

大红柑花芽及营养芽形成过程的 内源细胞分裂素变化动态

梁立峰 季作樑 邝森林

(园艺系) (广东开平果菜公司)

提 要

本文用生物鉴定法测定不同时期大红柑花芽及营养芽内源细胞分裂素的水平。发现大红柑大年树花芽的细胞分裂素含量从进入形态分化时起迅速增加,到萼片形成期出现高峰,随后逐渐降低。小年树营养芽在大年树细胞分裂素含量增加并形成高峰这段时间里,细胞分裂素略有降低并出现低峰,然后又逐渐回升。大红柑花芽及营养芽,在各自的形成过程中出现的内源细胞分裂素变化动态的差别,表明形态分化的最初阶段,可能需要一定量细胞分裂素的存在,初步认为细胞分裂素会对大红柑秋梢进入花芽形态分化阶段有促进作用。

前 言

隔年结实是果树生产上普遍存在的现象,在落叶果树和常绿果树上都会出现^{〔12〕}。大红柑是广东省的柑桔优良品种之一。其果肉汁多具香味,酸甜适中,品质甚佳。果皮更是名贵的药材。但大红柑有比较明显的隔年结实现象。当年不开花是引起大红柑小年结实的主要因子。因而,深入研究大红柑的花芽分化问题很有必要。

果树的花芽分化是一个非常复杂的过程,虽经百多年的研究,但目前的认识还很肤浅^{〔11〕〔3〕}。大量的基础工作尚待研究^{〔11〕}。近年一些研究者的工作表明,内源激素在果树花芽分化中起的作用比树体同化物更为重要^{〔8〕}。已经认识到,细胞分裂素/赤霉素平衡在苹果成花过程中起控制作用^{〔9〕〔7〕}。Luckwill甚至指出,细胞分裂素/赤霉素平衡可能对其他果树的花芽分化也起调节作用^{〔10〕}。在杧果^{〔8〕}、荔枝^{〔4〕〔2〕}等果树上进行的花芽分化与内源细胞分裂素的关系的研究支持Luckwill的假说。柑桔方面,尚未见这方面的报道。本文研究大红柑大年树花芽及小年树营养芽在各自的分化发育过程中内源细胞分裂素的变化动态,通过比较大小年树的细胞分裂素的消长状况,了解细胞分裂素在大红柑成花过程中的作用。

• 侯学瑛同志参加部分试验工作,特此致谢。

1986年3月20日收稿

材料和方法

(一) 实验材料的采集和处理

本研究选广东省开平县水口区一个专业户的柑园为样品采集园。品种为大红柑 [*Citrus reticulata* CV. Da Hong Gan]。大年树(次年开花)四年生, 小年树(次年无花)二年生。大、小年树各选40株为采样植株。两种类型树均采集秋梢顶端供提取内源细胞分裂素用。其中包含顶芽及其下的两个侧芽。从1983年10月中到1984年2月中每隔30天采样一次, 每次鲜重均各为17克。样品置干冰壶中带回实验室后转移至-20°C的低温冰箱中保存。

