

文章编号:1001-1498(2013)03-0332-05

毛竹花期不同器官内源激素含量的变化

齐飞艳, 彭镇华*, 胡陶, 高健*

(国际竹藤中心, 竹藤科学与技术重点实验室, 北京 100102)

摘要:用酶联免疫法测定未开花毛竹和开花毛竹叶、花、枝、秆和鞭中内源激素吲哚乙酸(IAA)、赤霉素(GA₃)、脱落酸(ABA)和玉米素核苷(ZR)的含量,分析开花毛竹内源激素分布和含量的变化与花形态分化的关系。结果表明:与未开花毛竹相比,成花期(6月中旬)开花毛竹叶、枝和秆中的IAA含量显著降低,枝的ABA含量也显著降低,而秆的ZR含量显著升高;扬花期(7月中旬)开花毛竹枝中的IAA含量显著降低,而GA₃含量则显著升高。内源激素在开花毛竹各器官中的分布规律:IAA为秆>鞭>枝>花,GA₃为花>鞭>枝>秆,ZR为花>枝>秆>鞭,ABA为秆>枝>花>鞭。二级枝中IAA含量显著低于一级枝,而其GA₃和ZR的含量高于一级枝。IAA、GA₃和ABA在竹秆中的含量呈向基性增加,而ZR则呈向基性减少。在成花期和扬花期ABA、ZR和GA₃所占比例高于未开花毛竹,高比例的ABA、ZR和GA₃和低比例的IAA可能促进毛竹花的发育。

关键词:形态分化;内源激素;开花;毛竹

中图分类号:S795.7

文献标识码:A

Changes of Endogenous Hormones in Different Organs during the Flowering Phase of Moso Bamboo

QI Fei-yan, PENG Zhen-hua, HU Tao, GAO Jian

(International Centre for Bamboo and Rattan, Key Laboratory on the Science and Technology of Bamboo and Rattan, Beijing 100102, China)

Abstract: Endogenous hormone contents of indole-3-acetic acid (IAA), gibberellin A3 (GA₃), abscisic acid (ABA) and zeatin riboside (ZR) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in leaves, inflorescence, branches, stems and rhizomes of flowering and non-flowering moso bamboo (*Phyllostachys edulis*), for discussing the differences and understanding the relation between endogenous hormones distribution and contents and flower's morphological differentiation. The results showed that: in comparison with non-flowering moso bamboo, the content of IAA in the leaves, branches and stems of flowering bamboo in Heading stage (mid-June) reduced significantly, and the content of ABA in the branches brought down significantly too, but the content of ZR in stems increased significantly. The content of IAA in the branches of flowering bamboo in flowering period (mid-July) was lower significantly and the content of GA₃ rose significantly. The distribution characters of hormone in different organs were found different, while that of IAA was stem > rhizome > branch > inflorescence, that of GA₃ was inflorescence > rhizome > branch > stem, that of ZR was inflorescence > branch > stem > rhizome and that of ABA was stem > branch > inflorescence > rhizome. The content of IAA in secondary side branches was significantly lower than that in primary side branches, but the contents of GA₃ and ZR were higher than that in the primary side branches. The

收稿日期:2012-07-19

基金项目:“十二五”国家科技支撑计划课题“竹资源优良品种选择与育种技术研究”(2006BAD19B0203);国家林业公益性行业科研专项“毛竹基因组测序研究”(200704001)

作者简介:齐飞艳(1985—),女,河南济源人,博士研究生,主要从事竹类植物衰老和开花机理相关研究。

* 通讯作者,彭镇华,男,教授,博士生导师,E-mail:pengzh@icbr.ac.cn

高健,女,研究员,博士,博士生导师,E-mail:gaojian@icbr.ac.cn

contents of IAA, GA₃ and ABA in bamboo stem increased basipetally, while that of ZR in stem decreased basipetally. High rates of ABA, ZR and GA₃ and low proportion of IAA may be helpful to the flower development during flower development, because ABA, ZR and GA₃ had higher proportion in Heading stage and flowering period.

