

草莓果实发育过程中 IAA 及其代谢相关酶的变化特性

原牡丹 苏 艳 侯智霞 翟明普

(北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室)

摘要:为了探索草莓果实中生长素的代谢变化及其发挥作用的机理,利用 HPLC 定量测定了草莓果实发育过程中瘦果和花托中的吲哚乙酸(IAA),结合生长素运输抑制剂 NPA 和 TIBA 处理考察了草莓果实中 IAA 含量以及不同存在状态的生长素氧化酶(IAO)和过氧化物酶(POD)活性变化,综合分析了草莓果实中 IAA 的变化特性、可能来源及其与生长素代谢相关酶的关系。结果表明:①盛花期的草莓瘦果(离生雌蕊)和花托中已存在一定水平的 IAA,瘦果中的 IAA 含量远高于花托中的;授粉受精后 IAA 含量逐渐上升,花托和瘦果中分别在绿熟前期和白熟前期出现峰值,并在转色期出现小峰值。②瘦果和花托之间生长素的运转与生长素极性运输体系密切相关。果实发育前期,花托中 IAA 含量与细胞质可溶性 IAO、以离子键结合的 IAO 的活性显著负相关;发育前期和后期 IAA 含量与 POD 活性显著正相关。表明草莓花托中对 IAA 的氧化分解起主要作用的可能是 IAO,而 POD 除了参与 IAA 分解之外,可能还与维持生长素的动态平衡、协同促进果实的生长发育有关。

关键词:草莓果实;生长素;生长素氧化酶;过氧化物酶

中图分类号:S668.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-1522(2009)06-0169-07

YUAN Mu-dan; SU Yan; HOU Zhi-xia; ZHAI Ming-pu. **Changing characteristics of auxin and the relative enzymes during the process of strawberry fruit development.** *Journal of Beijing Forestry University* (2009) 31(6) 169-175 [Ch, 26 ref.] Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China.

In order to explore the mechanisms of auxin action and metabolism, as well as the changing characteristics of its relative enzymes, IAA content in strawberry fruits with different treatments was determined by HPLC. Content of IAA and the activity of IAO and POD in fruits treated by NPA or TIBA, the inhibitor of auxin transport, were analyzed to investigate the changing characteristics and possible source of auxin, as well as the relation among IAA, POD and IAO. Results were showed as the followings: there had a certain count of IAA in receptacles and achenes, and IAA content in achenes was higher than that in receptacles. IAA increased quickly after fertilization. The IAA levels peaked in receptacles and achenes in the early green mature period and prior to the white mature period, respectively, and subsequently as the fruit matures, they both appeared a second peak in the color turning period. The movements of auxin between receptacles and achenes were correlated to the polar auxin transport. During the early stages of fruit development, content of IAA in receptacles was significantly negatively correlated with the activity of soluble IAO in cytoplasm and ionic bond IAO in cytoderm. While the content of IAA was significantly positively correlate with the activity of POD both during the early and later stage of strawberry fruit development, suggesting that IAO might play the crucial role in oxidized decomposition of IAA, yet POD might involve in the maintaining of dynamic balance of auxin and cooperat with it to promote the fruit development. These might put a substantive foundation to investigate the action mechanism of auxin in the development of strawberry fruits.

Key words *Fragaria ananassa* fruit; auxin; IAO; POD

收稿日期:2009-04-01

<http://www.bjfujournal.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

基金项目:国家自然科学基金项目(30500349)、北京市自然科学基金项目(6062020)、“十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD03A1104)。

第一作者:原牡丹。主要研究方向:果树发育生理。电话:010-62336044 Email:yuanmd@163.com 地址:100083 北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室。

(**责任编辑:**侯智霞。副教授。主要研究方向:果树发育生理。电话:010-62336044 Email:hzz@bjfu.edu.cn 地址:100083 北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室。)

(**责任作者:**侯智霞。副教授。主要研究方向:果树发育生理。电话:010-62336044 Email:hzz@bjfu.edu.cn 地址:100083 北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室。)

(**责任作者:**侯智霞。副教授。主要研究方向:果树发育生理。电话:010-62336044 Email:hzz@bjfu.edu.cn 地址:100083 北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室。)

草莓 (*Fragaria ananassa* Duch.) 属于蔷薇科 (Rosaceae) 草莓属多年生草本植物。生长素和草莓果实发育的关系很早就引起人们的关注。Nithsch 等^[1]利用去除瘦果和涂施外源生长素的方法, 首先提出了生长素调控草莓果实的发育。花后去掉草莓全部花托上的瘦果(种子)后, 肉质花托就停止生长; 去掉部分种子, 则仅有瘦果的那部分肉质花托发育, 长成形状不正常的果实。但是, 即使去掉所有的种子, 只要用 100 mg/L 的 β -NAA 涂在花托上, 花托也能发育成正常大小和正常形状的果实。说明在草莓果实正常发育中起关键作用的可能是来自于瘦果(种子)的生长素。以后又有许多关于生长素调控草莓发育的研究^[2-10]。这些研究多集中在生长素含量变化与果实发育间的关系, 对于草莓果实中引起生长素自身代谢变化的机制尚不清楚, 而这也是揭示生长素对果实发育的作用机制的关键。本研究利用生长素极性运输抑制剂茶基邻氨甲酰苯甲酸(NPA)和 2,3,5-三碘苯甲酸(TIBA)对发育着的草莓果实进行处理, 试图通过对草莓果实发育过程中吲哚乙酸(IAA)及其代谢相关酶的分析, 揭示草莓果实中生长素代谢变化及发挥作用的机理。

