

杉木花芽分化过程中含氮化合物 和内源激素的作用*

管康林 严逸伦 郑炳松

(浙江林学院, 临安 311300)

摘 要 杉木雄球花芽分化中前期核酸含量比雌球花芽和叶芽高17%~33%, 后期雄的下降而雌的上升。RNA/DNA 前期为2~3, 后期为5~6。初期花芽的蛋白质含量与叶芽相近, 随后增加。花芽中有16种氨基酸, 脯氨酸与花芽分化关系密切。雄球花芽发生赤霉素(GA_3)水平很高而脱落酸(ABA)很低。雌球花芽的 GA_3 稍低于叶芽而ABA相近。开花时的雌球花ABA显著减少而雄球花ABA、吲哚乙酸(IAA)上升, GA_3 下降。花芽中玉米素(ZT)变化平稳, 仅略高于叶芽。文章讨论了花芽分化与各类含氮物质及其内源激素的生理作用。

关键词 杉木; 种子园; 花芽分化; 核酸蛋白; 氨基酸; 植物激素

中图分类号 S718.43; S791.270.4

我国杉木(*Cunninghamia lanceolata*)种子园始建于60~70年代, 被称为初级种子园。到80年代, 从初级种子园亲本群体中筛选双优无性系, 建立了新1代(即1.5代)种子园。杉木种子园的一般开花结实特性, 良种选育, 经营管理与球果、籽粒产量关系已有许多报道^[1,2]。

近来, 对杉木球果的涩粒形成和物质转化方面的工作有所开展^[4~6], 而开花生理还很少研究。本文在前文基础上^[7], 就雌雄花芽分化过程中的核酸(DNA, RNA)、蛋白质、氨基酸和内源激素〔赤霉素(GA_3)、玉米素(ZT)、吲哚乙酸(IAA)和脱落酸(ABA)〕的含量变化进行了测定, 并与叶芽相比较, 以揭示成花的含氮物质与调节物质的生理作用。

1 材料与方法

1.1 研究材料

横畈林场1.5代杉木种子园为浙江省林业厅试验点, 1984~1986年定砧嫁接, 栽植密度为825株· hm^{-2} , 有69个无性系, 现已进入盛花期。其中, 选出高、中、低产3类无性系(49号、60号、47号、61号和33号)代表株进行生育特性观察和有关生理生化取样分析(1993~1995年)。核酸、蛋白质、氨基酸和内源激素分析的取样日期是在8月至翌年3月, 计4~5次。取样部位是树冠中下部侧枝的同级花芽与叶芽。5~10月对幼果和上下部的新生芽也进行相应

收稿日期, 1995-10-25; 修改稿收到日期, 1996-04-01

*浙江省科委资助项目

芽总数达1000号-6 000年叶
正常叶芽雌花芽雄花芽; 3.
%在个, 其中有雄花70%
f budger and photograph of lea
树冠的中 雌雄花 雄花 在
/雄比为分 布在 下 有 雌
f male 雌花 雄花 雄花 雌花
小年除 雄花 雌花 雄花 雌花
花芽的%例 雌雄 雌雄 雌雄
A 和 RNA 含量 分化 与 DN
雌雄花 雌雄花 雌雄花 雌雄花

芽核酸在小孢子囊形成时有个高峰,其含量比雌的高17.0%,比叶芽高33.0%。这可能与雄球花芽冬前迅速增大分化有关。雌球花芽分化中前期体积增大缓慢,核酸含量只比叶芽高12.8%,直到开花含量变化平稳。雄球花芽开放时核酸明显降低。这时花粉粒成熟,虽有高的蛋白质成分,但小孢子囊的其他组织已瓦解。在雌雄两类花芽分化中前期, RNA/DNA 为2~3;在分化后期,由于DNA减少, RNA/DNA 增到5~6。这意味着RNA仍有高的转录水平,以加速蛋白质合成。

表1 花芽分化过程中的核酸、DNA和RNA含量(FW)

Table 1 Contents of DNA, RNA during differentiation of flower buds $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