(二) 细胞分裂素的提取分离

样品置捣碎机中加预冷的80%甲醇捣碎并浸提三次, 每次24小时。合并三次的浸提液, 用旋转薄膜浓缩器减压浓缩至原体积的一半左右。浓缩的浸提液以1N NaOH调

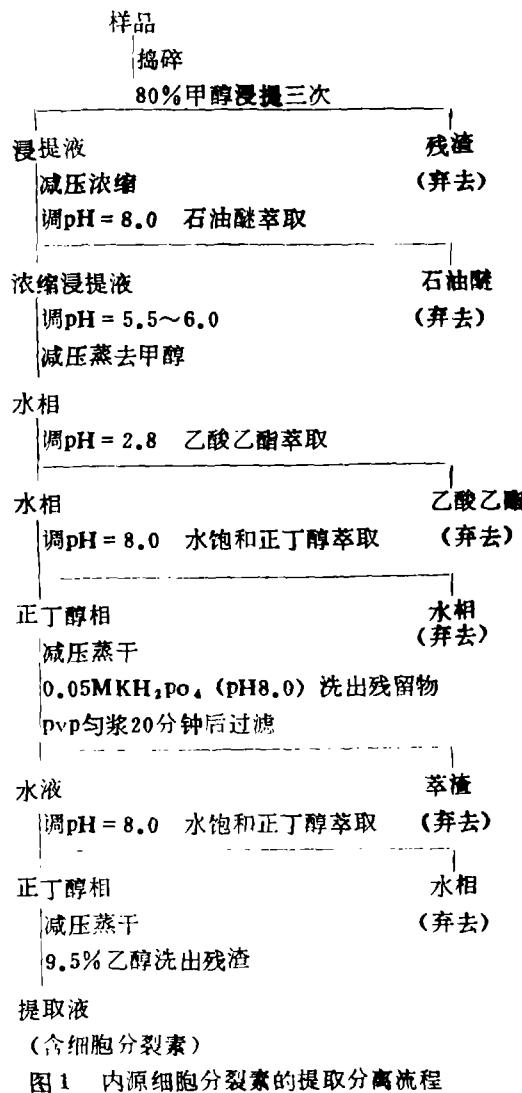


图1 内源细胞分裂素的提取分离流程

pH至8.0, 等体积石油醚(沸程30~60°C)萃取四次, 弃去石油醚。重新调浓缩浸提液的pH为5.5~6.0, 减压蒸馏去清甲醇及残留的石油醚。调水相pH至2.8, 等体积乙酸乙酯萃取三次, 弃去乙酸乙酯。随后调水相pH至8.0, 等体积水饱和正丁醇萃取三次, 弃去水相。减压蒸干正丁醇相, 用20毫升0.05M KH_2PO_4 (pH8.0)洗出残留物。洗出液加1克不溶性PVP(聚乙烯吡咯烷酮)置搅拌机上搅拌20分钟, 过滤。弃去滤渣, 调滤液pH为8.0, 用等体积水饱和正丁醇萃取三次, 弃去水相。正丁醇减压蒸馏至干, 95%乙醇溶出残留物, 此为含细胞分裂素类物质的提取液。上述细胞分裂素的提取、分离流程以图1表示。

(三) 提取液的细胞分裂素活性鉴定

1. 细胞分裂素的薄板层析分离: 含有细胞分裂素类物质的提取液成分复杂, 故用氧化铝[Aluminium oxide GF245 neutral (Type), 西德Merck公司产品]薄板将其作进一步的分离和纯化。展开剂为正丁醇: 氨水: 水 = 25: 0.3: 1。薄板点样后先放层析缸中平衡一小时, 然后展开10厘米, 取出风干。

2. 细胞分裂素活性区段的生物鉴定: 取预试样的提取液点上薄板如上展开。将展开后的薄板从原点到终点分成十等分。分别刮下各区段的氧化铝, 用乙醇提出其中的活性成分。然后用尾穗苋(*Amaranthus candalus* L.)黄化苗子叶苋红合成法¹ 鉴定其细胞分裂素活性。

(四) 不同时期花芽及营养芽的细胞分裂素水平测定

将不同时期的花芽及营养芽的提取液分别点在氧化铝薄板上, 如上法进行层析。薄板风干后, 刮下具有细胞分裂素活性的区段的氧化铝。乙醇提取其中的活性物质, 用苋红合成法进行生物鉴定。通过与同时鉴定的不同浓度激动素的生理活性进行比较, 求出样品材料中所含细胞分裂素类物质相当的激动素的量。将不同时期花芽及营养芽的细胞分裂素水平进行比较, 分析细胞分裂素在花芽分化过程或营养芽发育过程的变化动态和同一时期花芽与营养芽中细胞分裂素含量的差别。

试验结果

(一) 提取液中具细胞分裂素生理活性的区段

预试样提取液在氧化铝薄板上展开后, 各区段用苋红合成法进行生物鉴定。结果表明, 其中的 R_F 0.6~0.8区段具有明显的细胞分裂素生理活性(图2)。此具生理活性的区段与标准玉米素展开后的活性区段(图2)相符。苋红合成法是专一性很强的一种细胞分裂素的生物鉴定法¹。图2的结果表明, 用本文的内源细胞分裂素提取分离流程从采集的大红柑的试验材料中提取出具有生理活性的细胞分裂素类物质。在测定不同时期花芽及营养芽的细胞