1 材料与方法

1.1 试材与取样

试材为京郊农场露地“全明星”草莓。2007 年春季(4 月中旬—5 月底), 选择生长健壮、长势一致的露地草莓苗 1 500 株, 分为 3 个处理, 每处理 500 株, 在草莓一级花序开花(4 月 29 日)时, 对其中心花进行标记, 分别用蒸馏水(对照 CK)、30 mmol/L 的 NPA 和 50 mmol/L 的 TIBA 蘸果(花), 每 4 d 处理 1 次。从开花后第 4 天到果实发育成熟(果实生长发育期约 26 d), 每 3~4 d 取样 1 次, 每次每处理取草莓果实 50~60 个, 取其中 10 个测量果实纵横径、果重, 其余果实分瘦果和花托用液氮速冻, 并存于超低温冰箱(−70℃), 供内源物质试验分析。

参考文献[11], 根据果实的发育和外观表现, 将本研究中草莓的采样时期大体分为 4 个: 绿熟期(开花座果至花后 11 d); 白熟期(花后 12 d 至花后 19 d)、转色期(花后 20 d 至花后 22 d)、红熟期(花后 23 d 至花后 26 d)。

1.2 果实中 IAA 的提取与测定

分别准确称取不同时期的草莓果实(花托、瘦果)样品 0.5 g, 参照文献[12]的方法并适当调整, 测定其中的 IAA 含量。液氮研磨, 用二乙基二硫代氨基甲酸钠和 80% 的冰甲醇提取, 旋转蒸发仪浓缩。色谱条件: Agilent 1100 系列液相色谱仪, TC-C₁₈ 色谱

柱; 流动相: 3% 甲醇-97% 0.1 mol/ml 醋酸, 梯度洗脱, 流速 1 mL/min; DAD 检测器, 检测波长为 280 nm。进样量: 50 μ L。外标法定量分析, 回收率大于 87%。

1.3 生长素氧化酶(IAO)的提取与活性测定

IAO 的提取和测定参照文献[13]的方法并适当调整。准确称取不同时期的草莓花托 0.5 g, 液氮研磨, 加细胞质提取液(20 mmol/L 磷酸缓冲液, pH=6.0), 离心 30 min(12 000 g), 取上清液用于细胞质可溶性酶活性分析; 沉淀用 20 mmol/L 的 pH=6.0 磷酸缓冲液洗 4 次, 再用 1 mol/L 的 NaCl 提取缓冲液复溶并离心, 上清液用于细胞壁以离子键结合的酶活性分析; 剩余沉淀经 1 mol/L 的 NaCl 提取缓冲液洗脱 4 次, 0.1 mol/L 的 pH=5.5 的醋酸缓冲液(含 0.5% 纤维素酶、2.5% 果胶酶)复溶, 离心后的上清液用于细胞壁以共价键结合的酶活性分析。IAO 的测定: 反应体系为酶液、20 mmol/L pH=6.0 磷酸缓冲液、1 mmol/L 2,4-二氯酚溶液、1 mmol/L 氯化锰溶液、1 mmol/L 吲哚乙酸溶液。以每 g 蛋白在 1 h 内分解破坏 IAA 的 μ g 数表示一个酶活性单位(U/g)。

1.4 过氧化物酶(POD)的提取与活性测定

POD 的提取和测定参照文献[14]等的方法并适当调整。准确称取样品 0.5 g, 液氮研磨, 加细胞质提取液(50 mmol/L 醋酸缓冲液, pH=5.5, 内含 1 mM MPEG、4% PVPP、1% TritonX-100), 离心 30 min(12 000 g), 取上清液用于细胞质可溶性的酶活性分析; 沉淀用 20 mmol/L 的 pH=5.5 醋酸缓冲液洗 4 次, 再用 1 mol/L 的 NaCl 提取缓冲液复溶并离心, 上清液用于细胞壁以离子键结合的酶活性分析; 剩余沉淀经 1 mol/L 的 NaCl 提取缓冲液洗脱 4 次, 0.1 mol/L 的 pH=5.5 的醋酸缓冲液(含 0.5% 纤维素酶 2.5% 果胶酶)提取, 离心后的上清液用于细胞壁以共价键结合的酶活性分析。POD 的测定: 反应体系为酶液, 50 mmol/L pH=5.5 醋酸缓冲液, 25 mmol/L 愈创木酚溶液, 0.5 mol/L H₂O₂ 溶液。POD 以单位时间内单位质量蛋白的 OD 值变化量为单位(U/min)。

2 结果与分析

2.1 果实中 IAA 的定量分析

整个草莓果实中, 瘦果内的 IAA 含量远高于花托中的, 花期瘦果(离生雌蕊)中 IAA 含量(2.34 μ g/g)约为此时花托中 IAA 含量的 36 倍(图 1、2)。瘦果中 IAA 含量在花后 0~12 d 逐渐升高, 至花后 12 d 达到峰值(含量约为花期瘦果中 IAA 含量的 2.1 倍); 之后迅速下降, 至花后 19 d 出现谷值(含量约

