

枇杷花芽和营养芽形成过程中内源激素的变化

刘宗莉^{1,2}, 林顺权^{1*}, 陈厚彬¹

(¹ 华南农业大学园艺学院, 广州 510642; ² 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631)

摘要: 以大田‘早钟6号’枇杷为试材, 研究了花芽分化期营养芽与花芽内源激素水平的变化以及激素平衡(比值)的作用。结果表明: 低水平 GA_3 和低水平 IAA 对枇杷花序原基的形成和花器官的分化起促进作用, 在花芽诱导期相对较高的 ZT 水平和 ABA 水平有利于花芽分化; 在形态分化期, 也要求较高的 ZT 水平和 ABA 水平。 ABA 含量在枇杷成花过程中的变化特征最明显, 暗示其在枇杷的成花中扮演主导角色, 没有 ABA 的持续升高, 就不能导向成花; 另一个有可能与之起作用的是 IAA , 后者在关键的时候(8月中旬)有所下降。

关键词: 枇杷; 花芽诱导; 花芽分化; IAA ; GA_3 ; ZT ; ABA

中图分类号: S 667.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 02-0339-06

Time Course Changes of Endogenous Hormone Levels During the Floral and Vegetative Buds Formation in Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.)

LIU Zong-li^{1,2}, LIN Shun-quan^{1*}, and CHEN Hou-bin¹

(¹ College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; ² College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: The variation and the ratios of four endogenous hormones in the buds throughout flower induction and differentiation in field-grown Zaozhong 6 loquat trees were studied. While lower levels of GA_3 and IAA were linked to the inflorescence primordium formation and floral organs differentiation, higher levels of ZT and ABA were connected with flower differentiation. Of the four endogenous hormones detected, ABA played a dominant role in flower induction and differentiation, as the persistent rise in ABA level coincided with flower bud formation. Meanwhile, the fall in IAA level at some critical point (mid-August) also appeared to be necessary.

Key words: Loquat; Flower induction; Flower differentiation; IAA ; GA_3 ; ZT ; ABA

枇杷 (*Eriobotrya japonica* Lindl.) 是原产我国有特色的亚热带果树之一。目前中国是世界上最大的枇杷生产国, 栽培面积已超过 11 万公顷。

枇杷是我国立春以后上市早的鲜果种类之一, 越早经济效益越高, 因此, 近年来果农追求枇杷早花早熟的倾向越来越明显。

枇杷的花芽是在夏秋季较高的温度下孕育成的, 为夏秋花芽分化型。长期以来枇杷成花很少出现特殊的问题, 因此对枇杷成花机理的研究较少。然而近几年情况出现了一些变化, 一是上述生产上追求早花的倾向提出了研究枇杷成花机理的科研需求, 二是生产上也出现了反季节枇杷。福建的主栽品种, 如‘解放钟’、‘早钟6号’等引种到云南和四川攀西, 显著早花, 并于年内即有鲜果上市。枇杷成花出现的新问题, 使得枇杷成花的机理研究不但具有理论意义, 而且有现实意义。

收稿日期: 2006-11-08; 修回日期: 2007-03-16

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (5006613)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: lqquat@scau.edu.cn)

花芽孕育是各种激素在时间、空间上相互作用产生的综合效果。调控果树花芽分化取决于促进开花和抑制开花这两类激素的平衡。已有的研究表明 GA 抑制果树的花芽分化, CTK 则起促进作用, IAA 和 ABA 在花芽分化中的作用还不清楚。迄今为止, 已有外源生长调节物质促进枇杷开花, 甚至提早开花的报道 (唐自法和柯冠武, 1996)。但这些报道都是研究外源生长调节物质及栽培措施与枇杷成花的关系。

作者研究田间枇杷成花过程中内源激素的变化动态, 找到与成花诱导密切相关的内源激素, 就可以调控枇杷开花。因此应用高效液相色谱法 (HPLC), 分析田间枇杷在成花诱导过程中的内源激素变化, 进而探讨内源激素在枇杷成花诱导期间的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

2004年6月随机选取生长势良好且比较一致的‘早钟6号’枇杷12株, 从2004年7月21日起, 每10d采样一次。

取样部位为顶芽。营养芽和花芽分开取。前者选内膛、纤细的枝条, 这类枝条在‘早钟6号’中很少; 后者为夏梢早老熟、早停长、长势好的枝条顶芽。立即存放于冰壶带回实验室, 贮于-40℃低温冰箱中待测。

