

## 罗汉果花芽分化过程中内源激素的变化

覃喜军<sup>1,2</sup>, 黄夕洋<sup>1,\*</sup>, 蒋水元<sup>1</sup>, 李虹<sup>1</sup>, 戴俊<sup>1,2</sup>, 韦荣昌<sup>1,3</sup>, 李锋<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西桂林 541006; <sup>2</sup>广西师范大学生命科学学院, 广西桂林 541004; <sup>3</sup>广西大学农学院, 南宁 530004; <sup>4</sup>广西科学院, 南宁 530003

**摘要:** 采用酶联免疫吸附测定法(ELISA), 在花芽分化期对罗汉果雌株二级蔓上的腋芽(花芽)进行了植物内源激素生长素(IAA)、赤霉素(GA<sub>3</sub>)、脱落酸(ABA)、玉米素核苷(ZR)含量变化的研究。结果表明: 在罗汉果花芽分化进程中, 低水平的IAA、GA<sub>3</sub>和高水平的ABA、ZR可能促进花芽分化; 在激素平衡中, ABA/GA<sub>3</sub>和ZR/GA<sub>3</sub>比值的变化起主要的影响作用, 高比值的ABA/GA<sub>3</sub>和ZR/GA<sub>3</sub>可能有利于罗汉果花芽分化。

**关键词:** 罗汉果; 花芽分化; 内源激素

## Changes in Endogenous Hormones during Floral Bud Differentiation of *Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey

QIN Xi-Jun<sup>1,2</sup>, HUANG Xi-Yang<sup>1,\*</sup>, JIANG Shui-Yuan<sup>1</sup>, LI Hong<sup>1</sup>, DAI Jun<sup>1,2</sup>, WEI Rong-Chang<sup>1,3</sup>, LI Feng<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi 541006, China; <sup>2</sup>College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541004, China; <sup>3</sup>College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530004, China; <sup>4</sup>Guangxi Academy of Sciences, Nanning 530003, China

**Abstract:** During flower bud differentiation of *Siraitia grosvenorii*, the dynamic variation in contents of plant endogenous hormones IAA, ABA, GA<sub>3</sub> and ZR in the female flower bud of second order vine were determined with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The results showed that in the developing process of flower bud, low levels of IAA and GA<sub>3</sub> and high levels of ABA and ZR could accelerate flower bud differentiation. The changes in ratios of ABA/GA<sub>3</sub> and ZR/GA<sub>3</sub> played primary roles. High ratios of ABA/GA<sub>3</sub> and ZR/GA<sub>3</sub> also could promote flower bud differentiation.

**Key words:** *Siraitia grosvenorii*; flower bud differentiation; endogenous hormones

花芽分化是植物从营养生长向生殖生长的重要标志, 并关系列植物的产量。花芽的分化与植物激素关系非常密切, 其在花芽分化中的作用已有很多报道, 尤其在龙眼、柑桔、苹果、梨等中的研究较多(黄美维 1996; 黄迪辉和黄辉白 1992; 曹尚银等 2000; 李秉真等 2000)。但目前罗汉果和其他葫芦科植物有关花芽分化过程中内源激素动态变化的报道很少。

罗汉果是葫芦科罗汉果属多年生草质藤本植物, 为雌雄异株, 是我国特有的传统出口商品之一。罗汉果应用于医药已有近百年的历史, 有良好的营养价值和药用功能, 而且果实中还含有一种低热量且甜度极高的物质——罗汉果甜苷, 它是一种理想的天然甜味剂, 可作为肥胖症和糖尿病患者理想的糖替代品。近年来, 随着罗汉果组培苗大面积的推广使用, 出现了雌株不开花、开花延迟或者光开花

不坐果的现象, 严重影响了产量。由于雌株的二级侧蔓是主要的结果枝条, 因此, 我们选择二级侧蔓上的花芽作为研究对象, 对罗汉果花芽分化过程中内源激素的动态变化进行了研究, 旨在探讨内源激素含量的变化趋势和引起花芽分化的激素水平, 以期了解激素控制罗汉果花芽分化的基本规律, 为今后化学调控和解决罗汉果的开花坐果提供理论依据。

### 材料与方法

实验在广西植物研究所罗汉果试验田内进

收稿 2010-05-12 修定 2010-07-16

资助 国家支撑项目(2006BAI06A11-01)、国家自然科学基金(40961019)、广西科技攻关项目(桂科攻 5-2-2)、桂林科技攻关项目(20080103-1)。