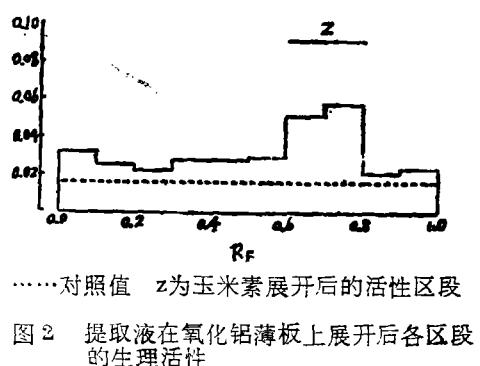


图2 提取液在氧化铝薄板上展开后各区段的生理活性

分裂素水平时,就刮取这个区段的氧化铝进行生物鉴定。

(二) 花芽分化过程及营养芽发育过程中内源细胞分裂素的变化动态

测定不同时期大红柑花芽及营养芽的细胞分裂素水平后,可以描出如图3所示的大红柑花芽分化过程及营养芽发育过程中内源细胞分裂素变化动态曲线。

图3表明,在10月中到11月中这段时间里,花芽及营养芽中的细胞分裂素含量均偏低。以后,花芽中的细胞分裂素含量迅速增加,在12月形成高峰,而营养芽中的细胞分裂素在12月中出现低峰,从而使它们的细胞分裂素含量有明显的不同。1月份花芽中的细胞分裂素含量逐渐降低,而营养芽中的细胞分裂素含量逐渐增加,到2月份,花芽与营养芽中的细胞分裂素含量比较接近,处于中等水平。

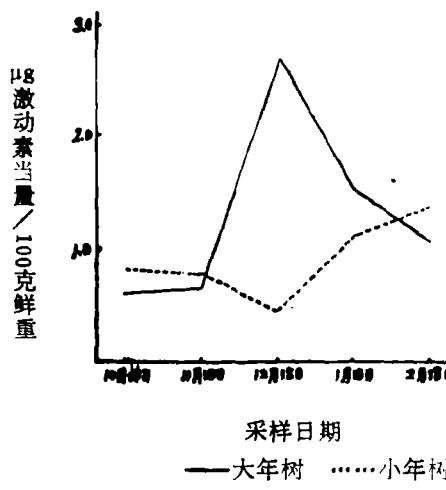


图3 大红柑大年花芽及小年营养芽形成过程的内源细胞分裂素变化动态

讨 论

Luckwill (1970) 曾描述过木质部汁液中的细胞分裂素,在苹果花芽分化的临界期的作用,认为苹果长梢的顶芽和侧芽能否形成花原基,取决于长梢停止生长时木质部汁液中的细胞分裂素的含量⁹。Ramirez等 (1978) 直接将玉米素引进苹果果苔明显促进开花,即使在缺少叶片或挂着果实的情况下也是这样^[13]。这一成功的例子支持Luckwill的观点。

Agrawal等 (1980) 测定芒果花芽分化过程的内源细胞分裂素的变化,发现大年(次年多花)芒果树梢尖中总的细胞分裂素从11月中开始增加,12月中进入花芽分化的临界期时形成一个高峰。但是小年芒果树梢尖中总的细胞分裂素没有这个变化,而且含量比大年树的少得多¹⁰。梁立峰等 (1983年),李沛文等 (1985) 在荔枝方面的研究表明,大年树花芽自分化临界期以后,细胞分裂素含量逐渐增加,在花器官开始分化时(萼片分化期)达到高峰,以后细胞分裂素的含量降低,到雌蕊分化期降到一个低于原来的低水平。而小年树的营养芽在整个发育过程仅在一个低的水平上波动¹¹⁻¹²。这些工作说明,内源细胞分裂素可能对芒果及荔枝的花芽分化有调节或促进作用。

黄淑蓉等 (1984) 曾研究过蕉柑、椪柑、暗柳甜橙三个柑桔品种形成花芽的形态变化阶段和每个阶段出现的时间,指出在广东的气候条件下,这三个品种的花芽形态变化是一致的¹³。形态分化从11月上中旬开始,萼片分化期从12月下旬开始,一月下旬以后依次进入花瓣分化期,雄、雌蕊分化期。参照上述广东主要柑桔品种形态分化各阶段出现的时间,可以表明,大红柑大年树花芽的细胞分裂素含量,从进入形态分化时起迅速增加,到萼片形成期出现高峰,随后逐渐降低,在花瓣形成期,雄、雌蕊形成期细胞分裂素

降到中等水平；小年树营养芽的细胞分裂素的变化动态与大年树的相反，在大年树的细胞分裂素含量增加并形成高峰这段时间里，细胞分裂素略有下降并出现低峰，然后又逐渐回升。到两者发育的后期阶段，它们的含量比较接近，都处于中等水平。

上述犬红柑花芽与营养芽在各自的形成过程中，出现的细胞分裂素变化动态的差别与芒果^[6]、荔枝^{[4][2]}的相似，都在形态分化的初期出现差异。因而，细胞分裂素可能对犬红柑秋梢进入花芽形态分化阶段有促进作用。这就为进一步认识细胞分裂素在果树成花过程中的作用，增添了新的实验资料。