1.2 内源激素的分离、提取和测定

参照丁静等 (1979) 和陈昆松等 (2003) 的方法并加以改进: 80% 甲醇浸提, PVPP 吸附色素, 氮气吹干, 色谱甲醇溶解 IAA、ABA、GA₃ 和 ZT。

采用美国 Agilent 公司的高效液相色谱仪系统设备 Agilent 1100 (包括 G1311A QuatPump 高压输液泵, G1314A VWD 可变波长检测器, G1313A ALS 自动进样器, G2170AA LC ChemStation 系统控制工作站) 进行测定。

工作条件为: 色谱柱: Hypersil ODS (C18) 反相柱, 5 μm, 5.0 mm × 25 cm; C18 小柱: 美国 Water 公司 SEP-PAK CLASSIC C18 50BX。

流动相: 用于分析 ZT 的为甲醇 乙腈 磷酸缓冲液 (0.01 mol/L Na₂HPO₄·H₃PO₄, pH 3.5) = 15 15 70。用于分析 GA₃、ABA、IAA 的测定条件为: 1~13 min, 甲醇 乙腈 磷酸缓冲液 = 15 15 70; 13~18 min, 甲醇 乙腈 磷酸缓冲液 = 20 20 60; 18~20 min, 甲醇 乙腈 磷酸缓冲液 = 15 15 70。流速 0.8 mL/min, 柱温 35℃, 进样量 10 μL。检测波长: UV_{GA₃, ABA, IAA} = 210 nm; UV_{ZT} = 254 nm; 激素标样均为美国 SIGMA 公司产品。

2 结果与分析

2.1 花芽分化期间内源激素含量的变化

根据作者对枇杷花芽分化的观察, 大田条件下, 以8月上中旬为本试验枇杷植株的花芽诱导期, 8月中旬为花序原基分化期, 8月下旬开始花器官的分化。

7月21日~10月11日‘早钟6号’枇杷营养芽与花芽中几种内源激素含量变化见图1。

营养芽中 GA₃ 含量具有两个高峰。7月21日~8月11日营养芽中的 GA₃ 含量维持在较高的水平上, 8月11日~21日期间急剧降低之后再次升高, 至9月11日达到第2个高峰, 之后逐渐降低。

