

赤霉素和细胞分裂素对石蒜鳞茎膨大的调控作用及其生理机制

许俊旭, 李青竹, 杨柳燕, 李心, 王桢, 杨贞, 张永春*

上海市农业科学院林木果树研究所, 上海201403

摘要: 石蒜(*Lycoris radiata*)鳞茎的自然膨大过程很慢, 严重制约了其商业生产的发展, 外施激素是调控石蒜鳞茎膨大的重要手段。本文利用外施细胞分裂素类似物氯吡脒(CPPU)、赤霉素(GA)合成抑制剂多效唑(PP333)以及GA的方式, 探讨GA和细胞分裂素对石蒜鳞茎膨大的调控作用及其生理机制。研究发现外施CPPU和PP333后, 内源玉米素核苷(ZR)和GA₃含量分别升高和降低, 鳞茎中碳水化合物的积累增强, 并促进石蒜鳞茎的膨大。另外, 外施GA₃和PP333能够快速诱导淀粉合成关键酶腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase)大小亚基基因*LrAGPLI*表达下调、*LrAGPSI*表达上调, 而CPPU对淀粉合成相关基因的调控作用较为缓慢, 但是CPPU能够快速上调石蒜鳞茎中细胞分裂标志因子*CycD*基因的表达。以上结果表明, GA₃通过负调控石蒜鳞茎中AGPase的转录水平, 抑制AGPase活性, 从而减缓鳞茎中淀粉积累过程, 最终抑制石蒜鳞茎的膨大, 而外施GA₃合成抑制剂能够解除这种抑制效应; 细胞分裂素能够通过加快石蒜鳞茎中细胞分裂进程来加速鳞茎的膨大, 而对淀粉合成酶相关基因的表达的调控可能是间接的。

关键词: 石蒜; 鳞茎膨大; 赤霉素; 细胞分裂素; 生理机制

石蒜(*Lycoris radiata*)是一种兼具药用和观赏价值的植物, 其鳞茎的需求量日益增大。然而, 石蒜鳞茎的自然膨大过程很慢, 这严重制约了石蒜产业的发展, 因此, 研究如何加速石蒜鳞茎的膨大将具有重要的意义。植物生长调节剂是调控植物生长发育的重要手段, 其在石蒜属植物鳞茎膨大中的研究也有相关报道。徐敏等(2013)发现施加1 mg·L⁻¹的萘乙酸(1-naphthylacetic acid, NAA)或5 mg·L⁻¹的苄氨基嘌呤(6-benzyl aminopurine, 6-BA)可促进红蓝石蒜(*L. haywardii*)种球球径增长, 魏绪英等(2013)则认为叶面喷施NAA会显著抑制地下鳞茎的膨大。另外, 肖郁绵等(2013)通过叶面喷施氯吡脒[forchlorfenuron, 1-(2-chloropyridin-4-yl)-3-phenylurea, CPPU]、氯化胆碱(choline chloride, CC)、水杨酸(salicylic acid, SA) 3种植物生长调节剂, 发现这3种植物生长调节剂对石蒜小鳞茎膨大均有一定促进作用, 其中CPPU处理后鳞茎膨大效果最佳, 而CPPU是一种人工合成的细胞分裂素(cytokinin, CK)。有研究认为, 成熟石蒜鳞茎中质量分数约40%的成分为淀粉(邵京2010), 石蒜属植物鳞茎膨大主要是鳞片叶的细胞膨大且其中贮藏大量营养物质的结果(王晓静2011)。Chang等(2013)发现在换锦花(*L. sprengeri*)种球膨大过程中淀粉粒积累明显, 淀粉和蔗糖含量逐渐上升, 鳞茎

主要以淀粉的形式储存营养物质, 这对于其后续的生长发育都是必要的。Ren等(2017)对外施CPPU后12周石蒜鳞茎的碳水化合物代谢规律做了研究, 发现外源CPPU处理对加速换锦花小鳞茎淀粉合成与积累、提高淀粉代谢相关酶活性水平均具有促进作用。赤霉素(gibberellin, GA)被认为具有抑制块茎膨大的作用, 在马铃薯(*Solanum tuberosum*)块茎膨大早期, 控制GA降解的基因表达上调, GA含量迅速降低, 从而促进块茎膨大(Roumeliotis等2012)。Zheng等(2012)发现对百合(*Lilium Oriental hybrids* ‘Sorbonne’)外施GA合成抑制剂多效唑(pacllobutrazol, PP333)后, 内源GA含量降低, 鳞茎养分迅速积累。然而, GA是否抑制石蒜鳞茎的膨大还未见相关报道, GA与CK在调控石蒜鳞茎膨大过程中的关系以及作用方式之间的差异还有待深入研究。本研究拟首先研究不同大小石蒜鳞茎中内源GA和CK含量的差异, 初步明确这两种激素与石蒜鳞茎大小的相关性; 其次通过外施激素的方式, 研究外施激素后鳞茎内源激素、淀

收稿 2018-12-21 修订 2019-06-12

资助 上海市科技兴农重点攻关项目[沪农科攻字(2016)第6-1-6号]和上海市市级农口青年人才成长计划[沪农青字(2018)第1-10号]。

* 通讯作者(saasflower@163.com)。

粉合成及代谢酶活性以及相关基因表达的变化,明确GA和CK对石蒜鳞茎膨大的调控作用及其生理机制,为利用激素等手段加速石蒜鳞茎的膨大提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在上海市农业科学院青浦白鹤试验基地石蒜种质资源圃进行。供试材料为石蒜 [*Lycoris radiata* (L'Her.) Herb.], 于2016年从南京中山植物园引进, 多为多年生开花种球。

