

## 番茄采后成熟过程种子和果皮中脱落酸与乙烯代谢的关系

阮英 生吉萍 刘开朗 申琳

(中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘要** 以番茄中杂 101 为材料,研究采后果实成熟过程种子和果皮中脱落酸(ABA)含量与乙烯生物合成的关系,以及外源 ABA 及其生物合成抑制剂(fluridone)处理对果实 ABA 含量和乙烯释放量的影响。结果表明:采后番茄果实成熟过程中,种子的乙烯释放量、1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)含量和 ABA 含量均高于同时期果皮;种子和果皮中 ABA 和 ACC 含量的峰值都出现在乙烯跃变之前;ACC 氧化酶(ACO)活性变化趋势与 ABA 含量及乙烯释放量的变化趋势相一致;外源 ABA 处理使果皮和种子中 ABA 含量显著增加,促进了果实乙烯的生成;fluridone 处理则相反。以上证据表明,番茄果实中的 ABA 通过刺激乙烯的生成促进果实成熟,种子可能通过调控果实内 ABA 含量和乙烯释放量而影响果实的成熟。

**关键词** 番茄果实;种子;成熟;脱落酸;乙烯

中图分类号 Q 946.885.6/7

文章编号 1007-4333(2005)03-0015-05

文献标识码 A

### Relationship between abscisic acid and ethylene in seed and pericarp during tomato ripening

Ruan Ying, Sheng Jiping, Liu Kailang, Shen Lin

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract** Endogenous abscisic acid (ABA) content, ethylene production, ACC content, activities of ACC oxidase were measured during ripening process of tomato fruit (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Zhongza 101). Although the maximums of ABA content, ACC content and ethylene climacteric peak occurred at different ripening stages, they all increased in seeds before they increased in pericarp tissues. The maximum ABA and ACC contents preceded ethylene production in both the seeds and pericarp. Changes of the activity of ACC oxidase were coincident with that of ethylene production and ABA content. Exogenous ABA treatment increased of ABA content, both in pericarp and seed, and ethylene production, while treatment with fluridone, an inhibitor of ABA synthesis, inhibited them. The results suggest that seeds may impact the process of postharvest tomato fruit ripening by regulating of endogenous ABA content and ethylene production, and ABA regulates fruit ripening by triggering ethylene production.

**Key words** tomato fruit; seed; ripening; abscisic acid; ethylene

果实成熟是一复杂过程,受多种因素调控。普遍认为内源激素是果实成熟过程中重要的调控因子<sup>[1]</sup>。乙烯在跃变型果实成熟中的作用已被普遍认可<sup>[2]</sup>,而脱落酸(ABA)在非跃变型果实的成熟过程中起关键作用<sup>[3-4]</sup>。近年来的研究发现,在杏<sup>[5]</sup>和苹果<sup>[6]</sup>等乙烯跃变型果实的成熟过程中,ABA 首先生成并积累,当达到一定水平后才出现乙烯的生

成;但是,ABA 与乙烯之间的相互关系还不十分清楚。

种子是植物激素代谢的中心,可能参与果实生长发育、成熟衰老的调控<sup>[7]</sup>,种子的大小及数量均能影响果实的发育<sup>[8-9]</sup>;但有关种子与果实成熟衰老关系的报道较少<sup>[6,10-11]</sup>,机理还不清楚。笔者对番茄果实成熟过程中果皮及种子内源 ABA 含量、乙

收稿日期:2005-01-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30200191);国家“十五”攻关资助项目(2001BA501A109)

作者简介:阮英,硕士研究生;生吉萍,副教授,通讯作者,主要从事果蔬采后生物技术研究,E-mail: pingshen@cau.edu.cn

烯释放量、1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)含量和 ACC 氧化酶(ACO)活性的变化,及外源 ABA 及其生物合成抑制剂(fluridone)处理对果皮及种子中 ABA 含量和乙烯释放量的影响进行了研究,并对果实成熟与种子、ABA 和乙烯的关系,及 ABA 与乙烯的相互作用关系进行了探讨,以期调控果实的成熟衰老进程提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与处理

供试番茄中杂 101 于 2003 年春季种植于中国农业大学(西区)科学园大棚中。标记花期,采摘花期为 40 d 的绿熟期番茄果实,挑选大小均匀,成熟度一致,无病虫害和机械伤的果实,(25 ± 1) 贮藏。