为花期的 89%);随后迅速升高,至花后 22 d 出现小峰值(含量约为花期的 1.9 倍);红熟期瘦果中 IAA 含量降低,约为花期的 1.2 倍。

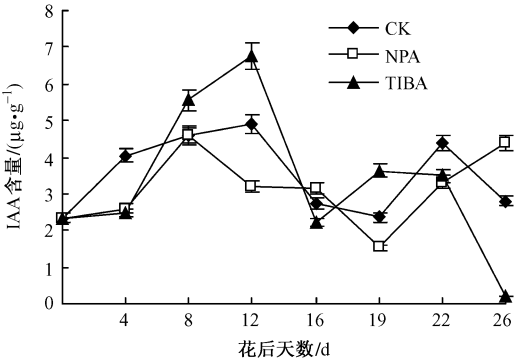


图 1 草莓瘦果中 IAA 的含量变化

FIGURE 1 Contents of IAA in the developing achenes of strawberry

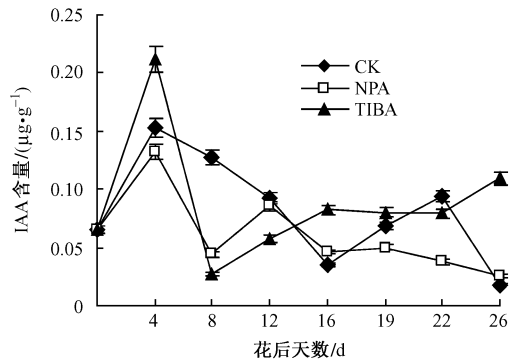


图 2 草莓花托中 IAA 的含量变化

FIGURE 2 Contents of IAA in the developing receptacles of strawberry

NPA 和 TIBA 处理延迟了幼果期瘦果中 IAA 含量的升高,使 IAA 的迅速升高发生在花后 4 d 之后。NPA 处理的瘦果中 IAA 在花后 8 d 达到峰值,与同期对照瘦果中的含量无明显差异;之后 IAA 迅速下

降,至花后 19 d 达到谷值(与同期对照瘦果的变化趋势相似),含量约为同期对照含量的 65.1%;之后瘦果中 IAA 含量迅速升高,至红熟期达到最大值(约为同期对照含量的 1.6 倍)。总体来看,除红熟期外,NPA 处理在整个果实发育过程中降低了瘦果中 IAA 的含量。花后 4~12 d,TIBA 处理的瘦果中 IAA 含量迅速升高,增加幅度显著高于对照的;花后 8 d,处理后的含量已明显超过对照的;至花后 12 d 出现峰值(约为同期对照瘦果中 1.4 倍);之后 IAA 含量迅速降低,至花后 16 d 出现谷值,含量约为同期对照中含量的 81%;之后 IAA 含量又有所升高,至花后 19 d 出现小峰值(为同期对照的 1.5 倍);至花后 22 d,IAA 维持较稳定水平;之后迅速降低,至红熟期达到最低值,为对照红熟期的 6.9%。

草莓花托中 IAA 含量在盛花期相对较小;果实发育初期(花后 4 d)迅速提高,出现峰值,为花期含量的 2.4 倍;之后随着果实的发育而迅速降低,至花后 16 d 出现谷值,此时 IAA 含量约为幼果期最高值(花后 4 d)的 22.8%;之后 IAA 含量又迅速上升,至花后 22 d 出现小峰值(此时含量为幼果期最高值的 60.9%);随后降低,至成熟期达到最低值(为幼果期花托中 IAA 含量最高值的 11.7%)。花托中 NPA 处理在整个果实发育过程中都抑制了 IAA 的升高,尤其是花后 4~8 d(绿熟期)和花后 19 d 至花后 22 d(转色期),抑制效果显著。TIBA 在果实发育前期(花后 4 d)提高了 IAA 含量,花后 8~12 d(绿熟期)和花后 22 d(转色期)降低了 IAA 的含量,其他时期使 IAA 水平有所升高。

