

# 外源葡萄糖对‘长富2号’苹果花芽生理分化期可溶性糖和相关基因表达的影响

张丽之, 张 昕, 左希亚, 邢利博, 樊 胜, 李有梅, 赵彩平, 韩明玉, 张 东\*

(西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100)

**摘 要:** 以‘长富2号’苹果为材料, 于花后 25 和 30 d 喷施浓度 1.5% 和 3% 的葡萄糖, 研究处理后短枝顶芽的发育状况、可溶性糖、淀粉含量及相关代谢酶活性的动态变化, 并利用实时荧光定量 PCR 检测糖代谢相关基因与成花相关基因的表达模式。结果表明: 葡萄糖处理后, 短枝顶芽长度、宽度及质量有一定程度增加; 短枝顶芽中, 蔗糖、葡萄糖、山梨醇在生理分化中前期显著高于对照, 淀粉含量整体升高, 而果糖含量在整个生理分化期显著降低; 山梨醇脱氢酶、山梨醇氧化酶、蔗糖合酶合成方向以及蔗糖磷酸合成酶活性在不同时期有所增加, 而酸性与中性蔗糖转化酶, 及蔗糖合酶分解方向酶活性普遍降低; 叶片中碳水化合物积累明显, 糖代谢相关酶活性也发生相似改变; 顶芽糖代谢相关基因及 2 个 *MdTPS* 基因都响应葡萄糖处理; 成花关键基因 *MdFT1*、*MdFD*、*MdLFY*、*MdSOC1* 和 *MdAPI* 均显著上调, 而成花抑制基因 *MdTFL1* 从花后 30 d 开始, 表达显著下调。

**关键词:** 苹果; 葡萄糖; 成花; 可溶性糖; 酶活; 基因表达

**中图分类号:** S 661.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2019) 01-0011-14

## Effects of Exogenous Glucose Treatment on Soluble Sugar and Expression of Related Genes During Floral Bud Differentiation Stage in Terminal Spur Buds of ‘Nagafu 2’ Apple

ZHANG Lizhi, ZHANG Xin, ZUO Xiya, XING Libo, FAN Sheng, LI Youmei, ZHAO Caiping, HAN Mingyu, and ZHANG Dong\*

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** ‘Nagafu 2’ apple trees were sprayed with 1.5% and 3% glucose solutions at 25 days and 30 days after full bloom, respectively. Bud growth, endogenous sugar levels, starch content and activities of related enzymes in terminal spur buds were examined. Genes associated with sugar metabolism and flowering were studied by quantitative real-time PCR. The results revealed that glucose treatments increased bud size and fresh weight. The contents of sucrose, glucose and sorbitol were significantly higher than in the control during early stage of floral bud differentiation, while starch increased generally, but

**收稿日期:** 2018 - 11 - 06; **修回日期:** 2018 - 12 - 20

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (31672101); 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-27); 陕西省科技统筹项目 (2015NY114, 2016KTZDNY01-10); 国家苹果改良中心杨凌分中心项目; 陕西省果业发展协同中心项目

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: afant@nwfau.edu.cn)

the content of fructose significantly decreased during the whole period. The activities of sorbitol dehydrogenase, sorbitol oxidase, synthesis direction of sucrose synthase and sucrose phosphate synthase increased at different stages, while acid and neutral invertases, decomposition direction of sucrose synthase decreased. Carbohydrate accumulation in leaves was evident, and the activities of enzymes involved in sugar metabolism also changed similarly. Genes associated with sugar metabolism and two MdTPS genes in terminal buds all responded to glucose treatment. Furthermore, flowering genes like *MdFT1*, *MdFD*, *MdLFY*, *MdSOC1*, and *MdAPI* were significantly up-regulated, while the suppressor *MdTFL1* was down-regulated from beginning of floral induction.

**Keywords:** *Malus × domestica*; glucose; flowering; soluble sugar; enzyme activity; gene expression

苹果的花芽分化主要包括两个重要时期:生理分化期与形态分化期(黄海等,1986;曹尚银等,2003)。这一复杂而重要的过程,直接影响到苹果开花数量、质量以及坐果率等,且受到植物体内因素和外部环境的多重协同调控(Hanke et al., 2007)。*‘富士’*苹果作为中国主要的栽培品种,在生产中较其他品种一直存在成花难的问题,从而直接影响其产量,现多采用修剪、拉枝、环割等手段(韩明玉等,2008)缓解这一现象。

糖作为植物体内重要的碳源和能源物质,在成熟叶片中通过光合作用合成,并经由韧皮部输送到幼叶、茎、花、果实和根中加以贮藏和利用(Rolland & Sheen, 2005)。研究表明,糖分解代谢酶的较高活性可能增强芽吸收同化物的能力,从而加速芽生长。但同时,当碳水化合物供应受到严重限制时,糖浓度应该是芽生长的限制因素(Ito et al., 2002, 2004),说明糖也可以参与调控花芽的生长发育。此外,有研究发现,在*‘富士’*苹果的成花诱导阶段,其叶片和顶芽的可溶性糖水平发生显著变化,也说明糖可能作为能源物质参与调控其花芽分化过程(Xing et al., 2015)。葡萄糖作为可溶性糖,对植物成花调控也十分关键。在烟草组织培养中,黑暗条件下施加外源葡萄糖,花器官仍可以正常发育,而当葡萄糖浓度下降时,不形成花器官或花器官发育异常(Cousson & Van, 1983)。葡萄糖对植物成花的调控具有“两重性”,将拟南芥幼苗分别培养在含2%和6%葡萄糖的条件下,结果是不论给予长日照还是短日照,含6%葡萄糖培养基中的植株都延迟抽薹开花(Rolland et al., 2006)。

近年来,糖信号与植物成花间的研究越来越多,但多集中于蔗糖与海藻糖。研究表明,拟南芥中的蔗糖和T6P可通过调控叶片及顶端分生组织中关键成花基因的表达来参与成花诱导(Wahl et al., 2013)。但葡萄糖信号调控成花的生理与分子机制并不清楚。

本研究中通过在*‘长富2号’*苹果花芽生理分化期之前进行葡萄糖喷施处理,研究其对成花及可溶性糖积累,以及相关糖代谢和成花基因表达量的影响,以期揭示葡萄糖影响苹果花芽孕育的生理与分子机制,为改善*‘富士’*苹果成花人工调控技术提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试材、处理及取样

试验于2017年在陕西省杨凌现代农业创新园国家苹果产业技术体系试验示范果园(108°04'E, 34°16'N)进行。

试验苹果材料为8年生*‘长富2号’*/M26/八棱海棠和*‘烟富6号’*/M26/八棱海棠,植株行距

为  $1.5\text{ m} \times 3.5\text{ m}$ , 密度为  $1\ 905\text{ 株} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 树形为改良高纺锤形, 树势中庸。选取生长势和负载量较为一致的植株 60 株, 每个小区各 10 株树, 共 6 个小区, 随机将 3 个小区作为处理, 另外 3 个小区为对照。

有研究报道, 当年生枝条停止生长后, 其顶端就开始孕育花芽, 持续至花芽形态分化开始, 这段时间即是“花芽孕育临界时期”(Kotoda et al., 2000; 曹尚银 等, 2001)。盛花期在‘长富2号’和‘烟富6号’选作对照组的 3 个小区的树体上随机选取 20 个当年生枝条并标记, 至此每隔 7 d 统计一次枝条生长量直至花后 42 d, 计算两个品种当年生枝条平均生长量, 来初步确定花芽进入生理分化的时间和进行处理的时间。

于花芽生理分化期前即盛花期后 25 d (2017 年 5 月 10 日) 与盛花期后 30 d (2017 年 5 月 15 日) (通过统计当年生枝条平均生长量来确定生理分化开始的时间和处理的时间) 用手动喷雾器分别对整树进行喷施浓度为 1.5% 和 3% 的葡萄糖, 喷施的湿润程度为叶片和茎表面充分湿润但无液滴凝聚下落为度, 以喷施清水为对照。