处理方式:ABA、fluridone 处理组和对照组分别注射 ABA 水溶液(ABA  $10^{-6}$  mol/L)、fluridone 水溶液(fluridone  $10^{-6}$  mol/L)和蒸馏水。将 0.5 mL 上述液体用医用注射器从果蒂部位注入番茄果实,15 个果实为 1 组,3 个重复,每 2 d 取样 1 次,为完全随机取样。试验数据采用 Excel 软件进行统计,并采用 ANOVA 进行邓肯氏多重差异分析。

### 1.2 测定方法

1) 番茄果实成熟期的划分与种子取样。参考美国番茄成熟度分级标准<sup>[1]</sup>。种子取样时,切分 5 个成熟度一致的番茄果实,将种子从胎座上剥离,置于纱布上,用自来水冲洗,除去果胶物质,挑出洗好的种子,液氮冷冻,置于 - 80 °C 冰柜中。

2) 乙烯释放量的测定。取 5 个番茄置于 8.5 L 干燥器中,1.5 h 后取 1 mL 气体用于测定果实乙烯释放量。取 3 g 种子置于 70 mL 密闭三角瓶中,1.5 h 后取 1 mL 气体用于测定种子乙烯释放量。用岛津 GC-9A 型气相色谱仪检测乙烯释放量,色谱条件:填充柱 2.0 m × 4.6 mm,氢火焰离子化检测器(FID),载气 N<sub>2</sub> 流速 50 mL/min,燃气 H<sub>2</sub> 流速 50 mL/min,助燃气空气 350 mL/min,柱温 50 °C,检测室温度 120 °C。重复 3 次。

3) ABA 含量的测定。参考何钟佩<sup>[12]</sup>的方法略加改动。分别称取 0.5 g 果皮及种子,加入 0~100 mg/g PVP、3 mL 80% (体积分数) 甲醇冰浴研磨匀浆,4 °C 下提取 4 h 后,4 000 g 离心 15 min,取上清液;沉淀中加 2 mL 提取液,搅匀,置 4 °C 下再提取 1 h,离心,合并上清液,用于间接酶联免疫测定。试剂盒由中国农业大学农业与生物技术学院化学控制实

验室提供。

4) ACC 含量的测定。参考何钟佩<sup>[12]</sup>的方法略有改动。分别称取 0.5 g 果皮和种子,3 mL 80% (体积分数,下同) 乙醇研磨,10 000 g 离心 10 min,取上清液;残渣加 2 mL 80% 乙醇 70 °C 浸提 30 min,离心,合并上清液,提取液 60 °C 下用真空旋转蒸发仪蒸发至干,用 2 mL 双蒸水定容,摇匀为制备液,从中取 250 μL 置于密闭小瓶中,加入 100 μL 5% NaOCl-饱和 NaOH 混合液(NaOCl 和饱和 NaOH 体积比为 2/1)、40 μL 25 mmol/L HgCl<sub>2</sub> 溶液和 610 μL 蒸馏水,2 min 内抽取 1 mL 气体测定乙烯含量。重复 3 次。

5) ACO 活性测定。参照许文平<sup>[13]</sup>的方法略有改动。分别称取 0.5 g 液氮研磨的果皮和种子粉末,加入 1.0 mL 样品提取液(含 100 mmol/L pH 7.5 Tris-HCl 缓冲液、10% (体积分数,下同) 甘油、30 mmol/L 抗坏血酸钠、5% (质量分数) PVP、0.1 mmol/L FeSO<sub>4</sub> 和 5.0 mmol/L DTT),12 000 g (4 °C) 离心 15 min,取 0.2 mL 上清液注入盛有 1.8 mL 酶反应液(含 100 mmol/L pH 7.5 Tris-HCl 缓冲液、10% 甘油、30 mmol/L 抗坏血酸钠、30 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>、1.0 mmol/L ACC 和 0.1 mmol/L FeSO<sub>4</sub>) 的玻璃瓶中,30 °C 水浴中密闭保温 20 min,抽取 1 mL 气体测定乙烯含量,ACO 活性单位为 nL/(g/h)。重复 3 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 番茄采后成熟过程乙烯释放量、ACC 含量和 ACO 活性的变化

番茄采后成熟过程中乙烯释放量的变化趋势见图 1(a)。采后初期,种子的乙烯释放量高于同时期的番茄果实,整个成熟过程其乙烯释放量一直保持较高水平。种子的乙烯跃变峰出现在转色期,早于果实。

