

文章编号: 1000-5692(2002)04-0391-04

银杏雌雄花芽分化期内源多胺的变化

张万萍¹, 何 耀, 史继孔¹

(1. 贵州大学 农学院 园艺系, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州大学 生物技术学院 生化营养研究所, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 对银杏雌雄花芽分化过程中内源多胺进行测定的结果表明: 在银杏雌雄花芽的生理分化期, 花芽中的腐胺 (put) 和亚精胺 (spd) 含量出现积累高峰, 精胺 (spm) 有少量积累; 形态分化开始时, 雌雄花芽中 put, spd 和 spm 含量降低到水平, 随着形态分化的开始, 雌花芽中 spd 和 put 含量以及雄花芽中 put 含量逐渐上升并保持一定高水平, 雄花芽中 spd 含量在较长的花粉母细胞分化期中下降到水平且变化不大, 雌雄花芽中 spm 含量一直保持低水平且无明显变化。内源多胺与银杏花芽分化之间有一定的内在联系。图 2 参 13

关键词: 银杏; 花芽分化; 内源多胺

中图分类号: S664. 3; Q946. 885 **文献标识码:** A

五大内源激素在树木花芽分化前后含量发生明显的变化。近年来多胺在花芽形成过程中的作用开始受到人们的重视。多胺物质 (polyamines) 是新一类植物体内源生长调节物质。许多研究表明: 多胺广泛存在于植物体内并影响着植物的生长、生殖、休眠、衰老和抗逆性^[1]。多胺对园艺植物生长发育的生理作用也引起人们的重视^[2]。银杏 *Ginkgo biloba*, 一种裸子植物, 有“活化石”之称, 营养价值和药用价值极高, 也是我国和贵州省目前重点开发利用的优势资源。有关银杏雌雄花芽分化的相关生理因子研究国内外尚未见报道。本研究在弄清银杏雌雄花芽形态分化的前提下^[3,4], 研究银杏雌雄花芽分化过程中内源多胺变化规律, 探讨内源多胺与花芽分化的关系, 为银杏结实的化学调控以及银杏的丰产栽培技术提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验于 1997~1999 年进行。采样所用雌树和雄树为遵义市农科所银杏资源圃的 10 年生嫁接成年树。分别选树势基本一致的 20 株雌树和雄树作为采样用树。从 4 月 28 日开始, 每隔 10~20 d 采样一次。根据文献资料^[5]和预备实验, 取雌树和雄树外围具 6 片叶以上的 3~4 年生的短枝饱满顶芽, 作为雌雄花芽分化研究的试材, 每次取雌雄花芽约 1 g, 装入冰瓶, 带回实验室迅速称量, 立即用液氮处理, 装入小瓶, 封口膜封口, 放入 -20 °C 冰箱中保存, 待用。

1.2 试验方法

内源多胺亚精胺 (spd)、精胺 (spm) 和腐胺 (put) 的测定: 0.5~1.0 g 样品放入预冷的 50 g^o L⁻¹过氯酸中匀浆, 冰浴中放置 60 min, 2.3 万 r^omin⁻¹低温 (0~4 °C) 离心 20 min, 收集上清液, 苯

收稿日期: 2002-01-25; 修回日期: 2002-06-22

基金项目: 贵州省科学技术基金资助项目 (1998-3085)

作者简介: 张万萍 (1970-), 女, 贵州贵阳人, 讲师, 硕士, 从事蔬菜生理与栽培研究。

甲酰化后用高效液相色谱法测定。具体步骤依照王富民的方法^[6], 重复3次。高效液相色谱仪为日本岛津 LC-3A 型, 色谱柱为 Zorbax Dos 反相柱 (4.6 mm×25 cm, 粒度 5 μm)。洗脱液为甲醇:乙腈:水=64.0:2.5:33.5, 流速 0.5 mL·min⁻¹, 柱温 (25±1) °C, 254 nm 处检测, 峰面积计算在 C-R2A 数据处理器上进行。put、spd 和 spm 标品购自 Sigma 公司。取 3 次测定的平均值分析。

