期。1月30日包膜和露地枝条皮层ABA含量最高, 分别为 $1.28 \times 10^{-3} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $1.15 \times 10^{-3} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

g^{-1} , 包膜枝条 ABA 含量显著高于露地枝条 ($P < 0.05$)。2 月 20 日以后皮层组织 ABA 迅速下降, 包膜枝条下降快, 3 月 5 日达到 $2.78 \times 10^{-4} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 而同期露地枝条 ABA 含量为 $6.20 \times 10^{-4} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 包膜处理 ABA 含量是露地枝条的 44.8%, 处理间差异极显著 ($P < 0.01$)。3 月 20 日到 4 月 5 日, 包膜和露地两种处理皮层组织内源 ABA 为低含量时期, 但包膜枝条 ABA 含量显著低于露地枝条 ($P < 0.05$)。

2.2 枝条营养芽内源 ABA 的含量变化

1989 年 12 月 20 日至 1990 年 4 月 5 日分期测定了包膜和露地富士苹果枝条营养芽 ABA 含量 (图 2)。结果表明, 营养芽内源 ABA 含量变化趋势与皮层相似, 但营养芽内源 ABA 迅速下降期比皮层早 30d 左右。包膜枝条营养芽 1 月 20 日 ABA 的高峰值为 $1.41 \times 10^{-3} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 之后 ABA 含量迅速下降, 到 2 月 5 日降为 $4.56 \times 10^{-4} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 15d 内营养芽内源 ABA 含量下降了 67.7%, 3 月 5 日到 4 月 5 日苹果幼树萌芽前一段时间, 包膜处理营养芽 ABA 维持低含量水平, 下降缓慢, 4 月 5 日达到 $0.78 \times 10^{-4} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 最低含量水平。相比之下, 露地越冬营养芽 2 月 5 日以后内源 ABA 下降缓慢, 含量值较高。从 2 月 5 日到 3 月 20 日露地枝条营养芽 ABA 含量显著高于包膜枝条 ($P < 0.05$), 其中 2 月 20 日差异极显著 ($P < 0.01$)。到 4 月 5 日, 随

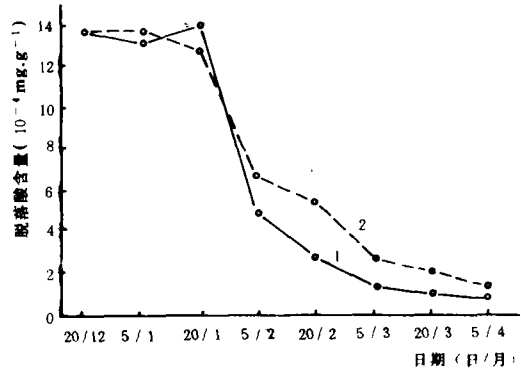


图 2 苹果枝条营养芽越冬期内源 ABA 的含量变化

1 包膜枝条; 2 露地枝条

着露地枝条内源 ABA 的下降, 两种处理营养芽 ABA 含量接近, 差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 枝条营养芽内源 GA_3 的含量变化

在测定枝条营养芽内源 ABA 的同时, 还测定了不同处理树越冬期间内源 GA_3 的含量变化 (图 3)。结果表明, 从 1 月 5 日到 4 月 5 日包膜和露地枝条营养芽 GA_3 含量起伏上升。这一期间包膜枝条 GA_3 上升快, 高峰明显, 2 月 5 日和 3 月 20 日分别达到 $8.73 \times 10^{-5} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $1.51 \times 10^{-4} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 两个峰值。1 月 5 日到 2 月 5 日 30 天内

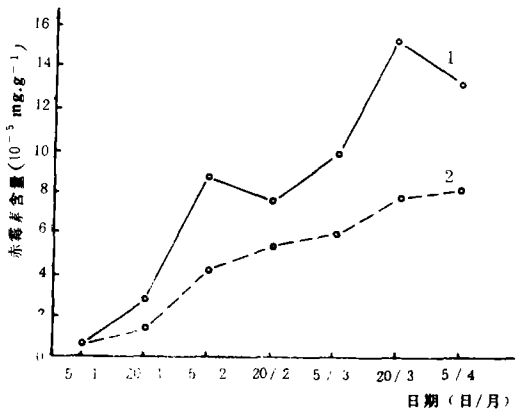


图 3 苹果枝条营养芽越冬期内源 GA_3 的含量变化

1 包膜枝条; 2 露地枝条

GA_3 含量增加了 10.6 倍。到 3 月 20 日, 75 天中 GA_3 含量增加了 19.1 倍。在同一时期, 露地枝条营养芽 GA_3 上升较慢, 含量值变幅较小, 4 月 5 日达 $8.07 \times 10^{-5} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 90 天中 GA_3 含量增加了 9.8 倍。从试验结果可以看出, 包膜处理明显提高了越冬期间, 尤其是苹果

