

黄花美冠兰花芽分化过程中假鳞茎内源激素含量变化的研究

杨光穗¹, 黄素荣¹, 王 存¹, 黄少华¹, 张 欢², 张志群¹

(1. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所, 农业部华南作物基因资源与种质创制重点开放实验室, 海南 儋州 571737; 2. 海南大学 园艺园林学院, 海南 海口 570228)

摘 要:采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定了花芽分化过程中黄花美冠兰假鳞茎内源激素吲哚乙酸(IAA)、脱落酸(ABA)、赤霉素(GA)和玉米素核苷(ZRs)含量的动态变化。结果表明:假鳞茎内 IAA 和 ABA 的含量明显高于 GA 和 ZRs 的含量,花芽分化过程中,假鳞茎内 IAA 和 GA 的含量下降,ABA 和 ZRs 的含量上升,ZRs/IAA、ZRs/GA、ABA/IAA、ABA/GA 的比值均呈上升趋势,ABA/IAA、ABA/GA 的比值升幅高于 ZRs/IAA、ZRs/GA 的比值。

关键词:黄花美冠兰;花芽分化;内源激素

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)23-0075-04

黄花美冠兰(*Eulophia flava* (Lindley) Hooker f.) 属兰科美冠兰属,是一种观赏价值很高的兰科野生花卉,花葶自当年生假鳞茎顶端侧边抽出,较为粗壮,高度可达约 1 m 左右,平均高度在 60 cm 左右;花葶顶部着生直立总状花序,长 28~32 cm,疏生 10 余朵小花;每节 3 朵小花轮生,节间距 1.5 cm 左右;花大,柠檬黄色,略微香气或无,直径可达 4 cm 以上;自然花期 5~6 月,人工栽培条件下花期稍有提前,可从 4 月下旬延续至 6 月。

国内主要分布于广东和广西西南部以及海南和香港等地区;国外分布于尼泊尔、印度、缅甸、越南、泰国等地区^[1-2]。

黄花美冠兰花大、色艳,花型优美,开放热烈,极具开发潜力,但其花期恰逢春夏之交的销售淡季,对其切花的价格有较大的影响,若能将其花期调控至元旦、春节等花卉消费旺季,必定能大大提高其切花的商品价值。植物成花与内源激素关系密切,1974 年, Luck-will 提出激素的平衡变化可导致与成花有关的基因解除阻遏,从而影响花芽分化进程。之后的许多研究结果也都支持这一观点,据此,课题组以黄花美冠兰假鳞茎为研究材料,分析了黄花美冠兰花芽分化过程中内源激素含量及比例的变化,以为黄花美冠兰花期的调控提供参考。

第一作者简介:杨光穗(1972-),女,贵州凯里人,硕士,副研究员,研究方向为热带观赏植物栽培与生理。E-mail:suiguangyang@yahoo.com.cn.

基金项目:国家公益性农业行业科技资助项目(201203071);农业生物资源保护与利用资助项目(2130135)。

收稿日期:2012-07-23

Research on Ornamental *Acacia floribunda* Photoautotrophic Rooting Culture

CHEN Ben-xue¹, LIN Si-zu², CAO Guang-qiu²

(1. Wenchang Office of Zhoukou City, Zhoukou, Henan 466001; 2. College of Forestry, Fujian Agricultural and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002)

Abstract: Taking tissue culture seedlings of *A. floribunda* as material, the effect of different radication culture medium, different photoautotrophic micropropagation culture condition and cultivate liquid on rooting of *A. floribunda* were studied, on the basis of that, photoautotrophic micropropagation was compared with traditional tissue culture to study the effect on the tissue culture seedlings. The results showed that photoautotrophic micropropagation technology was suitable for *A. floribunda*, and the rooting rate reached 92.10%, with root seedlings transplanting survival was compared 87.35%.