试验一: 在2016~2017年期间, 以多年生开花鳞茎作为母球, 利用自然分球繁殖以及四分法切割后扦插繁殖的方式培育一批不同生育年龄的石蒜小鳞茎, 并栽植于一致的环境条件下, 进行一致的肥水管理。于2017年12月石蒜进入营养生长旺期后, 挖取不同大小的独立生长且未分球的石蒜鳞茎, 按照其平均直径由小到大分为4组(表1和图1), 每组取15个大小一致的种球(5个为1次重复, 设3次重复), 去叶, 去根, 去除鳞茎褐色皮膜, 清洗干净, 晾干后液氮速冻, -80°C 冻存, 待测内源激素测定。

试验二: 2018年2月选取直径为1.5 cm左右、大小一致未分球的石蒜种球, 移栽至直径约15 cm的塑料花盆中, 每个花盆4株。于2018年3月12日进行4种处理: (1)叶面喷施 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的CPPU溶液; (2)叶面喷施 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GA_3 溶液; (3)叶面喷施 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的PP333溶液(上述激素粉末均用少量甲醇

溶解后再用清水稀释); (4)对照处理(Co), 叶面喷施含与上述处理等量甲醇的清水, 喷施至叶面完全潮湿并向下滴水, 将多余的溶液浇灌基质。每种处理8盆共32株, 设3次重复。处理后0、24、48、72 h取样, 做相关基因表达和内源激素含量测定; 处理后0、3、5、7 d取样, 做营养物质含量及淀粉合成相关酶活性的检测。各处理各重复每次分别取3株, 样品处理方式与试验一相同, 液氮速冻后, -80°C 冻存。处理后10周(石蒜休眠期)挖取各处理石蒜鳞茎, 经处理后量取各处理石蒜鳞茎直径、围径, 并称取鲜重。

采用蒽酮比色法测定鳞茎可溶性总糖和淀粉含量, 淀粉合成酶活性测定主要参照程方民等(2001)的方法。

1.2 内源激素含量测定

石蒜鳞茎中内源玉米素核苷(zeatin riboside, ZR)、3-吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、 GA_3 的提取按照Dobrev和Kaminek (2002)的方法进行。内源激素的测定利用高效液相色谱法(HPLC)进行, 高效液相色谱仪型号为Agilent 1100, 流动相成分为

表1 各组材料相关信息

Table 1 Details of the materials

规格	种球直径/cm	种球围径/cm	种球鲜重/g
S1	0.63±0.05	2.74±0.18	0.54±0.08
S2	1.23±0.04	4.61±0.18	2.11±0.29
S3	1.92±0.05	6.79±0.18	5.76±0.32
S4	2.76±0.15	9.46±0.36	13.57±1.86



图1 不同大小的石蒜种球

Fig.1 *L. radiata* bulbs of different sizes

S1~S4表示按照由小到大排列得到的石蒜种球。

体积浓度0.1%的乙酸与甲醇体积比为6:4的溶液; 进样量10 μL , 流速0.8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 柱温30 $^{\circ}\text{C}$, 走样时间为40 min; 数据用Agilent公司软件进行分析。

1.3 石蒜鳞茎RNA的提取及反转录

使用TaKaRa公司的MiniBEST Plant RNA Extraction Kit (Code No. 9769)提取石蒜鳞茎中总RNA。RNA质量检测合格后, 按照PrimeScript RT Reagent Kit with gDNA Eraser试剂盒(TaKaRa, 大连)说明书进行反转录, 合成cDNA。

1.4 实时荧光定量PCR

按照TB Green Premix Ex Taq II (TaKaRa, 大连)试剂盒和ABI 7500荧光定量PCR仪进行实时荧光定量PCR (RT-PCR)反应, 以Actin基因作为内标基因, 各基因引物序列如表2所示, 所有样品设3次重复。

1.5 数据分析和作图

使用Excel软件进行数据处理和统计分析, 用SPSS 16.0软件进行差异显著性分析, 用Sigma Plot 12.5软件绘图。

2 实验结果

2.1 不同球茎大小石蒜鳞茎中内源激素含量的差异

随着石蒜鳞茎体积的增加, 内源GA₃含量逐渐降低, 表明GA与石蒜鳞茎的膨大呈负相关; 另外, 鳞茎中ZR含量呈现先升高后降低的趋势, 而IAA含量在整个过程中几乎保持不变(图2)。

2.2 外施激素对石蒜鳞茎膨大的影响

外施CPPU和PP333后10周, 石蒜鳞茎的直径、围径和鲜重相比对照均显著增加, 但这两种处理之间无显著差异(表3), 外施GA后石蒜鳞茎的大小与对照相比几乎不变。

2.3 外施激素对石蒜鳞茎内源激素含量的影响

我们对激素处理后石蒜鳞茎中3种内源激素含量的变化进行了测定(图3), 发现CPPU和PP333处理明显提高了内源ZR的含量, 且CPPU处理后ZR含量增加的幅度要高于PP333处理, GA处理后内源ZR的含量明显降低。内源GA₃含量的变化规律与ZR不同, 3种处理都明显降低了石蒜鳞茎内源GA₃的含量, 且PP333处理对GA₃含量的影响比CPPU处理更为明显, 而GA处理对内源GA₃含量的影响可能由反馈调节作用所引起。对内源IAA含量的变化分析发现, 3种激素处理下内源IAA含量均无明显变化, 表明IAA在石蒜鳞茎膨大过程中的作用较小。