分别于盛花期后 30、40、50、60 和 70 d (盛花期后 30 d 进行处理之后采样), 随机采取当年生短枝顶芽及其毗邻叶, 用锡纸包裹并标记, 液氮封存带回,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存, 用于内源可溶性糖含量及其相关酶活性的测定和相关基因的表达分析。

## 1.2 芽体质量、大小生理指标与成花率、可溶性糖、淀粉的测定

针对不同发育时期, 随机选取 30 个短枝顶芽, 用于顶芽鲜样质量及大小的生理指标测定。在头年 (2017 年) 落叶期后, ‘长富2号’每个小区随机标记短枝上的 100 个芽, 次年盛花期统计花的数量, 计算并以处理组 3 个小区的平均结果作为最终开花率。

可溶性糖和淀粉的提取与测定根据 Rosa 等 (2009) 的研究进行。

## 1.3 糖代谢相关酶活性测定

蔗糖合酶 (sucrose synthase, SS) 与蔗糖磷酸合成酶 (sucrose-phosphate synthase, SPS) 活性的测定参考汤章城 (1999) 的方法。酸性蔗糖转化酶 (acid invertase, AI) 与中性蔗糖转化酶 (neutral invertase, NI) 活性的测定参考曾宪彬等 (1993) 的方法。山梨醇脱氢酶 (sorbitoldehydrogenase, SDH) 与山梨醇氧化酶 (sorbitoloxidase, SOX) 活性的测定参考 Yamaki (1986) 的方法。

## 1.4 糖代谢和糖信号相关基因定量表达分析

花芽生理分化期短枝顶芽总 RNA 的提取按照 FOREGENE Plant Total RNA Isolation Kit 试剂盒方法进行。用 DNase I 去除样品总 RNA 中的 DNA 污染。按照 TaKaRa Prime Script<sup>TM</sup> RT Reagent Kit 方法合成 cDNA 第一链。用 NCBI Primer-BLAST 在线工具设计特异性引物 (表 1)。

糖代谢和糖信号相关基因及成花相关基因的表达情况利用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术进行分析。qRT-PCR 反应按照 TaKaRa SYBR<sup>®</sup> Prime EX Taq<sup>TM</sup> II 的试剂盒说明书进行。反应体系 (10  $\mu\text{L}$ ) 为: 1  $\mu\text{L}$  cDNA, 1  $\mu\text{L}$  前引物, 1  $\mu\text{L}$  后引物, 5  $\mu\text{L}$   $2\times$  SYBR Premix Ex Taq II (TaKaRa Bio), 2  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O。在 Bio-RAD IQ5 荧光定量 PCR 仪上完成反应。95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  15 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 40 个循环。

以苹果 *Actin* (序列号 GQ339778) 作为内参, 用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  法 (Livak & Schmittgen, 2001) 计算目的基因的相对表达量。设置 3 次重复。

表 1 表达分析基因的引物序列  
Table 1 Sequence of primers used for expression analysis

基因 Gene	基因编号 Gene ID	前引物序列 Forward primer	后引物序列 Reverse primer
<i>MdTPS1</i>	MDP0000139096	GCTCGGTATCTACTTCAGTCCTCG	ATCTCTGAACCGGAAGATGAAACGC
<i>MdTPS2</i>	MDP0000267875	CGGACCACATCCCACCAATCG	CTTCTCTTAAGTGCACACTCAGGCTCA
<i>MdFK4</i>	MDP0000765663	TCAGGATGAGGAGGGGCTACGAG	CTGCTTTAAGCACTGGAGCACAGC
<i>MdPGM1</i>	MDP0000866748	AAGAATGCGAGTCTGCAGGT	AGTAGAGGGTCCAAACTTACCA
<i>MdAMY2</i>	MDP0000212372	AGTTGGATGGTGGCCTTCTC	ATGGAACCAGCCAACCTCTG
<i>MdPHS2</i>	MDP0000189934	TGGATGCTCAGGCAAAAGTAGA	TACTGAGCAATTGTCCGGTCG
<i>MdBAM7</i>	MDP0000223799	TTCCACTGCCTCATTGGGTG	GTCCGGCCTCTTAGAAGCTCG
<i>MdSUT1</i>	MDP0000275743	TGTTCCGTATGCTTTGGTTCTTC	AATAGCTGATCCCAAGGTCCACT
<i>MdS6PDH</i>	MDP0000312001	GCGCGACTCTCTCGTCAA	CCAAAGGTGAAACAGAACCAAAAC
<i>MdSDH1</i>	AF323504	ACAGGCACGAAATGCCATA	GCAACCACAACTAATGCTTCCT
<i>MdSUSY1</i>	MDP0000250070	CTCAAGCGTGTAAAGCAACAG	CTGAATGGAACACGAAGAATATC
<i>MdSPS6</i>	MDP0000288684	AGGTTCTGTTGAGTATGGCAGTGAG	GTGCTTCAAGTGCCGCTGAGA
<i>MdNINV2</i>	MDP0000133399	GAGTTCCAGACAGGCATAAGGCT	CCATCCGTCTATCAATCATACAGG
<i>MdHKX1</i>	MDP0000309677	CTGAAAGTGGTGGGAGCAAAC	TGCACGAGTGGAACCTATGTCG
<i>MdVGT1</i>	MDP0000863082	ACAAGTAGATGAGATGCTGGCT	GTTGCCCTGTAATCTGTTGGA
<i>MdTMT1</i>	MDP0000381084	TCGTCTATTCTGCGTCTTTGTC	CCGCTGCGTAAATCCCAAAT
<i>MdSOT1</i>	MDP0000755167	AGGCAGAACCCTAGAAGATATGGAG	TCATACCACTCTATTATTGCCATC
<i>MdAP1</i>	MDP0000013331	TCCACAGCCACTTCCATGTCTA	AAGCATCCGAGATGGCATTTC
<i>MdSOC1</i>	AB501124.1	GGCGCATAGAGAACACGACGAG	GCAAGTCCACTCACGAGCCAAT
<i>MdLFY</i>	MDP0000492089	AGAAGCAGCGGAGGATGAAGAA	GTCATGTCGTCCATGTCGTTGT
<i>MdFT</i>	MDP0000132050	TTTGCAITGGTTGGTTACCG	CAATTGGCGAAACACCACC
<i>MdFD</i>	MDP0000169473	AGTGACCAGACCAACCACAACA	ATTTGGGTGGTGGGATCAGTGA
<i>MdTFL1</i>	MDP0000255437	ACCACAGATGCCACATTTGGA	AGGTGTGTTGATTGATTGCTTTGA

采用 OriginPro 8 软件处理数据与制图,采用 DPS 处理系统的完全随机 *t* 检验方法进行数据分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 当年生枝条平均生长量

从图 1 可以看出,在盛花期后 0~28 d,两个‘富士’系品种的当年生枝条生长量大幅度上升,而 28~42 d 生长放缓,因此盛花期后 28 d 前后可看作是花芽生理分化期的开始。

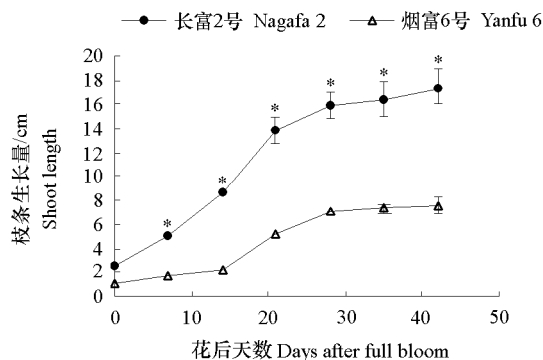


图 1 ‘长富 2 号’与‘烟富 6 号’当年生枝条生长量  
Fig. 1 Growth of current shoots of ‘Nagafu 2’ and ‘Yanfu 6’  
\*  $P < 0.05$ .

