

山葡萄雄株花蕾性别转换的形态观察及其内源激素的变化

焦竹青, 王振兴, 许培磊, 艾 军

(中国农业科学院 特产研究所, 吉林 长春 130112)

摘 要:以山葡萄雄株为试材,花前 20 d 用 100 mg/L 的 KT-30S 处理雄株花序,以蒸馏水处理为对照,观察处理后的形态变化和坐果情况,并在不同处理时期取样测定内源激素含量,探讨外源细胞分裂素 KT-30S 对山葡萄雄株花蕾性别转换的效果及其对内源激素的影响。结果表明:KT-30S 对山葡萄雄株的性反转效果显著,雄花花蕾在处理 6 d 子房显著膨大。经 KT-30S 处理,4 种内源激素含量和平衡关系表现出不同的变化趋势,由此推断,KT-30S 诱导山葡萄雄株性反转可能是通过调节内源激素在不同时期的水平及其之间的平衡关系来实现的。

关键词:山葡萄雄株;花蕾;细胞分裂素 KT-30S;性别转换;内源激素

中图分类号:S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)16-0005-04

山葡萄(*Vitis amurens*)广泛分布于我国的小兴安岭和长白山林区,抗寒力极强,是选育抗寒葡萄品种的重要种质材料。山葡萄为雌雄异株植物,由于山葡萄雄株不结实,无法了解其果实的性状,在杂交育种中对雄株参与的杂交组合亲本的选择存在很大的盲目性,后代性状遗传和变异也难以分析。艾军等^[1]发现山葡萄雄株花蕾经细胞分裂素 KT-30S 处理后,会发生性别转换并结实,使研究雄株果实性状成为可能。目前对山葡萄雄株性反转机制的研究少见报道。

激素是植物的生长调节物质,通常作为化学信号作用于靶基因。花器官的形态建成受各种激素的调控^[2],Chandler J W^[3]对花蕾发育的激素调节机制已经做了系统分析。通过研究玉米、菠菜、大麻和板栗等植物性别分化与内源激素的关系证实内源激素在植物性别转换中发挥着重要作用^[4-6],内源激素一般作为转导信号作用于性别相关基因,从而对植物的性别表达进行调控。此外,许多研究表明,外源激素可以诱导植物的性别转换^[7-9],目前,性别转换的研究对象以瓜类居多,通过对瓜类激素调控机理的研究,一致认为外源生长调节物质是

通过调节内源激素的水平 and 有关酶的活性来影响瓜类性别分化的^[10]。

该研究以山葡萄雄株的花蕾为试材,观察其经 KT-30S 处理之后的形态变化,并测定了不同处理时期花蕾中脱落酸(ABA)、赤霉素(GA₃)、吲哚乙酸(IAA)、玉米素核苷(ZR)等内源激素含量的变化,旨在分析 KT-30S 处理后山葡萄雄株花蕾中内源激素的动态变化,揭示 KT-30S 诱导性反转与内源激素变化的关系,从生理水平揭示山葡萄雄株花蕾性别转化机理,为山葡萄性别转换深层次的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为选自中国农业科学院特产研究所的国家种质山葡萄资源圃中的山葡萄雄株,山葡萄花前 20 d,用浓度为 100 mg/L 的 KT-30S 处理雄株单侧枝蔓花蕾,将花蕾全部浸没在溶液中,在处理后的每隔 2、4、8、12、24、48 h 取样,之后每隔 2 d 取 1 次样,直至处理的第 8 天为止,雄株另一侧枝蔓花蕾浸没在水中作为对照。样品采集后一部分液氮速冻, -80℃ 保存用于激素测定,一部分新鲜样品用于形态解剖观察。

1.2 试验方法

1.2.1 花蕾解剖观察与坐果率调查 用解剖镜(LEICA)观察花蕾的形态变化,并用数码相机拍照,了解雄花性别转换过程中的发育情况,并在山葡萄成熟期调查性反转雄株花序的坐果率。

1.2.2 内源激素含量的测定 ABA、GA₃、IAA、ZR 内源激素的测定采用酶标免疫法,试剂盒购自中国农业大学化控实验室。具体操作参照王振兴^[11]的激素测定方法,所有测定均 3 次重复,取平均值。

第一作者简介:焦竹青(1987-),女,在读硕士,研究方向为药用植物资源。E-mail:jiaozhuqingjiao@yahoo.cn.

责任作者:艾军(1968-),男,博士,研究员,现主要从事果树资源学研究。E-mail:ajun1005@163.com.