样品	日期	总核酸	DNA	RNA	RNA/DNA
雄花芽	08-18	2.541	0.670	1.871	3.08
	10-06	3.240	0.897	2.343	2.61
	11-03	2.884	0.714	2.130	2.98
	11-23	3.545	1.095	2.450	2.23
	02-22	1.714	0.268	1.457	5.07
雌花芽	10-06	2.918	0.889	2.029	2.28
	11-03	2.670	0.774	1.896	2.44
	11-23	2.614	0.827	1.787	2.16
	02-22	2.776	0.380	2.396	6.30
叶芽	08-18	2.314	0.789	1.525	1.93
	10-06	2.448	0.846	1.642	1.94
	11-03	2.511	0.985	1.526	1.55
	11-23	2.310	0.622	1.718	2.76
	02-22	2.040	0.311	1.729	5.55

2.3 花芽分化与蛋白质含量

花芽分化过程中,对雌雄球花芽及其着生的枝条和叶芽的蛋白质含量进行了比较观察。从表2结果可以看到,雄球花芽初始蛋白质含量与叶芽相近,而当进入分化中期含量显著上升。这意味着花器官分化促进蛋白

表2 花芽分化过程中的蛋白质含量变化(FW)

Table 2 Contents of protein during differentiation of flower buds $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

样品	取样日期(1993~1994)				
	08-18	10-06	11-03	11-23	02-22
雄花芽	114.2	130.6	147.2	243.4	133.5
雌花芽		118.2	146.5	150.1	161.4
小叶芽	101.1	99.6		124.9	
正常叶芽	117.4	107.5	173.5	176.7	195.8
雄枝茎叶		122.1	191.9		248.9
雌枝茎叶		158.9	211.4		257.5

质的迅速合成。开花时,花粉粒形成,小孢子囊组织衰老,总蛋白质水平下降。

雌球花芽自10月形成后,蛋白质含量逐步提高直到开花。小叶芽与正常叶芽外观不同,芽体小,周围保护叶片稀少(图1),其蛋白质含量亦较低(表2)。正常叶芽在夏秋生长季节,蛋白质合成与利用似乎处于平衡状态(鲜重107~117 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$),冬季(11~2月)含量提高,可视为氮素以有机氮形式积累,有利于抗寒。茎叶中的蛋白质冬季较之秋季亦有明显增加。

2.4 花芽分化与氨基酸代谢

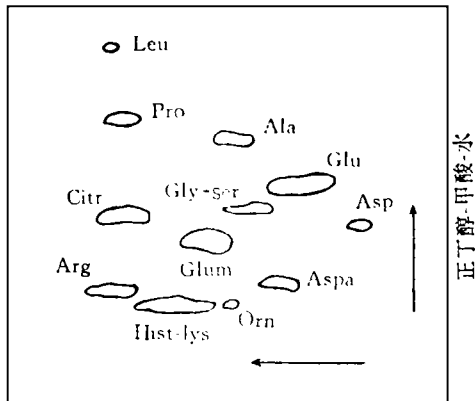
杉木营养枝和生殖枝在3~4月可鉴定的游离氨基酸有23种,总含量达0.15%~0.20%。花芽和叶芽中的氨基酸含量较茎叶低些,可鉴定成分有16种,其主要氨基酸见表3和图2。结果表明各组织中以谷氨酸、丙氨酸和瓜氨酸含量最高。花芽中脯氨酸和精氨酸含量比叶芽分别高4倍和2倍。冬季芽枝中的瓜氨酸、精氨酸、谷酰胺和天酰胺均有不同程度的积累。图2为雌球花芽(11月20日)的氨基酸双向层析谱。花芽中脯氨酸的高含量与作用是引人注意的。我们在2月初用牛皮纸袋遮住整个雌雄球花枝直到3月下旬揭开见光,则导致雌雄球花的脯氨酸水平显著减少而花粉粒丧失活力,雌球花不能授精发育。

表 3 花芽和叶芽中的某些氨基酸含量(FW)

Table 3 Some amino acid contents in flower buds and leaf buds

 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

样品与日期	亮氨酸	丙氨酸	谷氨酸	脯氨酸	瓜氨酸	精氨酸	谷酰胺	天酰胺
雄花芽	10-06	90	179	310	307	135	186	129
	11-20	110	256	375	410	205	370	648
雌花芽	10-06	95	210	280	342	225	177	204
	11-20	112	351	425	484	450	356	620
叶芽	10-06	93	112	262	90	92	80	140
	11-20	120	330	390	96	184	160	284
茎叶	10-06	130	405	356	105	291	110	332
	11-20	160	454	713	130	448	220	416