2.2 IAO 活性分析

草莓花托中,细胞质可溶性的 IAO 活性总体呈

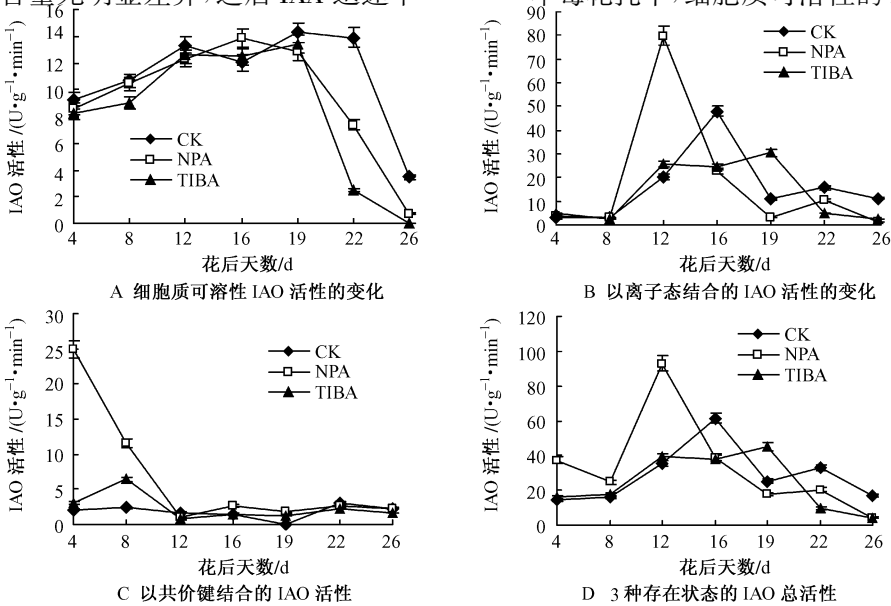


图 3 不同处理草莓果实发育过程中花托内 IAO 活性变化

FIGURE 3 Changes of the activities of IAO in the developing receptacles of the treated strawberry

先升高、再降低的趋势(图 3A)。花后 4~19 d,IAO 活性逐渐升高;至花后 19 d 达到最大值,此时 IAO 活性约为花后 4 d 时活性的 1.54 倍,其间在花后 16 d 时 IAO 活性出现小的谷值,该时期活性约为花后 4 d 的 1.3 倍。花后 19~22 d,IAO 活性基本稳定,之后迅速下降,至红熟期降至最低,活性约为花后 4 d 时活性的 37.5%。整体来讲,经 NPA 和 TIBA 处理的花托中 IAO 活性变化趋势与对照类似,除花后 16 d 以外,2 处理均降低了细胞质可溶性 IAO 活性,尤其是在果实发育后期降低效果明显,至红熟期时 NPA 和 TIBA 处理的花托中细胞质可溶性 IAO 活性分别约为对照的 20.4%和 1.1%。

整个草莓果实发育过程中,花托内离子结合态 IAO 活性先升高,后降低,变化基本呈单峰曲线形式(图 3B)。幼果初期(花后 4~8 d)离子结合态 IAO 活性很低;之后活性迅速升高,至花后 16 d,达到最高值,活性约为花后 4 d 时的 17.3 倍;之后迅速降低,至花后 19 d,活性降至幼果初期的 3.9 倍;花后 22 d 略有升高,为幼果前期活性的 5.6 倍;至红熟期,离子结合态的 IAO 活性又降至幼果初期的 4.1 倍。NPA 处理的花托中离子结合态的 IAO 活性变化趋势与对照相似,只是幼果前期使 IAO 活性提前加速,活性高峰值出现在花后 12 d,该峰值约为同期对照果实的 4.0 倍,为对照花托峰值的 1.7 倍;花后 16 d 至红熟期,NPA 显著抑制了 IAO 的活性,红熟期经处理的花托中离子结合态的 IAO 活性约为对照

的 11.8%。TIBA 处理的草莓花托发育前期(花后 4~12 d)IAO 活性与对照差异不大,花后 16 d 明显抑制了 IAO 活性的升高,没有出现 IAO 活性峰值,此时活性仅为对照活性的 50.4%;且在花后 19 d 活性稍有升高,之后迅速下降直至红熟期达到最低值,此时活性为对照的 21.5%。

草莓果实中共价结合态的 IAO 活性较低,变化幅度不大,只是在花后 19 d 有较明显的下降,之后有所升高,转色期至红熟期维持在相对较高水平(图 3C)。NPA 处理在花后 4 d 显著提高了花托中共价结合态 IAO 活性,其活性约为同期对照的 11.78 倍;之后活性迅速降低,至花后 12 d 时,酶活性与对照差异不明显;之后该处理花托中的活性略高于对照果实,差异不太大。TIBA 处理的果实中花后 8 d 明显提高了 IAO 活性,此时活性为对照花托中的 2.7 倍,其他时期活性差异不明显。

将不同存在状态的 IAO 活性综合分析(图 3D)可知,IAO 总活性的变化趋势与离子态 IAO 活性的变化趋势非常相似,只是果实发育前期(花后 4~8 d)NPA 处理的花托中 IAO 活性明显高于对照和 TIBA 处理的花托。结合图 4 分析可知,草莓果实中生长素氧化酶(IAO)活性主要为离子态结合的和细胞质可溶性状态的活性,其中离子结合态的活性变化最明显,推测其在 IAO 生理活性中贡献率最大,共价结合状态的活性较小。

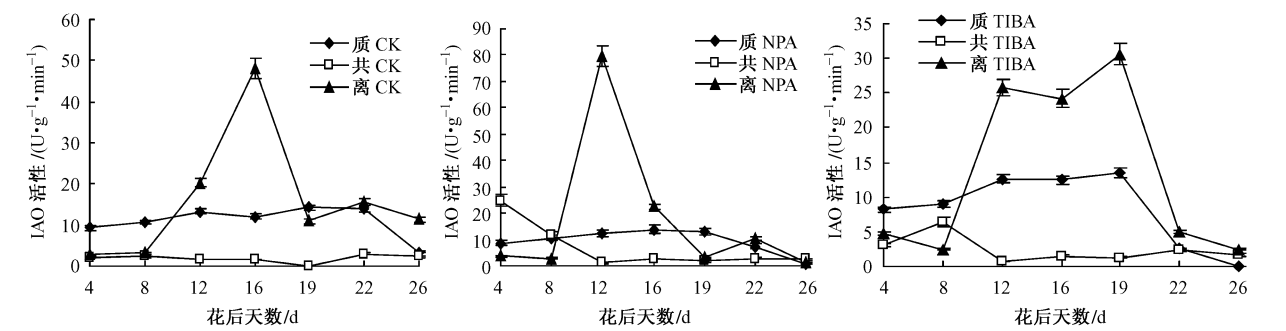


图 4 草莓花托中不同状态的 IAO 活性变化

FIGURE 4 Changes of the activities of the different kinds of IAO in the developing receptacles of the treated strawberry