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(nycytx-30-01);农业部保种资助项目(NB2011-2130135-37);国家农作物种质资源平台运行服务资助项目。

收稿日期:2012-05-23

1.3 数据分析

试验数据处理采用 Excel 2003 结合 SAS 统计分析软件进行分析,显著性水平 α 为 0.05。

2 结果与分析

2.1 KT-30S 处理山葡萄雄株花蕾形态的变化及坐果率调查

形态观察的结果表明(图 1),KT-30S 处理 6 d,对照山葡萄雄株花蕾的雌蕊不发育,而处理雄花花蕾的雌蕊发育,子房膨大,花柱突起。表明处理和对照的花蕾形态在处理 6 d 后出现明显差异,处理雄花花蕾出现明显雌性特征。另外,在山葡萄成熟期山葡萄雄花结实,坐果率达到 83.4%。

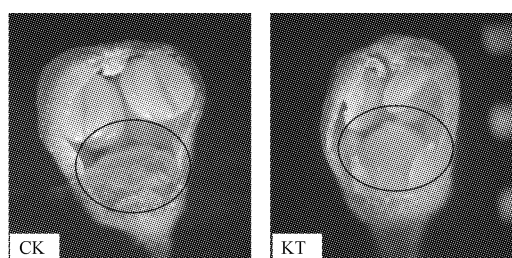


图 1 KT-30S 处理 6 d 处理和对照山葡萄雄株花蕾形态观察

注:CK:对照;KT:处理。

Fig. 1 The morphological observation on flower buds of male *Vitis amurensis* between control and treatment after treated with KT-30S for 6 days

Note:CK:Control;KT: Treatment.

2.2 KT-30S 处理后山葡萄雄株花蕾内源激素含量的动态变化

由图 2-a 可知,KT-30S 处理使山葡萄雄株花蕾中的脱落酸(ABA)含量急剧下降,6 h 至 6 d 变化平缓,6 d 之后显著升高。处理花蕾脱落酸含量的变化趋势在 6 h 之后与对照一致。对相同时期处理与对照花蕾的 ABA 含量进行方差分析,得出处理花蕾中的 ABA 含量在 2 h 显著低于对照,其它时期,处理与对照花蕾中的 ABA 含量没有显著差异。

由图 2-b 可知,山葡萄雄株处理和对照花蕾中的赤霉素(GA_3)含量的变化趋势基本一致,经过方差分析只有 8 d 时差异显著,处理花蕾中 GA_3 的含量为对照的 2.88 倍,其它时期处理和对照花蕾的 GA_3 含量没有显著差异。

由图 2-c 可知,KT-30S 的使用对吲哚乙酸(IAA)含量有显著影响。处理 2 h 花蕾中的 IAA 含量与对照没有明显差异,处理 6、14 和 26 h 显著高于对照,分别为对照的 5.85、4.14 和 2.65 倍。处理 2、4、6 d 含量显著降低,分别为对照的 28%、34%和 43%,8 d 时又急剧升高,含量为对照的 11.65 倍。

由图 2-d 可知,山葡萄雄株处理和对照花蕾中的玉米素核苷(ZR)含量变化趋势基本一致,统计分析结果表明,处理 2 h 花蕾中 ZR 含量显著低于对照,为对照含量的 46%,其它时期处理和对照差异不显著。