Key words: *Acacia floribunda*; traditional tissue culture; photoautotrophic micropropagation system

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为横径大于 4.5 cm,大小一致、无损伤、无病虫害的黄花美冠兰当年生假鳞茎,采自中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所花卉试验基地。

1.2 试验方法

试验自 2009 年 9 月 17 日开始至 2010 年 3 月 28 日完成。在 2009 年 9 月 17 日、11 月 3 日、12 月 29 日和 2010 年 2 月 10 日、3 月 28 日分别取样,每次取当年生假鳞茎 3 个,剥去叶(鞘)片,称取鳞茎约 5 g,液氮速冻后立即置于-80℃的冰箱中固定保存,用于内源激素含量的测定。

1.3 项目测定

称取 1.0 g 速冻后的植物材料,加 2 mL 样品提取液,在冰浴下研磨成匀浆,转入 10 mL 试管,再用 2 mL 提取液分次将研钵冲洗干净,一并转入试管中,摇匀后放置在 4℃ 冰箱中提取 4 h,3 500 r/min 离心 8 min,取上清液。沉淀中加 1 mL 提取液,搅匀,置 4℃ 下再提取 1 h,离心,合并上清液并记录体积,残渣弃去。上清液过 C-18 固相萃取柱,将过柱后的样品转入 5 mL 塑料离心管中,真空浓缩干燥或用氮气吹干,除去提取液中的甲醇,用样品稀释液定容。采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定生长素(IAA)、脱落酸(ABA)、玉米素核苷(ZRs)和赤霉素(GA)的含量。所有内源激素的含量均在鲜重(FW)条件下测定。

1.4 数据分析

数据采用 Microsoft Excel 2007 软件进行分析处理。

2 结果与分析

黄花美冠兰假鳞茎内 IAA 和 ABA 的含量明显高于 GA 和 ZRs 的含量,且在花芽分化期前 IAA、ABA、GA、ZRs 的含量变化明显(图 1~4)。

2.1 假鳞茎中 IAA 含量的变化

在 9 月 17 日至 12 月 29 日,假鳞茎内 IAA 的含量明显下降,下降约 60%,仅 41.78 ng/g FW。12 月 29 日至 2 月 10 日,IAA 的含量大幅上升,2 月 10 日假鳞茎内 IAA 的含量为 12 月 29 日的 2 倍多,达 93.09 ng/g FW。2 月 10 日至 3 月 28 日 IAA 的含量基本保持不变,但仍维持在较高水平,3 月 28 日假鳞茎内 IAA 的含量为 95.19 ng/g FW。

2.2 假鳞茎中 ABA 含量的变化

假鳞茎内 ABA 的含量在 9 月 17 日至翌年 3 月 28 日呈上升趋势,但明显分为 2 个阶段,在 9 月 17 日至 12 月 29 日 ABA 的含量上升幅度相对较小,12 月 29 日 ABA 的含量为 53.66 ng/g FW,比 9 月 17 日增加了约 2 倍,而在 12 月 29 日至翌年 3 月 28 日期间,ABA 的含量

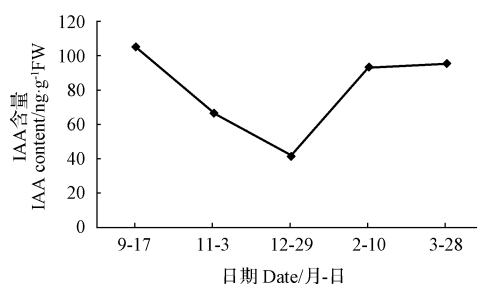


图 1 黄花美冠兰花芽分化过程中假鳞茎内 IAA 含量的变化

Fig. 1 IAA contents in pseudobulbs during the floral bud differentiation of *E. flava*

骤增,至 3 月 28 日,ABA 的含量已达 12 月 29 日含量的 3 倍多,达到 9 月 17 日含量的 7 倍多,为 167.23 ng/g FW。

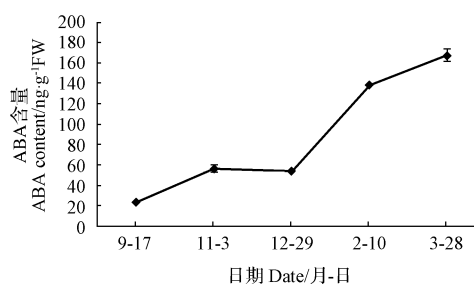


图 2 黄花美冠兰花芽分化过程中假鳞茎内 ABA 含量的变化

Fig. 2 ABA contents in pseudobulbs during the floral bud differentiation of *E. flava*