2 结果与分析

2.1 银杏雌花芽分化期间花芽中 3 种内源多胺的变化

银杏雌花芽中 3 种内源多胺在生理分化期均出现累积高峰, 含量最高的为 put, 其峰值 (以鲜质量计) 为 158.3 nmol·g⁻¹, 其次是 spd, 峰值 (以鲜质量计) 为 80.5 nmol·g⁻¹, spm 峰值 (以鲜质量计) 为 28.2 nmol·g⁻¹ (图 1)。临近形态分化开始, put 和 spd 含量迅速下降, spm 有小幅度的下降; 形态分化开始后 put 含量上升, 7 月中旬胚珠原基分化期后下降; spd 从形态分化时的最低值一直呈上升趋势; spm 含量变幅不大。银杏雌花芽分化过程中 put 和 spd 可能起着主导作用。put 和 spd 是 spm 的合成前体, 当 put 和 spd 在大量参与成花诱导及花原基形成时, 向 spm 的转化减少, 这可能是 spm 在整个过程中, 含量较低的原因^[1]。因此, 银杏生理分化期, 雌花芽中 put 和 spd 以及 spm 不同程度的积累和银杏雌树成花的诱导密切相关。形态分化开始, 三者均下降到较低水平, 这种变化可能与短枝停长及营养生长势的减弱有关, 而形态分化开始后可能需要高含量的 put 和 spd 的参与。

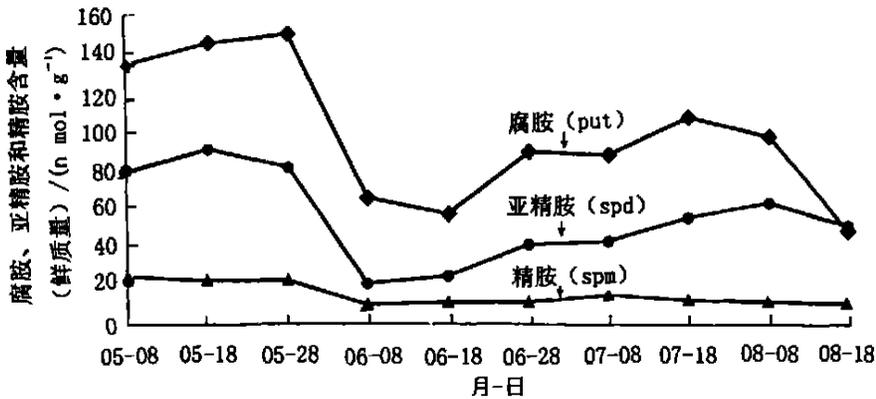


图 1 银杏雌花芽分化过程中内源多胺含量的变化

Figure 1 Changes of endogenous put, spd and spm contents during the differentiation of female flower buds of *Ginkgo biloba*

2.2 银杏雄花芽分化期间 3 种内源多胺含量的动态变化

银杏雄花芽中 put 含量最高, 各时期平均含量 (以鲜质量计) 为 125.5 nmol·g⁻¹, 其次是 spd, 各时期平均含量 (以鲜质量计) 为 38.1 nmol·g⁻¹, spm 含量在整个生长季节含量最低, 各时期平均含量 (以鲜质量计) 仅为 17.96 nmol·g⁻¹ (图 2)。在生理分化期银杏雄花芽内 put 和 spd 含量有较大积累,

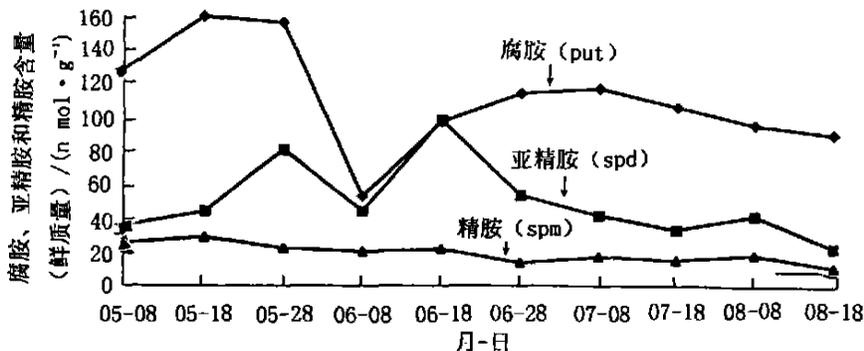


图 2 银杏雄花芽分化过程中内源多胺含量的变化

Figure 2 Changes of endogenous put, spd and spm contents during the differentiation of male flower buds of *Ginkgo biloba*