树萌芽前一段时间营养芽的 GA_3 含量水平。4月5日的测验结果表明, 包膜枝条营养芽内源 GA_3 含量显著高于露地枝条 ($P < 0.01$)。

2.4 营养芽内源 ABA 和 GA_3 含量与幼树萌芽成枝的关系

不同越冬条件下富士苹果营养芽内源 ABA 和 GA_3 的含量变化不同。包膜处理在越冬中后期到萌芽前提高了苹果营养芽内源 GA_3 含量, 降低了营养芽内源 ABA 含量。为了探讨营养芽内源激素的含量及平衡的改变对幼树生长发育的影响, 1990年3月5日到4月5日以金冠和富士苹果为试材, 测试了越冬期间包膜、埋土及露地枝条的内源 ABA 及 GA_3 含量。同年4月20日至5月12日调查了不同试验处理树的萌芽率及成枝率(见表)。结果表明, 在两个苹果品种中, 不同越冬处理的苹果幼树营养芽内源 ABA 和 GA_3 含量不同, 其处理树的萌芽率和发枝率也明显不同。相关分析结果表明, 苹果幼树萌芽率和成枝数与萌芽前 30d 营养芽内源 ABA 平均含量呈非常显著负相关 ($P < 0.01$), 与4月5日营养芽内源 ABA 含量无相关性 ($P > 0.1$)。苹果幼树萌芽率和成枝数与萌芽前 30d 营养芽内源 GA_3 平均含量值及4月5日的 GA_3 含量值呈非常显著正相关 ($P < 0.01$)。

表 营养芽脱落酸、赤霉素含量与萌芽成枝的相关测验

品种	试验处理	萌芽率 (%)	新梢数 (个)	脱落酸含量($10^{-4} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)		赤霉素含量($10^{-5} \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	
				4月5日	3月5日~ 4月5日	4月5日	3月5日~ 4月5日
金冠	包膜	74.6	14.8	1.03	1.20	13.42	13.01
	埋土	61.4	11.9	0.87	1.69	9.59	9.33
	露地	45.2	8.8	1.36	2.63	7.63	7.26
富士	包膜	80.4	16.4	0.78	0.93	13.41	12.68
	埋土	60.3	13.8	0.94	1.84	8.93	8.49
	露地	42.1	9.7	0.89	2.06	8.07	6.83
脱落酸、赤霉素含量与萌芽率的相关测验				-0.4831	-0.9311	0.9442	0.9729
				($P > 0.1$)	($P < 0.01$)	($P < 0.01$)	($P < 0.01$)
脱落酸、赤霉素含量与新梢总数的相关测验				-0.5951	-0.9323	0.8844	0.8839
				($P > 0.1$)	($P < 0.01$)	($P < 0.01$)	($P < 0.01$)

3 讨论

在一般露地越冬条件下, 苹果幼树处于开放的环境系统中, 越冬期间枝条不同组织器官内源激素的含量变化受环境因子的影响有一定的变化规律。苹果枝条包膜后, 在枝条与外界环境之间形成了一道隔离层, 改变了枝条与外界环境水、气、光、热等因子的交换速率, 形成了一个内部微气候环境。这种微气候因子的变化, 影响着枝条组织器官的新陈代谢, 从而影响了幼树枝条内源激素的含量变化。

在试验中, 富士苹果幼树在露地越冬条件下营养芽内源 ABA 经历了越冬前期的高含量期, 迅速下降期和萌芽前的低含量期, 这与 Scceley⁽⁴⁾ 在金冠苹果、Mousdale⁽⁶⁾ 在 M26 苹

果砧木上的研究结果相似。同时, 试验通过包膜和露地越冬苹果幼树枝条内源激素含量变化的分析, 证明了越冬包膜条件下枝条内源 ABA 和 GA_3 的变化规律明显不同于露地越冬处理。在越冬前期, 包膜枝条营养芽内源 ABA 含量高, 1 月 20 日达峰值。这一时期外界温度低, 环境条件恶劣, 内源 ABA 含量高可能有利于幼树营养芽的安全越冬。在越冬中期, 包膜枝条营养芽内源 ABA 下降快, GA_3 含量迅速上升, 内源激素的含量及平衡急剧变化。苹果幼树萌芽前一段时间, 包膜枝条营养芽及皮层组织 ABA 含量低, 营养芽的 GA_3 含量则显著高于露地枝条。由此可见, 越冬期间包膜处理对苹果幼树枝条内源 ABA 和 GA_3 的含量变化具有明显的影响作用。