Key words: morphological differentiation; endogenous hormones; flower; moso bamboo

竹子在开花习性上有很多独特之处,如竹子是多年生植物,绝大多数竹种几十年才开花一次,而且花后死亡,有时来自同一个竹鞭的竹株不论年龄大小均同步开花,只有极少数竹种是每年开花或周期性开花。竹子开花的独特性对其研究来说是一个限制因素,许多研究者提出了各种假说来解释竹类开花现象,也有一些学者认为竹类开花是由其独特的生物钟所调控,存在着不同的内在遗传机理^[1-4]。但到目前为止,竹子开花机理仍是一个谜。

毛竹(*Phyllostachys edulis*(Carr.)H. de Lehaie)是禾本科(Poaceae)竹亚科(Bambusoidea)植物,广泛分布于我国20多个省区,是我国种植面积最大、分布最广的笋材两用竹种。毛竹是单稔植物,终生开一次花,且属于全体成片开花的类型。有研究表明毛竹开花周期约为67年^[5],花期从4—5月至9—10月都有发生,以5—6月为盛花期^[6]。毛竹开花后地下鞭系统腐烂,地上竹株成片枯死^[7],带来巨大的经济损失和生态问题。毛竹开花前无明显的特征,具稀少性、随意性和不确定性等特点,即使在一个地区内,各片竹林或竹丛开花先后不一,持续时间相当长。如从20世纪70年代开始,广西桂林地区荔浦、乐平、灵川、兴安等地的毛竹林陆续开花^[8],至今也仍然在开花,持续近50 a。这些特点增加了毛竹开花机理的研究难度。

大量研究表明植物内源激素对植物开花有调控效应。如玉米赤霉烯酮(zearalenone,ZEN)和细胞分裂素(cytokinin,CTK)在大豆早12(*Glycine max*‘Zao 12’)花序分化期间促进花序的发育^[9];在小麦(*Triticum aestivum* L.)小花两级分化中,激素之间比值稳定不变促进可孕花的发育,而吲哚乙酸(indole-3-acetic acid,IAA)含量及IAA与其它激素比值的下降导致不孕花的形成^[10];赤霉素(gibberellic acid,

GA)、CTK和茉莉酸类物质参与调控玉米(*Zea mays* L.)雌雄花的决定过程^[11];大葱(*Allium fistulosum* L.)植株根、假茎及叶片脱落酸(abscisic acid, ABA)、赤霉素(gibberellin A3, GA₃)、玉米素核苷(zeatin riboside, ZR)的含量均在花芽分化基本完成时达到高峰,而IAA则至低谷^[12]。关于竹子成花的研究也有少量报道,如异戊烯基酰苷(isopentenyl adenosine, iPA)/ABA和iPA/GA₃比值上升到一定水平时,早竹(*Ph. violascens*(Carr.) A. et C. Riv.)花芽诱导即启动^[13];开花雷竹(又名早竹)ABA的含量增加,IAA在竹叶和竹秆中明显地降低,GA₃含量也显著地降低^[14];雷竹花芽形态分化过程中ABA/IAA和iPA/IAA基本上高于未开花植株,而IAA和GA水平低于未开花植株^[15]。目前开花毛竹内源激素变化的研究还是空白,本研究对开花毛竹的叶、花、枝、秆和鞭中的GA₃、ABA、ZR和IAA含量进行测定,探讨不同激素的分布和变化与花形态分化的关系,进一步了解毛竹开花的生理变化。

1 研究地概况

广西壮族自治区桂林市地处25°04′~25°48′N,110°17′~110°47′E,属中亚热带季风气候区,年均日照时数1 614.7 h,年均气温18.7℃,年均降水量1 941.5 mm(降水量主要集中在上半年),年均蒸发量1 490~1 905 mm。全年无霜期最长349 d,最短256 d。毛竹采样点位于南岭山系的西南部,该地地形地貌复杂,海拔高度最低点134.7 m,最高点1 722.4 m,由于地形地貌的不同,形成了各种不同的小地形和小气候,采样点土壤主要为红壤(富含铁铝)。毛竹林属于自然生长状态,基本无人管理,其基本情况见表1。

表1 采样点毛竹林基本情况

竹林	地理位置	海拔高度/m	竹林面积/m ²	立竹密度/(株·m ⁻²)	坡度/(°)	坡向
未开花竹林(6月)	25°12′27″ N, 110°43′23″ E	800.9	约800	1.42	15	西坡
未开花竹林(7月)	25°12′58″ N, 110°43′08″ E	565.3	约600	1.56	10	东坡
开花竹林1(6月)	25°10′18″ N, 110°43′39″ E	572.6	约500	2.44	15	西南坡
开花竹林2(7月)	25°09′26″ N, 110°37′31″ E	630.9	约1 000	1.35	18	东北坡
开花竹林3(7月)	25°12′36″ N, 110°46′12″ E	607.1	约300	3.03	15	西北坡
开花竹林4(7月)	25°12′46″ N, 110°43′10″ E	769.3	约200	7.7	21	西坡