spm 积累较少。形态分化开始时, 雄花芽内 put 和 spd 含量降到较低水平, 形态分化开始后 put 含量迅速上升并在一定高水平上波动。spd 含量在花粉囊分化期有一波峰, 随后在较长的花粉母细胞分化期中逐渐下降并维持较低水平。整个形态分化期 spm 在低水平上波动, 且变幅不大(图 2)。可见银杏雄花芽在生理分化期 3 种内源多胺不同程度的累积可能对成花的诱导有促进作用, 而形态分化开始后, put 和 spd 起着主导作用, 这和雌花芽有类似的地方。

3 讨论

从本试验可以看出, 在银杏雌雄花芽生理分化期, 内源游离 put, spd 和 spm 含量也有不同程度的累积, 各自水平为 put > spd > spm, 形态分化开始时 put, spd 和 spm 下降到最低, 形态分化后, put 和 spd 起着主导作用。这和 Kushad 在柑橘上的报道相似^[7]。笔者研究银杏雌^[5]雄花芽分化期间内源激素含量变化规律时, 发现生理分化期, ZRs (玉米素)、IPAs (异戊稀基腺嘌呤类) 和 ABA (脱落酸) 有明显的积累现象, 进入形态分化期后, ABA 和 IAA 含量明显高于 ZRs 和 IPAs。由此可见, 银杏成花基因的活化是一个多种内源生长物质参与调节的过程, 3 种内源多胺的较高含量和银杏雌雄花芽的诱导有着一定的内在联系, 喷施外源多胺促花的措施, 最好在生理分化期进行。对于不同树种, 以及花芽分化的不同阶段对内源生长物质种类及含量的要求不同。大多数学者认为 CTks (细胞分裂素) 促进花芽分化^[8,9], 很多报道认为 GAs (赤霉素) 是抑花激素, ABA 对成花的作用则报道不一^[10]。在韦军^[11]的报道中, 梨 *Pyrus* 花芽中 spm 含量比 put 和 spd 高, Aribaud 等^[12] 研究结果表明, 菊花 *Dendranthema morifolia* 花诱导期 spd 占主导地位。作为植物内源生长物质的多胺, 与核酸结合, 提高核酸的稳定性和调节基因表达等方面的功能已经得到了证明。有研究者认为, 多胺作为植物激素作用的媒介, 似 cAMP-Ca²⁺ 一样起着“第二信使”的作用, 因为多胺可以降低 cAMP 的水平和活化核蛋白激酶的活性, 使非组蛋白核蛋白磷酸化^[13]。孙文全的报道中, 指出植物激素之间达到的一种有利于成花的平衡状态, 促使作为“第二信使”的 PAs 大量合成, 使开花基因表达, 并向成花部位调配营养物质, 导致特殊蛋白质的合成形成花原基^[2]。银杏雌雄花芽在形态分化前高含量的游离多胺的积累是否和成花基因阻遏解除有关, 这将需要以后的分子生物学的研究加以验证。从本实验可以看出 3 种内源多胺特别是 put 和 spd 与雌雄花芽的分化之间有着内在的联系。

参考文献:

