

文章编号: 1000-5692(2007)04-0419-05

中国石蒜花期前后鳞茎内源多胺的动态变化

金雅琴¹, 黄雪芳², 李冬林³, 向其柏⁴

(1. 金陵科技学院 园艺学院, 江苏 南京 210038; 2. 江苏教育学院 生物系, 江苏 南京 210013; 3. 江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153; 4. 南京林业大学 森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

摘要: 应用薄层层析-荧光测定法研究了中国石蒜 *Lycoris chinensis* 花期前后鳞茎内源多胺质量摩尔浓度的动态变化, 分析了内源多胺与中国石蒜花芽分化的关系。中国石蒜在不同发育期3种内源多胺存在有规律的非同步变化。腐胺和精胺2种多胺变幅较大, 亚精胺变幅较小。在开花前的花原基分化期, 腐胺质量摩尔浓度明显高于亚精胺和精胺, 7月上旬外鳞片、中鳞片、内鳞片和茎尖中腐胺质量摩尔浓度分别为 1.238, 1.676, 2.313, 1.451 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$, 为同期精胺质量摩尔浓度的 1.48, 1.90, 2.56, 1.40 倍, 亚精胺的 1.97, 2.69, 3.66 和 2.09 倍; 花期腐胺质量摩尔浓度下降, 而精胺剧增, 8月中旬外鳞片、中鳞片、内鳞片和茎尖中精胺分别为 1.462, 1.502, 1.682 和 1.536 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$, 为同期亚精胺的 1.87, 1.90, 2.04 和 1.76 倍, 腐胺的 1.28, 1.15, 1.28 和 1.00 倍。茎尖与内鳞片是鳞茎内源多胺最集中的部位。鳞茎4部分多胺质量摩尔浓度排序为茎尖 > 内鳞片 > 中鳞片 > 外鳞片。图4表2参12

关键词: 植物学; 中国石蒜; 花期前后; 内源多胺; 动态变化

中图分类号: S682.2; Q946.8 **文献标志码:** A

多胺(PAs)是生物体代谢过程中产生的具有生物学活性的低分子量脂肪族含氮碱, 包括精胺、亚精胺、腐胺和尸胺等。研究表明, 多胺对果树的萌芽、开花、坐果、花芽分化、性别表达、果实生长、根系形成及抗逆性等有多方面的效应¹⁻⁴。近年来, 多胺对园艺植物生长发育的生理作用日益引起人们的重视⁵⁻⁷。中国石蒜 *Lycoris chinensis* 为多年生鳞茎类草本植物, 属于石蒜科 Amaryllidaceae 石蒜属 *Lycoris*。早春出叶, 花型优美, 花色艳丽, 花葶粗壮, 是优良的园林花卉和切花资源。中国石蒜叶片的生长周期及发育过程国内外已有文献资料⁸, 但有关中国石蒜内源多胺动态变化目前尚未见报道。笔者通过测定中国石蒜内源多胺含量, 分析了中国石蒜不同时期内源多胺质量摩尔浓度与生长发育的关系, 以期今后施用外源多胺或多胺抑制剂破除其内源平衡提供理论依据, 达到调节花期, 促成栽培, 延缓衰老的目的。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

中国石蒜野生种球于2000年11月采自安徽省黄山浮溪。种球采集后, 定植于南京林业大学树木园(32°18' N, 118°20' E)杂交鹅掌楸 *Liriodendron chinense* × *Liriodendron tulipifera* 林下, 林地郁闭度50%。

收稿日期: 2006-09-18; 修回日期: 2007-04-03

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目(BK2006087); 江苏教育学院基金资助项目(2002038)