2.3 POD 活性分析

总体来看,草莓果实发育过程中,花托内 POD 活性呈逐渐降低的趋势(图 5)。细胞质可溶性 POD 活性(图 5A)在花后 4 d 较高,之后迅速降低;花后 8 d 出现谷值(活性为花后 4 d 的 36.6%);之后又迅速升高,至花后 12 d 达到最大值(活性为花后 4 d 时的 1.2 倍);之后活性逐渐降低,至花后 19 d 出现谷值(活性为花后 4 d 时的 20%);花后 22 d POD 活性有所升高(为花后 4 d 的 46.5%);红熟期活性降至最

低,为花后 4 d 时的 5.3%。NPA 和 TIBA 处理花托中细胞质可溶性 POD 活性变化趋势与对照类似,两处理总体上都提高了 POD 活性,在绿熟期和白熟期(花后 4~19 d)效果明显,转色期(花后 22 d)的 POD 活性却略有降低。

草莓花托中,以离子态结合的 POD 活性基本呈逐渐下降趋势(图 5B)。花后 4 d,活性相对较高;之后迅速降低,至花后 8 d 出现谷值;之后又有所升高,花后 12 d 出现小峰值(活性为花后 4 d 的

48.6%);之后逐渐下降,至红熟期降到最低,活性为花后 4 d 时的 3.8%。NPA 和 TIBA 处理明显提高了离子态结合的 POD 活性,尤其是发育前期,花后 4 d 两处理花托中的活性分别约为对照的 1.58 和 1.69 倍。花后 19 d 之后,处理花托与对照离子结合态 POD 活性差异不明显。

花托中以共价态结合的 POD 活性总体呈下降趋势(图 5C)。花后 4 d 活性较高,之后迅速下降,至花后 16 d 降至最低值,活性为花后 4 d 时的 2.6%;花后 19 d 稍有升高,之后又逐渐降低,至红熟期为花后 4 d 时的 3.1%。NPA 和 TIBA 处理在果实发育

前期(花后 1~12 d)明显抑制了共价结合态 POD 的活性,花后 16 d 提高了 POD 活性,其他时期与对照差异不明显。

对不同存在形式的 POD 综合分析发现(图 5D),POD 总活性大体呈逐渐下降趋势。NPA 处理在花后 4~16 d 明显提高了 POD 活性,转色期处理与对照差异不大,红熟期处理的 POD 活性有所提高。果实发育前期(花后 4 d)TIBA 处理可降低花托中 POD 活性,花后 12~16 d,明显提高了 POD 活性,其他时期活性与对照差异不明显。

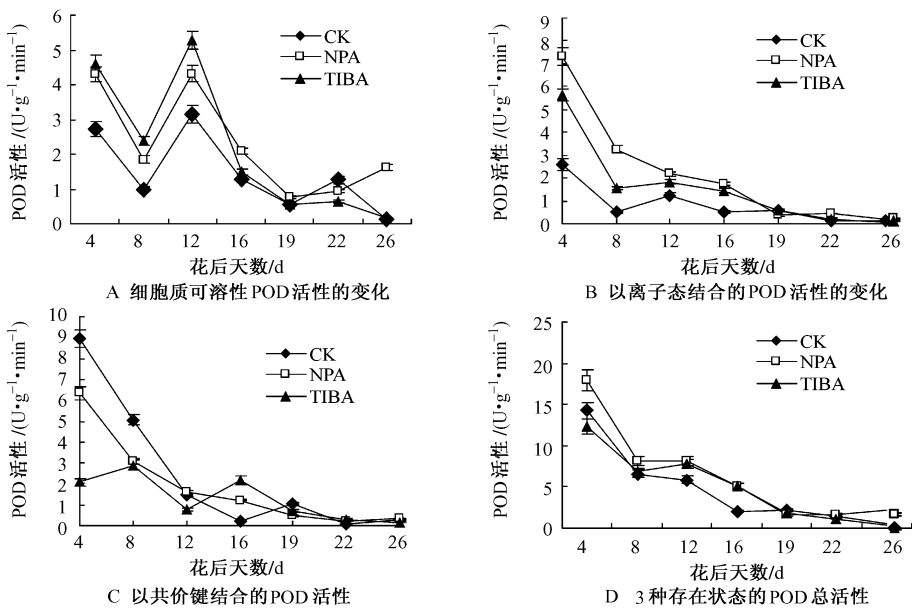


图 5 不同处理草莓果实发育过程中花托内 POD 活性变化
FIGURE 5 Changes of the activities of POD in the developing receptacles of the treated strawberry