2.4 外施激素对石蒜鳞茎营养物质含量及淀粉合成相关酶活性的影响

CPPU和PP333处理提高了石蒜鳞茎中淀粉的含量, 在处理5 d即与对照相比差异明显, 但两种处理之间无明显差异; 外源GA处理7 d后石蒜鳞茎中淀粉含量急剧下降, 表明GA处理能够抑制石蒜鳞茎中淀粉含量的积累。随着处理时间的增加, CPPU处理下的鳞茎中可溶性糖含量在处理7 d达到最高, 明显高于PP333处理和对照, GA处理的最低(图4)。

通过对鳞茎中淀粉合成关键酶腺苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(ADP-glucose pyrophosphorylase, AGPase)以及可溶性淀粉合成酶(soluble starch synthase, SS)的活性进行检测, 发现PP333和CPPU处理都能明显提高鳞茎中AGPase和SS的活性, 而GA处理在一定程度上抑制了这两种酶的活性(图5)。

2.5 外施激素对石蒜鳞茎淀粉合成酶相关基因表达的影响

对处理后72 h内石蒜鳞茎中编码AGPase大小

表2 RT-PCR分析所用引物信息

Table 2 Primers used for RT-PCR analysis

基因名称	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')
<i>LrSS1</i>	CCCAGTCCTTCTTGGTGCAA	CCCATTTCGAGAGCCCATAAC
<i>LrSS2</i>	GGTTGCTCGCAAAACGAAC	GCTCGACGCACATCATCAAC
<i>LrAGPL1</i>	ATCACCGTCAAAGTGGTGCT	GCCTCTTCTCTTGACGACCC
<i>LrAGPS1</i>	TTCGGACTCCAAGAACTCGC	AGCTCCTAAAGGAACCGCTG
<i>LrCycD3-1</i>	GCCGCTGTTGCACTAGTTTC	CCCATAGGACTTTGTGGCA
<i>LrCycD3-3</i>	AACTGAGCTCTCTCTCCCT	TGTGATCCACTGCACCGATT
<i>Actin</i>	CATCCCTCAGCACCTTCCAG	CTGGGATGCAAAAACCGCC

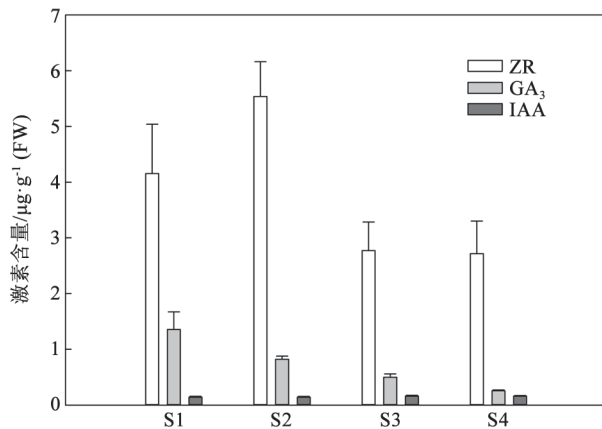


图2 石蒜鳞茎膨大过程中内源激素含量的变化
Fig.2 Changes in endogenous hormone contents in *L. radiata* bulbs of different sizes

表3 外施激素处理10周对石蒜小鳞茎膨大的影响
Table 3 Effect of exogenous hormone application on the development of *L. radiata* bulbs 10 weeks after treatments

处理	种球直径/cm	种球围径/cm	种球鲜重/g
Co	1.66±0.07 ^b	5.97±0.20 ^b	4.30±0.32 ^c
CPPU	1.86±0.04 ^a	6.41±0.16 ^a	5.04±0.29 ^b
PP333	1.85±0.08 ^a	6.55±0.18 ^a	5.44±0.45 ^a
GA	1.62±0.05 ^b	5.89±0.24 ^b	4.27±0.27 ^c

同一指标数据用不同小写字母标识表示差异显著($P<0.05$)。

亚基基因 $AGPL1$ 和 $AGPS1$ 以及编码SS的两个基因的表达水平进行了检测(图6),发现外源PP333和GA能够分别促进和抑制石蒜鳞茎中 $AGPL1$ 和 $AGPS1$ 基因的表达,且对这两个基因的调控作用较为迅速,在处理后24 h就能较明显地观察到;CPPU处理对石蒜 $AGPL1$ 和 $AGPS1$ 基因的表达也有一定的促进作用,但这种作用较PP333处理较为延迟,在处理后72 h才能观察到明显的变化。另外,外施PP333也能在一定程度上促进两个SS基因的表达,但对这两个基因表达的影响不如 $AGPL1$ 和 $AGPS1$ 基因明显,外施CPPU后SS基因的表达模式与 $AGPL1$ 和 $AGPS1$ 基因较为一致。