作者简介: 金雅琴, 讲师, 硕士, 从事园林植物学研究。E-mail: lidonglin126@126.com

土壤为下蜀系黄土,质地疏松,肥力中等。种球种植后翌年5月开始定期采样。共采集10次(5月15日、6月3日、7月10日、7月26日、8月11日、8月27日、9月11日、10月11日、11月11日、12月11日)。每次采样均选取生长健壮,大小一致,无病虫害的鳞茎3~5个,洗净去除外层褐色膜质鳞片后,将鳞片一层层剥开,取出茎尖、内鳞片(靠近茎尖的一层),中鳞片(根据鳞片总数取中间一层)和外鳞片(鳞茎最外一层),分离后放入超低温冰箱(-40℃)中待测。

1.2 测定方法

应用杨浚等^[9]的薄层层析-荧光测定法(略有改动)。具体步骤:准确称取外鳞片、中鳞片、内鳞片、茎尖各0.5g,用5mL预冷的50g·kg⁻¹HClO₄分次加入研磨提取。合并提取液,在冰浴中继续提取1h(期间摇晃数次)。然后高速离心(2万r·min⁻¹,20min,4℃),上清液即为多胺提取液。取200μL多胺提取液,加入400μL丹磺酰氯和200μL饱和碳酸钠溶液,搅拌后放于室温下暗过夜。次日,加入100μL脯氨酸溶液(100g·mL⁻¹)涡旋30min后加入500μL苯萃取2min,静置后,取上层有机相在硅胶层析板上展开。

硅胶层析板事先经活化(105℃,3h),冷却后用微量加样器取20μL有机相点样展开。展开剂:氯仿:三乙胺为80:25(V/V)。2h后取出硅胶板,风干后置于紫外分析仪下(波长235.9nm),对照标准多胺,用铅笔划出各多胺斑点,刮下后溶于3mL乙酸乙酯中,涡旋20s,自然沉淀后取上清液用F-4500型荧光分光光度计(吸收波长为337nm,发射波长为495nm)测定多胺质量摩尔浓度。腐胺、亚精胺和精胺标品购自Sigma公司。取3次测定的平均值进行分析。

2 结果与分析

2.1 中国石蒜生长发育进程观察

中国石蒜为春季出叶类型。经连续2a的试验观察,在南京1月中旬前后开始露绿(表1)。各轮叶的旺盛生长期为2月15日至3月20日,4月中旬叶片停止生长。7月中下旬开始抽葶开花,始花期早于同属的石蒜*Lycoris radiata*。8月上旬进入盛花期,花期持续到8月下旬至9月上旬。9月地上部分逐渐枯萎进入休眠期。

李爱荣等^[9]的研究表明,中国石蒜的叶片和花芽分化在每年的3~9月进行。叶片在3月底开始分化,9月幼叶分化基本停止,并于翌年2~3月露出地面,5月枯萎,完成生活史。其间,5月进行花原基的分化,在5~6月花原基分化期内,叶原基的分化受到抑制,分化较慢,幼叶生长受到抑制,此类鳞茎叶片的形成和生长则在花后迅速进行。

2.2 中国石蒜鳞茎各部分内源多胺质量摩尔浓度的变化

由图1可以看出,外鳞片中腐胺质量摩尔浓度一直很高,除了8月(盛花期)较低之外,其余时间均高于精胺与亚精胺。7月10日的测定值为1.238nmol·g⁻¹,为同期精胺的1.48倍,亚精胺的1.97倍。从整体趋势来看,腐胺质量摩尔浓度有2个谷值,一是6月3日,为1.082nmol·g⁻¹,一是8月27日,为0.836nmol·g⁻¹。外鳞片中精胺质量摩尔浓度8月11日的测定值达1.462nmol·g⁻¹,为3种多胺的最大值,其余时间内精胺一直维持在较低水平。外鳞片中亚精胺质量摩尔浓度5~6月初稍高,随后下降,7月中下旬降到最低值(0.626nmol·g⁻¹),8月初开始回升,10月中旬开始再次下降。