2.4 花托中生长素及其代谢相关酶之间的关系

由表 1 可知,草莓果实发育前期、后期及整个发育过程中,各种不同处理的花托中 IAO 的加合活性与离子结合态的 IAO 活性之间极显著正相关。这表明在草莓果实发育过程中对 IAO 生理活性贡献率最大的是离子结合态的 IAO。POD 的加合活性与各种不同处理的花托中离子结合态的 POD 活性之间极显著正相关,与大多数共价结合态的 POD 活性极显著正相关。这表明草莓果实发育过程中,对 POD 生理活性贡献率最大的是离子结合态的 POD,其次是共价结合态的 POD。

草莓果实发育前期(花后 4~16 d)以及整个草莓果实发育过程中,不同处理的花托中 IAA 含量与离子态结合的 POD 活性呈显著正相关。不同处理(CK、NPA、TIBA)的花托中 IAA 含量与 POD 加合活性,在果实发育前期的呈显著相关和极显著正相关,相关系数分别为 0.947、0.936、0.869;在整个果实发育过程中呈极显著正相关和正相关,相关系数分别为

0.939、0.923、0.592;而在果实发育后期(花后 16~26 d)相关性较差。对照和经 NPA 处理的花托中的 IAA 含量与共价结合态的 POD 活性在果实发育前期和整个果实发育过程中显著正相关,果实发育后期两者相关关系不显著,表明 POD 发挥生理作用的时期可能主要在果实发育前期。

正常生长的草莓果实发育前期,花托中 IAA 含量与 IAO 加合活性呈极显著相关,其中,与离子结合态的 IAO 极显著负相关,与细胞质可溶性的 IAO 显著负相关,而与共价结合态的 IAO 呈显著正相关。综合分析认为,离子结合态和细胞质可溶性的 IAO 活性对 IAA 含量的变化起主要作用。NPA 和 TIBA 处理影响了 IAO 和 IAA 之间的相关性。

3 结论与讨论

Nitsch^[1] 最先测定了草莓瘦果和肉质花托中 IAA 的含量,认为落花后花托中不含生长素,瘦果在受精后生长素含量剧增,受精后第 12 d 生长素含量

表 1 草莓花托中 IAA 及其代谢相关酶的相关性

TABLE 1 Correlation coefficients of IAA and the activity of its related enzymes in strawberry receptacles

酶	存在状态	相关系数								
		发育前期(4~16 d)			发育后期(16~26 d)			整发育期(4~26 d)		
		CK	NPA	TIBA	CK	NPA	TIBA	CK	NPA	TIBA
IAO 加合活性	细胞质可溶性	0.643	0.347	0.996 *	0.419	0.822 *	0.996**	0.442	0.531	0.933**
	离子结合态	0.998**	0.980**	0.990**	0.970**	0.947**	0.998**	0.978**	0.943**	0.962**
	共价结合态	-0.915**	-0.535	-0.800 *	-0.025	0.410	-0.721	-0.165	-0.049	-0.401
POD 加合活性	细胞质可溶性	0.485	0.636	0.706 *	0.590	0.879 *	0.975**	0.697	0.828 *	0.897 *
	离子结合态	0.908**	0.983**	0.954**	0.892 *	0.956**	0.994**	0.937**	0.989**	0.932**
	共价结合态	0.947**	0.967**	0.118	0.464	0.961**	0.996**	0.956**	0.977**	0.658
IAA 含量	细胞质可溶性 POD	0.332	0.847 *	0.400	0.554	-0.156	-0.326	0.637	0.833 *	0.390
	离子结合态 POD	0.738 *	0.866 *	0.974**	0.103	0.499	-0.129	0.797 *	0.898 *	0.839 *
	共价结合态 POD	0.961**	0.818 *	-0.001	0.104	0.544	-0.082	0.925**	0.872 *	0.149
	POD 加合活性	0.947**	0.936**	0.869 *	0.507	0.305	-0.163	0.939**	0.923**	0.592
IAO 含量	细胞质可溶性 IAO	-0.756 *	-0.713 *	-0.556	0.845 *	0.977**	-0.372	0.136	0.230	-0.100
	离子结合态 IAO	-0.937**	-0.051	-0.359	-0.221	0.414	-0.329	-0.566	0.206	-0.257
	共价结合态 IAO	0.806 *	0.728 *	-0.127	0.066	-0.336	-0.362	0.226	0.779 *	-0.054
	IAO 加合活性	-0.951**	0.149	-0.481	0.021	0.683	-0.356	-0.482	0.478	-0.237