## 2.2 葡萄糖处理对短枝顶芽生长及成花率的影响

图2可知,葡萄糖处理后,‘长富2号’苹果短枝顶芽的长度、宽度和鲜样质量都有一定的增加。其中,顶芽长度在花后50和70 d显著大于对照,宽度在花后60 d差异显著,单芽鲜样质量在花后60和70 d显著高于对照,来年盛花期成花率(67.29%)显著高于对照(45.48%)。

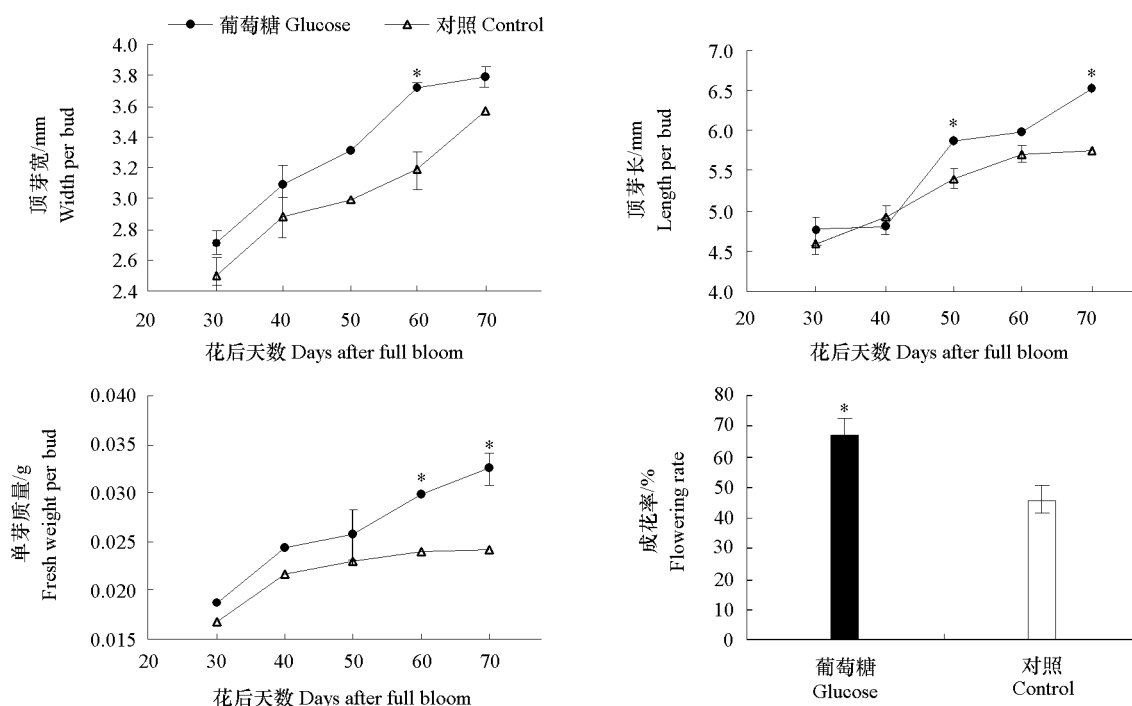


图2 外源葡萄糖对芽体发育及成花率的影响

Fig. 2 Effect of exogenous glucose on spur bud growth and flowering rate

## 2.3 葡萄糖处理对短枝顶芽与毗邻叶中可溶性糖和淀粉含量的影响

通过检测花芽生理分化过程中5个时间点的短枝顶芽及毗邻叶的可溶性糖含量可以看到,‘长富2号’苹果短枝顶芽中,蔗糖与果糖在花后30~40 d有1个上升累积过程。进入生理分化中后期迅速下降;而葡萄糖一直呈下降趋势;山梨醇在花后30~60 d持续下降,70 d小幅回升;淀粉含量在花后30 d迅速下降,而后逐渐上升。葡萄糖处理与对照相比,葡萄糖与山梨醇含量均在30和40 d,蔗糖含量在30、40和70 d,淀粉含量在花后40、60和70 d都显著提高,而蔗糖含量在花后60 d显著降低,果糖在40~60 d虽呈下降趋势,但仍显著高于对照(图3)。

在短枝顶芽毗邻叶中,4种可溶性糖与淀粉都表现出类似的变化过程,花芽生理分化前期均呈下降趋势,中后期含量变化多样。经过葡萄糖处理后,蔗糖含量在花后50~70 d,葡萄糖含量在花后30、40和70 d,果糖在30和40 d,山梨醇在30、50和60 d,淀粉含量在30和50 d都显著高于对照(图3)。

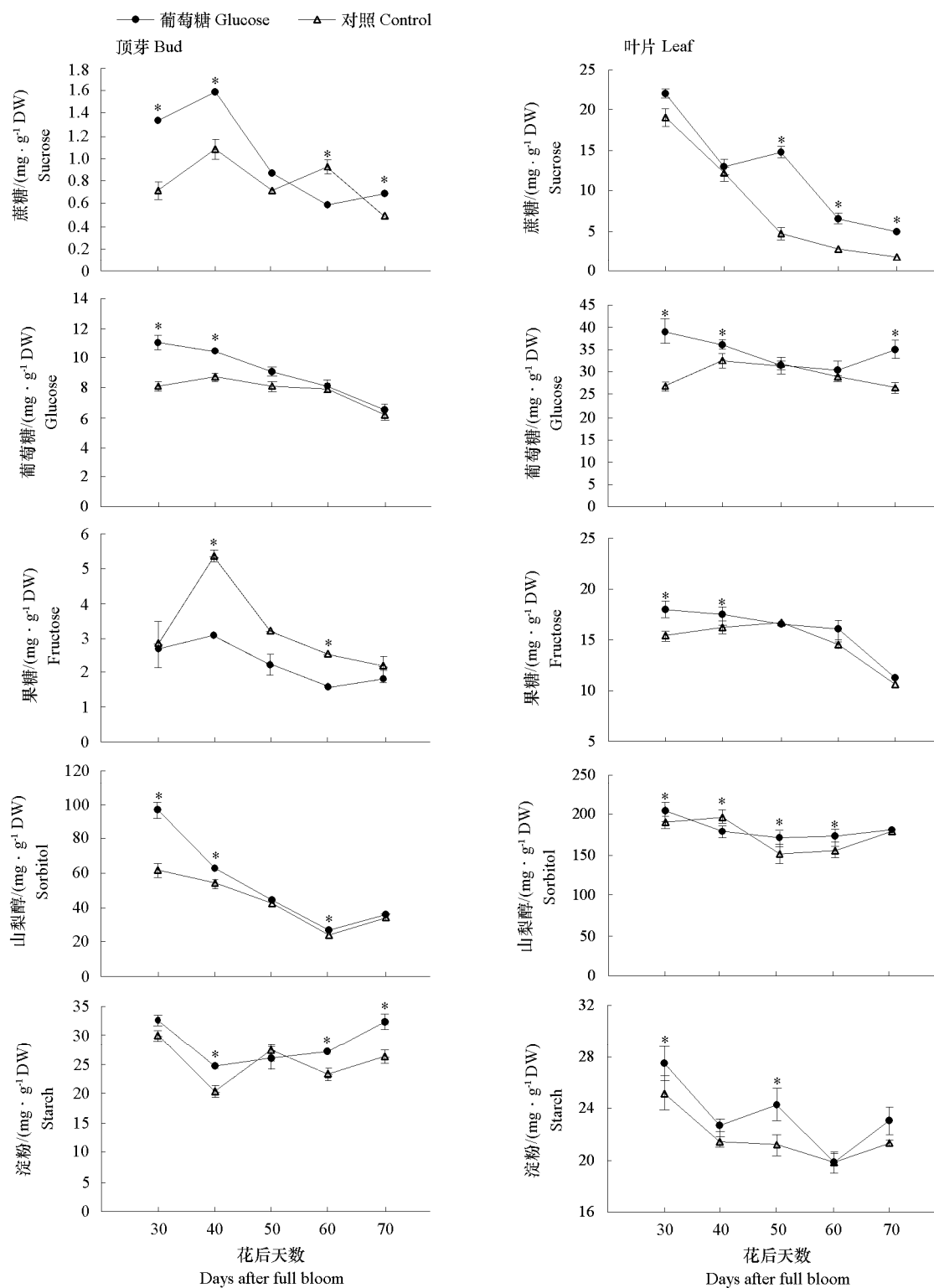


图3 外源葡萄糖对短枝顶芽(左)及叶片(右)可溶性糖和淀粉含量的影响

Fig. 3 Changes of sugar and starch contents in spur buds (left) and leaves (right) with exogenous glucose