花芽中的 GA₃ 显著低于营养芽。

营养芽中 IAA 含量在7月21日~10月11日期间基本呈上升趋势, 且含量明显高于花芽。

花芽在7月21日~8月21日期间逐渐上升, 并于8月21日达到一高峰后略有下降。

花芽 ZT 含量在7月21日~8月1日期间急剧上升, 8月1日~11日期间逐渐下降后又逐渐上升,

在 9 月 11 日出现一高峰, 随后下降。

营养芽 ZT 含量与花芽变化一致, 但在整个取样期间一直比花芽低。

可见, 成花的芽体中有相对高含量的 ZT。

花芽中 ABA 含量在 7 月 21 日 ~ 9 月 11 日期间逐渐上升, 随后保持相对平稳的一段时间, 10 月 1 日开始迅速下降。

营养芽中 ABA 含量在 7 月 21 日 ~ 8 月 11 日期间上升后基本保持平稳, 直到 9 月 21 日开始下降。

整个取样期间, 花芽中 ABA 含量均比营养芽高; 更重要的是 8 月中下旬前者一直升高, 而后者已基本上不再升高。

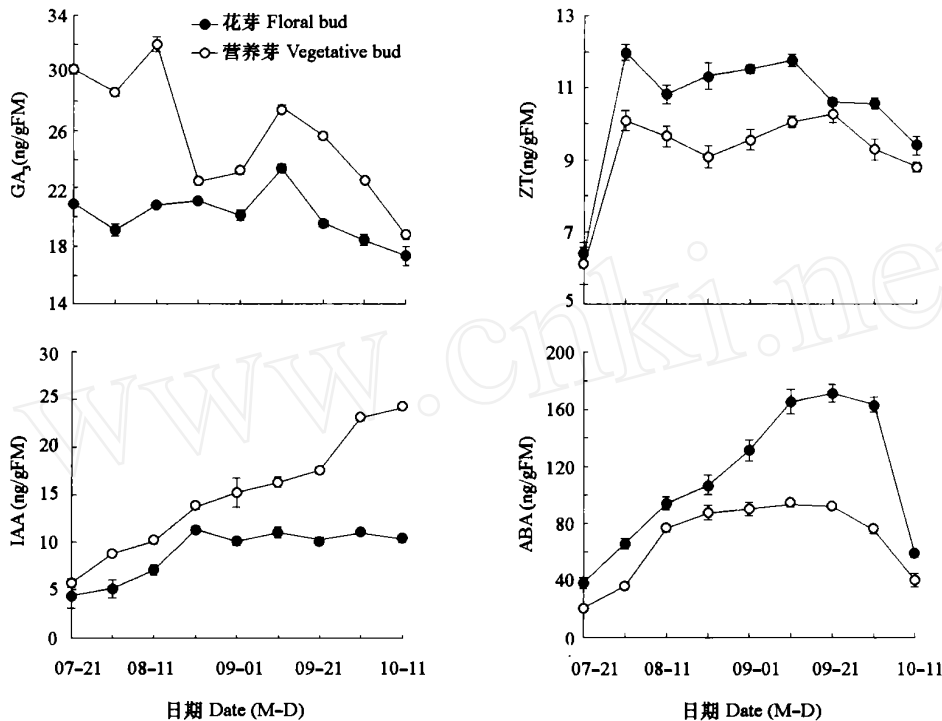


图 1 枇杷顶芽中 GA₃、IAA、ZT 和 ABA 含量的变化

Fig. 1 Changes of the content of GA₃, IAA, ZT and ABA in terminal buds of loquat

2.2 花芽分化期间花芽和营养芽中激素比值的变化

果树花芽分化与激素比值的关系比单一激素更密切。对两类不同激素的比值 (包括 ZT/IAA、ZT/GA₃、ABA/IAA、ABA/ZT、ABA/GA₃) 的变化进行了研究, 发现在这些比值变化 (图 2) 中, ABA/IAA 和 ABA/ZT 两者的图像有一定的相似之处。

在整个取样期间, 枇杷花芽 ABA/GA₃ 和 ABA/ZT 比值比营养芽的高, 尤其是 8 月 21 日后仍继续增加, 而营养芽则自此降低。

进一步计算表现促进的 ABA 与表现抑制的两种激素之和 (GA₃ + IAA) 的比值 [ABA / (GA₃ + IAA)] 以及表现促进的两种激素之和 (ZT + ABA) 与表现抑制的两种激素之和 (GA₃ + IAA) 的比值 [(ZT + ABA) / (GA₃ + IAA)] (图 2), 可以看出其变化趋势基本上与前述的 ABA/ZT 和 ABA/GA₃ 相似。

再进一步作 ABA / (GA₃ + IAA + ZT) 的比值图, 仍然基本相似。

因此, 我们得出结论: ABA在枇杷的成花中扮演主导的角色, 没有 ABA的持续升高, 就不能导向成花。ABA含量在枇杷成花过程的变化特征最明显, 暗示其在成花过程中起着重要作用; 另一个有可能与之起作用的是 IAA, 后者在关键的时候 (8月中旬) 有所下降。