2.6 外施激素对石蒜鳞茎细胞分裂标志因子CycD基因表达的影响

除了鳞茎中碳水化合物的积累外,石蒜鳞茎的膨大也由细胞分裂的速率所调控。D型细胞周

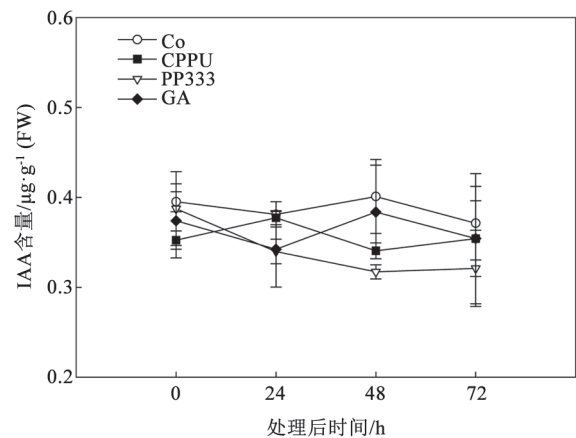
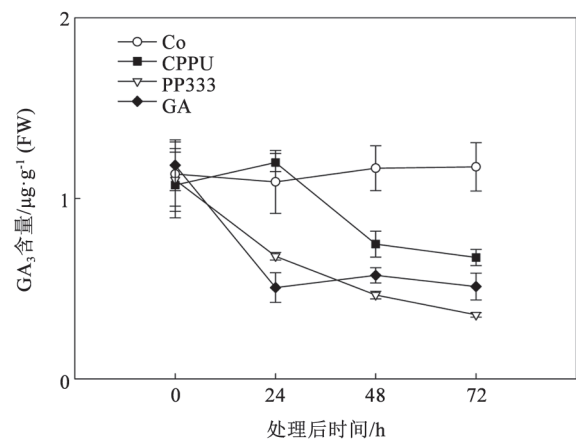
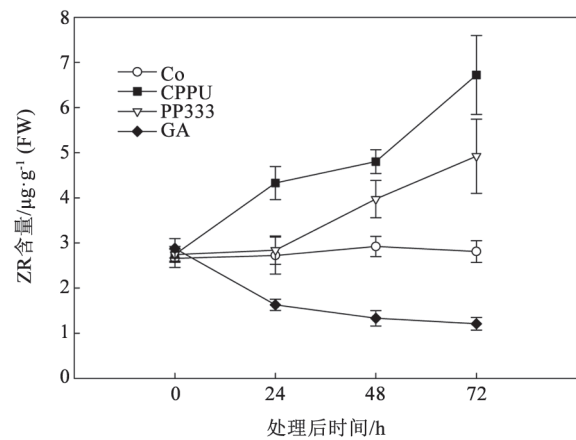


图3 外施激素对石蒜鳞茎内源激素含量的影响
Fig.3 Effect of exogenous hormone application on endogenous hormone contents in *L. radiata* bulbs

期蛋白(cyclin D, CycD)控制细胞分裂中G1期向S期的转变(Francis 2007),并调控细胞周期进程(Nagata和Saitou 2009)。CycD的转录水平可以被用作

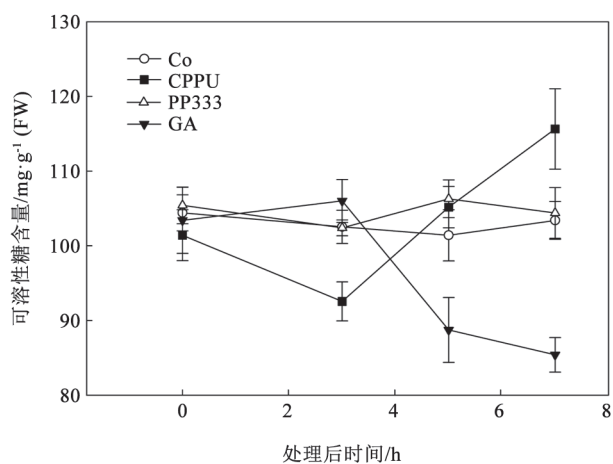
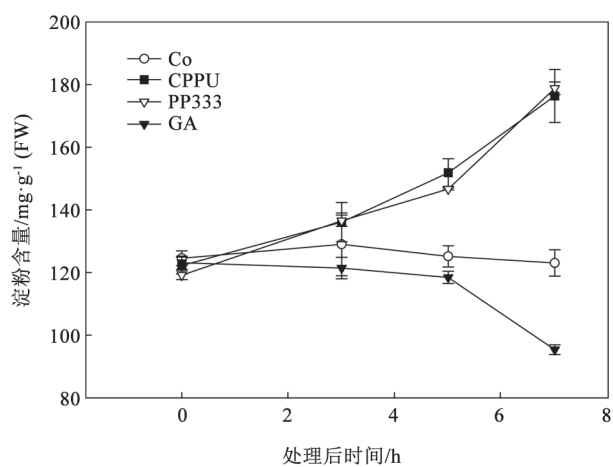


图4 外施激素对石蒜鳞茎淀粉和可溶性糖含量的影响

Fig.4 Effect of exogenous hormone application on starch and soluble sugar contents in *L. radiata* bulbs