Hoad (1984) 指出，应用生长延缓剂在诱导果树成花上的良好作用已经得到确认^[8]。其中的奥妙是生长延缓剂一方面降低分化花芽的部位的赤霉素含量，另一方面提高这些部位的细胞分裂素的含量^{[7][8]}。MonseIise等 (1982) 介绍，应用赤霉素可以减少大年柑桔树的开花量，而应用CCC (矮壮素) 和B₉ (阿拉) 可以促进小年树的花芽分化^[12]。对于大小年明显的大红柑品种，为克服隔年结实现象，除加强栽培管理外，还应该考虑使用CCC、B₉以及PP₃₃₃ (一种新的生长延缓剂) 来促进小年树的花芽分化。

参 考 文 献

- [1] 丁静等：植物内源激素的提取分离和生物鉴定，《植物生理学通讯》，(2) 1979, 27—39。
- [2] 李沛文、季作樑、梁立峰、马健南：荔枝大小年树营养芽及花芽分化与细胞分裂素的关系，《华南农业大学学报》，6 (3) 1985, 1—7。
- [3] 梁立峰：植物激素与果树的花芽分化，《植物生理学通讯》，(4) 1982, 1—6。
- [4] 梁立峰、季作樑、李沛文、荔枝花芽分化过程内源细胞分裂素变化动态的研究，《华南农学院学报》，4 (1) 1983, 37—44。
- [5] 黄淑容、阮少珍：广东三个主要柑桔品种的花芽形成与分化，《广东农业科学》，(1) 1984, 19—20。
- [6] Agrawal, A. et al., 1980. Endogenous cytokinins of mango (*Mangifera indica* L.) shooottips & their significance in flowering. *Indian Journal of Experimental Biology*, 18, 504—509.
- [7] Grochowska, M. J. et al., 1984. The pattern of hormones of intact apple shoots and its changes after spraying with growth regulators. *Acta Horticulturae*, 149, 25—38.
- [8] Hoad, G. V., 1980. Hormonal regulation of fruit-bud formation in fruit trees. *Acta Horticulturae*, 149, 13—23.
- [9] Luckwill, L. C. 1970. The control of growth and fruitfulness of apple trees. In Luckwill, L. C. et al. (ed.) *Physiology of Tree Crops*, 237—254.
- [10] Luckwill, L. C., 1980. Hormones and the productivity of fruit trees. *Scientific Horticulture*, 31, 60—68.
- [11] Marcelli, R., 1984. The flowering process and its control. *Acta Horticulturae*, 149, 65—69.

- [12] Monselise, S. P. et al., 1982. Alternate bearing in fruit trees. In Janick, J. (ed.), *Horticultural Reviews*, Vol. 4, 128—173.
- [13] Ramirez, H. et al., 1978. Effects of succinic acid 2,2-dimethyl-hydrazide (SADH) and hormones on flower initiation in apple. In *The Effect of Interactions Between Growth Regulators on plant Growth and Yield*, British Plant Growth Regulator Group Monograph No. 2, 37—47.

FLUCTUATION OF ENDOGENOUS CYTOKININS LEVELS DURING THE FORMATION PROCESSES OF FLORAL AND VEGETATIVE BUDS IN MANDARIN (*Citrus reticulata* CV. Da Hong Gan)

Liang Lifeng Ji Zuoliang

(Department of Horticulture)

Kuang Senlin

(Kaiping Fruits & Vegetables Company, Guangdong)

ABSTRACT

Endogenous cytokinins levels in the floral buds and vegetative buds of mandarin (*Citrus reticulata* CV. Da Hong Gan) in different times were determined by bioassay method. It was found that the cytokinins contents in the floral buds of the 'on year' trees increased rapidly when the morphological differentiation period began and culminated in the sepals formation stage, and then the contents declined gradually. But the cytokinins contents of the vegetative buds in the 'off year' trees reduced slightly and forming a trough during the period when the cytokinins contents of the 'on year' trees were increasing and forming a peak, afterwards the contents increased gradually. The differences between floral buds and vegetative buds in the fluctuations of endogenous cytokinins during their formation processes indicated that the existence of a certain amount of cytokinins may be needed at the early stage of morphological differentiation period. It can be postulated preliminarily that cytokinins possibly plays a role in preventing the extra effects of this mandarin to enter into the floral morphological differentiation period.