高等植物中乙烯的生物合成途径是:蛋氨酸(Met) 硫腺苷蛋氨酸(SAM) 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC) 乙烯(ETH)<sup>[14]</sup>。ACC 是乙烯合成的直接前体,ACO 是催化 ACC 氧化生成乙烯的限速酶,ACC 含量及 ACO 活性与乙烯合成有密切关系。如图 1(b),采后初期,番茄种子和果皮中 ACC 含量均迅速增加,种子中 ACC 含量的最大值出现在破色期,早于果皮,变化趋势与乙烯生成的变化趋势基本一致。从图 1(c) 可知,采收初期,番茄种子和果皮

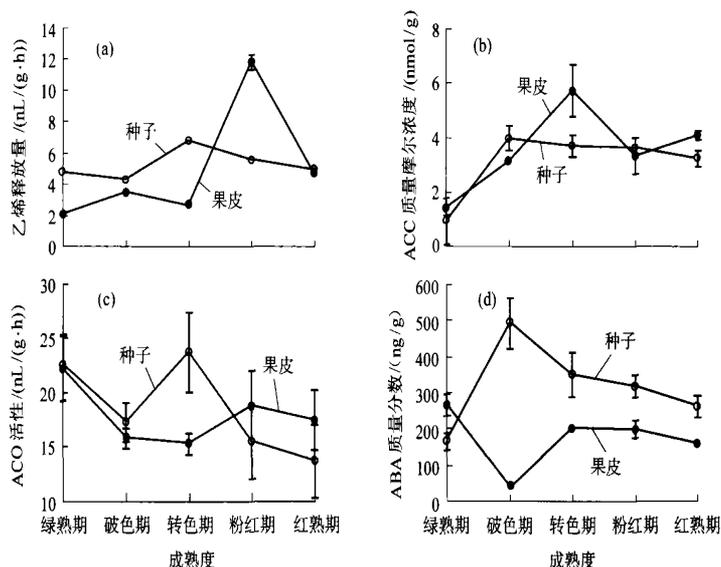


图 1 番茄采后成熟过程乙烯释放量、ACC 质量摩尔浓度、ACO 活性和 ABA 质量分数的变化 (FW)

Fig. 1 Changes of ethylene production, ACC content, ACO activity and ABA content during tomato fruit ripening

中 ACO 活性均较高,而后下降。种子中 ACO 活性高峰出现在转色期,而果皮中则出现在粉红色期,与其乙烯跃变的时间相吻合。

从以上结果可以看出,番茄果实成熟初期,种子的 ACC 含量和 ACO 活性均高于果皮,这是种子产生较高水平乙烯的生化基础。李全梓<sup>[10-11]</sup>在苹果和早熟桃的研究中发现,近果心果肉的 ACC 含量高于近果皮果肉,种子产生的乙烯在果实由内向外成熟过程中可能起重要调控作用。笔者也同样发现,番茄果实采后成熟过程中,种子中 ACC 含量、ACO 活性及乙烯释放量最大值的出现均早于果实。种子中高水平的内源乙烯可能向外传递,与果实成熟的启动有关。

## 2.2 番茄采后成熟过程果皮和种子中 ABA 含量的变化

番茄采后成熟过程中,种子中 ABA 含量始终高于同时期的果皮(图 1(d))。种子中 ABA 含量在破色期达到最大值,而后持续下降;果皮中 ABA 含量在采收初期就处于较高水平,这可能是从植物体转运而来的<sup>[15]</sup>,而后迅速下降,破色期后有所回升,转色期达到最大值。番茄果皮中 ABA 的再次积累可能主要来源于种子,这与 Scriven<sup>[16]</sup>的研究结果一致。种子中形成的 ABA 有可能传递给果肉,促进果实成熟衰老。

果皮及种子中 ABA 含量的最大值均出现在其

乙烯跃变之前,这与张大鹏<sup>[6]</sup>等对苹果的研究结果一致。这些结果表明 ABA 可能是乙烯合成上游的调控因子,通过刺激内源乙烯的生成调控果实的成熟衰老。