中鳞片中3种多胺质量摩尔浓度与外鳞片变化趋势相似,只是前期腐胺起伏较大(图2)。中鳞片中7月10日腐胺质量摩尔浓度达1.676nmol·g⁻¹,为3种多胺的最大值,为同期精胺的1.90倍,亚精胺的2.68倍。8月27日腐胺为0.973nmol·g⁻¹,为最低值。9月10日以后腐胺变化趋于平稳。与外鳞片相似,精胺质量摩尔浓度的最大值出现在8月11日,测定值为1.502nmol·g⁻¹,其余时间内精胺一直维持在较低水平。整个发育期内,亚精胺变化有2个极小值,分别出现在7月26日和11月11日,而花期一直维持在0.600~1.000nmol·g⁻¹水平。

表1 中国石蒜生长发育进程

Table 1 Growth and development course of *Lycoris chinensis*

观察年份	叶生长期/(月-日)	开花期/(月-日)	休眠期/(月-日)
2001	01-15~03-16	07-10~08-26	08-26~12-30
2002	01-24~03-25	07-20~09-08	09-04~01-10

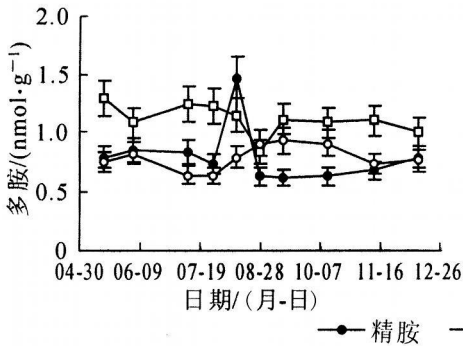


图 1 鳞茎外鳞片内源多胺的变化

Figure 1 Changes in the endogenous polyamine contents in outer squama of bulbs

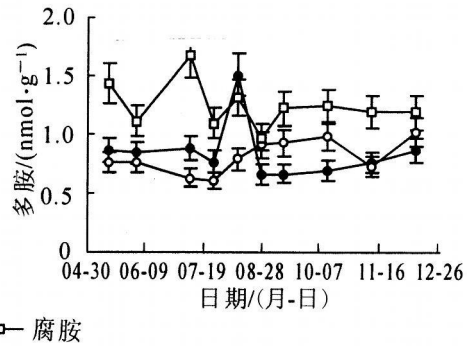


图 2 鳞茎中鳞片内源多胺的变化

Figure 2 Changes in the endogenous polyamine contents in middle squama of bulbs

内鳞片中腐胺质量摩尔浓度起伏较大(图 3)。7 月 10 日测定值为 $2.313 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ，为同期精胺的 2.56 倍，亚精胺的 3.66 倍。9 月 11 日腐胺最低，为 $0.986 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。精胺质量摩尔浓度的最大值出现在 8 月 11 日，测定值为 $1.682 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ，其余时间内精胺变化较小。亚精胺变化趋势与中鳞片很相似。

与鳞片相比，茎尖是腐胺最集中的部位(图 4)。腐胺质量摩尔浓度在花前期(8 月 11 日之前)一直很高，其后开始快速下降。8 月 11 日腐胺为 $1.539 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ；9 月 11 日降至 $0.978 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ (极小值)。但随后又有回升趋势。

大量的研究表明，花芽分化受植物内外环境因素的综合影响，其中内源多胺在植物开花过程中具有重要调节作用^[6]。从中国石蒜鳞茎内源多胺各部分质量摩尔浓度的总体变化来看，3 种多胺呈现非同步变化。以腐胺和精胺变幅较大，以亚精胺变幅较小。在开花前的花原基分化期，腐胺质量摩尔浓度明显高于亚精胺和精胺，7 月 10 日外鳞片、中鳞片、内鳞片和茎尖中腐胺质量摩尔浓度分别为 $1.238, 1.676, 2.313, 1.451 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ，为同期精胺质量摩尔浓度的 1.48, 1.90, 2.56 和 1.40 倍，亚精胺的 1.97, 2.69, 3.66 和 2.09 倍。说明高质量摩尔浓度的腐胺有利于花原基分化；花期腐胺下