2.3 假鳞茎中 GA 含量的变化

GA 的含量在 9 月 17 日至 12 月 29 日下降明显,9 月 17 日 GA 的含量为 9.85 ng/g FW,在 12 月 29 日为 5.85 ng/g FW,下降了约 41%。GA 的含量在 12 月 29 日以后开始明显上升,至 3 月 28 日 GA 的含量与 9 月 17 日基本持平,为 9.77 ng/g FW。

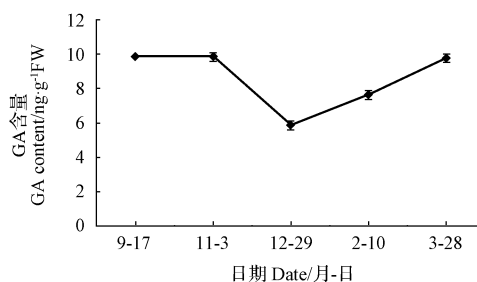


图 3 黄花美冠兰花芽分化过程中假鳞茎内 GA 含量的变化

Fig. 3 GA contents in pseudobulbs during the floral bud differentiation of *E. flava*

2.4 假鳞茎中 ZRs 含量的变化

ZRs 的含量在整个试验期内均呈上升趋势,其中 9 月 17 日至 12 月 29 日 ZRs 的含量由 8.19 ng/g FW 增加到 10.34 ng/g FW,上升缓慢。12 月 29 日至翌年 3 月 28 日,ZRs 的含量上升明显,从 10.34 ng/g FW 增加到 19.05 ng/g FW,增加了约 84%。

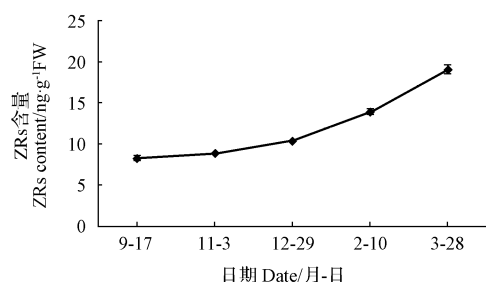


图4 黄花美冠兰花芽分化过程中假鳞茎内 ZRs 含量的变化

Fig. 4 ZRs contents in pseudobulbs during the floral bud differentiation of *E. flava*

2.5 假鳞茎内源激素比例变化

黄花美冠兰发芽分化过程中,假鳞茎内 ZRs/IAA、ZRs/GA、ABA/IAA、ABA/GA 的比值均呈上升趋势,其中 ABA/IAA 的比值升幅最大,花芽分化后期较前期 ABA/IAA 的比值增加了近 5 倍,ABA/GA 的比值升幅次之,花芽分化后期 ABA/GA 的比值是分化前期的近 4 倍,再次为 ZRs/IAA 的比值,花芽分化后期是分化前期的 3 倍左右,升幅最小的是 ZRs/GA 的比值,花芽分化后期仅为分化前期的 2 倍多。花芽分化结束后,ZRs/GA、ABA/IAA、ABA/GA 的比值继续升高,ZRs/IAA 的比值缓慢下降(图 5~8)。

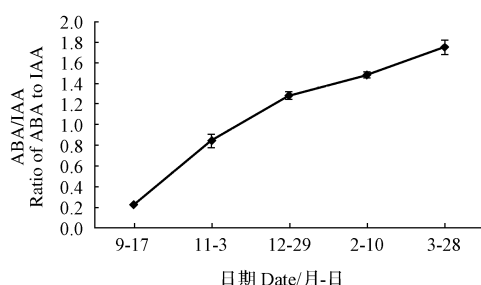


图5 黄花美冠兰花芽分化过程中假鳞茎内 ABA/IAA 比值的变化

Fig. 5 Ratio of ABA to IAA in pseudobulbs during the floral bud differentiation of *E. flava*

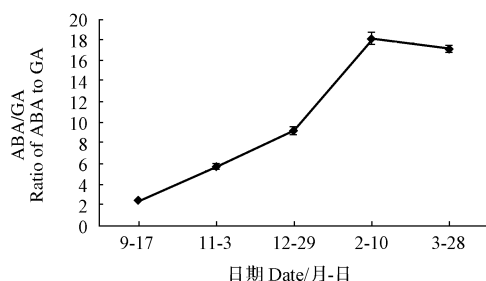


图6 黄花美冠兰花芽分化过程中假鳞茎内 ABA/GA 比值的变化

Fig. 6 Ratio of ABA to GA in pseudobulbs during the floral bud differentiation of *E. flava*