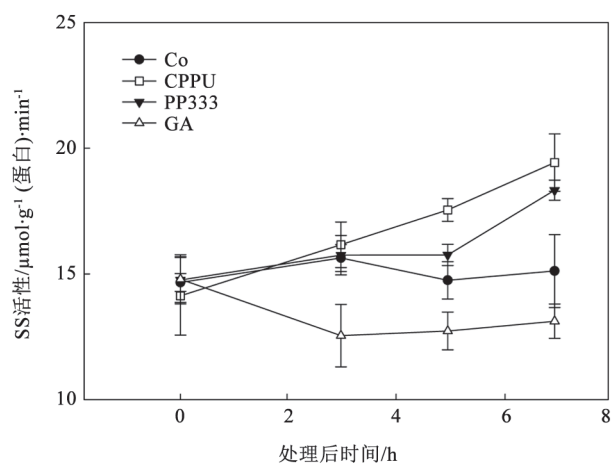
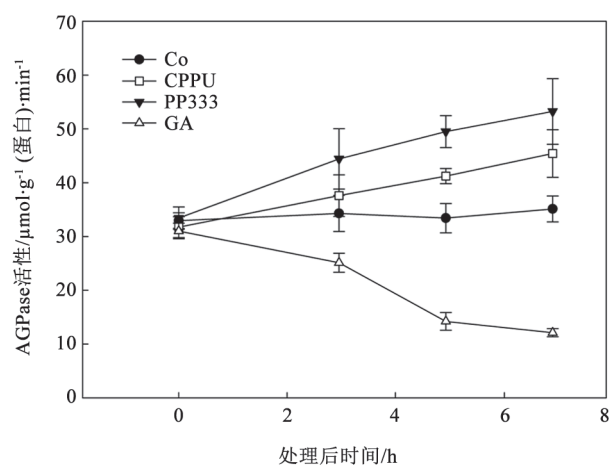


图5 外施激素对石蒜鳞茎淀粉合成相关酶活性的影响

Fig.5 Effect of exogenous hormone application on activities of starch synthesis-related enzymes in *L. radiata* bulbs

细胞分裂活动的标志因子。

对激素处理后石蒜鳞茎中两个*CycD*基因表达的变化进行了检测(图7),发现外源CPPU处理促进了这两个基因的表达,且这种促进效应较为迅速,在处理24 h后就很明显;PP333处理48 h后*CycD*基因的表达量略有增加,但相比CPPU处理来说并不明显。

3 讨论

外施GA合成抑制剂PP333后,内源GA₃含量迅速降低,使石蒜鳞茎较为快速地膨大,这表明GA能够抑制石蒜鳞茎的膨大,这与在块茎类植物马铃薯中的研究结果较为一致(Roumeliotis等2012;

Cheng等2017)。CK能够促进石蒜鳞茎的膨大,外施CK类似物CPPU后,石蒜鳞茎中内源ZR和GA₃含量分别增加和降低,最终发挥作用使鳞茎膨大。

有研究表明,外源CPPU和PP333都能够通过调控植物鳞茎中碳水化合物的积累来加速鳞茎的膨大(Ren等2017; Zheng等2012)。即使在离体培养条件下,外施PP333都能促进百合鳞茎中可溶性糖和淀粉含量的增加,这可能是由于PP333能够限制地上部的营养生长,减少光合产物的消耗(Wu等2019)。在本试验石蒜中的研究结果与此相同,外施CPPU和PP333能够较快地促进石蒜鳞茎中可溶性糖和淀粉的积累,而GA对鳞茎中碳水化合物的积累有抑制作用,这些作用可能是通过调控鳞茎中淀