## 2.4 葡萄糖处理对短枝顶芽及毗邻叶糖代谢相关酶活性的影响

由图 4 可知, 葡萄糖处理对糖代谢酶活性具有不同影响。在短枝顶芽中, 山梨醇脱氢酶 (SDH) 与山梨醇氧化酶 (SOX) 活性整体呈现相同的下降趋势, 在花后 30~40 d 葡萄糖处理显著高于对照, 随后迅速下降。在葡萄糖处理后, 盛花期后 30~60 d 酸性蔗糖转化酶 (AI) 的酶活性低于对照; 盛花期后 30 和 50 d 中性蔗糖转化酶 (NI) 活性显著低于对照。蔗糖合酶合成方向 (SS synthesis) 与蔗糖磷酸合成酶 (SPS) 的活性, 在整个花芽生理分化期均为先升高后降低, 且葡萄糖处理后蔗糖合酶合成方向酶活性在花后 60 和 70 d 高于对照, SPS 酶活性在花后 30、50 和 70 d 显著高于对照。蔗糖合酶分解方向 (SS catabolism) 酶活性总体呈下降趋势, 处理组显著低于对照组。

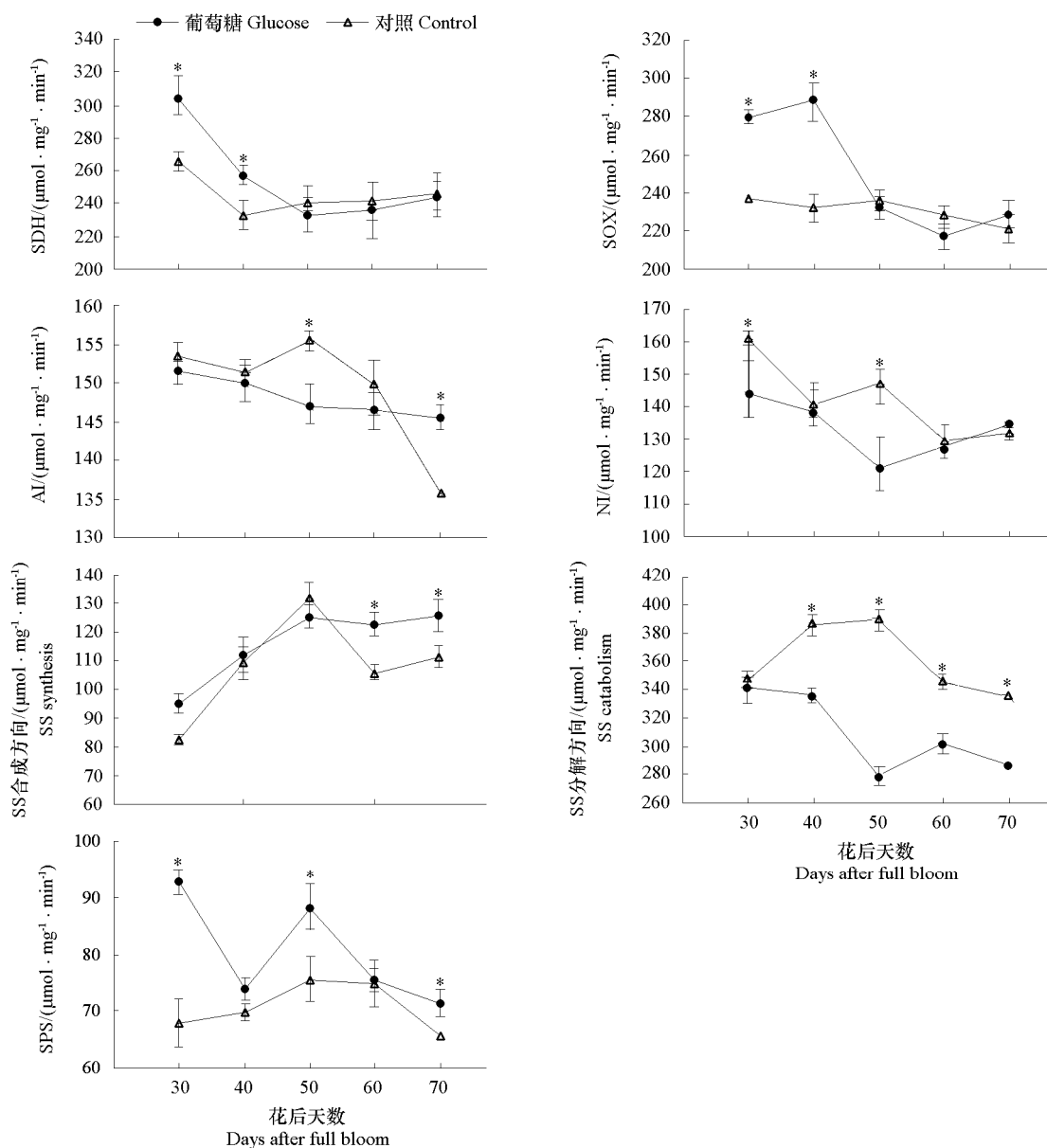


图 4 外源葡萄糖对短枝顶芽糖代谢相关酶活性的影响

Fig. 4 Activities of key enzymes involved in sugar metabolism in glucose-treated buds

在顶芽毗邻叶中, SDH 与 SOX 活性在花芽生理分化期间逐渐积累, 但葡萄糖处理后, SDH 活性在花后 30、40 和 70 d 显著高于对照, 而 SOX 活性在花后 30、50 和 60 d 显著低于对照。AI 与 NI 活性在整个时期逐渐降低。葡萄糖处理后, AI 在花后 60 和 70 d, NI 在花后 30、50 和 70 d 活性显著低于对照。蔗糖合酶分解方向酶活性在花后 30、50 和 60 d 显著低于对照组。而 SPS 在花芽生理分化初期 30~50 d 逐渐升高, 之后活性锐减, 葡萄糖处理组在花后 30、40 和 70 d 活性显著高于对照组 (图 5)。