酚-水

图 2 雌花芽氨基酸双向层析谱
Fig. 2 Amino acid chromatograph of female flower buds

2.5 花芽分化与内源激素的关系

图 3 表明雄球花芽分化过程中的 GA_3 水平很高, 特别在分化初期, 鲜重含 $50\sim 90\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 随后下降。然而, 10月叶芽 GA_3 含量[要比5月新生叶芽为高。这似乎表明高含量的 GA_3 不是新生芽所需而与生长季节和年龄有关。雌球花芽分化初期 GA_3 含量比叶芽稍低而后则更低。叶芽中 ABA 含量在秋冬季较高, 鲜重达 $2\sim 3\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 5月生长期减少, 至7~8月生长间息期又上升。雄球花芽分化初期 ABA 水平很低, 少于 $1\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在小孢子囊分化后开始上升直到开花前出现1个高峰, 约增加8倍。这可能与花粉粒休眠有关。雌球花芽与之相

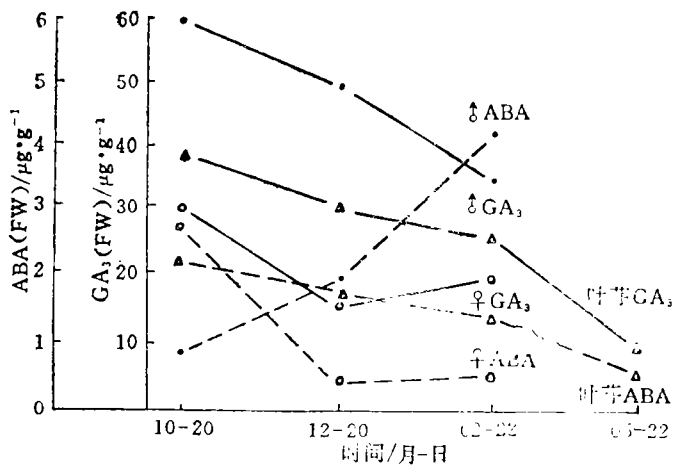


图 3 花芽分化过程中的 GA_3 和 ABA 含量变化

Fig. 3 Changes of GA_3 , ABA contents during differentiation of female and male flower buds

反,分化初期,ABA水平与叶芽相近,中后期明显降低。

从图4看到雄球花芽分化初期ZT含量要比叶芽高得多而IAA很低。在分化后期ZT有所下降而IAA却迅速上升。雌球花芽分化过程的ZT稍高于叶芽,而IAA相近且变化平稳。

2.6 不同无性系花芽和上下部位叶芽的内源激素含量

对不同无性系之间的花芽分化与内源激素差异进行了比较观察。60号属高产无性系,61号中产,33号偏雄性。表4表明,它们在雄球花芽分化中期,GA₃,ZT,IAA和ABA的含

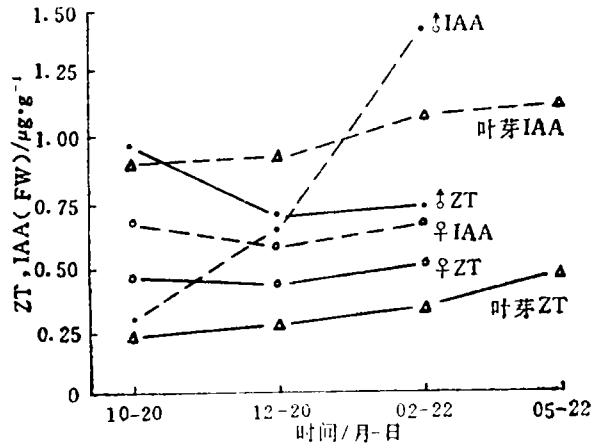


图4 花芽分化过程中的ZT和IAA含量变化

Fig. 4 Changes of ZT, IAA contents during differentiation female and male flower buds

表4 3个无性系株花芽和叶芽内源激素的含量(FW)

Table 4 Contents of endogenous hormones in cone bud and leaf bud for three clones

无性系	样品	GA ₃		ZT		IAA		ABA	
		12-20	05-22	12-20	05-22	12-20	05-22	12-20	05-22
33号	叶芽	40.17	14.4	0.44	0.93	1.37	1.11	2.24	0.92
	雄花芽	58.36		0.73		0.43		3.88	
60号	叶芽	31.80	6.5	0.18	0.34	0.61	0.78	1.18	0.73
	雄花芽	63.00		0.48		0.37		3.03	
61号	叶芽	37.02	8.4	0.15	0.45	0.46	1.20	2.05	11.0
	雄花芽	46.53		0.36		0.30		1.88	