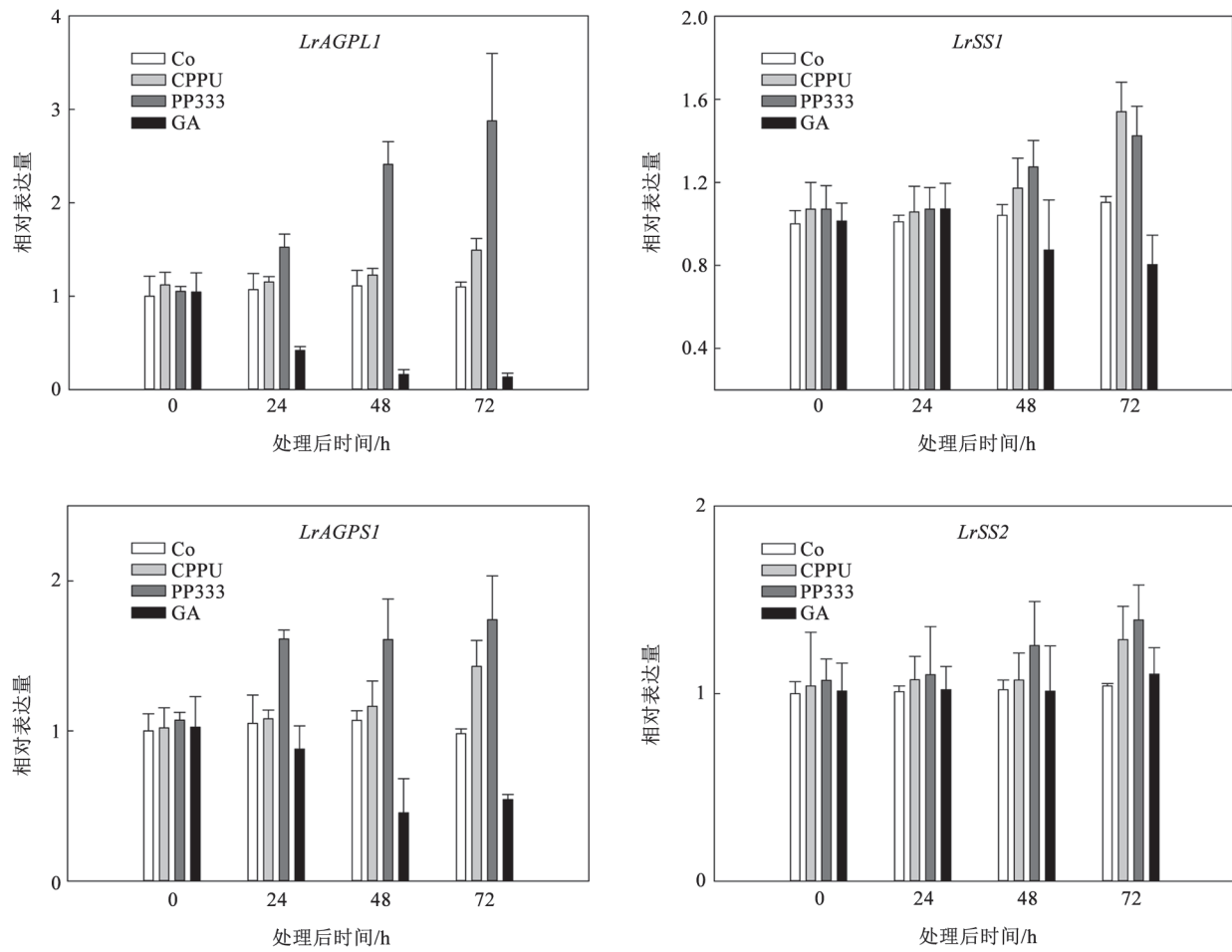


图6 外施激素对石蒜鳞茎淀粉合成相关基因表达的影响

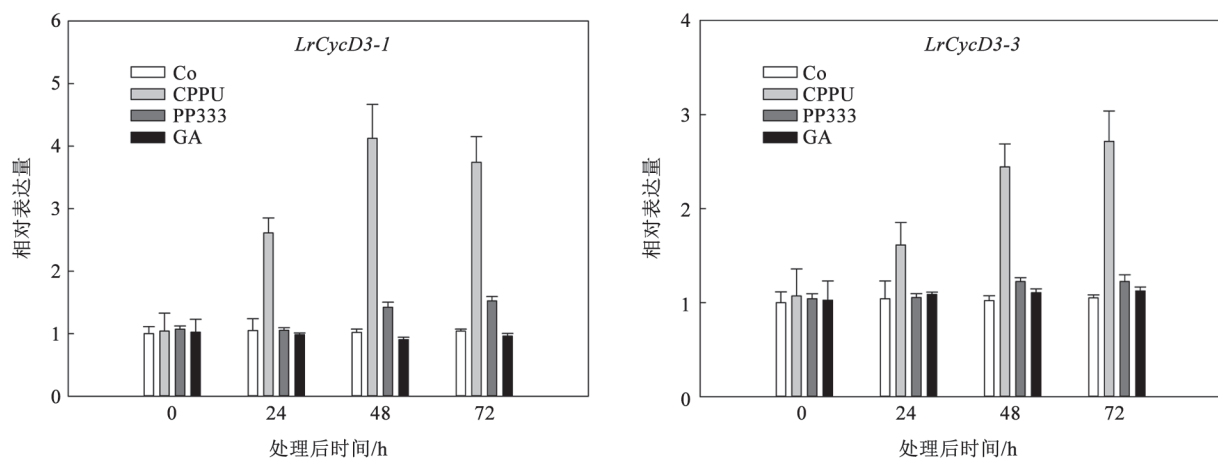
Fig.6 Effect of exogenous hormone application on the expression of starch synthesis-related genes in *L. radiata* bulbs

图7 外施激素对CycD基因表达的影响

Fig.7 Effect of exogenous hormone application on the expression of *CycD* genes in *L. radiata* bulbs

粉合成关键酶AGPase和SS的活性来实现的。

然而, GA和PP333对AGPase酶活性的调控作用要强于SS, GA和PP333处理下编码AGPase大小亚基和SS的基因的表达变化也证明了上述观点。AGPase是淀粉合成的关键酶, 它催化淀粉合成的第一步关键反应(Nakkanong等2012)。在粮食作物玉米(*Zea mays*) (Li等2011)、小麦(*Triticum aestivum*) (Kang等2013)中, 过表达AGPase大小亚基基因能够增强AGPase的活性, 并最终提高粒重和籽粒中淀粉含量, 另外在块根类植物马铃薯中也有相关报道(Lytovchenko等2002)。GA可能通过抑制淀粉合成关键酶AGPase相关基因的表达, 抑制AGPase的活性, 最终干扰淀粉的合成, 施加GA合成抑制剂后内源GA含量降低, 能够缓解GA对淀粉合成的抑制效应。在其他植物中也有一些报道证明上述观点, Cheng等(2017)发现外施GA₃能够抑制马铃薯块茎的形成, 且这种抑制效应随着GA₃浓度的增加而增强。另外, Cheng等(2017)对GA处理的马铃薯块茎做蛋白组学研究, 发现外源GA能够显著抑制AGPase蛋白的表达。Liu等(2015)对生物能源作物浮萍(*Landoltia punctata*)进行外施GA合成抑制剂烯效唑处理, 发现烯效唑显著促进了浮萍中淀粉的积累, 且烯效唑处理后较短时间内AGPase相关基因的表达和酶活性都显著升高, 这可能是因为烯效唑抑制了植物体内GA的合成, 造成内源GA含量降低, 解除了GA对AGPase相关基因表达的抑制作用, 这与我们在本试验石蒜中的研究相一致。