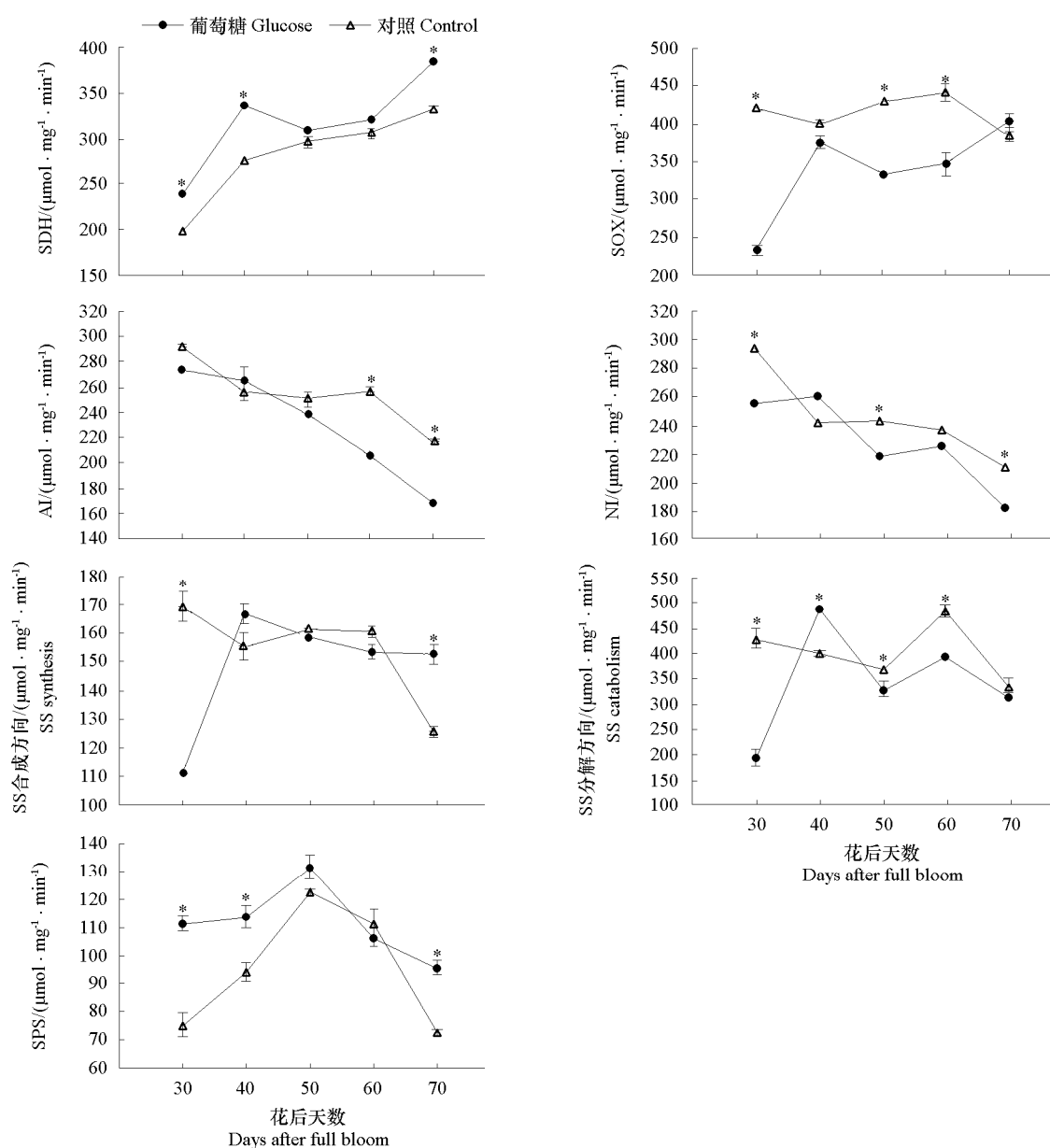


图 5 外源葡萄糖对毗邻叶片糖代谢相关酶活性的影响

Fig. 5 Activities of key enzymes involved in sugar metabolism in glucose-treated leaves



## 2.5 葡萄糖处理对短枝顶芽糖代谢相关基因表达量的影响

对于糖代谢基因, 表达量分析结果(图 6)显示, *MdSUSY1* 和 *MdSPS6* 与蔗糖合成相关。*MdSUSY1*

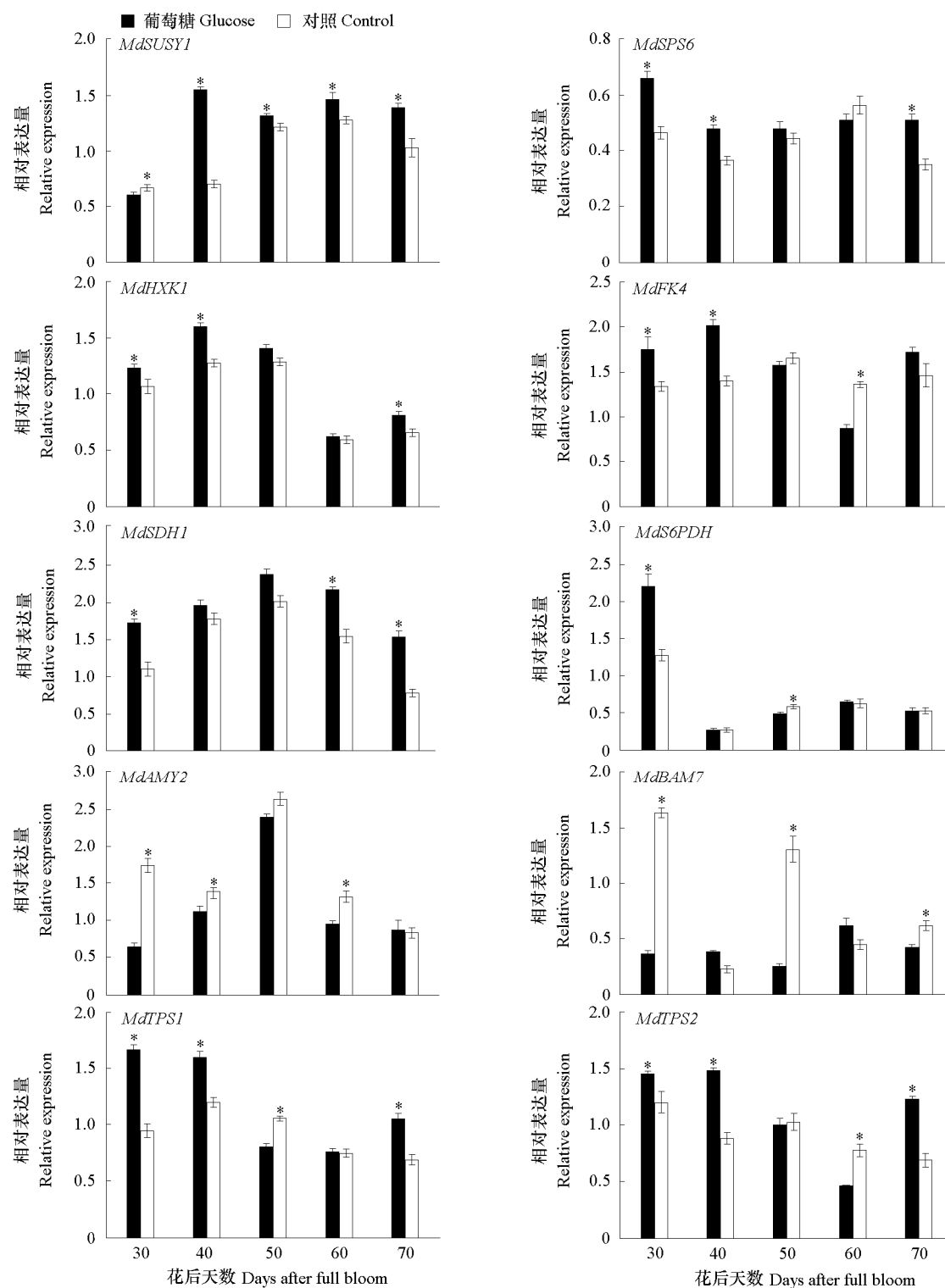


图 6 葡萄糖处理对富士苹果短枝顶芽糖合成与分解相关基因的影响

Fig. 6 Effects of glucose on expression levels of sugar synthesis and decomposition genes in spur buds

在花后 40、50、60 和 70 d 都显著上调, *MdSPS6* 的上调时期在花后 30、40 和 70 d。己糖激酶相关基因 *MdH XK1* 与 *MdSPS6* 类似。果糖激酶基因 *MdFK4* 在花后 30 和 40 d 显著高于对照, 60 d 显著低于对照。山梨醇脱氢酶基因 *MdSDH1* 花后 30、60 和 70 d 表达显著上调, 山梨醇合成关键基因 *MdS6PDH* 花后 30 d 显著上调。淀粉代谢酶基因 *MdAMY2* 和 *MdBAM7* 经过葡萄糖处理后, 都发现了显著下调时期。海藻糖代谢途径关键基因 *MdTPS1* 与 *MdTPS2* 都在花后 30、40 和 70 d 显著高于对照。

如图 7 所示, 蔗糖转运相关蛋白 *MdSUT1* 表达量在花芽生理分化期呈现先上升后降低的趋势, 葡萄糖处理后在花后 30 d 和 70 d 上调明显。己糖转运蛋白基因 *MdTMT1* 与 *MdVGT1*, 葡萄糖处理后 *MdTMT1* 在花后 30、50 和 60 d 表达量显著低于对照, 在花后 70 d 则显著高于对照, *MdVGT1* 在花后 40 d 表达量最高, 且在 30 和 40 d 表达量显著高于对照。山梨醇转运蛋白 *MdSOT1* 在花后 30、50 和 70 d 显著高于对照, 30 d 时约为对照的 1 倍。

