

# 罗田“八月红”板栗花芽分化与相关酶活性的变化

程 华<sup>1,2</sup>, 李琳玲<sup>1,2</sup>, 王少斌<sup>1,2</sup>, 许 锋<sup>1</sup>, 王 燕<sup>1,3</sup>, 程水源<sup>1,2</sup>

(1. 经济林木种质改良与资源综合利用湖北省重点实验室, 湖北 黄冈 438000; 2. 黄冈师范学院 化学与生命科学学院, 湖北 黄冈 438000; 3. 湖北省林业厅 科技教育处, 湖北 武汉 430079)

**摘 要:**以罗田板栗主栽品种“八月红”为试材, 研究分析了板栗花芽分化过程中相关酶活性的变化规律, 以为果树育种工作的顺利进行提供理论基础和技术支撑。结果表明: 板栗雌花分化过程中吲哚乙酸(IAA)的大量氧化有利于板栗植株完成从营养生长到生殖生长的转变, 从而完成有序花芽分化; 过氧化氢酶(CAT)活性随着花芽分化进程的进行不断增强, 后期增加趋势转为平缓; 过氧化物酶(POD)活性在花芽分化前逐渐上升直到花芽分化期活性达到最高值, 之后呈现一段时间的下降趋势; 不同分化时期淀粉酶活性降低有利于板栗花芽分化。

**关键词:**板栗; 花芽分化; 酶活性

**中图分类号:**S 664.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)20-0006-04

板栗(*Castanea mollissima* Blume)属壳斗科栗属, 是我国传统的特产干果之一<sup>[1-2]</sup>。湖北省罗田县是我国南方重要的板栗主产区, 栽培面积 4.8 万  $\text{hm}^2$ , 年产板栗约 3.0 万 t 左右, 板栗产业系列产品年产值达 4.8 亿元, 在当地经济发展中起着不可替代的作用<sup>[3]</sup>。虽然我国是板栗生产的传统大国, 在板栗栽培技术方面积累了较为丰富的经验, 但对板栗生产中长期存在的雄花量过大、雌花量不足(雌雄花比例通常为 1:2 000~1:3 000)的问题一直未能很好的解决, 导致单产低、效益差, 严重制约了板栗产业的健康发展<sup>[4]</sup>。罗田当地板栗栽培品种“八月红”具有结实率高、空苞率低等特点, 适宜作为良种进行大面积推广。由于板栗本身具有高雄雌花序比, 故当地生产栽培中经常进行人工疏雄, 控制合适的雄雌花序比, 以提高产量<sup>[5]</sup>。因此了解和掌握果树花芽分化的时期、机理和规律, 可以缩短果树幼龄期, 克服果树大小年现象, 改善和提高果实品质, 并为果树育种工作的顺利进行提供理论基础和技术支撑。该研究以罗田主栽板栗品种“八月红”为试材, 研究分析了花芽分化期相

关酶活性变化的内在规律、特点及影响因素, 为板栗花芽分化调控理论的深入研究及调控技术的开发提供理论依据和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料取自湖北罗田县白庙河板栗园, 选取树龄基本一致且处于盛果期健壮的“八月红”板栗树。从 2012 年 4 月上旬板栗花芽处于形态分化期开始取样, 每隔 7 d 采集“八月红”板栗植株(各方位随机采取)外围健壮的结果枝上顶芽和花芽, 立即用冰盒带回实验室于  $-40^{\circ}\text{C}$  保存备用。

### 1.2 项目测定

过氧化氢酶(CAT)活性测定参考徐田军等<sup>[6]</sup>的方法; 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑(NBT)光还原法<sup>[7]</sup>; 蔗糖酶活性的测定参考唐云明等<sup>[8]</sup>的方法; 硝酸还原酶活性的测定采用磺胺比色法<sup>[9]</sup>; 吲哚乙酸(IAA)氧化酶活性的测定采用比色法<sup>[10]</sup>; 过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法<sup>[11]</sup>; 总淀粉酶活性的测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法<sup>[12]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 罗田“八月红”板栗不同花芽分化期 CAT 活性的变化

由图 1 可知, 在板栗花芽发育过程中, CAT 活性呈逐步上升趋势。在花芽分化初期(4 月中旬至 5 月上旬)CAT 活性比较低, 即在花萼分化期、花瓣分化期以及雄蕊分化期 CAT 活性增加幅度较小, 而在雌蕊分化期, CAT 活性陡然增加, 表明 CAT 活性在板栗雌蕊分化期有明显的升高趋势。在该试验中, 当板栗开始进入花芽

**第一作者简介:**程华(1980-), 男, 湖北麻城人, 博士, 讲师, 现主要从事经济林种质资源评价与利用等研究工作。E-mail:cheng-hua1437@126.com.

**责任作者:**程水源(1965-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 现主要从事经济林种质资源评价与利用等研究工作。E-mail:s\_y\_cheng@sina.com.