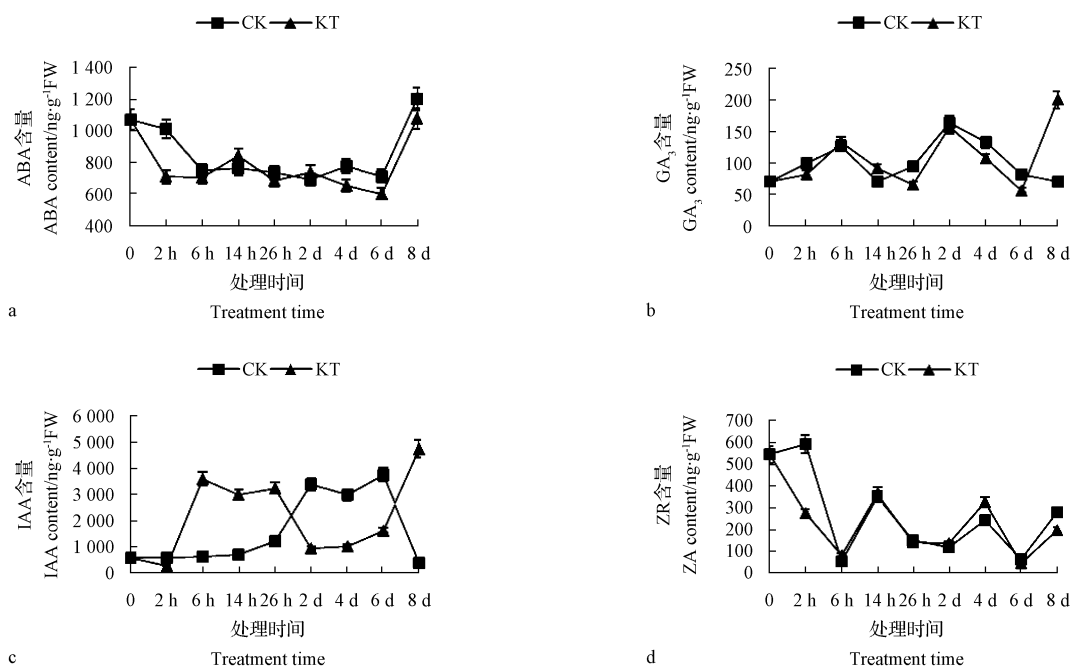


图 2 山葡萄雄株花蕾内源激素含量在 KT-30S 不同处理时期的动态变化

Fig. 2 Changes of hormones content in flower buds of male *Vitis amurensis* at different stages of sex conversion

2.3 KT-30S 处理后山葡萄雄株花蕾内源激素平衡关系的动态变化

图 3-a、b、c 分别显示的是 KT-30S 处理和对照山葡萄雄株花蕾中 IAA/ABA、IAA/GA₃ 和 IAA/ZR 内源激素比值的动态变化。可以看出,处理和对照之间 IAA/ABA、IAA/GA₃ 和 IAA/ZR 比值呈现出相同的规律性,即处理 2 h 后 3 种激素比值没有明显差异,6 h 后处理花蕾中

IAA/ABA、IAA/GA₃ 和 IAA/ZR 比值高于对照,6~26 h 处理花蕾中的 3 个比值维持在较高水平。26 h 之后处理花蕾中的 IAA/ABA、IAA/GA₃ 和 IAA/ZR 比值开始降低,在 2~6 d 之间处理普遍低于对照,之后回升,并在 8 d 处理比值分别达到对照比值的 12.07 和 4.04 倍。由图 3-d 可知,KT-30S 处理 8 d,处理花蕾 ABA/GA₃ 比值显著高于对照,在其它处理时期差异不显著。

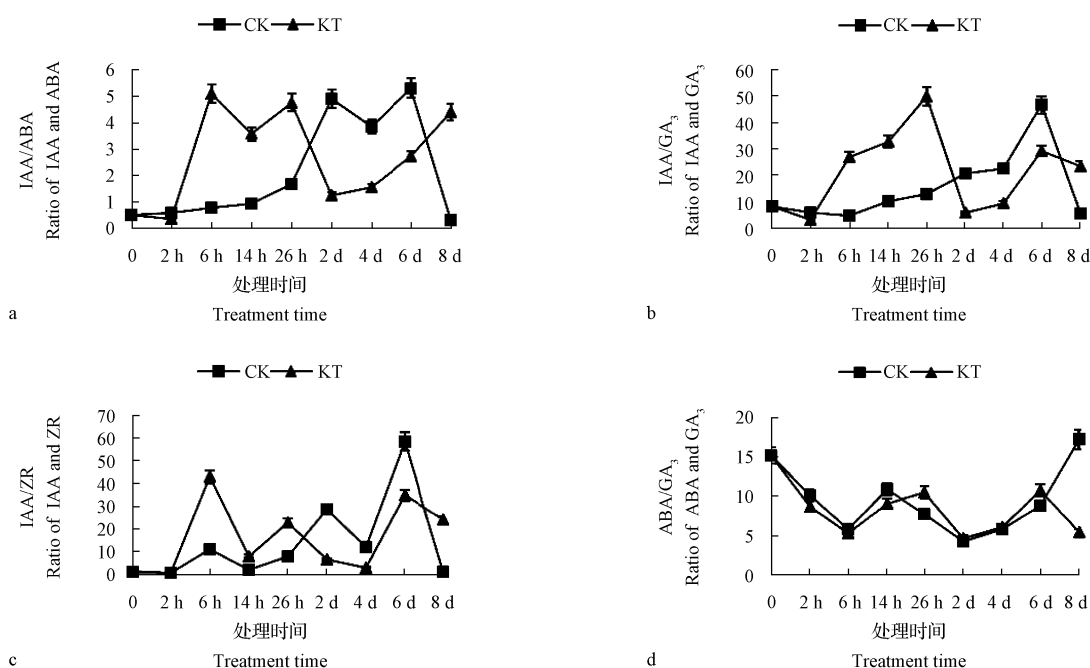


图 3 山葡萄雄株花蕾内源激素含量比值在 KT-30S 不同处理时期的动态变化

Fig. 3 Changes of ratio between hormones content in flower buds of male *Vitis amurensis* at different stages of sex conversion