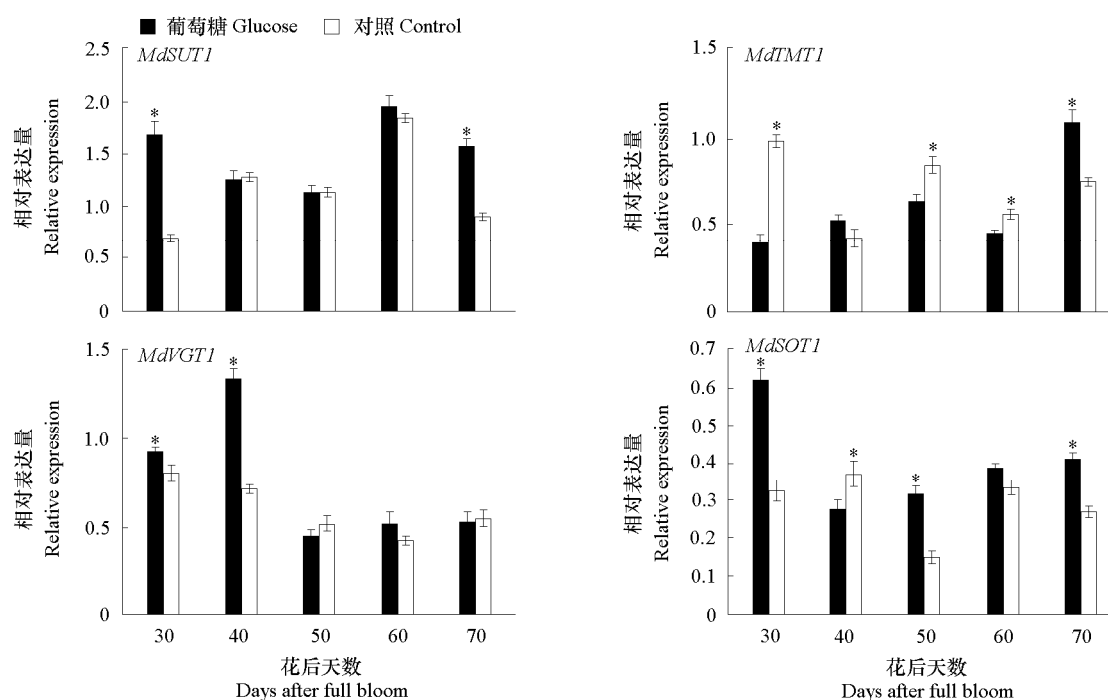


图 7 葡萄糖处理对富士苹果短枝顶芽糖转运蛋白相关基因的影响

Fig. 7 Effects of glucose on expression levels of sugar transporter genes in spur buds

## 2.6 葡萄糖处理对短枝顶芽成花相关基因表达量的影响

经由短枝顶芽成花相关基因的表达分析发现, 花期调控基因 *MdFT1*、*MdFD*、*MdLFY*、*MdSOC1*、*MdAPI* 的表达水平在葡萄糖处理后, 均有不同程度的上调 (图 8)。 *MdLFY* 与 *MdAPI* 均在花芽生理分化中期 (花后 50 d) 表达量达到最高, 且葡萄糖处理比对照显著上调。 *MdFD* 在整个分化时期表达量逐渐升高, 处理与对照相比上调表达明显。 *MdSOC1* 在整个分化时期表达量先降低后升高, 在花后 30、50 和 70 d 处理显著高于对照。 *MdFT1* 整体表达量呈下降趋势, 葡萄糖处理后在花后 30、50 和 60 d 表达量显著高于对照。另外, 成花抑制因子 *MdTFL1* 在生理分化期表达水平逐渐下降, 且葡萄糖处理后在花后 30、40、60 和 70 d 表达量显著下降。

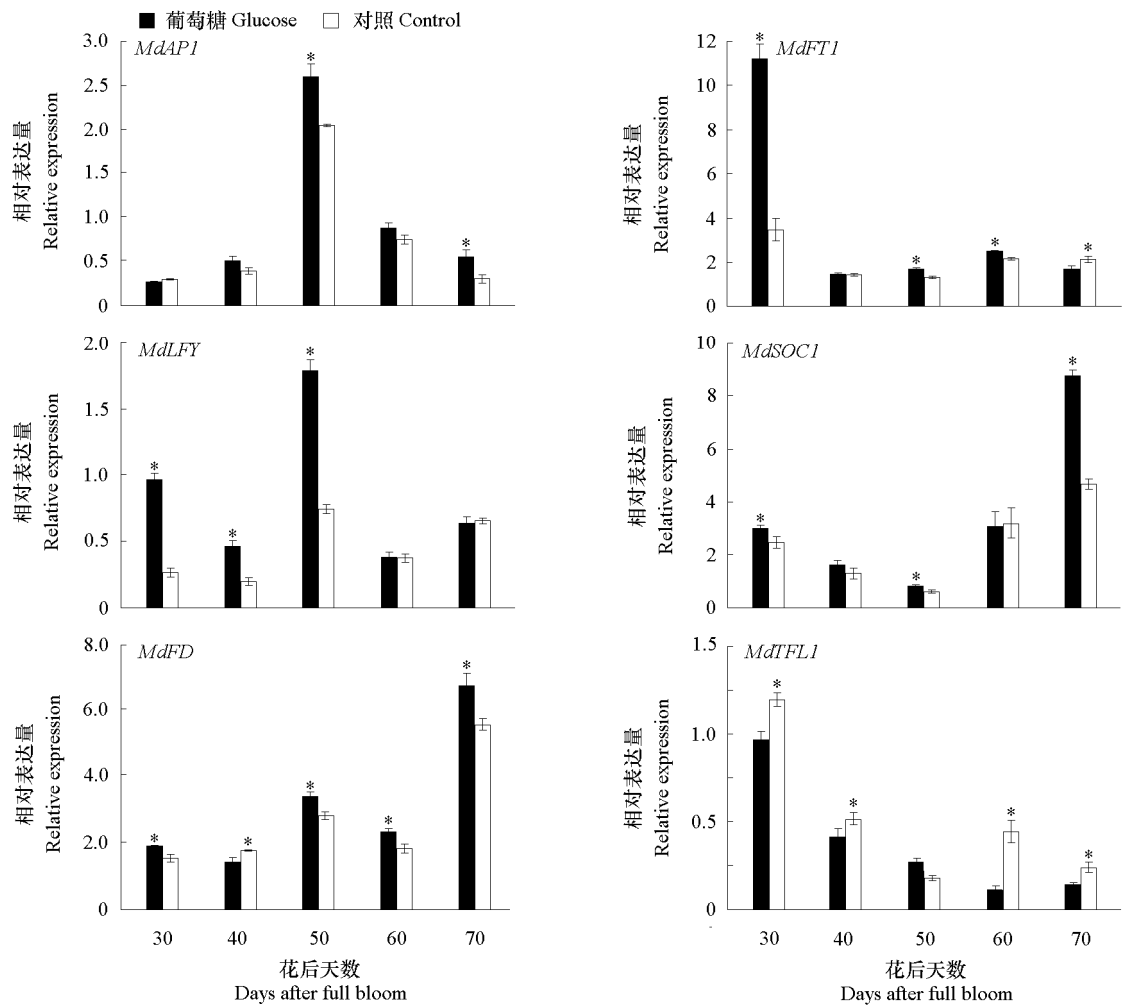


图 8 葡萄糖处理对富士苹果短枝顶芽成花基因表达量的影响  
Fig. 8 Effects of glucose on expression levels of flowering genes in spur buds