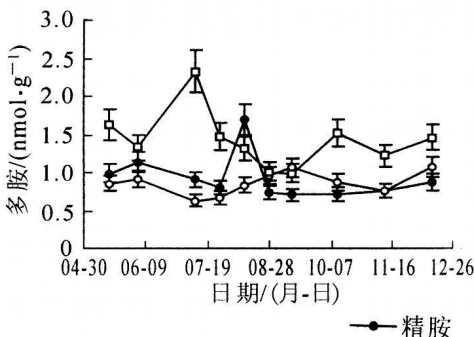


图 3 鳞茎内鳞片内源多胺的变化

Figure 3 Changes in the endogenous polyamine contents in inner squama of bulbs

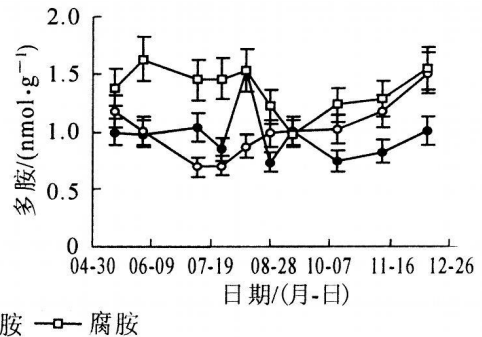


图 4 鳞茎茎尖内源多胺的变化

Figure 4 Changes in the endogenous polyamine contents in shoot apex of bulbs

降，而精胺急剧增加，8 月 11 日外鳞片、中鳞片、内鳞片和茎尖中精胺质量摩尔浓度分别为 $1.462, 1.502, 1.682, 1.536 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ，为同期亚精胺质量摩尔浓度的 1.87, 1.90, 2.04, 1.76 倍，腐胺质量摩尔浓度的 1.28, 1.15, 1.28, 1.00 倍。这可能是由于开花前消耗较多的腐胺造成的，高质量摩尔浓度的精胺有利于开花。花后期由于体内腐胺的积累，质量摩尔浓度开始回升，而精胺则开始下降。可见，3 种多胺中腐胺与精胺对中国石蒜的开花起更为重要的调节作用。

2.3 中国石蒜鳞茎各部分内源多胺总量的变化

表 2 可知，开花前的花原基分化期(7 月 26 日之前)中国石蒜外鳞片内源多胺总量变化很小，其值均小于 $2.800 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。在 7 月 26 至 8 月 26 日内源多胺总量变化有一次突起的过程，即花期外鳞

片内源多胺总量上升, 8月11日测定结果是 $3.389 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$, 这与花期精胺剧烈增加有关。花后多胺总量再次回落, 到12月份变化一直很小。

表2 中国石蒜鳞茎各部分内源多胺总量的变化

Table 2 Changes in the total endogenous polyamine contents in every part of *Lycoris chinensis* bulbs

鳞茎各部分	各采样日期(月-日)鳞茎各部分的内源多胺质量摩尔浓度/ $(\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1})$									
	05-15	06-03	07-10	07-26	08-11	08-27	09-11	10-11	11-11	12-11
外鳞片	2.813 (21.83)	2.748 (22.08)	2.701 (20.92)	2.575 (23.46)	3.389 (22.96)	2.362 (22.42)	2.648 (23.64)	2.605 (22.42)	2.497 (22.32)	2.547 (19.50)
中鳞片	3.056 (23.72)	2.703 (18.71)	3.182 (24.64)	2.456 (22.38)	3.598 (24.37)	2.534 (24.05)	2.806 (25.06)	2.914 (25.08)	2.667 (23.84)	3.064 (23.45)
内鳞片	3.455 (26.82)	3.368 (27.06)	3.847 (29.79)	2.931 (26.71)	3.826 (25.92)	2.701 (25.64)	2.746 (24.52)	3.090 (26.59)	2.735 (24.45)	3.383 (25.90)
茎尖	3.559 (27.63)	3.625 (29.13)	3.184 (24.66)	3.012 (27.45)	3.949 (26.75)	2.939 (27.89)	2.999 (26.78)	3.010 (25.91)	3.289 (29.40)	4.070 (31.15)
合计	12.883	12.444	12.914	10.974	14.762	10.536	11.199	11.619	11.188	13.064