量有些差异。雄球花芽的GA₃和ZT要比叶芽高而叶芽的IAA比花芽高,ABA与花芽相近。在5~6月,新生叶芽GA₃减少,ZT增加,其中,33号雄性株的GA₃和ZT要比60号和61号高。这是否与33号的3级侧枝短小健壮,有更强的生长势有关。

杉木雌雄球花芽在树冠上的分布有明显的分层现象,即雌的主要分布在中上部而雄的分布于中下部。当然,少数侧枝同时着生雌雄球花芽。它们是否受到内源激素的差异调节呢?从表5结果看,33号的上部和下部叶芽的GA₃和ZT含量要比60号和61号高,而61号含量又高于60号,其中,33号和61号的上部GA₃高于下部;其他3类激素亦有差异。这是5月的新生枝的叶芽。而10月成长枝的上下部叶芽的GA₃和ABA含量均有明显增加,但上下部位之间差异甚少。

3 讨论

3.1 雌雄球花芽在树冠层的发生时间与分布

表 5 上下部侧枝新生芽的内源激素含量(FW)
Table 5 Contents of endogenous hormones in shoot buds for upper and below canopy

无性系	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$							
	GA_3		ZT		IAA		ABA	
	上部芽	下部芽	上部芽	下部芽	上部芽	下部芽	上部芽	下部芽
33	14.4	9.69	0.97	1.14	1.11	1.73	0.92	1.38
60	6.52	6.74	0.36	0.32	0.78	0.48	0.70	0.77
61	11.34	5.47	0.45	0.59	1.20	1.08	0.73	1.37

杉木顶端生长保持优势。它的侧枝叶芽发生在花后 5~9 月间, 经过营养生长, 于 7~9 月大多停息, 一部分先转化为雄球花芽, 另一部分后转化为雌球花芽。雄的分布在树冠中下部而雌的则在中上部。这种雌雄球花芽的树冠分层分布是否受到内源激素的梯度差异调节呢? 我们的初步观察还不能得出肯定的结论。再者, 雌球花芽比雄球花芽在时间上迟出现 2 个月, 这里是否受到一种光温周期的影响? 即雌球花芽原基的形成需要短日照和较低温度, 也有待今后去论证。

3.2 花芽分化的物质基础

杉木花芽分化时核酸含量高于叶芽。花芽分化中前期 RNA/DNA 为 2~3, 而后期为 5~6, 这在某种程度上反映了 DNA 复制和 RNA 转录水平的变化。蛋白质合成与含量和核酸变化有一定相关性, 但并不是完全相一致的。

杉木茎叶和芽中含有丰富的游离氨基酸以供细胞蛋白质合成和生长之需。其中, 谷氨酸、丙氨酸和瓜氨酸含量很高, 酰胺次之。它们的含量(FW)在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上视为体内正常氮素营养, 可作为检验种子园的氮素肥力水平。我们用 $1.0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硝酸钾和尿素滴液喷施叶面, 很快发现谷氨酸、丙氨酸和瓜氨酸含量增加, 而后天冬氨酸、精氨酸和鸟氨酸相继上升, 表现出鸟氨酸循环在氮素利用上的活跃作用。由此, 叶面喷施可作为土壤施肥的一种补充。脯氨酸在花芽分化中的作用是明显的, 它的含量一直很高。然而, 在花粉母细胞减数分裂前遮光杉木雄球花枝直到开花前, 会导致花粉粒败育, 脯氨酸含量下降。这种生理现象, 我们曾在小麦幼穗分化过程中也观察到^[11]。

3.3 植物激素在花芽分化中的作用

Pharis 等人^[13]证明用 GA_3 , $\text{GA} 4/7$ 来诱导柏科和杉科多种幼树的花原基形成都有效。王沙生^[12]发现 GA_3 能促进油松雄球花芽分化, 而 $\text{GA} 4/7$ 混用促进雌球花芽发生, 外加 ABA 则更有效。梁海英等^[14]指出水杉侧枝内含有高的 $\text{GA}_{1\beta}$ 和低的 IAA, ABA 有利于雄花原基的发生, 而有较高的 IAA, $\text{GA}_{1\beta}$ 和适量 ABA 有利于雌花原基的发生。我们在 7 月花芽分化前用 $100 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ GA_3 和 $50 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ABA 注射嫩枝叶芽基部的试验表明 GA_3 处理雄球花芽比对照增加 23%, 而 GA_3 和 ABA 对雌球花芽的诱发无差异。