3 讨论

3.1 KT-30S 处理后山葡萄雄株花蕾形态的观察

大多数雌雄异花的被子植物的花芽分化都要经历两性期^[12]。在两性期之前,花芽性别不稳定,可以通过使用植物激素类物质控制性别表达^[13]。该研究的结果显示,雄花花蕾在 KT-30S 处理 6 d 之后,子房膨大,出现雌性特征,并可在成熟期结实。表明 KT-30S 可以控制山葡萄雄株花蕾的性别表达,并成功诱导山葡萄雄株花蕾的性别转换。

3.2 KT-30S 处理与山葡萄雄株花蕾内源激素的关系

目前尚未有研究证实 ABA 与植物性别表达有直接关系^[14]。相关研究中,ABA 在黄瓜性别发育中作用不明显^[15],对板栗的雌花和雄花发育几乎起到相同的抑制作用^[5],绞股蓝雌雄植株各生长发育时期内源 ABA 含量也无明显的差异^[16]。该试验结果表明,性反转初期低水平的 ABA 含量可能有利于山葡萄雄株花蕾的性别转换,其它时期 ABA 含量与性反转的相关性不大。

GA 和 ZR 一直被认为是影响性别分化的主要激

素。GA 对多数常见瓜类作物有明显促雄作用^[14],但也有研究表明 GA 会促进雌花的分化^[5,9,17]。对 ZR 而言,高水平的 ZR 含量可以促进板栗花的雌性化^[5]。但是在玉米性别决定的关键时期,雄花中 ZR 含量明显增加并高于雌花^[16],即低水平的 ZR 含量促进玉米雌花发育。该研究结果显示,KT-30S 可能通过降低山葡萄雄株花蕾性别转换初期的 ZR 水平及提高性别转换后期 GA₃ 水平来促进雌蕊发育,从而诱导雄花的性别转换。

IAA 在植物性别转换中发挥着重要作用。IAA 是黄瓜性别分化的关键性激素^[15],黄瓜雌雄花中内源 IAA 含量差异显著,高水平的内源 IAA 含量可以促进雌花发育。另外,与黄瓜相反,IAA 决定着板栗的雄性发育^[5],高水平 IAA 会抑制雌性分化。该研究结果表明,在山葡萄雄株性别转换前期(2~26 h)较高水平的 IAA,性别转换后期(2~6 d)较低水平的 IAA 有利于雌花形态的发育。

植物的花芽分化是一个非常复杂的过程,花芽的发育不仅仅由一种激素单一调节,植物激素间的内源激素的动态平衡关系对植物生长发育有重要的调节作

用^[19-21]。外源激素处理会改变植物内源激素的平衡关系^[22],Iwahori S等^[23]指出只有当植物的内源激素平衡发生改变时,外源植物生长物质处理才能对植物的性别表达起作用。在该研究中,KT-30S处理后,内源激素的平衡关系发生了变化,这些平衡关系的变化可能是外源生长调节物质引起的,并有利于山葡萄雄株花蕾的性反转。

KT-30S诱导山葡萄雄株性反转效果显著,可能是通过在不同处理时期调节不同内源激素的含量以及内源激素的平衡关系实现的。该研究为山葡萄雄株花蕾性别转换的分子水平研究提供了前提条件。