**基金项目:**湖北省自然科学基金重点资助项目(2010CBB03901); 湖北省教育厅高校产学研合作重点资助项目(C2010060); 2011 年中央财政林业科技推广示范资助项目(2011BH0032)。

**收稿日期:**2013-05-16

分化时期,板栗花芽中 CAT 活性是随着花芽分化的进程不断增强的,在花芽分化后期增加趋势较为平缓。

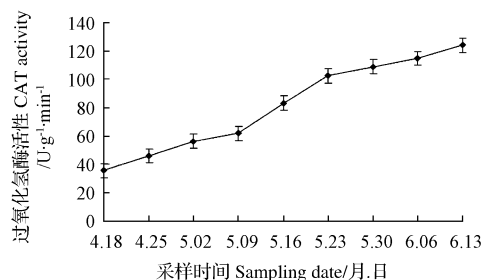


图1 不同分化时期 CAT 活性变化

Fig. 1 Changes of CAT activity in different differentiation periods

## 2.2 罗田“八月红”板栗不同花芽分化期 SOD 活性的变化

由图 2 可知,板栗花芽分化阶段 SOD 活性波动幅度较大。4 月 25 日后呈现急剧的上升趋势,并在 5 月 16 日和 5 月 30 日呈现 2 个相同的最高峰。5 月 30 日后呈现连续的、明显的下降趋势。在整个花芽分化期间 SOD 活性一直处于较高水平。表明随着板栗花芽分化的进行,SOD 活性不断呈现较大的变化趋势,但总体上呈现较高水平。

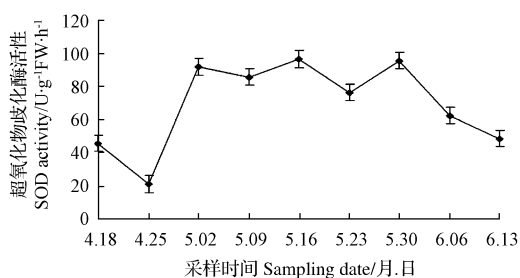


图2 不同分化时期 SOD 活性变化

Fig. 2 Changes of SOD activity in different differentiation periods

## 2.3 罗田“八月红”板栗不同花芽分化期蔗糖酶活性的变化

由图 3 可知,在整个板栗花芽分化期间蔗糖酶活性一直处于较低水平,在花芽分化初期蔗糖酶活性呈现急剧下降后平缓又急剧上升的趋势,并于 5 月中旬达到板

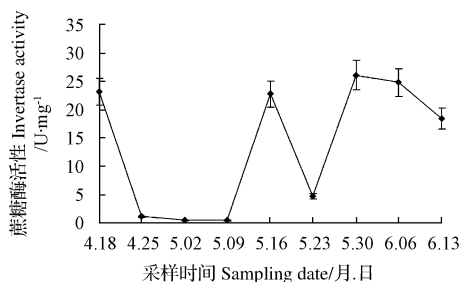


图3 不同分化时期蔗糖酶活性变化

Fig. 3 Changes of invertase activity in different differentiation periods

栗花芽开始分化时的水平,在 5 月 30 日达到最高峰,然后活性开始逐渐变小。蔗糖酶活性在花芽分化的整个过程中波动性较大。

## 2.4 罗田“八月红”板栗不同花芽分化期硝酸还原酶活性的变化

由图 4 可知,在板栗花芽分化过程中,硝酸还原酶活性基本上呈现先升后降的趋势。4 月 25 日后硝酸还原酶活性急剧上升,在 5 月 9 日出现活性高峰,随着花芽分化中后期的到来其活性呈明显的下降趋势,并恢复至花芽分化前期状态。从整个发育趋势看,硝酸还原酶在花芽分化期维持较高水平。

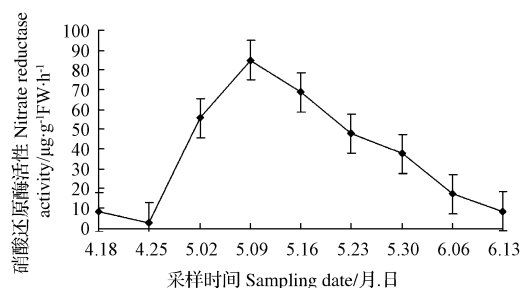


图4 不同分化时期硝酸还原酶活性变化

Fig. 4 Changes of nitrate reductase activity in different differentiation periods