## 2.3 ABA 和 fluridone 处理后番茄果皮和种子中 ABA 含量的变化

fluridone 专一性地抑制类胡萝卜素的生物合成,从而抑制植物组织中 ABA 的间接生物合成。ABA 及 fluridone 处理后,番茄果皮中 ABA 含量的变化见图 2(a)。ABA 处理组处理 7 d 后果皮中 ABA 含量大幅度增加,并在第 11 天达到峰值,比对照组高 53%;fluridone 处理前期显著抑制了果皮内 ABA 的合成,抑制率达 35%~45%,但处理 9 d 后 ABA 含量迅速增加,与对照没有明显差异。

ABA 及 fluridone 处理后,番茄种子中 ABA 含量变化见图 2(b)。ABA 处理后,种子中 ABA 急剧积累,在处理第 7 天达到最大值,比对照组高 102%,而后大幅度下降,处理后期与对照无显著差异;fluridone 处理组种子中 ABA 含量变化趋势与果皮一致,处理前期显著抑制种子中 ABA 的合成,抑制率达 50%~60%,但处理 9 d 后 ABA 含量与对照组没有明显差异。

ABA 处理使果皮和种子中 ABA 含量的最大值比对照分别高 53%和 102%;fluridone 处理使果皮和种子中 ABA 含量的最大值比对照分别低 35%~

45%和50%~60%。ABA和fluridone处理对种子中ABA合成的促进和抑制作用均高于果皮,这表明

种子对外源处理的敏感性高于果皮,合成和积累ABA的能力也高于果皮。

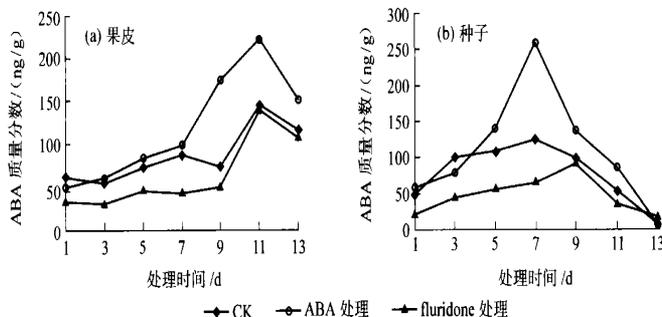


图2 ABA和fluridone处理对番茄果皮(a)和种子(b)ABA质量分数的影响  
Fig. 2 Effect of ABA and fluridone treatments on ABA content of tomato fruits

#### 2.4 ABA和fluridone处理后乙烯释放量的变化

ABA和fluridone处理对乙烯释放量的影响见图3。ABA处理3d后乙烯释放量迅速增加,第9天出现乙烯跃变峰,早于对照(第11天),且峰值比对照高约75%;fluridone处理抑制了乙烯释放量的增加。这表明ABA可以诱导采后番茄中乙烯的生成。

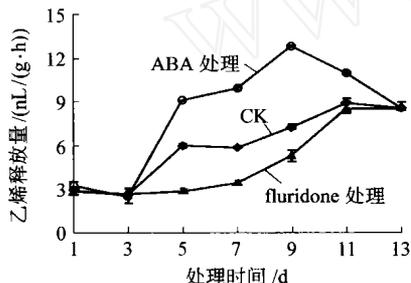


图3 ABA和fluridone处理后番茄果实乙烯释放量的变化

Fig. 3 Effect of ABA and fluridone treatments on ethylene production of tomato fruits

### 3 讨论

种子是生命的“载体”,有关果实成熟衰老的指令信息,可能发源于种子<sup>[17]</sup>。本试验结果表明,番茄果实成熟过程中,种子中ACC含量、ACO活性及乙烯释放量均高于果皮,乙烯释放量始终保持较高水平,且乙烯跃变峰出现在果实之前。种子产生的乙烯由内向外传递<sup>[10~11]</sup>,它可能是种子影响果实成熟的关键因子。

ABA作为一种重要的植物激素,在跃变型和非跃变型果实的成熟过程中都起着重要作用<sup>[18]</sup>。近年来研究发现,在苹果<sup>[6,19]</sup>、杏<sup>[5]</sup>、白兰瓜<sup>[20]</sup>等乙烯