参考文献

- [1] 艾军,李爱民,李昌禹,等. 细胞分裂素对山葡萄雄株性别转换的效应[J]. 园艺学报,2002,29(2):163-164.
- [2] 高英,张志宏. 激素调控果树花芽分化的研究进展[J]. 经济林研究,2009,27(2):141-146.
- [3] Chandler J W. The hormonal regulation of flower development[J]. J Plant Growth Regul,2011,30:242-254.
- [4] Stephen L,Dellaportá,Calderon-Urrea A. Sex determination in flowering plants[J]. The Plant Cell,1993(5):1241-1251.
- [5] 雷新涛,夏仁学,李国怀,等. 板栗内源激素与花性别分化[J]. 果树学报,2002,19(1):19-23.
- [6] Rood S B,Pharis R P. Changes of endogenous gibberellin-like substances with sex reversal of the apical inflorescence of corn [J]. Plant Physiol,1980,66:793-796.
- [7] Iwahori S,Lyons J M,Smith O E. Sex expression in cucumber plants as affected by 2-Chloroethylphosphonic acid,ethylene,and growth regulators[J]. Plant Physiol,1970,46:412-415.
- [8] 汪俏梅,曾广文. 赤霉素及矮壮素对苦瓜性别表现的影响[J]. 浙江农业大学学报,1996,22(5):541-546.
- [9] 汪俏梅,曾广文. 苦瓜性别分化的激素调控[J]. 浙江农业大学学报,1997,23(5):551-556.
- [10] 黎炎,李文嘉. 瓜类性别分化的化学调控及作用机理研究进展[J]. 广西农业科学,2004,35(3):180-182.
- [11] 王振兴. 五味子地下横走茎发生机理研究[D]. 北京:中国农业科学院,2011.
- [12] 李文战. 五味子花性分化诱导期及其雌花分化促进技术[J]. 林业实用技术,2005(2):32-33.
- [13] 魏秉培. 节瓜(*Benincasa hispida* Cogn. chieh-quia How.)性别分化的生理学研究[D]. 泰安:山东农业大学,2008.
- [14] 孔冬梅. 激素对高等植物性别分化的调控研究进展[J]. 安徽农业科学,2009,37(12):5352-5354,5378.
- [15] 陈学好,曾广文,曹磊生. 黄爪花性别分化和内源激素的关系[J]. 植物生理学通讯,2002,38(4):317-320.
- [16] 王庆亚,郭巧生,孙建云,等. 绞股蓝雌雄株的识别及内源激素变化的研究[J]. 中国中药杂志,2004,29(9):837-840.
- [17] 杨同文,李潮海. 玉米性别决定的激素调控[J]. 植物学报,2012,47(1):65-73.
- [18] 赵德刚,韩玉珍. 玉米雌、雄穗与叶片内几种激素含量的比较[J]. 植物生理学报,1999,25(1):57-65.
- [19] 苏华,徐坤,刘伟. 大葱花芽分化过程中内源激素的变化[J]. 园艺学报,2007,34(3):671-676.
- [20] 王永银,周燮. The relationship between the ABA/GA₄ ratio in shoot apex and sex differentiation of cucumber(*Cucumis sativus* L.)[J]. 植物生理学报,1991,17(4):356-364.
- [21] 董硕. 核桃雌雄性别分化生理特性[D]. 保定:河北农业大学,2008.
- [22] 吴建明,李杨瑞,杨柳,等. 赤霉素诱导甘蔗节间伸长与内源激素变化的关系[J]. 热带作物学报,2009,30(10):1452-1457.
- [23] Iwahori S,Lyons J M,Smith O E. Sex expression in cucumber plants as affected by 2-chloroethylphosphonic acid ethylene and grow regulators[J]. Plant Physiology,1970,46:412-415.

Morphological and Endogenous Hormones Changes on Sex Conversion of Male *Vitis amurensis*

JIAO Zhu-qing, WANG Zhen-xing, XU Pei-lei, AI Jun

(Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin 130112)

Abstract: The flower clusters of male vines were treated with KT-30S about 20 days before anthesis, those treated with water as control. The flower buds morphology were observed and content of four endogenous hormones (abscisic acid (ABA), gibberellic acid (GA), indole-3-acetic acid (IAA), zeatin riboside (ZR)) were measured in both treatment and control flower buds at different treatment time. The flower buds of male *Vitis amurensis* cultivar were treated with exogenous cytokinin KT-30S to realize the changes of flower morphology and endogenous hormones involved in sex conversion of flower buds. The results showed that KT-30S was effective in sex conversion of male *Vitis amurensis*. The flower buds of male *Vitis amurensis* altered sex from male to hermaphrodite at 6 days after treatment. The content and the ratios of endogenous hormones in treatment flower buds performed differently compared to that in control flower buds at different stages of sex conversion. These results suggested that quantitative changes and the balance between endogenous hormones at different stages were involved in the control of sexuality in flower buds of male *Vitis amurensis*.

Key words: male *Vitis amurensis*; flower buds; cytokinin KT-30S; sex conversion; endogenous hormones