

大久保桃实生树不同节位内源多胺含量的动态变化

刘国俭¹, 赵胜建¹, 李春敏¹, 常瑞丰¹, 王广鹏¹, 张新忠¹, 束怀瑞²

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

摘要:用高效液相色谱法对2年生大久保桃自然实生树不同节位叶片、韧皮部中内源多胺含量的测定结果表明:随着实生树节位升高,桃叶片和韧皮部两种组织中的腐胺含量同步出现2次高峰,分别是46~50节和81~85节;叶片中亚精胺含量随节位升高而呈上升趋势,自46~50节起含量陡增;韧皮部中精胺含量随节位升高出现双峰曲线,在46~50节形成第1个拐点,之后在81~85节形成第2个拐点。说明46节和81节可能是桃实生树阶段转变的2个临界点。

关键词:桃; 不同节位; 多胺; 阶段转变

中图分类号: S662.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2006)增刊-0122-03

Dynamic Changes in Endogenous Polyamine Content in Different Node of Peach Seedlings (*Prunus persica* cv. Okubao)

LIU Guo-jian¹, ZHAO Sheng-jian¹, LI Chun-min¹, CHANG Rui-feng¹,
WANG Guang-peng¹, ZHANG Xin-zhong¹, SHU Hua-rui²

(1. Changli Institute of Pomology, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Changli 066600, China; 2. Department of Horticulture, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: Endogenous polyamine content in leaves and phloem of different nodes of 2-year-old open pollinated peach seedling trees (*Prunus persica* cv. Okubao) were analyzed by high performance liquid chromatography. The results showed that putrescine (Put) content in the leaves and phloem had the two highest level simultaneously with the node position went up, the Put contents' peak were at node No. 41-45 and No. 81-85, and spermidine (Spd) in the leaf samples increased rapidly from the node No. 46-50, spermine (Spm) content of phloem took on double peak curve and the first peak appeared at node No. 46-50 and the second occurred at node No. 81-85. All these indicated that the node No. 46 and 81 could be the critical points of phase change of peach seedling trees.

Key words: *Prunus persica*; Different node; Polyamines; Phase change

果树实生树的个体发育过程分为童期、转变期和成年期^[1]。果树实生树童期长严重制约着品种改良和育种工作效率的提高。研究实生树童期、童性的生理机制,并依据其机理进行调控,促进实生树提早结果,对整个果树事业的发展具有重要意义。

多胺(Polyamines, PAs)作为一类新的植物生理活性物质,广泛分布于植物体内。常见的有腐胺(Putrescine, Put)、亚精胺(Spermidine, Spd)、精胺(Spermine, Spm)等。多胺与果树的童期与花芽分化

关系密切,它能促进营养生长向生殖生长转变^[2~4]。金勇丰^[5]等在研究湖北海棠实生树后指出实生树叶片中多胺总量、精胺和腐胺含量梯度变化似乎与阶段转变相吻合,多胺同阶段转变有一定的关系;王广鹏^[6]等研究认为21节可能是巨峰葡萄实生树童性消失进入成年生殖生长期的临界点,Spd含量可作为实生树阶段转变的标记。而关于桃实生树阶段转变过程中的内源多胺含量变化至今未见报道,为此,本研究测定了大久保桃实生树主干不同节位的叶

收稿日期: 2006-03-30

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(C200400739)

作者简介: 刘国俭(1969-),男,黑龙江兰西人,副研究员,主要从事果树种质资源与遗传育种方面的研究工作;赵胜建为通讯作者。

片、韧皮部中的腐胺、亚精胺和精胺的含量变化,以期筛选与桃实生树童性消失,并进入成年营养生长期相关的生理生化标记,探讨内源多胺同阶段转变之间的关系。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试材料为2年生大久保桃(*Prunus persica* cv. Okubao)自然实生树,第2年植株留双分枝。7月上旬随机选取30株实生树为1次重复,共2次。按全园实生苗的基部节间平均长度换算各分枝的着生节位,每个分枝按每5节为1个采样单位,重复内相同节位混合采样,做好标记后置塑料袋内,放入冰盒带回实验室。洗净,并以试验纸巾吸干表面水分,分别采集每个样品的叶、韧皮部,用纱布包好,投入液氮中速冻。

1.2 试剂与仪器

腐胺、精胺、亚精胺和苯甲酰氯购自Sigma公司,甲醇为国产色谱纯,水为双蒸水。日本岛津的LC10Atvp高效液相色谱,SPD-10Avvp紫外-可见光检测器,SIL-10Advp自动进样器组成。