## 2.5 罗田“八月红”板栗不同花芽分化期 IAA 氧化酶活性的变化

由图 5 看出,在板栗花芽分化过程中叶片中的 IAA 氧化酶活性在 5 月 9 日达到高峰,随后下降,2 周后又开始缓慢上升,在 5 月 30 日达到第 2 个高峰,在花芽分化初期先下降,在花瓣分化期又开始上升,在板栗花芽分化的整个过程中 IAA 氧化酶保持在较高水平并呈现不断的上升趋势,说明在这一生理过程中 IAA 氧化酶活性较活跃。

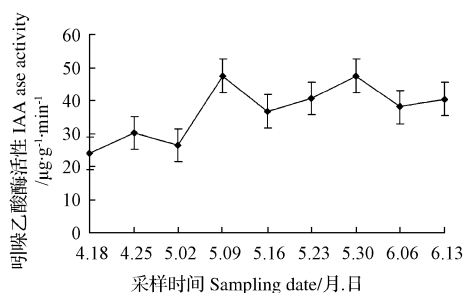


图5 不同分化时期 IAA 氧化酶活性变化

Fig. 5 Changes of IAA ase activity in different differentiation periods

## 2.6 罗田“八月红”板栗不同花芽分化时期 POD 活性的变化

由图 6 可知,POD 活性从板栗花芽分化初期就呈现上升趋势,随着板栗花芽分化的进行在 4 月底花孕育期活性上升速度开始加快,在 5 月中旬出现第 1 个最高峰

阶段,随后半个月开始持续下降,说明在此阶段 POD 生理活性较活跃。5 月底到 6 月中旬花器各部分原基分化期阶段持续上升,并在 6 月上旬出现第 2 个高峰,随后开始急剧下降,呈明显的双峰曲线。5 月上旬至 6 月上旬 POD 活性总体保持在较高水平之上。POD 较高的活性可能是正在参与某些与花芽分化的相关代谢活动。

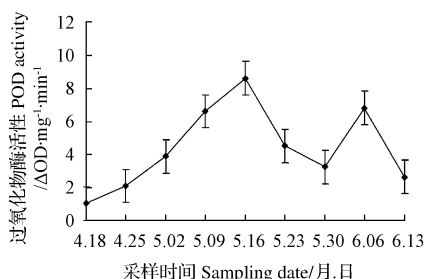


图 6 不同分化时期 POD 活性变化

Fig. 6 Changes of POD activity in different differentiation periods

### 2.7 罗田“八月红”板栗不同花芽分化时期总淀粉酶活性的变化

由图 7 可以看出,在板栗花芽分化初期板栗叶片中的总淀粉酶活性急剧降低,并在半个月保持较低水平,淀粉酶的活性水平整体呈减弱的趋势。而在花芽形态分化后期达到相对稳定水平,5 月上旬开始上升,5 月 16 日出现第 1 个小高峰,在花序分化期其活性到达低谷,花芽分化后期淀粉酶活性保持在稳定水平,变化幅度较小。总的来看,未分化期的淀粉酶活性极低,进入花瓣分化期后急剧下降,在分化后期整体保持较低的水平,这可能与参与分解淀粉有关。

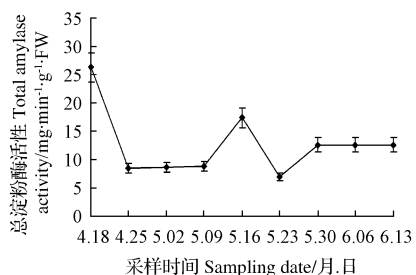


图 7 不同分化时期总淀粉酶活性变化

Fig. 7 Changes of total amylase activity in different differentiation periods

## 3 结论与讨论

CAT、SOD 和 POD 作为植物细胞内主要抗氧化酶类,具有重要的生理功能。过氧化氢酶普遍存在于高等植物中,在花和果实形成过程中发挥重要作用<sup>[13-14]</sup>。靳丹丹<sup>[15]</sup>研究发现碗莲花莲叶中 CAT 活性随着花芽分化的进行逐渐增加。莲叶的 SOD 活性相对于营养生长期来说,一直处于较高的水平,莲藕中的 SOD 活性在花萼