一般认为苹果树通过越冬休眠而正常萌芽与越冬期内源 ABA 和 GA_3 的含量水平有关, 也可能取决于二者的平衡。本试验结果表明, 枝条不同组织内源激素 ABA 和 GA_3 越冬末期的含量与幼树越冬有关, 而幼树越冬中后期较长一段时间枝条内源 ABA 和 GA_3 的含量变化可能与苹果幼树越冬关系更为密切。本试验中, 苹果幼树萌芽成枝率与 4 月 5 日营养芽内源 GA_3 含量呈正相关, 但与营养芽内源 ABA 含量无相关性。然而幼树萌芽率和发枝数与萌芽前 30 天营养芽内源 GA_3 含量呈正相关, 也与营养芽内源 ABA 含量呈负相关。苹果幼树通过越冬休眠到正常萌芽要经历一个漫长的物质代谢过程, 萌芽前一段时间枝条组织器官进行着旺盛的新陈代谢, 这一时期由于包膜处理引起的枝条组织内源 ABA 下降和 GA_3 含量上升, 必然对苹果树的萌芽和新梢生长产生一定的影响, 从而提高了处理树的萌芽成枝率。

参 考 文 献

- 1 谭志一, 董愚得等. 红松种子休眠与脱落酸及外种皮的关系. 中国科学(B辑), 1983(9): 816~822
- 2 邵开基, 牛自勉等. 苹果砧木矮化程度与ABA含量关系的研究. 园艺学报, 1987, 14(1): 7~11
- 3 Allen JG, Hall KJ. Rapid method for the determination of abscisic acid applied to apple leaves. Journal of Chromatography, 1981(205): 199~201
- 4 Seeley SD, Powell LE. Seasonal change of free and hydrolyzable abscisic acid in vegetative apple buds. J Amer Soc Hort Sci, 1981(106): 405~409
- 5 Mousdale DM. Endogenous abscisic acid and the regulation of protein metabolism in shoot bark of apple. Biochemie und Physiologie der Pflanzen, 1982(177): 601~610
- 6 Mousdale DM. Seasonal variation and metabolism of abscisic acid in shoot bark and lateral buds of apple. Biochemie und Physiologie der Pflanzen, 1983, (178): 503~510
- 7 Mousdale DAM et al. Biochemistry of a plant dormancy process. Biologia Plantarum, 1986(28): 6~9
- 8 Powell LE, Maybee CG. Changes in abscisic acid in buds of *Malus domestica* during winter. Proceedings of the international symposium of plant growth regulation, Part 1, 1987, 165~171
- 9 Borkowska B, Powell LE. Absciscic acid relationships in dormancy of apple buds. Scientia Horticulturae, 1982(18): 111~117
- 10 Mousdale DM. Endogenous abscisic acid and the regulation of proteolytic activities in shoot bark of apple. Biochemie und Physiologie der Pflanzen, 1983(178): 373~379

Changes of Endogenous Abscissic Acid and Gibberellic Acid in Film-Enveloped Shoots of Apple Tree During Winter

Niu Zimian

(Institute of Pomology, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taigu)

Fang Yaoren

(Beijing Forestry University, Beijing)

Xu Yueming

Lu Jun

(Zhejiang Institute of Forestry, Hangzhou)

Abstract Changes of endogenous abscissic acid(ABA) and gibberellic acid(GA₃) in shoots of open fields and plastic film enveloped young apple tree of *Malus pumila* on stock of *Malus micromalus* during the overwintering period were determined by GC and HPLC respectively. The results showed that the contents of ABA in shoot bark of open fields and plastic film enveloped trees were high in the earlier stage of winter, reached their peaks (1.15×10^{-3} and $1.28 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) on Jan. 30 and decreased quickly after Feb. 20. In the later stage of winter the ABA content of plastic film enveloped tree was lower than that of open fields tree. The content of ABA in lateral vegetative buds of plastic film enveloped tree reached its peak ($1.47 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) on Jan. 20, then decreased rapidly within 15 days and remained very low (about $7.8 \times 10^{-5} \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) from Mar. 5 to Apr. 5.

The content of GA₃ in vegetative buds increased during the overwintering period. GA₃ content of plastic film enveloped tree increased quicker than that of open fields tree and reached its peaks (8.73×10^{-5} and $1.15 \times 10^{-4} \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) on Feb. 5 and Mar. 20. The GA₃ content of plastic film enveloped tree was higher than that of open fields tree on Apr. 5. It is concluded that GA₃ and ABA in the shoots play an important regulatory role during the overwintering period.

Key words: Shoot of apple; Envelopment with plastic film; ABA; GA₃