外源CPPU也能够明显促进石蒜鳞茎中AGPase和SS的活性, 但对这两种酶活性的调控作用并不如PP333处理差异明显, 另外, CPPU对AGPase活性的促进效应也并没有PP333处理明显。对CPPU处理后AGPase和SS相关基因的表达变化进行检测后, 发现CPPU并不像PP333和GA那样能够迅速诱导AGPase大小亚基基因的表达变化, 在处理72 h才能观察到这两个基因表达量较为明显的升高, 这表明CPPU早期可能并不是通过上调淀粉合成酶基因的表达来发挥作用的。在红薯(*Ipomoea batatas*)中也有相似的结果, Nagata和Saitou (2009)对红薯进行外源6-BA和蔗糖处理, 在处理24 h检

测AGPase相关基因的表达变化, 发现外源6-BA对红薯块茎中AGPase相关基因的表达无显著影响, 而蔗糖处理能够显著提高AGPase相关基因的表达。有研究认为, CPPU是一类活性很强的细胞分裂素, 具有促进光合作用、加速细胞分裂的生理作用(高金山等2006)。夏中梅等(2000)认为CPPU促进苦瓜(*Momordica charantia*)果实膨大是由于细胞数目增多和体积增大。我们对各处理下石蒜鳞茎中细胞分裂标志因子CycD基因的表达变化进行了检测, 发现外源CPPU明显促进CycD基因的表达, 且这种促进效应较为迅速, 这与Nagata和Saitou (2009)的研究结果类似。我们推测CPPU可能是通过加快石蒜鳞茎中细胞分裂进程, 加快可溶性糖等光合产物向鳞茎的转移来促进鳞茎的膨大, 后续鳞茎中淀粉合成酶活性的增强可能并非细胞分裂素直接诱导。

综上所述, GA和CPPU调控石蒜鳞茎膨大的路径不同, GA能够通过负调控石蒜鳞茎中淀粉合成关键酶AGPase的转录水平, 抑制AGPase酶的活性, 从而减缓鳞茎中淀粉积累过程, 最终抑制石蒜鳞茎的膨大, 而外施GA合成抑制剂PP333能够解除GA的这种抑制效应; CPPU能够通过加快石蒜鳞茎中细胞分裂进程来加速鳞茎的膨大, 而对淀粉合成酶相关基因的表达的调控作用可能是间接的。

参考文献(References)

- Chang L, Xiao YM, She LF, et al (2013). Analysis of gene expression and enzyme activities related to starch metabolism in *Lycoris sprengeri* bulbs of different sizes. *Sci Hortic*, 161: 118–124
- Cheng FM, Jiang DA, Wu P, et al (2001). The dynamic change of starch synthesis enzymes during the grain filling stage and effects of temperature upon it. *Acta Agron Sin*, 27 (2): 201–206 (in Chinese with English abstract) [程方民, 蒋德安, 吴平等(2001). 早籼稻籽粒灌浆过程中淀粉合成酶的变化及温度效应特征. *作物学报*, 27 (2): 201–206]
- Cheng L, Wang Y, Liu Y, et al (2017). Comparative proteomics illustrates the molecular mechanism of potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization inhibited by exogenous gibberellins in vitro. *Physiol Plantarum*, 163 (1): 103–123
- Dobrev PI, Kamínek M (2002). Fast and efficient separation of cytokinins from auxin and abscisic acid and their purification using mixed-mode solid-phase extraction. *J Chromatogr A*, 950: 21–29