- [1] Evans P T, Malmberg R L. Dopolyamines have roles in plant development? [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1989, 40: 235—269.
- [2] 孙文全. 多胺类代谢与园艺植物开花的关系[J]. 园艺学报, 1989, 16(2): 178—184.
- [3] 史继孔, 樊卫国, 文晓鹏. 银杏雌花芽形态分化的研究[J]. 园艺学报, 1998, 25(1): 33—36.
- [4] 张万萍, 史继孔, 樊卫国, 等. 银杏雄花芽形态分化[J]. 园艺学报, 2001, 28(3): 255—258.
- [5] 史继孔, 张万萍, 樊卫国, 等. 银杏雄花芽分化过程中内源激素含量的变化[J]. 园艺学报, 1999, 26(3): 194—195.
- [6] 王富民, 薛孟龙. 植物组织内多胺的测定[J]. 植物生理学通讯, 1989, (4): 53—55.
- [7] Kushad M, Orvos A R. Relative changes in polyamines during *Citrus* flower[J]. *Dev Horti Sci*, 25(8): 945—948.
- [8] 马焕普. 果树花芽分化与激素的关系[J]. 植物学报, 1987, 29(1): 1—6.
- [9] 李天红, 黄卫东, 孟昭清. 苹果花芽孕育机理的探讨[J]. 植物生理学报, 1996, 22(3): 251—257.
- [10] 周国章. 树木开花生理研究现状[J]. 林业科学研究, 1994, 7(专刊): 45—52.
- [11] 韦军. 梨树叶芽和花芽的内源多胺[J]. 植物学报, 1994, 36(增刊): 223—236.
- [12] Ariband M, Martin-Tanguy J. Polyamine metabolism, floral initiation and floral development in *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) [J]. *Plant Growth Regul*, 1994, 15: 22—31.
- [13] 潘瑞焱. 多胺是植物生长发育的调节物[J]. 植物生理学通讯, 1990, (1): 1—7.

Changes of endogenous polyamines during differentiation on flower buds of *Ginkgo biloba*

ZHANG Wan-ping¹, HE Jun², SHI Ji-kong¹

(1. Department of Horticulture, Agricultural College, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China; 2. Institute of Biochemistry and Nutrition, College of Biotechnology, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China)

Abstract: The contents of endogenous polyamines (putrescine, spermidine and spermine) on flower buds of *Ginkgo biloba* were analyzed during the differentiation. The results showed that the concentration of putrescine and spermidine increased markedly and had a peak at the physiological differentiation stage of female and male flower buds and spermine concentration showed a slight increase. The three kinds of polyamines were very low when the morphological differentiation began. At morphological differentiation stage, putrescine and spermidine concentrations on female flower buds increased again. The changes of putrescine concentration on male flower buds was similar to that on female flower buds. Spermidine content of male flower buds showed a peak before early July and then kept at a low level at the microsporocytes differentiation stage. Spermine concentrations on female and male flower buds was low and showed no significant change during the stage. The data indicate that there is some internal connection between polyamines and flower buds differentiation.

Key words: *Ginkgo biloba*; flower bud; endogenous polyamines

欢迎订阅《福建林学院学报》

《福建林学院学报》是福建农林大学主办的与林有关的综合性学术类期刊，刊载全科林学的科研报告、学术论文、文献综述和专题讨论等文章。1960年创刊，国内外发行，面向全国组稿。《福建林学院学报》鼓励学术创新，推动科技成果转化，促进学术交流，长期以来被确定为国家科技部中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库源期刊、中国学术期刊综合评价数据库源期刊、中国自然科学核心期刊，进入万方数据（ChinaInfo）系统科技期刊群和《中国学术期刊（光盘版）》。《福建林学院学报》被国际著名的检索机构，如 AGRIS, CAB, SCI, FA, FPA, CA, AI 和《中国林业文摘》《中国生物学文摘》《中国农业文摘》《竹类文摘》CSTA（英文版）国家数据库和中国农林文献数据库等 20 多种国内外重要数据库和权威检索期刊收录。

《福建林学院学报》荣获福建省高校优秀学报一等奖，福建省优秀科技期刊一等奖，华东地区最佳期刊，全国高校优秀学报一等奖，全国优秀科技期刊二等奖，全国首届《CAJ-CD》执行优秀奖等。国际标准刊号 ISSN 1001-389X，国际刊名代码 CODEN FLXUE7，国内统一刊号 CN 35-1095/S，季刊，大 16 开本，96 页，进口铜版纸印刷，定价 8.00 元，全年订费 40.00 元（含邮资）。过刊有部分库存：1984~1998 年，季刊，16 开本，96 页，每期订费 6.00 元（含邮资）；1999~2002 年，季刊，大 16 开本，96 页，每期订费用 10.00 元（含邮资）。读者请从邮局汇款到该刊编辑部订阅。联系人：卢凤美。

联系地址：353001 福建南平 福建林学院学报编辑部。电话：0599-8508082。