1.3 方法

1.3.1 内源多胺的提取 参照刘俊^[7]的方法并加以改进。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100 mg细样粉,加入2 mL预冷的5%高氯酸,冰浴条件下超声波浴10 min,冰浴

浸提1 h后,4 ℃、10 000 r/min离心30 min,取0.5 mL上清液于另1支7 mL的离心管中,加入7 μ L苯甲酰氯,接着加入1 mL 2 mol/L NaOH,涡旋混合30 s,放在37 ℃水浴锅中酰化20 min。酰化液分别加入2 mL饱和NaCl溶液和2 mL乙醚,震荡后以2 000 r/min离心5 min。取1.5 mL醚相于DNA浓缩仪中干燥。用200 μ L流动相涡旋溶解后过0.45 μ m的水相微孔滤膜,取10 μ L进样。

1.3.2 内源多胺的测定 流动相: 甲醇: 双蒸水=70:30; 流速: 0.7 mL/min; 柱温: 30 ℃; 色谱柱: 岛津生产的Shim-pack VP-ODS柱(150 mm×4.6 mm, 粒径4.6 μ m); 检测波长 230 nm; 数据采集和处理由Class-vp色谱工作站自动完成; 定量分析: 外标法定性, 峰面积-标准曲线法定量。

2 结果与分析

2.1 Put含量的变化

图1表明,相同节位韧皮部中Put含量明显高于叶片,且变幅较大。2种组织中的变化趋势基本一致,均随着实生树节位升高而呈相同规律变化;同步出现2次高峰,分别在46~50节和81~85节。韧皮部中Put含量在2次高峰前随节位升高而急剧增加,之后迅速下降,基本恢复到31节的水平;叶片中的Put含量变化缓慢,达到高峰时与韧皮部中高峰期同步,后逐渐降低。

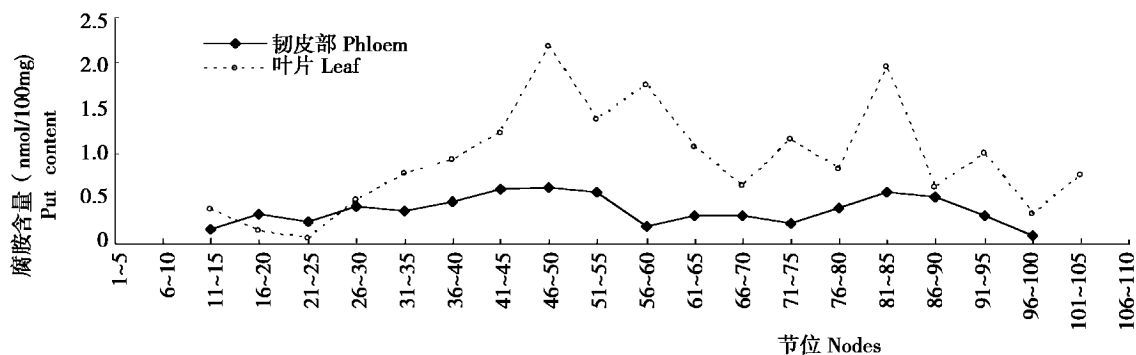


图1 桃实生树不同节位腐胺含量的动态变化

Fig. 1 Changes of Put content in different nodes of peach seedling trees.

2.2 Spm含量的变化

如图2所示,从基部开始,桃实生树韧皮部中Spm含量随节位升高而增加,在46~50节形成最高峰,随后含量骤然下降,在81~85节形成第2次高峰,之后基本维持现有水平。

2.3 Spd含量的变化

从图3可以看出,桃实生树叶片中Spd含量随

节位升高而渐渐增加,50节之前变幅不大,46~50节出现拐点,51节后含量猛增到之前的2倍以上。

3 讨论

Heloir等研究证明,随着黑比诺葡萄实生苗童性减弱,内源腐胺含量升高^[8]。在板栗组培苗中也发现类似结果^[9]。本研究发现桃韧皮部中腐胺含量

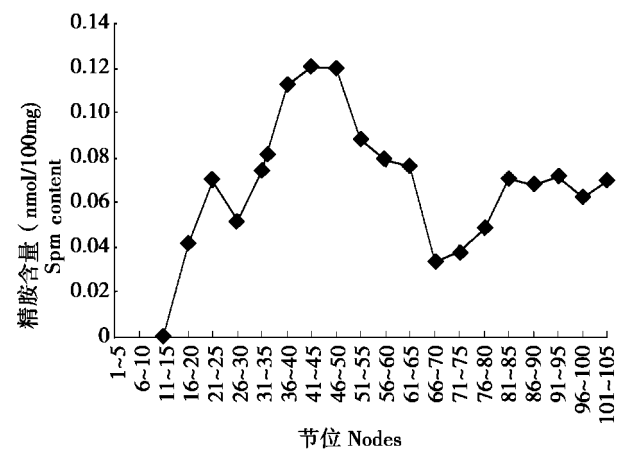


图 2 桃实生树不同节位精胺含量的动态变化
Fig. 2 Changes of Spm content in phloem of different node of peach seedling trees