说明: 括号内数字为鳞茎各部分多胺占鳞茎多胺总量的百分数(%)。

中鳞片、内鳞片内源多胺总量变化相似。开花前的7月上旬多胺总量较高(中鳞片、内鳞片多胺总量分别为 3.182 和 $3.847 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$)。但临近开花二者剧烈下降。花期内源多胺总量呈“ \wedge ”字形变化(8月11日中鳞片、内鳞片多胺总量测定结果是 3.598 和 $3.826 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$), 花后多胺总量再次回落。这一点与外鳞片相似, 但后期(11月以后)有回升的趋势。

茎尖是多胺总量较高的部位之一。开花前的花原基分化初期, 茎尖中内源多胺质量摩尔浓度较高(6月3日测定结果是 $3.625 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$), 花原基分化后期(6月初~7月中)多胺质量摩尔浓度逐渐下降, 7月26日测定为 $3.012 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 。花期内源多胺增加到最大($3.949 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$)。8月下旬开始下降, 但后期有所上升。

中国石蒜鳞茎各部分内源多胺质量摩尔浓度在花期前后是不同的。从鳞茎各部分内源多胺总量变化来看, 茎尖与内鳞片是鳞茎内源多胺最集中的部位。鳞茎各部分多胺排序为茎尖>内鳞片>中鳞片>外鳞片。

3 讨论

近年来, 随着人们对多胺研究的日益深入, 关于高等植物的花芽分化与内源多胺的关系已有不少报道。不同植物体内内源多胺的变化与调节作用是相异的。陈以俊等^[9]对石竹 *Dianthus chinensis* 花芽发生与内源多胺的关系进行了研究, 表明在石竹离体叶花芽形成过程中, 腐胺和亚精胺上升, 而二丙胺、精胺下降。Zhu等^[10]发现在苹果 *Malus pumila* 花芽形成过程中, 花芽的形成与精胺具正相关关系, 与腐胺与亚精胺的总浓度具负相关关系, 精胺的积累可以看作是花芽诱导的一种生理指标。张万萍等^[11]对银杏 *Ginkgo biloba* 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, 花芽中的腐胺和亚精胺出现积累高峰, 精胺有少量积累; 形态分化开始时, 雌雄花芽中腐胺、亚精胺和精胺降低水平, 随着形态分化的开始, 雌花芽中亚精胺和腐胺以及雄花芽中腐胺逐渐上升并保持一定高水平。郑家基^[12]的研究表明, 内源腐胺、精胺的增加有利于龙眼 *Dimocarpus longan* 营养生长, 而亚精胺则有利于花芽分化。笔者的实验表明, 中国石蒜在不同生长发育时期3种内源多胺存在有规律的非同步变化, 这种现象在其他植物中还很少见。它们对中国石蒜的花芽分化和生殖生长起着各自独立又有所关联的调节作用。在开花前的花原基分化期, 腐胺质量摩尔浓度明显高于亚精胺和精胺, 且维持在较高水平。暗示高质量摩尔浓度的腐胺积累有利于花原基分化; 花期腐胺迅速下降, 而精胺剧烈增加, 说明高质量摩尔浓度精胺有利于中国石蒜的开花。

中国石蒜鳞茎各部分内源多胺质量摩尔浓度是不同的。从鳞茎各部分内源多胺总量来看, 茎尖与内鳞片是内源多胺最集中的部位。可见, 植物内源多胺对植物不同部位的分配合成是有差别的。这也