### 3 讨论

在生产过程中，富士苹果的难成花现象严重影响果实产量，而糖作为植物体内的碳源和重要的能量物质，影响其生理生化进程，对植物生长发育至关重要。研究报道，野生型拟南芥在黑暗条件下，施加葡萄糖与蔗糖，植株仍能正常开花（Araki & Komeda, 1993）。但同时植物体内蔗糖和葡萄糖浓度过高时会抑制植物开花。在 5%和 2%蔗糖的条件下培养野生型拟南芥，发现 5%的蔗糖条件会抑制植物成花（Ohto et al., 2001）。还有研究发现，过高浓度的葡萄糖也会抑制植物的成花，野生型拟南芥培养在 2%和 6%葡萄糖条件下，含 6%葡萄糖培养基中的植株始终延迟抽薹开花（Rolland et al., 2006）。在苹果的类似研究中，Du 等（2017）在花后 29 d 与花后 36 d 对‘富士’成年植株分别喷施浓度为 1.5%与 2%的蔗糖，明显改善了芽体发育情况与成花率。Kotoda 等（2000）研究结果表明，花芽生理分化的起点与当年生枝条的停长时间点紧密相连。为了确定花芽生理分化期的起始时间，测定了‘长富 2 号’与‘烟富 6 号’当年生枝条在花后 0 d 到 42 d 的平均生长量，最后确定杨凌当地富士苹果花芽生理分化期的起点应该在盛花期后 28 d 左右。本研究中，在富士花后 25 d，

即花芽生理分化期前, 喷施浓度为 1.5% 的葡萄糖, 之后于花后 30 d 二次喷施浓度增加至 3%, 增强葡萄糖处理效应。

葡萄糖处理后, 短枝顶芽中蔗糖合酶合成方向 SS 与蔗糖磷酸合成酶 SPS 的活性增强, 与之相关的基因 *MdSUSY1* 和 *MdSPS6* 表达量也有所增强, 表现出一致性, 得到显著上调, 蔗糖转运蛋白基因 *MdSUT1* 表达量在花后 70 d 也明显升高, 从而可以推测短枝顶芽中蔗糖含量得到了积累。之前的研究发现, 6-磷酸山梨醇脱氢酶基因 *MdS6PDH* 是合成山梨醇的关键酶, 只要有 *S6PDH* 基因就能产生山梨醇 (Tao et al., 1995), Kanamaru 等 (2004) 研究苹果 *MdS6PDH* 转基因株系发现, *S6PDH* 基因表达量及其酶活性都变高, 同时伴随着山梨醇和蔗糖含量的升高, 本研究中葡萄糖处理后 *MdS6PDH* 在花后 30 d 显著上调的结果与之一致。在对龙眼反季节花芽生理分化期碳水化合物与相关酶的关系的研究中, 发现蔗糖磷酸合成酶 SPS 与果糖含量呈显著负相关, 酸性蔗糖转化酶 AI 与果糖有显著正相关 (常强, 2010)。本研究中, SPS 从花后 30 d 开始活性显著上调, 而 AI 在花后 50 d 显著下调, 且果糖激酶 *MdFK4* 在花后 30 和 40 d 表达量升高, 而对果糖亲和性更高的己糖转运蛋白基因 *MdTMT1* (马新立 等, 2014) 在分化前中期 30、50 和 60 d 表达显著下调, 所以处理后短枝顶芽中的果糖含量在整个花芽分化期间几乎都显著低于对照。前人研究表明,  $\alpha$ -淀粉酶基因在栽培水稻悬浮培养细胞中, 出现糖抑制现象 (钱海丰 等, 2003), 而  $\alpha$ -淀粉酶基因 *MdAMY2* 与  $\beta$ -淀粉酶基因 *MdBAM2* 经过葡萄糖处理后表达被抑制, 可能是引起淀粉在短枝顶芽中积累的主要原因。而叶片中糖代谢相关酶活性发生不同改变, 总体来看碳水化合物积累明显, 同化物库源间运输效应增强。总的来说, 葡萄糖处理后短枝顶芽和叶片内碳水化合物积累明显, 大部分可溶性糖与淀粉含量增多, 进而 C/N 比值增加, 导致短枝顶芽大小及鲜样质量也有明显增幅, 更有利于花芽形成。

而糖除了作为能源物质供应植株的生长发育外, 还可以作为信号物质调节花发育。研究报道, 拟南芥中的植物碳水化合物状态指示剂, 海藻糖-6-磷酸 (T6P), 是海藻糖途径调控成花的重要信号因子, 可通过调控叶片及顶端分生组织中关键成花基因的表达来参与成花诱导 (Wahl et al., 2013; 陈素丽 等, 2014)。苹果中 I 类 *MdTPS* 中的 *MdTPS1*、*MdTPS2* 已经被鉴定出来, 其功能可能与 *AtTPS1* 类似 (Du et al., 2017), 而在 '长富 2 号' 短枝顶芽中, *MdTPS1* 与 *MdTPS2* 都能响应葡萄糖处理, 表达量在花后 30、40 和 70 d 显著上调, 同时促进成花调控关键基因 *MdFT1*、*MdFD*、*MdLFY*、*MdSOC1*、*MdAPI* 表达, 此结果与前人研究较为一致。此外, 己糖激酶 HXK 是既有酶催化功能又有信号转导功能的双功能酶, 也是拟南芥葡萄糖信号转导途径中的感受器 (Karve et al., 2010)。拟南芥中依赖 *AtHXK1* 的葡萄糖信号途径与生长素/细胞分裂素信号途径之间也存在着某种联系 (李金燕 等, 2017)。本研究中, *MdHXK1* 与 *AtHXK1* 高度同源, 表达量响应葡萄糖上调, 因此可能加强了葡萄糖信号, 对生长素/细胞分裂素信号途径产生了影响, 从而调控了成花。

综上所述, 喷施葡萄糖可作为一种调控 '富士' 苹果成花的有效手段, 促进 '富士' 短枝顶芽可溶性糖积累, 上调 *MdTPS* 和成花基因表达量, 提高成花率, 为进一步研究苹果花芽分化奠定了基础。但同时, 葡萄糖处理后, 短枝顶芽中果糖含量的降低起到了何种作用, 葡萄糖究竟又通过哪些途径调控成花基因, 如何影响 '富士' 成花仍需深入研究。

## References

- Araki T, Komeda Y. 1993. Flowering in darkness in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal*, 4 (5): 801–811.
- Cao Shang-yin, Zhang Jun-chang, Jiang Ai-hua, Wei Li-hua. 2001. Study on the best period of regulation of apple flower buds. *China Fruits*, (1): 14–17. (in Chinese)
- 曹尚银, 张俊昌, 江爱华, 魏立华. 2001. 苹果花芽孕育调控的最佳时期研究. *中国果树*, (1): 14–17.