- Francis D (2007). The plant cell cycle – 15 years on. *New Phytol*, 174 (2): 261–278
- Gao JS, Bian QH, Zhang YZ, et al (2006). Research progress on the cytokinin, CPPU. *Agrochemicals*, 45 (3): 151–154 (in Chinese with English abstract) [高金山, 边庆华, 张永忠等(2006). 细胞分裂素CPPU的研究进展. *农药*, 45 (3): 151–154]
- Kang G, Liu G, Peng X, et al (2013). Increasing the starch content and grain weight of common wheat by overexpression of the cytosolic AGPase large subunit gene. *Plant Physiol Bioch*, 73: 93–98
- Li N, Zhang S, Zhao Y, et al (2011). Over-expression of AGPase genes enhances seed weight and starch content in transgenic maize. *Planta*, 233 (2): 241–250
- Liu Y, Fang Y, Huang M, et al (2015). Uniconazole-induced starch accumulation in the bioenergy crop duckweed (*Landoltia punctata*) II: transcriptome alterations of pathways involved in carbohydrate metabolism and endogenous hormone crosstalk. *Biotechnol Biofuels*, 8: 64
- Lytovchenko A, Bieberich K, Willmitzer L, et al (2002). Carbon assimilation and metabolism in potato leaves deficient in plastidial phosphoglucomutase. *Planta*, 215 (5): 802–811
- Nagata T, Saitou K (2009). Regulation of expression of D3-type cyclins and ADP-glucose pyrophosphorylase genes by sugar, cytokinin and ABA in sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.). *Plant Prod Sci*, 12 (4): 434–442
- Nakkanong K, Yang JH, Zhang MF (2012). Starch accumulation and starch related genes expression in novel inter-specific in bred squash line and their parents during fruit development. *Sci Hort*, 136: 1–8
- Ren Z, Xia Y, She L, et al (2017). Biochemical and physiological responses of *Lycoris sprengeri* bulblets (Amaryllidaceae) to exogenously applied N-(2-chloro-4-pyridyl)-N1-phenylurea (CPPU). *Pak J Bot*, 49 (4): 1415–1421
- Roumeliotis E, Visser RGF, Bachem CWB (2012). A crosstalk of auxin and GA during tuber development. *Plant Signal Behav*, 7 (10): 1360–1363
- Shao J (2010). Basic study on accumulation and utilization of starch in bulbs of *Lycoris* (dissertation). Nanjing: Nanjing Forestry University (in Chinese with English abstract) [邵京(2010). 石蒜鳞茎中淀粉的积累规律与应用基础研究(学位论文). 南京: 南京林业大学]
- Wang X (2011). Study on accumulation of starch and growth of *Lycoris chinensis* Traub bulbs (dissertation). Nanjing Forestry University (in Chinese with English abstract) [王晓静(2011). 中国石蒜淀粉积累与鳞茎生长的关系研究(学位论文). 南京: 南京林业大学]
- Wei XY, Cai JH, Chen SF (2013). Effects of foliar-spraying plant growth regulator on the growth of *Lycoris radiata*. *Guangdong Agr Sci*, (24): 22–25 (in Chinese with English abstract) [魏绪英, 蔡军火, 陈淑芬(2013). 叶面喷施植物生长调节剂对石蒜生长的影响. *广东农业科学*, (24): 22–25]
- Wu Y, Sun MY, Zhang JP, et al (2019). Differential effects of Paclobutrazol on the bulblet growth of oriental lily cultured in vitro: growth behavior, carbohydrate metabolism, and antioxidant capacity. *J Plant Growth Regul*, 38 (2): 359–372
- Xia ZM, Hou Y, Zeng XB, et al (2000). The effect of CPPU on fruit growth of *Momordica charantia* L. *Southwest China J Agr Sci*, 2000, 13 (3): 77–83. (in Chinese with English abstract) [夏中梅, 侯勇, 曾显斌等(2000). CPPU对苦瓜果实生长的影响及其机理. *西南农业学报*, 13 (3): 77–83]
- Xiao YM, She LF, Chang L, et al (2013). Effect of three plant growth regulators on the bulblets development of *Lycoris radiata*. *J Nucl Agr Sci*, 27 (9): 1409–1415 (in Chinese with English abstract) [肖郁绵, 余琳芳, 常乐等(2013). 三种植物生长调节剂对石蒜小鳞茎发育的影响. *核农学报*, 27 (9): 1409–1415]
- Xu M, Wang SM, Zhou H, et al (2013). Effects of plant regulators NAA and 6-BA on bulb growth and endogenous hormone content of *Lycoris haywardii*. *Acta Agr Zhejiangensis*, 25 (4): 768–771 (in Chinese with English abstract) [徐敏, 汪少敏, 周虹等(2013). 植物生长调节剂NAA和6-BA对红蓝石蒜种球营养生长及内源激素的影响. *浙江农业学报*, 25 (4): 768–771]
- Zheng RR, Wu Y, Xia YP (2012). Chlorocholine chloride and paclobutrazol treatments promote carbohydrate accumulation in bulbs of *Lilium* Oriental hybrids ‘Sorbonne’. *J Zhejiang Univ Sci B Biomed Biotechnol*, 13 (2): 136–144

The effect and the physiological mechanism of gibberellin and cytokinin on the regulation of *Lycoris radiata* bulb development

XU Jun-Xu, LI Qing-Zhu, YANG Liu-Yan, LI Xin, WANG Zhen, YANG Zhen, ZHANG Yong-Chun*

Forestry and Pomology Research Institute, Shanghai Academy of Agriculture Sciences, Shanghai 201403, China

Abstract: The slow growth of *Lycoris radiata* bulbs under natural conditions seriously restricts the development of the *L. radiata* industry, and the application of exogenous hormones is an efficient way to accelerate the bulb enlargement. In our study, a cytokinin analogue 1-(2-chloropyridin-4-yl)-3-phenylurea (CPPU), gibberellin acid (GA), and a GA synthesis inhibitor PP333 were used to regulate the development of *L. radiata* bulbs. After the application of exogenous CPPU and PP333, endogenous ZR and GA₃ contents were increased and decreased, respectively, and the accumulation rate of carbohydrates in the bulbs was increased, which accelerated the enlargement of *L. radiata* bulbs. In addition, GA and PP333 application could induce a quick reduction and increase of the expression levels of *LrAGPL1* and *LrAGPS1* genes which encode AGPase subunits, respectively, while CPPU had a relatively slow regulatory effect on the expression of starch synthesis-related genes, however, CPPU could quickly increase the expression of *CycD* genes which were indicators of the cell division activity. In conclusion, GA could inhibit the activity of AGPase by negatively regulating the transcription level of AGPase in *L. radiata* bulbs, resulting in a slow starch accumulation and growth in bulbs, and the application of GA synthetic inhibitor can relieve this inhibitory effect. Cytokinin can accelerate the enlargement of bulbs by promoting the cell division process, and the regulatory effect of cytokinin on the expression of starch synthase-related genes may be indirect.

Key words: *Lycoris radiata*; bulb development; gibberellin; cytokinin; physiological mechanism

Received 2018-12-21 Accepted 2019-06-12

This work was supported by the Shanghai Agriculture Applied Technology Development Program (G2016060106), and the Youth Talent Development Plan of Shanghai Municipal Agricultural System (20180110).

*Corresponding author (saasflower@163.com).