2 材料与方 法

2.1 实验材料

实验样品分别采集于2011年6月中旬和7月上旬。6月中旬,开花毛竹处于成花期,花序轴刚从小枝前端抽出,小花发育不成熟,大多数小花的花药和雌蕊未发育;与未开花毛竹相比,开花毛竹叶片变少,枝和秆颜色稍微变黄。7月中旬,开花毛竹处于扬花期,大部分小花发育成熟,部分小花的花药和柱头已伸出稃片外;与未开花毛竹相比,大部分开花毛竹叶已脱落,未脱落叶片变干枯死,秆和枝比成花期更枯黄。

6月中旬和7月上旬,分两次各选3年生及3年生以上未开花毛竹、开花毛竹各3株,采集叶片(7月上旬开花毛竹大多数叶片已凋落,未采集)或花(开花竹)、枝、秆和鞭。叶片或花采样量是叶或花总量的1/3;枝分一级枝和二级枝采样(其中二级枝含三级及三级以上枝),采样量是枝总量的1/2;量取竹秆长度,将其三等分,按上(竹梢)、中、下三部分采样,采样量是各部位秆总量的1/2。采集的样品带回实验室,粉碎后,液氮冷冻,置于-80℃的低温冰箱中保存。

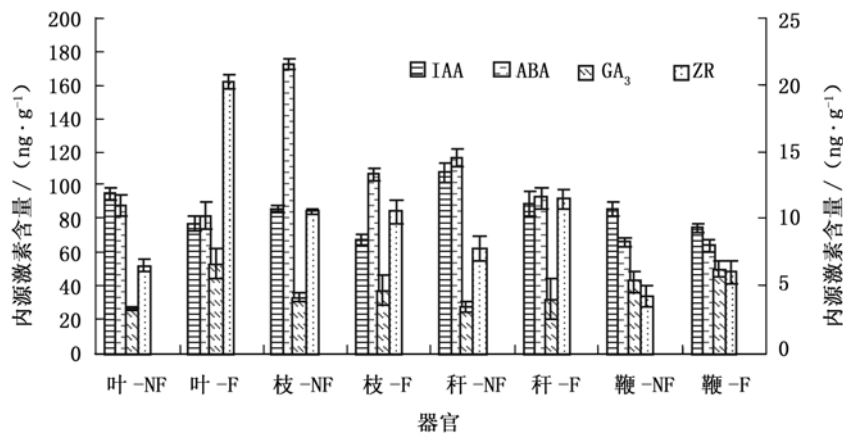
2.2 内源激素的测定

采用酶联免疫法(ELISA)测定GA₃、ABA、ZR和IAA的含量。称取0.5~1.0g粉碎的植物样品,加5mL样品提取液,摇匀后放置在4℃冰箱中。4℃下提取4h,3500转·min⁻¹离心8min,取上清液。沉淀中加1mL提取液,搅匀,置4℃下再提取1h,离心。上清液过C-18固相萃取柱。将过柱后的样品干燥,用样品稀释液定容。加标准物、待测样和抗体竞争,竞争条件37℃,0.5h。加底物显色,在酶联免疫分光光度计上依次测定标准物各浓度和各样品490nm处的OD值。试剂盒购自中国农业大学。

3 结果与分析

3.1 开花毛竹各器官内源激素含量的变化

根据测定结果,对6月中旬开花毛竹和未开花毛竹的叶、枝、秆和鞭中的内源激素水平进行独立样本T检验,结果显示开花毛竹的叶、枝和秆的IAA含量都显著低于未开花毛竹($P < 0.10$),分别低18.2%、20.8%、17.2%;开花毛竹枝的ABA含量显著低于未开花毛竹($P < 0.05$),低37.9%;开花毛竹秆的ZR含量显著高于未开花毛竹($P < 0.05$),高47.5%;其余各器官内源激素含量差异不显著(图1)。



NF、F 分别代表未开花毛竹和开花毛竹,图2、3中相同;IAA、ABA 含量参照主纵坐标,

GA₃、ZR 含量参照次纵坐标,图2~4中相同

图1 6月中旬开花毛竹和未开花毛竹各器官内源激素的含量

对7月中旬开花毛竹和未开花毛竹的枝、秆和鞭中的内源激素水平进行独立样本T检验,结果显示开花毛竹枝中的IAA含量显著低于未开花毛竹($P < 0.05$),低23.2%;开花毛竹枝中的GA₃含量显著高于未开花毛竹($P < 0.10$),高19.2%;其余各器官内源激素含量差异不显著(图2)。