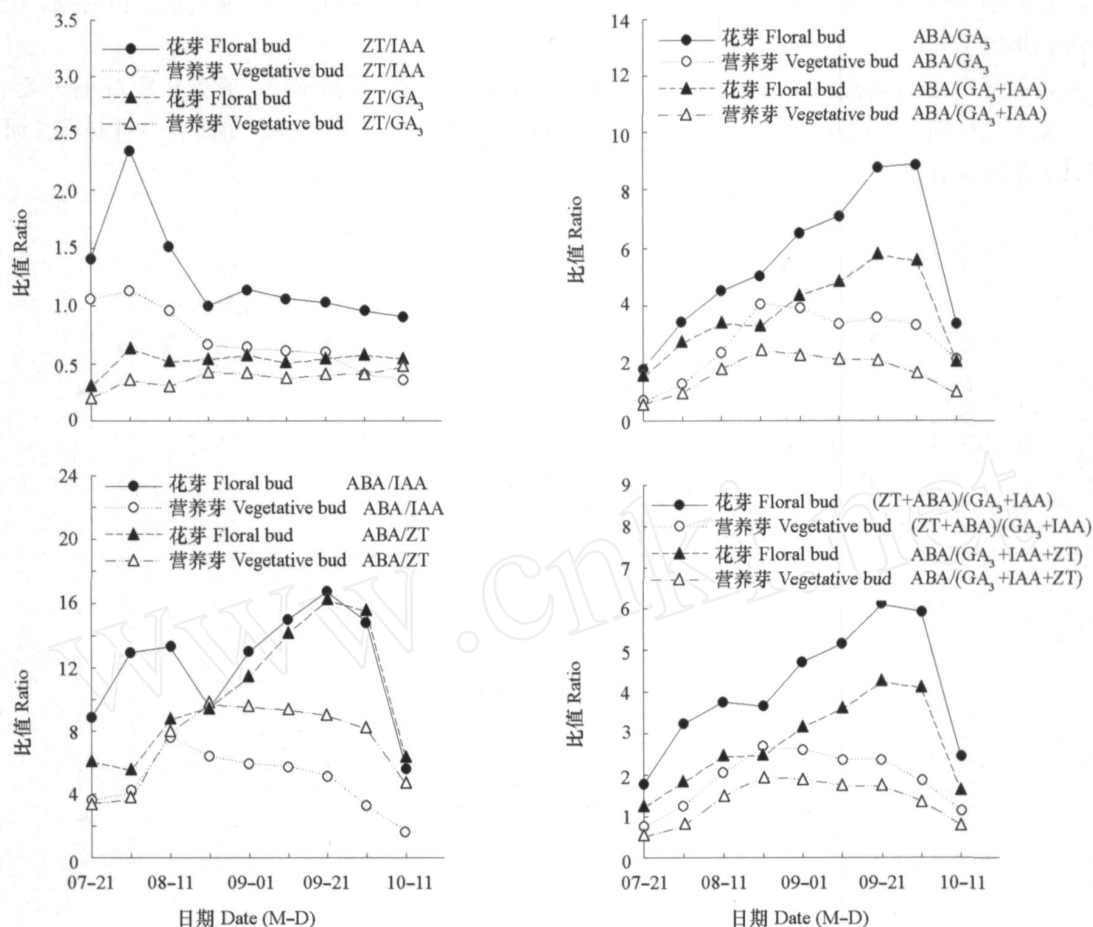


图 2 枇杷顶芽几种激素比值的变化

Fig. 2 Changes of the ratio of several hormones in terminal buds of loquat

3 讨论

各类激素在果树花芽分化过程中出现的时间及其含量随花芽分化进程而变化 (Luckwill, 1979)。在本试验中, 4种激素及其相互比例在花芽分化过程中发生了明显的变化, 其中 GA₃含量在枇杷花芽分化整个时期都处于低水平, 即低水平的 GA₃有利于花序原基的形成和花器官的分化, 枇杷的成花是与低水平的 GA₃相联系的, 另 3种激素的变化讨论如下。

3.1 内源 IAA与花芽分化的关系

IAA与果树成花的关系一直存在争论。Grochowska和 Hodun (1997) 发现, IAA运输抑制剂乙稀利 (CEPA)、邻氯羰基苯甲酸 (NPA) 和三碘苯甲酸 (TBA) 均减少果树梢尖和果实输出 IAA 而促进花芽发端, 从而间接地证明高水平的 IAA 是抑制花芽孕育的信号。

花芽分化过程十分复杂, 可以简单地将其分为花诱导期和花芽形态建成两个连续的过程。以往报道可能是笼统地说花芽分化, 而没有具体指明是哪个时期。那么在花芽孕育期与花芽形态分化期,