注：* 表示在 0.05 水平显著，**表示在 0.01 水平显著。

达到高峰,以后急剧减少。其他研究^[2-4]也表明,游离的 IAA 在花后 4 d 的草莓瘦果中最早被检测到,而在花托中,直到花后 11 d 才被检测到。总体认为草莓瘦果和花托中的生长素在果实白熟期达到峰值,以后花托中的生长素含量快速下降;而瘦果中的生长素含量缓慢下降,直到果实变红。并认为肉质花托中的生长素可能来源于瘦果,经过代谢转化,参与调节果实的发育过程。钟晓红等^[15]分析了草莓果实中的激素含量,认为 IAA 在整个果实发育过程中呈逐渐升高趋势,成熟时含量最高。免疫化学分析方法^[16]发现不仅白熟期花托和瘦果中 IAA 信号明显,之后花托中的信号并没有很快消失,在接近成熟的转色期仍然较强。出现不同结果的原因除与测定分析方法不同有关外,可能与草莓的种类、取材部位、以及草莓的生长状态不同有关。比如露地草莓与保护地草莓果实的发育周期相差 20 多 d,花后一定日期内草莓果实中的生理状态必然有所不同。在本研究中花期的瘦果和花托中都能检测出 IAA 的存在,且瘦果中的 IAA 含量远高于花托中。瘦果和花托中分别在白熟前期(花后 12 d)和绿熟前期(花后 4 d)出现峰值,并在转色期(花后 22 d)出现次峰值。这与免疫化学分析的结果^[16]一致。

综合分析果实中 IAA 含量的变化规律,推测最初瘦果和花托中的 IAA 可能来自于授粉受精时的花粉和发育着的离生雌蕊。草莓完成授粉受精之后,花托迅速膨大,成为生长中心,花粉中较高含量的 IAA 有可能向花托转移,使花托在幼果期(花后 4 d)出现 IAA 高峰。随着种子(幼胚)逐渐发育,瘦果自身可以产生一定量的生长素以促进幼胚的进一步

发育,于是瘦果中的 IAA 含量逐渐升高,至转为白熟期时出现峰值,之后随着胚的发育成熟,IAA 合成量减小,并向花托转移,以刺激花托的膨大,于是瘦果中 IAA 含量减少。这与 Nitsch^[1]的观点一致。免疫组织定位的研究表明草莓花托中的 IAA 特异的分布于维管组织^[16],而白熟期花托中的 IAA 水平下降则可能与花托迅速膨大对局部 IAA 的稀释作用以及花托中的代谢相关酶发挥生理功能有关。草莓果实转色期 IAA 含量的起伏可能与此时期生长素促进色素、香气形成及乙烯等物质合成以促使果实成熟有关^[5-8]。NPA 和 TIBA 是有效的生长素运输抑制剂^[17-18],通过与输出载体调节亚基的结合而抑制运输^[18]。幼果初期 NPA 和 TIBA 处理延迟了瘦果中 IAA 含量的升高,可能与其对生长素极性运输系统的破坏阻止了授粉受精后 IAA 向瘦果的运转有关。随着瘦果中 IAA 合成量的增多,TIBA 可能又抑制了新合成的 IAA 的外运,而使 IAA 峰值提高。而 NPA 处理在整个果实发育过程中明显降低了瘦果和花托中 IAA 含量,可能与其对生长素极性运输系统的破坏影响了草莓的生理功能有关。这表明草莓瘦果和花托之间生长素的运转与生长素极性运输体系密切相关。

生长素的代谢与植物的生长发育关系密切。生长素氧化酶和过氧化物酶是植物体内普遍存在的活性蛋白酶,这两种酶的主要作用之一是通过氧化分解 IAA,调节植物体内 IAA 的含量^[19-21]。IAO 活化时,可脱羧降解氧化 IAA,并可影响 IAA 侧链氧化过程和 IAA 的极性运输^[22]。本研究中草莓花托内 IAO 的活性(尤其是离子结合态的)极显著负相关,印证

了 IAO 降解 IAA 的观点,并表明离子键结合的 IAO 对 IAA 降解的生理贡献较大。多数研究发现 POD 参与 IAA 的分解^[13,23-24]。植物的 POD 具有催化 IAA 氧化脱羧的能力^[25]。但也有研究认为,POD 降解 IAA 具有相对性,不是所有 POD 同工酶都具有强 IAA 氧化能力^[23]。植物细胞中 POD 对 IAA 的氧化生成了一种可与受体分子结合的活性中间体, IAA 的生理活性是 POD 作用的结果,POD 与 IAA 的作用促进了植物的生长^[23]。细胞壁 POD 有促使细胞停止生长的作用^[26],IAA 可促进细胞生长,其在植物体内处在动态平衡,细胞壁 POD 抑制细胞的生长必然影响 IAA 在植物体内的动态平衡^[20]。本研究中,果实发育前期,草莓花托内 POD 活性较高,随果实的发育其活性逐渐降低,并且与 IAA 含量的变化极显著正相关。NPA 和 TIBA 处理总体上提高了草莓花托中 POD 的活性,而大多数时期降低了 IAA 的含量,表明 POD 的生理功能可能不只是催化 IAA 氧化分解,而可能还与维持生长素的动态平衡协同促进果实的生长发育有关。

综上所述,本研究认为盛花期的草莓瘦果和花托中已存在一定水平的 IAA,其最初来源可能是授粉受精时的花粉和发育着的离生雌蕊;授粉受精后 IAA 含量逐渐上升,花托和瘦果中分别在绿熟前期和白熟前期出现峰值,并在转色期出现小峰值,瘦果和花托之间存在生长素极性运输;草莓花托中对 IAA 的氧化分解起主要作用的是 IAO,而 POD 除了参与 IAA 分解之外,可能还与维持生长素的动态平衡协同促进果实的生长发育有关。

参 考 文 献

[1] NITHSCH J P. Growth and morphogenesis of strawberry as related to auxin[J]. *Amer J Bot*, 1950, 37: 211-215.