图1、2中,IAA和ABA在未开花毛竹和开花毛竹的枝、秆和鞭中的分布特征基本一致,如IAA的分布是秆>鞭>枝,ABA的分布是秆>枝>鞭。GA₃和ZR在枝和秆中的分布有一些差异,如未开花毛竹GA₃的分布是鞭>秆>枝,开花毛竹是鞭>枝>秆;未开花毛竹ZR的分布是秆>枝>鞭,而开花毛

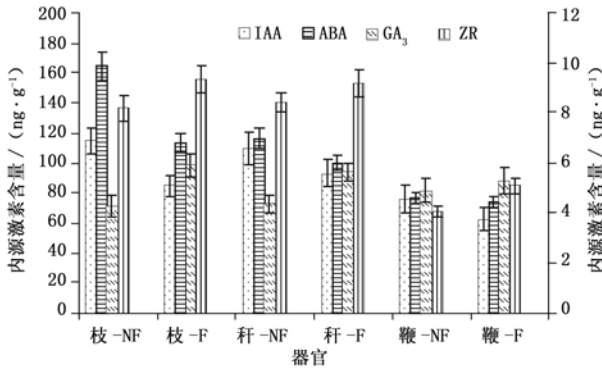


图2 7月中旬开花毛竹和未开花毛竹各器官内源激素的含量

竹是枝 > 秆 > 鞭。

此外,6月中旬开花毛竹花、枝、秆和鞭中的内源激素含量与7月中旬开花毛竹差异不显著,6月中旬未开花毛竹枝、秆和鞭中的内源激素含量与7月中旬未开花毛竹差异也不显著。

3.2 开花毛竹各器官中内源激素含量的比较

开花毛竹(包括6月中旬和7月中旬所有开花毛竹)各器官中内源激素的含量和分布都不均衡(图3)。内源激素在开花毛竹各器官中的分布特征:IAA为秆 > 鞭 > 枝 > 花,GA₃为花 > 鞭 > 枝 > 秆,ZR为花 > 枝 > 秆 > 鞭,ABA为秆 > 枝 > 花 > 鞭。单向方差分析显示 IAA 在花中含量最低,且与其它器官中的含量差异显著($P < 0.05$)。GA₃在花和鞭中的含量较高,且与枝和秆中的含量差异显著($P < 0.05$)。ZR在花中的含量最高,且与其它器官中的含量差异显著($P < 0.05$)。ABA在枝中含量最高,与花和鞭中的含量差异显著($P < 0.05$)。除 IAA 外,花中的内源激素含量都高于鞭。

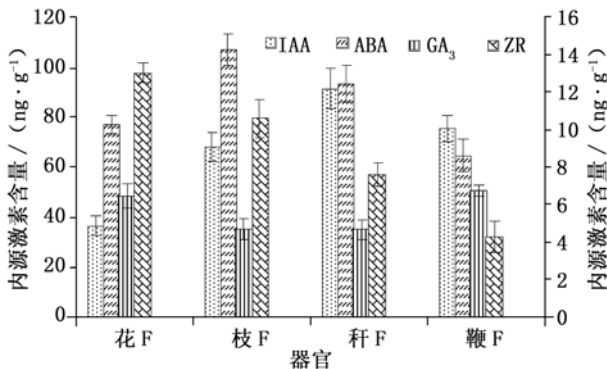


图3 开花毛竹各器官内源激素的含量

对开花毛竹一级枝和二级枝中内源激素的含量进行独立样本 T 检验(图4),结果显示二级枝 IAA 含量显著低于一级枝($P < 0.05$),低 30.4%;而二级

枝 ZR 含量显著高于一级枝($P < 0.10$),高 24.4%。ABA 和 GA₃ 含量差异不显著,但二级枝 GA₃ 含量比一级枝高 18.1%。内源激素在竹秆不同部位的分布不均衡:IAA 在秆中部含量最高,ZR 在秆上部含量最高,GA₃ 和 ABA 在秆下部含量最高。