对 IAA 的要求可能是不一样的。

在本试验中, 枇杷花芽在诱导期和形态分化期, IAA 水平均低于营养芽。但在花芽诱导期, 花芽的 IAA 水平有一个上升趋势后, 紧随着的形态分化期略微下降。

3.2 内源 CTK 与花芽分化的关系

大多数学者认为 CTK 对花芽孕育起促进作用 (Luckwill, 1979; Davenport, 1990; Chen, 1991)。Menzel (1983) 提出, 荔枝成花诱导要求枝梢处于一段时间休眠状态; O'Hare (2002) 报道, 顶芽处于萌动状态的枝梢不能诱导成花。Davenport (1990) 也认为柑橘树水分胁迫条件诱导成花的一个必要条件是全树处于停顿状态。Luckwill (1970) 在苹果上用 NAA 时, 刺激了成花, 也相应降低了树体内源 CTK 含量。

枇杷花芽在花芽诱导期 (8月上中旬) ZT 含量上升。进入花器官分化后, 虽略有下降, 但仍保持较高水平。而且其水平在花芽分化过程中均比营养芽的高。因此枇杷的花芽分化可能需要高水平的 ZT。

ZT 含量的高低实际上反映出植物体内细胞分裂及代谢活动的强度 (张上隆 等, 1990)。在花序原基出现期, 细胞分裂、分化活动增加, 因此可以认为这时 ZT 含量的升高也是枇杷花芽形态分化的必要条件之一。

本论文设计的水分胁迫试验表明枇杷花芽分化要求枝梢停长, 笔者认为这并不与大田枇杷成花顶芽在花芽诱导期 ZT 含量比营养芽高相矛盾。枝梢停长不能说明顶芽分生组织细胞处于停顿状态。在形态分化期保持高水平的 ZT, 有利于花器官的分化。在枇杷花芽分化期间, 营养芽内的 ZT 含量也较高, 说明顶芽的营养生长也需要较高水平的 ZT。仅仅就 ZT 在花芽和营养芽的含量高低, 似乎看不到什么明显的差异, 但从激素之间的比例看, 花芽的 ZT/GA_3 、 ZT/IAA 比值就比营养芽高很多。

3.3 内源 ABA 与花芽分化的关系

营养生长的停顿是果树花芽分化的基本条件, ABA 可明显抑制营养生长并可能间接地影响花芽孕育 (Rakngan et al, 1995)。在 '首红' 苹果花芽分化过程中, 花芽在生理分化期 ABA 含量急剧上升, 持续到花芽形态分化后两周; 营养芽中 ABA 含量低水平稳定不变; 在苹果花芽孕育过程中, ABA 含量高对成花有促进作用, 反之则抑制成花 (曹尚银 等, 2000)。暗柳橙去叶抑花和四季橘浇水抑花都使生理分化期 ABA 水平下降 (黄辉白 等, 1991)。

在枇杷花芽分化过程中, 花芽、营养芽在花诱导期 ABA 含量都低, 在形态分化期, 花芽内 ABA 含量一直处于上升状态, 营养芽在进入花器官分化时期后 ABA 含量一度处于低水平保持不变。花芽在分化期间芽内 ABA 含量均高于营养芽。这说明芽内高水平的 ABA 与枇杷成花相关。

3.4 激素平衡与花芽分化的关系

果树的花芽分化过程同其它生理过程一样, 受激素的调节控制。自 Luckwill (1974) 用 CTK/GA 比值解释苹果花芽孕育机理以来, 相继有报道指出花芽孕育与 CTK/IAA 、 ABA/IAA 、 ABA/GA 、 $(ZR + IAA)/GA$ 、 $ABA/(GA + IAA)$ 、 $(ZR + ABA)/GA$ 等平衡有密切关系 (王世平等, 1989; 黄辉白 等, 1991)。

在枇杷花芽分化过程中, 如前所述, ABA 在枇杷的成花中扮演主导的角色, 没有 ABA 的持续升高, 可能就不能导向成花。ABA 含量在枇杷成花过程的变化特征最明显, 暗示其可能起重要作用; 另一个有可能与之起作用的是 IAA, 后者在关键的时候有所下降。两者在枇杷成花过程中的作用有待进一步研究。

References

Cao Shang-yin, Zhang Jun-chang, Wei Li-hua 2000. Studies on the changes of endogenous hormones in the differentiation period of flower bud in