[2] DREHER T W, POOVAIAH B W. Changes in auxin content during during development in strawberry fruits[J]. *J Plant Growth Regul*, 1982, 1: 267-276.

[3] AREHOLD D D, DENNIS F J. Quantification of free ABA and free and conjugated IAA in strawberry achene and receptacle tissue during fruit development[J]. *J Amer Soc Hort Sci*, 1984, 109: 330-335.

[4] GIVEN N K, VENISH M A, GRIERSON D. Hormonal-regulation of ripening in the strawberry, a non-climacteric fruit [J]. *Planta*, 1988, 174: 402-406.

[5] MANNING K. Changes in gene-expression during strawberry fruit ripening and their regulation by auxin[J]. *Planta*, 1994, 194: 62-68.

[6] MANNING K. Isolation of a set of ripening-related genes from strawberry; their identification and possible relationship to fruit quality traits[J]. *Planta*, 1994, 205: 622-631.

[7] HARPSTER M H, BRUMELL D A, SUNSMUIR P E. xpression analysis of a ripening-specific, auxin-repressed endo-1, 4-beta-glucanase gene in strawberry [J]. *Plant Physiol*, 1998, 118: 1 307-1 316.

[8] AHARONI A, KEIZER L C, VAN DEN BROECK H C, *et al*. Novel insight into vascular, stress, and auxin-dependent and-independent gene expression programs in strawberry, a non-climacteric fruit [J]. *Plant Physiol*, 2002, 129: 1 019-1 031.

[9] BENTEZ-BURRACO A, BLANCO-PORTALES R, REDONDO-NEVADO J, *et al*. Cloning and characterization of two ripening-related strawberry (*Fragaria x ananassa* cv. *Chandler*) pectate lyase genes[J]. *J Exp Bot*, 2003, 54: 633-64.

[10] CASTILLEJO C, DE LA FUENTE J I, IANNETTA P, *et al*. Pectin esterase gene family in strawberry fruit: study of FaPE1, a ripening-specific isoform[J]. *J Exp Bot*, 2004, 55: 909-918.

[11] 钱玉梅,高丽萍,张玉琼. 采后草莓果实的生理生化特性[J]. *植物生理学通讯*, 2003, 39(6): 700-704.

[12] GALIS I, SIMEK P, ONCKELEN H A, *et al*. Resistance of transgenic tobacco seedlings expressing the *Agrobacterium tumefaciens* C58-6b gene, to growth-inhibitory levels of cytokinin is associated with elevated IAA levels and activation of phenylpropanoid metabolism[J]. *Plant Cell Physiol*, 2002, 43(8): 939-950.

[13] 陈立松,刘星辉.水分胁迫下荔枝叶片过氧化物酶和 IAA 氧化酶活性的变化[J]. *武汉植物学研究*, 2002, 20(2): 131-136.

[14] 李合生.植物生理生化实验原理和技术——面向 21 世纪课程教材[J]. 北京:高等教育出版社,2000.

[15] 钟晓红,马定渭,黄远飞.草莓果实发育过程中内源激素水平的变化[J]. *江西农业大学学报*, 2004, 26(1): 107-111.

[16] HOU Z X, HUANG W D. Immunohistochemical localization of IAA in developing strawberry fruit [J]. *J Horticultural Science and Biotechnology*, 2004, 79(5): 693-698.

[17] 倪迪安,许智宏.生长素的生物合成、代谢、受体和极性运输[J]. *植物生理学通讯*, 2001, 37(4): 346-352.

[18] SWATI B, SUN H G, BRIAN L. Early embryo development in *Fucus distichus* is auxin sensitive[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130: 292-302.

[19] 董合忠,李维江,任桂杰.棉花花芽分化过程中 IAA 含量与过氧化物酶活性变化趋势的研究[J]. *棉花学报*, 1999, 11(6): 303-305.

[20] PARMAR N G, CHANDA S V. Effects of mercury and chromium on peroxidase and IAA-oxidase enzymes in the seedlings of phaseolus vulgaris[J]. *Turk J Biol*, 2005, 29: 15-21.

[21] ABDELILAH C, EZZEDINE E F. Effects of cadmium and copper on antioxidant capacities, lignification and auxin degradation in leaves of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings [J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2005, 328(1): 23-31.

[22] 原牡丹,侯智霞,翟明普,等. IAA 分解代谢相关酶的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2008, 24(8): 88-92.

[23] 陈泽宪,徐辉碧.过氧化物酶催化吲哚-3-乙酸氧化的机理和影响因素[J]. *湖北农业科学*, 2000(6): 10-13.

[24] 韦素玲.白花泡桐根分化过程中过氧化物酶、IAA 氧化酶和过氧化氢酶的变化[J]. *广西科学*, 2001, 8(2): 135-137.

[25] CHAOUI A, JARRAR B, EZZEDINE E. Effects of cadmium and copper on peroxidase, NADH oxidase and IAA oxidase activities in cell wall, soluble and microsomal membrane fractions of pea roots [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2004, 161, 1 225-1 234.

[26] FRY S C. Isodityrosine, a diphenyl-ether cross-link in plant cell wall glycoprotein[J]. *Methods in Enzymol*, 1984, 107: 388-397.

(责任编辑 李文军)