跃变型果实的成熟过程中,内源ABA含量峰值出现在乙烯跃变之前,抑制ABA可以降低乙烯生成量<sup>[6]</sup>;因此,人们认为ABA可能作为一种果实成熟的“原始启动信使”,通过刺激乙烯的合成参与调控跃变型果实的成熟。本试验结果表明,番茄采后,种子中ABA迅速积累,在破色期达到最大值,此后持续下降。采收初期果皮ABA含量较高,这可能来源于植物其他部位<sup>[15]</sup>,绿熟期后大幅度下降,但破色期后重新积累。用ABA及fluridone处理绿熟期番茄果实发现,外源ABA处理可以明显促进果皮及种子内ABA的合成,并加速乙烯的生成,使乙烯跃变峰提前出现;fluridone处理则相反。ABA及fluridone处理对种子中ABA合成的促进作用及抑制作用均高于果皮,这表明种子对外源处理的敏感性高于果皮;而且,番茄果实成熟过程中,果皮中ABA含量先显著下降,破色期后又再次积累,并且最大值出现在种子中ABA积累之后,这表明采后成熟过程中果皮的ABA再次积累可能来源于种子,种子中形成的ABA有可能传递给果皮,诱导果皮中乙烯的生物合成,从而参与调控果实的成熟。

### 参 考 文 献

- [1] 生吉萍,罗云波,申琳. 转反义ACC合成酶基因番茄与普通番茄果实植物内源激素含量的变化[J]. 中国农业科学, 2000, 33(3): 43-48
- [2] Johnson P R, Ecker J R. The ethylene gas signal transduction pathway: a molecular perspective[J]. Annu Rev Genet, 1998, 32: 227-254
- [3] Coombe B G, Hale C R. The hormone content of ripening grape berries and the effects of growth substance

- treatments[J]. *Plant Physiol*, 1973, 51:629~634
- [4] Coombe B G. Research on development and ripening of the grape berry[J]. *Am J Enol Vitic*, 1992, 43:101~110
- [5] 张微, 吕忠恕. 脱落酸与杏果成熟作用的关系. *植物学报*, 1983, 25:537~543
- [6] 陈尚武, 张大鹏. ABA 和 Fluridone 对苹果果实成熟的影响[J]. *植物生理学报*, 2000, 26(2):123~129
- [7] Jocelyn A, Ozga Rika, van Huizen, et al. Hormone and seed-specific regulation of pea fruit growth [J]. *Plant Physiol*, 2002, 128(4):1379~1389
- [8] Pyke N B, Alspach P A. Inter-relationships of fruit weight, seed number and seed weight in kiwifruit [J]. *NZ Agri Sci*, 1986, 20:153~156
- [9] 廖光升. 黄花梨果实种子数与果重关系的探讨. *福建果树*, 2001(4):5~6
- [10] 李全梓, 李兴国, 张宪省, 等. 新红星苹果发育过程中果实和种子乙烯生物合成的研究[J]. *山东农业大学学报*, 1998, 29(2):151~156
- [11] 李全梓, 李兴国, 郑国生, 等. 早熟桃果实发育过程中乙烯产生及 ACC 含量和 ACC 氧化酶活性的变化[J]. *植物生理学通讯*, 1998, 34(1):25~27
- [12] 何钟佩. 农作物化学控制实验指导[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1993. 1~14
- [13] 许文平, 陈昆松, 李方, 等. 脂氧合酶、茉莉酸和水杨酸对猕猴桃果实后熟软化进程中乙烯生物合成的调控[J]. *植物生理学报*, 2000, 26(6):507~514
- [14] Yang S F, Hoffman N E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants[J]. *Annu Rev Plant Physiol*, 1984, 3:155~189
- [15] 黄丛林, 张大鹏, 贾文锁. 葡萄果实发育后期脱落酸来源的研究[J]. *园艺学报*, 2000, 26(4):297~300
- [16] Scriven F M, Wills R B N. Postharvest changes in abscisic acid levels in flesh tissue and seeds of Jonathan apples susceptible to storage breakdown[J]. *J Hort Sci*, 1984, 59(12):171~174
- [17] Nitsch J P. Hormonal factors in growth and development[A]. Hulme A C. *The biochemistry of fruits and their products* [C]. London, New York: Academic Press, 1970. 427~472
- [18] 邓九生, 黄在猛, 彭敏璋. 脱落酸对果实成熟的生理效应与机制. *广西农业大学学报*, 1998, 17:49~54
- [19] 李杰芬, 谭志一, 张崇浩, 等. 苹果后熟过程中内源脱落酸与乙烯的变化[J]. *植物生理学报*, 1987, 13(1):87~93
- [20] 杨正谭, 张微. 白兰瓜成熟与贮藏期间呼吸作用与内源激素的变化[J]. *园艺学报*, 1985, 12:45~50