- apple trees Journal of Fruit Science, 17 (4): 244 - 248. (in Chinese)
- 曹尚银, 张俊昌, 魏立华. 2000. 苹果花芽孕育过程中内源激素的变化. 果树科学, 17 (4): 244 - 248.
- Chen Kun-song, Xu Chang-jie, Li Fang, Chen Qing-jun, Zhang Shang-long. 2003. An improved HPLC method for analyzing endogenous IAA and ABA in fruit tissues Journal of Fruit Science, 20 (1): 4 - 7. (in Chinese)
- 陈昆松, 徐昌杰, 李 方, 陈青俊, 张上隆. 2003. HPLC法检测果实组织中内源 IAA、ABA方法的改进. 果树学报, 20 (1): 4 - 7.
- Chen W S. 1991. Changes in cytokinins before and during early flower bud differentiation in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). Plant Physiology, 96 (4): 1203 - 1206.
- Davenport T L. 1990. Citrus flowering Horticultural Reviews, 12: 349 - 408.
- Ding Jing, Shen Zhen-de, Fang Yi-xiong, Feng Xiu-xiang, Li Lin, Ni Jin-shan. 1979. Abstraction, separation and bio-identification of endogenous hormones in plant Physiology Communications, 2: 27 - 39. (in Chinese)
- 丁 静, 沈镇德, 方亦雄, 冯秀香, 李 琳, 倪晋山. 1979. 植物内源激素的提取分离和生物鉴定. 植物生理学通讯, 2: 27 - 39.
- Grochowska M J, Hodun M. 1997. The dwarfing effect of single application of growth inhibitors to the root stem connection the 'collar tissue' of five species of fruit trees Journal of Horticultural Science, 72 (1): 83 - 91.
- Huang Hui-bai, Cheng Hong, Huang Di-hui, Gao Fei-fei, Yuan Rong-cai, Xu Jian-kai. 1991. Hormone and nucleic acid metabolism in response to floral promotion and inhibition in citrus Acta Horticulturae Sinica, 18 (3): 198 - 204. (in Chinese)
- 黄辉白, 程 洪, 黄迪辉, 高飞飞, 袁荣才, 许建恺. 1991. 柑桔促进与抑制成花情况下的激素与核酸代谢. 园艺学报, 18 (3): 198 - 204.
- Luckwill L C. 1970. The control of growth and fruitfulness of apple trees, In: Luckwill L C, Cutting C V eds physiology of tree crops New York: Academic Press: 237 - 254.
- Luckwill L C. 1974. A new look at the process of fruit bud formation in apple. Proceeding of XX International Horticultural Congress, 3: 237 - 245.
- Luckwill L C. 1979. Hormones and the productivity of fruit trees Scientia Horticulturae, 31: 60 - 68.
- Menzel C M. 1983. The control of floral initiation in lychee: a review. Scientia Horticulturae, 21 (3): 201 - 215.
- O'Hare T J. 2002. Interaction of temperature and vegetative flush maturity influences shoot structure and development of lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). Scientia Horticulturae, 95 (3): 203 - 211.
- Rakngan J, Gemma H, Iwahori S. 1995. Flower bud information in Japanese pear trees under adverse conditions and effects of some growth regulators Journal of Japanese Tropical Agriculture, 39 (1): 1 - 6.
- Tang Zi-fa, Ke Guan-wu. 1996. Experimentation adjusting maturation time to make loquat fruits mature before Spring Festival China Fruits, 2: 26 - 27. (in Chinese)
- 唐自法, 柯冠武. 1996. 枇杷春节前应市的产期调节试验. 中国果树, 2: 26 - 27.
- Wang Shi-ping, Xu Ming-xian, Sun Yun-wei. 1989. Study on the changes of the endogenous hormones in terminal buds of apple trees Journal of Fruit Science, 6 (3): 137 - 142. (in Chinese)
- 王世平, 许明宪, 孙云蔚. 1989. 苹果顶芽中内源激素动态与成花关系研究. 果树科学, 6 (3): 137 - 142.
- Zhang Shang-long, Ruan Yong-ling, Chu Ke-ming, Wu Guang-lin. 1990. Changes of endogenous zeatin and gibberellic acid in *Citrus satsuma* during the period of flower bud formation Acta Horticulturae Sinica, 17 (4): 270 - 274. (in Chinese)
- 张上隆, 阮勇凌, 储可铭, 吴光林. 1990. 温州蜜柑花芽分化期内源玉米素和赤霉素的变化. 园艺学报, 17 (4): 270 - 274.