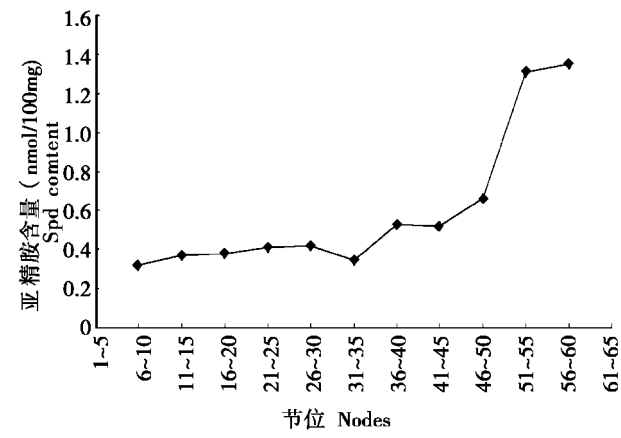


图 3 桃实生树不同节位亚精胺含量的动态变化
Fig. 3 Changes of Spd content in leaves of different nodes of peach seedling trees

进入成年营养生长期呈下降趋势,与葡萄、板栗的结果完全不一样,这可能与不同树种间的差异有关。

徐继忠等^[10,11]研究发现红富士苹果花芽分化中, Spm 可能起主导作用, 3 种多胺中以 $10^{-5} \sim 10^{-6}$ mol/L Spm 促进苹果花芽形成的效果最为显著, 说明花芽分化需要较高水平的内源 Spm。本研究中发现, 桃实生树在第 50 节处 Spm 的含量突然增高, 并在第 50 节以上的节位中保持在较高水平, 这说明桃实生树在第 50 节时, 可能从童期阶段进入了成年期阶段。

大久保桃自然实生树的整个发育过程中多胺的动态变化曲线有两个明显拐点, 一个在 50 节前后,

另一个在 80 节前后。50 节前后叶片样品中的腐胺、亚精胺的含量以及韧皮部样品中的腐胺、精胺的含量均出现明显变化。因此认为第 50 节和第 80 节是大久保桃自然实生树的 2 个生理转折点。如果通过促花处理后, 在第 50 节处能形成花芽, 则可说明多胺的变化规律与桃实生树的阶段转变有关。

参考文献:

[1] Zimman R H. Symposium on growth regulators in fruit production[J]. Acta Horti, 1973, 34: 139- 142.

[2] Cabanne F. Hydroxycinnamic acid amides and ripening to flower of *Nicotiana tabacum* cultuar Xanthi n. c[J]. Plant Physiol, 1981, 53(3): 445- 451.

[3] Galston A W, Sawhney R K. Polyamines in plant physiology [J]. Plant Physiol, 1990, 94: 406- 410.

[4] Galston A W. Polyamines as modulators of plant development [J]. Bioscience, 1983, 33(6): 382- 388.

[5] 金勇丰, 李载龙, 陈大明. 湖北海棠实生树阶段转变过程中多胺、RNA/ DNA 和蛋白质含量的变化[J]. 浙江农业学报, 1998, 10(5): 264- 267.

[6] 王广鹏, 张新忠, 常瑞丰, 等. 葡萄实生树阶段转变过程中的内源多胺含量的变化[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(2): 181- 182.

[7] 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[J]. 植物生理学通讯, 2002, 37(1): 61- 62.

[8] Heloir M C, Fournioux J C, Barbie R M *et al.* Endogenous polyamine concentrations in juvenile, adult and micropropagated grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir) [J]. Vitis, 1998, 37(1): 61- 62.

[9] Ballester A, San Jos M C, Vidal N, *et al.* Anatomical and biochemical events during in vitro rooting of microcuttings from juvenile and mature phases of chestnut[J]. Annals of Botany, 1999, 83: 619- 629.

[10] 徐继忠, 陈海江, 邵建柱, 等. 外源多胺促进红富士苹果花芽分化形成的效应[J]. 果树科学, 1998, 15(1): 10- 12.

[11] 徐继忠, 陈海江, 马宝琨, 等. 外源多胺对富士苹果和幼果内源多胺与激素的影响[J]. 园艺学报, 2001, 28(3): 206- 210.