我们通过内源激素分析, 已发现雄球花芽分化初期 GA_3 含量很高而 ABA 和 IAA 含量很低。这与油松和水杉雄球花原基发生的内源激素有些类似。雄球花芽分化后期, GA_3 下降而 IAA 和 ABA 上升, 这是否与花粉的休眠现象有关? 雌球花芽分化过程中的激素水平适量且变化平稳, GA_3 和 IAA 稍低于叶芽, ZT 高于叶芽而 ABA 相近。这与水杉有差异^[14]。此外, 不同无性系(33号、60号和61号)之间及其树冠上部和下部叶芽之间的内源激素差异性

也进行了观察。虽然，它们之间有某些变化，但看不出差异的实质性。

参 考 文 献

- 1 陈益泰, 高林. 杉木种子园建设技术经验和今后任务. 见: 浙江省林业厅种苗站编. 林木良种繁育体系研建论文集. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1992. 35~40
- 2 沈熙环主编. 种子园技术. 北京: 北京科学技术出版社, 1992. 1~334
- 3 俞新妥, 陈存及. 杉木花芽分化观察. 林业科学, 1981, 17(1): 46~50
- 4 符梅忠, 傅远志, 蒋国洪. 杉木籽粒败育的研究. 浙江林业科技, 1989, 9(2): 15~19
- 5 黄焱增, 谢永强, 齐清琳. 杉木种子湿粒胚败育过程及其生理生化指标. 福建林学院学报, 1993, 13(4): 401~406
- 6 史忠礼, 许月明, 高智慧. 杉木雌配子体与后胚发育过程中核酸、蛋白质和类脂的消长. 植物生理学报, 1990, 16(4): 381~393
- 7 管康林, 严逸伦, 郑钢. 杉木发育生理研究. 浙江林学院学报, 1994, 11(2): 105~115
- 8 朱治平, 沈瑞娟, 唐锡华. 高等植物胚胎的生物学研究Ⅱ. 植物生理学报, 1980, 6(2): 141~147
- 9 管康林, 阎龙飞, 汤佩松. 水稻种子萌发和幼苗生长过程中的氨基酸代谢. 植物生理学通讯, 1965, (2): 14~18
- 10 陆军, 傅远志, 符梅忠. 水杉在花芽分化期内源激素含量的变化. 植物生理学通讯, 1993, 29(1): 20~22
- 11 戴云玲, 郭仲聚, 管康林. 遮光对小麦穗发育的影响. 作物学报, 1985, 4(2): 135~147
- 12 王沙生. 促进油松球花形成的措施和机理的研究. 见: 沈熙环主编. 种子园技术. 北京: 北京科学技术出版社, 1992. 152~168
- 13 Pharis R. P, Kuo C G. Physiology of gibberellins in conifers. *Can J For Res*, 1977, 7(2): 299~325
- 14 Liang Haiying, Yin weilun. Changes of IAA, ABA, GA₁₊₃ contents in leaf bud and cone bud of *Metasequoia glyptostoboides* Hu et Cheng. In: Wang Shasheng, Jiang Xiangning. *Growth and Development Control and Biotechnology in Woody Plants*. Beijing, China Forestry Publishing House. 1995. 215~219

Guan Kanglin (Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, PRC), Yan Yilun,
and Zheng Bingsong. **Function of Azotic Compounds and Phytohormones in
Flower Bud Differentiation of Chinese Fir.** *J Zhejiang For Coll*, 1996, 13(3):
248~254

Abstract: In the early medium stage of differentiation, nucleic acid content in male buds is higher by 17% and 33% than that in female buds and leaf buds. In late stage, the content in male buds decreases while in female ones it increases. RNA/DNA ratio is 2~3 in early stage and 5~6 in late stage. There's no remarkable change in protein level. 16 free amino acids can be found in various flower buds, among which proline content is always very high and is closely related to flower bud initiation and development. GA₃ levels (FW) are as high as 50~90 μg·g⁻¹ while ABA is as low as 1 μg·g⁻¹ in the initiation of male buds. During the differentiation of female buds, GA₃ and ABA are only a little lower than those in leaf buds and their changes are mild. During flowering, female ABA notably decreases while male ABA greatly increases and GA₃ decreases.

Key words: Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*); seed orchard; flower bud differentiation; nucleic acids; protein; amino acids; phytohormones