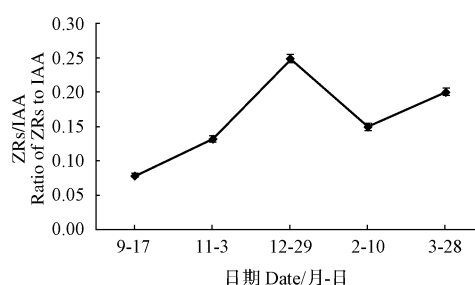


图7 黄花美冠兰花芽分化过程中假鳞茎内 ZRs/IAA 比值的变化

Fig. 7 Ratio of ZRs to IAA in pseudobulbs during the floral bud differentiation of *E. flava*

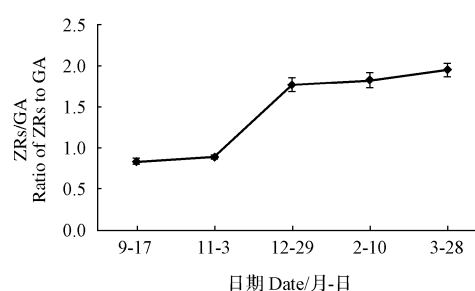


图8 花芽分化过程中假鳞茎内 ZRs/GA 比值的变化

Fig. 8 Ratio of ZRs to GA in pseudobulbs during the floral bud differentiation of *E. flava*

3 讨论与结论

植物内源激素对植物花芽分化的影响极为复杂,该试验结果表明,假鳞茎内 IAA、ABA、GA、ZRs 4 种内源激素的含量及 ZRs/IAA、ZRs/GA、ABA/IAA、ABA/GA 的比例在黄花美冠兰花芽分化过程中呈现一定的规律性变化。在分化初始期,IAA 的含量较高,随着花芽分化的开始,含量逐渐下降至最低,而后保持上升的趋势。曹尚银等^[3]研究苹果花芽孕育过程中内源激素的变化规律时发现,花芽孕育临界时期内,随时间推移,IAA 含量下降。该试验结果与之相似,说明低浓度的 IAA 有助于花芽分化的启动,相对较高浓度的 IAA 含量则有助于后期花器官的分化。

在花芽分化前期,黄花美冠兰假鳞茎内 ABA 的含量较低,但在花芽分化中后期,ABA 含量开始急剧上升,达到前期含量的 2 倍以上。曾骧^[4]认为 ABA 能引起枝条生长停止,促进 CTK 类物质、淀粉和糖的积累,有利于生殖生长。Rakngan 等^[5]也认为 ABA 可能间接地影响花芽孕育。该试验的结果也表明 ABA 含量的增加有利于黄花美冠兰花芽分化的完成。

许伟东^[6]认为杨梅生理分化开始时,可能由于是叶片中的 GA₃ 转移到发花芽中,导致叶片中 GA₃ 的含量有所降低,GA₃ 含量的变化,可能促进一系列相关生理生化反应来对营养生长和生殖生长进行调节。黄花美冠兰

花芽生理分化期假鳞茎 GA 含量呈先降后升的趋势,这与廖明安^[7]提到的 GA₃分阶段影响花芽分化的观点相似,即低含量的 GA₃的可以诱导生长点进入生理分化阶段,而在花芽分化后期花器官发育时,高含量的 GA₃有助于花芽分化的完成。

ZR 可维持 mRNA 和蛋白质的合成,调节蛋白质和可溶性氮化物之间的平衡从而促进开花;罗羽涓等^[8]认为,ZRs 含量的上升是与形态变化相一致,一般认为细胞体积的增大和数量的增加是依靠 ZRs 含量增加的。黄花美冠兰在花芽分化期间,ZR 含量一直呈上升趋势,分化后期达到初期含量的 2 倍以上,表明较高的 ZR 水平有利于黄花美冠兰花芽分化进程的完成。