给了我们一个启示, 茎尖与内鳞片是中国石蒜各种生理生化反应最为活跃的部位, 也是对外界影响最敏感的部位。

致谢: 在实验过程中得到南京林业大学谢寅峰副教授指导, 特此致谢。

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] 徐继忠, 陈海江, 邵建柱, 等. 外源多胺促进红富士苹果花芽形成的效应[J]. *果树科学*, 1998, **15**(1): 10—12.
- [3] 徐继忠, 陈海江, 李晓东, 等. 外源多胺对核桃雌雄花芽分化及叶片内源多胺含量的影响[J]. *园艺学报*, 2004, **31**(4): 437—440.
- [4] 陈海江, 徐继忠, 袁小乱, 等. 不同时期喷施外源多胺对新红星苹果坐果的影响[J]. *河北农业大学学报*, 1999, **22**(2): 47—49.
- [5] 孙文全. 多胺代谢与园艺植物开花的关系[J]. *园艺学报*, 1989, **16**(3): 178—184.
- [6] 陈以俊, 沈慧娟. 石竹花芽发生与内源多胺含量的关系[J]. *园艺学报*, 1999, **26**(5): 341—342.
- [7] APPLEWHITE P B, KAUR-SAWHNEY R, GALSTON A W. A role for spermidine in the bolting and flowering of *Arabidopsis* [J]. *Physiol Plant*, 2000, **108**: 314—320.
- [8] 李爱荣, 周坚. 中国石蒜叶片的生长周期及其发育过程的研究[J]. *植物学通报*, 2005, **22**(6): 680—686.
- [9] 杨浚, 贺平清, 俞炳泉. 植物多胺的薄层-荧光测定法[J]. *植物生理学通讯*, 1988(6): 63—66.
- [10] ZHU L H, TROMP J, PEPPEL A C V D, *et al.* Polyamines in buds of apple as affected by temperature and their relationship to bud development [J]. *Sci Horticult*, 1999, **9**(82): 203—216.
- [11] 张万萍, 何瑶, 史继孔. 银杏雌雄花芽分化期内源多胺的变化[J]. *浙江林学院学报*, 2002, **19**(4): 391—394.
- [12] 郑家基. 龙眼越冬期叶片多胺含量的变化[J]. *园艺学报*, 1996, **23**(3): 295—296.

Variation of endogenous polyamines concentrations in *Lycoris chinensis* bulbs during reproductive period

JIN Ya-qin¹, HUANG Xue-fang², LI Dong-lin³, XIANG Qi-bai⁴

(1. Department of Horticulture, Jinling Institute of Technology, Nanjing 210038, Jiangsu, China; 2. Department of Biology, Jiangsu Education College, Nanjing 210013, Jiangsu, China; 3. Forestry Academy of Jiangsu Province, Nanjing 211153, Jiangsu, China; 4. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

Abstract: To study the relationship of endogenous polyamines (PAs) with flower bud differentiation of *Lycoris chinensis*, putrescine (Put), spermine (Spm) and spermidine (Spd) concentrations of the bulbs during different reproductive periods were determined by the thin layer chromatography-fluorescence spectrometry. The results showed that the three kinds of PAs concentrations showed non-synchronous change. The variation of Put and Spm content was sharper; the variation of Spd content was not marked. During the prophase of flower bud differentiation, the Put contents was more than Spd and Spm, 1.238 nmol^{°g}⁻¹ in the outer squama, 1.676 nmol^{°g}⁻¹ in the middle squama, 2.313 nmol^{°g}⁻¹ in the inner squama and 1.451 nmol^{°g}⁻¹ in the shoot apex, in early July. During the flowering period, the Put content decreased, but the Spm content increased. Spm contents was 1.462 nmol^{°g}⁻¹ in the outer squama, 1.502 nmol^{°g}⁻¹ in the middle squama, 1.682 nmol^{°g}⁻¹ in the inner squama and 1.536 nmol^{°g}⁻¹ in the shoot apex. The orders of endogenous PAs contents from high to low were shoot apex, inner squama, middle squama, outer squama. [Ch, 4 fig. 2 tab. 12 ref.]

Key words: botany; *Lycoris chinensis*; reproductive period; endogenous polyamines; concentration variation