分化期达到低谷,在后面的花芽分化时期一直持续增强,莲叶与莲藕中的 POD 活性的变化规律比较接近,花芽分化始期活性增强,在花萼分化期同时达到峰值,随即迅速下降。SOD、CAT 和 POD 在植物体内协同作用,共同构成一道保护屏障,使植物体内自由基的产生和消除处于动态平衡状态。抗氧化酶活性的升高有利于花芽分化的进行。该试验中过氧化物酶活性的变化都是在花芽分化前逐渐上升直到花芽分化期活性达到最高值,之后呈现一段时间的下降趋势后又回升到第 2 个高峰值,进入到花芽分化末期继续呈现下降的趋势。在板栗植株进行花芽分化前随着叶片的增多和结果枝的生长它们的酶活性呈上升趋势,表明它们的呼吸代谢旺盛,对照花芽分化期间板栗叶片碳水化合物和蛋白质含量的变化可以看出,CAT 活性的变化有利于为板栗进行花芽分化和开花供给充足的营养物质和结构物质,这与孔德政等<sup>[16]</sup>对碗莲花的研究结论相一致。表明在板栗花芽分化过程中,CAT 起了保护板栗免受氢氧根离子毒害作用,使得板栗花芽分化有序进行。另外,罗田“八月红”板栗在进入生殖生长进行花芽分化阶段叶片内 POD 活性处于比较高的水平,而 POD 活性的变化与花芽形态分化各时期的生理变化密切相关<sup>[17]</sup>。由此推测,可能是过氧化物酶活性处于较高的水平大量氧化分解 IAA,使 IAA 含量下降,从而有利于板栗植株完成从营养生长到生殖生长的转变,有利于板栗植株完成有序花芽分化。这与董合忠等<sup>[18]</sup>对棉花的花芽分化过程的研究结果基本一致。

淀粉酶活性强弱代表着植物体内碳水化合物的代谢状况。路苹等<sup>[19]</sup>研究发现切花百合鳞茎花芽分化期淀粉酶活性会明显提高,这说明淀粉酶活性增强有利于花芽分化。该研究发现,不同分化时期淀粉酶活性降低有利于板栗花芽分化,在花芽分化中期(5 月 16 日)淀粉酶活性出现 1 次高峰,并导致淀粉含量下降。这个时期淀粉酶活性升高可能是形成的柱头中合成大量 GA<sub>3</sub>,GA<sub>3</sub> 不仅可以促进淀粉酶 mRNA 的转录活性,而且明显增加淀粉酶的含量<sup>[20]</sup>。硝酸还原酶活力被认为是植物生长速率判断的重要生理生化指标,在氮素的代谢中处于关键地位<sup>[21]</sup>。李文平<sup>[22]</sup>对甘蓝春化过程中相关酶活性变化规律研究发现,低温春化过程中硝酸还原酶活性提高。当甘蓝幼苗完成春化进入花芽分化临界期时,植株完成了绿体春化,幼苗体内硝酸还原酶活性急剧上升达最大值;甘蓝体内可溶性蛋白含量增加、硝酸还原酶活性提高,有利于甘蓝春化的启动。该研究中,硝酸还原酶在花芽分化期维持较高水平,应该与花芽分化时期氨基酸和蛋白质的快速消耗有关。

通常将植物在不同发育时期酶带的出现或消失称之为酶的阶段特异性,即某些同工酶带可以在某一组织

的某一子程序时期出现,但却在另一发育时期消失。无论是新的酶分子的合成或者是原有酶分子的降解,归根到底是由于基因表达调控的结果<sup>[23]</sup>。但是,直到今天,对于高等植物是如何调节大分子分化表达的确切机理还不很清楚。当然,调节水平有可能是基因起作用的,也可能是基因及其最终产物即功能酶之间的相互作用。总之,花芽发育过程中相关酶活性的研究,对于了解花芽分化过程是十分必要的。