激素平衡假说认为植物开花取决于促进开花和抑制开花的 2 类激素的平衡。这种不同激素含量、比例之间的平衡对成花有巨大的作用,比单一某种激素的作用更为重要。该研究结果显示,各种内源激素并不是孤立地对成花过程发生作用,激素间的比例存在规律性变化,ZRs/GA、ABA/IAA、ABA/GA 在黄花美冠兰花芽分化的过程中呈上升趋势,而 ZRs/IAA 的比例则先升后降。已有研究表明,GA 是一种抑花激素^[9-10],GA 含量的增加会抑制花芽的分化;而 ZRs 和 ABA 则有利于花芽分化的发生和完成;有人认为低浓度 IAA 有利于花芽孕育而高浓度的 IAA 抑制花芽孕育^[11],紫苏花的花芽诱导期需相对较低的 IAA 含量,相对高的 IAA 含量则有利于其花芽的分化^[12]。由于 IAA、ABA、GA、ZRs 4 种激素对花芽分化的作用特点不一,从而引起 ZRs/IAA、ZRs/GA、ABA/IAA、ABA/GA 的比例的规律性变化,这种变化在黄花美冠兰花芽分化过程中起着重要的作用。

不同的内源激素共存于同一植物体内,它们出现的时间和含量的差异除了受遗传因子调控外,还受到外界环境因子的影响,各种激素相互促进或者抑制产生一种动态的平衡,这种内源激素的动态平衡是黄花美冠兰花芽分化的一个重要物质基础。但是如何通过调节外部环境使黄花美冠兰内源激素达到花芽分化、发育所需的动态平衡水平,还有待于以后进一步的研究探讨。

参考文献

- [1] 陈心启,吉占和,郎楷永,等. 中国植物志[M]. 18 卷. 北京:科学出版社,1999:177.
- [2] 王英强,陈邦余. 广东山区兰科植物的野生花卉资源[J]. 亚热带植物科学,2001,30(1):9-14.
- [3] 曹尚银,张俊昌,魏立华. 苹果花芽孕育过程中内源激素的变化[J]. 果树科学,2000,17(4):244-248.
- [4] 曾骥. 果树生理学[M]. 北京:北京农业大学出版社,1992:250-251.
- [5] Rakngan J, Gemma H, Iwahori S. Flower bud formation in Japanese pear trees under adverse conditions and effects of some growth regulators[J]. Jpn J Trop Agr, 1995, 39:1-6.
- [6] 许伟东. 杨梅花芽生理分化期叶片内源激素含量变化[J]. 江西农业学报,2010,22(5):54-56.
- [7] 廖明安. 园艺植物研究法[M]. 北京:中国农业出版社,2005:219-236.
- [8] 罗羽涓,解卫华,马凯. 无花果花芽分化与植物激素含量的关系[J]. 云南植物研究,2007,29(5):563-568.
- [9] 张万萍,何君,史继孔. 银杏雌雄花芽分化期内源多胺的变化[J]. 浙江林学院学报,2002,19(4):391-394.
- [10] 余叔文,汤章成. 植物生理与分子生物学[M]. 北京:科学出版社,2001.
- [11] Kinet J M. Environmental, chemical and genetic control of flowering[J]. Hortie Rev, 1993, 15:279-334.
- [12] 梅虎,谈锋. 内源激素和核酸与紫苏花花芽生理分化的关系[J]. 西南农业大学学报,2002,24(2):118-121.

Study on Changes of Endogenous Hormone Contents in Pseudobulbs During the Floral Bud Differentiation of *Eulophia flava*

YANG Guang-sui¹, HUANG Su-rong¹, WANG Cun¹, HUANG Shao-hua¹, ZHANG Huan², ZHANG Zhi-qun¹

(1. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southern China, Danzhou, Hainan 571737; 2. College of Horticulture and Gardening, Hainan University, Haikou, Hainan 570228)

Abstract: During the floral bud differentiation of *Eulophia flava*, four kinds of endogenous hormones IAA, ABA, GA, ZRs contents in pseudobulb were measured with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results showed that in the process of the floral bud differentiation, ABA content and ZRs content in the pseudobulb increased, while IAA content and GA content decreased. The ratio of ZRs to IAA, ZRs to GA, ABA to IAA, ABA to GA presented uptrend, besides, ABA to IAA and ABA to GA leaded a higher ratio than ZRs to IAA and ZRs to GA.

Key words: *Eulophia flava*; floral bud differentiation; endogenous hormones