\* 通讯作者(E-mail: xiyang0687@163.com; Tel: 0773-3550103)。

行。供试材料为桂林亦元生现代生物技术有限公司培育的苗。选取长势一致的罗汉果[*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey]雌株10株,在2009年7月6日对罗汉果一级侧蔓进行打顶时,同时取打顶部分的腋芽;并在7月10日取一级侧蔓上即将发育为二级侧蔓的腋芽稍;之后随着二级侧蔓的生长,每隔2 d取不同二级侧蔓的中部及顶部的腋芽(花芽)作为实验材料,直至7月20日花蕾出现为止。材料取回后用液氮速冻,并放入1.5 mL离心管中,于-20℃保存待测。

提取、分离和纯化时,准确称取0.5 g实验材料,分3次加入2 mL 80%甲醇提取液,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;以1000×g离心15 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<sub>18</sub>固相萃取柱进行纯化后待测。

测定激素含量时,采用酶联免疫吸附测定法(ELISA),试剂盒由中国农业大学提供。每个样品重复测定3次。

## 结果与讨论

### 1 罗汉果花芽形态分化进程的观察

根据高春燕(2006)的观察,罗汉果花芽分化阶段约从苗上棚后分生出二级侧蔓并肉眼可见叶腋开始,直至花蕾出现为止;再结合我们对花芽石蜡切片的观察,可确定在7月6~22日实验期间,7月18日是花芽分化到成花的转折点,7月20日即一级侧蔓打顶后的第14天罗汉果的花芽已基本完成分化并形成花蕾,所以罗汉果花芽从开始分化到完成约在半个月内。

### 2 罗汉果花芽分化过程中内源激素含量的变化

目前关于生长素(IAA)对花芽分化作用的研究结果尚不一致。有研究认为IAA含量降低有利于花芽的分化(曹尚银等2000;任桂杰2000),也有人认为高含量IAA可能促进花芽分化(史继孔等1999)。本文结果显示,在罗汉果一级侧蔓打顶时,该蔓上的顶芽或腋芽IAA处于较高水平,为296.03 ng·g<sup>-1</sup>(FW),而打顶后二级侧蔓上的腋芽(花芽)IAA含量迅速降低,并在7月18日即12 d后达到最低

的230.57 ng·g<sup>-1</sup>(FW)。可见,打顶后随着花芽形态的分化,IAA含量的变化呈下降的趋势。但在7月20日花芽分化已完成并出现花蕾时,IAA含量却明显增加,上升幅度较大并达到最高值,之后下降(图1-A)。根据IAA的变化趋势可认为,IAA含量逐渐降低有利于促进罗汉果的花芽分化。

在多数果树的花芽分化研究中,认为赤霉素(GA)抑制花芽分化(曹尚银等2003),然而,GA种类很多,随着研究的深入,研究者发现不同的GA对植物花芽分化的作用不同,如GA<sub>3</sub>对苹果开花有抑制作用,而GA<sub>4</sub>反而有促进作用(曹仪植和宋占午1997)。在罗汉果花芽分化的过程中,GA<sub>3</sub>含量的动态变化(图1-B)趋势和IAA相似。在一级侧蔓打顶时GA<sub>3</sub>含量较高,为45.35 ng·g<sup>-1</sup>(FW),随着二级侧蔓上的腋芽(花芽)分化,GA<sub>3</sub>含量缓缓下降,也在7月18日即12 d后达到最低,为33.93 ng·g<sup>-1</sup>(FW)。此后,在形成花蕾时又急剧上升和下降,这可能与枝条变粗变大、节间伸长、花芽成花有关。由此可知,与IAA一样,GA<sub>3</sub>含量逐渐降低有利于促进罗汉果的花芽分化。

脱落酸(ABA)对植物花芽分化的作用说法不一。Koshita等(1999)指出,ABA含量增加有利于温州蜜柑花芽的形成;也有研究认为ABA具有双重作用,一方面可以与GA拮抗引起枝条停止生长,使CTK、淀粉和糖积累而促进花芽分化,而另一方面又可以诱导休眠而不能成花(曾骧1992)。罗汉果植株在一级侧蔓打顶时,其花芽ABA含量为533.30 ng·g<sup>-1</sup>(FW),打顶后二级侧蔓上的腋芽(花芽)ABA含量急剧下降,到7月12日即6 d后ABA含量处于最低水平的452.04 ng·g<sup>-1</sup>(FW);之后,随着花芽的分化其含量又逐渐上升,在7月16日后一直保持较高水平的508.97~538.72 ng·g<sup>-1</sup>(FW)(图1-C)。说明保持较高水平的ABA有助于罗汉果花芽分化。