### 参考文献

- [1] 冯学文. 实用果树栽培技术[M]. 天津:天津科学技术出版社,1993.
- [2] 张宇和,王福堂,高新一. 板栗[M]. 北京:中国林业出版社,1989.
- [3] 姜德志,程水源,王燕,等. 罗田3个板栗栽培品种主要营养成分分析[J]. 湖北农业科学,2012,50(23):4882-4884.
- [4] 郭成圆. 板栗花芽分化及内源激素变化的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2010.
- [5] 程华,李琳玲,姜德志,等. 罗田板栗主栽品种物候期观察[J]. 北方园艺,2012(23):1-5.
- [6] 徐田军,董志强,兰宏亮,等. 低温胁迫下聚糖萜合剂对玉米幼苗光合作和抗氧化酶活性的影响[J]. 作物学报,2012,38(2):352-359.
- [7] 张英. 竹叶提取物类 SOD 活性的邻苯三酚法测定[J]. 食品科学,1997,18(5):47-49.
- [8] 唐云明. 柑叶片蔗糖酶的分离纯化及其部分性质的研究[J]. 植物学报,1995,37(8):594-600.
- [9] 李忠光,龚明. 磺胺比色法测定植物组织硝酸还原酶活性的改进[J]. 植物生理学通讯,2009,45(1):67-68.
- [10] 陈立松,刘星辉. 水分胁迫下荔枝叶片过氧化物酶和 IAA 氧化酶活性的变化[J]. 武汉植物学研究,2002,20(2):131-136.
- [11] 孙文全. 联苯胺比色法测定果树过氧化物酶活性的研究[J]. 果树学报,1988(3):105-108.
- [12] 李雯,邵远志,陈维信. 淀粉酶活性测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯,2005,41(5):655-656.
- [13] 陈晓芳,穆鼎,吕英民. 低温储藏亚洲百合鳞茎内部淀粉含量和相关酶活性变化[J]. 栽培生理,2006(2):315-320.
- [14] 吴邦良,春森. 树开花结实生理和调控技术[M]. 上海:科学技术出版社,1995.
- [15] 靳丹丹. 碗莲花芽分化形态发育以及相应时期生理生化的动态研究[D]. 郑州:河南农业大学,2008.
- [16] 孔德政,靳丹丹,孔丽娜,等. 碗莲花花芽分化期几种酶活性的变化[J]. 河南农业科学,2008(4):97-100.
- [17] 郭金丽,玉兰. 果梨花芽分化期蛋白质、淀粉代谢的研究[J]. 蒙古农牧学院学报,1999,20(2):50-53.
- [18] 董合忠,李维江,任桂杰,等. 棉花花芽分化过程中 IAA 含量与过氧化物活性变化趋势的研究[J]. 棉花学报,1999,11(6):303-305.
- [19] 路苹,郭蕊,于同泉,等. 切花百合鳞茎花芽形态分化期碳水化合物代谢变化[J]. 北京农学院学报,2003,18(4):259-261.
- [20] 张建铭,谈锋,陈京. 大花梔子花芽生理分化期内源激素和碳氮比的动态变化[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),1999,24(2):219-224.
- [21] 田华,段美洋,王兰. 植物硝酸还原酶功能的研究进展[J]. 中国农学通报,2009,25(10):96-99.
- [22] 李文平. 甘蓝春化过程中相关酶活性及内源激素的变化规律的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2010.
- [23] 张慧君,王学征,高鹏. 甜瓜性别分化的研究进展[J]. 园艺学报,2012,39(9):1773-1780.

## The Relationship Between Flower Bud Differentiation and the Changes of Metabolism-related Enzyme Activity in *Castanea mollissima* 'Bayuehong'

CHENG Hua<sup>1,2</sup>, LI Lin-ling<sup>1,2</sup>, WANG Shao-bin<sup>1,2</sup>, XU Feng<sup>1</sup>, WANG Yan<sup>1,3</sup>, CHENG Shui-yuan<sup>1,2</sup>

(1. Economic Forest Germplasm Improvement and Comprehensive Utilization of Resources of Hubei Key Laboratories, Huanggang, Hubei 438000; 2. College of Chemistry and Life Science, Huanggang Normal University, Huanggang, Hubei 438000; 3. Technology Education Department, Forestry Department of Hubei Province, Wuhan, Hubei 438000)

**Abstract:** Taking *Castanea mollissima* 'Bayuehong' as material, the relationship between flower bud differentiation and related enzyme activity in 'Bayuehong' were studied, in order to provide theoretical basis and technical support for the work of fruit genetic breeding. The results showed that the IAA content decreased due to the large number of oxidation in the process of chestnut female flower differentiation; the CAT activity in chestnut flower buds was increasing as the flower bud differentiation went on, but the increasing trend became gentle in the last period; the change of peroxidase activity in front of the flower bud differentiation increased gradually until the activity reached to the highest value in the flower bud differentiation stage; the decreasement of amylase activity in the differentiation period was beneficial to the flower bud differentiation.

**Key words:** chestnut; flower bud differentiation; enzymatic activity