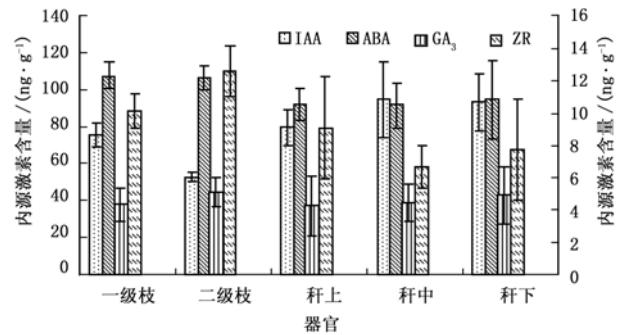


图4 开花毛竹枝、秆不同部位内源激素的含量

3.3 成花期和扬花期内源激素含量的比较

分别计算成花期和扬花期末开花毛竹和开花毛竹各器官中内源激素含量间的比值,发现毛竹花芽形态生长和开花的过程中,ABA/IAA、ZR/IAA、GA₃/IAA,和(ABA + ZR + GA₃)/IAA 的比值都高于未开花毛竹(图5),推测较高浓度的 ABA、ZR 和 GA₃ 和较低浓度的 IAA 促进毛竹花的发育。

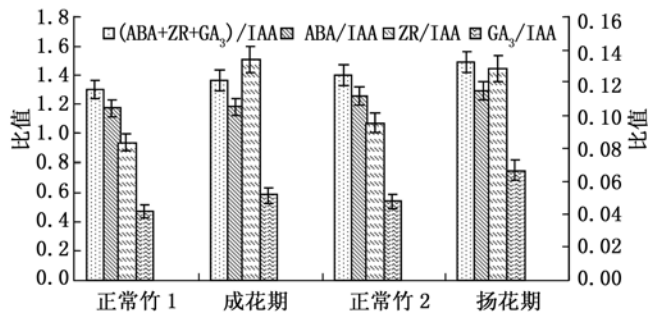


图5 毛竹不同发育阶段内源激素含量间的比值

4 结论与讨论

研究表明,内源激素在开花毛竹各器官中分布不均衡。内源激素含量最高的是 ABA,其次是 IAA,两者含量比 GA₃ 和 ZR 高出 10 倍左右。与未开花毛竹相比,成花期开花毛竹叶、枝和秆的 IAA 含量显著降低,枝的 ABA 含量也显著降低,而秆的 ZR 含量显著升高;扬花期开花毛竹枝的 IAA 含量也显著降低,而 GA₃ 含量则显著升高。内源激素在开花毛竹各器官中的分布规律:IAA 为秆 > 鞭 > 枝 > 花,GA₃ 为花 > 鞭 > 枝 > 秆,ZR 为花 > 枝 > 秆 > 鞭,ABA 为秆 > 枝 > 花 > 鞭。内源激素在开花毛竹枝、秆和鞭

中的分布特征与未开花毛竹基本一致。二级枝中 IAA 含量显著低于一级枝,而其 GA_3 和 ZR 的含量高于一级枝。IAA、 GA_3 和 ABA 在竹秆中的含量呈向基性增加,而 ZR 则呈向基性减少。在成花期和扬花期 ABA、ZR 和 GA_3 所占比例高于未开花毛竹,进一步计算 $GA_3/(ABA + ZR)$ 、 $ABA/(ZR + GA_3)$ 和 $ZR/(ABA + GA_3)$ 的比值发现,在成花期 $ZR/(ABA + GA_3)$ 比值高于扬花期,而 $GA_3/(ABA + ZR)$ 和 $ABA/(ZR + GA_3)$ 比值低于扬花期,推测成花期高比例的 ZR 促进花序的分化,而扬花期高比例的 GA_3 和 ABA 促进花的成熟和种子的发育。

与一级枝相比,二级枝的内源激素分布特征与花中内源激素分布相似,分析原因可能是大部分小穗花轴从二级枝的顶端抽出,即二级枝和花序是直接相连的,二级枝可能是花中内源激素的合成或贮存部位。ABA 对植物的加速衰老、抑制生长和器官脱落有一定的促进作用,虽然未开花毛竹的 ABA 含量高于开花毛竹,但开花毛竹衰老表征却比未开花毛竹明显,这与开花毛竹中 ABA 含量与其它激素含量的比值高于未开花毛竹有关,且开花毛竹的 IAA 含量也低于未开花毛竹。柴振林等^[14]研究发现开花后期雷竹中的 ABA 含量是花期的 1 倍左右,即花期各器官中的 ABA 含量低于后期。本研究中毛竹成花期 ABA 含量低于未开花毛竹的原因,除了大小年毛竹的 ABA 含量差异较大^[16]之外,还可能是因为花期 ABA 含量较低,具体原因还需要进一步研究。