玉米素核苷(ZR)是细胞分裂素的一种,大部分学者认为细胞分裂素对植物成花有促进作用(Bangerth 2009)。根据高春燕(2006)对于罗汉果花芽分化时间的经验和大概划分,可认为ZR含量的增加是与形态分化同步的,因为ZR含量增加有助于细胞数量的增加以及细胞体积的增大(李秉真等2000)。在罗汉果花芽分化过程中,ZR含量在7月12日前变化不大,在243.48~264.53 ng·g<sup>-1</sup>(FW)之

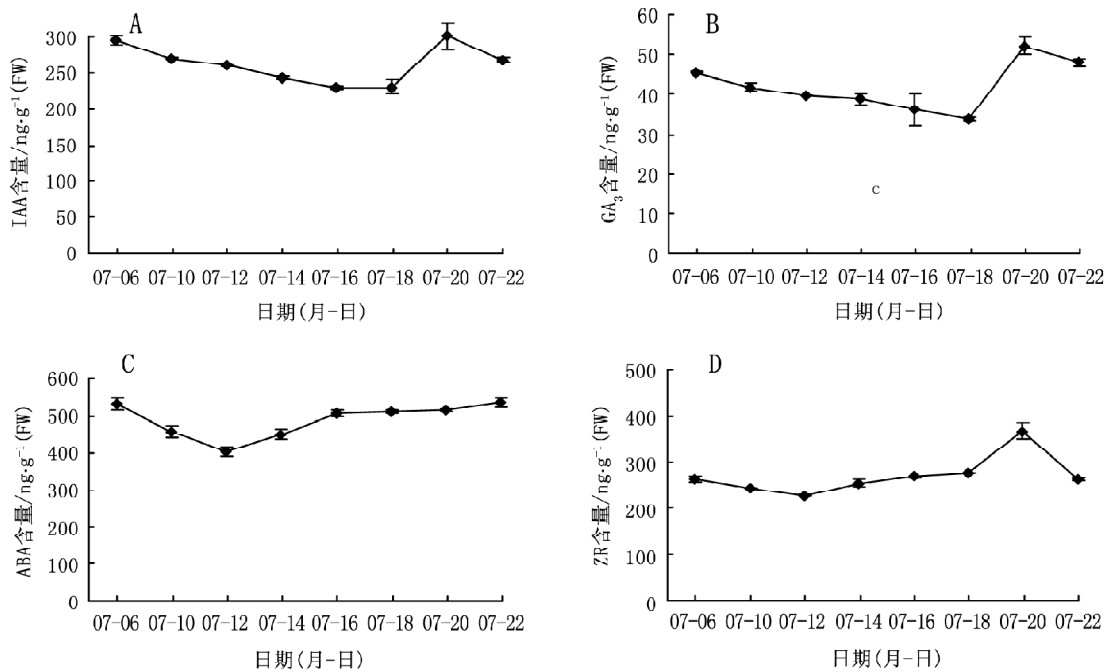


图1 罗汉果花芽分化过程中内源激素含量的变化

Fig.1 Changes in endogenous hormone contents during flower bud differentiation of *S. grosvenorii*

间, 稍有下降; 此后含量逐渐上升, 在7月18~20日, ZR水平急剧上升到峰值367.62 ng·g<sup>-1</sup> (FW), 之后又急剧下降(图1-D)。可见, 较高水平的ZR也有利于罗汉果的花芽分化。

### 3 花芽分化期激素比例的变化

由图2可见, ABA/GA<sub>3</sub>的比值在罗汉果一级侧蔓打顶后至7月12日逐步下降, ZR/GA<sub>3</sub>的比值则变化不大, 在此之后两者的比值增大, 尤其在7月18日均出现了一个峰值, 比值达到最大, 到7月20日出现花蕾时又开始下降; 而ABA/IAA、ZR/IAA、ABA/ZR的比值在花芽分化的进程中均保持稳定。说明高比值的ABA/GA<sub>3</sub>和ZR/GA<sub>3</sub>与成花有关。