- Cao Shang-yin, Zhang Qiu-ming, Wu Shun. 2003. Advances in reaserch on the mechanism of flower-bud differentiation of fruit trees. Journal of Fruit Science, 20 (5): 345 - 350. (in Chinese)
- 曹尚银, 张秋明, 吴 顺. 2003. 果树花芽分化机理研究进展. 果树学报, 20 (5): 345 - 350.
- Chang Qiang. 2010. Study on relationship between off-season floral induction in longan and nutrition of the carbon and nitrogen [Ph. D. Dissertation]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. (in Chinese)
- 常 强. 2010. 龙眼反季节成花诱导与碳氮营养关系的研究 [博士论文]. 福州: 福建农林大学.
- Chen Su-li, Peng Yu, Zhou Hua, Yu Bo, Dong Yan-jun, Teng Sheng. 2014. Research advances in trehalose metabolism and trehalose-6-phosphate signaling in plants. Plant Physiology Journal, 50 (3): 233 - 242. (in Chinese)
- 陈素丽, 彭 瑜, 周 华, 于 波, 董彦君, 滕 胜. 2014. 植物海藻糖代谢及海藻糖-6-磷酸信号研究进展. 植物生理学报, 50 (3): 233 - 242.
- Cousson A, Van K T. 1983. Light-and sugar-mediated control of direct de novo flower differentiation from tobacco thin cell layers. Plant Physiology, 72 (1): 33 - 36.
- Du L S, Qi S Y, Ma J J, Xing L B, Fan S, Zhang S W, Li Y M, Shen Y W, Zhang D, Han M Y. 2017. Identification of TPS family members in apple (*Malus × domestica* Borkh.) and the effect of sucrose sprays on TPS expression and floral induction. Plant Physiology and Biochemistry, 120: 10 - 23.
- Hanke M V, Henryk B, Bullet F, Peil A, Hättasch C. 2007. No flower no fruit—genetic potentials to trigger flowering in fruit trees. Genes Genomes Genomics, 1 (1): 1 - 20.
- Han Ming-yu, Li Yong-wu, Fan Chong-hui, Zhao Cai-ping. 2008. Effects of branch bending angle on physiological characteristics and fruit quality of fuji apple. Acta Horticulturae Sinica, 35 (9): 1345 - 1350. (in Chinese)
- 韩明玉, 李永武, 范崇辉, 赵彩萍. 2008. 拉枝角度对富士苹果树生理特性和果实品质的影响. 园艺学报, 35 (9): 1345 - 1350.
- Huang Hai, Qiao Xian-sheng, Cao Shang-yin. 1986. Studies on the period of physiological differentiation of flower bud in apple trees. Acta Horticulturae Sinica, 3 (3): 181 - 186. (in Chinese)
- 黄 海, 乔宪生, 曹尚银. 1986. 关于苹果花芽生理分化时期的研究. 园艺学报, 3 (3): 181 - 186.
- Ito A, Hayama H, Kashimura Y. 2002. Sugar metabolism in buds during flower bud formation: a comparison of two Japanese pear [*Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nak.] cultivars possessing different flowering habits. Scientia Horticulturae, 96 (1 - 4): 163 - 175.
- Ito A, Hayama H, Kashimura Y. 2004. Possible roles of sugar concentration and its metabolism in the regulation of flower bud information in japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). Acta Horticulturae, 636 (44): 365 - 373.
- Kanamaru N, Ito Y, Komori S, Saito M, Kato H, Takahashi S, Omura M, Soejima J, Shiratake K, Yamada K. 2004. Transgenic apple transformed by sorbitol-6-phosphate dehydrogenase cDNA: switch between sorbitol and sucrose supply due to its gene expression. Plant Science, 167 (1): 55 - 61.
- Karve R, Lauria M, Virnig A, Xia X, Rauh B L, Moore B D. 2010. Evolutionary lineages and functional diversification of plant hexokinases. Molecular Plant, 3 (2): 334 - 346.
- Kotoda N, Wada M, Komori S, Kidou S I, Abe K, Masuda T, Soejima J. 2000. Expression pattern of homologues of floral meristem identity genes *LFY* and *API* during flower development in apple. Journal of the American Society for Horticultural Science, 125 (4): 398 - 403.
- Li Jin-yan, Huang Ji, Yao Run-yu, Xiao Wen-jun, Guo Xin-hong. 2017. Progresses on the cross-talk between sugar and hormone signaling. Life Science Research, 21 (1): 79 - 84. (in Chinese)
- 李金燕, 黄 吉, 姚润屿, 肖文君, 郭新红. 2017. 植物糖与激素信号途径的交叉会谈. 生命科学研究, 21 (1): 79 - 84.
- Livak K J, Schmittgen T D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. Methods, 25 (4): 402 - 408.
- Ma Xin-li, Qin Yuan, Wei Xiao-yu, Ma Feng-wang, Li Ming-jun. 2014. Sequence and expression analysis of apple tonoplast monosaccharide transporter *TMT* genes and their relationship with sugar accumulation in fruit. Acta Horticulturae Sinica, 41 (7): 1317 - 1325. (in Chinese)
- 马新立, 秦 源, 魏晓钰, 马锋旺, 李明军. 2014. 苹果糖转运蛋白 *TMT* 基因的表达及其与糖积累的关系. 园艺学报, 41 (7): 1317 - 1325.
- Ohto M, Onai K, Furukawa Y, Aoki E, Araki T, Nakamura K. 2001. Effects of sugar on vegetative development and floral transition in *Arabidopsis*.

Plant Physiology, 127 (1): 252 - 261.

Qian Hai-feng, Zhao Xiao-juan, Zhao Xin-ai. 2003. Regulation of  $\alpha$ -amylase gene expression. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 12 (4): 87 - 90. (in Chinese)

钱海丰, 赵晓娟, 赵心爱. 2003.  $\alpha$ -淀粉酶基因表达的调控. 西北农业学报, 12 (4): 87 - 90.

Rolland F, Baena-Gonzalez E, Sheen J. 2006. Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. Usaannual Reviews, 57 (1): 675 - 709.

Rolland F, Sheen J. 2005. Sugar sensing and signalling networks in plants. Biochemical Society Transactions, 33 (1): 269 - 271.

Rosa M, Hilal M, Gonzalez J A, Prado F E. 2009. Low-temperature effect on enzyme activities involved in sucrose-starch partitioning in salt-stressed and salt-acclimated cotyledons of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, 47(4): 300 - 307.

Tang Zhang-cheng. 1999. Modern plant physiology experiment guide. Beijing: Science Press. (in Chinese)

汤章城. 1999. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社.

Tao R, Uratsu S L, Dandekar A M. 1995. Sorbitol synthesis in transgenic tobacco with apple cDNA encoding NADP-dependent sorbitol-6-phosphate dehydrogenase. Plant & Cell Physiology, 36 (3): 525 - 532.

Wahl V, Ponnu J, Schlereth A, Arrivault S, Langenecker T, Franke A, Feil R, Lunn J E, Stitt M, Schmid M. 2013. Regulation of flowering by trehalose-6-phosphate signaling in *Arabidopsis thaliana*. Science, 339 (6120): 704 - 707.

Xing L B, Zhang D, Li Y M, Shen Y W, Zhao C P, Ma J J, An Na, Han M Y. 2015. Transcription profiles reveal sugar and hormone signaling pathways mediating flower induction in apple (*Malus domestica* Borkh.). Plant and Cell Physiology, 56 (10): 2052 - 2068.

Yamaki S. 1986. Roles of four sorbitol related enzymes and invertase in the seasonal alteration of sugar metabolism in apple tissue. J Amer Soc Hort Sci, 111: 134 - 137.

Zeng Xian-bin, Cao Xian-zu, Liang Jian-sheng. 1993. Dynamic characteristics of invertase of sugarbeet roots (*Beta vulgaris* L.). Journal of Jiangsu Agricultural College, 14 (1): 21 - 25. (in Chinese)

曾宪彬, 曹显祖, 梁建生. 1993. 甜菜块根中蔗糖酶的若干动力学性质. 江苏农学院学报, 14 (1): 21 - 25.

## 信息

## 2019 深圳花展

**主题:** 卉萃深圳 花漾生活

**主题花卉:** 紫罗兰[十字花科紫罗兰属, 学名 *Matthiola incana* (L.) R. Br.]

**举办时间:** 2019 年 3 月 22 日—3 月 31 日

**举办地点:** 深圳市仙湖植物园

为“打造世界著名花城, 创建美丽中国典范城市”, 深圳将于 2019 年 3 月 22 日—3 月 31 日首次举办国际化综合性的高品质花展。此次花展旨在促进深圳与各城市的交流与合作, 指引、推动花卉产业升级、加快园林园艺人才队伍建设。同时, 深圳花展将成为深圳自然教育的又一平台, 它将极大地促进公众对自然、植物、园艺的认知, 让美丽深圳更加充满魅力, 更加宜居宜业。

2019 深圳花展的园艺主展区由新优花卉展、插花花艺展、国际花园展、精品花园展、创意花园展、特色花园展、植物花卉周边产品展等板块构成。花展期间还将围绕主题, 举办各类丰富多彩的活动, 包括主题论坛(花城建设论坛、植物园花展论坛、园林园艺产业发展论坛), 花艺、园艺工作坊, 自然体验工作坊, 植物绘画, 户外音乐秀等。

2019 深圳花展由深圳市人民政府主办, 深圳市城市管理局承办, 深圳市仙湖植物园执行。