白桦(*Betula platyphylla* Suk.)雄花发育过程中高含量的 GA_3 抑制花芽的分化^[17],光皮树^[18](*Cornus wilsoniana* Wanger)和大葱花芽分化过程中低含量的 GA_3 促进花芽的分化^[12], GA_3 在花芽分化中的作用因不同植物而异。曹卫星等^[19]研究表明药隔形成期至减数分裂期极低的 ABA 和 GA_{1+3} 含量可能有利于小麦小花发育和大穗形成,这与本研究结果相背,但丁兴萃^[13]在早竹衰老开花研究中指出 GA_3 在早竹花形态分化期起促进作用^[13],本研究中 GA_3 对毛竹花发育也是起促进作用,所以 GA_3 在不同植物的不同花发育期发挥不同的功能。

毛竹开花受多种激素的调节,激素比值的高低调控不同部位的发育。要了解这些激素在毛竹开花过程中的作用,还需要深入研究激素代谢,借助基因水平和蛋白水平的研究,揭示毛竹开花的机理和规律。

参考文献:

- [1] Wong K M. Flowering, fruiting and germination of the bamboo *Schizostachyum zollingeri* in Perlis [J]. Malaysian Forester, 1981, 44(4): 453 - 463
- [2] Keeley J E, Bond W J. Mast flowering and semelparity in bamboos: The bamboo fire cycle hypothesis [J]. American Naturalist, 1999, 154(3): 383 - 391
- [3] Franklin D C. Synchrony and asynchrony: observations and hypotheses for the flowering wave in a long-lived semelparous bamboo [J]. J Biogeography, 2004, 31(5): 773 - 786
- [4] Lin X C, Chow T Y, Chen H H, et al. Understanding bamboo flowering based on large-scale analysis of expressed sequence tags [J]. Genet Mol Res, 2010, 9(2): 1085 - 1093
- [5] Isagi Y, Shimada K, Kushima H, et al. Clonal structure and flowering traits of a bamboo [*Phyllostachys pubescens* (Mazel) Ohwi] stand grown from a simultaneous flowering as revealed by AFLP analysis [J]. Molecular Ecology, 2004, 13(7): 2017 - 2021
- [6] 乔士义. 毛竹开花生物学特性的观察 [J]. 竹类研究, 1984(2): 20 - 24
- [7] 林树燕, 毛高喜. 竹子开花习性和开花竹林的更新 [J]. 林业科技, 2007, 32(5): 23 - 26
- [8] 周芳纯. 中国竹文化概要 [J]. 竹类研究, 1998(1): 291 - 297
- [9] 李秀菊, 孟繁静. 大豆品种早 12 花序分化期间的内源植物激素变化 [J]. 作物学报, 1997, 23(4): 446 - 449
- [10] 王兆龙, 曹卫星, 戴廷波. 小麦小花两极分化中内源植物激素与糖氮含量的变化特征 [J]. 作物学报, 2001, 27(4): 447 - 452
- [11] 杨同文, 李潮海. 玉米性别决定的激素调控 [J]. 植物学报, 2012, 47(1): 65 - 73
- [12] 苏华, 徐坤, 刘伟. 大葱花芽分化过程中内源激素的变化 [J]. 园艺学报, 2007, 34(3): 671 - 676
- [13] 丁兴萃. 覆盖栽培早竹开花的激素机制研究 [J]. 林业科学, 2007, 43(7): 10 - 15
- [14] 柴振林, 华锡奇, 王琦. 雷竹花期激素动态及其与开花相关性研究 [J]. 浙江林业科技, 2005, 25(1): 58 - 64
- [15] 鲁亚婷, 袁晓亮, 林新春, 等. 雷竹花芽形态分化过程中内源激素的变化规律 [J]. 浙江农林大学学报, 2012, 29(2): 161 - 165
- [16] 吴良如, 萧江华. 大小年毛竹林中内源激素节律变化特征的研究 [J]. 竹子研究汇刊, 1998, 17(1): 24 - 30
- [17] 杨传平, 刘桂丰, 姜静, 等. 白桦雄花发育过程中内源激素含量的变化 [J]. 东北林业大学学报, 2002, 30(4): 1 - 4
- [18] 何见, 蒋丽娟, 李昌珠, 等. 光皮树花芽分化过程中内源激素含量变化的研究 [J]. 中国野生植物资源, 2009, 28(2): 41 - 45
- [19] 曹卫星, 王兆龙, 戴廷波. 不同穗型小麦小花发育过程中幼穗和叶片内源激素水平的动态变化 [J]. 植物学报, 2000, 42(10): 1026 - 1032