前人的研究表明, 不同种类植物激素有相互促进和相互拮抗的生理效应, 因此植物激素间的平衡关系对植物生长发育的调节作用更为重要。早在1974年Luckwill提出了植物体内激素的某种平衡能够调控花芽孕育的假说, 而激素如何使基因活化是基因调节成花的关键, 激素的平衡可导致与成花有关的基因解除阻遏(马月萍和戴思兰2003)。由本文结果可知, 高比率的ABA/GA<sub>3</sub>、ZR/GA<sub>3</sub>是有利于罗汉果花芽分化的, 这在一部分上也支持了

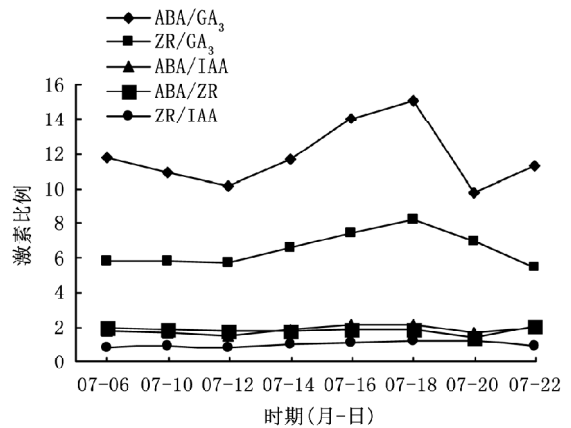


图2 罗汉果花芽分化过程中ABA/IAA、ABA/GA<sub>3</sub>、ZR/IAA、ZR/GA<sub>3</sub>、ABA/ZR的变化  
Fig.2 Changes in ratios of ABA/IAA, ABA/GA<sub>3</sub>, ZR/IAA, ZR/GA<sub>3</sub> and ABA/ZR during flower bud differentiation of *S. grosvenorii*

Luckwill的激素平衡假说。激素平衡控制花芽孕育假说提出了花芽孕育所需的条件或激素环境, 在理论和实践上都很有意义。

总之, 植物花芽分化是一个复杂的过程, 激素是花芽分化的关键, 各个激素都会对花芽分化起一定的作用并呈现一定的规律。而且植物的成花并

不是单独某种激素变化的结果,它们不是孤立地对花芽分化过程发生作用,而是与激素平衡相关,是各个激素相互作用、相互制约、相互促进的结果。由此可见,激素间的平衡对成花的影响比单项内源激素的水平更为重要。对罗汉果雌株花芽分化过程中内源激素含量变化的研究结果,说明内源激素间的平衡关系及其变化动态在罗汉果的花芽分化过程中起着重要的调控作用,从而使我们在今后有望更好地调控罗汉果的开花。

### 参考文献

- 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
- 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
- 曹仪植, 宋占午主编(1997). 植物生理学. 兰州: 兰州大学出版社
- 高春燕(2006). 罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)组培苗花芽分化的生理生化初步研究[学位论文]. 桂林: 广西师范大学
- 黄迪辉, 黄辉白(1992). 柑桔成花机理的研究: I. 与内源激素的关系. 果树科学, 9 (1): 13~18
- 黄羌维(1996). 龙眼内源激素变化和花芽分化及大小年结果的关系. 热带亚热带植物学报, 4 (2): 58~62
- 李秉真, 孙庆林, 张建华, 马青枝(2000). 苹果梨花芽分化期内源激素含量的变化. 植物生理学通讯, 36 (1): 27~29
- 马月萍, 戴思兰(2003). 植物花芽分化机理研究进展. 分子植物育种, 1 (4): 539~545
- 任桂杰, 陈永哲, 董合忠, 陈穗云(2000). 棉花花芽分化及部分内源激素变化规律的研究. 西北植物学报, 20 (5): 847~851
- 史继孔, 张万萍, 樊卫国, 文晓鹏(1999). 银杏雌花芽分化过程中内源激素含量的变化. 园艺学报, 26 (3): 194~195
- 曾骧(1992). 果树生理学. 北京: 北京农业大学出版社, 134~177
- Bangerth PK (2009). Floral induction in mature, perennial angiosperm fruit trees: similarities and discrepancies with annual/biennial plants and the involvement of plant hormones. *Sci Hort*, 122: 153~163
- Koshita Y, Takahara T, Ogata T, Goto A (1999). Involvement of endogenous plant hormones (IAA, ABA, GA<sub>3</sub>) in leaves and flower bud formation of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). *Sci Hort*, 79: 185~194